

## 1. GİRİŞ

Günümüzde karaciğer cerrahilerinin yapılabildiği büyük merkezlerin ve yapılan ameliyatlara sayısı gittikçe artmaktadır. Bu nedenle cerrahi tedavi sırasında oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarının ve çeşitli nedenlerle gerçekleştirilen karaciğer rezeksiyonları sonrasında meydana gelen karaciğer rejenerasyonunun mekanizmalarının daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

Karaciğer insan vücudundaki en büyük salgı bezidir. Karaciğerin normal bir erişkindeki ağırlığı 1200-1800 gram kadardır. Canlı bir insanda bu ağırlığın üstüne bir de organın içinde dolaşmakta olan yaklaşık 850 gram kan eklenmektedir. Tüm sistemleri ilgilendiren ve önemli metabolik fonksiyonları olan karaciğerin rejenerasyon yeteneği uzun süredir araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Normal bir karaciğerin erişkin boyutlara ulaştığında büyümesi durur. Bununla beraber karaciğerde doku kaybı ile sonuçlanan yaralanmalar, viral hepatit ve siroz gibi hastalıklar, toksik olaylar veya karaciğerin cerrahi olarak bir bölümünün çıkartılması gibi olaylardan sonra hızla kompensatuvar bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına ulaşıncaya kadar sürer. Karaciğerin 2/3'nin kaybindan sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Karaciğerin bu rejenerasyon mekanizmasında birçok büyüme faktörü ve sitokinlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada karaciğerin rejenerasyon yeteneği ve patofizyolojik mekanizmaları araştırılmış ve bu çalışmalarda çok sayıda ajanın parsiyel hepatektomiye takiben karaciğer rejenerasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Masayasu Kojima ve arkadaşları tarafından 1999 yılında tanımlanmış yeni bir hormon olan grelin, 28 aminoasitten oluşmuş bir polipeptiddir. Dolaşımdaki grelin miktarının önemli bir kısmı mideden salgılanır. Grelinin organizmada; yemek yeme, uyku, hücre proliferasyonu, kardiovasküler, gastrointestinal ve endokrin sistemler gibi çeşitli sistemler üzerine etkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda; grelinin parsiyel karaciğer rezeksiyonunda iskemik hasar ve rejenerasyon üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Deney sırasında; ratlara 30 dakikalık karaciğer iskemi-reperfüzyon işlemi uygulanmasının ardından, Higgins ve Anderson'un tanımladığı şekilde %70'lik hepatektomi uygulanmıştır. Karaciğer rejenerasyonunun değerlendirilebilmesi amacıyla karaciğer

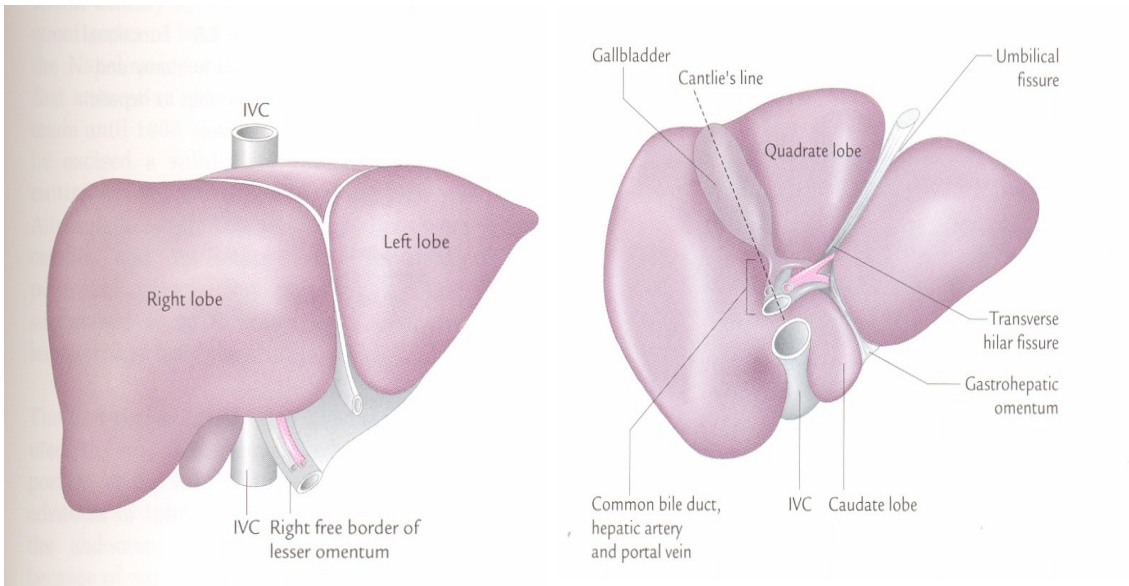
ağırlık ölçümleri ve histopatolojik değerlendirme yapılmıştır. İskemik hasarın değerlendirilebilmesi amacıyla da kan transaminaz düzeyleri ve doku MDA düzeyleri ölçülmüştür.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karaciğer

#### 2.1.1. Karaciğer Anatomi ve Histolojisi

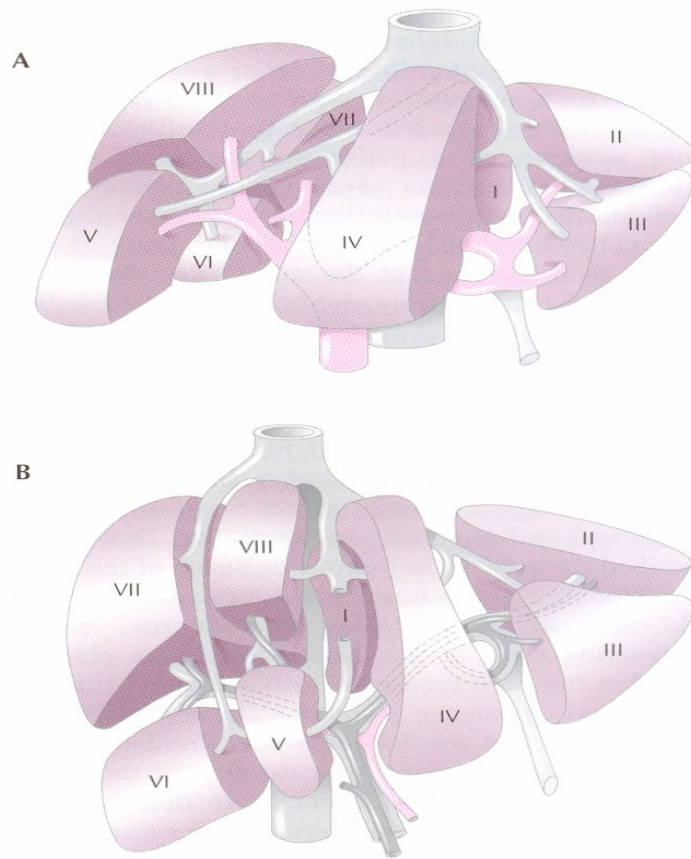
Karaciğer, 1200-1800 gram arasında değişen ağırlığı ile vücudun en büyük organıdır ve vücut ağırlığının yaklaşık %2' sini oluşturmaktadır (1). Sağ hipokondrium ve epigastriumdan, sol hipokondriuma doğru uzanım gösterir. Üst yüzü diafragma alt yüzüne uymakta, alt yüzü ise batın üst bölümündeki organların üzerinde yer almaktadır. Karaciğer alt yüzü sağda duodenum, kolon, sağ böbrek ve surrenal bez ile; solda özofagus ve mide ile komşudur. Arka yüzü vena cava inferior'a (VCI) bitişik ve diafragmaya doğrudan temas halinde bulunan area nuda adı verilen bir alan dışında tamamen periton ile kaplanmıştır (2,3).



Şekil 2.1. Karaciğer ön-alt yüzü görüntüsü

Smith ve ark (3)' ndan alınmıştır

Klasik olarak karaciğerin 4 lobu vardır. Bunlar sağ, sol, kaudat ve quadrat loblardır. Karaciğer portal triadın dalları tarafından kanlanan segmentlere ayrılır ve hepatik venler ile drene olur. Couinaud tarafından 1957 yılında tanımlanan bu anatomik ayırımında sol ve sağ loblar arasındaki anatomik bölünme safra kesesi yatağının medial kenarından arkada V. Cava' ya olan hattı takip eder. Bu sınıflamaya göre üç segmentli olan sol lob; sol medial segment (segment IV) ve sol lateral segmentleri (segment II ve III) içerir. Sağ lob; anterior-inferior (segment V), posterior-inferior (segment VI), posterior-superior (segment VII) ve anterior-superior (segment VIII) olmak üzere dört segmente ayrılır. Kaudat lob (segment I) ise, arkada sağ ve sol hepatik loblar arasında yerleşmiştir. Segmentler arasında üç ana hepatik ven karaciğerin üst kısmında V. Cava' ya açılır (3,4).



Şekil 2.2. Karaciğerin segmenter görüntüsü

Smith ve ark (3)' ndan alınmıştır.

A.hepatika kominis, turunkus çöliakus'tan çıkar, hepatoduodenal ligament boyunca yükselir ve hilusta sağ ve sol dallarına ayrılmadan önce a. gastrika dekstra ve a. duodenalis'i verir ve daha sonra karaciğere girer. Karaciğere gelen 1500 mililitre/dk kanın %25'i a. hepatika ile, %75'i ise v. porta ile gelir. V. Porta; içinde kapak bulunmayan bir damardır. Mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere taşıyan v. mesenterica superior ile v. lienalis'in birleşmesinden oluşur. V. mesenterica inferior genellikle v. lienalis'e drene olur. Karaciğer lobüllerindeki santral venlerin son ortak yolları hepatic venlerdir. Sol, sağ ve orta olmak üzere üç ana hepatic ven vardır. Orta hepatic ven, ana lobar fissür üzerindedir ve sol lobun medial segmenti ile sağ lobun anterior segmentinin alt kısımlarını drene eder. Sol hepatic ven sol lobun lateral segmentini, sağ hepatic ven ise sağ lobun posterior segmentini ve anterior segmentinin büyük bir kısmını drene eder. Orta hepatic ven, sol ve sağ hepatic ven ile birleşir ve VCI'a dökülür. Yüzeysel lenfatikler lobüllerin yüzeysel kısımlarından başlayıp kapsülün altından geçerek diafragma ve karaciğerin asıcı ligamentleri yoluyla posterior mediastene girer. Lobüllerin derin kısımlarından kaynaklanan lenfatikler hepatic venleri takip ederek VCI boyunca ilerler veya portal venlerle birlikte porta hepatis'e ulaşarak sisterna siliye, oradan da duktus torasikus'a drene olur. Karaciğer medulla spinalis'in T9-L1 segmentlerinden gelen sempatik; sağ ve sol vagustan gelen parasempatik liflerle innerve olur (4,5).

Karaciğer, elastik ve kollajen dokulardan yapılmış kalın bir kapsül ile örtülüdür. Glisson kapsülü adıyla bilinen bu kapsül, tabakalar halinde sıralanmış olan ve aralarında sinuzoid adıyla bilinen karmaşık bir kılcal sisteminin yer aldığı süngerimsi hücre kitlesini örter. Sinuzoidler, 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 sinuzoidlerle ilişki halindedir (6).

Mikroskopik incelemede karaciğer parankiması, sınırları tam belirli olmayan lobüller halinde görülür. Her lobülün merkezinde karaciğerden kalbe kan taşıyan karaciğer dışı kan akım sisteminin bir dalı olan santral ven yer alır. Bu santral venler giderek genişleyen sublobüler venlerle infrahepatik venlere drene olur ve en sonunda

v. kava inferior'a katılan v. hepatica'yı oluştururlar. Periferde bir çok lobül arasında yer alan bir bağ dokusu topluluğu vardır. Portal traktus veya portal triad adıyla bilinen bu doku topluluğu içinde v. porta, a. hepatica ve safra kanalikülleri yer alır (7).

V. porta ve a. hepatica'nın dalları bir seri bölünmeden sonra daha küçük dallara ayrılarak doğrudan sinüzoidlere dökülür. Safra yolları sistemi, hücre zarının bir bölümünü oluşturan ince safra kanalikülleri olarak başlar. Safra hepatositler tarafından bu kanaliküllere drene olur. Safra kanalikülleri yoluyla intralobüler duktuslara ve daha sonrada portal traktus içindeki büyük safra kanallarına dökülür.

### 2.1.2. Karaciğerin Başlıca Fonksiyonları

Karaciğerin başlıca fonksiyonları arasında; metabolik, hematolojik, ekskresyon, depolama, detoksifikasyon ve immünolojik fonksiyonlarını sayabiliriz (8-11).

**Karaciğerin metabolik fonksiyonları:** Karaciğerin karbonhidrat, lipid, amino asit ve protein metabolizması, bilirubin metabolizması ve hormon metabolizması ile ilgili fonksiyonlarıdır. Karaciğerin karbonhidrat mekanizması ile ilgili fonksiyonları; glikojenin depo edilmesi ve parçalanması, glukoneojenez, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımı, galaktoz ve fruktozun glukozla dönüştürülmesi, glukozun diğer monosakkaridlere ve yağa dönüştürülmesidir (8). Karaciğerin lipid metabolizması ile ilgili fonksiyonları; yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, fosfolipid sentezi, lipoproteinlerin sentezi, keton cisimlerinin sentezi, kolesterol biyosentezi, safra asitlerinin ve safranin oluşturulmasıdır (9). Sağlıklı bir kişinin karaciğerindeki lipid miktarı %5 kadardır. Karaciğerde %5'ten fazla lipid veya %2'den fazla trigliserid olması durumunda karaciğer yağlanması söz edilir. Karaciğerin amino asit ve azot metabolizması ile ilgili fonksiyonları; deaminasyon, transaminasyon, endojen amino asitlerin sentezi, üre sentezi, ürik asit ve kreatin sentezi, porfirin ve safra renkli maddelerinin oluşturulması ve plazma proteinlerinin sentezi sayılabilir (10,11).

**Karaciğerin hematolojik fonksiyonları:** Pıhtılaşma faktörlerinden faktör I (fibrinojen), II (protrombin), V, VII, IX ve X sentezi, hemoglobinin yıkılımı ile fetüste eritrositlerin yapılması karaciğerin hematolojik fonksiyonlarıdır (11).

**Karaciğerin ekskresyon fonksiyonu:** Safra asitleri, safra ve kolesterolün atılımı karaciğerin önemli ekskresyon fonksiyonlarıdır (9).

**Karaciğerin detoksifikasyon fonksiyonu:** Karaciğer, biyotransformasyon reaksiyonları ile organizma için zararlı veya artık yararsız hale gelmiş maddeleri etkisizleştirerek atılmasını sağlar (8).

**Karaciğerin depolama fonksiyonu:** Glikojen, demir ve bakır, D ve B<sub>12</sub> vitaminleri karaciğerde depolanır (8).

**Karaciğerin immünolojik fonksiyonu:** Karaciğerdeki Kupffer hücreleri, fagositoz, antikor oluşumu ve humoral savunmada rol oynarlar (8).

### 2.1.3. Karaciğer İskemi-Reperfüzyonu

İskemi, dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan artık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılmaması olarak tanımlanır (12). Reperfüzyon ise bu iskemik dokudaki kan dolaşımının yeniden sağlanmasıdır. İskemik bir dokunun reperfüzyonu dokunun oksijen ve diğer metabolik ihtiyaçlarını karşılarken paradoksal olarak dokuda hasar oluşturur (13). Bir dokuda iskemi ve reperfüzyon sonucu oluşan hasar, dokunun aynı toplam sürede sadece iskemiye maruz kalması sonucu oluşan hasardan daha fazladır (14).

İskemik dokuda reperfüzyon sonrası oluşan hasar akciğer, böbrek, karaciğer, kalp, beyin ve barsaklar gibi bir çok organda ayrıntılı olarak araştırılmıştır (15-18). Ancak yine de iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. İ/R hasarında serbest radikallerin oluşumu, polimorf nüveli lökositlerin aktivasyonu, endotel ve kompleman sistemi gibi major komponentlerin rol oynadığı bilinmektedir (19,20). Bu tablo lokal ve sistemik

inflamatuar cevabın başlamasına yol açarak lokal ve uzak organlarda da hasar oluşturmaktadır.

Günlük uygulama içerisinde İ/R tıbbın pek çok alanında karşılaşılan bir olaydır. Şok, yanık, sepsis, pankreatit, serebrovasküler olaylar, myokard infarktüsü ve travmalarla oluşan ortopedik cerrahi, kardiyovasküler cerrahi, transplantasyon cerrahisi ve genel cerrahi İ/R hasarı ile en çok karşı karşıya kalan disiplinlerdir. Pratikte bütün cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve bunu takiben bir reperfüzyon periyodu vardır. Karaciğer İ/R hasarı; karaciğer transplantasyonu ve hepatik rezeksiyon sırasında uygulanan pringle manevrası, veya hemorajik şok sonrasında karşımıza çıkar ve primer hepatik disfonksiyon veya yetmezlikle sonuçlanabilen olaylara yol açar.

### **İskemi-Reperfüzyon Hasarının Fizyopatolojisi**

İskemi sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Arteriyollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Kapillerlerde lökosit tıkaçları oluşur ve sıvı infiltrasyonu artar. Postkapiller venüllerde plazma proteinleri damar dışına çıkmaya başlar. Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla serbest oksijen radikalleri (SOR) ve daha az nitrik oksit (NO) üretir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikali ve nitrik oksit arasındaki dengesizlik inflamatuvar mediyatörlerin üretim ve salınımına öncelik ederken adhezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır (19).

Uzamış iskemi hücrede metabolik ve yapısal değişikliklere neden olur. İskemi nedeniyle hücresel oksidatif fosforilasyon azalır. Hücre membranında adenosin trifosfat (ATP) bağımlı iyon pompası fonksiyonunun bozulması sonucu hücre içine kalsiyum ( $Ca^{++}$ ), sodyum ( $Na^+$ ) ve su girişi artar. İskemi sırasında adenin nükleotid katabolizması sonucu hücre içinde hipoksantin birikir. Bu arada endotelde lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler gibi bazı proinflamatuvar ürünlerin ve endotelin, tromboksan gibi biyoaktif ajanların yapımı artarken, yapısal nitrik oksit sentaz, trombomodulin gibi diğer bazı koruyucu ürünlerin ve prostasiklin, NO gibi biyoaktif ajanların yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durum başlatır (20).



İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak, bir kısım hücre nekroz veya apoptozis ile ölmeye devam eder. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu görülür. Parenkimal hücreler, endotel hücreleri ve lökositlerce SOR yapımı artar. Bu arada hasarlı mitokondrilerde oksijen yetersizliği veya alternatif yollardan oksijenin indirgenmesi ile de SOR oluşabilir. Hücrel antioksidan savunma sistemleri de iskemi nedeniyle zayıflar.

İ/R hasarının fizyopatolojisi bugüne kadar tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte, serbest oksijen radikalleri, kompleman, endotel ve polimorf nüveli lökositler (PMNL) ile yakından ilişkili olduğunu düşündüren çok sayıda çalışma vardır (16-20).

#### **2.1.4. Karaciğer Rezeksiyonu**

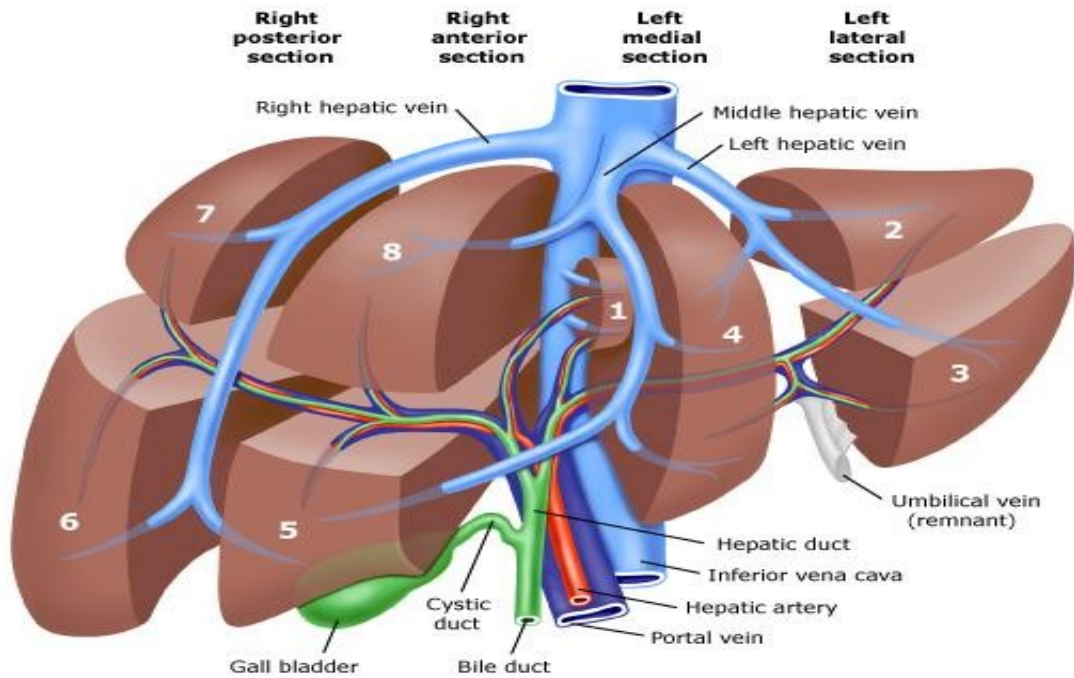
Karaciğer rezeksiyonunun endikasyonları (26) şunlardır;

- 1- Malign tümörler: Primer ve metastatik karaciğer tümörleri ile safra kesesi tümörü, kolanjiokarsinom gibi hepatobiliyer malignensiler
- 2- Bening hastalıklar: Alveolar veya hidatik kist, adenom, hemanjiom, abse
- 3- Travma

Karaciğer rezeksiyonları anatomik ve non-anatomik olmak üzere ikiye ayrılır (21). Vasküler anatomiye esas alan rezeksiyon tipleri anatomik rezeksiyon olarak adlandırılır. Bu tip rezeksiyonlarda anatomik fissürlere uyular, fonksiyonel ve anatomik olarak tanımlanmış karaciğer bölümleri çıkarılır. Anatomik rezeksiyonların amacı fonksiyonel bölünmelere uyarak daha kansız ameliyat yapmak ve böylece diğer bölümlerin kanlanmasını bozmamaktır (22). Anatomik rezeksiyonlar sağ ve sol hepatektomiler, sektörektomiler, segmentektomiler ve subsegmentektomilerdir. Operasyonlarda affarent ve efferent damarlarıyla birlikte bir lob veya segment çıkarılırken, geride kalan dokunun damarlarına veya safra kanalına zarar vermekten kaçınılır. Genişletilmiş sağ hepatektomi, uygulanan en geniş rezeksiyondur ve geriye karaciğer dokusunun sadece %15-20' si kalır. Non-anatomik karaciğer

rezeksiyonlarına örnek olarak ise kama (wedge) şeklindeki rezeksiyonları ve ölü dokuların rezeksiyon şeklinde debridmanını verebiliriz (23,24).

Teknik başarının anahtarı hemostazdır. Disseksiyona başlamadan önce o bölgenin hilar damarları ayırt edilir ve karaciğer dokusu, makas ucu veya cavitron ultrasonik disektör ile kesildikten sonra damarlar tek tek metal clips'ler veya bağlamalar ile bağlanarak hemostaz sağlanır. Şiddetli kanama, portal triadın askıya alınması ile kontrol altına alınabilir, daha sonra tek tek kanayan damarlara dikişli bağlama uygulanabilir (25).



Şekil 2.3. Anatomik karaciğer rezeksiyonlarının yapıldığı segmentler

Smith ve ark'ndan alınmıştır (3)

Geniş hepatic rezeksiyondan sonra karaciğer fonksiyonları önemli oranda bozulduğundan, böyle bir ameliyata karar verirken karaciğerin preoperatif fonksiyonel durumu göz önüne alınmalıdır. Siroz hepatektomi için nisbi bir kontrendikasyondur, çünkü gerekli olan metabolik ihtiyaçları karşılamak için geride kalan sirotik karaciğerin rezervleri genellikle yeterli değildir ve sirotik karaciğerin

rejenerasyon yeteneği azdır. Bu faktörler sirotiklerde gelişen bazı primer hepatik tümörlerin rezeksiyonuna engel olur (27).

Karaciğerin %50' si veya daha fazlası çıkarıldığında postoperatif dönemde hastanın çok yakın takibi gereklidir. Elektif hepatektominin mortalite oranı yaklaşık %5 civarındadır ve bu oran büyük ölçüde postoperatif komplikasyonlara bağlıdır (38). Postoperatif mortalite ve morbidite nedeni olan bu komplikasyonlar arasında, subfrenik perihepatik abse, karaciğer yetmezliği, biliyer fistül, pnömoni, plevral efüzyon ve stres ülserleri sayılabilir (28-30). Hastaların çoğunda 39°C' nin üzerinde ateş görülür. Ateş akciğer komplikasyonlarına veya perihepatik abseye bağlı olabilir, fakat birçok vakada hiçbir neden belirlenemez. Rezeksiyonla meydana gelen boşlukta abse oluşabilir ve perkutan kateterler ile drenaj yapılması yeterli olabilirse de, bazen reeksplorasyon gerekebilir. Parsiyel hepatektomiden sonra stres ülseri insidansı oldukça yüksek olduğundan, operasyondan sonra rutin olarak proflaktik mide mukoza koruyucusu verilmelidir (31-33). Geride kalan karaciğer dokusu hasarlıysa veya ameliyat sırasında uzun süre iskemi altında kalarak hasar görmüş ise karaciğer yetmezliği gelişebilir. Bunun belirtileri de; asit, varisler ve komadır (32).

### 2.1.5. Karaciğer Rejenerasyonu

Yaralanma veya rezeksiyondan sonra karaciğerin kendini rejenere etme kabiliyeti uzun süredir araştırmacıları büyülemektedir. Karaciğer erişkin boyutlara ulaştığında büyümesi durur. Erişkin memeli karaciğer hücreleri çeşitli fonksiyonları yerine getirmek üzere farklılaştıkları için bölünmezler. Normal bir karaciğerin herhangi bir zamanda yapılan kesitlerde hepatosit popülasyonunun çok seyrek mitoz göstermesi bu durgunluğun bir ifadesidir (34,35). Bununla beraber karaciğerde doku kaybı ile sonuçlanan yaralanmalar, viral hepatit ve siroz gibi hastalıklar, toksik olaylar veya karaciğerin cerrahi olarak bir kısmının çıkartılması gibi olaylardan sonra hızla kompensatuvar bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına ulaştınca yine durur (36).

Hepatositlerin sadece çok az bir kısmı hayatın herhangi bir döneminde mitozu uğramaktadır. Sağlıklı karaciğerdeki bu düşük turnover hızı, toksik karaciğer hasarı veya cerrahi rezeksiyon durumunda değişmektedir (37-39). Karaciğerin 2/3'nün

kaybından sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu sonuç, rezekte lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofisine bağlıdır (40).

Karaciğer rezeksiyonu veya parsiyel hepatektomi karaciğer kütleini azaltır, ve az da olsa geride hasarlı hücreler bırakır. 2/3 parsiyel hepatektomi modelinde, sol ve medial loblar ligate edilip eksize edilir. Böylece karaciğerin %65-70' i eksize edilmiş olur (41). Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler, artan portal kan akımı ve basıncın etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücresel hasarın eşlik etmediği pür karaciğer rejenerasyonunu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu in vivo rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir.

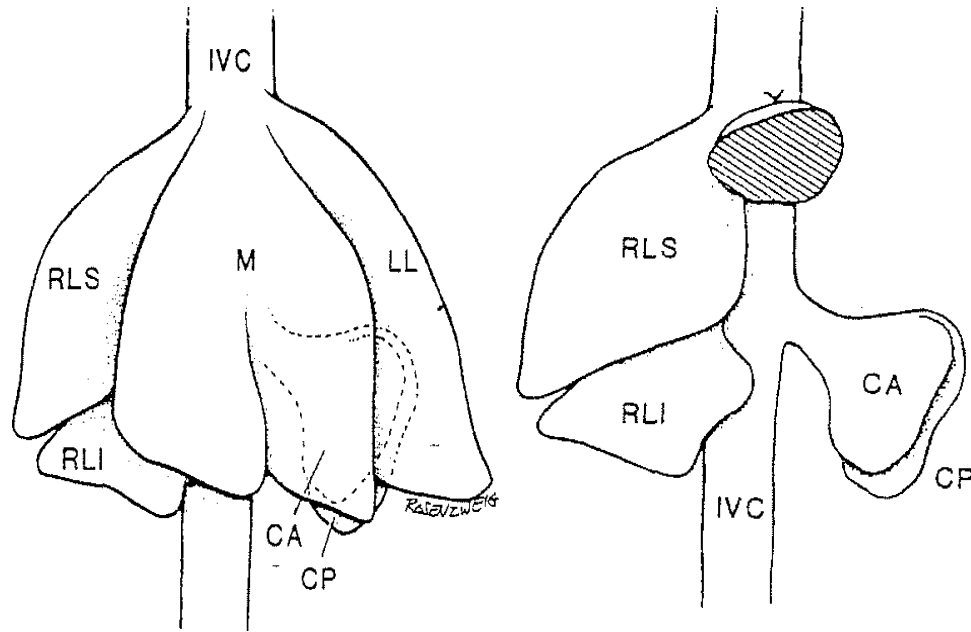
Parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına ulaşınca kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve artık lobüllerin genişlemesi şeklinde olur. Hepatik rejenerasyon için gerekli uyaranlar pankreas, diğer bazı ekstrahepatik organlar ve rejenere olan karaciğerin bizzat kendisinden kaynaklanan humoral faktörlerdir (42).

Rejenerasyon hücre düzeyinde başlar. Hücre siklusunun basamakları;  $G_0$ ,  $G_1$  (gap-1), S (sentez),  $G_2$  (gap-2) ve M (mitoz)' dur.  $G_0$  evresi, hücrenin stabil ve DNA/RNA sentezinin olmadığı evredir. DNA sentezi  $G_1$  evresi ile birlikte başlar. Özellikle S evresinde olmak üzere M evresine kadar sürer (43-45). Parsiyel hepatektomi veya diğer karaciğer hasarlarından sonraki erken dönemde, kalan hepatositler hücre siklusunun  $G_0$  döneminden çıkarlar ve  $G_1$  dönemine girerler.

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

hücrelerinde mitoz görülür. Sonuçta mevcut lobüllerin genişlemesi ve yeni lobüllerin eklenmesi ile karaciğer eski büyüklüğüne ulaşır (45).

Karaciğer rejenerasyonu konusunda yapılan çalışmalar etik nedenlerden dolayı hayvan modelleri üzerinde yapılmıştır. Bunlar içinde en popüler olanı Higgins ve Anderson' un ratlarda tanımladığı %70 hepatektomi modelidir (41).



Şekil 2.4. Sıçanlarda %70 hepatektomi tekniği

A. Sağlam sıçan karaciğeri, B. %70 hepatektomi

Higgins ve ark' ndan alınmıştır (41)

Bu modelde hepatektomi sonrası rejenerasyon 10.-12. saatte başlamakta, 24. saatte maksimuma ulaşmakta ve 5-10 gün içinde tamamlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması için DNA sentezi ve mitoz sayısı, karaciğer volümü, hücre proliferasyonu ve mitekondrial aktivite gibi birçok marker kullanılmıştır (46-49).

Karaciğer rejenerasyonunda birçok büyüme faktörü ve sitokinlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda; hepatosit büyüme faktörü (HGS), tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6), epidermal büyüme faktörü (EGF), noradrenalin (NA), insülin, fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), triiyodotironin (T3), hepatosit uyarıcı madde (HSS)...vb birçok maddenin karaciğer rejenerasyonunda önemli katkıları olabileceği gösterilmiştir (50-63).

Rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması ve tespitinde bazı maddeler kullanılmaktadır. Bunlar; DNA timidin içeriği, 5-bromo-2'-deoksiüridin, plazma fibromektin seviyesi ve stimulator substans gibi maddelerdir (64-66). Bunların dışında ilk kez 1983'de hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan monoklonal antikor tariflenmiştir (67). Tüm hücre sikluslarında tariflenmiş olan Ki-67 proteini hücre proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir (68,69). Hücre siklusu ilerledikçe Ki-67 antijen içeriği artar ve G2- M evresinde maksimum olur. Ki-67 antijenine karşı tanımlanan monoklonal antikor ise hücre siklusunun G<sub>0</sub> evresi hariç diğer tüm evrelerinde gösterilmiştir. Ki-67' nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece S evresinden ziyade hücredeki siklusun tüm büyüme evrelerinin sınıflandırılabilmesidir.

Bilinen en önemli rejenerasyon inhibitörü ise TGF- $\beta$ 1' dir. İto hücreleri tarafından hepatektomi sonrası erken dönemde salgılanır. Rejenerasyon devam ettiği sürece  $\alpha$ -2 makroglobuline bağlı inaktif formundadır. Zamanı geldiğinde aktive olarak rejenerasyonu sonlandırır (70). Bu zamanlamayı etkileyen faktörler bilinmemektedir.

## 2.2. Grelin

Grelın 1999 yılında Japon bilim adamları tarafından keşfedilen ve temel olarak mide fundusundan salınan 28 amino asitlik (aa) lipopeptid yapıda bir hormondur (71-74). Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükürük bezi, tiroid bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem (73,74), meme (75,76) ve dişlerde de sentezlenmektedir (77). Grelinin mRNA'sı hemen hemen

bütün dokularda tespit edilmiştir. Çalışılan dokuların grelin mRNA miktarının mide fundusunda en fazla olduğu, bunu da sırasıyla jejunum, duodenum, midenin antrumu, akciğer, pankreas dokusu, venöz sistem, safra kesesi, lenf nodu, yemek borusu, sol kolon, yanak, hipofiz, meme, böbrek, ovaryum, prostat, sağ kolon, ileum, karaciğer, dalak, fallopian tüp, lenfositler, testis, yağ dokusu, plasenta, adrenal bez, kas, mesane, kalbin atriyumu, tiroid, miyokardiyum ve derinin takip ettiği belirlenmiştir (78). Grelın ismi, Hint-Avrupa dilleri ailesindeki gelişim anlamına gelen “grow” sözcüğünün kökü olan “ghre” ile salgılatma anlamına gelen “relin” (salgılama) sözcükleri birleştirilerek türetilmiştir (71). Daha sonra “appetite hormone” (iştah hormonu) olarak da adlandırılmıştır (79). Hormonun keşfinden bu yana “Ghr”, “G-HH” “Ghrl” (80) ve “h-GHS” (81) gibi bir takım farklı kısaltmalar kullanılmıştır.

Yarılma ömrü 15-20 dakika olan grelin; vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır (74). İnsan grelini N-terminal ucundaki 3. aa olan serine bağlı oktanil grubu adı verilen sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Oktanil grubu grelinin aktif olması için gereklidir. Yani oktanil grubu içeren grelin aktif grelidir. Bünyesinde yağ asidi içermeyen grelin ise deaçile grelidir ve bu inaktif grelin olarak da bilinmektedir (72-74). Desaçile grelin sirkülasyondaki toplam grelinin % 80-90’ını oluşturmaktadır (82). Grelın, bir yağ asidi tarafından aktivitesi değiştirilen tek peptid hormondur (71-74). Farelere verilen orta zincirli yağ asitleri ve orta zincirli triaçil gliseroller, toplam grelin miktarlarını değiştirmeden midedeki açilli grelin miktarını artırmaktadır. Yani vücuda alınan orta zincirli yağ asitleri (örneğin n-heptanoil, gliserol triheptanoate, vs.) grelinin açil modifikasyonunda kullanılmaktadır (82).

### 2.2.1. Grelinin Keşfi

Davis tarafından 1954 yılında midede X/A benzeri hücreler (Grelın hücreleri) keşfedilmiştir (83). Bu hücrelerin içindeki granüller ise grelinin keşfine kadar gizemini korumuştur. Bowers ve ark. tarafından 1976 yılında in vitro şartlarda met-enkefalin opiyatı olan bir sentetik peptid analogu bulunmuştur. Büyüme hormonu salınımına neden olan bu madde “Growth Hormone Secretary” (GHS) olarak adlandırılmıştır (84). Met-enkefalin opiyatı olan bu sentetik peptid analogunun

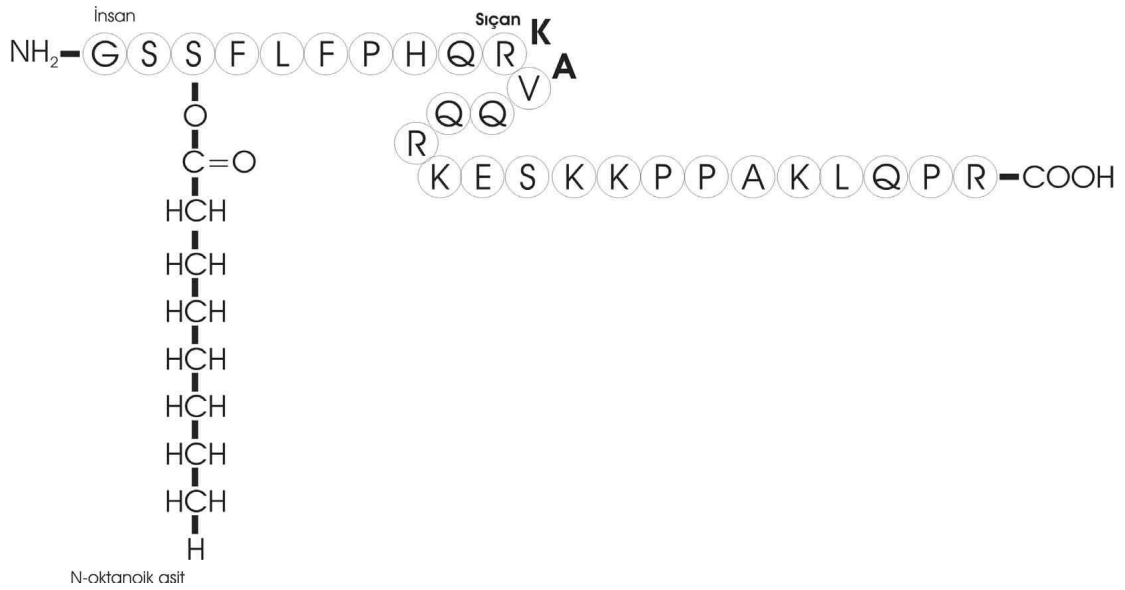
yapısı, tirozin-D-triptofan-glisin-fenilalanin-methionin-NH<sub>2</sub>'den oluşmakta olup hipofizi direkt olarak etkilemektedir (73).

Güçlü bir GHS olan büyüme faktörü salıcı peptid-6 (GHRP-6) 1984'de sentezlenmiştir. Bir heksapeptid olan GHRP-6'nın hem in vitro hem de in vivo yapılan çalışmalarda aktif olduğu gösterilmiştir (85). Smith ve ark. tarafından 1993'te peptid yapısında olmayan GHS; L-692, 492 sentezlenmiştir (86). Bu non-peptid GHS ve bir diğer non-peptid olan L-163,191 (MK-0677) ağızdan ya da sindirim dışı bir yolla alındığında büyüme hormonu (GH) salınımını artırdığı için kliniklerde yer bulmuş ve etki mekanizmaları uzun yıllar araştırılmıştır. İlk zamanlarda ekzojen GHS'lerin GH salınımının, büyüme hormonu salıcı hormon (GHRH)'dan farklı olduğu düşünülmüş, fakat detaylı çalışmalar hipotalamik GHRH tarafından uyarılan hipofiz bezinin GH salınımını artırdığını göstermiştir (72-74). Sıçanların midesinden büyüme hormonu salgılatıcı özelliğe sahip grelin 1999 yılında keşfedilmiştir (71). Bu keşifle 1954 yılında Davis tarafından tanımlanan X/A (grelinin hücreleri) benzeri hücrelerin içlerindeki granüller, klinik kimyanın ve biyokimyanın hızla entegre olmaya çalıştığı moleküler teknikler kullanılarak açıklanmıştır.

### 2.2.2. Grelinin Yapısı

Grelinin 28 amino asitten oluşmuş bir polipeptiddir. Posttranslasyonel olarak N-terminal üçüncü aminoasidi olan serin kalıntısına n-oktanoik asit bağlanması ile grelinin fizyolojik olarak aktif şekline döner. Grelinde oluşan bu açil modifikasyonu, aktivitesi için ve GHS-R'e bağlanması için gereklidir (87) ve açilasyon sonucunda grelinin kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçebilir. Bu açilasyonu katalizleyen açil transferaz henüz bilinmemektedir. Grelinin ilk olarak sıçan midesinden izole edilmiş ve amino asit dizilişi incelenmiştir. Sıçan ve insan grelini 117 amino asitten oluşmuştur ve birbirlerinden sadece iki amino asit bakımından farklıdır (87).





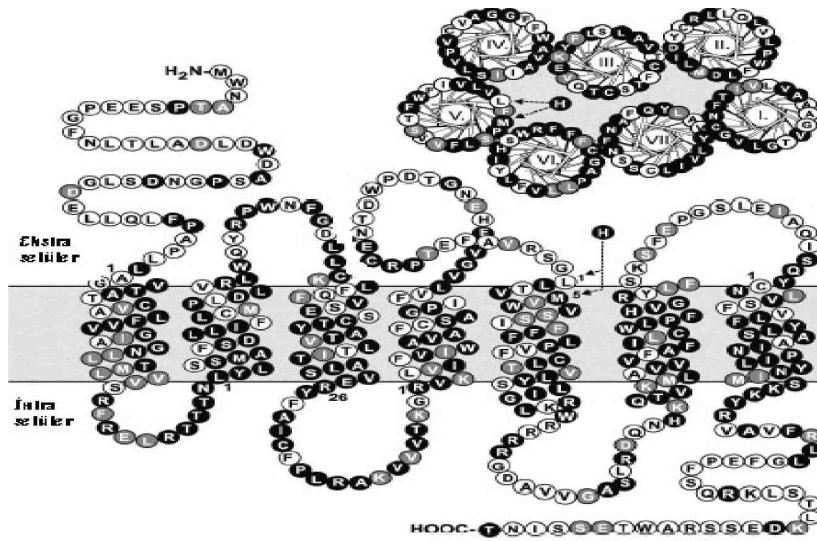
Şekil 2.5. Açılınmış grelinin insan ve sıçandaki aminoasit dizilimi

Kojima ve ark'ndan (87) alınmıştır

İnsan midesinden izole edile grelin ise dört tiptir (88). Açılınmemiş, oktanoillenmiş, dekanooillenmiş ve büyük olasılıkla dekenooillenmiş grelin.

### Grelın Reseptörü

Grelinin hormon olarak keşfedilmesinden önce, 1996 yılında reseptörü (GHS-R) tanımlanmış ve G protein ailesine ait olduğu saptanmıştır (89). Grelın reseptörü, 3q26.2'de kodlanmış genedir. GHS-R la ve lb olarak adlandırılan iki izoformu vardır (89).



Şekil.2.6. Grelın reseptörü

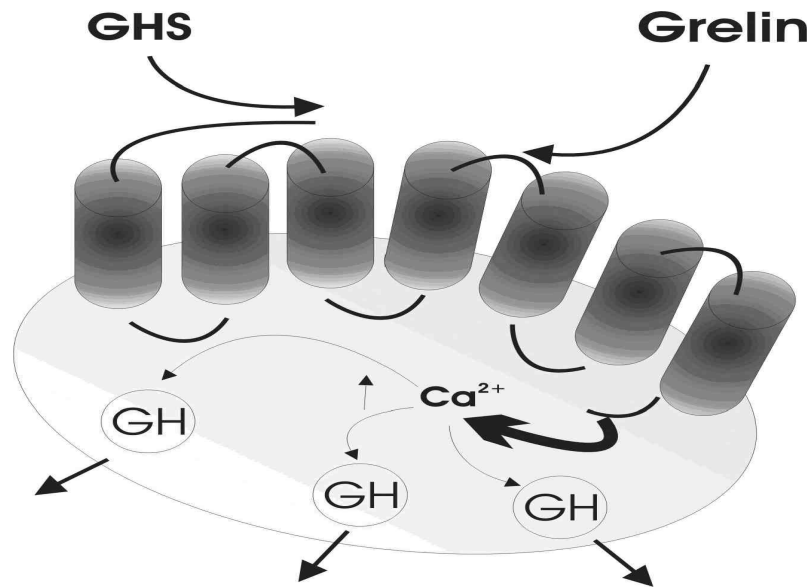
McKee ve ark'ndan (89) alınmıştır

GHS-R la, 336 aa ve 7 transmembran bölgeden oluşur. Grelin, GHS-R la tipi reseptöre bağlanır. GHS-R lb 289 aa ve 5 transmembran bölgeden oluşur. GHS-R reseptörünün, hipotalamus, pituiter bez, beyin, böbrek, pankreas, kalp, mide ve barsak dokularında bulunduğu gösterilmiştir (89,90). GHS-R'nin bu dağılımı grelinin ve GH salgılatıcılarının çok çeşitli olan biyolojik rollerini açıklayabilir.

### Grelinin sinyal ileti yolları

Grelinin sinyal iletiyle, hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarını iki mekanizma ile artırılır:

1. GHS-Rla'a bağlanan grelin, fosfolipaz C'i aktifler; plazma membranında depolanmış olan fosfatidil inozitol 4,5 bifosfat hidroliz olur, diaçilgliserol (DAG) ve inozitol trifosfat (IP3) oluşur. IP3, endoplazmik retikulumdaki IP3 reseptörüne bağlanır ve kalsiyum depolarından kalsiyum salınır (91).
2. Diğer yolda DAG plazma membranındaki protein kinaz C'i aktifler. Protein kinaz C tirozin fosforilasyonu yoluyla potasyum kanallarını inhibe eder ve depolarizasyona neden olur, böylece voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanalları açılır. Önceki çalışmalardan birinde grelinin  $\text{Na}^+$ 'a duyarlı iyon kanallarının açılımını kolaylaştırdığı ve depolarizasyona neden olduğu gösterilmiştir (91,92). İnsanda sinyal ileti yolu PI-PKC/kalsiyum yolu ile olduğu gösterilmiştir (93).



Şekil 2.7. Grelinin hücre içi sinyal ileti

Hosoda ve ark'ndan (88) alınmıştır

### 2.2.3. Grelinin Dokulardaki Dağılımı

Bütün omurgalı türlerinde grelinin ana sentez yeri midedir (72-74). Midenin fundus bölgesi, piloris bölgesine göre daha fazla grelin sentezlemektedir. Doku hibridizasyonu ve immunohistokimyasal analizler, midenin mukozal tabakasının belirli bölgelerinde grelin pozitif hücreler olduğunu ortaya koymuştur (94). Mide endokrin hücrelerinin değişik tipleri vardır. İmmunoglobulin A yönünden aktif olan endokrin hücrelerin % 20'si grelin mRNA'sı içermektedir. Ayrıca mide pilorik kısmında da az miktarda sentezlendiği gösterilmiştir (72,73). Dolaşımdaki grelinin büyük bir kısmı mideden, % 30'u ise ince barsak, meme (75,76) ve tükürük bezi gibi değişik organlardan kaynaklanmaktadır (95,96). İntestinal sistemin grelin derişimi duodenumdan kolona doğru azalmaktadır.

Grelinin ana sentez kaynağı olduğu sanılan midenin oksintik mukozasını içeren kısmı, sıçanlarda cerrahi olarak çıkarılmış ve bu işlem sonrasında dolaşımdaki grelin konsantrasyonu % 80 oranında azalmıştır (97). Bu olay, grelin sentezininin esas kaynağının oksintik mukoza olduğunu göstermektedir. Gastrektomi yapılmış insanlarda da benzer bir azalmaya rastlanmıştır (98). Pankreas da grelin sentezleyen bir organdır (99). Pankreasta grelinin sentez yerleri açısından değişik raporlar mevcut olup pankreasın  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$  veya yeni bir adacık hücre grubu tarafından üretildiği ileri sürülmektedir (100-102). Lateral hipotalamus, arkuat nükleus, ventro-mediyal nükleus, dorsomediyal nükleus, paraventriküler nükleus ve üçüncü ventrikülün ependimal tabakasındaki çekirdekler arası boşlukta grelin ekspresyonu mevcuttur (103). Ayrıca hipotalamusun dışında yer alan stria terminalis, amigdala, talamus ve habenulanın nükleusunda da grelin ekspresyonu bulunmaktadır (104,105).

Grelin mRNA'sının böbrekte özellikle glomerulusta bulunduğu açıklanmıştır (106). İmmünoreaktif grelin hücreleri, interstitial leydig hücreleri ve sertoli hücrelerinde de tanımlanmıştır (107,108). Caminos ve ark. ilk kez kondrositlerde grelinin sentez ve sekresyonunu göstermişlerdir (109). Tükürük bezinde ve dış dokusunda grelin varlığı immunohistokimyasal ve RIA yöntemleriyle gösterilmiştir. Aynı zamanda tükürüğün serumdan daha fazla hormon içerdiği rapor edilmiştir. Yine meme dokusunun grelini sentezlediği bildirilmiş olup anne sütündeki miktarları RIA ile belirlenmiştir (110). Grelin normal insan dokularının yanı sıra hipofiz adenomları (111), nöroendokrin tümörler (112,113), tiroid ve medullar tiroid karsinomları (114),

pankreas endokrin tümörleri (115)ve akciğer tümörlerinde de tanımlanmıştır (116,117).

#### 2.2.4. Grelinin Etkileri

Grelinin organizmada çok çeşitli sistemler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etkileri aşağıdaki gibi sınıflandırabiliriz:

1. Yemek yeme ve uyku üzerine etkisi
2. Hücre proliferasyonu üzerine etkisi
3. Kardiovaskuler etkiler
4. Karbonhidrat metabolizması ve enerji metabolizması üzerine etkileri
5. Pankreatik ekzokrin ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi
6. Gastrointestinal sistem üzerine etkisi

##### 1. Yemek yeme ve uyku üzerine etkisi

Grelinin yemek yeme üzerine etkisi GH'dan bağımsızdır. Grelinin oreksijenik etkisi ob/ob leptin eksikliği olan farelerde gözlenmiştir ve grelin antagonisti olan D-Lys3-GHRP-6 ile inhibe edilmiştir (118,119).

Grelin hipotalamusta iştah üzerine etkisini üç yolla yapar:

1. Mideden salgılanan grelin kan yoluyla arkuat nükleus hücrelerine ulaşır ve kan-beyin bariyerini geçerek aktif transport yolu ile diğer beyin hücrelerine ulaşır.
2. Periferde sentezlenen grelin, vagal etkileşimlerle grelin reseptör ekspresyonunu sağlar ve vagal etkileşimler nükleus traktusa erişerek hipotalamusu etkiler.

Grelin lokal olarak hipotalamusta sentezlenir ve hipotalamik hücreler ile direkt etkileşimde bulunur

##### Uyku üzerine etkisi

Uykuyu arttırdığı belirtilmişse de bu tam kesin değildir. İnsanlarda hafif uyku getirdiği daha önceki bazı çalışmalarda gösterilmiştir (120).

##### 2. Hücre proliferasyonu üzerine etkisi

Birçok tümör dokusunda grelin ve grelin reseptörlerinin eksprese edildiği gösterilmiştir. Grelinin neoplastik oluşumda otokrin/parakrin etkileri olduğu düşünülmektedir (121,122). Grelin reseptörleri, meme dokusu gibi normal fizyolojik koşullarda bu reseptörleri eksprese etmeyen organların tümöral dokularında bulunmuştur (123). *In vitro* çalışmalarla grelinin, hem açillenmiş hem de açil-

lenmemiş şeklinin ve bazı sentetik analoglarının tümör hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (124-126).

### 3. Kardiovasküler etkiler

Kalp ve aortada grelin ve reseptörünün ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (127,128). İntravenöz grelin enjeksiyonu yapılan gönüllü deneklerde grelinin kan basıncını azalttığı, kardiyak indeksi ve hacmi arttırdığı belirtilmiştir (129). Grelinin primer yetişkin kardiomyositlerinin ve endotelial hücrelerin in vitro olarak apoptozunu inhibe ettiği bildirilmiştir (130,131).

### 4. Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri

İnsanlarda grelinin GH salınımını artırması sonucu insulin direnci ve glikoneogenez artar ve dolaşımdaki glukoz düzeyleri yükselir (132). Ayrıca grelinin adipogenezde ve enerji depolanmasında önemli rol oynadığını gösteren bir çok çalışma mevcuttur (133,134).

### 5. Pankreatik ekzokrin ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi

Pankreas, grelin üreten bir organdır. Grelinin pankreasda yeni tanımlanan e adacık hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir (135).

### 6. Gastrointestinal sistem üzerine etkisi

Grelın ilk defa mide dokusunda bulunmuştur; ardından midedeki ve iştahı düzenlemekteki etkisi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda intravenöz grelin uygulanmasının doza bağımlı gastrik asit salgılanmasını ve gastrik hareketliliği arttırdığı gösterilmiştir (136). Grelinin intraserebro-ventriktiler uygulanması da gastrik asit salgılanmasını artırır (137).

### 3. GEREÇ VE YÖTEM

Bu deneysel çalışma, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (T.İ.C.A.M.) laboratuvarında 14.10.2008 tarihli 82 sayılı Yerel Etik Kurul Kararı ile yapıldı. Araştırmamızda  $230 \pm 30$  gram ağırlıkta, cinsiyet ayırımı gözetilmeksizin, 56 adet Spraque-Dawley cinsi albino sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları T.İ.C.A.M.'dan temin edilerek, deney süresince 12:12 aydınlık karanlık ışıklandırması olan, ısısı ( $22 \pm 2$  °C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Bu adaptasyon sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde tutularak, standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

#### 3.1. Deney Grupları

Deney hayvanları rastgele seçilerek her birinde n:8 sıçan olmak üzere toplam 7 grup oluşturuldu. Deneylerde kullanılan Synthetic Rat Ghrelin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) kullanılmadan önce Serum Fizyolojik (SF) içinde pH 7.4'de çözülerek kullanıldı.

**Grup 1 Sham (n:8) :** Hayvanlara hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı.

Rastgele seçilen 24 hayvana intraperitoneal (İP) 2 ml/kg SF verilmesinden 30 dakika sonra 40mg/kg Ketamin HCL (Ketalar) anestezisi uygulandı, uygun bölge temizliğini takiben 2,5cm uzunluğunda orta hat insizyonu ile laparotomi gerçekleştirildi. Laparotomiyi takiben hepatik pediküle 30 dakika iskemi uygulandı, bu işlem için mikrovasküler klemp (Harvard Apparatus, Inc. Holliston, MA, USA) kullanıldı, daha sonra Higgins ve Anderson'un tanımladığı şekilde (41) orta ve sol lateral loblar VCI'a birleşim yerinden 4/0 ipekle bağlanarak %70 hepatektomi uygulandı. Çıkartılan karaciğer dokusu tartılarak kaydedildi. Rezeksiyon yapıldıktan sonra mikrovasküler klemp açıldı, sakrifikasyon süreleri doluncaya kadar reperfüzyona bırakıldı. Tüm hayvanların laparotomi insizyonları 4/0 ipek kullanılarak iki sıra sürekli dikişlerle kapatıldı. Laparotomiden 1 saat sonra ve deney sonunda hayvanların vücut ağırlıkları ölçüldü.

**Grup 2 (n:8) :** Laparotomiden sonra 1. gün 40mg/kg Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. Vena Kava İnferiordan (VCI) kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Dekapitasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.

**Grup 3 (n:8) :** Laparotomiden sonra 3. gün 40mg/kg Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. VCI'dan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Dekapitasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.

**Grup 4 (n:8) :** Laparotomiden sonra 7. gün 40mg/kg Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. VCI'dan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Dekapitasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.

Geri kalan 24 hayvana da kontrol grubundaki prosedüre uygun laparotomi yapıldı, ancak laparotomiden 30 dakika önce Obay D., Taşdemir C. ve arkadaşlarının yaptığı örnek bir çalışmada kullanılan dozların incelenmesiyle (138) İP 80µg/kg Grelin uygulandı, 30 dakikalık iskemiye takiben %70 parsiyel hepatektomi uygulandı.

**Grup 5 (n:8) :** Laparotomiden sonra 1. gün 40mg/kg Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. VCI'dan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Dekapitasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.

**Grup 6 (n:8) :** Laparotomiden sonra 3. gün 40mg/kg Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. VCI'dan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Dekapitasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.

**Grup 7 (n:8) :** Laparotomiden sonra 7. gün 40mg/kg Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. VCI'dan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Dekapitasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.

Günlük değişen rejeneratif cevabın etkisine engel olmak için parsiyel hepatektomi günün ilk yarısında (saat 09.00-12.00 arasında) yapıldı. Steril şartlar sağlanan ortamda parsiyel hepatektomi yapılacak deney hayvanı 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) anestezisi uygulanarak sırtüstü pozisyonda, sıcaklığı ayarlanmış diseksiyon tablası üzerine yerleştirildi. Daha sonra sıçanların karın tıraşları yapıldıktan sonra, %10'luk povidon iodin ile bölge temizliği yapıldı ve 2,5cm uzunluğundaki orta hat insizyonu ile laparotomi gerçekleştirildi. Laparotomiyi takiben karaciğerin sol lateral ve median loblarına ait A. Hepetica ve V. Porta damarları ile safra kanalını içeren hepatik pedikül klemplenecek 30 dakika iskemi uygulandı. Daha sonra Higgins ve Anderson'un tanımladığı şekilde (41) %70 hepatektomi yapıldı. Tüm sıçanların laparotomi insizyonları 4/0 ipek kullanılarak iki

sıra sürekli dikişlerle kapatılarak parsiyel KC rezeksiyonu yapılan sıçanların KC ağırlıkları ölçüldü.

Her bir hayvanın karın boşluğuna cerrahi işlem sırasında kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için serum fizyolojik verildi. Laparotomi uygulanmış hayvanlar ayrı ayrı kafeslere konuldu ve deney süresince yaşatıldı. Grup 2 ve 5'e laparotomiden 1 gün sonra, grup 3 ve 6'ya 3 gün sonra, grup 4 ve 7'ye laparotomiden 7 gün sonra 40 mg/dl Ketamin HCl anestezisi altında relaparotomi uygulandı. VCI'dan kan örnekleri alındı ve daha sonra kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi. Ardından dekapitasyonla hayvanlar sakrifiye edildi.

Karaciğer rejenerasyon oranlarının belirlenmesinde kullanılmak üzere tüm hayvanların, laparotominin yapıldığı 1. saatte ve deney sonunda vücut ağırlıkları ölçüldü.

### 3.2. Doku – Kan Örneklerinin Alınması ve Değerlendirilmesi

Grup 1'e ait (Sham) hayvanların karaciğerlerinin yaş ağırlıkları hassas terazi (Bel Enginnering Mark 500 ) ile ölçüldü. Grup 2-7. 'ye ait 1., 3. ve 7. günlerde alınan karaciğerlerin yaş ağırlıkları kontrol grubuna benzer şekilde ölçüldü ve karaciğerlerin rejenerasyon oranları Child'ın formülüne yerleştirilerek hesaplandı (139).

#### Rejenerasyon oranı:

$$\frac{\text{1.,3.,7. günlerdeki alınan KC ağırlığı} - \text{Postop Kalan KC'in tahmini ağırlığı}}{\text{Total Karaciğer Oranı}} \times 100$$

Karaciğerin ağırlık ölçümleri hızlı bir şekilde gerçekleştirildikten sonra alınan doku örnekleri histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış formalin tespit solüsyonuna konuldu.

Tüm karaciğer ağırlığı rat ağırlığının %3,4'ü kabul edildi. (140)

#### 3.2.1. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal değerlendirme Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. Grup 1'deki hayvanlardan dekapitasyon işleminden hemen önce, Grup 2 ve Grup 5'deki hayvanlardan karaciğer rezeksiyonundan 1 gün sonra, Grup 3 ve Grup 6'deki hayvanlardan karaciğer



rezeksiyonundan 3 gün sonra, Grup 4 ve Grup 7'deki hayvanlardan karaciğer rezeksiyonundan 7 gün sonra 40mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) anestezisi altında vena kava inferiordan kan numuneleri alındı. Daha sonra bu gruplardaki hayvanlara dekapitasyon işlemi uygulandı ve sonrasında geride kalan KC dokuları rejenerasyonu değerlendirmek için rezeke edildi. Alınan kan örneklerinde serumda AST (Aspartat Aminotransferaz), ALT (Alanin Aminotransferaz) ve LDH (Laktat Dehidrogenaz) düzeyleri Konelab 60i (Thermo Clinical LabSystems, Espoo, Finland) otoanalizatör cihazında ölçüldü ve IU/L olarak birimlendirildi.

### 3.2.2. Malondialdehit Ölçümü

Günlük oda ısısında çözülen doku örneklerine 2 cc serum fizyolojik eklendi ve Virsonic 100 (Virtis Company Inc., New York , USA) ultrasonik homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Üst fazdan alınan numunenin absorbansları spektrometri (Shimadzu Corporation, Japan) ile 532 nm dalga boyunda ölçüldü. Hazırlanan standart çözeltilerden MDA değerleri nmol/ml olarak hesaplandı. MDA değerleri doku protein değerlerine bölünerek nmol/g protein olarak ifade edildi. (141).

### 3.2.3. Histopatolojik İnceleme

Karaciğer örnekleri %10'luk tamponlanmış formaldehitte 3 saat fikse edildi. Alkol, aseton, ksilen ve parafin işlemlerinden sonra bloklandı. Bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak Hemotoksin-Eozin boyası ile boyandı. Preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskopunda 40X ve 100X büyütme ile değerlendirildi. Hazırlanan tüm kesitler 2 histolog tarafından kör olarak değerlendirildi.

### 3.3. İstatistiksel İnceleme

Biyokimyasal değerlendirme Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışmada yer alan 7 grubun biyokimyasal değişkenlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Holm-Sidak Testi kullanıldı. Tüm değişkenlerden elde edilen verilerin gruplardaki normal dağılıma uygunluğu Kolmogorof-Simirnov Testi ile incelendi. Karşılaştırmalarda  $P < 0.001$  anlamlı olarak kabul edildi. Histopatolojik ölçümlerde skor değeri kullanıldığı için parametrik olmayan yöntemlerden Kruskal-Wallis One Way analizi kullanılarak 7 grup birbiri ile karşılaştırıldı. Çoklu

karşılaştırma testi olarak Student-Newman-Keuls metodu kullanıldı. Karşılaştırmalarda  $P < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Tüm analizlerde SPSS 15.0 ve Sigma Stat 3.0 programları kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Aşağıda bu çalışma sırasında bulunan ve hesaplanan Karaciğer Rejenerasyon Oranları, Kan AST-ALT-LDH Düzeyleri, Doku MDA Düzeyleri ve Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları tablolar halinde verilmiş olup, tüm grupların istatistiksel olarak karşılaştırıldığı grafikler ile de elde edilen bulguların daha iyi anlaşılması amaçlanmıştır.

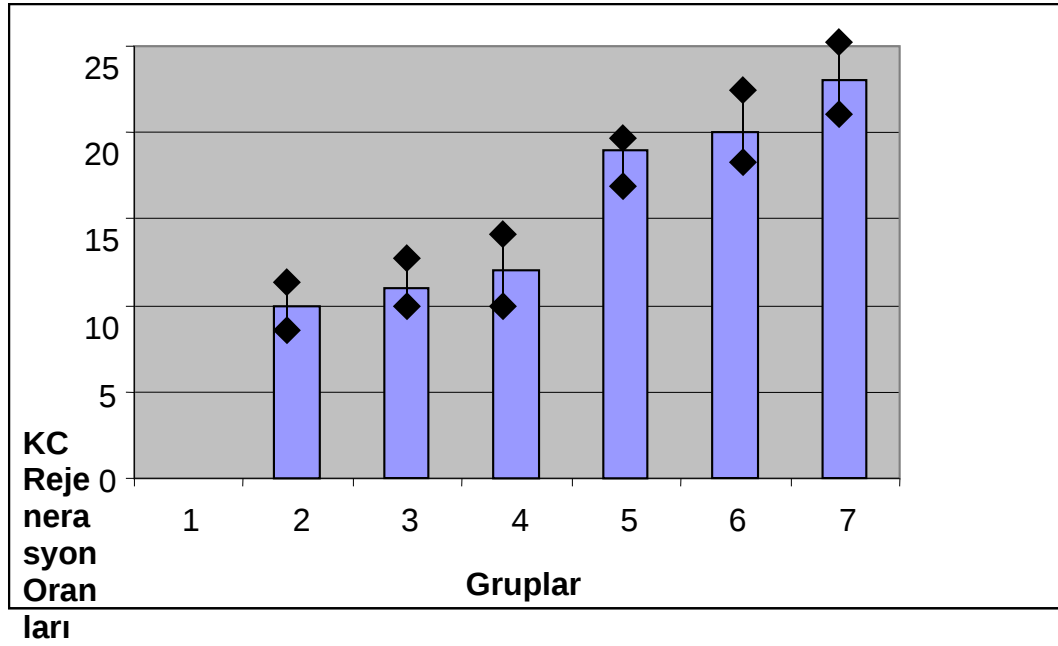
##### 4.1. Karaciğer Rejenerasyon Oranları

Bu çalışma sırasında tüm gruplardaki hayvanların İlk Rezeke Edilen KC Ağırlıkları, Kalan Tahmini KC Ağırlıkları, Son Rezeke Edilen KC Ağırlıkları, Tahmini Total KC Ağırlıkları ve Rejenerasyon Oranlarının gruplara göre Ortalama  $\pm$  SD (Standart Sapma) değerleri Tablo 4.1. de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Karaciğer Ağırlık Ölçümleri ve Rejenerasyon Oranları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
İlk Rezeke Edilen KC Ağı.	-	4.0 $\pm 0.5$	5.3 $\pm 0.3$	4.6 $\pm 0.4$	4.2 $\pm 0.6$	4.5 $\pm 0.4$	4.6 $\pm 0.6$
Kalan Tahmini KC Ağı.	-	3.3 $\pm 0.3$	2.7 $\pm 0.4$	3.0 $\pm 0.5$	2.8 $\pm 0.3$	3.1 $\pm 0.6$	2.5 $\pm 0.4$
Son Rezeke Edilen KC Ağı.	-	4.4 $\pm 0.5$	3.5 $\pm 0.5$	4.0 $\pm 0.6$	4.1 $\pm 0.7$	5.8 $\pm 0.5$	6.8 $\pm 1.1$
Rejenerasyon Oranı	-	10 $\pm 2.6$	11 $\pm 2.9$	12 $\pm 3.1$	18.5 $\pm 2.7$	20.2 $\pm 3.1$	23.6 $\pm 3.9$
Tahmini Total KC Ağı.	7.0 $\pm 0.6$	7.3 $\pm 0.7$	8.0 $\pm 0.5$	7.6 $\pm 0.4$	7.0 $\pm 0.3$	7.6 $\pm 0.9$	7.1 $\pm 0.4$

Bu çalışma sırasında tüm gruplardaki hayvanların KC Rejenerasyon Oranları Ortalama  $\pm$  SD değerlerine göre Şekil 4.1'deki grafikte gösterilmiştir. Grafikte görüldüğü gibi İP SF verilen 2., 3. ve 4. gruplardaki rejenerasyon oranlarıyla karşılaştırıldığında İP Grelın verilen 5.,6. ve 7. gruplardaki rejenerasyon artışı dikkati çekmektedir( $P < 0.001$ ). Ancak İP SF ve İP Grelın verilen grupların 1.,3. ve 7. günlerinde gün artışına bağlı rejenerasyon oranlarında küçük bir artış görülmekle birlikte bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0.001$ )



Şekil 4.1. Gruplara Göre KC Rejenerasyon Oranları

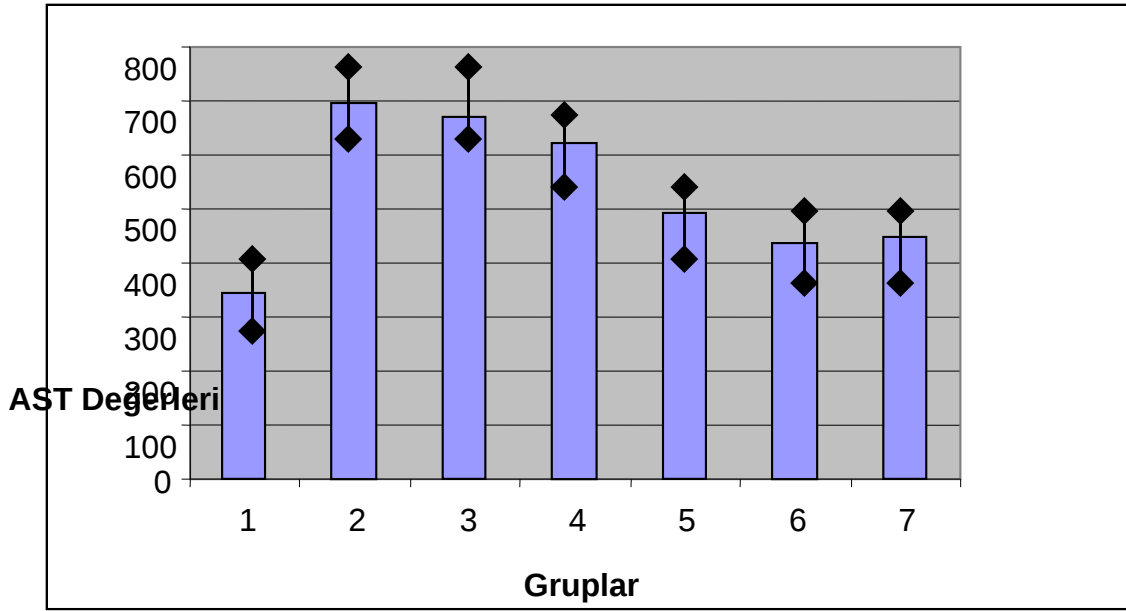
#### 4.2. AST, ALT ve LDH Değerleri

Bu çalışma sırasında tüm gruplardaki hayvanların AST, ALT ve LDH ölçümlerinin gruplara göre Ortalama  $\pm$  SD (Standart Sapma) değerleri Tablo 4.2. de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Gruplara Göre AST, ALT ve LDH Ortalama  $\pm$  SD Değerleri

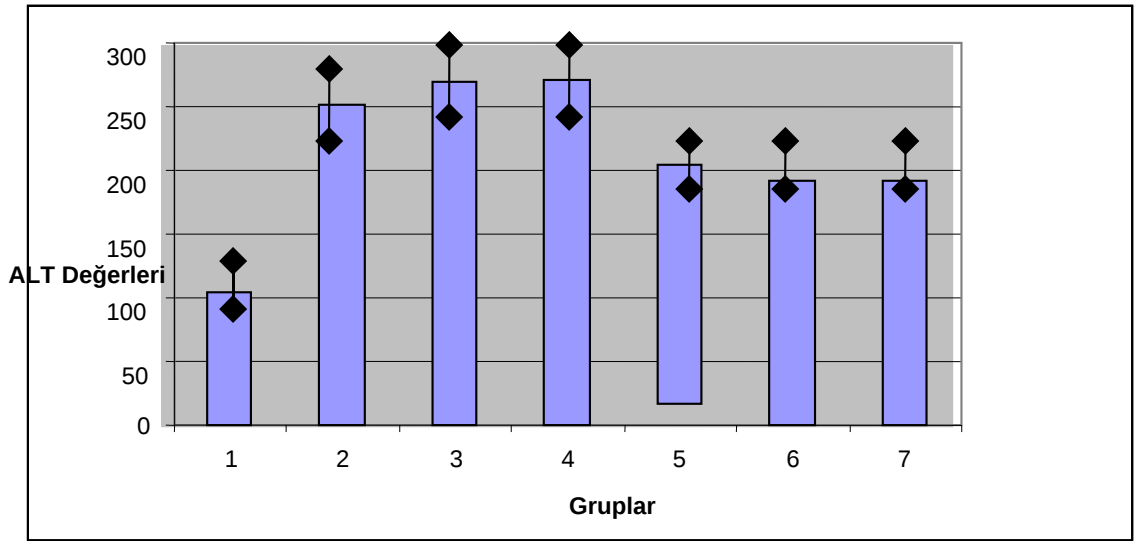
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
AST	345.625 $\pm$ 148.58	696.375 $\pm$ 185.57	669.500 $\pm$ 169.05	622.125 $\pm$ 154.56	491.125 $\pm$ 179.72	438.250 $\pm$ 101.06	448.125 $\pm$ 121.45
ALT	104.825 $\pm$ 27.46	252.375 $\pm$ 43.57	269.125 $\pm$ 47.72	271.125 $\pm$ 64.11	188.250 $\pm$ 49.99	192.750 $\pm$ 43.30	191.875 $\pm$ 35.24
LDH	2392.87 $\pm$ 564.70	4465.50 $\pm$ 990.16	4538.75 $\pm$ 833.71	4593.12 $\pm$ 665.63	3560.62 $\pm$ 757.83	3585.12 $\pm$ 833.93	3594.87 $\pm$ 586.71

Bu çalışma sırasında tüm gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerindeki AST, ALT ve LDH değerleri ölçülmüş ve Ortalama  $\pm$  SD değerlerine göre Şekil 4.2, Şekil 4.3. ve Şekil 4.4 'deki grafiklerde gösterilmiştir. Şekil 4.2. deki grafikte görüldüğü gibi İP Serum Fizyolojik verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 2., 3. ve 4. gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerinden ölçülen AST değerlerinde Sham grubuyla karşılaştırıldığında bir artış gözlenmiş olup ( $P < 0.001$ ) bu grupların kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P > 0.001$ ). İP Grelin verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerinden ölçülen AST değerlerinde ise Sham grubuna göre bir artış saptanmış olup ( $P < 0.001$ ), İP Serum Fizyolojik verilen 2., 3. ve 4. gruptaki değerler ile karşılaştırıldığında bir azalma saptanmıştır ( $P < 0.001$ ). İP Grelin verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki AST değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $P > 0.001$ ).



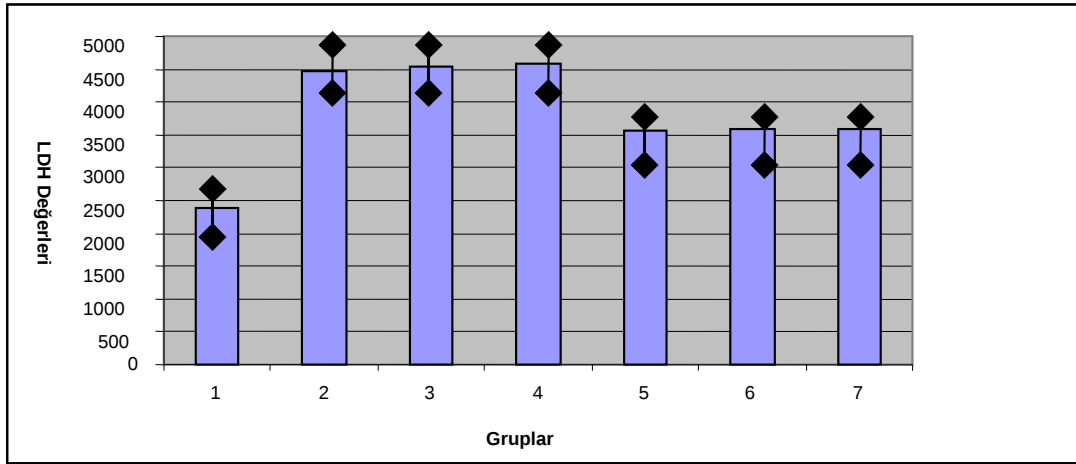
Şekil 4.2. Gruplara Göre AST Değerleri (Ortalama±SD)

Şekil 4.3. deki grafikte görüldüğü gibi İP Serum Fizyolojik verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 2., 3. ve 4. gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerinden ölçülen ALT değerlerinde Sham grubuyla karşılaştırıldığında bir artış gözlenmiş olup ( $P<0.001$ ) bu grupların kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P>0.001$ ). İP Grelın verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerinden ölçülen ALT değerlerinde ise Sham grubuna göre bir artış saptanmış olup ( $P<0.001$ ), İP Serum Fizyolojik verilen 2., 3. ve 4. gruptaki değerler ile karşılaştırıldığında bir azalma saptanmıştır ( $P<0.001$ ). İP Grelın verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki ALT değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $P>0.001$ ).



Şekil 4.3. Gruplara Göre ALT Değerleri (Ortalama±SD)

Şekil 4.4. deki grafikte görüldüğü gibi İP SF verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 2., 3. ve 4. gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerinden ölçülen LDH değerlerinde Sham grubuyla karşılaştırıldığında bir artış gözlenmiş olup ( $P<0.001$ ) bu grupların kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P>0.001$ ). İP Grelin verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki hayvanlardan alınan kan örneklerinden ölçülen LDH değerlerinde ise Sham grubuna göre bir artış saptanmış olup ( $P<0.001$ ), İP Serum Fizyolojik verilen 2., 3. ve 4. gruptaki değerler ile karşılaştırıldığında bir azalma saptanmıştır ( $P<0.001$ ). İP Grelin verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki LDH değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $P>0.001$ ).



Şekil 4.4. Gruplara Göre LDH Değerleri (Ortalama±SD)

### 4.3. Doku MDA Ölçüm Sonuçları

Deney sonunda ketamin anestezisi altında sakrifiye edilen ratlardan alınan karaciğer dokularındaki MDA düzeyleri İ/R hasarının değerlendirilebilmesi amacıyla ölçüldü. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

İP SF verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 2., 3. ve 4. gruplardaki hayvanlardan alınan KC dokularındaki MDA düzeyleri Sham grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmış olup ( $P < 0.001$ ), bu grupların kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P > 0.001$ ).



Tablo 4.3. Doku MDA Ölçümleri

GRUPLAR	ORTALAMA	STANDART SAPMA
GRUP 1	10.484	1.370
GRUP2	16.224	1.028
GRUP 3	17.299	1.102
GRUP 4	16.375	1.691
GRUP 5	12.198	1.644
GRUP 6	12.448	1.295
GRUP 7	13.110	1.278

Tablo 4.3 'te görüldüğü gibi İP SF uygulanan 2., 3. ve 4. gruplardaki hayvanlardan elde edilen doku MDA düzeyleri Sham grubu ile karşılaştırıldığında bir artış saptanmış olup ( $P<0.005$ ) bu grupların kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P>0.005$ ). İP Grelin verilen ve iskemi reperfüzyon uygulanan 5., 6. ve 7. gruplardaki hayvanlardan elde edilen doku MDA düzeylerinde Sham grubuna göre bir artış saptanmış olup ( $P<0.005$ ), İP SF verilen 2.,3. ve 4. gruplardaki değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $P<0.005$ ) saptanmıştır. İP Grelin uygulanan 5.,6. ve 7. gruplardaki doku MDA düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır ( $P>0.005$ )

#### 4.4. Histopatolojik Değerlendirme

Deney sonunda ratlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi. Karaciğerin belirtilen standart bölgelerinden her bir hayvan için 2 ayrı parça alındı. Dokular %10'luk tamponlu nötralin formalin içine alındı ve olağan yöntemler kullanılarak parafin bloklar haline getirildi. Her hayvandan elde edilen iki ayrı bloktan toplam 10 lam üzerinde 30 kesit olacak şekilde karaciğer kesitleri alındı. Kesitler dokuların farklı derinliklerinden elde edildi. Alınan kesitler Hemotoksilen - Eozin yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobu altında rejenerasyon açısından aşağıdaki biçimde

puanlandı. Rejenerasyon derecelendirilmesi yapılırken tüm kesit alanları incelendi ve rejenerasyon hücrelerin kesitlerdeki yaygınlık durumuna göre puanlar verildi.

0: Rejenerasyon yok

1: Düşük derecede rejenerasyon

2: Orta derecede rejenerasyon

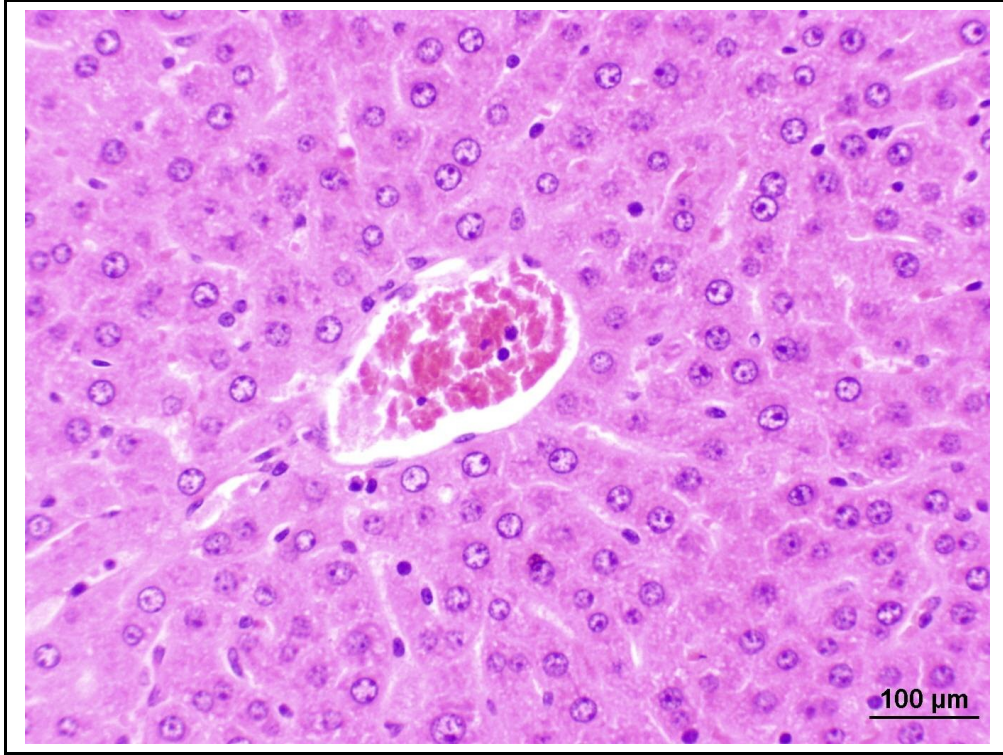
3: Yaygın derecede rejenerasyon

Tablo 4.4. Histopatolojik Rejenerasyon Puanlama Değerleri

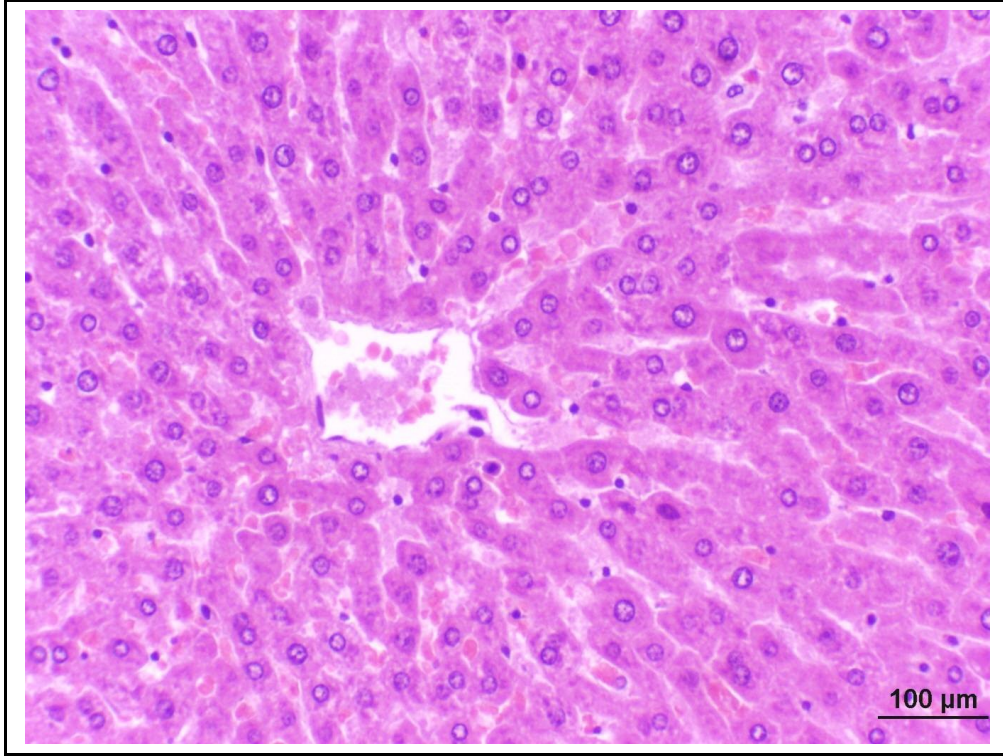
GRUP	MEDIAN	%25	%75
GRUP 1	0.0	0.0	1.0
GRUP 2	1.5	1.0	2.0
GRUP 3	1.0	1.0	2.0
GRUP 4	1.0	1.0	1.5
GRUP 5	2.0	2.0	2.0
GRUP 6	2.5	2.0	3.0
GRUP 7	3.0	2.5	3.0

Çalışmamızda; İP SF verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 2), 3. gün (Grup 3) ve 7.gün (Grup 4) alınan karaciğer doku örneklerindeki histopatolojik rejenerasyon oranları Sham grubuna (Grup 1) göre artmış bulunmuştur ( $P<0.05$ ). İP Grelın verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 5), 3. gün (Grup 6) ve 7.gün (Grup 7) alınan karaciğer doku örneklerindeki histopatolojik rejenerasyon düzeyleri ise Sham grubuna (Grup 1) göre belirgin artmış bulunmuş olup ( $P<0.05$ ), Grup 2,3 ve 4'deki histopatolojik rejenerasyon düzeylerinden de daha yüksek olarak saptanmıştır

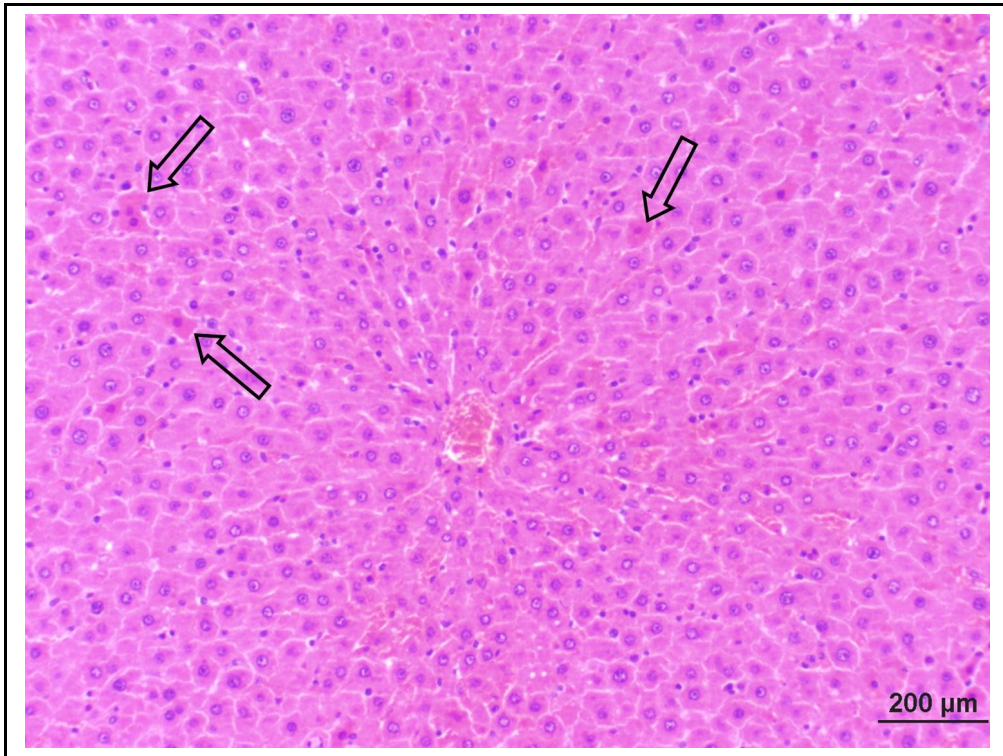
( $P < 0.05$ ). Histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre rejenerasyon oranlarının Grelin uygulaması sonrasında artmış olması, Grelinin karaciğer rejenerasyonunu artırıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir.



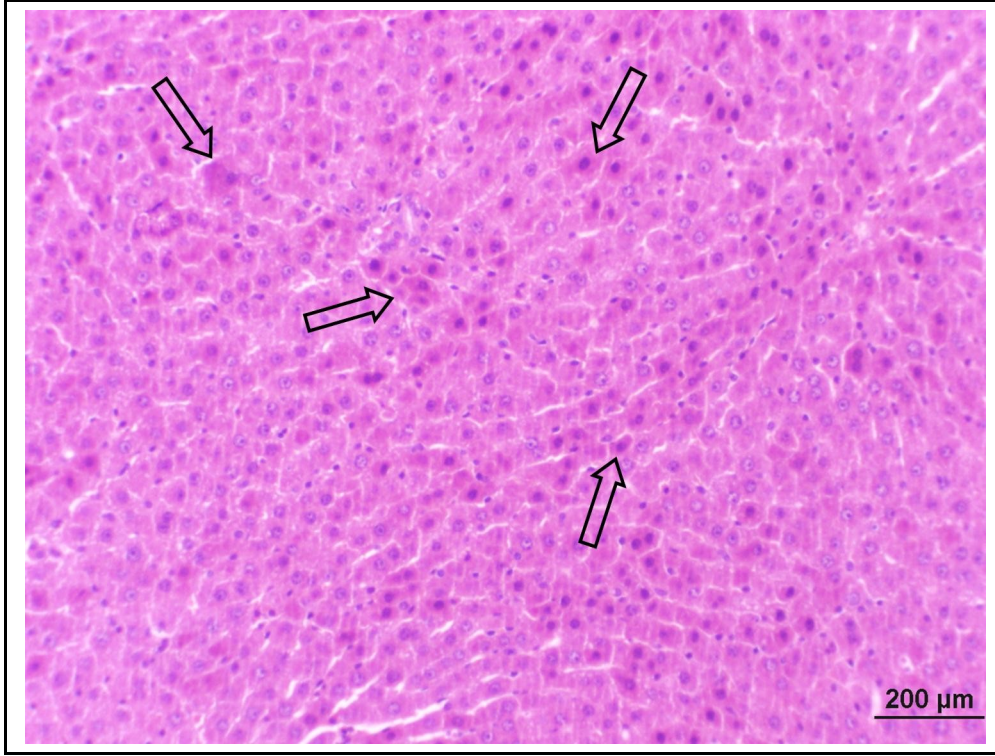
şekil 4.5 Grup 1- (Sham) grubuna ait karaciğer görüntüsü.



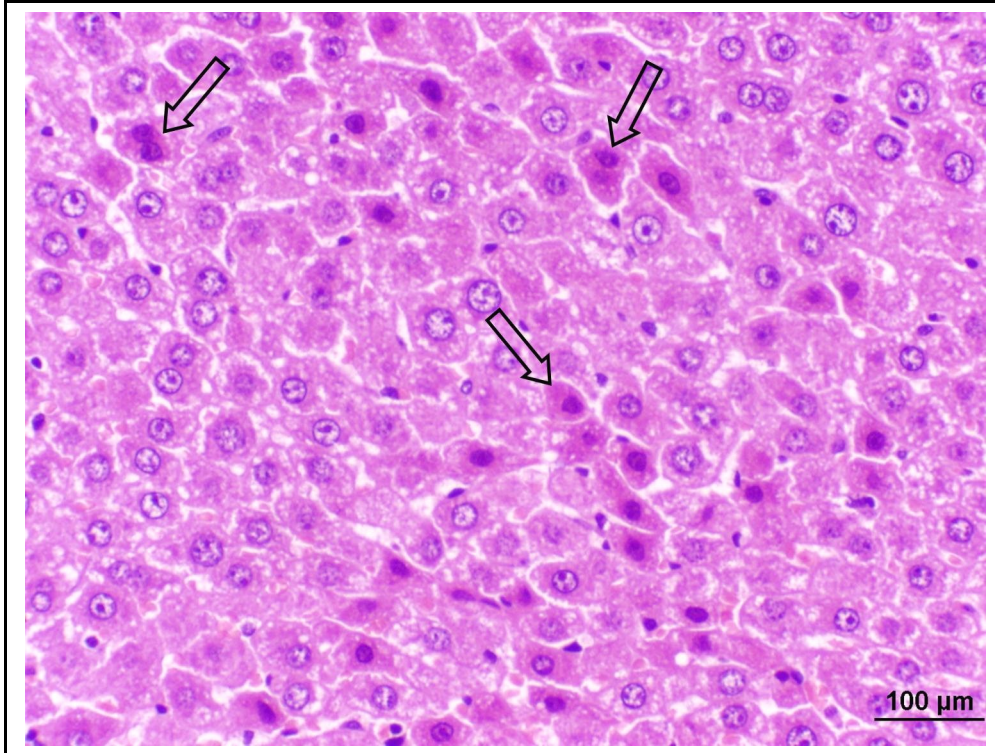
Şekil 4.6 Grup 1-(Sham) grubuna ait karaciğer görüntüsü.



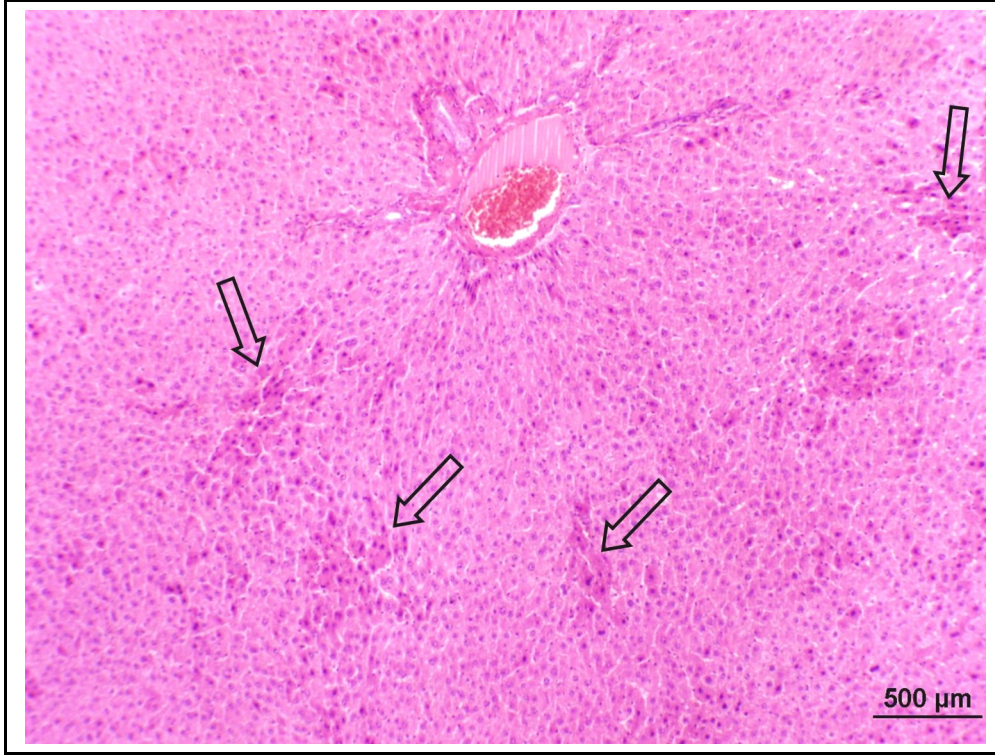
Şekil 4.7 Grup 2 (SF 1 gün)'ye ait karaciğer kesitinde rejenere olan karaciğer hücreleri (□).



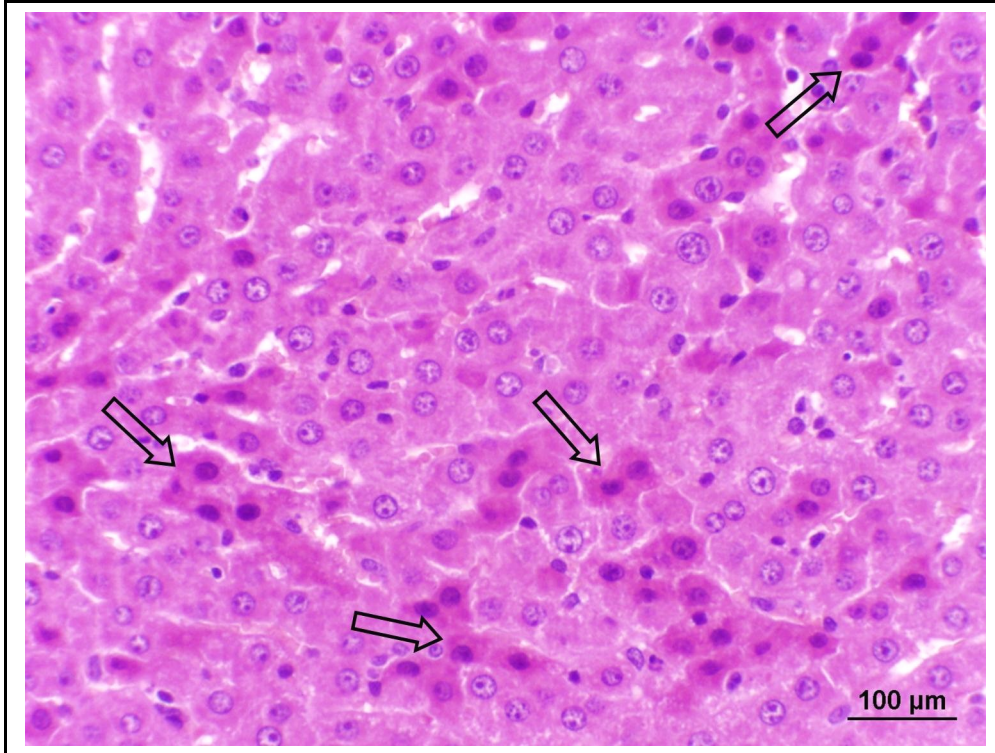
Şekil 4.8 Grup 5 (Grelin 1 gün)'e ait karaciğer kesitinde rejeneren olan karaciğer hücreleri (□).



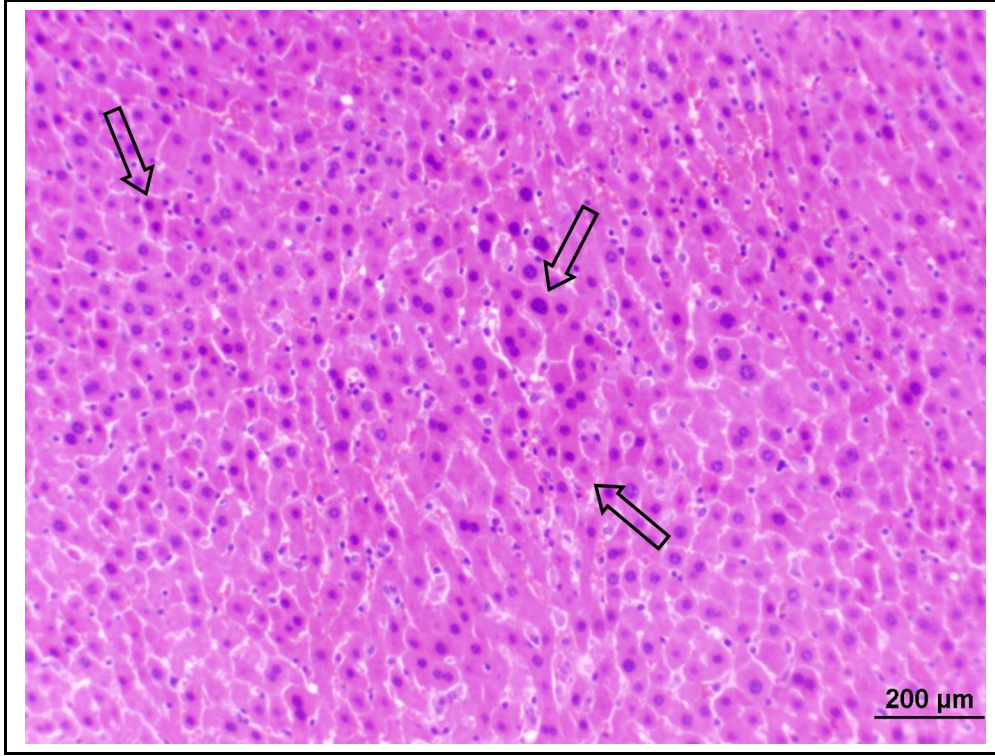
Şekil 4.9 Grup 3 (SF 3 gün)'e ait karaciğer kesitinde rejeneren olan karaciğer hücreleri (□).



Şekil 4.10 Grup 6 (Grelin 3 gün)'e ait karaciğer kesitinde rejenere olan karaciğer hücre kümeleri ( □ ).



Şekil 4.11 Grup 4 (SF 7 gün)'e ait karaciğer kesitinde rejenere olan karaciğer hücreleri ( □ ).



Şekil 4.12. Grup 7 (Grelin 7 gün)'ye ait karaciğer kesitinde rejenere olan karaciğer hücreleri ( □ ).

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde karaciğer cerrahilerinin yapılabildiği büyük merkezlerin ve yapılan ameliyatlara sayısı gittikçe artmaktadır. Bu nedenle cerrahi tedavi sırasında oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarının ve çeşitli nedenlerle gerçekleştirilen karaciğer rezeksiyonları sonrasında meydana gelen karaciğer rejenerasyonunun mekanizmalarının daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

Yaralanma veya rezeksiyondan sonra karaciğerin kendini rejeneretme kabiliyeti uzun süredir araştırmacıları büyülemektedir. Karaciğerin rejeneratif kapasitesi ile ilgili ilk bilgilere Hesiodos' un Theogoni' sinde rastlanmaktadır. Bir Titan olan Prometheus ateşi çalarak insana verdiği ve insanı şımarttığı için Zeus tarafından cezalandırılır. Ceza olarak Kafkas Dağları'nın en yüksek tepesine zincirlenir. Karaciğerinin bir kısmı her gün bir kartal tarafından yenir ve her gece eski halini alır. Ancak gerçek anlamda karaciğer rejenerasyonu fikrini ilk kez 1833' te Cruveilhier ortaya atmıştır (139).

Karaciğer erişkin boyutlara ulaştığında büyümesi durur. Normal bir karaciğerin herhangi bir zamanda yapılan kesitlerde hepatosit popülasyonunun çok seyrek mitoz göstermesi bu durgunluğun bir ifadesidir (140). Bununla beraber karaciğerde doku kaybı ile sonuçlanan yaralanmalar, viral hepatit, siroz ve toksik olaylar gibi durumlar veya karaciğerin cerrahi olarak bir kısmının çıkartılması gibi olaylardan sonra hızla kompanse edilebilir bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına ulaşınca yine durur.

Geniş metabolik yüküne rağmen karaciğer en geniş hücre proliferasyon özelliğine sahip organdır. Hepatositlerin sadece %0.0012-%0.01' i hayatın herhangi bir döneminde mitoz göstermektedir (141-143). Sağlıklı karaciğerdeki bu düşük turnover toksik karaciğer hasarı veya cerrahi rezeksiyon durumunda değişmektedir. Karaciğerin 2/3 ünün kaybından sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu sonuç, rezekte lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofisine bağlıdır (144).

Karaciğer rezeksiyonu veya parsiyel hepatektomi karaciğer kütlelerini azaltır ve az da olsa geride hasarlı hücreler bırakır. 2/3 parsiyel hepatektomi modelinde, sol



ve medial loblar ligate edilip eksize edilir. Böylece karaciğerin %65-70'i eksize edilmiş olur (145). Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücresel hasarın eşlik etmediği pür karaciğer rejenerasyonu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu invivo rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da sham grubu hariç diğer tüm ratlara Higgins ve Adnerson'un tanımladığı şekilde %70 hepatektomi yapıldı (41) ve hepatik rejenerasyonu değerlendirmek için Micholopoulos ve De Frances'in de belirttiği gibi en uygun modeli seçtiğimizi düşünüyoruz (42). Parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve artık lobüllerin genişlemesi şeklinde olur (144).

Majör bir cerrahi girişim olan karaciğer rezeksiyonları tümör, travma, kist gibi çeşitli patolojiler ve transplantasyon amacıyla sıklıkla uygulanmaktadır. Major karaciğer cerrahisinde özellikle karaciğer yaralanmaları ve karaciğer tümörlerinde peroperatif kan kaybı hem hastanın mortalitesi hem de morbiditesi açısından önemlidir (146-148). İlk kez 1908 yılında Hogarth Pringle tarafından tarif edilen portal triadın klempe edilmesi bu yöntemlerden biridir. Bu yöntem Pringle manevrası olarak adlandırılır. Kansız bir alan insanlarda Pringle manevrası yani portal ven ve hepatik arter oklüzyonu ile sağlanır (149). Bu nedenle Pringle manevrası sıkça kullanılan bir manevradır ve karaciğerde meydana getirdiği fonksiyonel, kimyasal ve histolojik değişiklikler net olarak bilinmemektedir. Böyle bir işlem, potansiyel olarak tehlikeli hepatik parankim iskemisine neden olur (150). Karaciğerin anoksiye ve hem iskemik periyotta hem de reperfüzyon esnasında hücre hasarına oldukça hassas bir organ olduğuna inanılmaktadır. Ancak, karaciğer hücre ölümünün biyokimyasal mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (151).

Karaciğer iskemi ve reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. İskemiyle oluşan doku hasarının ortamda biriken bu toksik metabolitler nedeniyle olduğu bilinmektedir. İskeminin zararlı etkileri iskemi sırasında oluşmakla birlikte, daha büyük hasarın reperfüzyon sonrasında geliştiği

gösterilmiştir (152,153). Burada esas neden, iskemideki hasarın reperfüzyon ile daha da şiddetlenmesidir (154,155). Ancak iskemik dokularda kan akımının yeniden sağlanması, enerji temini ve hücrenin ölümden kurtulması için gereklidir (156). İskemi-reperfüzyon hasarında şimdi dikkatler karaciğerin böyle bir iskemiye ne kadar dayanabileceği üzerinde yoğunlaşmıştır (157). Hayvanlarda iskemiye tolerans uzunluğu zamanı konusunda çalışmalar mevcuttur ve iskemi durumunda güvenli zaman aralığı 30 dakikadır (158,159). İnsanlarda daha uzun sağkalım zamanı bildirilmiştir ancak komplikasyonlar mevcuttur (160). İskemi ve reperfüzyon hasarını önlemek veya en aza indirebilmek için pek çok ajan kullanılmıştır (161-163).

İ/R hasarı sonrasında karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için değişik yöntemler kullanılabilirse de bugün için bunların en çok kabul gören ve en çok kullanılan AST, ALT ve LDH aktivitesi tayinidir. Karaciğer hasarında bu enzimlerin aktivitesinin arttığı bilinmektedir. Yabe ve ark.(164) karaciğerde İ/R sonucunda ALT, AST ve LDH düzeylerinin arttığını ve bu artışın iskemi reperfüzyon sonucu oluşan serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasara bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamızda 30 dakikalık sürekli iskemiye takiben % 70 hepatektomi uyguladık. Hardy ve ark. (157) sıçanlara 30 dakika sürekli iskemiye takiben % 80 hepatektomi uygulamışlardır. Serum AST ve ALT değerleri post-op 1. gün maksimum seviyesine ulaşmış ve post-op. 4. gün normal düzeylere inmiştir. Serum AST ve ALT değerlerindeki bu değişimler bizim çalışmamız ile uyumludur. Bizim çalışmamızda; İP serum fizyolojik verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 2), 3. gün (Grup 3) ve 7.gün (Grup 4) alınan kan örneklerindeki AST ve ALT düzeyleri kontrol grubuna (Grup 1) göre belirgin artmış bulunmuştur. İntraperitoneal Grelin verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 5), 3. gün (Grup 6) ve 7.gün (Grup 7) alınan kan örneklerindeki AST ve ALT düzeyleri ise kontrol grubuna (Grup 1) göre artmış bulunmakla birlikte, Grup 2,3 ve 4'deki AST ve ALT düzeylerinden daha düşük olarak saptanmıştır. İskemi-Reperfüzyon hasarının göstergelerinden olan AST ve ALT düzeyi artışlarının Grelin uygulaması sonrasında azalmış olması,

Grelinin İskemi-Reperfüzyon hasarını önlemede etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Mackenzie ve ark. (158) sürekli normotermik iskemi ile köpeklerde % 70 hepatektomi yapmış, sağ ve kaudat loblara 30 dakikalık iskemi uygulamıştır. Serum AST ve ALT değerleri post-op 2. gün yükselmiş ve 1 hafta içinde hızla normale dönmüştür. Tüm bu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumludur.

Yine Mackenzie ve ark.'nın köpeklerde yaptığı bir başka çalışmada (159), % 70 hepatektomi öncesi 30 ve 60 dakikalık iskemi yapılmış ve benzer karaciğer fonksiyon sonuçları elde edilmiştir. Bu çalışmada, 6 hafta sonunda karaciğer kütlelerinin yeniden oluşmasının, uzamış iskemiden rejenerasyon kapasitesinin etkilenmediğini gösterdiği ve bunun nedeninin ise, rejeneratif hiperplazinin parsiyel hepatektomiden birkaç saat sonra başlaması olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda % 70 hepatektomi sonrası Mackenzie'nin yaptığı çalışmalara benzer şekilde post-operatif ilk günde karaciğer fonksiyonları bozulmuş, ancak daha sonraki günlerde bu bozulmada belirgin bir artış gözlenmemiştir.

Hannoun ve ark. (160) insanlarda 1 saati aşan normotermik iskemi ile karaciğer rezeksiyonu çalışmalarında, 120 dakikalık sürekli iskeminin güvenli olduğunu, ancak 90 dakikalık sürekli iskeminin tercih edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Huguet ve ark. (150) 26 hastada 1 saati aşan iskemi ile birlikte karaciğer rezeksiyonunu çalışmış, hastaları 14 gün izlemiş ve deneysel çalışmalardakine benzer karaciğer fonksiyon testleri sonuçları elde etmişlerdir. Delva ve ark. (4) 142 hastada yaptığı benzer bir çalışmada erken devrede bozulan karaciğer fonksiyonlarının hızla düzeldiğini belirtmiştir (148).

Günümüze kadar yapılan tüm çalışmalar ve bizim çalışmamızda karaciğerin iskemi-reperfüzyonunda meydana gelen bu fonksiyonel değişiklikler post-op. ilk 48 saat içinde bozulmakta, ancak daha sonraki günlerde belirgin bir değişiklik gözlenmemektedir. Ancak post-operatif ilk bir kaç gün hastanın mortalite ve morbiditesinde çok önemlidir, bu nedenle günümüzde dikkatler karaciğeri böyle bir hasardan nasıl koruyabileceğimiz yönünde yoğunlaşmaktadır. Bu amaçla bir çok çalışma yapılmakta ve değişik ajanlar kullanılmaktadır (151, 154, 165).

İskemi-reperfüzyon hasarında yükselen ve karaciğerde hücre düzeyindeki doku hasarını gösteren karaciğer enzimlerinden bir diğeri de LDH (Laktat Dehidrojenaz)'dır. Çalışmamızda; İP serum fizyolojik verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 2), 3. gün (Grup 3) ve 7.gün (Grup 4) alınan kan örneklerindeki LDH düzeyleri kontrol grubuna (Grup 1) göre belirgin artmış bulunmuştur. İntraperitoneal Grelin verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 5), 3. gün (Grup 6) ve 7.gün (Grup 7) alınan kan örneklerindeki LDH düzeyleri ise kontrol grubuna (Grup 1) göre artmış bulunmakla birlikte, Grup 2,3 ve 4'deki LDH düzeylerinden daha düşük olarak saptanmıştır. İskemi-Reperfüzyon hasarının göstergelerinden olan LDH düzeyi artışlarının Grelin uygulaması sonrasında azalmış olması, Grelinin IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'yı da içeren proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyon ve üretimleri üzerine selektif inhibitör etkileri sebebiyle İskemi-Reperfüzyon hasarını önlemede etkili olabileceğini düşündürmektedir (166).

Şehirli ve arkadaşları Grelinin, yanma sonucu oluşmuş multipl organ hasarının nötrofil infiltrasyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasının baskılanmasıyla düzelmeye sağlayacağını gösterdikleri bir çalışmada (166) MDA, LDH aktivitelerini ölçmüşlerdir.

Xu ve arkadaşları, Grelinin TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B yolları ve mitokondrial koruma mekanizmaları aracılığı ile doksorubisin tarafından oluşturulan kardiyotoksositeye karşı koruyucu olduğunu gösterdikleri çalışmada MDA ve LDH aktivitelerindeki artışı azalttığını göstermişlerdir (167).

Çalışmamızda oksidan hasarın parametresi olan lipid peroksidazın bir ürünü olan MDA konsantrasyonu ölçülerek iskemi-reperfüzyon hasarının değerlendirilmesi yapıldı. Karaciğer dokularında yapılan serbest oksijen radikallerinin İ/R+SF uygulanan gruplar (Grup 2-4) ile İ/R+Grelin uygulanan gruplar (Grup 5-7) arasında belirgin bir fark olduğunu gördük. MDA düzeyleri İ/R+SF gruplarında (Grup 2, 3 ve 4) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselmiş olup, bu 3 grubun kendi aralarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu durum dokuda iskemi-reperfüzyon hasarının meydana geldiğini açık olarak göstermiştir. İ/R+Grelin uygulanan gruplarda (Grup 5-7) ise kontrol grubuna göre yükselme görülmele

birlikte bu yükselmenin İ/R+SF uygulanan gruplardakine (Grup 2-4) oranla çok daha az olduğu görüldü. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.001$ ). Sonuç olarak iskemi-reperfüzyona bağlı MDA düzeyleri artışının Grelin uygulanan grupta daha düşük bulunması Grelinin karaciğer dokusunu iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma sırasında tüm gruplardaki hayvanların KC Rejenerasyon Oranları Ortalama  $\pm$  SD değerlerine göre hesaplanmıştır. İP Serum Fizyolojik verilen 2, 3 ve 4. gruplardaki rejenerasyon oranlarıyla karşılaştırıldığında İP Grelin verilen 5.,6. ve 7. gruplardaki rejenerasyon artışı dikkati çekmektedir. İP Serum Fizyolojik ve İP Grelin verilen grupların 1.,3. ve 7. günlerinde gün artışına bağlı rejenerasyon oranlarında küçük bir artış görülmekle birlikte bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Karaciğer ağırlık ölçümlerine göre hesaplanan bu rejenerasyon sonuçları, Grelinin karaciğer rejenerasyonunu artırıcı bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Grelinin karaciğer rejenerasyonunu artırıcı etkisinin olabileceğine dair olan düşünce, çalışmamızdaki histopatolojik değerlendirme sonuçlarıyla da desteklenmiştir. Çalışmamızda; İP serum fizyolojik verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 2), 3. gün (Grup 3) ve 7.gün (Grup 4) alınan karaciğer doku örneklerindeki histopatolojik rejenerasyon oranları kontrol grubuna (Grup 1) göre artmış bulunmuştur. İntraperitoneal Grelin verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 5), 3. gün (Grup 6) ve 7.gün (Grup 7) alınan karaciğer doku örneklerindeki histopatolojik rejenerasyon düzeyleri ise kontrol grubuna (Grup 1) göre belirgin artmış bulunmuş olup, Grup 2, 3 ve 4'deki histopatolojik rejenerasyon düzeylerinden de daha yüksek olarak saptanmıştır. Histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre rejenerasyon oranlarının Grelin uygulaması sonrasında artmış olması, Grelinin karaciğer rejenerasyonunu artırıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir (166,167).

Grelinin nötrofil inhibisyonu sağlaması ve TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın ekspresyon ve üretimini azalmasını sağlaması parsiyel karaciğer rezeksiyonu sonucu oluşan iskemik hasarın göstergeleri olan AST, ALT, LDH, MDA seviyeleri üzerinde olumlu etki yaptığı düşünülmektedir (168).

Bizim alışmamızda Grelinin parsiyel karaciğer rezeksiyonu sonucu oluşan hasarı önlemede ümit vaat ettiğini düşündürmektedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. İntraperitoneal serum fizyolojik verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 2), 3. gün (Grup 3) ve 7.gün (Grup 4) alınan kan örneklerindeki AST, ALT ve LDH düzeyleri kontrol grubuna (Grup 1) göre belirgin artmış bulunmuştur. Grup 2, 3 ve 4'ün kendi aralarındaki AST, ALT ve LDH düzeylerindeki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

2. İntraperitoneal Grelın verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 5), 3. gün (Grup 6) ve 7.gün (Grup 7) alınan kan örneklerindeki AST, ALT ve LDH düzeyleri ise kontrol grubuna (Grup 1) göre artmış bulunmakla birlikte, Grup 2,3 ve 4 'deki AST, ALT ve LDH düzeylerinden daha düşük olarak saptanmıştır. Grup 5, 6 ve 7'nin kendi aralarındaki AST, ALT ve LDH düzeylerindeki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

3. MDA düzeyleri İ/R+SF uygulanan gruplarda (Grup 2, 3 ve 4) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselmiş olup, bu 3 grubun kendi aralarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

4. MDA düzeylerinde İ/R+Grelın uygulanan gruplarda (Grup 5, 6 ve 7) ise kontrol grubuna göre yükselme görülmekle birlikte bu yükselmenin İ/R+SF uygulanan gruplardakine (Grup 2, 3 ve 4) oranla çok daha az olduğu gözlenmiştir.

5. KC Rejenerasyon Oranlarında İP Serum Fizyolojik verilen 2, 3 ve 4. gruplardaki rejenerasyon oranlarıyla karşılaştırıldığında İP Grelın verilen 5, 6 ve 7. gruplardaki rejenerasyon artışı dikkati çekmektedir. İP Serum Fizyolojik ve İP Grelın verilen grupların 1.,3. ve 7. günlerinde gün artışına bağlı rejenerasyon oranlarında küçük bir artış görülmekle birlikte bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

6. Histopatolojik incelemede İP serum fizyolojik verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 2), 3. gün (Grup 3) ve 7.gün (Grup 4) alınan karaciğer doku

örneklerindeki histopatolojik rejenerasyon oranları kontrol grubuna (Grup 1) göre artmış bulunmuştur.

7. Histopatolojik incelemede İP Grelin verilen ve ardından 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası %70 Karaciğer rezeksiyonu uygulanan sıçanlardan 1.gün (Grup 5), 3. gün (Grup 6) ve 7.gün (Grup 7) alınan karaciğer doku örneklerindeki histopatolojik rejenerasyon düzeyleri ise kontrol grubuna (Grup 1) göre belirgin artmış bulunmuş olup, Grup 2, 3 ve 4'deki histopatolojik rejenerasyon düzeylerinden de daha yüksek olarak saptanmıştır.

8. Bu sonuçlar bize Grelinin parsiyel karaciğer rezeksiyonunda iskemik hasarı önlemede ve rejenerasyonu arttırmada etkili olabileceğini düşündürmektedir. Grelinin karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarındaki ve sonrasında meydana gelen karaciğer rejenerasyonundaki etkisinin ve mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.



**KAYNAKLAR**

1. Perek S, Kapan S. Ed: Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y. Cerrahi Gastroenteroloji.5. Basım, İstanbul , Nobel Tıp Kitapevleri, 2000:194-208
2. Seymour I. Schwartz: Karaciğer. Schwartz cerrahi prensipleri el kitabı,1999;667
3. John L, Smith WG. Cameron: Liver,anatomy, Current surgery 2001;309
4. Ökten A. Karaciğerin Fonksiyonel Anatomisi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakóltesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, 2001; 311-314
5. Sherlock S, Dooley J. Anatomy and function. Eds: Sherlock S, Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System,10th Edition, Oxford, Blackwell Science Ltd, 1997; 1-15
6. Aktümsek A.: Anatomi ve Fizyoloji, 2. Baskı, İstanbul, Nobel Yayınları, 2004: 366-370
7. Ratchy ER, Smith WG. Anatomy and physiology of the liver. Ed: George D, Zuidema GE: Surgery of the Alimentary Tract, Fourth Edition, Philedelphia, W.B. Saunders Company 1996; 354-379
8. Hatiboğlu M.T.: Anatomi ve Fizyoloji, 14. Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, 2004: 32-36
9. Junqueria LC, Carneiro J, Kelley RO.: Temel Histoloji ( Çev.), Ankara, Barış Kitabevi, 1998: 93-102
10. Januire LC, Carneio J, Long JA: Digestive Tract. Basic Histology, Fifth Edition, Californiya 1996; 354-379
11. Batman F, Aydınlı M, Sayek I. Karaciğer Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi, Temel Cerrahi, 2004: 1295-1301
12. Majino G, Jorris I.: Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of the cell death. Am. J. Pathol. 1995, 146: 3-9
13. Zimmerman BJ, Granger N: Reperfusion injury. Surg. Clin. North. Am 1992, 72: 65-83

14. Parks DA, Granger DN: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesions formation. *Am. J. Physiol*, 1986, 250: 749-753
15. Horton JW, Walker PB: Oxygen radicals, lipid peroxidation and permeability changes after intestinal ischaemia and reperfusion. *J. Appl*, 1993, 74: 151-158
16. Bilbao G, Contreras JL, Eckhoff DE et al.: Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by in vivo Adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Surg*, 1999, 230: 185-193
17. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML.: Renal ischemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg.* ,1996, 83: 162-170
18. Collard CD, Gelman S: Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anest.*, 2001, 94: 133-138
19. Carden DL, Granger DN: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J. Pathol.*, 2000, 190: 255-266
20. Chamoun F, Burne M, Rabb H : Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury., *Front. Biosci.*,2000, 5: 103-109
21. Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. *Arch Surg*, 2000, 135: 1353-1358
22. Emre A, Kalaycı G. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi. *Genel Cerrahi Cilt 2*, 2002: 1083-1090
23. Bismuth H, Houssin D, Castaing D. Major and minor segmentectomies reglees in liver surgery. *World J Surg*. 1982, 6: 10-17
24. Linder RM, Cady B. Hepatic resection. *Surg Clin North Am*. 1980, 60: 34-36
25. Iwatsuki S, Shaw BW, Starzi TE. Experience with 150 liver resections. *Ann Surg* 1983, 187: 247-252
26. Telatar H, Bayraktar Y, Sayek İ. Gastrointestinal Sistemin Fizyolojisi. *Temel Cerrahi, Cilt 1*, 1993: 568-585
27. Pinkerton JA, Sawyers JL, Foster JH. A study of the postoperative course after hepatic lobectomy. *Ann Surg*. 1971, 173: 800

28. Delva B, Camus Y, Nordlinger B. Vascular occlusions for liver resections. Operative management and tolerance to hepatic ischemia. *Ann Surg.*1989, 209: 211-218
29. Hannoun L, Borie D, Delva E. Liver resection with normothermic ischemia. *Br J Surg.* 1993, 80: 161-165
30. Emond J, Capron-Laudereu M, Meriggi F. Extent of hepatectomy in the rat. *Eur Surg Res.* 1989, 21: 251-259
31. Shuman RB, Schuster DP, Zuckerman GR. Prophylactic therapy for stress ulcer bleeding. *Ann of International Medicine.* 1987, 106: 562-567
32. Urakawa T, Nagahata Y, Azumi Y, Hashimoto Y. Experimental study of vagotomy for prevention stress ulcer after hepatectomy. *Scand J Gastroenterol*, 1988, 23: 705-718
33. Yalçın O, Köse H, Köksoy F et al. Deneysel stres ülserasyonu profilaksisinde omeprazol ve antiasitlerin etkisi. *Çağdaş Cerrahi Dergisi*, 1992, 6: 235-237
34. Schaffner F. Structural and functional aspects of regeneration of human liver. *Dig Dis Sci.* 1991, 36: 182-186
35. Wheatley J, Rosenfield NS, Berger L et al. Liver regeneration in children after major hepatectomy for malignancy. *J Surg Res* 1996, 61:183-189
36. Nagasue N, Yukaha H, Ogawa Y et al. Human liver regeneration after major hepatic resection. *Ann Surg* 1987;206:30-39
37. Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA, et al. A hundred years of the hepatotrophic controversy. *Ciba Found Symp.*1977: 111-129
38. Fausto N, Webber EM. Liver regeneration. In:Arias I, Boyer J, Fausto N eds. *He liver biology and pathobiology.* New York. Raven Press, 1994: 1059-1084
39. Diehl AM, Rai R. Review:regulation of liver regeneration by pro-inflammatory cytokines. *J Gastroenterol Hepatol.* 1996, 11: 466-470
40. Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. *Arch Surg.* 2000, 135: 1353-1358

41. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following surgical removal. *Arc Path.*1981, 12: 186-206
42. Michalopoulos GK, De Frances MC. Liver regeneration. *Science* ,1997, 276: 60-66
43. Gerdes J, Lemke H, Barsch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunology* 1984,133: 171-175
44. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a Mouse monoclonal antibody reactive with a human antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983; 31: 13-20
45. Şaylı BS. Medikal Genetik. Sodeman's Pathologic Physiology. Türkçe 1. Baskı, Türkiye Klinikleri Yayınevi. 1991:73-77
46. Brecque DL, Feigenbawn A, Bachur NR. Diurnal rhythm: Effects on hepatic regeneration and hepatic regenerative stimulator substance. *Science* 1978;199: 1082-1084
47. Maruyama H, Harada A, Kurokawa T, Kobayashi H, Nonami T, Nakao A. Duration of liver ischemia and hepatic regeneration after hepatectomy in rats. *J Surg Res* 1995; 58: 290-294
48. Chijiwa K, Nakano K, Kameoka N, Nagai E, Tanaka M. Proliferating cell nuclear antigen, plasma fibronectin, and liver regeneration rate after seventy percent hepatectomy in normal and cirrhotic rats. *Surgery* 1994; 116: 544-549
49. Ngala Kenda JF, Hemptinne B, Lambotte L. Role of metabolic overload in the initiation of DNA synthesis following partial hepatectomy in the rat. *Eur Surg Res* 1984;16: 294-299
50. Hashimoto M, Kothary BC, Raper S. The effects of transforming growth factor alpha and somatostatin on regenerating hepatocytes in the rat. *Regulatory peptides*, 1993;44: 49-59

51. Strazl TE, Porter KA, Kashiwagi N et al. Portal hepatotrophic factors, diabetes mellitus and acute liver atrophy, hypertrophy and regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 1975;141: 843-58
52. Francavilla A, Polimeno L, Barone M et al. Hepatic regeneration and growth factors. *J Surg Oncol* 1993,13: 1-7
53. LaBrecque DR, Steele G, Fogerty S et al. Purification and physical-chemical characterisation of hepatic stimulator substance. *Hepatology* 1987;7: 10-16
54. Van Thiel DH, Stauber R, Gavalier JS et al. Hepatic regeneration. Effects of age, sex hormone status, prolactin and cyclosporine. *Dig Dis Sci* 1991;36:11-13
55. Svonos GW, Eagon PK, Elm M et al. Effect of antiandrogen flutamide on measures of hepatic regeneration in rats. *Dig Dis Sci* 1989;34: 16-23
56. Goss JA, Mangino MJ, Callery MP et al. Prostaglandin E2 down regulates kupffer cell production of IL-1 and IL-6 during hepatic regeneration. *Am J Physiol*, 1993;60: 1-8
57. Tsujii H, Okamoto Y, Kikuchi E et al. Prostaglandin E2 and liver regeneration. *Gastroenterology* 1993;105: 495-499
58. Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology* 1992;15: 149-155
59. Hamanoue M, Kawaida K, Takao S et al. Rapid and marked induction of hepatocyte growth factor during liver regeneration after ischemic or crush injury. *Hepatology* 1992; 16:1485-1492
60. Nishizaki T, Takenaka K, Yoshizumi T et al. Alteration in levels of human hepatocyte growth factor following hepatectomy. *J Am Coll Surg* 1995;181: 6-10
61. Kinoshita T, Tashiro K, Nakamura T. Marked increase of HGF mRNA in nonparenchymal liver cells of rats treated with hepatotoxins. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165: 1229-1234

62. Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanism of growth control. *FASEB J* 1990;4: 176-187
63. Noguchi S, Ohba Y, Oka T. Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Endocrinol* 1991;128: 425-431
64. Maruyama H, Harada A, Kurokawa T, Kobayashi H, Nonami T, Nakao A. Duration of liver ischemia and hepatic regeneration after hepatectomy in rats. *J Surg Res* 1995; 58: 290-294
65. Chijiwa K, Nakano K, Kameoka N, Nagai E, Tanaka M. Proliferating cell nuclear antigen, plasma fibronectin, and liver regeneration rate after seventy percent hepatectomy in normal and cirrhotic rats. *Surgery* 1994; 116: 544-549
66. Chow PKH, Jeyaraj P, Tan SY, Cheong SF, Soo KC. Serial ultrasound-guided percutaneous liver biopsy in a partial hepatectomy porcine model: a new technique in the study liver regeneration. *J Surg Res* 1997;70: 134-137
67. Gerdes J, Lemke H, Barsch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunology* 1984;133(4): 1710-1715
68. Kamel OW, Franklin WA, Ringus, Meyer JS. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in lesions of the breast. *Am J Pathol* 1989;134: 107-113
69. Hopf NJ, Brem J, Bohl J, Perneczky A. Image analysis of proliferating cells in tumors of the human nervous system: an immunohistological study with the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1994; 35: 917-923
70. Wintzer HO, Zipfel I, Mönning JS, Hellrich U, Kleist S. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 1991; 67: 421-428
71. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*.1999 402: 656-659

72. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Front in Neuroend.* 2004, 25: 27-68
73. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev.* 2005, 85: 495-522
74. Aydin S, Ozkan Y, Caylak E, Aydin S. Ghrelin and its biochemical functions. *Turkiye Klinikleri. J Med Sci.* 2006, 26: 272-283
75. Aydin S, Aydin S, Ozkan Y, Kumru S. Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. *Peptides.* 2006, 27: 878-882
76. Kierson JA, Dimatteo DM, Locke RG, Mackley AB, Spear ML. Ghrelin and cholecystokinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatr.* 2006, 95: 991-995
77. Aydin S, Ozercan İH, Dagli F, Aydin S, Kumru S, Kilic N, Sahin İ, Ozercan MR. Ghrelin is present in human teeth. *J Bio-chem Mol Biol.* 2006, 46: 712-716
78. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87: 288-291
79. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001, 86: 59-62
80. Aydin S. Proposal for the abbreviation of ghrelin--the appetite hormone. *Horm Res.* 2006, 66: 206
81. Groschl M, Uhr M, Kraus T. Evaluation of the comparability of commercial ghrelin assays. *Clin Chem.* 2004, 50: 457-458
82. Kaiya H, Darras VM, Kangawa K. Ghrelin in Birds: Its structure, distribution and function. *The Journal of Poultry Science.* 2007, 44: 18
83. Davis JC. The relation between the pancreatic alpha cells and certain cells in the gastric mucosa. *J Pathol Bacteriol.* 1954, 67: 237-240

84. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K. Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinology*. 1980, 106: 663-667
85. Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology*. 1984, 114: 1537-1545
86. Smith RG, Cheng K, Schoen WR, Pong SS, Hickey G, Jacks T, Butler B, Chan WW, Chaung LY, Judith F. A nonpeptidyl growth hormone secretagogue. *Science*. 1993, 260: 1640-1643
87. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660
88. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70
89. McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, Smith RG, Howard AD, Van der Ploeg LH. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997; 46: 426-434
90. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 288-291
91. Smith RG, LHT, Van der Ploeg AD. H, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, Wyvratt MJ, Fisher Jr, MH., Nargund RP, Patchett AA. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 1997; 18: 621-645



92. Kato M, Sakuma Y. The effect of GHRP-6 on the intracellular Na<sup>+</sup> concentration of rat pituitary cells in primary culture. *J Neuroendocrinol* 1999; 11: 795-800
93. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-887
94. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*. 2000, 141: 255-261
95. Aydin S, Halifeoglu I, Ozercan IH, Erman F, Kilic N, Aydin S, Ilhan N, Ilhan N, Ozkan Y, Akpolat N, Sert L, Caylak E. A comparison of leptin and ghrelin levels in plasma and saliva of young healthy subjects. *Peptides*. 2005, 26: 647-652
96. Aydin S, Ozercan HI, Aydin S, Ozkan Y, Dagli F, Oguzoncul F. Biological rhythm of saliva ghrelin in human. *Biol. Rhythm Res*. 2006, 37: 169-177
97. Stenstrom B, Furnes MW, Tommeras K, Syversen U, Zhao CM, Chen D. Mechanism of gastric bypass-induced body weight loss: one-year follow-up after micro-gastric bypass in rats. *J Gastrointest Surg*. 2006, 10: 1384-1391
98. Gaytan F, Barreiro ML, Caminos JE, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Paniagua R, Nistal M, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Tena-Sempere M. Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004, 89: 400-409
99. Wierup N, Yang S, McEvelly RJ, Mulder H, Sundler F. Ghrelin is expressed in a novel endocrine cell type in developing rat islets and inhibits insulin secretion from INS-1 cells. *J Histochem Cytochem*. 2004, 52: 301-310

100. Doyle MJ, Loomis ZL, Sussel L. Nkx2.2-repressor activity is sufficient to specify  $\alpha$ -cells and a small number of  $\beta$ -cells in the pancreatic islet. *Development*. 2007, 134: 510-513
101. Heller RS, Jenny M, Collombat P, Mansouri A, Tomasetto C, Madsen OD, Mellitzer G, Gradwohl G, Serup P. Genetic determinants of pancreatic epsilon-cell development. *Dev Biol*. 2005, 286: 217-224
102. Doi A, Shono T, Nishi M, Furuta H, Sasaki H, Nanjo K. IA-2 $\beta$ , but not IA-2, is induced by ghrelin and inhibits glucose-stimulated insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006, 103: 885-890
103. Mitchell SE, Nogueiras R, Rance K, Rayner DV, Wood S, Dieguez C, Williams LM. Circulating hormones and hypothalamic energy balance: regulatory gene expression in the Lou/C and Wistar rats. *J Endocrinol*. 2006, 190: 571-579
104. Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004, 313: 635-641
105. Olszewski PK, Li D, Grace MK, Billington CJ, Kotz CM, Levine AS. Neural basis of orexigenic effects of ghrelin acting within lateral hypothalamus. *Peptides*. 2003, 24: 597-602
106. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett*. 2000, 486: 213-216
107. Tena-Sempere M, Barreiro ML, Gonzalez LC, Gaytan F, Zhang FP, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Dieguez C, Aguilar E. Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology*. 2002, 143: 717-725
108. Barreiro ML, Gaytan F, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Tena-Sempere M. Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol Reprod*. 2002, 67: 1768-1776

109. Caminos JE, Gualillo O, Lago F, Otero M, Blanco M, Gallego R, Garcia-Caballero T, Goldring MB, Casanueva FF, Dieguez C. The endogenous growth hormone secretagogue (ghrelin) is synthesized and secreted by chondrocytes. *Endocrinology*. 2005, 146: 1285-1292
110. Aydin S. Discrepancy of milk ghrelin level. *Acta Paediatr*. 2007, 96: 320
111. Korbonit M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossmann AB. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumours. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86: 881-887
112. Raffel A, Krausch M, Cupisti K, Gerharz CD, Eisenberger CF, Knoefel WT. Ghrelin expression in neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract with multiple endocrine neoplasia type 1. *Horm Metab Res*. 2005, 37: 653-655
113. Arnaldi G, Mancini T, Kola B, Appolloni G, Freddi S, Concet-toni C, Bearzi I, Masini A, Boscaro M, Mantero F. Cyclical Cushing's syndrome in a patient with a bronchial neuroendocrine tumor (typical carcinoid) expressing ghrelin and growth hormone secretagogue receptors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003, 88: 834-840
114. Morpurgo PS, Cappiello V, Verga U, Vicentini L, Vaghi I, Lauri E, Nebuloni M, Beck-Peccoz P, Spada A. Ghrelin in human medullary thyroid carcinomas. *Clin Endocrinol* 2005, 63: 437-441
115. Duxbury MS, Waseem T, Ito H, Robinson MK, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003, 309: 464-468
116. Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Marrocco T, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G, Papotti M. The antiproliferative effect of synthetic peptidyl GH secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology*. 2002, 143: 484-491

117. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, Imazu M, Okumura H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Kohno N. Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res.* 2003, 9: 774-778
118. Druce M, Bloom SR. Central regulators of food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003, 6: 361-367
119. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fuji-no MA, Kasuga M, Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut* 2003, 52: 947-952
120. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, Mathias S, Schmid DA, Uhr M, Steiger A. Ghrelin promotes slow-wave sleep in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 284: 407-415
121. Muccioli G, Pons N, Ghe C, Catapano F, Granata R, Ghigo E. Ghrelin and des-acyl ghrelin both inhibit isoproterenol-induced lipolysis in rat adipocytes via a non-type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Eur J Pharmacol* 2004; 498: 27-35
122. Papotti M, Ghe C, Volante M, Muccioli G. Ghrelin and tumours. In: *Ghrelin (More Than Simply a Natural GH Secretagogue and/or an Orexigenic Factor)* (ed. E. Ghigo), Kluwer Academic, Boston, 2004; 143-164
123. Cassoni P, Papotti M, Ghe C, Catapano F, Sapino A, Grazi-ani A, Deghenghi R, Reissmann T, Ghigo E, Muccioli G. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1738-1745
124. Cassoni P, Ghe C, Marrocco T, Tarabra E, Allia E, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, Papotti M, Muccioli G. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:173-184

125. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-887
126. Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E, Papotti M. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1300-1308
127. Grube D, Forssmann WG. Morphology and function of the enteroendocrine cells. *Horm Metab Res* 1979; 11: 589-606
128. Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschöp M, Pasquali R. Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 625-629
129. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, Hosoda H, Shimizu W, Yamagishi M, Oya H, Koh H, Yutani C, Kangawa K. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 2001; 104: 2034-2038
130. Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonissone S, Fubini A, Malan D, Baj G, Granata R, Broglio F, Papotti M, Surico N, Bussolino F, Isgaard J, Deghenghi R, Sinigaglia F, Prat M, Muccioli G, Ghigo E, Graziani A. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 2002; 159:1029-1037
131. Pettersson I, Muccioli G, Granata R, Deghenghi R, Ghigo E, Ohlsson C, Isgaard J. Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation. *J Endocrinol* 2002; 175: 201-209

132. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papot-ti M, Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083–5086
133. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Yada T. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51:124-129
134. Ott V, Fasshauer M, Dalski A, Meier B, Perwitz N, Klein HH, Tschop M, Klein J. Direct peripheral effects of ghrelin include suppression of adiponectin expression. *Horm Metab Res* 2002; 34: 640-645
135. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: A novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002; 107:63-69
136. Dornonville De La Cour C, Lindstrom E, Norlen P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; 120: 23-32
137. Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 904-905.
138. Obay D., Taşdemir E., Tümer C. ve ark.. Dose dependent effects of Ghrelin on pentylentetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 29 (2008) 448-451.
139. Schaffner F. Structural and functional aspects of regeneration of human liver. *Dig Dis Sci* 1991;36:1282-6
140. Ethier C, Kestekian R, Christine B, Dube C et al. Vitamin D depletion retards the normal regeneration process after partial hepatectomy in the rat. *Endocrinology* 1990;126: 2947-2959.
141. Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA, et al. A hundred years of the hepatotrophic controversy. *Ciba Found Symp* 1977;111-129.

142. Fausto N, Webber EM. Liver regeneration. In:Arias I, Boyer J, Fausto N, et al. eds. The liver:biology and pathobiology. New York: Raven Pres; 1994:1059-1084.
143. Diehl AM, Rai R. Review:regulation of liver regeneration by pro-inflammatory cytokines. J Gastroenterol Hepatol 1996;11:466-470.
144. Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. Arch Surg 2000;135:1353-1358.
145. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. Restoration oh the liver of the white rat following surgical removal. Arch Pathol 1931;12:186-206.
146. Huguet, C, Nordlinger, B., Bioch, P., Conard.j. Tolerance of the human liver to prolonged normothermic ischemia. A biological study of 20 patient submitted to extensive hepatectomy. Arch Surg 1978; 113; 1448-1451
147. Nordlinger, B., Douvin, D., Javaudin, L An experimental study of survival after two hours of normothermic hepatic ischemia. Surg Gynecol Obstet 1 980; 150:859-864
148. Delva, B., Barberoussa, P., Nordlinger, B. Hemodynamic and biochemical monitoring during major liver resection with use of hepatic vascular exclusion. Surgery 1984; 95: 309-318
149. Delva, B., Camus, Y, Nordlinger, B. Vascular occlusions for liver resections. Operative management and tolerance to hepatic ischemia: 142 cases. Ann Surg 1989;209:211-218
150. Huguet, C, Gaveili, A., Bona, S. Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour. J Am Coll Surg 1994;178:454-458
151. Hasselgren P. O. Prevention and treatment of ischemia of the liver. Surg Gynecol Obstet 1987, 164:187-196
152. Reilly, P.M., Bulkley, G.B., Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. Brj Surg 1990; 77:1324-1325

153. Toiedo-Pereyra, L.H., Suzuki, S. Neutrophils, cytokines, and adhesion molecules in hepatic ischemia and reperfusion injury *Am Coil Surg* 1994; 179:758-762
154. Stein, J.H., Mathys, M.J., Hinder, R.A., Lamprechts, H. Effect of verapamil on hepatic ischemia/reperfusion injury *AmJ Surg* 1993; 165:96-100
155. Erederiks, W.M., Kooij, A., Bosch, K.S. Role of xanthine oxidase in tissue damage of rat liver after ischemia. *Transplant Prod* 1995; 27:2855-2856
156. Karwinski W., Husoy A.M., Farstad, M., Soreide, O. Sixty minutes of normothermic ischemia in the rat liver: Correlation between adenine nucleotides and bile secretion. *J Surg Res* 1989; 46:99-103
157. Hardy, K.J., Tancheroen, S., Shulkes, A. Comparison of continuous versus intermittent ischemia-reperfusion during liver resection in an experimental model. *Br gentlemen Surg* 1995;82:833-836
158. Mackenzie, R.J., Fumival, CM., O'Keane, M.A., Blumgart, I.H. The effect of hepatic ischemia on liver mass after 70 percent partial hepatectomy in the dog. *Br gentlemen Surg* 1975;62:431-437
159. Mackenzie, R.f., Fumival, CM., Wood, C.B., O'Keane, M.A., Blumgart, I.H. The effects of prolonged hepatic ischemia before 70 percent partial hepatectomy in the dog. *Brj Surg* 1977;64:66-69
160. Hannoun, L, Borie, D., Delva, E. liver resection with normothermic ischemia exceeding 1 h. *Br j Surg* 1993; 80:1161-1165
161. Nordström, G., Seeman, T., ve Hasselgren, P.O. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery*, 1985, 97: 679-684
162. Chien, K.R., Abrams, j., Pfau, R.G., ve Farber J.I. Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death. *A.J. Pathol.* 1977, 88:539-558.
163. Colletti, L.M., Burtch, CD., Campbell, D.A. Prostaglandin E2 protects the isolated perfused rabbit liver from an oxygen radical induced injury. *Transplant Proc* 1990; 22: 2381-2383



164. Yabe Y., Kobayashi N., Nishihashi T., Takahashi R., Nishikawa M., Takakura Y., Hashida M.: Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia-reperfusion injury by Superoxide dismutase and Catalase derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 298: 894-899, 2001.
165. Nauta, R.J., Tsimoyiannis, E., Uribe, M. The role of calcium ions and calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion induced liver injury. *Ann Surg* 1991:137-142
166. Şehirli Ö., Şener E., ve Şener G: Ghrelin improves burn-induced multiple organ injury by depressing neutrophil infiltration and the release of pro-inflammatory cytokines. *Peptides* 29 (2008): 1231-1240
167. Xu Z., Lin S., Wu W., Tan H., et al: Ghrelin prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity through TNF-alpha/NF kB pathways and mitochondrial protective mechanisms. *Toxicology* 247 (2008): 133-138
168. İşeri Ö., Şener G., Sağlam B. Ve ark. : Ghrelin alleviates Biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats: *Regulatory Peptides* 146 (2008): 73-79.