

**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**TIKANMA İKTERİ OLUŞTURULAN RATLARDA  
HEPATİK HASAR ÜZERİNE GROWTH FAKTÖRLERİN  
ROLÜ**

**Dr. Özgür TÜRK**

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR  
2011**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**TIKANMA İKTERİ OLUŞTURULAN RATLARDA  
HEPATİK HASAR ÜZERİNE GROWTH FAKTÖRLERİN  
ROLÜ**

**Dr. Özgür TÜRK**

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr.Ersin ATEŞ**

**ESKİŞEHİR  
2011**

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr.Özgür TÜRK'e ait "Tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda growth faktörlerin karaciğer hasarı üzerine rolü" adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Ersin ATEŞ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr.Bekir YAŞAR

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr.Ercüment PAŞAOĞLU

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu' nun .....

Tarih ve ..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Necmi ATA

Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof.Dr. Bekir YAŞAR'a, Prof.Dr. Ercüment PAŞAOĞLU'na, Prof.Dr. Tarık ÇAĞA'ya, Prof.Dr. Enver İHTİYAR'a, Prof.Dr. Adnan ŞAHİN'e, Prof.Dr. Serdar ERKASAP'a ve tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof.Dr. Ersin ATEŞ'e, Patoloji bölümünden Prof.Dr. Emine DÜNDAR'a, Biyokimya bölümünden Prof.Dr. Emine SÜTKEN'e yardım ve destekleri için teşekkür eder ve şükranlarımı sunarım.

## ÖZET

**Türk. Ö. Tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda hepatik hasar üzerine growth faktörlerin rolü Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir,2011.** Bu çalışmada tıkanma ikteri nedeniyle internal ve eksternal drenaj yapılan hastalarda tıkanma ikteri gelişimi esnasında ve postikterik dönemde karaciğer hasarı üzerinde growth faktörlerin rolünün ve etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır. Bu nedenle çalışmamızda her iki cinsten, 110 adet Spraque-Dawley cinsi albino sıçanlar kullanıldı. Sham grubu, irreversible tıkanma ikteri kontrol, HGF, EGF, IGF, TGF Beta-1 grupları; reversible tıkanma ikteri kontrol, HGF, EGF, IGF, TGF Beta-1 grupları olmak üzere 11 grup üzerinde deney yapıldı. Irreversible grupta koledok eksplore edilip, bağlanıp kesilerek koledok ligasyonu yapıldı ve postop 7.günden itibaren 150 µg/kg/gün HGF,5 µg/kg/gün EGF, 5 µg/kg/gün IGF, 5 µg/kg/gün TGF Beta-1 intraperitoneal olarak enjekte edildi. Reversible grupta ise 7. Gün reeksplorasyon yapılarak koledok ligasyonu çözüldü ve postikterik 5 gün boyunca 150 µg/kg/gün HGF,5 µg/kg/gün EGF,5 µg/kg/gün IGF,5 µg/kg/gün TGF Beta-1 intraperitoneal olarak enjekte edildi. Tüm gruplara relaparotomi yapılarak kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Karaciğer dokusu histopatolojik inceleme, doku oksijenaz ve MDA ölçümü yapıldı; kan örneklerine ise AST, ALT, ALP, GGT, total ve direkt bilirubin analizi yapıldı. Reversible tıkanma ikteri oluşturulan grupta biyokimyasal parametreler daha yüksek olarak bulundu. Reversible tıkanma ikteri oluşturulan grupta ise doku MDA sonuçları düşük olarak bulundu. Sonuç olarak tüm gruplar değerlendirildiğinde HGF irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkili; reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkisiz olarak bulundu. EGF reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkili; irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkisiz olarak bulundu. IGF enjeksiyonu hem reversible hem de irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkisiz olarak bulundu. TGF Beta-1 enjeksiyonu hem reversible hem de irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkili olarak bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Tıkanma ikteri, koledok ligasyonu, hepatosit growth faktör, epitelyal growth faktör, insülin like growth faktör-1, tümör growth faktör beta-1, postikterik hasar, growth faktörler

## ABSTRACT

**Türk.Ö. The role of growth factors on hepatic damage in rats with obstructive jaundice Eskisehir Osmangazi University Medical Specialization Thesis, Department of General Surgery, Eskisehir, 2011.** In this study, the aim was to determine the effects of growth factors on liver damage in patients with obstructive due to internal and external drainage process during the development of jaundice and after jaundice. To investigate the role and effectiveness of the study, both sexes, of 110 Sprague-Dawley albino rats used. Sham group, irreversible obstructive jaundice control, HGF, EGF, IGF, TGF beta-1 groups; reversible obstructive jaundice control, HGF, EGF, IGF, TGF beta-1 groups, 11 group for a total of experiments were conducted. Irreversible group explored common bile duct ligation was ligated. Postoperative 7. Day during 5 days 150 mg/kg/day, HGF, 5 mg/kg/day EGF, 5 mg/kg/day IGF, 5 mg/kg/day of TGF-beta-1 was injected intraperitoneally. In the reversible group common bile duct ligated; after 7 days ligation resolved and during 5 days 150 mg/kg/day, HGF, 5 mg/kg/day EGF, 5 mg/kg/day IGF, 5 mg/kg/day TGF  $\beta$ -1 injected intraperitoneally. All groups made relaparatomy blood and liver tissue samples were taken. Histopathological examination of liver tissue, tissue oxygenase and MDA was measured in the blood samples of the AST, ALT, ALP, GGT, total and direct bilirubin, analysis has been made. In reversible group biochemical parameters were found to be higher than irreversible group. The tissue MDA levels were found to be lower in reversible group. As a result of all parameters and results of tests HGF effective in irreversible jaundice group; ineffective in reversible jaundice group. EGF effective in irreversible jaundice group; ineffective in reversible jaundice group. Both irreversible and reversible obstructive jaundice in rats by injection of IGF were found ineffective. TGF-beta-1 injection in rats with both reversible and irreversible obstructive jaundice found effective.

**Key Words:** Obstructive jaundice, common bile duct ligation, HGF, EGF, TGF beta-1, IGF-1, liver injury, growth factors

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Karaciğer ve Safra Yolları Anatomisi	3
2.1.1.Karaciğerin Anatomisi	3
2.1.1.Safra Yolları Anatomisi	7
2.2.Safra Fizyolojisi	12
2.3.Bilirubin Metabolizması	15
2.4.Tıkanma İkteri Nedenleri	18
2.5.Tıkanma İkterinin Karaciğer Üzerine Etkileri	19
2.6.Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stres	21
2.6.1.Oksidatif Stres	22
2.6.2.Lipid Peroksidasyonu	23
2.6.3.Malondialdehid (MDA)	24
2.6.4.Antioksidan Savunma Sistemleri	24
2.6.5.Transaminazlar	26
2.7.Growth Faktörler	27
2.8.Hepatosit Growth Faktör	27
2.8.1.Hepatosit Growth Faktör'ün Sentezi ve Aktivasyonu	28
2.8.2.Hepatosit Growth Faktör'ün Biyolojik Aktivitesi	28
2.9.Epidermal Growth Faktör	29
2.9.1.Epidermal Growth Faktör'ün Sentezi ve Aktivasyonu	29
2.9.2.Epidermal Growth Faktör'ün Biyolojik Aktivitesi	30



	Sayfa
2.10.İnsülin Like Growth Faktör-1	31
2.10.1.İnsülin Like Growth Faktör-1 Sentezi ve Aktivasyonu	31
2.10.2.İnsülin Like Growth Faktör-1 Biyolojik Aktivitesi	32
2.11.Tümör Growth Faktör – Beta 1	32
2.11.1.Tümör Growth Faktör – Beta 1 Sentezi ve Aktivasyonu	32
3.GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1.Deney Hayvanları	34
3.2.Çalışma Grubu	34
3.2.1.Cerrahi Teknik ve Tedavi Uygulanması	34
3.3.Biyokimyasal İnceleme	37
3.4.Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi	37
3.5.Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi	38
3.6.İstatiksel Değerlendirme	38
4.BULGULAR	40
4.1.Biyokimyasal Sonuçlar	40
4.2.Oksidatif Stres Parametreleri	48
4.3.Karaciğer Dokusu Histopatolojik İnceleme Sonuçları	50
5.TARTIŞMA	58
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	66

**SİMGELER KISALTMALAR**

ALP	Alkale fosfataz
ALT	Alanin transaminaz
AST	Aspartat transaminaz
ATPaz	Adenozin trifosfataz
DNA	Deoksiribonükleik asit
ecNOS	Endotelial nitrikoksit sentetaz
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EGFR	Epidermal growth faktör reseptörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GGT	Gama glutamil transferaz
Gpx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojenperoksit
HGF	Hepatosit growth faktör
IFN- $\gamma$	İnterferon gama
IGF-1	İnsülin like growth faktör 1
IGFBP	İnsülin like growth faktör bağlayıcı protein
IGFR	İnsülin like growth faktör reseptörü
IL	İnterlökin
İMA	İnferior mezenterik arter
iNOS	İndüklenebilir nitrikoksit sentetaz
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid

nNOS	Nöronal nitrikoksit sentetaz
NO	Nitrikoksit
NOS	Nitrikoksit sentetaz
OH	Hidroksil
PAF	Platelet aktive edici faktör
PARS	Poli (ADP-riboz) sentetaz
RES	Retiküloendotelyal sistem
SMA	Süperior mezenterik arter
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TGF	Tümör büyüme faktörü
TNF	Tümör nekroz faktör
TNF	Tümör nekroze edici faktör
UDP	Uridin difosfat
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Karaciğerin vasküler anatomisi	4
2.2. Karaciğerin bağları	6
2.3. Karaciğerin segmental anatomisi	7
2.4. Karaciğerin vasküler anatomisi	10
2.5. Koledok anatomisi	12
2.5. Bilirubin Metabolizması	15
3.1. Koledoğun bulunması ve diseksiyon için hazırlanması	36
3.2. Koledoğun diseksiyonu ve askıya alınması	37
3.2. Koledoğun reversible olarak ligasyonu.	38
4.1. Serum ALT değerleri	41
4.2. Serum AST değerleri	43
4.3. Serum ALP değerleri	44
4.4. Serum Total Bilirubin değerleri	45
4.5. Serum Direkt Bilirubin değerleri	47
4.6. Serum GGT değerleri	48
4.7. Karaciğer dokusu doku oksijenaz değerleri	50
4.8. Karaciğer dokusu doku MDA değerleri	51
4.9. Kontrol A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri	51
4.10. Kontrol B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri	52
4.11. HGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri	52
4.12. EGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri	53
4.13. IGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri	53

	Sayfa
4.14. TGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri	54
4.15. HGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri	54
4.16. EGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri	55
4.17. IGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri	55
4.18. TGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri	56
4.19. Karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirme sonuçları	57
5.1. Sham ve kontrol grupları sonuçları karşılaştırılması	60

**TABLÖLAR**

	Sayfa
4.1. Serum ALT değerleri	41
4.2. Serum AST değerleri	42
4.3. Serum ALP değerleri	43
4.4. Serum Total Bilirubin değerleri	45
4.5. Serum Direkt Bilirubin değerleri	46
4.6. Serum GGT değerleri	48
4.7. Karaciğer dokusu doku oksijenaz değerleri	49
4.8. Karaciğer dokusu doku MDA değerleri	50
4.9. Karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirme sonuçları	56

## 1. GİRİŞ

Safra kanalında tıkanıklık koledok taşı, hepatokolanjio kanserler, pankreas kanserleri gibi birçok sebeple oluşabilmektedir. Safra kanalı tıkanıklığının sonucunda tıkanma ikteri oluşmakta; bununla beraber karaciğer hasarı meydana gelmektedir. Ayrıca tıkanma ikteri nedeniyle hepatosellüler nekroz, biliver kanal epitelyum hücrelerinde proliferasyon ve karaciğer fibrozisine yol açan Stellate hücrelerinin aktivasyonu gerçekleşir. Karaciğerde tıkanma ikteri nedeniyle bir inflamasyon oluşur, inflamatuvar sitokinlerin salınımı ve toksik oksijen radikallerinin salınımı ile karaciğer hasarı ortaya çıkar. Tıkanma ikteri süresi uzadığı zaman safra yolları epiteline proliferasyon başlamaktadır. İkter gelişiminin 48.saatinden itibaren hepatosellüler proliferasyon başlar ve 5.gün pik seviyesine ulaşır ve devamında bazal bir seviyede devam etmektedir. Tıkanma ikteri gelişiminde ilk 7 günlük süreçteki değişiklikler akut kolestatik hasar; sonrasında ki değişiklikler ise kronik kolestatik hasar olarak tanımlanmaktadır(1).

Obstrüktif, inflamatuvar ve genetik süreçler gibi çeşitli patolojiler karaciğerde kolestatik sonuçlanmakta ve sitotoksik safra asitleri karaciğerde nekroz ve fibroze yol açmaktadır(2). Klinik olarak tıkanma ikteri tablosu böbrek yetmezliği, koagülasyon bozuklukları, malnütrisyon, sepsis ve yara iyileşmesinde gecikme gibi problemlere yol açabilmektedir(3, 4).Tıkanma ikteri tablosu ile kliniğe başvuru hastalarda eksternal veya internal biliyer drenaj işlemi yapılmaktadır. Kronik kolestatik hasar oluşmuş olan karaciğer dokusunda biliyer drenaj işlemi sonrasında postikterik karaciğer hasarı gelişmektedir. Ratlarda koledok ligasyonu modeli klinik olarak insanlarda karşılaşılan kolestatik karaciğer hastalıklarına uyumlu bir modeldir. Bu deneysel model üzerinden gidilerek ratlarda reversible tıkanma ikteri tablosu oluşturulmuş ve postikterik değişiklikler ortaya konulmaya çalışılmıştır(5). Ancak postikterik dönemde karaciğerde meydana gelen değişikliklere, hepatosit rejenerasyonuna, kolestatik hasarın iyileşmesine etki eden faktörlerin araştırılmasında çalışmalar yetersizdir.

Yapılan çalışmalarda karaciğer rejenerasyonu üzerinde growth faktörlerin etkinliği gözlenmiştir. Hepatosit Growth Faktör hepatositler üzerinde mitojenik etki göstermekte, kolestatik karaciğerde safra asitleri nedeniyle oluşan nekrotik etki ve apoptozis üzerinde koruyucu rol oynamaktadır(6). Koledok ligasyonu yapılan

ratlarda HGF ekskresyonunun arttığı bilinmektedir. Ancak HGF'nin terapötik etkisi araştırılmaktadır(7). Serum HGF düzeyleri tıkanma ikteri nedeniyle başvuran hastalarda yüksek olarak bulunmuş ve biliyer drenajı takiben HGF seviyelerinde gerileme tespit edilmiştir(8). Yapılan çalışmalarda karbontetraklorür kullanılarak oluşturulan karaciğer hasarı üzerinde epidermal growth faktörün koruyucu etkisi vardır(9).İnsülin like growth faktör ve isoformlarının mahallî ve sistemik olarak kolestatik karaciğer hasarı önlenmesinde etkisi vardır(10). Literatür bilgileri ışığında safra yolu tıkanıklıkları nedeniyle oluşan ikter tablosunun gerilemesi esnasında growth faktörlerin karaciğer üzerine koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılması gereken bir konudur.

Bu çalışmadaki amacımız tıkanma ikteri nedeniyle karaciğerde oluşan hasar üzerine growth faktörlerin hasarın önlenmesi ve karaciğer rejenerasyona olumlu etkilerinin araştırılmasıdır. Ayrıca tıkanma ikterinin çözülmesi esnasında oluşan postikterik hasar ve inflamatuvar olaylar üzerinde growth faktörlerin etkiliği ortaya konulmaya çalışılmıştır.

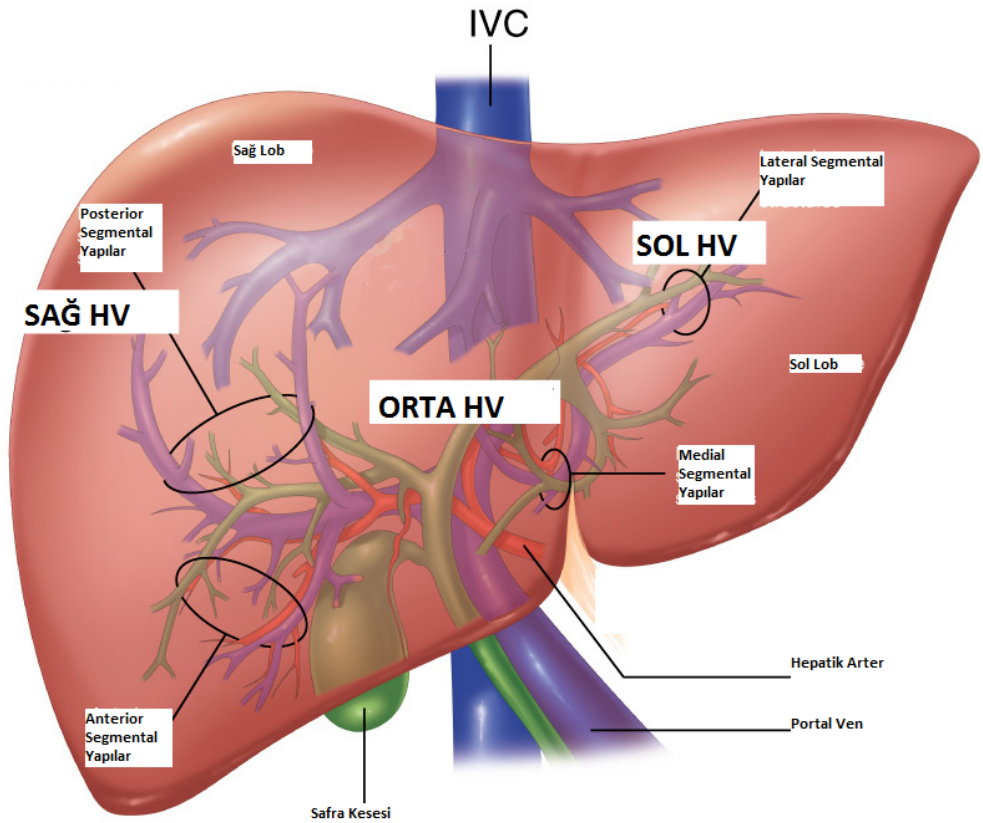


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karaciğer ve Safra Yolları Anatomisi

#### 2.1.1. Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer, fœtal hayatın 4. haftasında ön barsakta bir divertikül şeklinde gelişmeye başlar. Divertikülün distal kısmı karaciğer ve intrahepatik safra yollarını oluştururken, proksimal kısmı ise safra kesesi ve ekstrahepatik safra yollarını oluşturur.



Şekil 2.1. Karaciğerin vasküler anatomisi

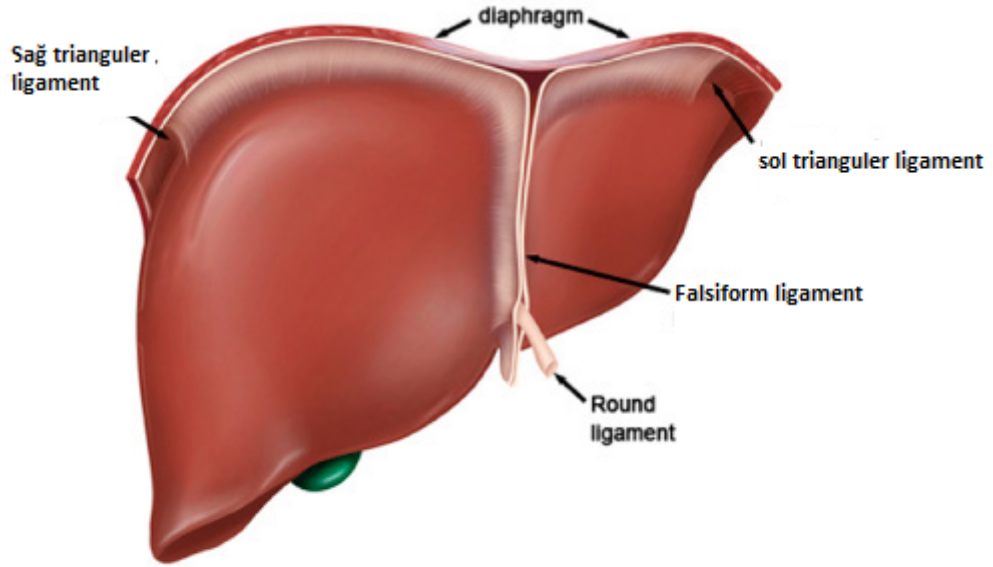
İnsanda karaciğer sağ üst abdomende ve kısmen epigastrik bölgede yer alan, ortalama ağırlığı yetişkinlerde erkek için 1400-1600 gr ve kadın için 1200-1400 gr olan vücudun en büyük organıdır. Tüm vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Genişliği 14 cm, yüksekliği ise 16 cm kadardır. Glisson kapsülü denen zarla kaplı olup nispeten frajil yapıya sahiptir.(11, 12) Bu kapsül, tabakalar halinde sıralanmış olan ve aralarında sinüzoid adıyla bilinen karmaşık bir kılcal sistemin yer aldığı süngerimsi hücre kitlesini örter. Sinüzoidler, iç yüzlerini örten

endotelin, Kupffer hücresi adıyla bilinen özel fagositlerle döşenmiş olması ve makromoleküllere karşı, daha fazla geçirgenlik göstermesi nedeniyle sistemik kılcal damarlardan ayrılır. Karaciğer hücre tabakaları, besin maddeleri ve metabolizma ürünlerinin, rahatça alışverişini sağlayacak şekilde, sinüzoidlerle ilişki halindedir.(12, 13)

Karaciğerin komşu organ ve oluşumlarla ilişkisi ile anatomik pozisyonda kalmasını sağlayan bağları vardır;

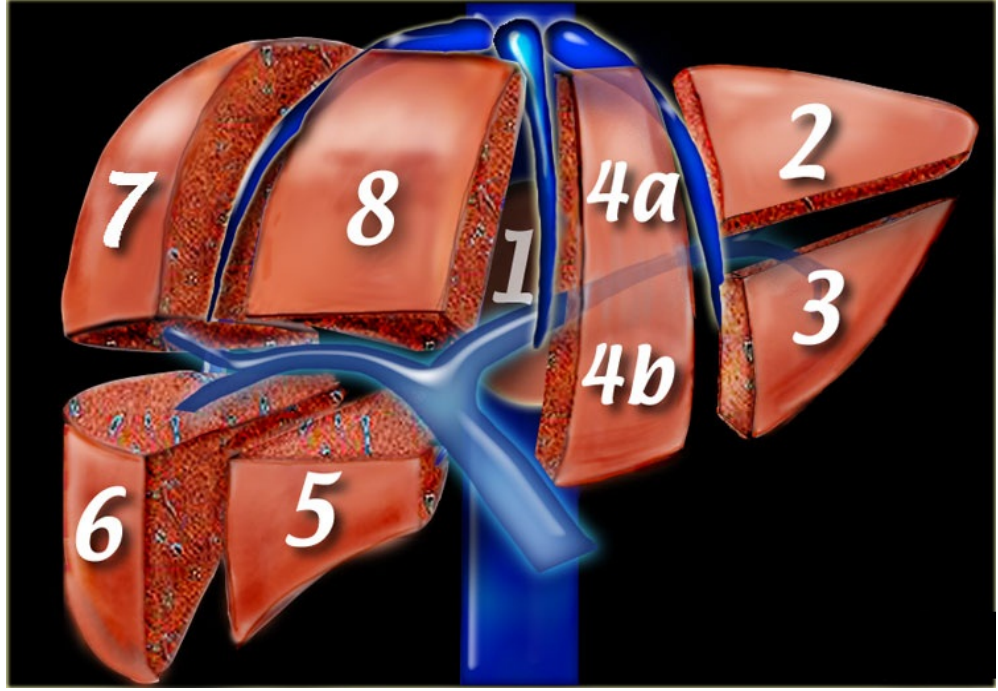
- a.** Falsiform bağ diafragmatik yüzü 2 parçaya böler (sağ ve sol loblar). Bu bağın içinde umblikal ven kalıntısı bulunur.
- b.** Lig. Teres, Falsiform bağın uzantısıdır.
- c.** Koroner bağlar ön arka sağ sol (triangular bağlar) olarak uzantıları vardır. Bu uzantıların arasındaki alan diafragma ile direkt olarak temas eden peritonsuz alan olup pars asfiksa adını alır. Karaciğerin sol ucu apandiks fibroza hepatis adını alıp diafragma ya bağlanır.
- d.** Triangular bağlar koroner bağlardan sağ ve sol bağların uzantısıdır.
- e.** Hepatoduodenal bağ içinde v. porta, a. hepatica ve safra yolu bulunur.

Karaciğer alt yüzü sağda duodenum, kolon, sağ böbrek ve surrenal ile solda özofagus ve mide ile komşudur. Arka yüzü v.kava inferior'a bitişik ve diafragmaya doğrudan temas halinde bulunan bir alan dışında (area nuda)tamamen periton ile kaplanmıştır.(14, 15)



Şekil 2.2. Karaciğerin bağları

Karaciğerin iç organlarla komşu olan yüzünde üç oluk bulunur. Enine durumda olan ve iki yan oluğu birbiriyle birleştiren orta oluğa karaciğer kapısı (porta hepatis) denilir. Buradan, karaciğere giren çıkan kan damarları, safra yolları, sinirler ve lenf damarları geçer. Bu üç oluk karaciğerin alt yüzünü dört loba ayırır. Sağ oluğun sağında bulunan kısma sağ lob, sol oluğun solundakine sol lob, porta hepatisin önündeki parçaya lobus quadratus, arkasındakine lobus caudatus denir. Lobların en geniş ve kalını sağ lobdur. Geleneksel bu tanımlama karaciğerin segmental anatomisini açıklamakta yetersiz kalır. 1957 yılında Couinaud tarafından tanımlanan bu anatomik ayırmda, sol ve sağ loblar arasındaki anatomik bölünme safra kesesi yatağının medial kenarından arkada vena kava'ya olan hattı takip eder. Bu sınıflamaya göre üç segmentli sol lob; sol medial segmenti (segment IV) ve sol lateral segmentleri (segment II ve III) içerir. Sağ lob, portal ven ve hepatik arterin dallarına göre dört segmente ayrılır; anterior-inferior (segment V), posterior-inferior(segment VI), posterior-superior(segment VII) ve anterior-superior(segment VIII). Kaudat lob (segment I) arkada sağ ve sol hepatik loblar arasında ayrı vasküler yapılar ile yerleşmiştir. Segmentler arasında ki üç ana hepatik ven karaciğerin üst kısmında vena kava'ya açılır.(16)



Şekil 2.3. Karaciğerin segmental anatomisi

Sistemik dolaşımdan karaciğere dakikada 1500 ml kan gelir. Bunun %75'i portal venden %25'i hepatik arterden karşılanır. Hepatik arterin getirdiği kan tam oksijenize kandır. Arteriyel kanlanma çölyak trunkusun bir dalı olan a. hepatica communis yoluyla olur. A. hepatica communis, koledok kanalının medialinden porta hepatis girer ve gastroduodenal arteri vererek hepatik arter adını alır. Daha sonra sağ sol hepatik arter dallarını verir. Sistik arter genelde sağ hepatik arterden çıkar. Sol hepatik arter varyasyon olarak %20–%25 sol gastrik arterden kaynaklanır. %10–%20 sağ hepatik arter SMA'nın bir dalı olarak çıkar. Venöz dolaşım v. porta tarafından sağlanmaktadır. Tüm splanchnik dolaşımı, çölyak, SMA ve İMA'dan kanlanan tüm yapıları drene eder. V. porta içinde kapak bulunmayan bir damar olup kısmi oksijenlenmiş kan taşır. V. mezenterika superior, v. lienalis ve koroner venlerin birleşmesinden oluşur. Karaciğer hilusundan girip sağ ve sol lobları kanlandıran dallar verir. Arkada porta hepatis bulunur. Karaciğer kanı hepatik venler aracılığı ile drene olur.(17) Karaciğer lobüllerindeki santral venlerin son ortak yolları hepatik venlerdir. Sol, sağ ve orta olmak üzere üç ana hepatik ven vardır. Orta hepatik ven, ana lobar fissür üzerindedir ve sol lobun medial segmenti ile sağ lobun anterior segmentinin alt kısımlarını drene eder. Sol hepatik ven, sol lobun lateral segmentini, sağ hepatik ven ise sağ lobun posterior segmentini ve anterior

segmentinin büyük bir kısmını drene eder. Orta hepatik ven, sol ve sağ hepatik ven ile birleşir diafragmanın altında direkt olarak v. kava inferior'a dökülürler. Yüzeysel lenfatikler lobüllerin yüzeysel kısımlarından başlayıp kapsülün altından geçerek diafragma ve karaciğerin asıcı ligamentleri yoluyla posterior mediastene girer. Lobüllerin derin kısımlarından, disse aralıklarından başlayan lenf akımı ve porta hepatis etrafından kaynaklanan lenfatikler, hepatik venleri takip ederek v. kava inferior boyunca ilerler. Portal venlerle birlikte porta hepatis'e ulaşarak sisterna şili'ye oradan da duktus torasikus'a drene olur. Karaciğer medulla spinalis'in T7-T10 segmentlerindeki ganglionlardan çıkan sempatik, sağ ve sol vagustan gelen parasempatik liflerle innerve olur. Karaciğer kapsülüne ait ağrı lifleri C3-C4 yoluyla sağ omuz ve skapulaya yayılır.(11, 12)

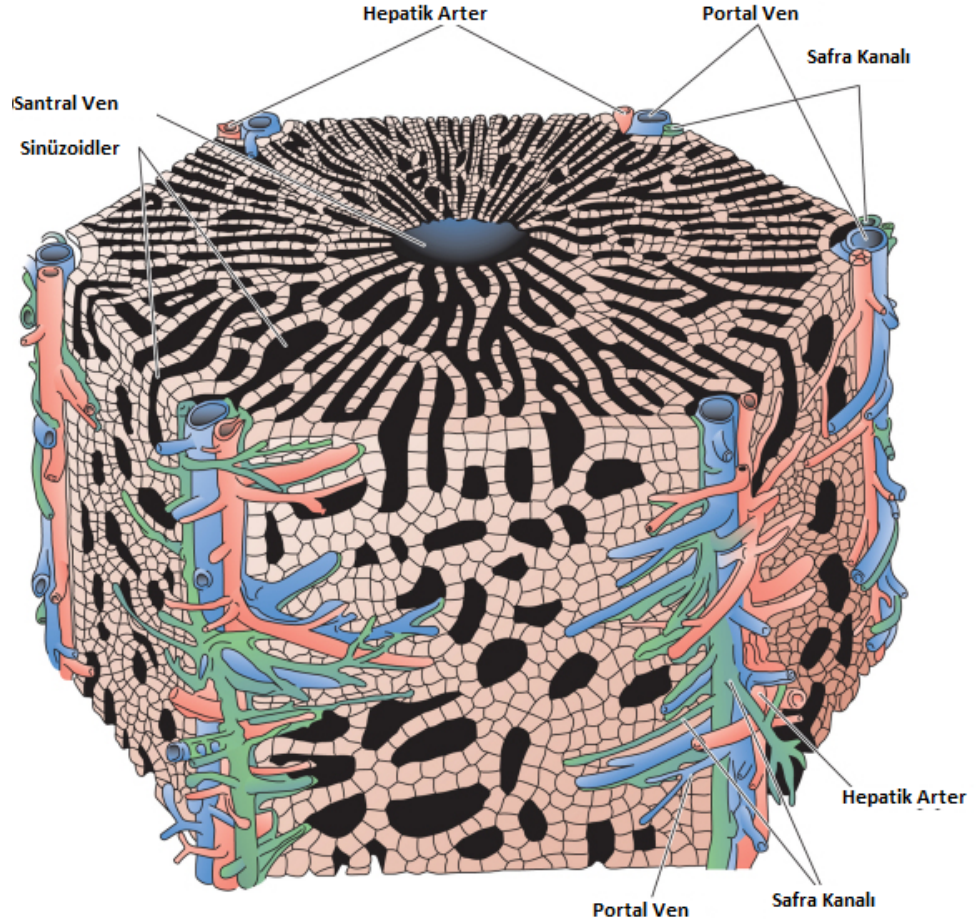
### 2.1.1. Safra Yolları Anatomisi

Karaciğerin mikroskopik incelemesinde de sınırları net belli olmayan lobüller halinde görülen bir parankime sahiptir. Karaciğerden kalbe kan taşıyan karaciğer dışı kan akım sisteminin bir dalı olan santral ven her lobülün merkezinde yer alır. Bu santral venler giderek genişleyip en sonunda v. kava inferior'a katılan v. hepatica'yı oluştururlar. Periferde ise genelde lobüller arasında bağ dokusu vardır. Karaciğerin %15'i stromal hücrelerden %85'i ise hepatositlerden oluşur. Stromal hücrelerin en önemlisi kandaki monositlerden kaynaklanan kupfer hücreleridir. Kupffer hücreleri, immün kompleksleri, endotoksinleri yaşlı ve yıpranmış eritrositleri ve patojen mikroorganizmaları (bakteri, virüs) fagosite ederler. İlave olarak inflamatuvar mediyatörler salgırlar. Karaciğerdeki bu hücrelerden aşağıda kısaca bahsedeceğiz.

**Hepatosit:** Hepatositlerde perikanaliküler ektoplazma olarak bilinen (7 nm çapında aktin mikroflamanlarından oluşan) organelden fakir sitoplazma tarafından çevrelenmiş kanaliküller bulunmaktadır. Hücreler arası çıkıntılar yaparlar ve mikrovilluslara dönüştükleri hücreler arası boşluklara açılırlar. Özellikle mikrovilluslar hücrenin şeklinin oluşmasında önemli role sahiptirler. Mikroflamanlar, safra sekresyonunda rol alarak yapı ve fonksiyonları ile safra akımını etkiler. Mikroflamanlara göre 24 nm çapındaki mikrotübüller ise karaciğer hücre sitoplazmasında daha düzensiz yerleşirler ve proteinlerin hücreler arasında taşınması ve sekresyonunda görev alırlar. (18, 19)Hepatosit membranı sinüzoidal, lateral ve kanaliküller membran olmak üzere üç farklı yapıdadır. Bu özellik önemli

biyokimyasal, morfolojik ve enzimatik farklılıklar doğurur. Kanaliküller membran, kanaliküller lümene hepatositlerden substrat sekresyonunu sağlarken, sinüzoidal ve lateral membranın da sodyum-potasyum ATPaz içerir ve kandan protein ürünlerini (safra asitleri, bilirubin, ilaç vs.) hepatosit içine alır. Alkalen fosfataz kanaliküler membranda lokalizedir. Safranin sekresyon ve transportundaki rolü tam olarak bilinmemektedir.(19)

**Kupffer Hücresi:** 1876 yılında Von Kupffer tarafından, karaciğer perisünüzoidal bağ dokusu içerisinde, özel altın klorid boya tekniği ile gösterilmiştir. Yıldız benzetilerek “Sternzellen” (stern: Yıldız) adı verilmiştir. Aschoff, 1924 yılında “retikuloendotelyal sistem” (RES) kavramını geliştirerek kolloidal boyaları absorbe eden hücrelerin aynı kökten geldiğini savunmuştur. Von Kupffer’in tanımladığı hücrelerin karaciğerde A vitamini ve yağ depolanması ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Fagositoz özelliği yanında, günümüzde bazı hücreler arası etkileşimlerde görev aldığı bilinmektedir. Kupffer hücreleri, geniş spektrumda birçok unsuru fagosite eder. Bunlar galaktoz veya apolipoprotein B, kompleman C3b, mannoz gibi unsurlardır. Kupffer hücreleri, prostaglandinler, IL, TNF ve değişik sitokinleri salgılar. Bu mediyatörler lokal hepatositleri ve kendilerini etkileyebilmektedir. Yoğun bir fagositoz gerektiği zaman Kupffer hücre salgısının hepatosit sitokrom P-450 mekanizmasını deprese ettiği ortaya konulmuştur.(18, 20) Kupffer hücrelerinin tümör hücrelerini fagosite ettiği ve bir enfeksiyon bariyeri oldukları gösterilmiştir. İntraabdominal cerrahi ve septik peritonit açısından, Kupffer hücrelerinin salgıladığı IL-10, bakteri eliminasyonunda ve IL-10-Fc füzyonu ile de koruyuculuk açısından çok önemlidir. IL-10 ayrıca IFN- $\gamma$  salgısını organize etmekte olup anti inflamatuvar rolü bulunmaktadır.(18) Karaciğer sinüzoidleri içerisinde Kupffer hücreleri hareketli olup çok değişik şekil ve yerleşimde bulunabilirler. Bu özellik onları endotelyal ve yağ depolayan hücrelerden belirgin şekilde ayırmaktadır. Kupffer hücreleri, uzantıları aracılığı ile sinüzoid içerisindeki pit hücreleri, endotel hücreleri gibi hücreler yanı sıra hepatosit ve yağ depolayan hücreler ile temas eden membranlara sahiptir. Karaciğer dokusunda Kupffer hücrelerinin hacmi, fagositik ve enzimatik aktivitesine göre heterojenite gösterir. Genelde, yüksek aktiviteli ve boyutça büyük olanlar lobül periferinde portal alanlara yakın yerleşirken küçük boyutlu olanlarsa santral vene yakın yerleşir. (18-20)



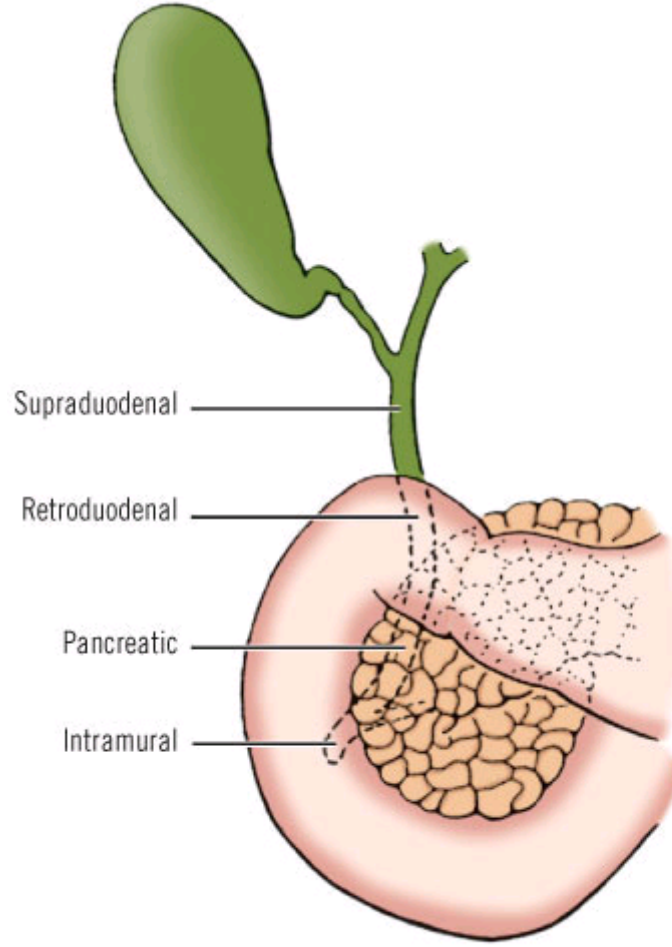
Şekil 2.4. Karaciğerin vasküler anatomisi

İntrahepatik safra yolları, cidarsız safra kapillerlerinden başlar. Bu kapillerler, içine hücre membranı tarafından safra sıvısı salgılanan karaciğer hücrelerinin arasında bulunur. Kapillerler periferde kübik epitel ile döşeli borucuklar haline gelirler. Bunlar birleşerek terminal safra yollarını oluştururlar. Karaciğer içerisinde ilerleyen bu safra yolları birbirleri ile birleşirler, sonunda kanalların sayısı gittikçe azalır ve çapları büyür. Karaciğerin sağ ve sol loblarından, sağ ve sol hepatik kanallar meydana gelmiş olur ve bunlar porta hepatis'te ana hepatik kanal oluşturmak üzere birleşirler. (18) Buna safra kesesinden gelen sistik kanalın katılması ile koledok meydana gelir. Ekstrahepatik safra yollarının başlangıç bölümünü, ana hepatik kanal oluşturur. Ana hepatik kanal omentum minusun ligamentum hepatoduodenale parçasının sağ kenarında, arteria hepaticanın ve vena portanın sağında ve her iki damarın ventralinde bulunur. Uzunluğu 2-4 cm, çapı 4 mm kadardır. Omentum minus içinde dar bir açı yaparak duktus sistikus ile birleşir ve koledok oluşturur. Bu birleşme bazen çok yukarıda, bazen çok aşağıda olabilir. Çok

nadir de olsa ana hepatik kanal ve duktus sistikus hiç birleşmezler ve ayrı ayrı duodenuma açılırlar. Koledok, omentum minus katları arasında, portal ven önünde ve hepatik arter sağında ilerler. Duodenum 1. kısmı arkasından, pankreasın baş kısmının posteriorundaki oluğun içinden geçer ve duodenumun 2. kısmına açılır. Kanal, duodenum posteromedial duvarında oblik seyreder ve bu bölümün orta kısmında sıklıkla ana pankreas kanalı ile birleşir. Böylece “ampulla vateri” oluşur. Ampulla mukoza membranını içeri doğru iterek, bir tümsek yapar ve buna “duodenal papilla” denir. Bireylerin yaklaşık % 30’ unda safra ve pankreas kanalları duodenuma ayrı ayrı açılırlar. Koledok uzunluğu 6-8 cm, çapı 4-5 mm.dir. Koledoğun komşuluk bakımından yukarıdan aşağıya dört parçası vardır:

- 1- **Supraduodenal bölüm:** lig. hepatoduodenale parçası içindedir.
- 2- **Retroduodenal bölüm:** Duodenum birinci kısmı arkasında bulunan bu parçanın posteriorunda V.cava inferior bulunur. Uzunluğu 1.5-2 cm.dir.
- 3- **Retroopankreatik bölüm:** Pankreas baş kısmının arkasında bulunan bu parçanın posteriorunda V. cava inferior ve sağ böbrek damarları, solunda V. porta bulunur. Uzunluğu 2.5-3.5 cm.dir.
- 4- **İntramural bölüm:** Duodenum 2. kısmı duvarı içinde bulunan bu parça papilla duodeni major’a ya duktus pankreatikus ile birleşerek ya da birleşmeden ayrı olarak açılır. Bu parçanın uzunluğu 1-1.5 cm.dir. Bu son parçanın papilla duodeni içindeki bölümü genişlemiştir ve ampulla vateri adını alır. Bu ampullanın çevresinde “Oddi sfinkteri” adı verilen düz kas lifleri vardır. Bu kas lifleri vasıtası ile koledok kapatılarak safranın, safra kesesinde birikerek depo edilmesi ve gerekince duodenuma akıtılması sağlanmış olur.(3, 4)





Şekil 2.5. Koledok anatomisi

Safra kesesi, karaciğerin alt yüzünde sağ ve sol lobları ayıran olukta yerleşmiştir. 4-14 cm uzunluğunda (ortalama 8,5 cm) ve 3 cm genişliğindedir. Ortalama kapasitesi 30-50 ml. dir. Fundusu ve gövdesinin  $\frac{2}{3}$ 'ü periton ile çevrelenmiştir ve görülebilir. Safra kesesi, boyun kısmının konfigürasyonuna göre varyasyonlar gösterir. Boyun kısmı uzunsa, safra kesesi tubuler yapıdadır. Boyun kısmı kısa ve genişse, sakküler veya sferik şekildedir. Karaciğer yatağındaki yerleşimine göre 3'e ayrılabilir.

- 1- Safra kesesi karaciğer yatağında sığ yerleşimlidir ve  $\frac{3}{4}$ 'ü periton ile örtülüdür.
- 2- Safra kesesi karaciğer yatağında derin yerleşimlidir ve  $\frac{1}{3}$ 'ü periton ile örtülüdür.
- 3- Pendulous safra kesesi: Kese tamamen periton ile örtülüdür. Burada sistik arter ve kanalın torsiyon riski vardır.

Safra kesesi değişik varyasyonlarda olabilir: Retroperitoneal, transvers, suprahepatik, ‘vesica divisa’ denilen çift safra kesesi, aksesuar safra kesesi, ‘Rokitansky-Aschoff Sinüs’ü’ denilen psödodivertikülün, genişlemiş İntramural uzantısı şeklinde olan “Luscka” kanalı, safra kesesi ve sistik kanalın konjenital yokluğu bunlar arasında sayılabilir.

Sistik kanal; 35 cm uzunluğunda, 2,4-4 mm genişliğindedir. Pars spiralis denilen başlangıç kısmıdır, mukozaya kıvrıntısı gibidir, kanüle etmek zordur. Sonraki kısmı sinüzoid eğim olarak tanımlanır ve ana hepatik kanalla birleşerek ana safra kanalını oluşturur. İnsanların % 75’inde sistik kanal, sağ lateralardan, duodenum ile hepatik hilusun arasında, safra kanalının orta segmentine, dorsal veya ventralden, 40° açı ile açılır. Sistik kanalın, ana hepatik kanalı önden veya arkadan çaprazlayarak soldan giriş yapması anormal bir varyasyondur. Ana hepatik kanal, 6,5 cm uzunluğunda ve 6,5 mm genişliğindedir. Sağ ve sol hepatik kanalların, porta hepatiste birleşmesiyle oluşur. Sistik kanal ile ana hepatik kanal birleşerek ana safra kanalını (koledok) oluştururlar. Sistik kanal ile ana hepatik kanal, aşağıda, retroduodenal yerleşimli olabilir veya sağ ve sol hepatik kanalın birleşim yeri ile aynı seviyede yani yüksek yerleşimli olabilir. Yüksek yerleşimde ana safra kanalı daha uzundur.(3)

## 2.2. Safra Fizyolojisi

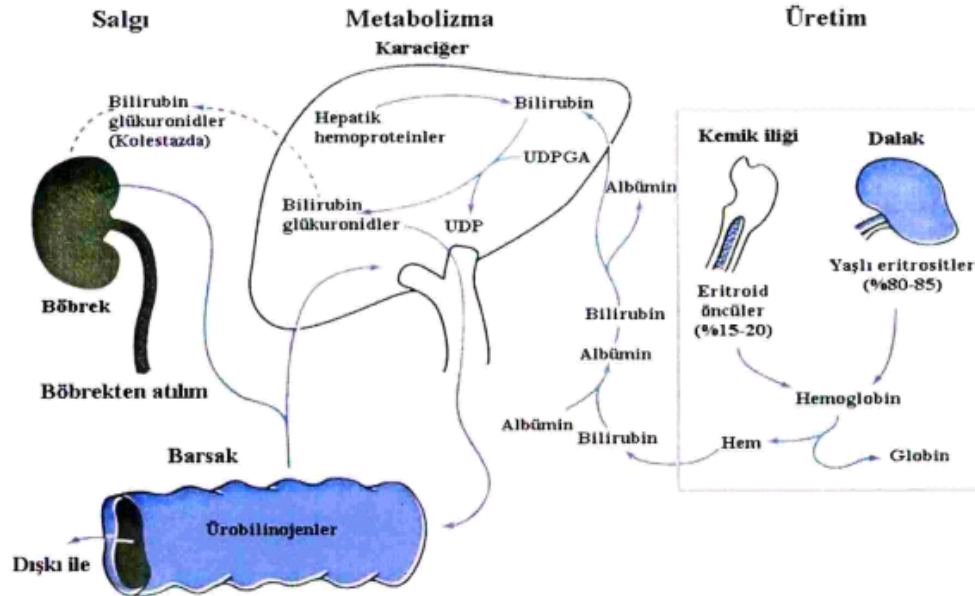
Karaciğer tarafından sürekli olarak salgılanan safra, normalde safra kesesinde depo edilerek gerektiğinde duodenuma akar. Safra yolları ve safra kesesinin en önemli fizyolojik rolü; safrayı yoğunlaştırmak, sessiz ve etkili bir şekilde ve iyi zamanlanmış olarak belirli miktarlarda barsağa iletmektir. Günlük toplam safra sekresyonu yaklaşık 500-1500 ml arasındadır. Bu miktar hepatositlerden salgılananlar ile safra kanalı hücrelerinden salgılananların toplamıdır. Safra hacmini ayarlayan esas etken safra kanalcıkları içine safra tuzlarının aktif olarak salgılanmasıdır. Sodyum ve su, izosmolalite ve elektriksel nötralite için pasif olarak salgılanır.(13, 15) Lesitin ve kolesterol de safra tuzu değişimlerini izleyecek şekilde çıkarılır. Bilirubin hepatosit tarafından aktif olarak salgılanır. Safra yollarının epiteli, safra kanalcıklarında oluşturulan bu sıvının bikarbonatını zenginleştirir. Safra kesesi hacmi 30-60 ml kadardır. Bununla beraber 12 saatlik safra salgısı kesede depo edilebilir. Açlıkta, Oddi sfinkterinin tonik kasılması sonucu karaciğer safrasının yaklaşık olarak yarısı, depolanmak ve yoğunlaştırılmak üzere safra kesesine aktarılır.

Yemekler arası dönemde safra kesesinde biriken safra genellikle yaklaşık 5 kat yoğunlaştırılır. Ancak maksimum 12-18 kat kadar yoğunlaştırılabilmesi de mümkündür. Sodyum, bikarbonat ve klor aktif transport ile lümeni terk eder; safra bileşimi değişir.(3, 21) Safradaki en bol madde olan safra tuzları, hepatositlerce kolesterol ön maddesinden yapılan steroid molekülleridir. Ön madde olan kolesterol ya vücutta sentez edilir veya yiyecekler ile dışarıdan alınır. Safra tuzlarının intestinal kanalda iki önemli görevi söz konusudur. İlk olarak besinlerdeki yağ partikülleri üzerine deterjan etkileri mevcuttur. Partiküllerin yüzey gerilimini azaltarak, küçük yağ damlacıklarına parçalanmalarına neden olurlar. İkinci olarak safra tuzları; yağ asitleri, monogliserol, kolesterol ve diğer lipidlerin intestinal kanalda emilimine yardım ederler. Safra tuzları bu işlevini lipidler ile küçük kompleksler yaparak gerçekleştirirler. Miçel adını alan bu kompleksler safra tuzlarının elektriksel yükleri nedeni ile erir durumda kalırlar. Lipidler bu yapı içinde mukozadan emilirler. İntestinal kanalda safra bulunmadığı zaman lipidlerin %40'ı feçesle kaybedilir ve yağda eriyen A,D,E,K vitaminleri absorbe edilemez. K vitamininin vücutta deposu olmadığından ve karaciğerde bazı koagülasyon faktörlerinin sentezinde rol aldığından dolayı pıhtılaşma bozuklukları ortaya çıkabilir. Kolat ve kenodeoksikolat primer safra tuzlarıdır. Barsak bakterileri bunları değiştirerek sekonder safra tuzları olan dezoksikolat ve litokolat'a dönüştürür. Primer safra tuzları geri emilirken litokolat ise dışkı ile atılır. Safra %40 kolat, %40 kenodeoksikolat, %20 dezoksikolattan oluşur. Safra asidlerinin büyük bir kısmı, ince barsak mukozasından, özellikle terminal ileumdan, etkili bir şekilde geri emilir ve safraya verilmek üzere karaciğere gelir ki, bu olaya entero-hepatik dolaşım adı verilir. (22)

Safra tuzları, lesitin ve kolesterol safradaki erimemiş maddelerin %90'ıdır. Geri kalanı, bilirubin, yağ asitleri ve inorganik tuzlardır. Safraya günde 250-300 mgr. bilirubin verilir. Eritrositlerin yıkımından kaynaklanan indirekt bilirubin, hepatosit tarafından direkt bilirubine çevrilerek safraya verilir. Direkt bilirubin barsakta ürobilinojene döner. Ürobilinojenin çok az bir kısmı entero-hepatik dolaşıma girer.

Eritrositler 120 günlük yaşamları sonunda doku makrofajları tarafından fagosite edilir. Hemoglobun ilk olarak globin ve hem'e ayrılır. Hem halkası açılarak serbest demir kand a transferinle taşınır, dört pirol çekirdeği düz bir zincir yaparak safra pigmentlerini oluşturur. Oluşan safra pigmentlerinden ilki olan yeşil pigment,

biliverdindir. Biliverdin indirgenerek sarı-kırmızı renkteki bilirubini oluşturur. Bilirubin plazmada hafifçe çözünür ve albumine kovalent olmayan bağlarla bağlanarak karaciğere taşınır. Karaciğer hücre membranınca absorbe edilen bilirubin, plazma membranından ayrılarak, karaciğer hücrelerindeki Y ve Z proteinleri adı verilen iki proteinden biri ile birleşir. Ancak, hemen sonra bilirubin bu proteinden ayrılır ve yaklaşık %80'i glukuronik asit ile birleşerek bilirubin glukuronat, %10'u sülfat ile birleşerek bilirubin sülfatı yapar, %10'u ise çeşitli maddelerle birleşir. Nonkonjuge bilirubin yağda eriyebilir, toksiktir ve albumine sıkı bir şekilde bağlanarak yüksek kan düzeylerinde bile idrarla atılmayan bir form oluşturur. Yüksek kan düzeylerinde dokulara özellikle insanlarda beyine girebilir ve toksik hasara neden olur. Konjuge bilirubin suda eriyebilir, toksik değildir ve sadece gevşek olarak albumine bağlıdır. Plazmada normalden yüksek oranda bulunduğu (tıkanma sarılıklarında olduğu gibi) idrarla atılabilir. Bilirubin bu bileşikler halinde aktif transportla safra kanalcıklarına çıkarılır. Ürobilinojenin bir kısmı barsaktan geri emilerek portal dolaşıma geçer ve böbreğe gelerek burada sarı renkli ürobiline çevrilir. İdrara rengini bu madde verir. Dışkıdaki Ürobilinojenin çoğu barsak bakterileri tarafından okside edilerek sterkobiline döner ve dışkının tipik rengini verir.



Şekil 2.5. Bilirubin Metabolizması

Safra kesesinde depolanan safra şu mekanizma ile salınır. Bazı besinlerin, özellikle de yağlı yiyeceklerin alımından sonra duodenum üst kesim duvarlarından kolesistokinin salınır. Kolesistokinin, safra kesesinin kasılması ve sfinkterin gevşemesi için en önemli fizyolojik uyarandır. Kolesistokinin kana emildikten sonra safra kesesine giderek, kesede spesifik kontraksiyonları uyarır. Bu kasılmaların yarattığı basınçla birlikte safra fişkirir tarzda duodenuma itilir. Safra kesesinin tümüyle boşalması 15 dakika içinde görülür ve bu esnada Oddi sfinkteri de gevşemiştir. Ayrıca gastrik sekresyona eşlik eden vagal stimülasyon ya da çeşitli intestinal refleksler de safra kesesinde zayıf kontraksiyonlar yaratarak akışa yardımcı olmaktadır.(3, 14)

### **2.3. Bilirubin Metabolizması**

Bilirubinün üretimini en önemli kaynağı eritrosit katabolizmasıdır. Bu üretim %80-85'i retikuloendotelyal sistemdeki (RES) kırmızı kan hücrelerinin yıkımıyla olur. Dolaşımdaki eritrositlerin ortalama ömürleri 100-120 gündür. Bu süre sonunda eritrositler retikuloendotelyal sistemde mono nükleer fagositer hücreler tarafından yıkılırlar. Bu yıkım sırasında globin, hemoglobinden hidroliz yoluyla ayrılır ve bilirubin yapımında kullanılan 'hem' ortaya çıkar. Bilirubin üretiminde kullanılan hem'in % 15-20 'lik kısmı da kemik iliğinde gelişim aşamasında eritrosit yıkımı (inefektif eritropoez) ve karaciğerde hem içeren nonhemoglobin protein yapıda olan myogloblin ve sitokromların yıkılmasıyla elde edilmektedir. Hem katabolizması mikrozomal okside edici sistemde devam eder. Hem, retikuloendotelyal sistemde hem oksijenaz ile biliverdine, biliverdin de biliverdin reduktaz ile bilirubine dönüşür.(21)

Erişkin bir insanda ortalama kan hacmi 5000 ml ve ortalama hemoglobin konsantrasyonu % 15'dir. Matur eritrositlerin her gün % 1'i yıkılmaktadır ve 7.5 gr hemoglobin açığa çıkmaktadır. 1 gr hemoglobinden 34 mg bilirubin oluşmaktadır. Bu nedenle günlük bilirubin yapımı 250-300 mg' dır. Sitozolde biliverdin reduktaz ile oluşan indirekt (konjuge olmamış) bilirubin, yağda çözünebilir formdadır ve suda çözünmez. Bu nedenle indirekt bilirubin plazmada albumine bağlı olarak taşınır. İndirekt bilirubin ile albümin arasında olan bağ reversible ve kovalent olmayan bağ şeklindedir ve bu bağlanma dokuları bilirubinün potansiyel toksik etkilerinden korur.

Bilirubin albümin kompleksi karaciğerin sinüzoidal dolaşımına portal ve hepatik arteriyel sistemlerle ulaşır. Karaciğerin sinüzoidal dolaşımına alınan bilirubinin hepatik metabolizması üç aşamada gerçekleşir.

1. Hepatosit içine alınma
2. Konjugasyon
3. Safraya atılım

İndirekt bilirubin albüminden hepatositlerin plazma membranında ayrılır. Bilirubinin hepatositlere giriş şekli net olarak bilinmemekle birlikte bu sürecin protein Y ve Z'nin de içinde buldukları bir taşıyıcı sistemle gerçekleştiği düşünülmektedir. Hepatosit sitoplazmasına taşıyıcı proteinlerle aktarılan unkonjuge bilirubin, hücre içinde, ligandine bağlanarak, düz endoplazmik retikuluma taşınır. Burada ilk basamakta UDP-glukuronil transferaz, bilirubini glukronik asitle konjuge ederek suda çözünür form olan bilirubin monoglukuronid (%15) ve diglukuronide (%85) katalizler. Daha sonra aynı enzim ya da plazma membran transglukuronidazı oluşan bilirubin monoglukuronidi bilirubin diglukuronide çevirir. Hem bilirubin monoglukuronid (% 15) hem de bilirubin diglukuronid (%85) safra kanallarına taşınarak safra yoluyla atılırlar. Böylece safra, aktif transportla safra yollarına, safra kesesine ve buradan da duodenuma suda çözünebilir direk formda (konjuge bilirubin) ulaşır. Safranın eksresyon aşaması bilirubin metabolizmasında hız sınırlayıcı basamak olarak adlandırılır.

Bilirubin metabolizmasının önemli bir bölümü de ince barsaklarda gerçekleşir. Distal ince barsaklarda ve kolonda bulunan bakteriler, direk bilirubini ürobilinojen olarak isimlendirilen bir dizi bileşiğe dönüştürürler. Bu işlem sırasında oluşan ara ürünler mezobilirubinojen ve sterkobilirubinojendir. Bu renksiz ürünler daha sonra sterkobiline dönüştürülürler. Dışkıya özel rengini veren bileşik sterkobilindir. Ürobilinojenin az bir kısmı (% 10-15) terminal ileumdan ve kolondan geri emilerek böbrekten atılır. İdrarda artmış miktarda ürobilinojen olması bilirubin üretiminin arttığının, idrarda ürobilinojen olmaması da biliyer obstrüksiyonun göstergesi olabilir. Ürobilinojen, sterkobiline dönüşemediğinde akolik gaita oluşur.(4)

İndirekt bilirubin plazmada albumine bağlı olarak taşınır ve bu nedenle böbreklerden atılamaz; ancak direkt bilirubin suda çözünebilir olduğundan

glomerüllerden filtre olur ve böbreklerden atılır. Direkt bilirubinin seviyesi arttıkça renal bilirubin atılımı 220 mg/gün'e ulaşır. Karaciğerde safra pigment yapımı 250 mg/gün olduğundan plazma bilirubin konsantrasyonunun 30 mg/dl'den daha fazla olması beklenmez.

Normal bilirubin metabolizması şu basamaklarla özetlenebilir;

- Üretim
- Hepatosit tarafından tutulum
- Konjugasyon
- Safra yollarına eksresyon
- Gastrointestinal sisteme atılım

Bu aşamalardan herhangi birisindeki defekt sarılıkla sonuçlanacaktır.

### **Hiperbilirübinemi nedenleri:**

#### **I-Non-konjuge (indirekt) Hiperbilirübinemi:**

##### **A-Aşırı bilirubin yapımı**

- 1-Hemolitik anemiler
- 2-Büyük internal hemorajilerden kanın resorpsiyonu
- 3-İnefektif eritropoez

##### **B-Azalmış hepatik alım**

- 1-İlaçlar (Rifampin, kontrast maddeler)
- 2-Muhtemel bazı Gilbert sendromu vakaları

##### **C-Bilirubin konjugasyonunda bozulma**

- 1-Gilbert sendromu
- 2-Crigler-Najjar sendromu I ve II
- 3-Yeni doğanın fizyolojik sarılığı
- 4-Diffüz hepatosellüler hastalık (siroz, hepatit)

#### **II-Konjuge (direkt) Hiperbilirübinemi (kolestatik sarılık)**

##### **A-Bilirubinin intrahepatik atılımında azalma**

- 1-Dubin-Johnson sendromu
- 2-Rotor sendromu
- 3-İlaçlar (oral kontraseptifler)
- 4-Hepatosellüler hastalık (viral hepatitler)

5-Primer biliyer siroz

6-Sklerozan kolanjit

7-Sepsis

**B-Ekstrahepatik biliyer tıkanma**

1-Safra taşları

2-Pankreas başı, ekstrahepatik safra kanalları ve ampulla vateri tm.

3-Safra yolu darlıkları (safra yolu operasyonları, Sklerozan kolanjit)

4-Ekstrahepatik biliyer atrezi

#### **2.4. Tıkanma İkteri Nedenleri**

Sarılık; deride, skleralarda, dokularda ortaya çıkan ve dolaşımdaki bilirubin miktarının artması sonucu gelişen renk değişikliği ile karakterize klinik bir durumdur. Normal serum bilirubin düzeyi 0,5–1,3 mg/dl arasındadır, serum bilirubin seviyesi 2,0 mg/dl'nin üzerine yükseldiğinde sarılık dokularda klinik olarak kendini belli eder.

Hiperbilirubinemi yapan sebeplerden tıkanma nedeniyle oluşana cerrahi sarılık, post hepatik sarılık, mekanik sarılık, obstrüktif sarılık gibi isimler verilmektedir. Sarılıklı olan hastalarda, Alkalen fosfataz seviyeleri bilirubine oranla daha fazla artar, bilirubin seviyeleri 10 mg/dl'yi geçmez. Ana safra kanalını tıkayan safra taşı olanlarda serum bilirubininin 15 mg/dl'yi geçmesi nadirdir. Daha yüksek seviyeler malign sebepleri düşündürür. Tıkanma sarılığı; safra yollarının herhangi bir noktasında çeşitli patolojilere sekonder obstrüksiyonlara bağlı safra akımının yavaşlaması veya durmasına sekonder ortaya çıkan klinik bir durumdur.(3)

Tıkanma Sarılığı bazı konjenital ve akkiz patolojilere sekonder olarak karşımıza çıkmaktadır.

**A-Konjenital Patolojiler:**

1. Safra kanalı agenezisi, hipoplazisi veya stenozu
2. Koledok ve pankreas duktusları-duodenum bileşim anomalileri
3. Koledok kisti ve koledokosel

**B-Akkiz Patolojiler:**

1. Safra taşları:
  - Koledok veya hepatik safra kanallarında
  - Safra kesesinde (Mirizzi sendromu)



Koledok taşları, safra kesesi taşı bulunan hastaların %4-12'sinde bulunurlar. Koledok taşları ekstra hepatik tıkanma sarılığının en sık nedenidir. Koledok taşlarının büyük bir kısmı safra kesesi içinde şekillenir, sistik kanaldan aşağıya göç eder. Hem ekstrahepatik ve hem de intrahepatik safra kanalları dilate hale gelir. Kronik biliyer obstrüksiyon, safra stazı, safra kanal proliferasyonu ve portal sistem fibrozisi ile sekonder biliyer siroza neden olabilir. Primer taşlar genellikle fasetsiz, sarımtırak, kahverengi ve kırılmandır. Kolanjit, kolanjiohepatit, karaciğer apseleri ve pankreatit gibi komplikasyonlara da yol açabilir.

## 2. Neoplazmlar:

- Safra kanalları, pankreas, duodenum, ampulla, safra kesesi veya karaciğerin primer tümörleri
- Safra kanallarına bası yapan veya direkt olarak invaze eden sekonder tümörler

## 3. Strüktürler:

- Postoperatif (iyatrojenik)
- Kronik pankreatit ile ilişkili
- Posttravmatik
- Ampuller stenoz ile ilişkili
- Sklerozan kolanjite bağlı (primer veya sekonder)
- Bilio-enterik anastomoz disfonksiyonu
- İdiyopatik

Oddi sfinkteri ve vater papillasının stenoz ve fibrozisinde uzun süren spazm, kolanjit ve pankreatitler önemli olabilir. Kolik tarzında gelişen sırta yayılan ağrıya bulantı, kusma eşlik eder. Hastaların yarısından fazlasında açılıp kapanan sarılık görülür.

## C- Diğer Patolojiler:

1. Parazitler
2. Arteriyel anevrizmalar
3. Duodenum divertiküller

## 2.5. Tıkanma İkterinin Karaciğer Üzerine Etkileri

Tıkanma sarılığında iki mekanik problem meydana gelir; safra barsağa aktarılamaz, entero hepatik dolaşım bozulur ve biliyer ağacın tıkanması sonucunda

safra kanallarında basınç artışı ve safra reflüsü meydana gelir. Tıkanma sarılığında total ve direkt bilirubin, serum Alkalen fosfataz (ALP), serum gama glutamil transferaz (GGT) ve serum safra asit miktarları artar. Üriner ve fekal ürobilinojen ise azalır veya yok olur. Safra yollarındaki küçük bir basınç artışı bile safranin dolaşıma regürjite olmasına neden olur. Tıkanma sarılığında kolanjiyovenöz ve kolanjiyolenfatik reflüyle birlikte portal ven basıncında önemli artış meydana gelmektedir. Ancak total hepatik kan perfüzyonu azalmaktadır. Yüksek intrabilier basınç safra sentezinde azalmaya ve buna paralel olarak safra akımının safra tuzu bağımlı komponentinde düşmeye neden olur. Safra tuzları safraya sekrete edilemez ve buna karşılık konjuge sülfatların pasif difüzyonu olur ve aktif transport vasıtasıyla idrarla atılır. Albümin, fibrinojen, protrombin, haptoglobulin, transferrin, seruloplazmin ve pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX ve X dahil olmak üzere protein sentezi, safra kanalı bağlanmasından sonra bozulur. Albüminin ise serumdaki yarı ömrü uzun olduğundan dolayı sadece biliyer obstrüksiyon uzun sürdüğünde ya da sekonder karaciğer değişiklikleri meydana geldiğinde miktarı azalır.(23)

Hepatosellüler hastalık yada sirozda görülen belirgin anormal serum aminoasit profillerine zıt olarak mekanik biliyer obstrüksiyondaki aminoasit seviyelerinden farklı değildir. İskelet kası aminoasit alımı değişmez. Malign biliyer obstrüksiyonda yapılan cerrahi sonrası mortalite ile glukoz intoleransı derecesi arası ilişki gösterilmiştir. Portal kan akımının artışına rağmen, total kan akımı düşer.

Karaciğer kan akımındaki anormallik, biliyer obstrüksiyonda görülen retiküloendotelyal fonksiyon değişikliklerinden kısmen sorumlu olabilir. Sıçanlarda, Kupffer hücrelerinin belirgin olarak şişmesi sinüzoidal kan akımını engelleyebilir ve bu hayvan modellerinde görülen yama tarzı karaciğer nekrozlarına neden olabilir. (24)

Safra yollarının tıkanması hepatik strüktür ve fonksiyonlarda birçok bozukluğa neden olur. Kollajen miktarı artar, glikojen azalır. Düz endoplazmik retikulumda sayıca azalma gözlenir. Mitokondriyal antioksidanlar (glutatyon, ubikinon) azalır, lipid peroksidasyon ürünlerinde artmayla birlikte mitokondriyal elektron transport zincirinde fonksiyon bozukluğu ortaya çıkar. Mitokondriyal respiratuar enzim aktivitesi ve ketogenez baskılanır ancak tıkanma ortadan kaldırıldıktan sonra normale döner. Hepatosellüler yaralanma sonucu interlökin-6

(IL-6), tümör nekroze edici faktör (TNF), PAF, endotoksin seviyelerinde artış olur. Protein, koagülasyon faktörleri ve albümin sentezlerinde, mikrozomal P-450, Kupffer hücre fonksiyonlarında azalma meydana gelir. Safra tuzlarının in vitro olarak sitotoksik ve deterjan etkisi vardır. Yağların ve yağda eriyen A, D, K, E vitaminlerin emilimi bozulur, kanamaya eğilim artar. (25)

## 2.6. Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stres

Hücre zedelenmesinde açıklanabilen mekanizmalardan biri kısmen oksijen türevleri ile aktifleşen, serbest radikallere bağlı gelişen hasardır(26). Serbest radikaller; kimyasal, oksijen ve diğer gaz toksisiteleri, hücresel yaşlanma, fagositoz, inflamasyon, tümör harabiyeti ve diğer olaylarda genel bir doku zedelenmesi sürecini izleyerek etkili olurlar.(27) Serbest radikal bir veya iki birleşmemiş elektron içeren stabil olmayan bir moleküldür. Serbest radikaller elektronu çiftlemek için başka moleküllerle reaksiyona girme eğilimindedir. Vücutta fizyolojik şartlarda, belli oranda üretilen radikaller, enzimatik veya nonenzimatik yollarla temizleyerek, bir denge oluşturulmakta ve metabolizma kontrol altında tutulmaktadır. Serbest radikallerin, iltihap, kanserogenez, iskemi / reperfüzyon hasarı, yaşlanma, ateroskleroz, diyabet, gibi hastalıklarda tüm organ ve dokularda gelişen hasardan sorumludur. Çeşitli SOR molekülleri oksijenin redüksiyonu ve eksitasyonu ile yapılabılır. Serbest radikaller: oksidatif fosforilasyon, pürinlerin iki basamaklı katabolizması, araşidonik asit yolu, demir ile katalizlenen reaksiyonlar, solunum patlaması gibi olayların meydana gelmesi sonucu endojen kaynaklı olabileceği gibi, doksozobusin, bleomisin, tetraklorid gibi ajanların alınması sonucu da ortaya çıkabilir (28, 29).Biyolojik sistemlerde, tartışmasız olarak kabul gören en önemli radikaller SOR'dir. Moleküler oksijen fazla reaktif değildir, başka atomlarla kolay reaksiyona girmez, çeşitli kaynaklardan gelen yüksek enerjili elektronlarla karşılaşan oksijenin tek değerli redüksiyonu başlayabilir(27, 28).

Kolestaz sonrası hepatositlerde hücresel şişme, intraduktal basınç artışına bağlı karaciğerde iskemik hasar ve sonuç olarak SOR ortaya çıkar. Bilirubinün barsağa akmaması sonucu yağda eriyen vitaminlerin (Vitamin A, E, D, K) absorpsiyonu bozulur(4). Antioksidan özelliği olan vitamin E ve A seviyesindeki azalma, SOR'ne bağlı olarak gelişen doku hasarını artırır (30, 31).

Tıkanma sarılıklı hastalarda plazma ve hepatik peroksit seviyeleri normal hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada serum MDA seviyesi serum bilirubin artışıyla paralellik göstererek yükselmiştir(30). Hepatosellüler yaralanmaya sekonder olarak plazma lipoperoksidazlarında yükselme ve antioksidan olan vitamin E seviyesinde azalma tespit edilmiştir(32)

### 2.6.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, Stelat hücre aktivasyonu ile kollajen sentezini arttırarak karaciğer fibrozu gelişiminde etkili olmaktadır. Oksidatif stres, serbest radikallerin artması veya antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflaması ile oluşabilmektedir. Serbest radikaller hepatobiliyer hastalıkların önemli bir kısmının patogeneğinde rol almaktadır. (33)

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran ve bu yüzden de oldukça reaktif kimyasal parçalardır. Solunan oksijen canlılarda hayatı idame ettirmekle birlikte, alınan miktarın % 5'nin serbest oksijen radikallerine dönüşümü sonucu, antioksidan savunma zayıflığı durumlarında zararlı da olabilmektedir. Tek bir elektronun oksijene ilave olmasıyla süper oksit anyon radikal oluşmaktadır. Bu radikal vücutta süper oksit dismutaz ile hidrojen peroksite dönüştürülmektedir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde yüksek konsantrasyonlarda ölümcül olabilir ve daha da önemlisi en toksik oksijen radikali olan hidroksil (OH) radikaline dönüşebilir. Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Bu kimyasal olay organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki doymamış yağ asiti zincirindeki  $\alpha$ -metilen gruplarındaki hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu ve bununla birlikte lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalın hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaştırılması yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olur. Lipid peroksidasyonunun zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenlerinin üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir.

Malondialdehid (MDA), oksidatif stress sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olarak lipid hasarları göstergesi olarak kullanılmaktadır.(33, 34)

### 2.6.2. Lipid Peroksidasyonu

Tıkanma sarılığında gelişen endotoksemi ve sepsisin önemli bir nedeninin nitrik oksit (NO) üretiminin artışı ve ortaya çıkan oksidatif stres olduğu düşünülmektedir. Serbest oksijen radikalleri (SOR) ile koruyucu sistemler arasındaki dengenin bozulmasına oksidatif stres denilmektedir. Bu durumda serbest oksijen radikallerine bağlı oluşan bir doku harabiyeti söz konusudur. Tıkanma sarılığında safra asitleri ve toksik safra tuzlarının etkisi ile hücre mitokondrisinden serbest oksijen radikalleri salınmakta ve bu da hücre membranında oksidatif harabiyete yol açmaktadır. Tıkanma sarılığında eritrositlerdeki oksidatif kapasite azalmakta, hücre ve dokulardaki oksidatif stresin artısına bağlı olarak eritrosit glutatyon, indirgenmiş glutatyon ve doku glutatyon havuzlarında azalma ortaya çıkmaktadır. Tıkanma sarılığında serbest oksijen radikallerinin üretimi artmakta ve anti oksidatif kapasite azalmaktadır. NO kaynağı olan nitrik oksit sentetaz (NOS) enzim ailesi üç izoenzimden oluşmaktadır. Bu enzimler nöronal NOS (nNOS veya NOS 1), indüklenebilir NOS (iNOS veya NOS 2), ve endotelyal NOS (ecNOS veya NOS 3) olarak adlandırılır. İNOS normal şartlarda sentezlenmez iken, özellikle LPS, TNF-alfa, IL-1, INF-gama gibi sitokinlerin varlığında ortaya çıkmaktadır. Endotoksemi varlığında iNOS kalsiyumdan bağımsız olarak sentezlenmekte ve NO üretimini artırmaktadır(35). Shiomi ve arkadaşları Tıkanma sarılığı oluşturulan deneklerde aşırı bir NO üretiminin olduğunu ve mitokondriyal hasarın ortaya çıkacağını belirtmektedir(36). Tıkanma sarılığında gelişen oksidatif stres önemli bir apoptozis öncüsü olarak ortaya çıkmaktadır. Oksidatif streste ortaya çıkan NO serbest oksijen radikallerinden hidroksil radikalleri (OH) ile reaksiyona girerek daha toksik olan peroksinitritlerin (ONOO-) oluşmasını sağlamaktadır. Serbest oksijen radikalleri ve peroksinitritler hücre membran lipidlerinde peroksidasyona yol açmakta, proteinleri denatüre etmekte ve DNA hasarına yol açmaktadır. DNA'da oluşan bu kırılma DNA tamir enzimi olan poli (ADP-riboz) sentetaz (PARS) enziminin aktivasyonuna yol açmaktadır. İskemi, reperfüzyon hasarı ve sepsiste ortaya çıkan oksidatif streste aktive olan PARS enzimi nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)'in hücresel seviyesini düşürmektedir. NAD düşüncü hücresel ATP seviyeside düşmekte,

hücresel disfonksiyon ve hücre ölümü ortaya çıkmaktadır(37). Tıkanma sarılığında LPS kaynaklı endotoksemi sonucunda makrofaj, nötrofil ve endotel hücrelerinden iNOS etkisi ile NO üretiminin artacağı belirtilmektedir. Tıkanma sarılığında antioksidan savunma sisteminin bozulması ile glutatyon peroksidaz (GSH) aktivitesi azalmaktadır. Üstelik sarılığın ciddiyetine bağlı olarak lipid peroksidasyonu artarken antioksidanların düzeyinin azalacağı bildirilmektedir. Bomzon ve arkadaşları tıkanma sarılığında safra asitleri ve bilirubinin aynı zamanda renal oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna yol açtığını belirtmektedir. LPS ve safra asitleri SOR ve sitokinlerin etkisi ile renal tübüler ve glomerüler hücrelerde oksidatif hasara Ve lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. Bu şekilde tıkanma sarılığında böbrek yetmezliği ve çoğul organ hasarına gidisi tetiklemektedirler(38).

### **2.6.3. Malondialdehid (MDA)**

Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu Malondialdehid (MDA) oluşur. Yağ asidi peroksidasyonu MDA' in asıl kaynağını oluşturmakla birlikte hemoglobin (Hb) ve myoglobinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile etkileşmesi ile de oluşum gerçekleşebilir(39). Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışına ve sonuçta hücrenin hasarına ve hücre içeriğinin serbestleşmesine neden olur. Peroksidasyon sonucu oluşan MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına neden olur. Bu durum hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini ve iyon transportunu etkileyebilir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olduğundan lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikal oluşumunu MDA 'yı ölçerek izlemek mümkündür(40).

### **2.6.4. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Vücutta oksidan ve antioksidan savunma sistemleri bir denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidasyon lehine dönmesi ile oksidatif hasar oluşabilir. Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için organizmada bulunan sistemler antioksidan sistemler olarak adlandırılır. Antioksidan sistemler primer, sekonder ve tersiyer olarak 3 gruptur. Primer antioksidan sistemler, serbest radikal oluşumunu engelleyerek etkili olan sistemlerdir. Serbest radikalleri biyolojik önemi olan daha zararlı moleküllere dönüşmeden etkisiz hale getirirler. Süperoksit dismutaz,

glutasyon peroksidaz, katalaz, ferritin ve seruloplazmin gibi enzimler bu grupta yer alır.(41)

Vitamin E ve C, P-karoten, ürik asit, bilirubin ve albümin sekonder antioksidanlardandır. Bunlar serbest oksijen radikallerini yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engellerler(41, 42). Tersiyer antioksidanlar etkilerini serbest radikallerin neden olduğu biyomoleküler hasarı onararak gösterirler. DNA onarım enzimleri (Glikozilaz, endonükleaz, ekzonükleaz) ve metiyonin sülfoksit redüktaz tersiyer antioksidanlardır. Antioksidan savunmanın en önemli elemanları süperoksit ve hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) temizleyen süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleridir. SOD molekül ağırlığı 32000 dalton olan mitokondri ve sitoplâzma bulunan ve süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden bakır ve çinko içeren bir metalloenzimdir. Süperoksit radikallerin daha toksik substratlar oluşturması SOD tarafından önlenir. Oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalaz ve glutasyon peroksidazla suya dönüştürülür. Katalaz dokularda çok yaygın olarak bulunan ve yüksek seviyelerdeki hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) metabolize eden bir enzimdir(43).

Glutasyon (GSH), glutamik asit, glisin ve sisteinden oluşan intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. Önemli bir antioksidan ve indirgeyici olan GSH hücreyi ekzojen ve endojen oksidazların zararlı etkilerinden korur. GSH vücutta bulunan ana antioksidan maddedir. Glutasyon sentezi, gama-glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz adlı enzimlerin katıldığı 2 basamaktan oluşur. İlk reaksiyon hız kısıtlayıcı basamaktır ve aktif olarak GSH tarafından inhibe edilir. İkinci basamak GSH ile inhibe olmaz. Glutasyon peroksidaz (Gpx), glutasyonu kullanarak düşük seviyedeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi serbest radikalleri indirger. Gpx GSH'yi indirgeyerek reaksiyonları katalizler ve GSSH ve H<sub>2</sub>O oluşur. İskemi reperfüzyon hasarında da hücre içi glutasyon düzeyi ne kadar yüksekse hücre hasarı o kadar düşük olmaktadır. Glutasyonun indirgeyici rolü, özellikle eritrositlerin yüksek okside edici ortamlarında önemlidir. GSH'in sülfidril grubu oksijen transportu sırasında oluşan peroksitleri azaltmada yararlıdır. Glutasyon indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) olarak iki şekilde bulunur. GSH zararlı oksi radikaller tarafından kullanıldığı zaman bu feedback inhibisyon kaybolur. En yüksek oranda karaciğerde bulunur. Okside olmuş E ve C vitamininin tekrar yapılandırılmasında görevlidir. GSSG/GSH

oranı oksidatif stresin önemli bir göstergesidir. Oksidatif streste bu oran artar(41, 43, 44).

### 2.6.5. Transaminazlar

Transaminazlar, bir amino grubunun, alfa-amino asitin, alfa keto aside transferini katalize eden bir grup enzim topluluğudur. Bunlar mitokondrial enzimlerdir. Transaminazların bulunduğu dokular akut bir yaralanma veya parçalanmaya uğrarlarsa bu enzimler sistemik dolaşıma katılırlar ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artma görülür. Transaminazların iki önemli tipi klinikte kullanılmaktadır. Bunlar, serum aspartat amino transferaz (AST) ve serum alanin amino transferazdır. (ALT). Bu enzimlerin değerleri Karmen ünitesi olarak ölçülmektedir. Enzimlerin normal değerleri 0-40 arasında olmalıdır. Bu enzimler bütün vücut dokularında bulunur kalp, karaciğer ve iskelet kasında daha fazla vardır. Karaciğerde daha çok ALT bulunmaktadır. Bu enzimler normal popülasyonun %2-6 oranında yüksek değerlere çıkabilmektedir. Yapılan birçok deneysel çalışmada serum enzim düzeyleri yüksekliği ile karaciğer yaralanması arasında paralellik saptanmıştır. Akut karaciğer hasarında serum enzim düzeyleri çok yüksek değerlere kadar çıkabilmektedir. Bilinmesi gereken diğer önemli bir indeks de ALT-AST oranıdır. Bu oranın ikiden yüksek olması hepatosellüler disfonksiyonu yansıtmaktadır. Akut karaciğer yaralanmasının olmadığı kronik karaciğer hastalıklarında ise, örneğin siroz olgularında bu enzimler normalin 1-1,5 misli yükselebilmektedir. Tıkanma ve kolestatik sarılıklarda da ALT ve AST 200-300 üniteye kadar çıkmaktadır. Enzim düzeylerinin çok yüksek olması ile prognoz arasında bir ilişki saptanmamıştır. Fulminan hepatitlerde karaciğerde çok fazla hücre kaybı olmasına rağmen enzimler çok yüksek değildir, fakat prognoz çok kötüdür. Bu olgularda enzimlerin yükselmesine neden olacak parankim hücresi kalmamıştır. Akut viral hepatitte ALT, AST den, akut alkolik hepatitlerde ise AST, ALT den daha yüksektir(3, 45).

Gama Glutamil Transpeptidaz(GGT): Bu enzim karaciğer hastalıklarında oldukça spesifik ve duyarlı bir enzimdir. Hepatobiliyer fonksiyon bozukluğunu çok iyi yansıtmaktadır. Gama glutamil Transpeptidaz karaciğer ve böbrekte yüksek konsantrasyonda bulunur. Hepatosellüler hasarlanmalarda, safra yolu malignensilerinde, kolanjit olgularında GGT düzeyleri yüksek seyreder.



Alkalen Fosfataz(ALP): Bu enzim organizmada birçok dokuda, özellikle kemik, barsak, karaciğer, plasenta ve böbrekte bulunur. Normal popülasyonda %2-5 arasında Alkalen fosfataz yüksek bulunabilir. Yaşlılarda bu oran %20 ye kadar çıkabilmektedir. Alkalen fosfataz bir enzim değil izoenzim topluluğudur. Normal serumda bulunan Alkalen fosfataz karaciğer kaynaklıdır. Kemik ve barsak fraksiyonunun artması bu dokularda yapımın arttığını göstermektedir. Kolestatik sarılıklarda, hepatosellüler yetmezlik olgularından daha da yüksek düzeylere ulaşabilmektedir. Primer karaciğer tümörlerinde de malign potansiyeli olan hücreler alkalen fosfataz sentez edebilirler. Fizyolojik koşullarda da alkalen fosfataz yükselebilmektedir. Gelişme çağındaki çocuklarda, bu enzim aktivitesi artar ve puberteden sonra normale döner. Plasental izoenzim aktivitesi de hamilelik döneminde yükselir. İzole alkalen fosfataz yüksekliği olan olgularda gama glutamil transpeptidaz normal düzeylerde ise alkalen fosfatazın kaynağının kesin saptanması için 5'- nükleotidaza bakılması gereklidir(4, 21). Kolestaz da özetle; biyokimyasal değerlerde, serum total bilirubini artar, total bilirubin düzeyi 3 mg/dL üzerine çıktığı zaman klinik olarak ikter belirir. Total bilirubinin %60'dan fazlasını direkt bilirubin oluşturur. Malign tıkanıklıklarda bilirubin progresif olarak artar. Serum transaminazları aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) normalin 2-3 katı artarken, alkalen fosfataz (ALP) normalin 10 katı artar. Uzamış ekstrahepatik tıkanmalarda ALP'nin normal olması nadirdir. Gama Glutamil transpeptidaz bunlara paralel olarak normalin 2-4 katı artış gösterir. (4, 21, 45)

## 2.7. Growth Faktörler

Büyüme faktörleri, hücre fizyolojisinin tanımlanmasını sağlayan en önemli makro moleküllerdir. Hücre bölünmesi ve büyümesinde görev alan bu makro moleküller, hücre membranlarındaki özgün reseptörlerine bağlanarak intrasellüler olaylar dizisini başlatırlar. Bu etkilerini endokrin, otokrin ya da parakrin yollarla gerçekleştirirler(46).

## 2.8. Hepatosit Growth Faktör

HGF başta karaciğer olmak üzere akciğer, deri, dalak, beyin, kemik iliği, plasenta gibi pek çok organ tarafından sentezlenebilen bir büyüme faktörüdür. Yapılan çalışmalarda kornea, lens, retina gibi göz içi yapılarda da HGF ekspresyonu

gösterilmiştir. İlk olarak 1984 yılında fare trombositlerinden izole edilen HGF daha sonra normal insan plazmasında da gösterilmiştir. HGF hepatositlerin proliferasyonunu stimüle etmektedir. Karaciğer parsiyel rezeksiyonu sonrasında ve diğer karaciğer hasarı oluşturan nedenlerden sonra karaciğer rejenerasyonunu arttıran mitojenlerin başında yer almaktadır(46, 47).

### **2.8.1. Hepatosit Growth Faktör'ün Sentezi ve Aktivasyonu**

HGF başta fibroblastlar olmak üzere vasküler düz kas hücreleri, glial hücreler, endotel hücreleri, makrofajlar ve aktif T lenfositler gibi pek çok mezenşimal kökenli hücre tarafından üretilmektedir. İnsan HGF geni 7.kromozomdadır. 18 ekzon ve 17 introndan oluşan HGF geni 7q21.1'de lokalizedir ve 728 aminoasitli HGF molekülünün tamamını kodlamaktadır. Olgun HGF molekülü birbirine disülfid bağı ile bağlı 439 aminoasitli  $\alpha$ , 232 aminoasitli  $\beta$  zincirlerinden oluşur. Daha sonra bu molekül hücre içinde işleminden geçirilerek 90 kDa moleküler ağırlıklı tek zincirli forma (proHGF) dönüştürülür ve hücre dışına salgılanır. ProHGF hücre dışı matrikste depolanır ve uyarıcı olmadığı sürece biyolojik olarak inaktif kalır. ProHGF molekülünün aktive olması için proteolitik bir işleminden geçmesi gerekir. Bu aktivasyon bir serin proteaz olan HGF dönüştürücü enzim (HGF converting enzyme) veya HGF aktivatörü (HGFa) ile yapılır. Bu enzimlerin aktivasyonu ile Pro-HGF molekülü Arg-Val seviyesinden proteolitik bir işlem ile parçalanır. Bu parçalanma ile birbirine disülfid bağı ile bağlı 60 kDa  $\alpha$  ve 30 kDa  $\beta$  zincirlerinden oluşan aktif HGF molekülü oluşur. Alfa zinciri molekülün reseptöre bağlanmasından,  $\beta$  zinciri ise reseptörün aktivasyonu ve biyolojik cevabın oluşturulmasından sorumludur. Aktif HGF etkisini hücre membranındaki c-met reseptörüne bağlanarak gösterir. C-met reseptörü birbirine disülfid bağları ile bağlı 50 kDa ağırlığında bir  $\alpha$  zinciri ve 145 kDa ağırlığında bir  $\beta$  zincirinden oluşur. Alfa zinciri ve  $\beta$  zincirinin amino terminali hücre dışında uzanırken,  $\beta$  zincirinin karboksit terminali membranın sitoplazmik yüzünde yer alır ve tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. HGF reseptöre bağlandığı zaman  $\beta$  zincirindeki tirozin kinaz aktive olarak otofosforile olur ve HGF sinyali hücre içine iletilir.(46, 48, 49)

### **2.8.2. Hepatosit Growth Faktör'ün Biyolojik Aktivitesi**

HGF ve c-met arasındaki ilişkinin organ gelişimi, doku rejenerasyonu ve yara

iyileşmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda HGF'nin hücre proliferasyonunu, migrasyonunu, epitel-mezenşim dönüşümünü uyardığı bildirilmiştir. Gelişmekte olan rat embriyolarında c-met geni inaktive edilirse myoblast migrasyonu durmakta, normal kas ve ekstremit gelişimi tamamlanamamaktadır. Buna ek olarak c-met defektif embriyolarda karaciğer parankimi normalden çok daha küçük olmaktadır. Böbrek gelişimi sırasında da HGF yoğun olarak üretilmekte, HGF'ye yönelik antikörlerin varlığında böbrek gelişimi durmaktadır. HGF'nin yara iyileşmesinde ve çeşitli hastalıklarda artması bu sitokinin doku iyileşmesindeki rolünü desteklemektedir. Akut böbrek yetmezliği hastalarında serum HGF düzeyi artmakta, dışarıdan HGF verilmesi renal tübüler hücrelerin yenilenmesini hızlandırmaktadır. Benzer şekilde; akut akciğer hasarı ve fulminan karaciğer yetmezliğinde de serum HGF düzeyi yükselmektedir. HGF ve EGF'nin biyolojik aktiviteleri birbirini arttırıcı niteliktedir. HGF'nin mitojenik etkileri norepinefrin ile arttırılabilmekte ve Suramin ile inhibe edilebilmektedir. Bu durum peptik ülser tedavisinde, karaciğer ve böbrek rejenerasyonunun uyarılmasında HGF'nin kullanılabileceğini düşündürmektedir(46, 49).

## **2.9. Epidermal Growth Faktör**

EGF 1962 yılında Dr. Stanle Cohen tarafından erkek farelerin submandibular bezinden elde edilmiştir. Araştırmacı elde ettiği ekstreyi yeni doğan farelere her gün verdiği zaman göz kapaklarının erken açıldığını belirlemiş ve epidermin gelişimini hızlandırdığı için bu maddeye Epidermal büyüme faktörü (EGF ) adı verilmiştir. EGF tam olarak 1972 yılında belirlenmiş ve aminoasit dizilimi ortaya konulmuştur(50).

### **2.9.1. Epidermal Growth Faktör'ün Sentezi ve Aktivasyonu**

EGF geni 4. kromozomda lokalizedir. Epidermal büyüme faktörü etkisini transmembranöz reseptörü aracılığıyla gösteren 53 aminoasitli 6 kDa molekül ağırlığında, 3 disülfid bağı içeren tek zincirli bir polipeptittir. EGFR ailesi EGFR (HER1/ErbB-1), HER2 (erbB-2/neu), HER-3 (erbB-3) ve HER-4 (erbB-4) olmak üzere 4 transmembranöz reseptörden oluşur. Bunlardan EGFR (HER1/ErbB-1); ekstraselüler ligand bağlayıcı bölge, hidrofobik transmembranöz bölge ve hücre içi tirozin kinaz bölgesinden oluşan 170 kDa'luk bir proteindir. EGFR'yi aktive

edebilen 7 farklı protein tanımlanmıştır, bunlar; EGF, TGF- $\alpha$  (Transforming Growth Factor- $\alpha$ ), Heparin-bağlayıcı EGF, Amphiregulin, Betacellulin, Epiregulin ve Neuregulin G2 $\beta$ 'dir. Bu proteinlerin hepsinde reseptöre bağlanmayı sağlayan EGF-benzeri bir bölge bulunmaktadır. Ligandın reseptöre bağlanmasıyla reseptörde homodimer veya heterodimerler oluşmakta böylece intrinsik tirozin kinaz aktive olmaktadır. Bu aktivasyon sitoplazmada spesifik tirozin bölgelerinde fosforilasyonu sağlayarak Ras/mitojen-aktive protein kinaz (MAPK), PI3K, fosfolipaz D gibi hücre içi sinyal yollarını uyarmaktadır. EGFR ailesi ve ligandları bazı organların gelişiminde önemli rol oynamaktadır(51). Epidermal büyüme faktörü ile uyarılan hücre sonuçta DNA sentezi ve hücre bölünmesine yol açan bir dizi olayları başlatır. Hücre döngüsü denetimi G1 evresinde yapar. Bu evrede hücre, çevreden aldığı tüm bilgileri toplar, değerlendirir ve büyüme ya da büyümeme konusunda karar verir. EGF'nin etkisinden yaklaşık 10-24 saat sonra hücre, DNA sentezine yol açan hızlı bir biyokimyasal ve fizyolojik değişim süresine girer. Anne EGF'si plasentadan geçemez ve erişkinde de kan beyin engelini aşamaz. EGF reseptörü kan hücreleri dışında çok geniş hücre ve doku grubunda saptanmıştır. 170 kDa molekül ağırlığında ve glikoprotein yapısındaki EGF reseptörleri, 3 ana birimden olur. Birinci kısım EGF'yi bağlayan hücre yüzeyindeki kısımdır. Sistein karbonhidratlardan zengindir. İkinci kısım hücre zarı boyunca uzanan orta parçadır. Üçüncü kısım ise, karboksil uç olarak isimlendirilen sitoplazmik kısımdır. Burası reseptörün katalitik bölgesi sayılabilir. EGF reseptör molekülü iki bağlanma alanı içeren tek bir polipeptit zincirinden oluşmuştur. Reseptör 1186 aminoasit içerir. Bunun 621 aminoasitlik hücre yüzey bölgesi, 11 ve 12. konumlarındaki asparagin aminoasidinden glikolizlenmiştir ve EGF bağlama bölgesine sahiptir. 542 aminoasit içeren sitoplazmik bölge karboksil uç olup fosforile olabilme yetisindedir ve tirozin kinaz içerir. Bu kısım uyarılardan etkilenen ilk bölümdür. Hücre dışında reseptörü ile birleşen EGF, reseptörün tirozine özgü protein kinaz bölgesini aktive ettikten sonra hücrede bir seri agregasyon ve fosforilasyon gerçekleşir. Sonuçta EGF reseptörü sitoplazmaya geçer.

Sitometrik çalmalar 1 mol EGF reseptörünün 2 mol EGF ile bağlandığını göstermektedir(46, 52, 53).

### 2.9.2. Epidermal Growth Faktör'ün Biyolojik Aktivitesi

EGF; idrar, mide ve pankreas salgısında, seminal salgı, prostat salgısı, süt ve kan ile duodenum Brunner bezlerinde, ovaryum, tiroid, özofagus, pankreas, böbrek, karaciğer ve akciğerde bulunur. Yapılan çalışmalarda EGFR defektif ratlarda deri, akciğer, pankreas, gastrointestinal sistem ve santral sinir sistemi yapılarında gelişimsel defektler olduğu gösterilmiştir. Fizyolojik koşullarda; EGFR aktivasyonu doku differansiasyonunu düzenlemekte, organogenezi modüle etmekte ve anjiogenezi uyararak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. Normalde epitelyal ve mezenşimal kökenli pek çok hücrede yaygın olarak eksprese edilen EGFR kanser hücrelerinde aktive olduğunda apapitozu inhibe etmekte, hücre proliferasyonunu, anjiogenezi, invazyonu ve metastazı ise indüklemektedir(46). Yapılan çalışmalarda mesane, göğüs, serviks, uterus, kolon, over ve akciğer kanserinde EGFR ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. Mide asit salınımını inhibe etmektedir. Prolaktin ve koryonik gonodotropin salınımını arttırmaktadır. Güçlü bir mitojen olarak rol alır. Fibroblast, böbrek, glial hücreler, over granüloza hücreleri ve tiroid hücreleri gibi epidermal ve epitelyal hücrelerin proliferasyonunu artırır ve kontrol eder. Ayrıca embriyojenik hücrelerinde proliferasyonunu artırır(53-56).

### 2.10. İnsülin Like Growth Faktör-1

IGF-1 karaciğerden sürekli olarak günde yaklaşık olarak 10 mg sentez edilmektedir. Ayrıca böbrek, akciğer, yağ dokusu ve diğer glandüler dokularda lokal olarak üretilmektedir. Ayrıca kondroblastlar, fibroblastlar ve osteoklastlar da IGF-1 üretebilmektedir. IGF-1 normal insan serumunda 150-250 mikrogram düzeyinde bulunmaktadır. İnsan sütüyle de IGF-1 salgılanmaktadır.

#### 2.10.1. İnsülin Like Growth Faktör-1 Sentezi ve Aktivasyonu

IGF-1 70 aminoasitli 7.4 kDa molekül ağırlığındadır. 12q23 kromozom bölgesinde kodlanmaktadır. IGF-1 reseptörü 350 kDa ağırlığında bir transmembranik reseptör olup 1367 aminoasitten oluşmaktadır. IGF-1 etkilerinin büyük bir kısmını IGF-1R'nin aktivasyonu ile gösterir. IGF-1R insülin reseptörü ile benzerlik gösteren tirozin kinaz aktivitesine sahip transmembranöz bir reseptördür. Bu reseptör ligand bağlama alanı bulunan 2 ekstraselüler  $\alpha$  ünitesi ve 2 transmembranöz  $\beta$  ünitesinden oluşur. Beta üniteleri hücre içi proteinlerle ilişkiyi sağlayan karboksi ucunu ve tirozin

kinaz bölgesini içerir. Ligandın reseptöre bağlanmasıyla reseptörün tirozin kinaz bölgesi otofosforile olur, böylece sinyal hücre içine iletilir. IGF-1R'nin sinyali ile aktive olan hücre içi alt yollardan en bilinenleri PI3K ve Ras/Raf/MAPK yollarıdır. Bu aktivasyonla hücrelerde apapitoz inhibe edilirken, çoğalma ve başkalaşım uyarılır. Bunlara ek olarak IGF-1R adezyon kuvvet molekülleri ve integrinleri etkileyerek hücrelerarası adezyonu ve migrasyonu da düzenler(46, 57).

### **2.10.2. İnsülin Like Growth Faktör-1 Biyolojik Aktivitesi**

Sağlıklı insanlarda dışarıdan IGF-1 verilmesi insülin gibi hipoglisemi ve serbest serum yağ asitlerinde artışa neden olmaktadır. IGF-1 in vitro mezodermal hücrelerde mitojenik aktivite göstermektedir. IGF-1 'in mitojenik etkisi IGF-2 ' ye göre daha fazladır. IGF-1 ostesitler, oligodenrositler ve nöronlar üzerinde otokrin büyüme etkisinin artmasına neden olmaktadır. IGF-1'in aktivitesi 6 izoformdan oluşan IGF-bağlayıcı proteinler (IGFBP) tarafından kontrol edilir. IGFBP'ler arasında dolaşımda en yoğun olarak bulunanı IGFBP-3'tür. IGFBP'ler dolaşımdaki IGF'nin yarı ömrünü artırarak ve hücre yüzeyine bağlı IGFBP'ler aracılığıyla reseptörler-ligand ilişkisini düzenleyerek IGF'nin etkilerini kontrol eder(58).

### **2.11. Tümör Growth Faktör – Beta 1**

TGF-beta ailesi, gelişimi çok yönlü olarak kontrol eden ekstraselüler büyüme faktörlerinin oluşturduğu büyük bir grup olup, TGF-beta 1, TGF-beta 2 ve TGF-beta 3 olmak üzere 3 alt gruptan oluşmaktadır ve bunlar sırasıyla 19, 1 ve 14. kromozom üzerinde yerleşmiş genlere sahiptirler. Yapısal olarak ilişkili çok sayıda polipeptid büyüme faktörleri içerirler ve bunların herbiri hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve ölümü gibi süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir. TGF-beta ailesinin fibroblastlar için de büyümeyi artırıcı etkisi olmasına rağmen invitro koşullarda mezenkimal hücreler için inhibitör ya da stimülatör etki gösterirler. Kültür ortamlarında osteoblastların çoğalmasını uyarır, fare böbrek hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder. Karaciğer, akciğer, barsak ve böbrek epitel hücreleri ile keratinositlerin çoğalmasını inhibe eder.

### 2.11.1. Tümör Growth Faktör – Beta 1 Sentezi ve Aktivasyonu

İnsan genomunda TGF-beta ailesi üyeleri; TGF-beta izoformları, aktivinler ve kemik morfogenetik proteinleri (BMP) 8 gen tarafından kodlanır. Bu proteinlerin sinyalleri, spesifik heteromerik kompleks olan tip I ve tip II serine/treonin kinaz reseptörlerince uyarılır. TGF-beta *invivo* ortamda propeptid halinde latent kompleks olarak üretilir ve salgılanır. Bu kompleks, uygun koşullar oluştuğunda ya da hedef hücreye ulaştığında sitokin oluşturur. TGF-beta 55 kDa ağırlığında polipeptid şeklinde sentezlenir. Prekürsör molekül kısa bir süre sonra dimerize olup, golgi aparatında parçalanır ve küçük latent TGF-beta'yı oluşturur. Bu kompleks, N-terminal propeptide non-kovalent olarak bağlanan ve LAP ("latency associated peptid") olarak adlandırılan matür bir protein içerir. Bu kompleks salgılanabilir ya da genellikle latent TGF-beta bağlayıcı protein (LTBP) ile bağlanarak büyük latent TGF beta'yı oluşturur. LTBP'yi TGF-beta'nın sekresyonunu ve ekstraselüler matrikse çıkışını kolaylaştırır. Latent TGF-beta'nın hücresel olarak tanınması ve LTBP ile ilişkili olarak hücresel matriksi tanınması önemli bir basamaktır. Latent protein aynı zamanda sitokinin stabilitesine de yardımcı olur. Serbest TGF-beta'nın yarılanma ömrü 2 dakika iken, latent formun yarılanma ömrü 90 dakikadır(59, 60).

TGF-beta sinyal yolağı, TGF-beta'nın TGF-beta tip II reseptörüne bağlanmasıyla başlar. Ligandın bağlanması TGF-beta I reseptörü ile TGF-beta II serin/treonin kinaz arasında heteromik kompleksin oluşmasını sağlar. TGF-beta I, TGF-beta II tarafından fosforillenerek aktive edilir. Aktif olan TGF-beta I reseptörü, hücre nükleusuna sinyal taşıyan Smad proteinlerini fosforiller ve aktive eder. Smad ailesine ait proteinler, tip I reseptör kinazların tanımlanmış olan ilk substratlarıdır ve reseptör sinyallerinin hücre nükleusu içindeki hedef genlere iletiminde merkezi bir rol oynar(60, 61).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.06.2010 tarih ve 164 sayılı onayı alınarak, ESOĞÜ Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (TİCAM) laboratuvarında yapılmıştır. Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından proje olarak desteklenmiştir

Çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen Sprague-Dawley cinsi 110 adet rat kullanıldı. Deney hayvanları standart laboratuvar koşullarında, rat yemi ve çeşme suyuyla beslendiler. Cinsiyet farkı gözletilmedi.

#### 3.2. Çalışma Grubu

Deney hayvanları randomize olarak;

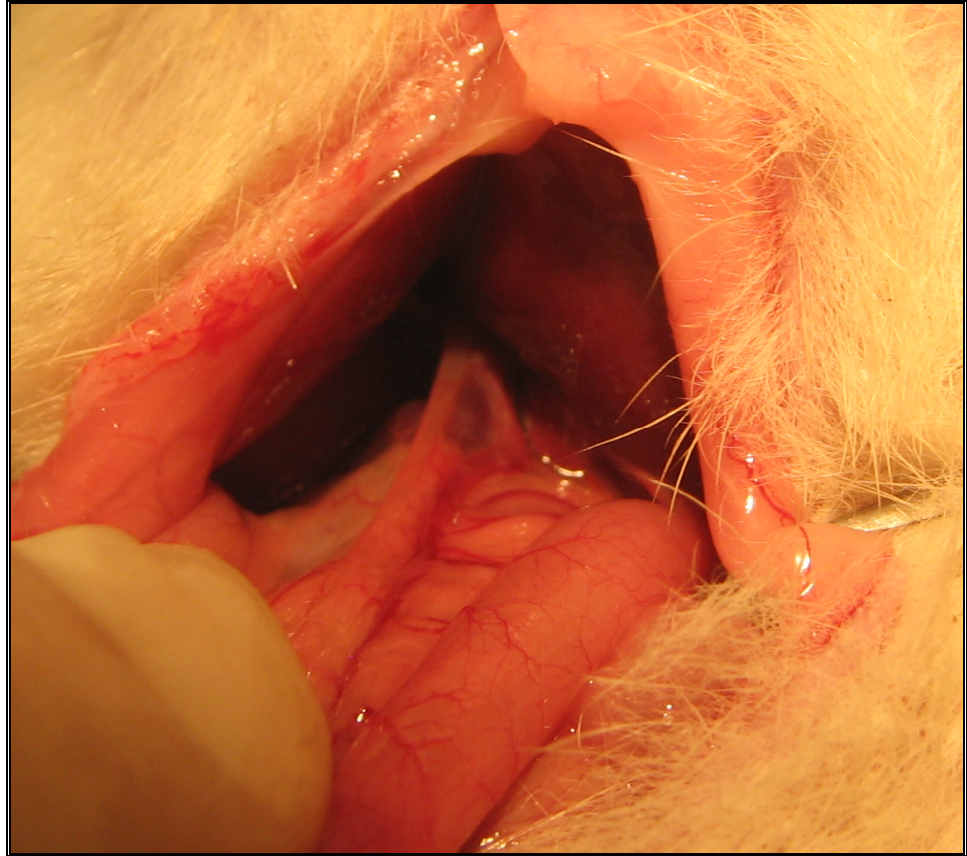
1. Sham grubu: Opere kontrol grubu (n=10)
2. Kontrol A Grubu: Koledok ligasyonu kontrol grubu (n=10)
3. Kontrol B Grubu: Koledok ligasyonu ve çözülmesi sonrası kontrol grubu.(n=10)
4. HGF A Grubu: Koledok ligasyonu +HGF tedavi grubu (n=10)
5. EGF A Grubu: Koledok ligasyonu +EGF tedavi grubu (n=10)
6. IGF A Grubu: Koledok ligasyonu +IGF tedavi grubu (n=10)
7. TGF- $\beta$  A Grubu: Koledok ligasyonu + TGF- $\beta$  tedavi grubu (n=10)
8. HGF B Grubu: Koledok ligasyonu ve çözülmesi sonrası HGF tedavi grubu.(n=10)
9. EGF B Grubu: Koledok ligasyonu ve çözülmesi sonrası EGF tedavi grubu.(n=10)
10. IGF B Grubu: Koledok ligasyonu ve çözülmesi sonrası IGF tedavi grubu.(n=10)
11. TGF- $\beta$  B Grubu: Koledok ligasyonu ve çözülmesi sonrası TGF- $\beta$  tedavi grubu.(n=10) olmak üzere 11 gruba ayrıldı.



### 3.2.1. Cerrahi Teknik ve Tedavi Uygulanması

Tüm ratlara 8 saatlik açlık sonrasında, subkutan olarak 50 mg/kg Sodyum Pentotal (Pental Sodyum, İ.E Ulagay, Türkiye) anestezisi verildi. Anestezinin ardından ratlar supin pozisyonda yatırılarak %10'luk povidon iodin (İsosol, Merkez Lab, Türkiye) ile bölge temizliği yapılarak geleneksel asepsi ve antisepsi kurallarına uyuldu. Orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı.

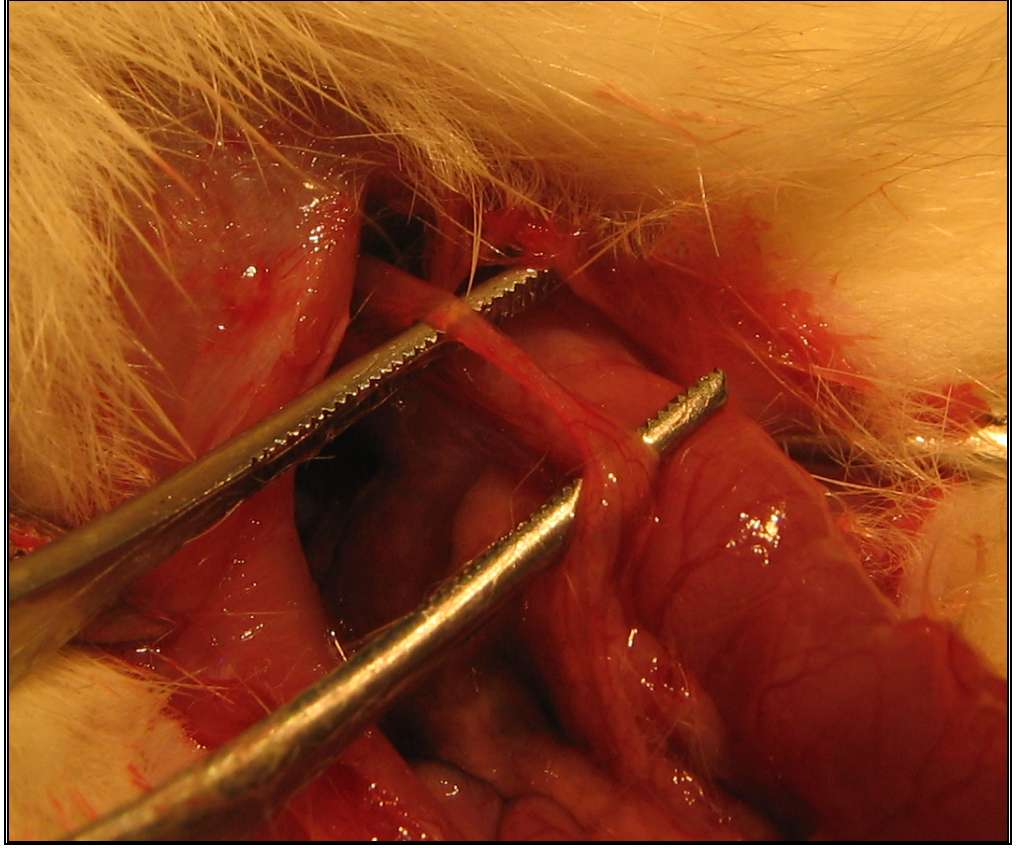
Sham grubunda karaciğer lobları arasından duodenum bulunarak askıya alınarak duodenum üzerinde koledok bulunarak disseke edildi(Şekil 3.1) Batın katları ve cilt ayrı ayrı 3/0 ipeklerle kapatılarak ratlar ayrı kafese alındı. Ratlar 7 gün süre ile standart yem ve su ile beslendi. 7 günün sonunda relaparotomi yapılarak histopatolojik inceleme için karaciğer doku örnekleri ve biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alındı.



Şekil 3.1. Koledoğun bulunması ve diseksiyon için hazırlanması

HGF A, EGF A, IGF A, TGF  $\beta$  A ve Kontrol A gruplarında duodenum askıya alınarak koledok disseke edildi. Koledok proksimal ve distal kesimlerinde 4/0 ipeklerle bağlanarak koledok ligasyonu gerçekleştirildi.(Şekil 3.2.) A gruplarında ligasyon çözülmeyeceğinden dolayı daha iyi bir kolestaz sağlamak ve teknik hataları engellemek amacıyla proksimal ve distal ligasyon tercih edildi. Koledok ligasyonunu takiben batın katları ve cilt 3/0 ipeklerle kapatılarak ratlar ayrı ayrı kafeslerine alındı. 7 gün süre ile standart yem ve su ile beslendi.

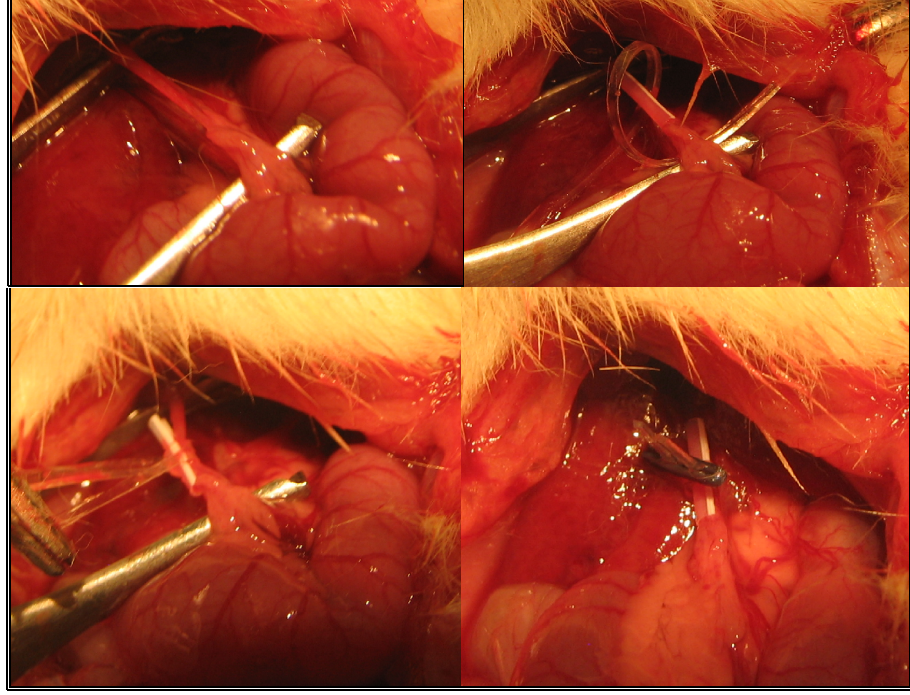
HGF A, EGF A, IGF A, TGF A gruplarında 2 günden itibaren 5 gün süre ile 150  $\mu\text{gr}/\text{kg}/\text{gün}$  HGF (*Hepatocyte Growth Factor human, Catalog Number H1404, Sigma-Aldrich, Inc.*), 5  $\mu\text{gr}/\text{kg}/\text{gün}$  EGF (*Epidermal Growth Factor human, Catalog Number E9644, Sigma-Aldrich, Inc.*), 5  $\mu\text{gr}/\text{kg}/\text{gün}$  IGF (*Insulin-like Growth Factor human, Product Number I3769, Sigma-Aldrich, Inc.*) ve 5  $\mu\text{gr}/\text{kg}/\text{gün}$  TGF  $\beta$  (*Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 human, Catalog Number T7039, Sigma-Aldrich, Inc.*) intraperitoneal olarak enjekte edildi. Relaparotomi yapılarak histopatolojik inceleme için karaciğer doku örnekleri ve biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alındı.



Şekil 3.2. Koledoğun diseksiyonu ve askıya alınması

HGF B, EGF B, IGF B, TGF  $\beta$  B ve Kontrol B gruplarında duodenum askıya alınarak koledok bulunup disseke edildi. Koledok orta kesiminde yaklaşık 1 cm'lik bir segment etrafına intraket plastiği sarılarak üzerine silikon band çift kat sarılarak askıya alındı ve silikon band gergin haldeyken mini hemoklip kullanılarak silikon band dip kısmından kliplenerek reversible koledok ligasyonu oluşturuldu. (Şekil 3.3) Koledok ligasyonunu takiben batın kapatılarak ratlar 7 gün süre ile standart yem ve su ile beslendi. Relaparotomi yapılarak koledok disseke edildi. Disseksiyon esnasında ilk operasyona sekonder yapışıklıklar dikkatli bir şekilde ayrıldı. Ana safra kanalının dilate olduğu gözlemlendi ve hemoklip alınarak silikon band çözüldü ve ligasyon çözüldü. Batın katları kapatılarak ratlar kafeslerine alındı. 5 gün süre ile HGF B, EGF B, IGF B, TGF  $\beta$  B gruplarına 150  $\mu$ gr/kg/gün HGF (*Hepatocyte Growth Factor human, Catalog Number H1404, Sigma-Aldrich, Inc.*), 5  $\mu$ gr/kg/gün EGF (*Epidermal Growth Factor human, Catalog Number E9644, Sigma-Aldrich, Inc.*), 5  $\mu$ gr/kg/gün IGF (*Insulin-like Growth Factor human, Product Number I3769, Sigma-Aldrich, Inc.*) ve 5  $\mu$ gr/kg/gün TGF  $\beta$  (*Transforming Growth Factor- $\beta$ 1*

*human, Catalog Number T7039, Sigma-Aldrich, Inc.*) intraperitoneal olarak enjekte edildi. Standart yem ve su ile beslendi. Relaparotomi yapılarak histopatolojik inceleme için karaciğer doku örnekleri ve biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alındı. Tüm gruplarda doku ve kan örnekleri alınmasını takiben ratlar dekapite edildi.



Şekil 3.3. Koledoğun reversible olarak ligasyonu.

### 3.3. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal değerlendirmeler Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalında yapıldı. Kan örnekleri silikonlu tüplere alındı. 5 dakika 6500 devirde santrifüj sonrası serumlar ayrıldı. Örneklerden; AST, ALT, ALP, GGT, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin düzeyleri ticari kitlerle çalışıldı.

### 3.4. Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi

Gruplardan alınan karaciğer doku örneklerinden Doku oksijenaz seviyesi ve MDA düzeyi çalışılmak üzere birer parça örnek alınarak -80 °C 'de saklandı. Arta kalan karaciğer dokuları ise histopatolojik inceleme yapılmak üzere %10'luk tamponlanmış formole konuldu. Alınan karaciğer dokuları homojenize edilmek

üzere buzlu kaplarda bekletildikten sonra serum fizyolojik ile homojenize edildi. Homojenizasyonu takiben örnekler 4000 g'de 15 dakika süre ile merkezkaç edildi. Elde edilen süpernatantların MDA seviyeleri ölçüldü. MDA ölçümünde tiobarbitirik asid reaktif madde metodu ile ölçüldü(62). Ölçümler spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

Doku oksijenaz kiti (*Antioxidant Assay Kit, Catalog Number CS0790, Sigma-Aldrich, Inc.*) ile çalışılmak üzere ayrılmış olan karaciğer dokuları homojenize edildikten sonra buz üzerinde bekletildi. Ardından 15000 g' de 15 dakika merkezkaç edildikten sonra elde edilen süpernatantlar tamponize edilerek plaklara yerleştirilerek 405 nm dalga boyunda seviyeleri ölçüldü.

### **3.5. Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi**

Formol takibine alınmış olan karaciğer dokuları Alkol; ksilen ve parafin işlemlerinden sonra bloklandı. Bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin, Trikrom boyası ile boyandı. Preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskopunda 10X ve 40X büyütme ile değerlendirildi. Mikroskoba bağlı olan Nikon Eclipse 80 i marka fotoğraf makinası ile fotoğraflandı.

### **3.6. İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiksel değerlendirmeler, Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapıldı. Verilerin istatistiksel değerlendirmelerinde Çalışmada SPSS15.0 ve Sigma Stat 3.1 paket programlar kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) yanı normal dağılımın incelenmesi için Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanıldı. MDA, Doku oksijenaz, ALP, AST, ALT, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin düzeyleri için tek yönlü varyans analizi (Ona-way ANOVA) uygulanmış olup, bu testin çoklu karşılaştırmalarında ise Turkey HDS metodundan yararlanılmıştır. Histopatolojik bulgular için skor değerlerinden oluşan altı parametremizin değerlendirilmesinde niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Turkey HDS testi kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun

tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

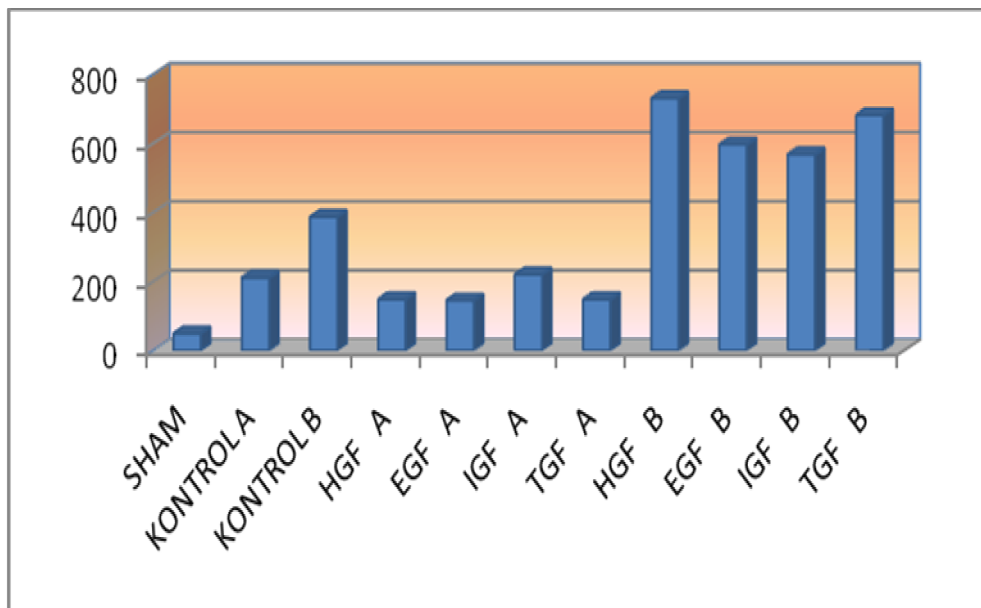
## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Tablo 4.1. Serum ALT değerleri

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SHAM	49,7 ± 6	42	57
KONTROL A	211,3 ± 80,81	121	376
KONTROL B	387,7 ± 294,53	113	955
HGF A	148,6 ± 74,97	71	305
EGF A	145,5 ± 65,36	75	284
IGF A	220,9 ± 136,43	78	449
TGF A	148,5 ± 61,91	54	210
HGF B	731,5 ± 399,44	210	1184
EGF B	597,1 ± 361,76	209	1218
IGF B	568,7 ± 219,44	234	969
TGF B	682 ± 199,5	327	955

Çalışmada ki tüm grupların serum ALT değerleri ortalama ± Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Serum ALT değerleri

ALT değerleri açısından A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). ALT değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ).

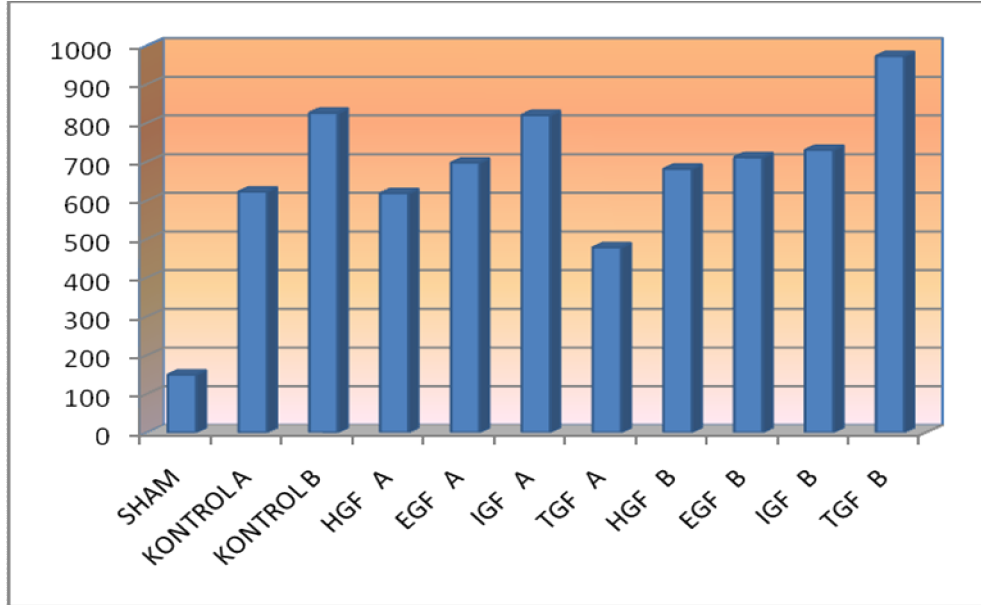
ALT değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde; HGF B ( $731,50 \pm 399,44$ ), EGF B ( $597,10 \pm 361,76$ ), IGF B ( $568,70 \pm 219,44$ ), TGF B ( $682,00 \pm 199,50$ ) gruplarının ALT değerleri, HGF A ( $148,60 \pm 74,97$ ), EGF A ( $145,50 \pm 65,36$ ), IGF A ( $220,90 \pm 136,43$ ), TGF A ( $148,50 \pm 61,91$ ) gruplarının ALT değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,05$ ). Aynı zamanda Kontrol B grubunun ALT değeri ( $387,70 \pm 294,53$ ), Kontrol A grubu ALT değerine ( $211,30 \pm 80,81$ ) göre yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.1).

Tablo 4.2. Serum AST değerleri

Grup	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	Minimum	Maksimum
<b>SHAM</b>	149,8 $\pm$ 18,93	123	177
<b>KONTROL A</b>	622,8 $\pm$ 187,04	349	893
<b>KONTROL B</b>	826,6 $\pm$ 410,62	356	1738
<b>HGF A</b>	618,6 $\pm$ 376,55	188	1297
<b>EGF A</b>	697,6 $\pm$ 298,97	248	1149
<b>IGF A</b>	820,9 $\pm$ 621,5	173	2047
<b>TGF A</b>	478,9 $\pm$ 243,28	159	915
<b>HGF B</b>	681,7 $\pm$ 226,3	510	1271
<b>EGF B</b>	711,5 $\pm$ 237,16	434	1115
<b>IGF B</b>	730,5 $\pm$ 185,72	526	1110
<b>TGF B</b>	973,3 $\pm$ 571,17	344	2015

Çalışmada ki tüm grupların serum AST değerleri ortalama  $\pm$  Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.2'de gösterilmiştir.





Şekil 4.2. Serum AST değerleri

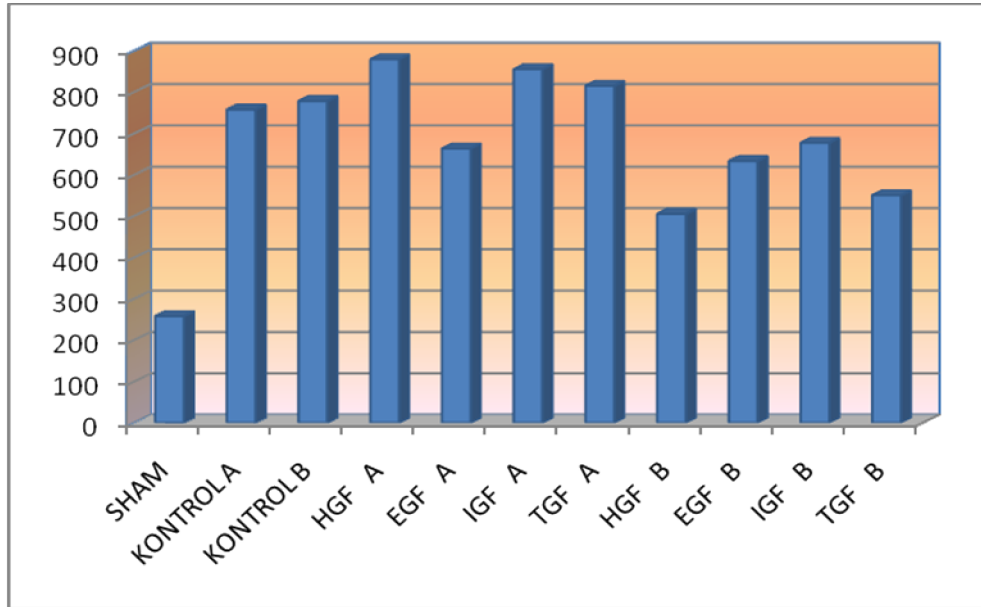
AST değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde; TGF B ( $973,30 \pm 571,17$ ) grubunun AST değerleri, TGF A ( $478,90 \pm 243,28$ ) grubu AST değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p < 0,05$ ). Kontrol B grubunun AST değeri ( $826,60 \pm 410,62$ ), Kontrol A grubu AST değerine ( $622,80 \pm 187,04$ ) göre yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ). TGF B grubu dışında AST açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi (Şekil 4.2).

Tablo 4.3. Serum ALP değerleri

Grup	Ortalama ± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SHAM	258,4 ± 23,82	218	290
KONTROL A	758,5 ± 192,11	459	1021
KONTROL B	779,1 ± 283,79	288	1211
HGF A	880,3 ± 407,1	461	1893
EGF A	664,1 ± 237,57	414	1131
IGF A	856 ± 493,76	453	2038
TGF A	815,7 ± 267,67	497	1297
HGF B	505,9 ± 302,56	83	1019
EGF B	633,9 ± 247,38	207	966
IGF B	677,9 ± 290,03	104	1211
TGF B	550,8 ± 316,82	57	1070

Çalışmada ki tüm grupların serum ALP değerleri ortalama  $\pm$  Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

AST değerleri açısından A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). AST değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ).



Şekil 4.3. Serum ALP değerleri

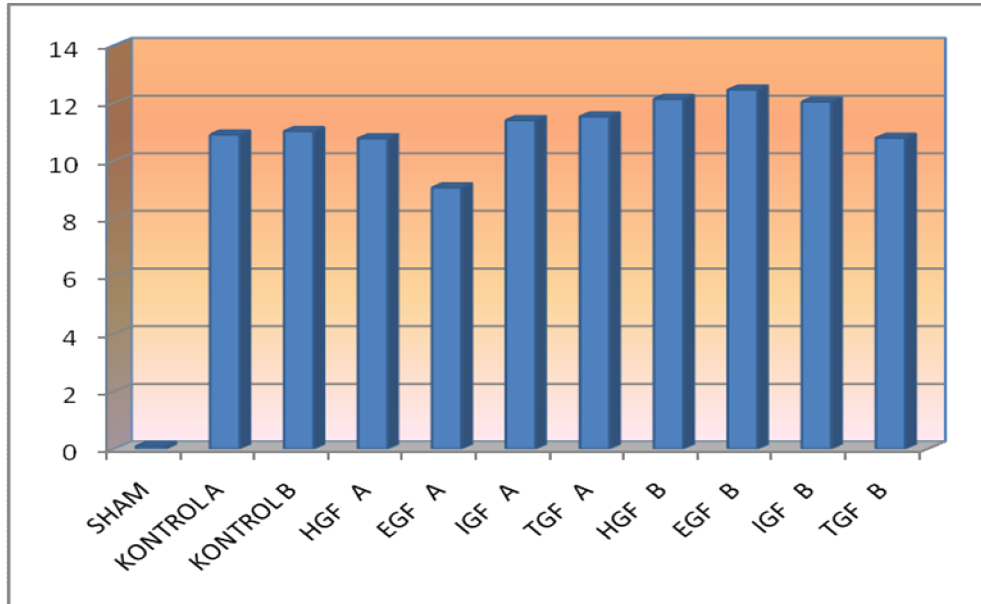
ALP değerleri açısından A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). ALP değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ).

ALP değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde; HGF B (505,90  $\pm$  302,56) grubunun ALP değerleri, HGF A (880,30  $\pm$  407,10) grubu ALP değerlerine göre anlamlı olarak düşük bulundu. ( $p<0,05$ ). Kontrol B grubunun ALP değeri (779,10  $\pm$  283,79), Kontrol A grubu ALP değerine (758,50  $\pm$  192,11) göre yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). HGF 0042 grubu dışında ALP açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi(Şekil 4.3).

Tablo 4.4. Serum Total Bilirubin değerleri

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
<b>SHAM</b>	0,09 ± 0,02	0,05	0,12
<b>KONTROL A</b>	10,9 ± 1,37	8,46	12,43
<b>KONTROL B</b>	11,02 ± 1,42	7,49	12,43
<b>HGF A</b>	10,77 ± 2,19	6,2	13,93
<b>EGF A</b>	9,07 ± 2,12	6,7	12,38
<b>IGF A</b>	11,4 ± 1,74	7,8	13,4
<b>TGF A</b>	11,53 ± 1,82	7,3	13,42
<b>HGF B</b>	12,14 ± 1,7	10,3	16,43
<b>EGF B</b>	12,46 ± 1,79	10,43	15,32
<b>IGF B</b>	12,04 ± 0,97	10,43	13,54
<b>TGF B</b>	10,79 ± 3,03	4,6	16,7

Çalışmada ki tüm grupların serum Total Bilirubin değerleri ortalama ± Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.4'de gösterilmiştir.



şekil 4.4. Serum Total Bilirubin değerleri

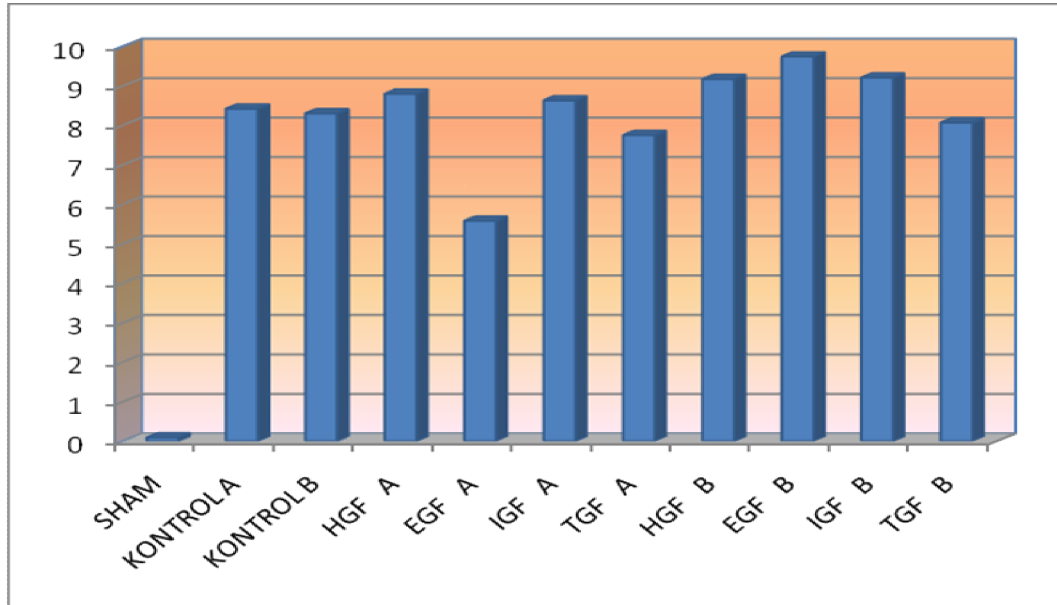
Total Bilirubin değerleri açısından A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). Total Bilirubin değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ).

Total Bilirubin değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde; EGF B ( $12,46 \pm 1,79$ ) grubunun Total Bilirubin değerleri, EGF A ( $9,07 \pm 1,12$ ) gruplarının Total Bilirubin değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,05$ ). Kontrol B grubunun Total Bilirubin değeri ( $11,02 \pm 1,42$ ), Kontrol A grubu Total Bilirubin değerine ( $10,90 \pm 1,37$ ) göre yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). EGF B grubu dışında Total Bilirubin açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi(Şekil 4.4).

Tablo 4.5. Serum Direkt Bilirubin değerleri

Grup	Ortalama±	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
<b>SHAM</b>	0,09 ±	0,15	0,02	0,5
<b>KONTROL A</b>	8,42 ±	1,25	6,45	10,21
<b>KONTROL B</b>	8,3 ±	1,39	5,78	10,01
<b>HGF A</b>	8,8 ±	2,02	4,3	11,32
<b>EGF A</b>	5,58 ±	2,57	2,4	9,57
<b>IGF A</b>	8,63 ±	2,12	4,3	10,7
<b>TGF A</b>	7,75 ±	1,98	3,4	10,43
<b>HGF B</b>	9,17 ±	1,84	6,9	13,78
<b>EGF B</b>	9,74 ±	1,54	7,4	11,67
<b>IGF B</b>	9,21 ±	1,09	6,56	10,32
<b>TGF B</b>	8,07 ±	2,86	2,28	12,58

Çalışmada ki tüm grupların serum direkt Bilirubin değerleri ortalama ± Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.5’de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Serum Direkt Bilirubin değerleri

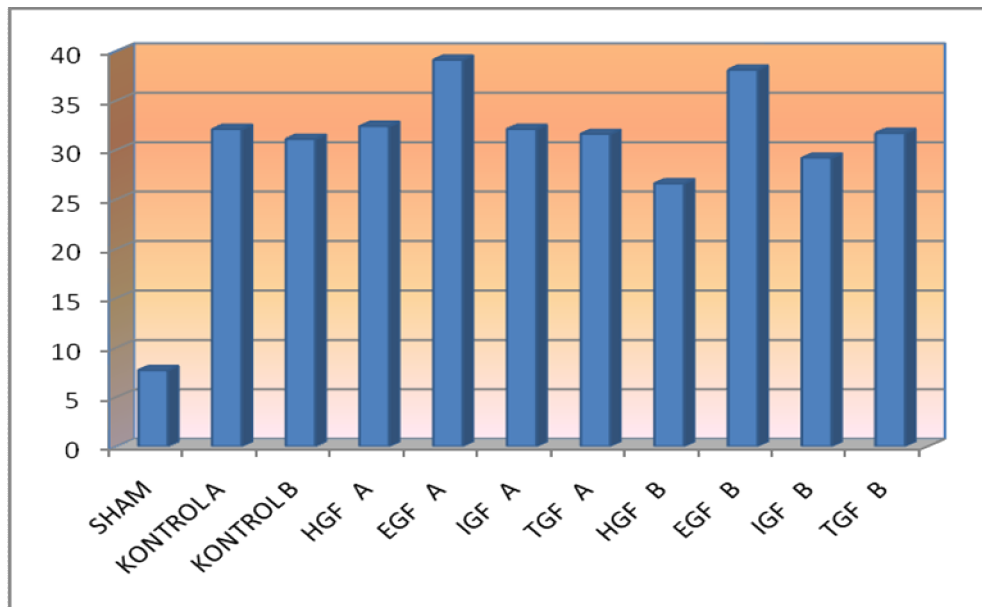
EGF A grubundaki olguların Direkt Bilirubin değerleri, HGF A, IGF A ve Kontrol grubundaki olguların Direkt Bilirubin değerlerinden anlamlı olarak düşük bulundu. ( $p < 0,05$ ). Total Bilirubin değerleri açısından diğer A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ). Direkt Bilirubin değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ).

Direkt Bilirubin değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde; EGF B ( $9,74 \pm 1,54$ ) grubunun Direkt Bilirubin değerleri, EGF A ( $5,58 \pm 2,57$ ) gruplarının Direkt Bilirubin değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p < 0,05$ ). Kontrol B grubunun Direkt Bilirubin değeri ( $8,30 \pm 1,39$ ), Kontrol A grubu Direkt Bilirubin değerine ( $8,42 \pm 1,25$ ) göre düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ). EGF B grubu dışında Direkt Bilirubin açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi (Şekil 4.5).

Tablo 4.6. Serum GGT değerleri

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SHAM	7,7 ± 1,89	5	11
KONTROL A	32,1 ± 5,51	25	43
KONTROL B	31,1 ± 5,9	23	44
HGF A	32,4 ± 6,7	23	43
EGF A	39,1 ± 10,18	23	54
IGF A	32,1 ± 4,93	24	38
TGF A	31,6 ± 7,63	20	43
HGF B	26,6 ± 5,04	21	39
EGF B	38,1 ± 5,2	28	44
IGF B	29,2 ± 4,37	23	35
TGF B	31,7 ± 3,23	26	36

Çalışmada ki tüm grupların serum GGT değerleri ortalama ± Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4,6'da gösterilmiştir.



şekil 4.6. Serum GGT değerleri

GGT değerleri açısından A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). EGF B grubundaki olguların GGT değerleri, HGF B, IGF B, TGF B ve Kontrol grubundaki olguların GGT değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,05$ ). HGF B grubundaki olguların GGT değerleri, EGF B, TGF B ve Kontrol grubundaki olguların Direkt GGT değerlerinden anlamlı olarak düşük bulundu. ( $p<0,05$ ). GGT değerleri açısından diğer B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.6).

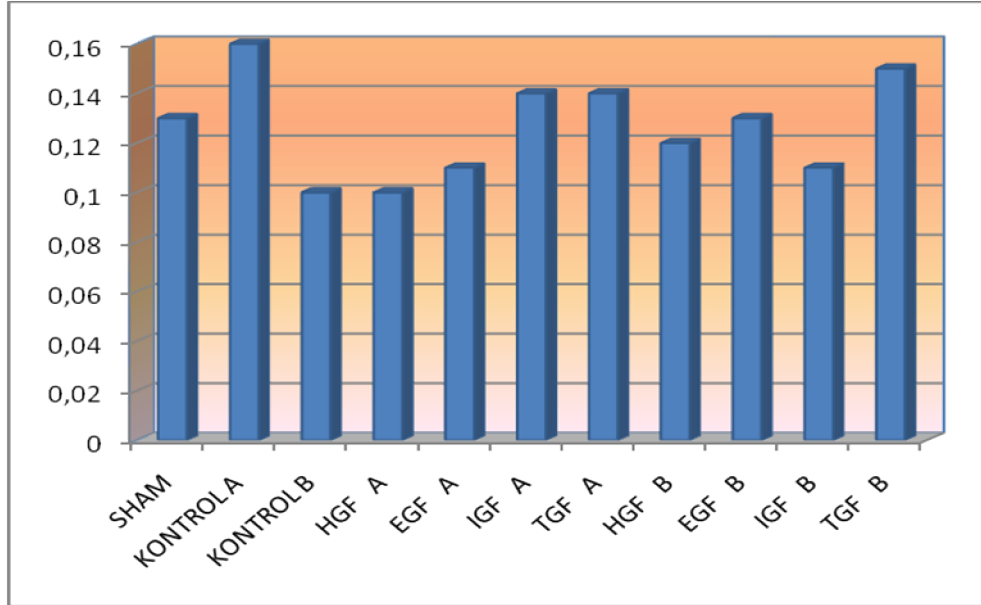
#### 4.2. Oksidatif Stres Parametreleri

Tüm gruplarda dekapitasyonu takiben karaciğer rezeke edildi. Doku oksijenaz kit ölçümü ve doku MDA seviyesi çalışılmak üzere örnekler alınarak  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Oksidatif stres parametreleri olarak karaciğer dokusunda doku MDA değerleri ölçüldü. Ayrıca karaciğer dokusunda doku oksijenaz seviyesi Doku oksijenaz kiti (Sigma-Aldrich, Inc. Antioxidant Assay Kit Catalog Number CS0790) kullanılarak ölçüldü.

Tablo 4.7. Karaciğer dokusu doku oksijenaz değerleri

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SHAM	0,13 ± 0,06	0,067	0,287
KONTROL A	0,16 ± 0,07	0,067	0,312
KONTROL B	0,1 ± 0,03	0,067	0,143
HGF A	0,1 ± 0,04	0,06	0,177
EGF A	0,11 ± 0,03	0,062	0,159
IGF A	0,14 ± 0,07	0,069	0,313
TGF A	0,14 ± 0,03	0,1	0,185
HGF B	0,12 ± 0,04	0,073	0,184
EGF B	0,13 ± 0,06	0,068	0,234
IGF B	0,11 ± 0,03	0,062	0,147
TGF B	0,15 ± 0,04	0,089	0,211

Çalışmada ki tüm grupların doku oksijenaz değerleri ortalama ± Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Karaciğer dokusu doku oksijenaz değerleri

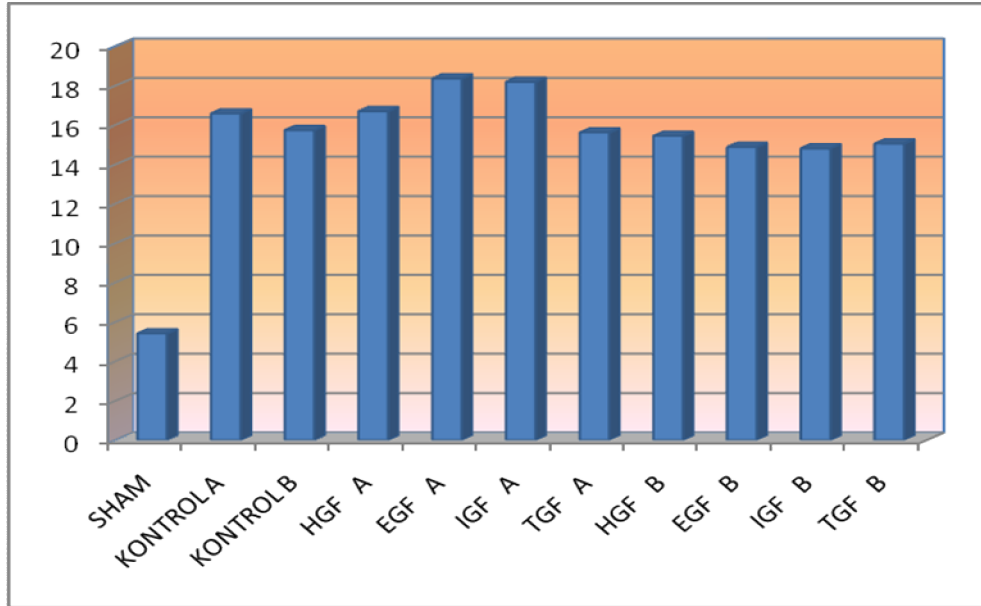
Doku oksijenaz değerleri açısından A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). Doku oksijenaz değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p>0,05$ ). Doku oksijenaz açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi. ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.7).

Tablo 4.8. Karaciğer dokusu doku MDA değerleri

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
<b>SHAM</b>	5,42 ± 1,25	3,43	6,98
<b>KONTROL A</b>	16,58 ± 1,07	14,8	18,5
<b>KONTROL B</b>	15,73 ± 1,89	13,75	19,32
<b>HGF A</b>	16,7 ± 1,61	14,6	19,45
<b>EGF A</b>	18,36 ± 1,53	15,45	20,35
<b>IGF A</b>	18,19 ± 1,76	15,5	20,85
<b>TGF A</b>	15,62 ± 1,86	13,2	18,7
<b>HGF B</b>	15,45 ± 1,64	13,23	18,65
<b>EGF B</b>	14,88 ± 2,26	11,1	18,5
<b>IGF B</b>	14,81 ± 3,25	10,54	19,45
<b>TGF B</b>	15,06 ± 2,09	12,43	18,45



Çalışmada ki tüm grupların serum doku MDA değerleri ortalama  $\pm$  Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Karaciğer dokusu doku MDA değerleri

EGF A grubundaki olguların MDA değerleri, HGF A, TGF A, IGF A ve Kontrol grubundaki olguların MDA değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p < 0,05$ ). IGF A grubundaki olguların MDA değerleri, Kontrol grubundaki olguların MDA değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p < 0,05$ ). MDA değerleri açısından diğer A grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ). MDA değerleri açısından B grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ).

MDA değerleri açısından gruplar değerlendirildiğinde; EGF B ( $14,88 \pm 2,26$ ) ve IGF B ( $14,81 \pm 3,25$ ) gruplarının MDA değerleri, EGF A ( $18,36 \pm 1,53$ ) ve IGF A ( $18,19 \pm 1,76$ ) gruplarının MDA değerlerine göre anlamlı olarak düşük bulundu. ( $p < 0,05$ ). Kontrol B grubunun MDA değeri ( $15,73 \pm 1,89$ ), Kontrol A grubu MDA değerine ( $16,58 \pm 1,07$ ) göre düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. ( $p > 0,05$ ). EGF B ve IGF B grupları dışında MDA açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi (Şekil 4.8).

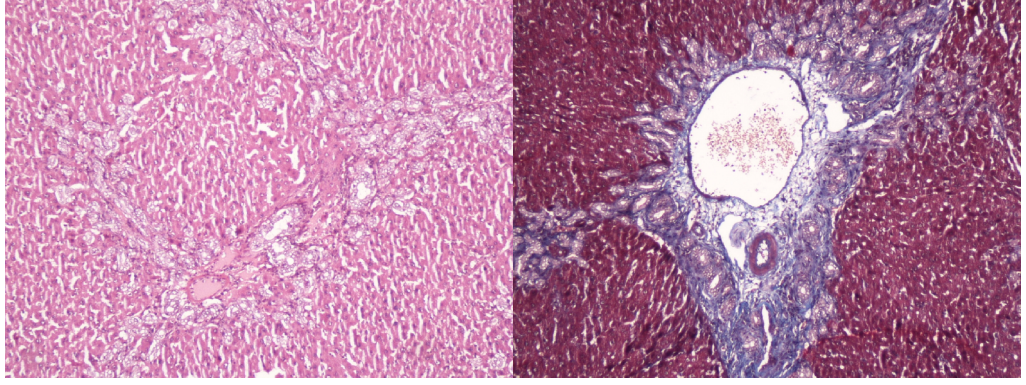
### 4.3. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İnceleme Sonuçları

Çalışmamızda tüm gruplardan alınan karaciğer dokuları histopatolojik inceleme yapılmak üzere Hemotoksile Eozin ve Trikrom boyaları ile boyandı. Duktal proliferasyon değerlendirilmesi amacıyla ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Değerlendirmede aşağıdaki derecelendirme sistemi kullanılarak skorlama yapıldı(63, 64).

Tablo 4.9. Karaciğer dokusu histopatolojik duktal proliferasyon skorlaması

SKOR	Değerlendirme
0	Portal alanların %10'unu proliferasyona katılmıştır.
1	Portal alanların %10-50'si proliferasyona katılmıştır.
2	Portal alanların %50'den fazlası proliferasyona katılmıştır.
3	Portal sistemde önemli genişleme olmaksızın portal alanın en az %50'si çevresel olarak proliferasyona katılmıştır.
4	Portal sistemde genişleme ile beraber portal alanın en az %50'si çevresel olarak proliferasyona katılmıştır.
5	Skor 4'e ilave olarak portal alanlar arasında %20'den az köprüleşme gözlenmesi.
6	Skor 4'e ilave olarak portal alanlar arasında %20'den fazla köprüleşme gözlenmesi.

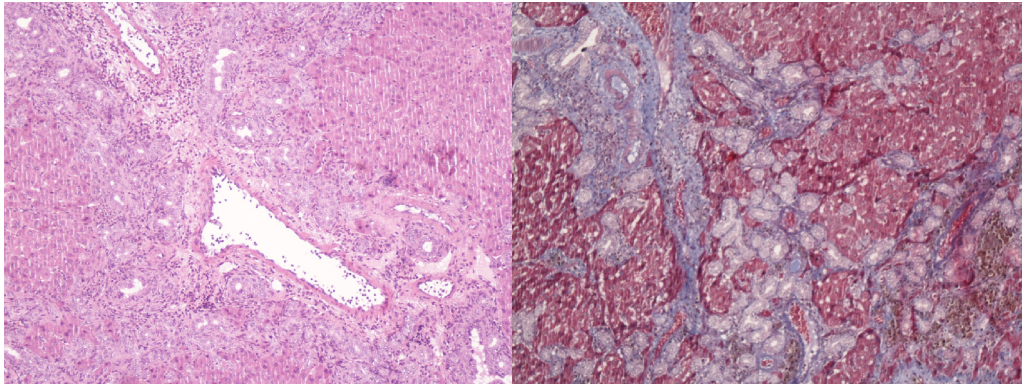
Kontrol A grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel tarzda safra duktus proliferasyonu (H&Ex10) ve portal alanda duktus proliferasyonu ve köprüleşme fibrozisi şeklinde fibröz doku artışı gözlenmiştir(Trikromx10). (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Kontrol A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

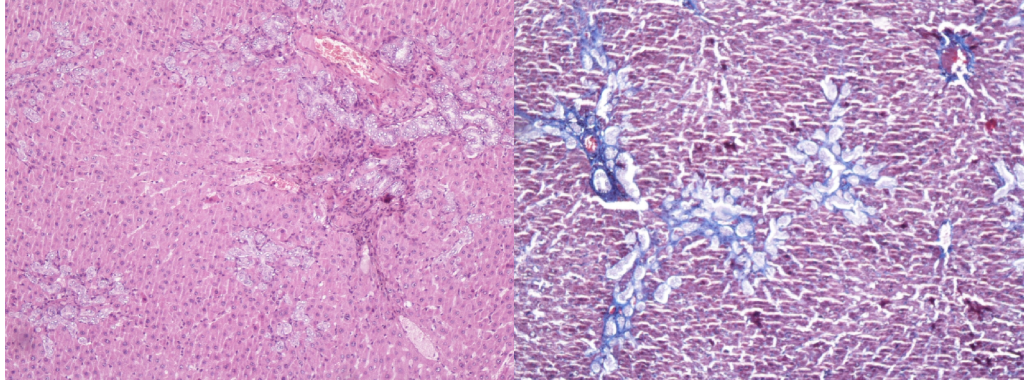
Kontrol B grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevrsel tarzda safra duktus proliferasyonu (H&Ex10) ve portal alanda duktus proliferasyonu ve köprüleşme fibrozisi şeklinde fibröz doku artışı gözlenmiştir(Trikromx10). ( Şekil 4.10)



Şekil 4.10. Kontrol B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

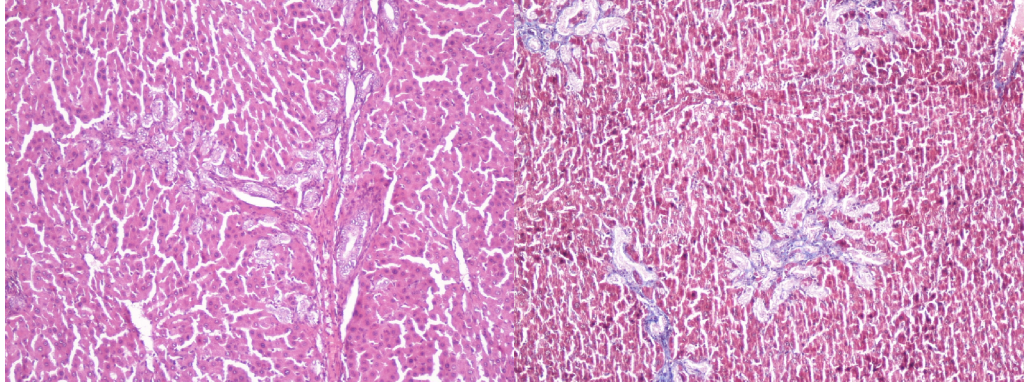
HGF A grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10 ), portal alanda safra duktuslarında fibröz genişleme şeklinde doku artışı (Trikromx10) gözlendi.(Şekil 4.11)



Şekil 4.11. HGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

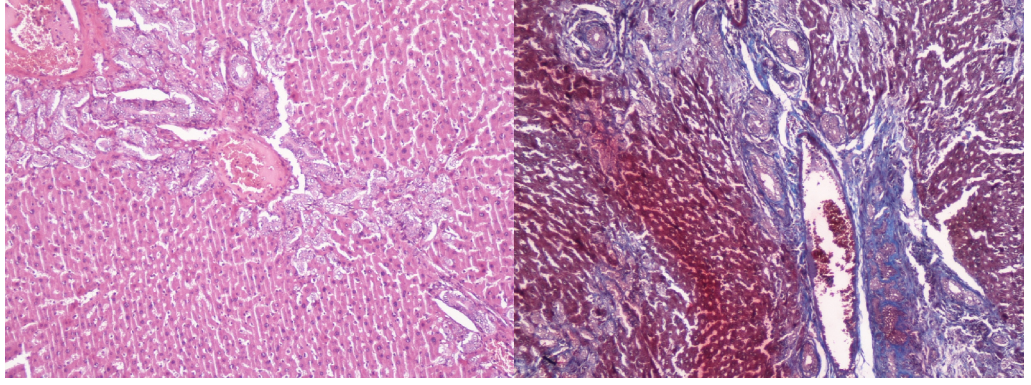
EGF A grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10 ), portal alanda safra duktuslarında fibröz genişleme şeklinde doku artışı (Trikromx10) gözlemlendi.(Şekil 4.12)



Şekil 4.12. EGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

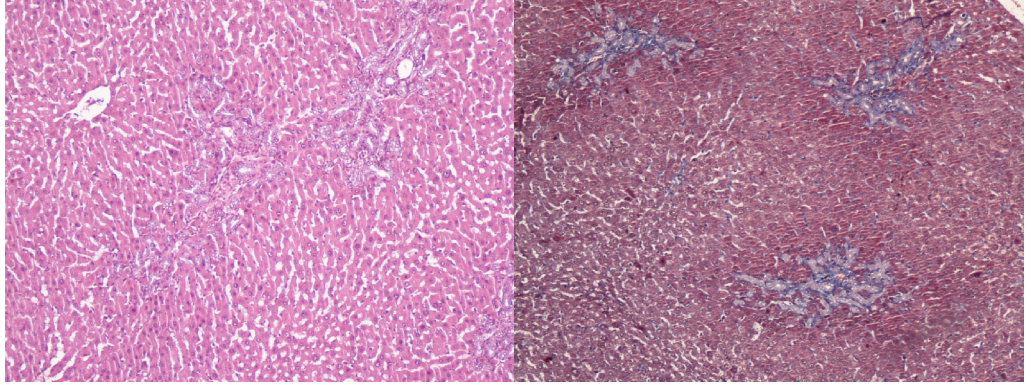
IGF A grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10 ) Safra duktus proliferasyonu yanısıra köprüleşme fibrozisi şeklinde fibröz doku artışı (Trikromx10).(Şekil 4.13)



Şekil 4.13. IGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

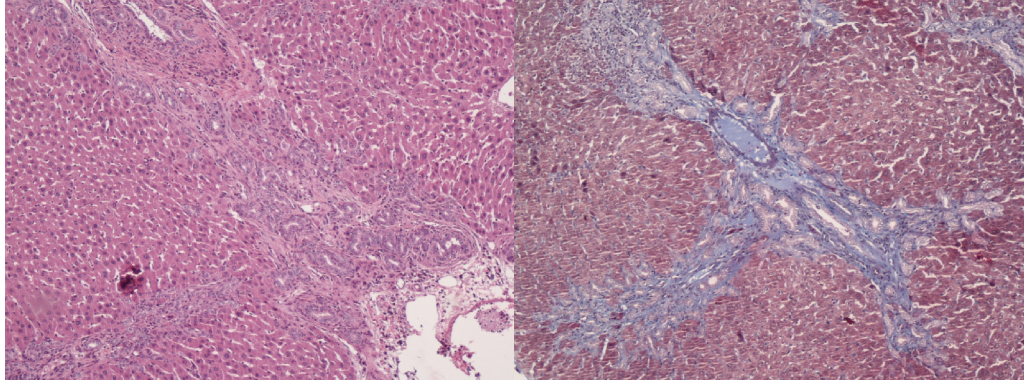
TGF A grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10) ve portal alanlarda genişleme şeklinde doku artışı (Trikrom10)(Şekil 4.14).



Şekil 4.14. TGF A grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri.

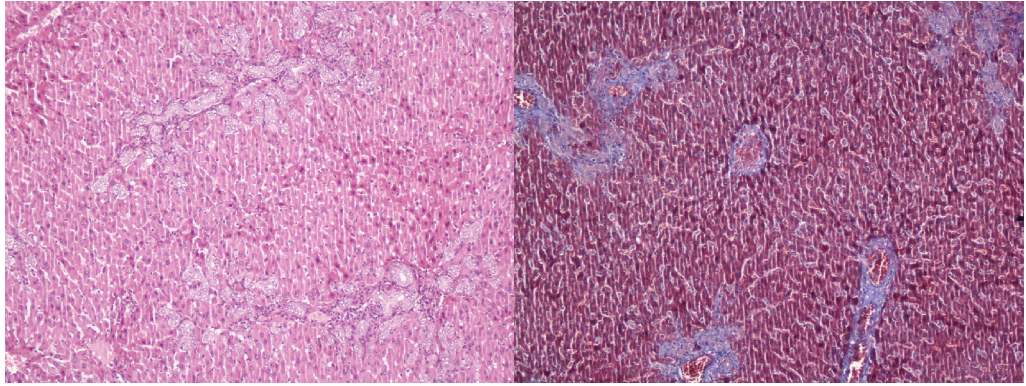
a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

HGF B grubu karaciğer dokuları kesitlerinde grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10 ), portal alanda safra duktuslarında fibröz genişleme şeklinde doku artışı (Trikromx10) gözlendi.(Şekil 4.15)



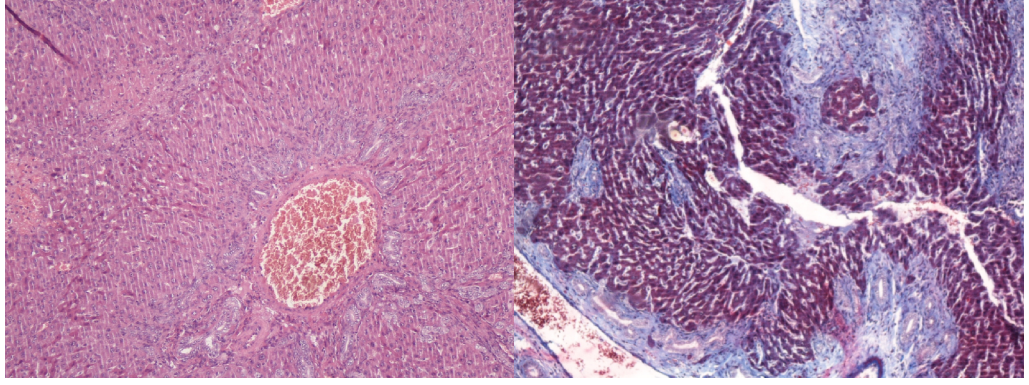
Şekil 4.15. HGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri.  
a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikröm boyama.

EGF B grubu karaciğer dokuları kesitlerinde grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10 ), portal alanda safra duktuslarında fibröz genişleme şeklinde doku artışı (Trikrömx10) gözlemlendi. EGF B grubu karaciğer dokularında skorlanmada tanımlanan bulgular yanısıra parankimde fokal nekroz alanları görüldü.(Şekil 4.16)



Şekil 4.16. EGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünümüleri.  
a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikröm boyama.

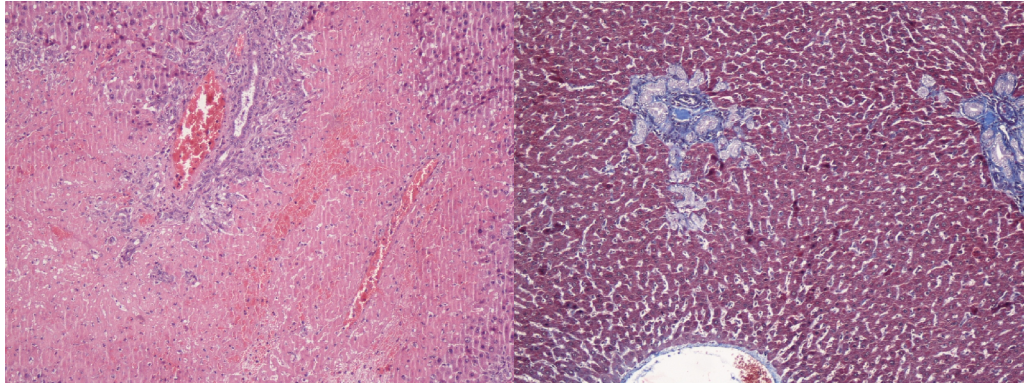
IGF B grubu karaciğer dokuları kesitlerinde grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portal alanda çevresel duktus proliferasyonu (H&Ex10 ), portal alanda safra duktuslarında fibröz genişleme şeklinde doku artışı (Trikrömx10) gözlemlendi. Bu bulguların yanısıra parankimde yer yer submasif nekroze dek ulaşan genellikle fokal tarzda nekroz alanları saptandı. (Şekil 4.11)



Şekil 4.17. IGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünüşleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

TGF B grubu karaciğer dokuları kesitlerinde portla alanda çevresel tarzda safra duktus proliferasyonu ile hepatositlerde yaygın nekroz (H&Ex10) ve portal alanlarda çevresel tarzda safra duktus proliferasyonu yanısıra fibröz genişleme şeklinde fibrozis gözlemlendi(Trikromx10). TGF B grubunda skorlamada tanımlanan bulguların yanısıra parankimde yer yer submasif nekroze dek ulaşan genellikle fokal tarzda nekroz alanları saptandı.



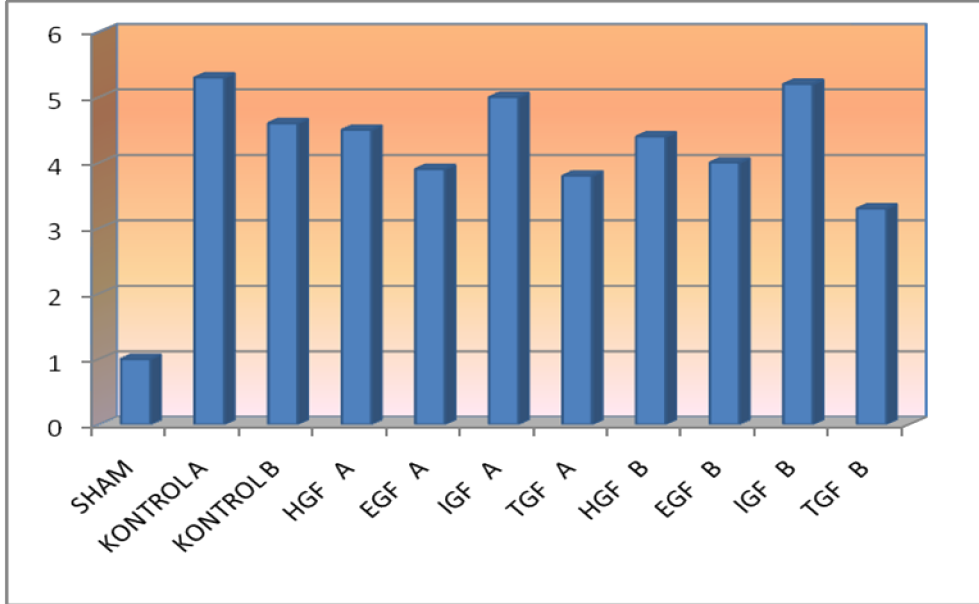
Şekil 4.18. TGF B grubu karaciğer kesitlerinin histopatolojik görünüşleri.

a)Hematoksilen Eozin boyama. b)Trikrom boyama.

Tablo 4.9. Karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirme sonuçları

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SHAM	1,24 ± 0,43	1	2
HGF A	4,50 ± 0,71	4	6
EGF A	3,90 ± 0,32	3	4
IGF A	5,00 ± 1,05	3	6
TGF A	3,80 ± 1,14	2	5
KONTROL A	5,30 ± 0,82	4	6
HGF B	4,40 ± 0,52	4	5
EGF B	4,00 ± 0,94	2	5
IGF B	5,20 ± 0,63	4	6
TGF B	3,30 ± 0,82	2	4
KONTROL B	4,60 ± 0,70	4	6

Çalışmada ki tüm grupların histopatolojik skor değerleri ortalama ± Standard sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.9’de gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirme sonuçları

EGF A ve TGF A grubundaki olguların histopatolojik skor değerleri, Kontrol A grubundaki olguların histopatolojik skor değerlerinden anlamlı olarak düşük bulundu. ( $p < 0,05$ ). IGF A grubundaki olguların histopatolojik skor değerleri, EGF A



ve TGF A grubundaki olguların histopatolojik skor değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p < 0,05$ ). IGF B grubundaki olguların histopatolojik skor değerleri, HGF B, EGF B ve TGF B grubundaki olguların histopatolojik skor değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p < 0,05$ ). TGF B grubundaki olguların histopatolojik skor değerleri, HGF B ve Kontrol B grubundaki olguların histopatolojik skor değerlerinden anlamlı olarak düşük bulundu. ( $p < 0,05$ ).

Histopatolojik skor açısından A ve B grupları arasında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi. ( $p > 0,05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Tıkanma ikteri tablosu klinikte sık olarak karşılaşılmış olduğumuz bir tablodur. Tıkanma ikterine neden olan patolojiler arasında koledok taşı, kolanjio kanserler, pankreas başı tümörleri daha ön planda yer almaktadır. Tıkanma ikteri nedeniyle karaciğerde epitel hasarı ile başlayıp karaciğerde hepatosellüler nekroz ile seyreden ve karaciğer fibrozisi ile sonuçlanan bir seri değişiklikler olmaktadır. Bu değişikliklerin yanı sıra tıkanma ikteri nedeniyle oluşa sistemik etkilerde mevcuttur. Bunlar arasında ise koagülasyon bozuklukları, sepsis, yara iyileşmesinde gecikme, malnütrisyon ön planda gelmektedir.

Tıkanma ikteri nedeniyle kliniğe başvuran hastaların genellikle başvuru esnasında bilirubin seviyeleri klinik ikter tablosu oluşturacak seviyede yüksek olmaktadır. Klinik takibin neticesinde ise hastaya perkütan eksternal biliver drenaj veya internal drenaj yöntemleri ile ikter tablosunun biran önce sonlandırılmasına çalışılmaktadır. HGF ve EGF karaciğer rejenerasyonu üzerinde olumlu etkileri mevcuttur(9, 65, 66). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise IGF-1R reseptör eksikliği oluşturulan ratlarda karaciğer rejenerasyonunda gerileme gözlenmiştir(67). TGF beta-1 safra kanalı epitelizasyonunun artışında rol oynamaktadır(68).

Tıkanma ikteri gelişmiş olan hastalarda hem serum hem de safra HGF düzeyi artmaktadır. Eksternal biliver drenaj yapılmış olan hastalarda ise drenaj işlemi sonrasında safra HGF seviyelerinde azalma gözlenmiştir. Higaki ve ark. Yapmış olduğu çalışmada eksternal biliver drenaj yapılmış olan hastalarda safra HGF seviyeleri karşılaştırılmış, bilirubin seviyelerinde anlamlı düşüş saptanan hastalarda, daha yavaş düşüş saptanan hasta grubuna göre HGF seviyeleri daha düşük olarak saptanmıştır(8).EGF karaciğer hasarın oluşturulmuş olan ratlarda karaciğer rejenerasyonunu arttırmaktadır(9).

Tıkanma ikteri nedeniyle oluşmuş olan karaciğer hasarı üzerine growth faktörlerin olumlu etkileri bilinmektedir. Ancak tıkanma ikteri tablosu oluşuktan sonra ve uzamış sarılık durumunda yapılacak olan internal veya eksternal girişimler neticesinde karaciğerde oluşacak postikterik hasara yönelik yeterli çalışma yoktur. Genellikle hastalar klinik olarak ikter tablosu geliştikten sonra sağlık kurumuna başvurmaktadır. Bu nedenle uzamış sarılık tablosu ile daha sık karşılaşılmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda tıkanma ikteri oluşurken ve ikter çözülürken karaciğerde

oluşacak olan hasar ve bu hasar üzerine growth faktörlerin etkinliği araştırıldı. Karaciğer rejenerasyonunda etkinliği bilinen HGF, EGF, IGF ve TGF beta-1 çalışmaya dahil edildi.

Tıkanma ikteri tablosunun deneysel olarak oluşturulmasında farklı deneysel modeller mevcuttur. Genellikle irreversible tıkanma ikteri oluşturmak için ana safra kanalının ligasyonu tercih edilmektedir(69). Bazı deneysel modellerde koledokun çift ligasyonunu takiben koledok tam kat kesilerek irreversible koledok ligasyonu oluşturulmuştur.

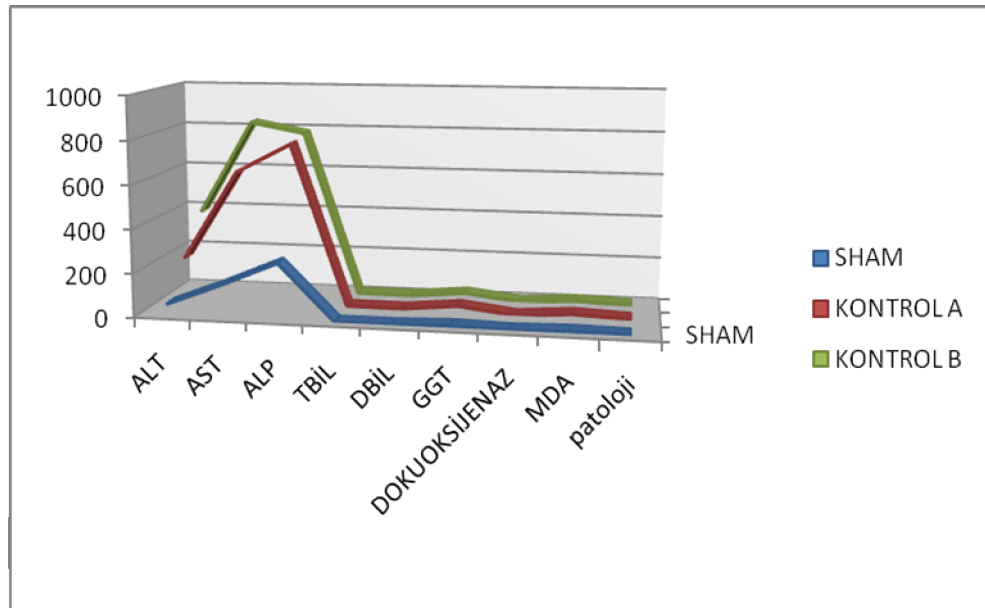
Irreversible tıkanma ikteri tablosu oluşturmak için deneysel modelimizde koledok disseke edildikten sonra çift ipekle bağlandı ve koledok kesildi. Böylece tam bir koledok ligasyonu oluşturulması amaçlandı.

Reversible tıkanma ikteri tablosu oluşturmak için literatürde değişik deneysel modeller yer almaktadır. Rodriguez ve ark. Yaptığı çalışmada koledok ligasyonu koledok etrafına sarılan bir kanül üzerine yapılan çift bağlama ile gerçekleştirilmiştir. Ligasyonu takiben 7-10. günlerde ligasyon çözülmüş ve tıkanma ikterinin gerilediği gözlenmiştir. (70) Ancak reversible koledok ligasyonunda koledokta oluşan fibrozisin tıkanma ikteri tablosunun tamamen normale dönmesini engellediği düşünülerek farklı deneysel modeller geliştirilmiştir. Bazı araştırmacılar koledok ligasyonunun reversible olmasını sağlamak amacıyla özel aparatlar geliştirmişlerdir. Yu JL ve ark. ‘‘miniocculder’’ diye adlandırılan aparat ile reversible koledok ligasyonu sağlamaya çalışmışlardır(71). Hirazawa ve ark. Geliştirmiş olduğu deneysel modelde ise koledok ile duodenum arasına yerleştirilen tüp subkutan oluşturulan tünelden geçirilmekte ve bu tüpün ligasyonu ile reversible tıkanma ikteri tablosu oluşturulmaktadır(72). Reversible koledok ligasyon modelinde karşılaşılan bir diğer problem ise ratların reeksplorasyon esnasında ve sonrasında meydana gelen komplikasyonlar nedeniyle mortalite ve morbiditenin artmasıdır. Bu problemi aşmak amacıyla Gaoxiong Yi ve ark. çift silikon tüp arasında koledokun askıya alınarak ligasyonun sağlamışlardır. Bu silikon tüpleri de batın ön duvarına sütüre etmişlerdir; ligasyonu çözmek için reeksplere etmeksizin batındaki sütür kesilerek silikon tüpler serbest bırakılmıştır (73).

Literatür bilgileri ve karşılaşılan problemler göz önünde bulundurularak deneysel modelimizde yeterli koledok diseksiyonu sonrasında, koledok etrafına

silikon tüp yerleştirildi ve silikon tüp etrafına silikon tape sarılarak bu silikon tape mini hemoklip ile kliplendi. Reeksplorasyon esnasında ise koledoğa zarar vermeksizin hemoklip alınarak silikon tape çıkarıldı. Böylece hem koledokta oluşabilecek fibrozis en aza indirgenmiş, hem de ligasyonun çözülmesi esnasında oluşabilecek koledok hasarından kaçınıldı. Koledok ligasyonu yaklaşık olarak 7-8 mm lik bir segmente yayılarak fibrozisin daha az ve reversible olacağı düşünüldü(5, 71, 73, 74).

Bizim çalışmamızda Sham grubu ile irreversible tıkanma ikteri oluşturulan kontrol grubu ( Kontrol A ) kıyaslandığında serum ALT, AST, ALP, GGT, Direkt Bilirubin, Total Bilirubin, Doku oksijenaz ve doku MDA değerleri Kontrol A grubunda belirgin olarak yüksek olarak bulunmuştur. Histopatolojik değerlendirmede ise histopatolojik skorda Kontrol A grubunda belirgin olarak artış saptanmıştır. Kontrol A grubunda köprüleşme nekrozu, santral duktal proliferasyon ve yer yer nekrotik sahalar tespit edilmiştir.



Şekil 5.1. Sham ve kontrol grupları sonuçları karşılaştırılması

Sham grubu ile irreversible tıkanma ikteri oluşturulup daha sonrasında ligasyon çözülen kontrol grubu ( Kontrol B ) kıyaslandığı zaman ise yine serum ALT, AST, ALP, GGT, Direkt Bilirubin, Total Bilirubin, Doku oksijenaz ve doku MDA

değerleri belirgin olarak artmış bulunmuştur. Histopatolojik skorlamada da Kontrol B grubunda artış olduğu gözlenmiştir. Histopatolojik kolestaz bulguları gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre deneysel modelimiz literatür bilgileri ile uyumludur.

HGF A grubu ile Kontrol A grubu kıyaslandığı zaman ALP değerleri HGF A grubunda kontrol grubuna göre yüksek olarak bulundu diğer biyokimyasal değerlerde anlamlı fark saptanmadı. Doku oksijenaz değerlerinde ise kontrol grubunda HGF A grubuna göre yüksek olarak bulundu MDA değerleri açısından fark saptanmamıştır. Histopatolojik incelemede ise HGF A grubunun histopatolojik skoru Kontrol A grubuna göre düşük olarak gözlenmiştir. Li Z. ve ark. yapmış olduğu çalışmada koledok ligasyonu yapılan ratlarda hepatosit nekrozunda azalma, hepatositlerde apoptozisi artış ve parankimal nekrozda azalma saptanmıştır (6). Ayrıca HGF'nin hepatik biliver fibrozis üzerinde de olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir(6, 7). Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde HGF A grubu ile kontrol grubu arasında literatür bilgisi doğrultusunda HGF A grubunda Kontrol A grubuna göre HGF enjeksiyonu etkili olarak bulunmuştur.

EGF A grubu ile Kontrol A grupları tüm parametreler açısından değerlendirildiği zaman EGF A grubunda direkt bilirubin seviyesinde Kontrol A grubuna göre düşük; GGT seviyeleri yüksek olarak gözlendi. Doku oksijenaz ve MDA değerleri açısından fark gözlenmedi. Histopatolojik skorları değerlendirildiğinde Kontrol A grubuna göre EGF A grubunda daha düşük olarak gözlenmiştir. Thatch ve ark. yapmış olduğu çalışmada EGF ve HGF enjeksiyonu yapılan ratlarda 7. ve 14. günlerde karaciğer dokusunda apoptotik indeksin azaldığı ve hepatik inflamatuvar yanıtın azaldığı gözlenmiştir. EGF'nin total parenteral nutrisyona bağlı oluşabilecek karaciğer hasarı üzerine olumlu etkilerinin olduğu gözlenmiştir(75).Ayrıca EGF karaciğer rejenerasyonunda rol almaktadır(76-79). Literatür bilgisi doğrultusunda EGF A grubunda EGF enjeksiyonu Kontrol A grubuna göre etkili olarak bulunmuştur.

IGF A grubu ile Kontrol A grupları biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildiği zaman anlamlı farklılık gözlenmedi. Doku oksijenaz parametreleri açısından IGF A ve Kontrol A grubu arasında fark yoktu. IGF A grubu histopatolojik skoru kontrol A grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur. Sheen-Chen ve ark. Koledok ligasyonu ile tıkanma ikteri tablosu oluşturulan ratlarda insülin like

growth faktör-1 intraperitoneal olarak uygulamışlar ve postoperatif karaciğer örneklerinde hepatik apoptozis ve duktal proliferasyon u değerlendirmişlerdir. İnsülin like growth faktör-1 kullanılan ratlarda hepatik apoptozis de ve duktal proliferasyonda artış gözlenmiştir(63). Literatür bilgisi dahilinde IGF A grubu sonuçları değerlendirildiğinde IGF uygulanan grupta kontrol grubuna göre belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir(80, 81).

TGF A grubu ile kontrol A grubu biyokimyasal parametreleri değerlendirildiğinde tüm biyokimyasal parametrelerde belirgin farklılık gözlenmemektedir. Karaciğer doku oksijenaz ve MDA seviyelerinde de iki grup benzer olarak değerlendirilmiştir. Histopatolojik skorlamada da TGF A grubu değerleri düşük olarak bulunmuştur. TGF beta-1 hepatosit rejenerasyonu ve ekstraselüler matriksin artışına neden olmaktadır(82). Sheen Chen ve ark. yapmış olduğu çalışmada tıkanma ikteri modelinde Transforming growth faktör-1 serum seviyelerine bakılmıştır. 3. Günde serum TGF Beta-1 seviyelerinde artış saptanmış; oral glutamin ve safra asidi verilmesini takiben TGF Beta-1 seviyeleri normale yaklaşmıştır(83). TGF A grubu sonuçları literatür bilgisiyle birlikte değerlendirildiği zaman hepatik rejenerasyonu artırması ve erken dönemde ekstraselüler matriks artışı nedeniyle tıkanma ikteri oluşturup TGF Beta-1 vermiş olduğumuz ratlarda hepatositlerde rejenerasyon ve duktal proliferasyon gözlenmiştir.

HGF B grubu ile kontrol B grubu arasında biyokimyasal parametreler kıyaslandığı zaman serum ALT değerleri HGF B grubunda yüksek olarak bulundu. Serum ALP ve GGT değerlerinin ise düşük olduğu gözlemlendi. Karaciğer doku oksijenaz parametreleri açısından fark saptanmadı. Histopatolojik skorlamada ise iki grup arasında fark gözlenmedi. Hepatositlerde yer yer fokal nekroz alanları izlendi. İskemik karaciğer dokusunda biliver dekompresyon sonrasında karaciğer hasarı artmaktadır. Kolestatik karaciğerin antioksidan kapasitesi azalmaktadır(84). Koledok ligasyonu sonrasında 6. güne kadar biyokimyasal ve histopatolojik bulgular nekrotik kolestaz ile uyumludur. Karaciğer fonksiyonları ve histopatolojisi 12.gün de normale dönmektedir(85). Aldana ve ark.yapmış oldukları çalışmada kolestatik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda HGF mRNA ekskresyonunun koledok ligasyonunu takip eden birinci günde artmaya başlamıştır. HGF mRNA seviyeleri 2.gün pik yapmıştır. Bu nedenle de HGF'nin kolestatik karaciğer hasarının iyileşmesinde hücre

proliferasyonunu indükleyerek etkili olduğu savunulmuştur(86). Literatür bilgisinden farklı olarak HGF B grubunda Kontrol B grubuna göre nekroz alanları daha az oranda gözlenmesi ve biyokimyasal parametrelerde farklılık bulunmasına karşın İstatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Sonuç olarak HGF enjeksiyonunun postikterik karaciğer hasarında etkinliği gözlenememiştir.

EGF B grubu ile kontrol B grubu biyokimyasal verileri kıyaslandığında ALT, Total bilirubin, Direkt bilirubin, GGT değerlerinde artış gözlemlendi; diğer biyokimyasal parametrelerde anlamlı değişiklik gözlenmedi. Doku oksijenaz parametreleri açısından değerlendirildiğinde ise MDA değerlerinde artış saptanmış ancak doku oksijenaz değerlerinde farklılık gözlenmemiştir. Histopatolojik skorlamada ise kontrol grubuna göre düşük olarak bulundu.

IGF B grubu ile kontrol B grubu biyokimyasal sonuçları karşılaştırıldığında serum ALT değerinde artış dışında anlamlı fark bulunmadı. Doku oksijenaz parametrelerinde ise MDA seviyelerinde artış gözlemlendi. Histopatolojik skorlamada artış gözlemlendi. Hepatositlerde yaygın submasif nekroz sahaları ve yer yer fokal nekroz alanları gözlemlendi. Katz ve ark.yapmış olduğu çalışmada tıkanma ikteri sonrasında sarılığın gerilemesi esnasında IGF-1 seviyeleri düşmekte ve buna bağlı beslenme bozukluğu nedeniyle gelişme geriliği oluşmaktadır(87). Çalışmamızda tıkanma ikterinin gerilemesi esnasında IGF enjeksiyonunun karaciğer hasarının gerilemesi üzerine etkisi bulunmadı.

TGF B grubu ile kontrol B grubu biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildiğinde serum ALT ve AST değerlerinde artış gözlemlendi. Doku oksijenaz ve MDA seviyeleri açısından farklılık gözlenmedi. Histopatolojik skorlamada ise Kontrol B grubuna göre TGF B grubu skoru düşük olarak izlendi.

HGF A ve HGF B grupları kıyaslandığında HGF B grubunun ALT ve AST değerleri yüksek olarak bulundu; ALP ve GGT değerleri düşük olarak bulundu. Doku oksijenaz ve MDA değerleri açısından fark saptanmadı. Histopatolojik incelemede ise HGF A ve HGF B grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak kontrol grupları ile kıyaslamada HGF A grubu histopatolojik skoru düşük olarak gözlemlenmiştir. Sonuç olarak HGF'nin reversible ikter oluşturulan ratlarda etkinliği irreversible ikter oluşturulan ratlara göre daha düşük olarak bulundu.

EGF A ve EGF B grupları arasında serum ALT, Total bilirubin, direkt bilirubin ve doku MDA değerleri EGF B grubunda artmış olarak bulundu. Histopatolojik skorlamada ise iki grup arasında EGF A grubu skor değerleri düşük olarak bulundu. Kontrol grupları ile beraber değerlendirildiğinde ise EGF'nin reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda irreversible ikter oluşturulan ratlara göre etkinliği daha düşük olarak bulundu.

IGF A ve IGF B grupları tüm parametreler açısından değerlendirildiğinde IGF B grubunda serum ALT değerleri yüksek; serum AST ve ALP değerleri düşük; doku MDA değeri düşük olarak bulunmuştur. Histopatolojik skorlamada ise iki grup arasında fark gözlenmedi. Sonuç olarak hem irreversible hem de reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda IGF enjeksiyonun karaciğer hasarı üzerine belirgin bir etkisi gözlenmedi. Her iki grup arasında etkinlik açısından fark gözlenmedi.

TGF A ve TGF B grupları değerlendirildiğinde TGF B grubunun serum ALT ve AST değerleri yüksek olarak bulundu. Histopatolojik skorlamada ise TGF B grubunun skoru TGF A grubunda göre daha düşük olarak gözlendi. Tüm parametreler ve kontrol grupları ile beraber değerlendirildiğinde sonuç olarak hem irreversible hem de reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda TGF Beta-1 enjeksiyonu etkin olarak bulunmuştur. İki grup arasında etkinlik açısından belirgin fark yoktur.

Tüm gruplar ve parametreler beraber değerlendirildiğinde HGF enjeksiyonu irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkili; reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkisizdir. EGF enjeksiyonu reversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkili; irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkisizdir. IGF enjeksiyonu hem reversible hem de irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkisizdir. TGF Beta-1 enjeksiyonu hem reversible hem de irreversible tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda etkilidir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda karaciğer hasarı üzerinde growth faktörlerin olumlu etkileri mevcuttur. Özellikle ikter gelişimi esnasında HGF, EGF ve TGF Beta-1 etkilidir. Post ikterim hasar üzerinde ise TGF Beta-1 etkindir.

### KAYNAKLAR

1. Georgiev P, Jochum W, Heinrich S, Jang JH, Nocito A, Dahm F, et al. Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation. *The British journal of surgery* 2008;95(5):646-56.
2. Parola M, Leonarduzzi G, Robino G, Albano E, Poli G, Dianzani MU. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. *Free radical biology & medicine* 1996;20(3):351-9.
3. Sayek İ. *Temel Cerrahi: Güneş Kitabevi*; 2004.
4. Schwartz SI, Brunnicardi FC. *Schwartz's principles of surgery*. 9th ed. New York: McGraw-Hill, Medical Pub. Division; 2010.
5. Oruc MT, Ozmen MM, Han U. A new technique for inducing and releasing obstructive jaundice in rats. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes* 2009;43(4):354-9.
6. Li Z, Mizuno S, Nakamura T. Antinecrotic and antiapoptotic effects of hepatocyte growth factor on cholestatic hepatitis in a mouse model of bile-obstructive diseases. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 2007;292(2):G639-46.
7. Xia JL, Dai C, Michalopoulos GK, Liu Y. Hepatocyte growth factor attenuates liver fibrosis induced by bile duct ligation. *The American journal of pathology* 2006;168(5):1500-12.
8. Higaki I, Yamazaki O, Matsuyama M, Horii K, Kawai S, Tsukamoto T, et al. Serum endothelin-1 and hepatocyte growth factor levels in patients with obstructive jaundice. *Hepato-gastroenterology* 1999;46(27):1599-602.
9. Berlanga J, Caballero ME, Ramirez D, Torres A, Valenzuela C, Lodos J, et al. Epidermal growth factor protects against carbon tetrachloride-induced hepatic injury. *Clinical science* 1998;94(3):219-23.
10. Gatto M, Drudi-Metalli V, Torrice A, Alpini G, Cantafora A, Blotta I, et al. Insulin-like growth factor-1 isoforms in rat hepatocytes and cholangiocytes and their involvement in protection against cholestatic injury. *Laboratory*

- investigation; a journal of technical methods and pathology 2008;88(9):986-94.
11. David DN, Michael JM, Bruce EJ. NMS Cerrahi (Çev. Ed: Oto Ö) 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, s: 231, 1995. . In.
  12. Dere F. Anatomi Ders Kitabı (Abdomino-pelvik Organlar) 2. Cilt, Okullular Pazarı Kitabevi, Adana, s: 633, 1989. In.
  13. Timothy DS, Steven AC, Liver . In: Schwartz's Principles of Surgery (Brunicaardi CF, Andersen DK editors), 8th.Edition McGraw-Hill, New York. 2005: 1139-1142 In.
  14. Seymour I. Schwartz: Karaciğer. Schwartz cerrahi prensipleri el kitabı 1999;667. In.
  15. Ratych ER, SmithWG: Anatomy and physiology of the liver. (Ed) George D. Zuidema GE : Surgery of the Alimentary Tract, Fourth Edition, Philadelphia,W.B Saunders Company 1996;357-374. In.
  16. Cameron JL, Sandone C. Atlas of Gastrointestinal Surgery; 2001.
  17. Scarborough JE, Pietrobon R, Bennett KM, Clary BM, Kuo PC, Tyler DS, et al. Workforce projections for hepato-pancreato-biliary surgery. Journal of the American College of Surgeons 2008;206(4):678-84.
  18. By Luiz Carlos Uchôa Junqueira, José Carneiro. Digestive Tract; Basic Histology 11rd edition. California, USA, p: 317-37, 205. . In.
  19. Saldinger PF, Blumgart LH. Surgical techniques for the completion of a bilioenteric bypass. In: Blumgart LH, Chamberlain R, eds. Handbook of Hepatobiliary Surgery. Landes Bioscience; 2002. . In.
  20. Kan Z, Ivancev K, Lunderquist A, McCuskey PA, McCuskey RS, Wallace S. In vivo microscopy of hepatic metastases: dynamic observation of tumor cell invasion and interaction with Kupffer cells. Hepatology 1995;21(2):487-94.
  21. Scott-Conner CE, Grogan JB. Serum and cellular factors in murine obstructive jaundice. Surgery 1994;115(1):77-84.

22. Andreoli TE, Carpenter CCJ, Cecil RL. Andreoli and Carpenter's Cecil essentials of medicine. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
23. Mishra JP, Singh LN. Changes in serum protease inhibitors and liver specific enzymes in experimental jaundice. Indian journal of medical sciences 1996;50(7):221-7.
24. Kimmings AN, van Deventer SJ, Obertop H, Rauws EA, Gouma DJ. Inflammatory and immunologic effects of obstructive jaundice: pathogenesis and treatment. Journal of the American College of Surgeons 1995;181(6):567-81.
25. Vane DW, Redlich P, Weber T, Leapman S, Siddiqui AR, Grosfeld JL. Impaired immune function in obstructive jaundice. The Journal of surgical research 1988;45(3):287-93.
26. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. Physiological reviews 1998;78(2):547-81.
27. Elstner EF. Oxygen radicals--biochemical basis for their efficacy. Klinische Wochenschrift 1991;69(21-23):949-56.
28. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. American journal of surgery 1991;161(4):488-503.
29. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri Mimoza Yayınları Konya; 1995.
30. Muriel P, Suarez OR. Role of lipid peroxidation in biliary obstruction in the rat. Journal of applied toxicology : JAT 1994;14(6):423-6.
31. Li W, Chan AC, Lau JY, Lee DW, Ng EK, Sung JJ, et al. Superoxide and nitric oxide production by Kupffer cells in rats with obstructive jaundice: effect of internal and external drainage. Journal of gastroenterology and hepatology 2004;19(2):160-5.
32. Muriel P, Suarez OR, Gonzalez P, Zuniga L. Protective effect of S-adenosyl-l-methionine on liver damage induced by biliary obstruction in rats: a

- histological, ultrastructural and biochemical approach. *Journal of hepatology* 1994;21(1):95-102.
33. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic* 1988;63(4):381-9.
  34. Krahenbuhl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology* 1995;22(2):607-12.
  35. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews* 1991;43(2):109-42.
  36. Shiomi M, Wakabayashi Y, Sano T, Shinoda Y, Nimura Y, Ishimura Y, et al. Nitric oxide suppression reversibly attenuates mitochondrial dysfunction and cholestasis in endotoxemic rat liver. *Hepatology* 1998;27(1):108-15.
  37. Fang FC. Perspectives series: host/pathogen interactions. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. *The Journal of clinical investigation* 1997;99(12):2818-25.
  38. Bomzon A, Holt S, Moore K. Bile acids, oxidative stress, and renal function in biliary obstruction. *Seminars in nephrology* 1997;17(6):549-62.
  39. Hirayama K, Yasutake A, Inoue M. Free radicals and trace elements. *Progress in clinical and biological research* 1993;380:257-68.
  40. Bird RP, Draper HH. Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Methods in enzymology* 1984;105:299-305.
  41. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics* 1990;280(1):1-8.
  42. Maxwell SR. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49(3):345-61.
  43. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics* 1986;246(2):501-14.

44. Witschi A, Reddy S, Stofer B, Lauterburg BH. The systemic availability of oral glutathione. *European journal of clinical pharmacology* 1992;43(6):667-9.
45. Nychytailo M, Malyk SV. [Biochemical markers in diagnosis and prognosis of obturative jaundice]. *Klinichna khirurhiia / Ministerstvo okhorony zdorov'ia Ukrainy, Naukove tovarystvo khirurhiv Ukrainy* 2004(8):13-5.
46. Ibelgaufts H. Horst Ibelgaufts' COPE: Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopedia. In; 2011.
47. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochemical and biophysical research communications* 1984;122(3):1450-9.
48. Shimomura T, Miyazawa K, Komiyama Y, Hiraoka H, Naka D, Morimoto Y, et al. Activation of hepatocyte growth factor by two homologous proteases, blood-coagulation factor XIIa and hepatocyte growth factor activator. *European journal of biochemistry / FEBS* 1995;229(1):257-61.
49. Boros P, Miller CM. Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine. *Lancet* 1995;345(8945):293-5.
50. Cohen S. Isolation of a Mouse Submaxillary Gland Protein Accelerating Incisor Eruption and Eyelid Opening in the New-born Animal. *Journal of Biological Chemistry* 1962;237(5):1555-1562.
51. Vejchapipat P, Theamboonlers A, Poomsawat S, Chittmittrapap S, Poovorawan Y. Serum transforming growth factor-beta1 and epidermal growth factor in biliary atresia. *European journal of pediatric surgery : official journal of Austrian Association of Pediatric Surgery ... [et al] = Zeitschrift fur Kinderchirurgie* 2008;18(6):415-8.
52. Miettinen PJ, Berger JE, Meneses J, Phung Y, Pedersen RA, Werb Z, et al. Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. *Nature* 1995;376(6538):337-41.

53. Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 2006;366(1):2-16.
54. Napoli J, Prentice D, Niinami C, Bishop GA, Desmond P, McCaughan GW. Sequential increases in the intrahepatic expression of epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor, and transforming growth factor beta in a bile duct ligated rat model of cirrhosis. *Hepatology* 1997;26(3):624-33.
55. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *European journal of cancer* 2001;37 Suppl 4:S9-15.
56. Ciardiello F, Tortora G. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs. *European journal of cancer* 2003;39(10):1348-54.
57. LeRoith D, Roberts CT. The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer Letters* 2003;195(2):127-137.
58. Navarro M, Baserga R. Limited redundancy of survival signals from the type 1 insulin-like growth factor receptor. *Endocrinology* 2001;142(3):1073-1081.
59. Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin CH. Smad regulation in TGF-beta signal transduction. *Journal of cell science* 2001;114(24):4359-4369.
60. Kaminska B, Wesolowska A, Danilkiewicz M. TGF beta signalling and its role in tumour pathogenesis. *Acta biochimica Polonica* 2005;52(2):329-37.
61. Caja L, Bertran E, Campbell J, Fausto N, Fabregat I. The transforming growth factor-beta (TGF-beta) mediates acquisition of a mesenchymal stem cell-like phenotype in human liver cells. *Journal of cellular physiology* 2011;226(5):1214-23.
62. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry* 1979;95(2):351-8.

63. Sheen-Chen SM, Ho HT, Chia-Pei L, Hung KS, Eng HL. The effect of insulin-like growth factor-I on hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in rat. *Digestive diseases and sciences* 2006;51(12):2220-4.
64. Miyoshi H, Rust C, Roberts PJ, Burgart LJ, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the mouse involves Fas. *Gastroenterology* 1999;117(3):669-77.
65. Takehara T, Nakamura T. [Structure and function of hepatocyte growth factor]. *Tanpakushitsu kakusan koso. Protein, nucleic acid, enzyme* 1991;36(7):1227-36.
66. Noguchi S, Ohba Y, Oka T. Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *The Journal of endocrinology* 1991;128(3):425-31.
67. Desbois-Mouthon C, Wendum D, Cadoret A, Rey C, Leneuve P, Blaise A, et al. Hepatocyte proliferation during liver regeneration is impaired in mice with liver-specific IGF-1R knockout. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2006;20(6):773-5.
68. Takiya S, Tagaya T, Takahashi K, Kawashima H, Kamiya M, Fukuzawa Y, et al. Role of transforming growth factor beta 1 on hepatic regeneration and apoptosis in liver diseases. *Journal of Clinical Pathology* 1995;48(12):1093-1097.
69. Lee E. The effect of obstructive jaundice on the migration of reticulo-endothelial cells and fibroblasts into early experimental granulomata. *The British journal of surgery* 1972;59(11):875-7.
70. Rodriguez-Garay EA, Aguero RM, Pisani G, Trbojevich RA, Farroni A, Viglianco RA. Rat model of mild stenosis of the common bile duct. *Research in experimental medicine. Zeitschrift fur die gesamte experimentelle Medizin einschliesslich experimenteller Chirurgie* 1996;196(2):105-16.



71. Yu JL, Wang LQ, Andersson R, Persson BG, Bengmark S. New model of reversible obstructive jaundice in rats. *The European journal of surgery = Acta chirurgica* 1993;159(3):163-6.
72. Hirazawa K, Oka M, Ogura Y, Miyahara M, Hazama S, Suzuki T. New technique for inducing reversible obstructive jaundice in the rat. *European surgical research. Europaische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes* 1997;29(3):195-201.
73. Ker CG, Wu SC. A simple animal model for inducing and releasing surgical jaundice in rats. *Gaoxiong yi xue ke xue za zhi = The Kaohsiung journal of medical sciences* 1992;8(10):520-4.
74. Kirkland JG, Godfrey CB, Garrett R, Kakar S, Yeh BM, Corvera CU. Reversible surgical model of biliary inflammation and obstructive jaundice in mice. *The Journal of surgical research* 2010;164(2):221-7.
75. Thatch KA, Schwartz MZ, Yoo EY, Mendelson KG, Duke DS. Modulation of the inflammatory response and apoptosis using epidermal growth factor and hepatocyte growth factor in a liver injury model: a potential approach to the management and treatment of cholestatic liver disease. *Journal of pediatric surgery* 2008;43(12):2169-73.
76. Yokoyama Y, Nagino M, Nimura Y. Mechanism of impaired hepatic regeneration in cholestatic liver. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery* 2007;14(2):159-66.
77. Lai HS, Chung YC, Chen WJ, Chen KM. Rat liver regeneration after partial hepatectomy: effects of insulin, glucagon and epidermal growth factor. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi* 1992;91(7):685-90.
78. Kiso S, Kawata S, Tamura S, Higashiyama S, Ito N, Tsushima H, et al. Role of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor as a hepatotrophic factor in rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Hepatology* 1995;22(5):1584-90.

79. Rasmussen TN, Jorgensen PE, Almdal T, Kirkegaard P, Olsen PS. Stimulatory effect of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1992;27(5):372-4.
80. Phavichitr N, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in children with postoperative biliary atresia: a cross-sectional study. *Asian Pacific journal of allergy and immunology / launched by the Allergy and Immunology Society of Thailand* 2008;26(1):57-61.
81. Scopa CD, Koureleas S, Tsamandas AC, Spiliopoulou I, Alexandrides T, Filos KS, et al. Beneficial effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on intestinal bacterial translocation, endotoxemia, and apoptosis in experimentally jaundiced rats. *Journal of the American College of Surgeons* 2000;190(4):423-31.
82. Date M, Matsuzaki K, Matsushita M, Tahashi Y, Furukawa F, Inoue K. Modulation of transforming growth factor beta function in hepatocytes and hepatic stellate cells in rat liver injury. *Gut* 2000;46(5):719-24.
83. Sheen-Chen SM, Eng HL, Hung KS. Altered serum transforming growth factor-beta1 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in obstructive jaundice. *World journal of surgery* 2004;28(10):967-70.
84. Kloek JJ, Marsman HA, van Vliet AK, Gouma DJ, van Gulik TM. Biliary drainage attenuates postischemic reperfusion injury in the cholestatic rat liver. *Surgery* 2008;144(1):22-31.
85. Gali D, Blendis LM, Bomzon A. Vascular reactivity in reversible experimental obstructive jaundice. *The Journal of surgical research* 1987;42(3):242-6.
86. Aldana PR, Goerke ME, Carr SC, Tracy TF, Jr. The expression of regenerative growth factors in chronic liver injury and repair. *The Journal of surgical research* 1994;57(6):711-7.

87. Katz S, Pescovitz OH, Grosfeld JL. Growth failure and decreased levels of insulin-like growth factor I in obstructive jaundice are reversed by bile diversion. *Journal of pediatric surgery* 1991;26(8):900-2; discussion 903.