

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PARSİYEL KARACİĞER REZEKSİYONU UYGULANAN
RATLARDA İNTRAPERİTONEAL LEPTİN
UYGULANMASININ KARACİĞER REJENERASYONU
ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Dr. Murat ÇİLEKAR

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

Tez Yöneticisi

Prof. Dr. Ertuğrul KARAHÜSEYİNOĞLU

ESKİŞEHİR

2007

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Murat ÇİLEKAR'a ait "Parsiyel Karaciğer Rezeksiyonu Uygulanan Ratlarda İntraperitoneal Leptin Uygulanmasının Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması " adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

14. 08. 2007

Jüri Başkanı	Prof.Dr. E. KARAHÜSEYİNOĞLU G.Cerrahi Anabilim Dalı
Üye	Prof.Dr.H. KİPER G.Cerrahi Anabilim Dalı
Üye	Prof.Dr. A. ŐAHİN G.Cerrahi.Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nunTarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özcan BÖR
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve deneyimleri ile yol, gösteren tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan Anabilim Dalı Başkanımız tez hocam Prof. Dr. Ertuğrul KARAHÜSEYİNOğLU'na, Anabilim dalındaki diğer hocalarıma; kliniğimizde birlikte çalıştığım meslektaşlarıma; ayrıca tezimin hazırlanmasında katkıları olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr.Erinç ARAL'a, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Cengiz BAL'a, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ömer ÇOLAK'a, Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Nilüfer ERKASAP'a yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Çilekar, M. Parsiyel Karaciğer Rezeksiyonu Uygulanan Ratlarda İntraperitoneal Leptin Uygulanmasının Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması . Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2007. Leptin uygulanmasının Karaciğer(KC) rejenerasyonu üzerine etkisini araştırmak amacıyla 56 adet Sprague-Dawley cinsi albino sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları 8'er adet sıçandan oluşan toplam 7 grup oluşturuldu:

Grup 1 Kontrol(n=8): Hayvanlara hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı.

Grup 2, 3, 4 (n=8): % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal SF uygulanması

Grup 5, 6, 7 (n=8): % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal leptin uygulanması

Grup 1 hariç tüm sıçanlara % 70 parsiyel KC rezeksiyonu uygulandıktan sonra grup 2 ve 5 laparotomiden 24 saat, grup 3 ve 6 laparotomiden 48 saat, grup 4 ve 7'den ise laparotomiden 72 saat sonra hematolojik ve biyokimyasal parametreler için vena cava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri doku örneklerinin histopatolojik incelemelerinin yapılması için total olarak rezeke edildi. Sıçanlar dekapitasyonla sakrifiye edildi. Hiçbir grupta ölüm olmadı. Karaciğer rejenerasyon oranlarının belirlenmesinde kullanılmak üzere tüm hayvanların, laparatomiyi izleyen 1. saatte ve deney sonunda vücut ağırlıkları, grup 1'e ait sıçanların karaciğer yaş ağırlıkları hassas terazi ile ölçüldü. Grup 2,3,4,5,6 ve 7'e ait 24., 48. ve 72. saatlerde alınan karaciğerlerin yaş ağırlıkları kontrol grubuna benzer şekilde ölçüldü ve karaciğerlerin rejenerasyon oranları Child'ın formülüne yerleştirilerek hesaplandı.

Sonuç olarak leptinin erken dönemde kullanılması biyokimyasal parametreler açısından hücresel hasarı önleyememiştir. Ancak histopatolojik veriler % 70 hepatektomize ratlarda intraperitoneal leptin uygulanmasının KC rejenerasyonunu arttırdığını göstermektedir. Bu nedenle hepatik rezervi sınırlı hastalarda kullanılabilir düşünebilir ancak leptinin koagülasyon mekanizması ve hepatositler üzerine etkilerinin açıklanması için daha fazla randomize çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer rejenerasyonu, leptin, parsiyel hepatektomi

Destekleyen Kurum : T.İ.C.A.M

SUMMARY

Cilekar, M. Experimental studying the effect of intraperitoneal leptin applying on liver regeneration in rats that applied partial liver resection.

Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Departments of General Surgery, Specialization Thesis on Medical, 2007.

To study the effect of leptin applying on liver regeneration, fifty-six Spraque-Dawley type albino rats employed. Experiment animals divided of seven group that eight each one:

Group 1- control (n=8): no surgical intervention applied on animals

Group 2,3,4 (n=8): 70%, partial liver resection + intraperitoneal SF application

Group 5,6,7 (n=8): 70%, partial liver resection + intraperitoneal leptin application

After applying 70 %, partial liver resection in all animals except first group, for hematological and biochemical parameters, blood samples derived in inferior vena cava following 24, 48 and 72 hours laparotomy in group 2 and 5, group 3 and 6 and group 4 and 7, respectively, then to histopathological examinations on tissue samples of remain livers, all of the livers totally resected. Rats sacrificed with decapitalization. No mortality seen in groups. For use to determine of resected liver proportion, all animal's body weights and control group's livers wet weights measured at first hour after laparotomy and at the end of the experiment by sensitive balance. In group of 2,3,4,5,6, resected liver's wet weights at 24, 48 and 72 nd hours measured the same way and resected liver proportion established by disposing Child's formulation. As a consequence, use of leptin in early- term have not been prevent cellular damage for biochemical parameters. However, histopathological data show that leptin application increases liver regeneration in 70 % hepatectomised rats. Thus, it is thinkable that leptin can use in limited hepatic reserved patients but we believe that researchs are needed to determine coagulation mechanism and to explain effects on hepatocyte of leptin.

Key Words: Liver regeneration, leptin, partial hepatectomy

Promoting foundation: T.İ.C.A.M

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Leptin	3
2.2. Karaciğer ve Karaciğer Rezeksiyonu	16
2.3. Karaciğer Rejenerasyonu	19
2.4. Hepatosellüler Zedelenmenin Değerlendirilmesi	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Deney Grupları	25
3.2. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması ve Değerlendirilmesi	27
4. BULGULAR	29
4.1. Tahmini Total Karaciğer Ağırlığı	30
4.2. İlk Rezeke Edilen KC Ağırlığı	30
4.3. Kalan Tahmini KC Ağırlığı	31
4.4. Son Rezeke Edilen KC Ağırlığı	32
4.5. Rejenerasyon Oranı	32
4.6. Mitotik İndeks	33
4.7. AST – ALT	35
4.8. aPTT	36
4.9. PTZ	37
4.10. INR	37
4.11. Fibrinojen	38
4.12. Histolojik Değerlendirme	39
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	Adrenocorticotrophic Hormone (Adrenokortikotropik hormon)
AGRP	Agouti-Related Protein (Aguti geni ile ilişkili protein)
ALT	Aspartate aminotransferase (Aspartat aminotransferaz)
AST	Alanine aminotransferase (Alanin aminotransferaz)
cAMP	Cyclic adenosine mono-phosphate (Siklik adenzin monofosfat)
BMI	Body mass index (Vücut kitle indeksi)
CART	Cocaine-/ Amphet Regulated Transcript (Kokain ve amfetamin düzenleyici kopya)
CCK	Cholecystokinin (Kolesistokinin)
CRH	Corticotropin releasing hormone (Kortikotropin serbestleyici hormon)
DNA	Deoxyribonucleic acid (Deoksiribonükleik asit)
EGF	Epidermal growth factor (Epidermal büyüme faktörü)
FHA	Functional hypothalamic amenore (Fonksiyonel hipotalamik amenore)
HGF	Hepatocyte growth factor (Hepatosit büyüme faktörü)
IGF	İnsülin like growth factor (İnsülin benzeri büyüme faktörü)
iv	Intravenous (İntravenöz)
IL	Interleukin (İnterlökin)
JAK-STAT	Janus Kinases Signal Transducers and Activators of Transcription
GH	Growth Hormone (Büyüme hormonu)
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
LDH	Lactate dehydrogenase (Laktat dehidrogenaz)
LH	Luteinizing hormone (Lutein Yapıcı Hormon)
µgr	Microgram (Mikrogram)
MAP	Mitogen-activated protein (Mitojen-aktifli protein)
MI	Mililitre
MSH	Melanocyt-stimulating hormone (Melanosit uyarıcı hormon)
ng	Nanogram
NO	Nitric oxide (Nitrik oksit)
PCNA	Prolifering Cell Nuclear Antigen (prolifere hücre nükleer antijeni)
PG	Prostaglandin
PI3K	Phosphoinositide-3 kinase (Fosfatidilinozitol 3 kinaz)
PMNL	Polimorphonuclear leukocyte (Polimorfonükleer lökosit)
POMC	Proopiomelanocorticotropin (Proopiyanolanokortikotropin)
PTH	Parathyroid hormone (Paratiroid hormonu)
TNF-α	Tumor necrosis factor alfa (Tümör nekrozu faktörü alfa)
TGF-α	Transforming growth factor alfa (Dönüştürücü büyüme faktörü alfa)
TSH	Thyroid stimulating hormone (Tiroid stimüle edici)
UCP	Uncoupling protein (Kenetlenmeyi bozucu protein)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Leptinin kromozomal kodlanması	4
2.2. Leptinin santral ve periferik etkileri	7
2.3. Enerji dengesi ve vücut ağırlığının leptin ile düzenlenmesinde insülinin rolü	9
2.4. Leptinin yağ asidi sentezinde asetil Ko-A karboksilaz aktivitesi üzerine etkisi	10
2.5. Leptin, ob/ob farelerde vücut termogenezi üzerine etkisi	11
2.6. Leptinin çeşitli hücre tiplerinde proliferatif ve anti-apoptotik etkileri	12
2.7. Leptinin, monositlerden proinflamatuvar sitokinlerin oluşumu üzerine etkisi	13
2.8. Leptinin anjiogenez üzerine etkisi ve endotelial hücre kültürlerinde kullanılması	14
2.9. İnsan karaciğerin önden görünümü	17
2.10. İnsanda segmental KC rezeksiyonu	18
2.11. Rat karaciğerinin viseral yüzden görünümü	22
2.12. Rat karaciğerinde %70 parsiyel hepatektomi modelinin şematize edilmesi	23
3.1. Denek hayvanının karın bölgesinin hazırlanması ve laparotomi uygulanması	26
4.1. Ratların tahmini total KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri	30
4.2. Ratların ilk rezeke edilen KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri	31
4.3. Ratların kalan tahmini KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri	31
4.4. Ratların son rezeke edilen KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama	32

değerleri

	Sayfa
4.5. Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların rejenerasyon oranlarının gruplara göre ortalama değerleri	33
4.6. Gruplar arası ortalama mitotik indeks değerlerinin dağılımı	34
4.7. Ratların AST – ALT değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri	36
4.8. Ratların aPTT değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri	36
4.9. Ratların PTZ değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri	37
4.10. Ratların INR değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri	38
4.11. Ratların fibrinojen değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri	38
4.12. Kontrol grubu hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena santralis çevresinde kordonlar şeklinde düzenlenmiş hepatositler. H-E	39
4.13. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 24.saate ait karaciğer kesitlerinde yeni oluşan lobüllerde (→) replikasyon aşamasında ve eosinofilik sitoplazmalı hepatositler. H-E	40
4.14. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 48.saate ait karaciğer kesitlerinde hepatositlerde yaygın (→) vakuolizasyon . H-E	40
4.15. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 72.saate ait karaciğer kesitlerinde yeni oluşan lobüllerde eosinofilik sitoplazmalı hepatositler. H-E	41
4.16. Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan hayvanların 24. saate ait karaciğer kesitlerinde yaygın replikasyon ve mitoz. H-E	42
4.17. Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan hayvanların 48. saate ait karaciğer kesitlerinde (→) mitozun değişik safhalarındaki hepatositler. H-E	42
4.18. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 72.saate ait karaciğer kesitlerinde yeni oluşan lobüllerdeki hepatositlerde mitoz ve azalmış vakuolizasyon. H-E	43

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
4.1. Parsiyel hepatektomi sonrası kontrol, serum ve leptin fizyolojik uygulanan gruptaki ratlardan elde edilen AST, ALT, bilirubin, rejenerasyon oranı, PTZ, aPTT, fibrinojen, INR, tahmini total KC ağırlığı, ilk rezeke edilen KC ağırlığı, kalan tahmini KC ağırlığı, son rezeke edilen KC ağırlığı ortalama değerleri	29
4.2. Ratlardaki mitotik indeks değerleri	33
4.3. Parsiyel hepatektomi sonrası serum fizyolojik ve leptin uygulanan ratlardan elde edilen ortalama mitotik indeks değerleri	35

1.GİRİŞ

Karaciğer(KC) diğer organ sistemlerinin aktivitelerini de ilgilendiren çok önemli metabolik fonksiyonları üstlenmiş bir organdır(1).Karaciğerin bir bölümünün çıkarılması karaciğerin iyi ve kötü huylu hastalıklarının tedavisinde önemli bir yöntemdir. Önceleri korkulan bir cerrahi girişim olan KC rezeksiyonunun mortalitesi; gelişen teknoloji, KC anatomi ve fizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve operasyonların bu bilgiler ışığında uygulanması ile bugün %5'in altına düşmüştür(2).

Majör KC rezeksiyonlarından sonra kalan KC dokusunun fonksiyonel ve rejeneratif kapasitesi ameliyat sonrası mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde etkiler. Günümüzde bilgisayarlı tomografi, anjiyografi, sintigrafi gibi yöntemlerle yapılan çalışmalarda, KC'in rezeksiyon sonrası erişkinlerde 3-6 ayda, çocuklarda 3 aydan daha kısa sürede eski boyutuna ulaştığı gösterilmiştir. Siroz varlığında bu süre 9-15 aya kadar çıkmaktadır(1, 3). İnsan KC'inin %80-85'e varan rezeksiyonları bile tolere edebildiği ve rejenere olabildiği bildirilmektedir. Rezeksiyon %10'dan az olsa bile rejenerasyon olmaktadır(1).

Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücrel hasarın eşlik etmediği pür KC rejenerasyonu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu *invivo* rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir(4).

Ob gen ürünü olan leptin 1994 yılında *Friedman* ve arkadaşları tarafından ob farelerden klonlanarak keşfedilmiştir. 1996 yılında leptin reseptörünün bulunmasından sonra, yağ dokusu ve santral sinir sistemi arasındaki sinyalizasyonu sağladığı, gıda alımı ve enerji harcanmasında rolü olduğu saptanmıştır. Leptin Yunanca *Leptos* (ince, zayıf) kelimesinden türetilmiştir. Son yıllardaki görüş leptinin vücut yağ rezervlerini korumak için adaptif değişiklikler yapan bir hormon olduğu şeklindedir(5).

Akut ve kronik KC hasarındaki mekanizmalar genel olarak inflamasyon, fibrojenik miyofibroblast aktivasyonu(*Hepatic stellate cells*), fibriler ekstrasellüler matrix depolanması ve muhtemel neo-anjiogenezisten oluşmaktadır(4). Bugüne

kadarki verilere göre de leptin bu basamaklarda düzenleyici olarak rol almaktadır. Ayrıca yapılan ölçümlerde leptin de KC hastalıklarında yüksek bulunmuştur(5, 6).

Buradan yola çıkarak biz bu çalışmada; % 70 parsiyel hepatektomi uygulanan ratlarda intraperitoneal olarak uygulanan leptinin, KC rejenerasyonu üzerindeki etkisini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Leptin:

2.1.1. Leptinin Keşfi:

1950'lerin sonlarında, aşırı yiyen ve az enerji tüketen obez farelerde genetik defekt tanımlandı. Gene ob ve mutasyonlu obez farelere ob/ob dendi(7).

Sonraki yıllarda obez ob/ob ve obez db/db farelerle yapılan hayvan deneyleri, ob/ob farelerde eksik ve db/db farelerde etkili olmayan bir doyumluk faktörünü akla getirdi(8).

1994 yılında, *Friedman* ve arkadaşları tarafından, ob/ob mutant obez farelerde bir mutajenik gen ürünü olarak leptin keşfedildi. ob farelerden klonlanarak keşfedilmesinden sonra son 7-8 yıldır üzerinde en fazla araştırma yapılan hormonlardan biri olmuştur(9).

1996 yılında ise leptin reseptörü bulunmuştur. Yağ dokusu ve santral sinir sistemi arasındaki sinyalizasyonu sağlaması; gıda alımı ve enerji harcanmasındaki rolü nedeniyle leptin büyük ilgi uyandırmıştır. Leptin yunanca *leptos* (ince, zayıf) kelimesinden türetilmiştir. Başlangıçta kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar sonucu bir doyumluk hormonu olduğu, gıda alımını önlediği ve enerji harcanmasını artırdığı düşünülmüştür. Gıda alımını azaltarak kilo almayı sınırladığı ve plazma düzeylerinin vücut yağ dokusu ile paralel bir değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar leptinin insanlarda bir anti-obezite ve doyumluk hormonu (*satiety*) olmadığını göstermiştir(5). Son yıllardaki görüş leptinin vücut yağ rezervlerini korumak için adaptif değişiklikler yapan bir hormon olduğu şeklindedir. Leptinin gıda alımı ve enerji üzerindeki bu etkilerinden başka birçok fizyolojik olayda (reproduktif sistem, anjiogenezis, hematopoezis, immün sistem, lipid metabolizması, insülin etkisi, over fonksiyonu, sempatik aktivasyon, gastrointestinal fonksiyon, beyin gelişimi ve kemik metabolizması) rol oynadığı gösterilmiştir.

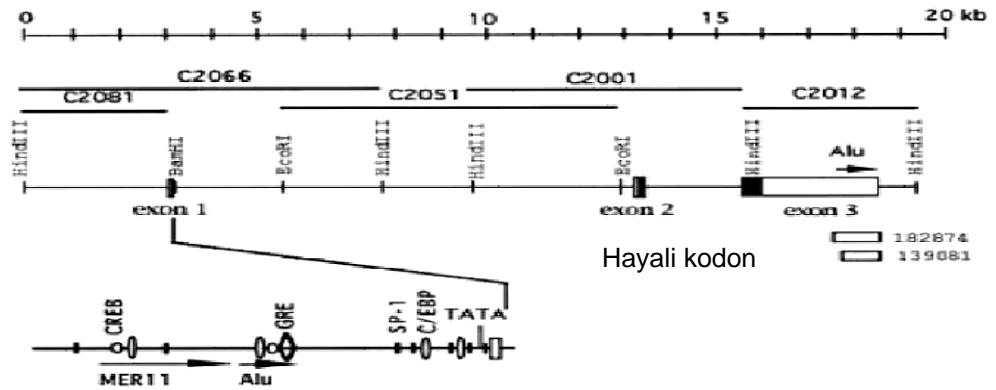
Leptinin keşfi, klinikte üç önemli gelişmeyi sağlamıştır:

1. Adipoz dokunun bir endokrin organ olarak incelenmesi.
2. Kemiricilerde ve insanlarda obezitenin monogenik formunun keşfi.
3. Leptin gen mutasyonlu ve lipodistrofili hastaların tedavisi(10).

2.1.2. Leptinin Doğası

Leptin, 167 amino asit içeren protein yapısında bir hormondur, molekül ağırlığı 16 kDa'dur. Yapısı IL-6 ve IL-11 ile benzerlik gösterir. Biyolojik aktiviteden N-terminal bölgesi sorumludur(11).

Leptin, OB geni tarafından kodlanır. OB geni, sıçanlarda 6 no'lu kromozomda, insanlarda 7.kromozomun uzun kolundadır (7q31 bölgesinde- Şekil 2.1)(12).



Şekil 2.1. Leptinin kromozomal kodlanması.

(J Biol Chem, 1996; 271 (8): 3971-3974)

2.1.3. Salgılanması, Reseptörleri ve Etki Mekanizması

Leptin, başlıca adipositlerde sentez edilir. Plasentada ve midenin epitel hücrelerinde, iskelet kası, hipofiz ve meme bezinde de sentez edilir. Plazmada serbest ve solubl reseptör proteine bağlı olarak bulunur. Leptinin atılımı başlıca

böbrekler yoluyla olur. Fizyolojik şartlarda adipositlerde eksprese edilen leptinin miktarı, hücrelerin yağ içeriği ile korelasyon gösterir(13, 14).

Kadınlarda erkeklerden daha yüksek bulunur. Kadınlarda yağ dokusunun fazla olması ve erkeklerde testosteronun leptin sekresyonunu inhibe etmesi bu seks farklılığının nedenleri olarak düşünülmektedir. Yarı ömrü 25 dakikadır ve obezlerde yarı ömrü değişmez(5).

Leptin sekresyonu menstrual siklus süresince değişikliğe uğrar. Folliküler fazda düşük iken ovulasyonda pik yapar ve luteal faz boyunca yüksek seyrederek ve menstruasyonun başlamasıyla birden plazma düzeyleri düşer(5).

Leptin dolaşımında total ve serbest olarak bulunur. Leptin bağlayan protein veya proteinler tam olarak karakterize edilememiş olsalar da dolaşımında bulunan leptin reseptörünün leptin bağladığı gösterilmiştir(15).

Leptin sekresyonu sirkadiyen değişiklik gösterir. Sabahleyin en düşüktür, öğleden sonra artmaya başlar ve gece saat 01.00 - 04.00 arası pik yapar(16). Plazma ACTH ve kortizol düzeyiyle tersine bir varyasyon gösterir. Yani ACTH ve kortizol ile negatif bir korelasyon halindedir. Gece ise LH pulsasyonlarıyla senkronize bir salınımı vardır(5).

Leptin sekresyonu ayrıca pulsatil bir karakter gösterir. Günde 30 pulsasyon yaptığı saptanmış olup her puls 48 dakika sürer. Puls amplitüdü obezlerde zayıflara göre daha fazladır(17).

Leptin etkisini leptin reseptörleri yoluyla gerçekleştirir. Leptin reseptörü, 1996 yılında, leptine rezistans olduğu gösterilen db/db farelerde db gen ürünü olarak keşfedilmiştir. Leptin reseptörleri, farelerde 4.kromozomda bulunan DB geni tarafından kodlanır(18). Leptin reseptörü sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir.Yapısı sınıf I sitokin reseptörleri gibidir. İki tane fonksiyonu bilinen major reseptörü vardır. Bunlar ObRa (kısa form) ve ObRb (uzun form) dur(5).

OB-Rb (uzun form) reseptörler, sinyal iletme kapasitesine sahiptirler ve en çok hipotalamusta; az miktarda akciğer, böbrekler, karaciğer, iskelet kası, kalp,

pankreas, ince barsaklar, overler, testisler, hematopoetik hücreler, yağ doku ve daha birçok hücre ve dokuda bulunur(19).

OB-Ra (kısa form) reseptörlerin sinyal iletiminde rolleri çok azdır. Bunlar, başlıca böbrek, akciğer, beyin kapillerleri ve pleksus koroideusta bulunurlar. Olasılıkla leptinin merkezi sinir sistemine transportunda rol oynarlar(20). Leptinin reseptörüne bağlanması, JAK-STAT kaskadının başlamasına neden olur(21).

Leptin reseptörüne bağlandıktan sonra diğer sitokinler gibi JAK-STAT sinyal transduserini aktive eder ve daha sonra STAT ve MAP kinaz aktivasyonu yaparak etkisini gösterir. Leptin ayrıca insülin ile beraber arkuat nükleusta fosfatidilinozitol 3 kinazı (PI3K) stimüle ederek etkisini gösterir. Obezitede hem insülin hem de leptin rezistansının olması ve her iki hormonun da bu enzim yoluyla etkisini göstermesi yeni saptanan ve çok önemli bir keşiftir(5).

Leptinin birçok etkisi olmasına rağmen başlıca hedef dokunun veya esas etkisinin santral sinir sisteminde olduğu düşünülmektedir. Leptin etkilerinin çoğu hipotalamustaki reseptörlerine bağlanma sonucu ortaya çıkar ancak periferik etkileri de vardır(22). Leptinin ana etki mekanizması, birçok hipofizer hormonun regülasyonunda görev alan ve asıl etkisi iştahı arttırmak olan nöropeptit Y'nin (NPY) arkuat nükleus'tan ekspresyonunu ve salınımını inhibe etmektir(23). Leptin, arkuat nükleusta NPY/AGRP nöronlarını inhibe eder ve α -MSH/CART nöronlarını uyarır(24).

2.1.4. Leptinin Fonksiyonları

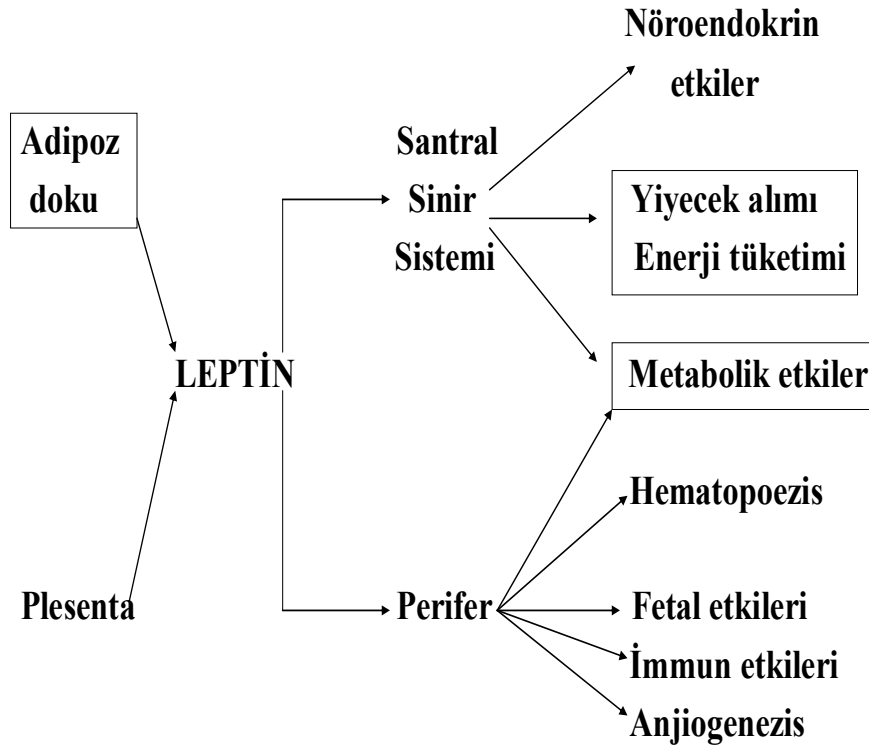
Anjiyogenez, yara iyileşmesi, kan basıncının düzenlenmesi üzerine leptinin periferik etkileri olduğunu destekleyen bilimsel kanıtlar ileri sürülmüştür(15).

Leptinin en iyi bilinen fonksiyonu, hipotalamus üzerine negatif feedback etki ile gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir(25).

Kronik pozitif enerji dengesinde (gıda alımı>enerji harcanması) artmış leptin sekresyonunun etkileri, negatif enerji dengesinde (enerji harcanması>gıda alımı) azalmış leptin sekresyonunun etkileri gözlenir(26).

Günümüzde, leptinin özellikle adipoz dokudan olmak üzere çeşitli dokulardan salgılandığı, santral ve periferik pek çok etkileri olduğu bilinmektedir(27).

Aşağıdaki şekilde leptinin santral ve periferik etkileri şematize edilmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Leptinin santral ve periferik etkileri

(http://www.chem.uwec.edu/Chem412_S99/41299/leptin/index.htm)

2.1.5. Leptinin Diğer Sistemler Üzerine Etkileri

2.1.5. Leptin ve Beyin

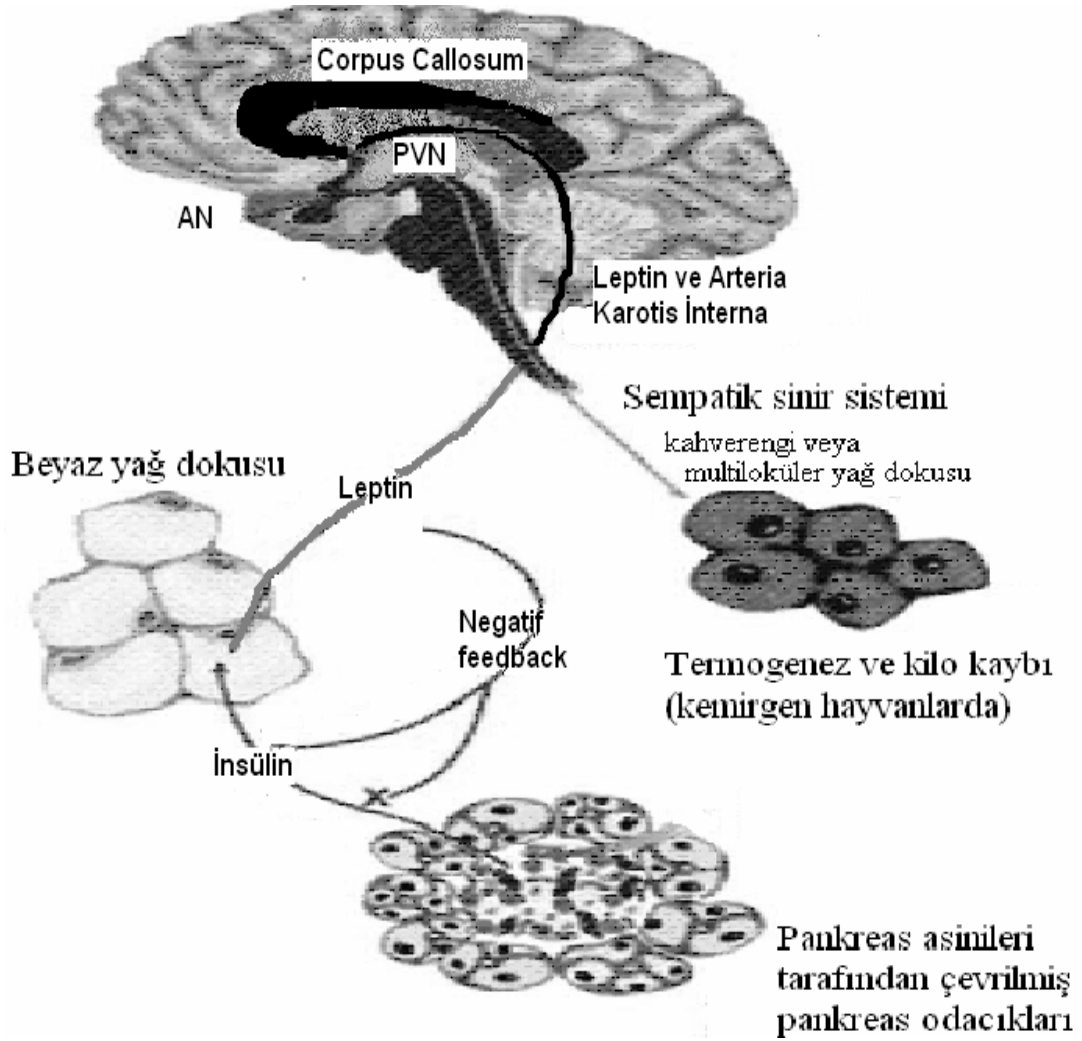
BOS sıvısındaki leptin düzeyi plazma leptin düzeyiyle ilişki halindedir. Bu ilişki plazma leptin düzeyi 5 ng/ml'e kadarki seviyelerde vardır. Ancak 15 ng/ml'den sonra plazma ve BOS sıvısı arasında orantı kaybolur. Plazmadaki leptin BOS sıvısına saturable transport yoluyla geçer. BOS sıvısında leptin düzeyi plazmadan çok düşüktür ve onun %1-20'si oranında bulunur. Obezlerde plazmadan BOS sıvısına olan transportun bozulduğu saptanmıştır. Ancak mekanizması bilinmemektedir. Leptin beyinde başlıca etkisini hipotalamusda yoğun olarak bulunan leptin reseptörleri yoluyla yapar(5).

2.1.5. Leptin, Gıda Alımı ve Obesite

Yemek sonrası plazma leptin konsantrasyonları değişmez. O nedenle leptin bir doyumluk hormonu olamaz. Yine leptin gen mutasyonlu ve bu nedenle leptin yetmezliği olan hastalarda çocukluk çağı hariç hiperfaji yoktur. Leptinin iştah üzerindeki etkisini düşük konsantrasyonlarda maksimal olarak gösterdiği saptanmıştır. İntraserebroventriküler (İCV) yolla enjekte edilen leptinin farelerde gıda alımını azalttığı ancak tamamen suprese etmediği saptanmıştır. Bu fareler yine yeteri kadar yemek yemekte hatta obezite gelişmektedir. Özetle leptin yağ depolarının korunmasını sağlamakta ancak iştah üzerine belirgin bir etki göstermemektedir. Yüksek leptin düzeyleri obezlerde artmış olan yağ dokusunun bir yansımasıdır(5).

Leptin, beyinde kilo alımına neden olan anabolik sinyal iletimini inhibe, enerji harcanmasını arttıran katabolik sinyal iletimini aktive ederek fazla kilo alımına engel olur(28).

Leptin, enerji dengesi ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde insülin ile birlikte önemli rol oynar(29) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Enerji dengesi ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde leptin ile

insülinin rolü

(<http://www.coping.org/weightmgmt/strategies/leptin.ppt#15>).

Adipositlerde leptin üretiminde azalma obezite gelişmesine yol açar(14). İnsanlarda konjenital leptin eksikliğinin obeziteye neden olduğu 1997 yılından beri bilinmektedir(30). 1997 yılında, Pakistan'lı bir ailenin iki çocuğunda, erken başlayan obezite, hiperfaji, hiperinsülinemi, hipotermi, ileri kemik yaşı ve konjenital leptin eksikliği saptanmıştır(30). Obezitede asıl sorunun leptin eksikliğinden çok leptin rezistansı olduğunu düşündüren bulgular vardır ve leptin rezistansı sıklıkla insülin rezistansı ile birlikte(31). Obez insanlarda kan leptin konsantrasyonu genellikle

artmıştır. Bu kişiler bir bakıma leptine duyarsızdırlar. Leptin rezistansının olası mekanizmaları ile ilgili olarak;

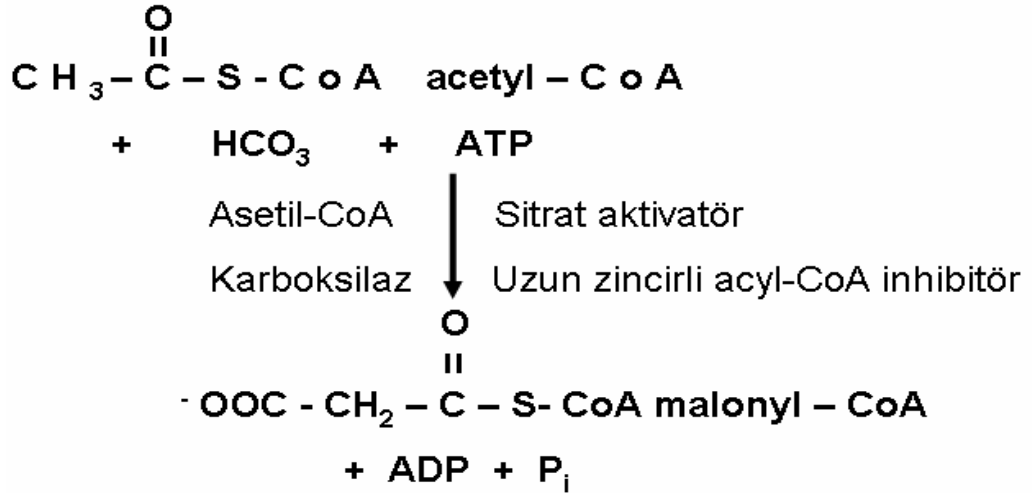
-Kan-beyin bariyerinden leptin transportunda bozulma

-Beyin içine leptin alımında bozulma

-İnhibitör proteinlerin etkisi düşünülmektedir(32).

2.1.5. Leptin ve Metabolizma

Leptinin metabolizma üzerine iyi bilinmeyen ve olasılıkla oldukça kompleks etkileri vardır. Az gıda alımı, hem yağ kitlesi hem de yağsız kitlede kayba neden olur. Leptin ile tedavi ise, adipoz dokuda lipolizi arttırır, fakat yağsız dokuya etki belirgin değildir(19). Leptin, yağ asidi sentezinde hız sınırlayıcı enzim olan asetil Ko-A karboksilaz aktivitesini inhibe ederek yağ asidi ve trigliserid sentezini azaltıp lipid oksidasyonunu arttırır(32) (Şekil 2.4).

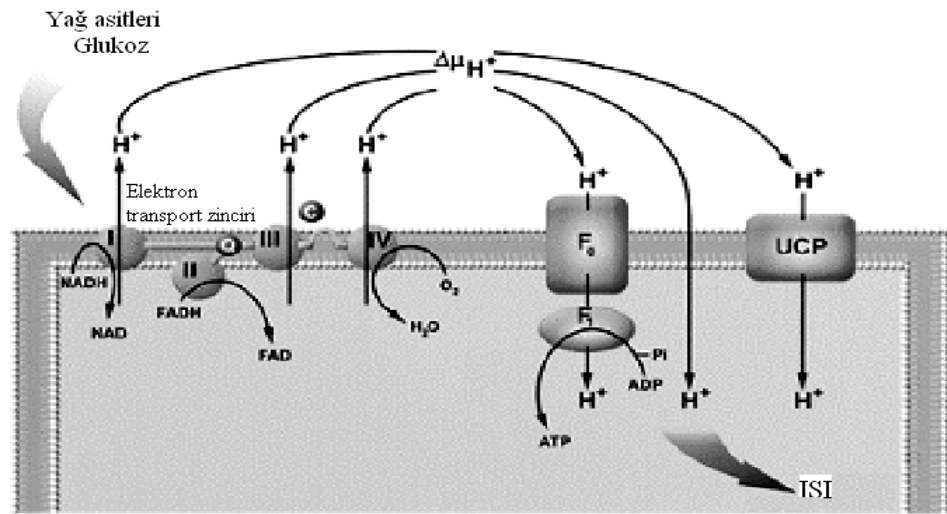


Şekil 2.4. Leptinin yağ asidi sentezinde asetil Ko-A karboksilaz aktivitesi üzerine etkisi (Lancet, 1998; 351: 737-742).

Yüksek doz leptin, pankreasın β hücrelerinden insülin salınımı üzerine inhibitör etki göstermektedir; dolayısıyla glukoz oksidasyonunu inhibe eder. Leptini veya

leptin reseptörünü kodlayan gende inaktive edici mutasyon olan fareler obezdirler ve aynı zamanda manifest diyabet ve soğuk intoleransı gösterirler(33).

Leptin, tiroid hormonlarının seviyesini ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonunu arttırarak kenetlenmeyi bozucu protein (UCP) oluşumunu ve sonuçta termogenezi (ATP sentezi yerine ısı açığa çıkmasını) arttırır. Leptin, ob/ob farelerde vücut sıcaklığını ve oksijen tüketimini arttırmaktadır(34) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Leptin, ob/ob farelerde vücut termogenez üzerine etkisi

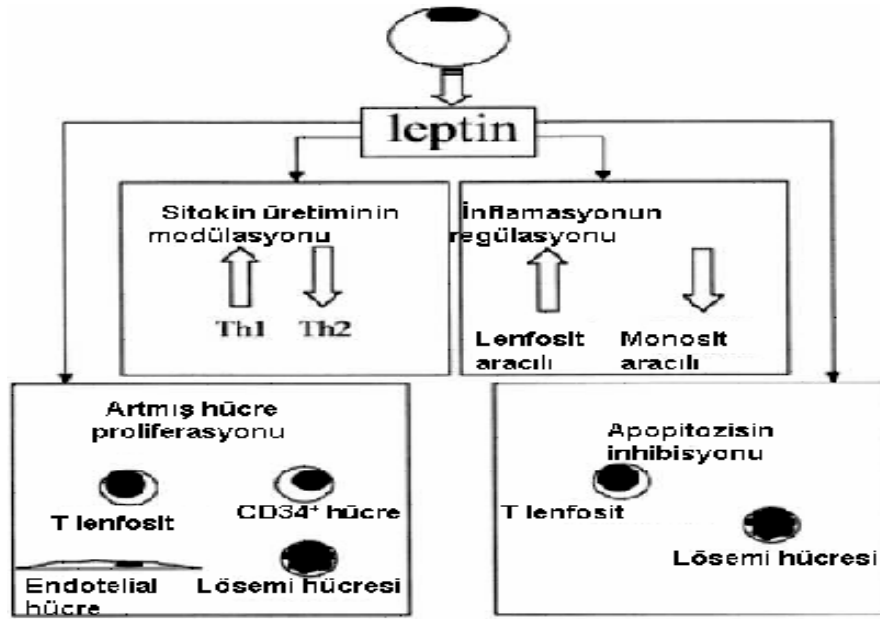
(<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/bio/bioja/vk/jaakola/function.pdf>).

2.1.5. Leptin, Hematopoez ve İmmün Sistem

Hematopoetik dokularda ve embriyonik gelişim dönemlerindeki “stem” hücrelerinde leptin reseptörlerinin gösterilmesi leptinin hematopoezde rolü olabileceğini düşündürmüştür. Kemik iliğindeki adipositlerde leptin sekresyonu gösterilmiş ve leptinin hematopoezde önemli rol oynadığı saptanmıştır. Kök hücrelerin diferansiyasyonunda ve osteoblast oluşumunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Leptin, lökosit sentezini uyarır ve eritropoetin hormonunun eritrositlere olan etkisini arttırır(35). Monosit ve trombosit üzerinde leptin reseptör ekspresyonu gösterilmiştir(5). Ob/ob (leptin yetmezlikli) farelerde ve db/db (leptin

reseptör mutasyonu olan) farelerde immün sistem defekti olduğu gösterilmiştir. Bu farelerde hücresel immün sistem defekti olduğu saptanmıştır(36).

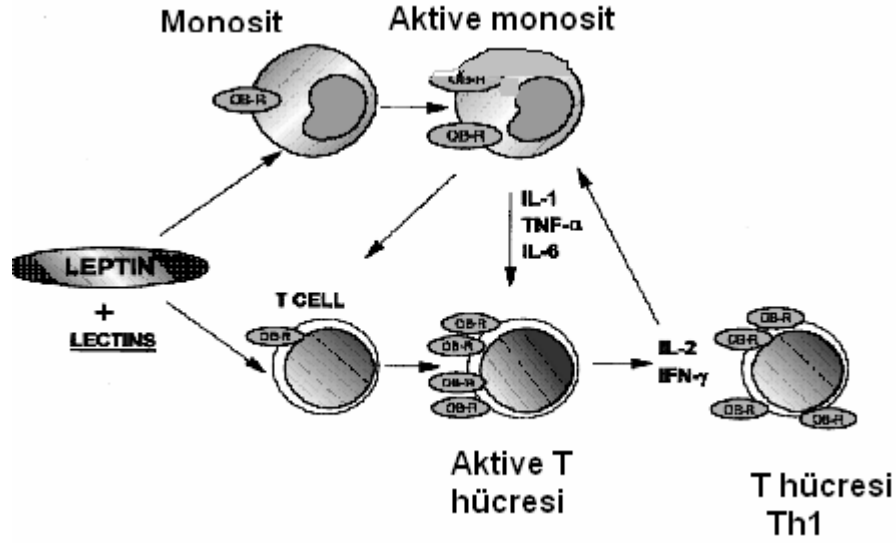
Leptin, çeşitli hücre tiplerinde proliferatif ve anti-apoptotik etkiler gösterir(7). Leptinin CD₄⁺ helper T hücrelerinde stimülasyon etkisi ile proliferasyonu artırdığı gösterilmiştir(12). Leptin, Th₂ yanıtını inhibe ederken Th₁ yanıtını destekler(37) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Leptinin çeşitli hücre tiplerinde proliferatif ve anti-apoptotik

etkileri (J Leukoc Biol, 2000; 68: 437-446).

Leptinin, monositlerden proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunu arttırdığı da ileri sürülmüştür(21) (Şekil 2.7).



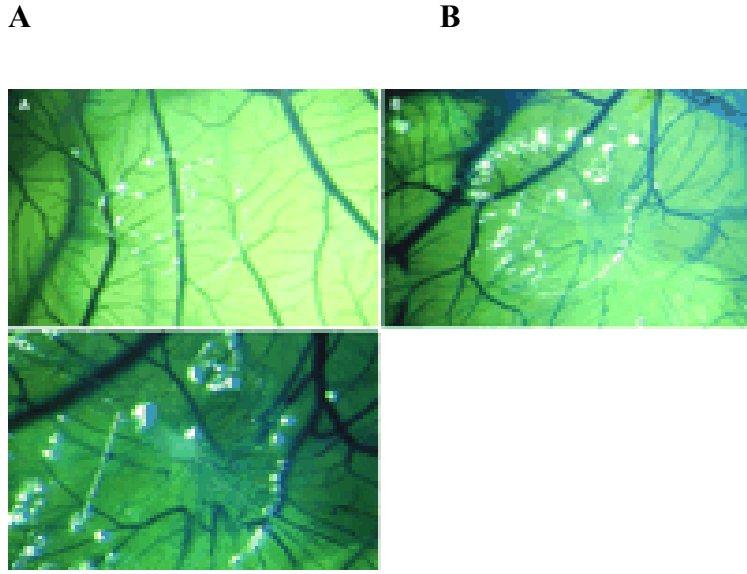
Şekil 2.7. Leptinin, monositlerden proinflamatuvar sitokinlerin oluşumu

üzerine etkisi (Clin Exp Immunol, 2003; 133: 11-19).

Leptin, enfeksiyon ve otoimmüniteye duyarlılığın dengelenmesinde önemli role sahiptir(37). Leptin yetmezlikli hastalarda immün sistemde değişiklikler olduğu saptanmış olup, ayrıca bu hastalarda antioksidan koruma sisteminin bozuk olduğu da gösterilmiştir(5). Ekzojen leptin verilmesinin, leptin yetmezliği veya düşük leptin düzeyi ile ilişkili immunolojik bozuklukları düzelttiği bildirilmiştir(7).

2.1.5. Leptin ve Anjiogenez

Obezitenin gelişme ve düzelmeye (zayıflama) fazlarında, leptindeki artma ve azalmalara paralel olarak yağ dokusunun vaskülaritesinde de fizyolojik olarak artmalar ve azalmalar olduğu saptanmıştır. Bu da leptinin anjiyogenezde bir lokal regülatör olarak davrandığını düşündürmüştür(38). Leptin reseptörleri damar endotel hücrelerinde mevcuttur ve anjiogenezisi artırır. Over folliküllerinin siklik anjiogenezisi ve regresyonunda önemli rolü vardır. Bu durum yağ dokusunun artışı ve azalışında da önemli bir rol oynar(12). *Human recombinant leptinin*, endotelial hücre kültürlerinde anjiogenezin ilerlemesine yardımcı olduğunu gösteren çalışmalar vardır(39) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Leptinin anjiogenez üzerine etkisi ve endotelial hücre

kültürlerinde kullanılması. Resim A'da leptin yok iken, resim B ve C'de leptin kullanılmıştır. (Circ Res, 1998; 83: 1059-1066).

Leptin, normal rat korneasında yeni damar oluşumuna neden olurken leptin reseptörü yetersiz olan *Zucker* fa/fa rat korneası için etkisiz olmuştur(40).

Hem *in vitro* hem *in vivo* çalışmalar, leptinin anjiyogenez ilerletici aktivitesi olduğunu göstermiştir. Bununla beraber ob/ob farelere sistemik veya topikal olarak leptin verilmesi anjiyogenez etkilemeden yara iyileşmesini hızlandırmaktadır(7).

Overde bir miktar leptin sentezlenip salınması ve salınımın ovülasyon zamanı ile ilişkili olduğunun tespit edilmesi, over foliküllerindeki fizyolojik siklik anjiyogenezlerin ve regresyonların leptine bağlı olduğunu düşündürmektedir(41).

2.1.5. Leptin Rezistansı

Leptin reseptör gen mutasyonuna bağlı yüksek plazma leptin düzeyleri (500-700 ng/ml) şimdiye kadar sadece bir Fransız ailesinde saptanmıştır. Bu durum gerçek bir leptin rezistansıdır. Ancak obez kişilerin %90-95'inde hiperleptinemi vardır ve

bunlarda leptin reseptör defekti yoktur. Yüksek leptin düzeylerine rağmen iştahın azalmaması nedeniyle leptinin yeterli etki gösteremediği düşünülerek bu duruma leptin rezistansı denmiştir. Yine iv yolla verilen leptin iştahı azaltmasına rağmen tamamen baskılayamamaktadır. O nedenle leptin bir anti-obezite hormonu değildir. Obez hastalar aslında gerçek leptin-rezistant değildir. BOS sıvısındaki leptinin serum leptinine oranı obezlerde çok düşüktür. O nedenle suboptimal bir leptin transportu vardır. Ancak leptin etkisini çeşitli nedenlerden dolayı gösteremeyebilir. Bunlardan birisi leptinin kan-beyin bariyerini geçmede zorlanması yani geçememesidir. Burada *saturable* transport sistem defekti düşünülmeyle birlikte son çalışmalarda yüksek dozlarda periferik leptin enjekte edilmesinin *saturable* leptin transportunu yenerek BOS da yüksek leptin düzeyleri sağladığı gösterilmiştir. Bu da *saturable* transport sisteminden bağımsız olarak leptinin BOS'a geçtiğini düşündürür. Diğer bir defekt ise hücrede leptinin SOCS-3 gibi bazı proteinler tarafından bloke edilmesidir. Diğer bir çalışma makrofajlardan salınan IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) serum düzeylerinin obezitede arttığını ve bunun leptin rezistansına katkıda bulunduğunu göstermiştir. Diğer bir soru yüksek leptin düzeylerinin vücuda zararlı bir etkisinin olup olmadığıdır. Dışarıdan yüksek dozda leptin verilerek leptin rezistansının yenilmesi ve obezite tedavisinde kullanılması bir alternatif tedavi seçeneğidir. Ancak alınan sonuçlar çok yüz güldürücü olmamıştır. Leptin ayrıca blast hücrelerin proliferasyonunu artırır(5).

2.1.5. Leptin Çalışmaları

2.1.5. Karaciğerde Leptin Çalışmaları

Kenichi Ikejima ve arkadaşlarının, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının progresyonunda leptinin rolünü araştırdıkları çalışmalarında; leptinin inflamasyon ve progresyonda anahtar rolü oynadığı tanımlanmıştır. Ayrıca ekzojen verilen leptin PDGF bağımlı *hepatik stellate* hücrelerdeki proliferasyonu artırmıştır(42).

Kenichi Ikejima ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada; leptin yetmezlikli ve normal ratlarda intraperitoneal *thioacetamide* (200 mg/kg – 3kez/hafta) enjeksiyonu ile hepatik fibrozis oluşturup, ratların ekstrasellüler matriksindeki leptin reseptör bağımlı sinyallerle düzenlenen hepatik fibrogenezisi ve yeniden

şekillenmeyi değerlendirmişler. Bunun sonucunda leptin ve bunun fonksiyonel reseptörlerinin KC'deki profibrojenik cevapta önemli rol oynadığını tespit etmişlerdir(43).

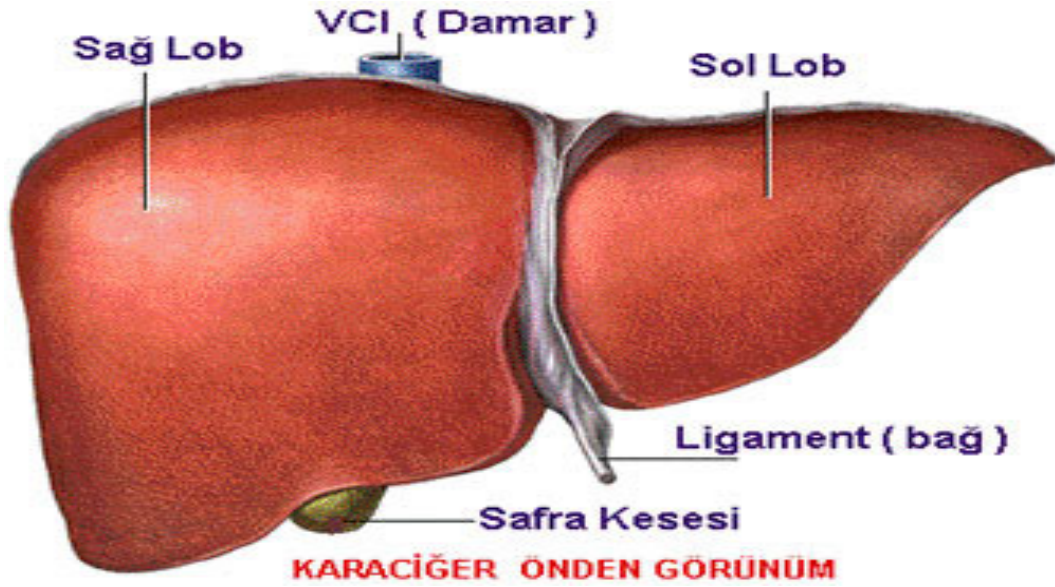
Leptin yetmezliği olan ratların yağlı karaciğerinde, CCl₄ ile toksik hasar sonrası rejenerasyonu düzenleyen sitokinlerin üretimi ve hücre içi sinyal iletiminin araştırıldığı bir çalışmada; leptin yetmezlikli ratlara verilen ekzojen leptinin, (100 mikrogram x kg x gün) leptin verilmeyen ratlarla karşılaştırıldığında bozuk sitokin üretimi, hücre içi sinyal iletimi ve hatalı KC rejenerasyonunu düzenlediği bulunmuştur. Yağlı KC'deki bozuk rejenerasyon mekanizmalarının da leptin yetmezliği ile ilişkili olabileceği düşünülmüş(44).

Leclerq IA ve arkadaşları da, leptin yetmezlikli ratlarda %55 parsiyel hepatektomi sonrası bozuk hepatik rejenerasyonu araştırdıkları yayınlarında(%70 parsiyel hepatektomi mortal seyrettiği ve uygulama zorluğu nedeniyle %55 parsiyel hepatektomi tercih edilmiş.); leptinin KC hücrelerinde tek başına hepatosit proliferasyonunu ilerleten bir sinyal olmadığı ve şişman fenotiplerdeki bozuk hepatik rejenerasyona da tek başına leptin yetmezliğinin neden olmadığını bildirmişlerdir(45).

2.2. Karaciğer ve Karaciğer Rezeksiyonu

Karaciğer, vücuttaki en büyük bezdir. Ağırlığı 1200-1800 gram kadardır. Yenidoğanlarda vücuda oranla daha büyüktür. Dorsal yüzünde safra kesesi yer alır. *Glisson* kapsülü adı verilen peritoneal membran karaciğer yüzeyini sarar ve parankim içerisine doğru uzanan, içerisinde kan damarları ve safra duktusları içeren fibröz septalar verir. Karaciğerde sağ, sol, kuadrat ve kaudat loblar olmak üzere 4 lob tanımlanır. Topografik olarak falsiform ligamanın sağ tarafı sağ lob, sol tarafı ise sol lobu oluşturur. Sağ lob daha büyüktür. Kuadrat lob inferior yüzde solda umblikal fissür, sağda safra kesesi yatağı ve arkada portal triadın çevrelediği dikdörtgen bölümdür. Kaudat lob ise solda falsiform ligamanın posterior uzantısı ile inferior vena kava'nın karaciğer üzerindeki impresyonu arasında yer alır (4). Karaciğere gelen kanın %70 kadarı vena porta, geri kalan kısmı ise arteria hepatica tarafından

getirilir. Hepatik parankim üç ana hücre grubundan oluşmuştur. Bunlar hepatositler, biliyer epitel hücreleri, *Kupffer* hücreleridir (46, 47).



Şekil 2.9. İnsan karaciğerin önden görünümü

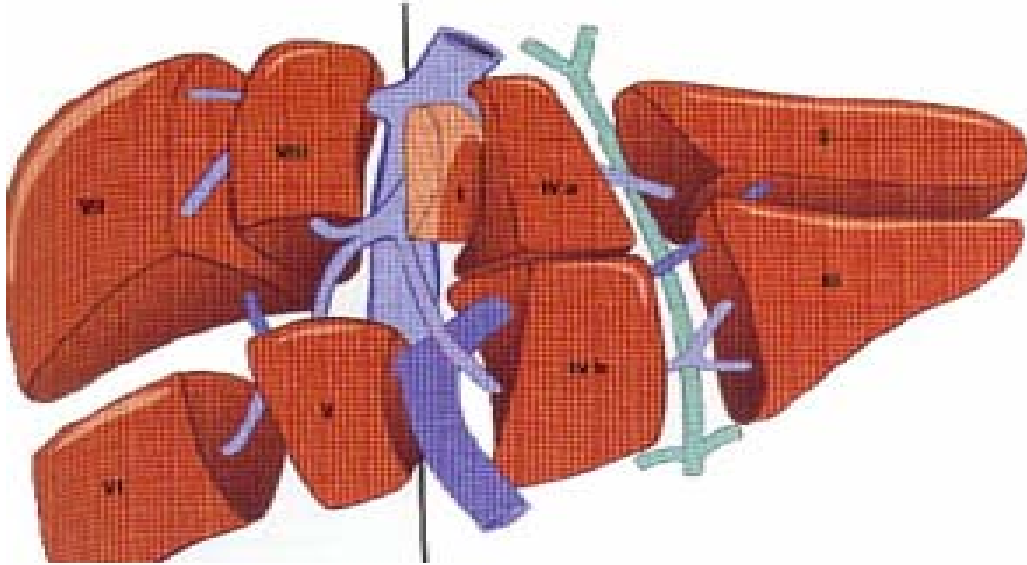
(biyolojiegitim.yyu.edu.tr/k/Kara/index.htm).

Karaciğerin histolojisinde lobül yapısı görülür. Klasik lobül yapısında ortada bir hepatik ven (santral ven) dalı vardır. Bu hepatik ven dalından periferine doğru ışınal biçimde sinüzoidler ve parankim hücreleri uzanır. Altıgen şeklindeki klasik lobülün köşelerinde içinde portal ven, hepatik arter ve safra kanalının uç dallarının bulunduğu portal triadlar yerleşmiştir. Portal ven ve hepatik arter kanı sinüzoidlerde karışır. Sinüzoidler terminal hepatik venüllere drene olurlar. Terminal hepatik venüller birleşerek sonunda hepatik venleri oluştururlar. Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasındaki *Disse* aralığı denilen kısımda karaciğer lenfi oluşur. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan *Kupffer* hücreleri bulunur. Karaciğerin temel fonksiyonları; barsaklardan dönen kanın depolanması ve infiltrasyonu (vasküler fonksiyon), vücudun metabolik sisteminin büyük kısmının koordinasyonu ve regülasyonu (metabolik fonksiyon), safranın yapılıp safra kanallarıyla gastrointestinal sisteme ulaştırılması (sekretuar ve ekskretuar fonksiyon) olarak özetlenebilir (48).

Karaciğer rezeksiyonları anatomik ve non-anatomik olmak üzere ikiye ayrılır. Vasküler anatomiye esas alan rezeksiyon tipleri anatomik rezeksiyon olarak adlandırılır. Bu tip rezeksiyonlarda fonksiyonel ve anatomik olarak tanımlanmış

karaciğer bölümleri çıkarılır. Anatomik rezeksiyonların amacı fonksiyonel bölümlere uyarak daha kansız ameliyat yapmak, diğer bölümlerin kanlanmasını bozmamaktadır. Anatomik rezeksiyonlar sağ ve sol hepatektomiler, sektörektomiler, segmentektomiler ve subsegmentektomilerdir (49)(Şekil 2.10).

Segmenter Karaciğer Rezeksiyonu



Şekil 2.10. İnsanda segmental KC rezeksiyonu

(www.nhspurchasing.com/brochome.asp?OrgCode=15...).

Karaciğer rezeksiyon endikasyonları şunlardır; (54)

I-Malign tümörler

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

II- Benign hastalıklar:

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

III- Travma

IV- Canlıdan yapılan karaciğer nakillerinde donör hepatektomi

Karaciğerin %50' si veya daha fazlası çıkarıldığında postoperatif dönemde hastanın yakın takibi gereklidir. Elektif hepatektominin mortalite oranı yaklaşık %5 civarındadır ve bu oran büyük ölçüde postoperatif komplikasyonlara bağlıdır (50). Postoperatif mortalite ve morbidite nedeni olan bu komplikasyonlar arasında karaciğer yetmezliği, biliyer fistül, subfrenik perihepatik abse, pnömoni, plevral effüzyon ve stres ülserleri sayılabilir (50, 51).

2.3. Karaciğer Rejenerasyonu

Yaralanma veya rezeksiyondan sonra karaciğerin kendini rejenere etme kabiliyeti uzun süredir araştırmacıları büyülemektedir. Karaciğerin rejeneratif kapasitesi ile ilgili ilk bilgilere *Hesiodos' un Theogoni' sinde* rastlanmaktadır. Bir Titan olan *Prometheus* ateşi çalarak insana verdiği ve insanı şımarttığı için Zeus tarafından cezalandırılır. Ceza olarak Kafkas Dağları'nın en yüksek tepesine zincirlenir. Karaciğerinin bir kısmı her gün bir kartal tarafından yenir ve her gece eski halini alır. Ancak gerçek anlamda karaciğer rejenerasyonu fikrini ilk kez 1833'te *Cruveilhier* ortaya atmıştır(52).

Karaciğer erişkin boyutlara ulaştığında büyümesi durur. Normal bir karaciğerin herhangi bir zamanda yapılan kesitlerde hepatosit popülasyonunun çok seyrek mitoz göstermesi bu durgunluğun bir ifadesidir(53). Bununla beraber karaciğerde doku kaybı ile sonuçlanan yaralanmalar, hastalıklar (viral hepatit, siroz ve toksik olaylar) veya karaciğerin cerrahi olarak bir kısmının çıkartılması gibi olaylardan sonra hızla kompensatuvar bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına 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 mitozu uğramaktadır(54-55). Sağlıklı karaciğerdeki bu düşük turnover toksik karaciğer hasarı veya cerrahi rezeksiyon durumunda değişmektedir. Karaciğerin 2/3'nin kaybindan sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu sonuç, rezeke lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofisine bağlıdır(56). Karaciğer rezeksiyonu veya parsiyel hepatektomi karaciğer kütlelerini azaltır fakat az da olsa geride hasarlı hücreler bırakır.

2/3 parsiyel hepatektomi modelinde, sol ve medial loblar ligate edilip eksize edilir. Böylece karaciğerin %65-70'i eksize edilmiş olur(57). Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücre hasarını eşlik etmediği pür karaciğer rejenerasyonu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu in vivo rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir. Parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve artık lobüllerin genişlemesi şeklinde olur. Hepatik rejenerasyon için gerekli uyaranlar pankreas diğer ekstrahepatik organlar ve rejenerasyon olan karaciğerin bizzat kendisinden kaynaklanan humoral faktörlerdir(4).

Günümüzde bilgisayarlı tomografi, anjiyografi, sintigrafi gibi yöntemlerle yapılan çalışmalarda, karaciğerin rezeksiyon sonrası erişkinlerde 3-6 ayda, çocuklarda 3 aydan daha kısa sürede eski boyutuna ulaştığı gösterilmiştir. Siroz varlığında bu süre 9-15 aya kadar çıkmaktadır(1, 3).

Karaciğer rejenerasyonunda birçok büyüme faktörü ve sitokinler rol alır. Bu faktörler şunlardır:

1- Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF): En çok karaciğer *İto* (vitamin A depolayan, bağ dokusu proteinleri ve büyüme faktörleri sentezleyen karaciğere özgü satellit hücreler) ve *Kupffer* hücrelerinde olmak üzere birçok dokuda ve plazmada bulunan protein yapısında bir büyüme faktörüdür(58, 59). Hepatektomiyi takiben 5 dakika içinde ürokinaz aktive olur ve plazminojenin plazmine dönüşümünde rol alır. Plazmin matriks yıkıcı metaloproteinazları uyarır. Matriks yıkımı sonucu HGF salgılanır(60). Ratlarda hepatektomi sonrası bir saat içinde plazma HGF konsantrasyonu 20 katına çıkar(61). İnsanlarda karaciğer rezeksiyonunu takiben 1 ile 3. günler arasında plazma HGF seviyesi maksimuma ulaşır(62). Karbontetraklorür (CCl₄) ve D-galaktozamin gibi hepatotoksik maddeler de nonparankimal karaciğer hücrelerinde HGF artışına neden olmaktadır(63). Bir büyüme faktörü olmasına karşın yüksek konsantrasyonlardaki HGF'nin bazı kanser ve sarkom hücre kültürlerinde büyümeyi yavaşlattığı bildirilmektedir(59).

2- TNF- α ve IL-6: Anti TNF- α antikorlu verilen, TNF- α reseptör eksikliği ve IL-6 gen delesyonu olan koyunlarda karaciğer DNA sentezinin bozulduğu gösterilmiştir(60).

3- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF): Hepatositlerde DNA sentezini uyardığı belirlenen ilk faktördür(64). Hepatosit kültürlerinde mitojen etkisi kanıtlanmıştır(60). Hepatektomi sonrası artan noradrenalin uyarısıyla submandibular bezlerden ve Brunner bezlerinden salınımı artmaktadır(65).

4- Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa (TGF- α): Karaciğer rejenerasyonunun başlangıç safhasından sonra rol oynadığı düşünülmektedir. EGF ile aynı reseptör üzerine etki eder. Hepatosit kültürlerinde DNA sentezini arttırmaktadır(64).

5- Norepinefrin: α_1 -adrenerjik reseptörler yoluyla direkt, EGF'yi arttırarak indirekt yoldan karaciğer rejenerasyonunu artırır. Sempatik denervasyon ve α_1 reseptör blokajı DNA sentezini azaltmaktadır(60).

6- İnsülin: Portosistemik şant sonucu gelişen karaciğer atrofisi insülin verilmesiyle engellenebilmektedir(66). Primer mitojen olmamasına karşın hücre kültürlerinde diğer büyüme faktörlerinin etkisini arttırmaktadır(60).

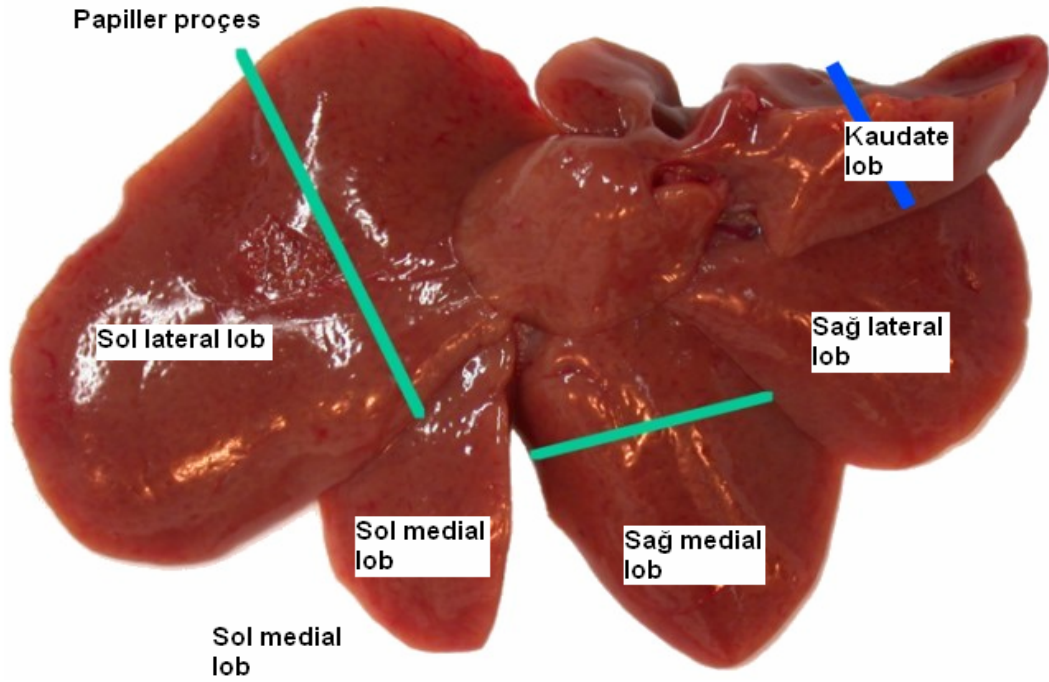
7- Hepatosit Uyarıcı Madde(HSS): 53 kilodalton ağırlığında bir proteindir. İn vitro ve in vivo olarak hepatotrofik etkisi vardır(67, 68).

8- Seks Hormonları: Hepatektomi sonrası hepatositlerde östrojen reseptörleri artarken androjen reseptörleri azalmaktadır. Östrojenin hücre kültürlerinde hepatosit bölünmesini arttırıcı etkisi vardır. Antiöstrojen bir ajan olan tamoksifenin in vitro ve in vivo karaciğer rejenerasyonunu azalttığı gösterilmiştir(64, 69). Buna karşın antiandrojenlerin belirgin bir etkisi gösterilememiştir(70).

9- Diğerleri: Fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), triiyodotironin (T_3), retinoik asit, bazı ilaçlar (barbitüratlar, diazepam, hipolipidemik ajanlar, antiepileptik ajanlar), büyüme hormonu, PGE₂, siklosporin, FK506, vazopressin gibi faktörlerin karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkıları olduğu bildirilmektedir(60, 67, 71-73). Bilinen en önemli rejenerasyon inhibitörü TGF- β_1 ' dir. *İto* hücreleri tarafından hepatektomi sonrası erken dönemde salgılanır. Rejenerasyon devam ettiği sürece α_2 makroglobuline bağlı inaktif

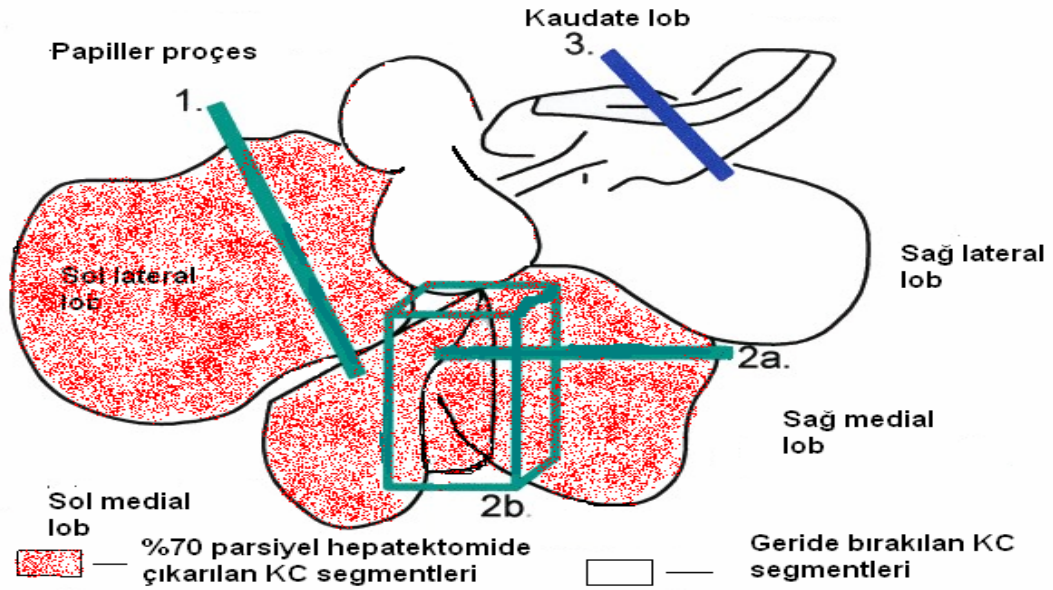
formundadır. Zamanı geldiğinde aktive olarak rejenerasyonu sonlandırır. Bu zamanlamayı etkileyen faktörler bilinmemektedir. (60, 74-76).

Parsiyel hepatektomi veya diğer karaciğer hasarlarından sonraki erken dönemde, kalan hepatositler hücre siklusunun G_0 döneminden çıkarlar ve G_1 safhasına girerler. Mitojenik uyarı sonrası rejenerasyon, öncelikle karaciğer lobüllerinin periportal bölgelerindeki hepatositlerde başlar. Sonra sırasıyla safra duktus hücreleri, *Kupffer* hücreleri, *İto* hücreleri ve sinüzoidal endotel hücrelerinde mitoz görülür. Sonuçta mevcut lobüllerin genişlemesi ve yeni lobüllerin eklenmesiyle KC eski büyüklüğüne ulaşır. KC 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(57) (Şekil 2.11, Şekil 2.12).



Şekil 2.11. Rat karaciğerinin viseral yüzden görünümü

(<http://www.item.fraunhofer.de/reni/trimming/imgfra.php?mno=012&img=liver>).



Şekil 2.12. Rat karaciğerinde %70 parsiyel hepatektomi modelinin şematize edilmesi (Yeşil ve mavi çizgiler de ayrı bir parsiyel hepatektomi modelinin sınırlarını göstermektedir.)

(<http://www.item.fraunhofer.de/reni/trimming/imgfra.php?mno=012&img=liver>).

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 mitokondrial aktivite gibi birçok marker kullanılmıştır (77-80). Ayrıca rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması ve tespitinde bazı maddeler kullanılmıştır. Bunlar DNA timidin içeriği, 5-bromo-2'-deoksiüridin, PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*), plazma fibronektin seviyesi ve stimulator substans gibi maddelerdir (77-84). Bunların dışında ilk kez 1983'de *Gerdes* ve ark. tarafından hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan monoklonal antikor tarif edilmiştir (74). Ki-67 proteini tüm hücre sikluslarında tanımlanmıştır (75). Hücre siklusu ilerledikçe antijen içeriği artar. G₂-M evresinde maksimal seviyeye erişir. Ki-67 antijenine karşı tanımlanan monoklonal antikor ise hücre siklusunun G₀ evresi hariç diğer tüm evrelerinde gösterilmiştir. Bu antikorun prognostik olarak korelasyon gösterdiği durumlar arasında non hodgkin lenfoma, yumuşak doku sarkomları, santral sinir sistemi tümörleri (glioma,

oligodendrioglioma, pineoblastoma, primer sinir sistemi lenfoması ve nörofibroma), meme karsinomu sayılabilir. Ki-67'nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece S evresinden ziyade hücredeki siklusun tüm büyüme evrelerinin sınıflandırılabilmesidir. Bu sınıflandırma, hücresel proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir(82, 85-87).

2.4. Hepatosellüler Zedelenmenin Değerlendirilmesi

Hepatosellüler zedelenmeyle ilişkili testler serum transaminazları veya aminotransferazları olarak adlandırılan, aspartat aminotransferaz (AST, serum glutamik-oksaloasetatik asit transferaz [SGOT]), alanin aminotransferaz (ALT, serum glutamik-piruvik transaminaz [SGPT]) ile laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleridir(88). AST karaciğer dışında, iskelet ve kalp kaslarında, böbrekler, beyin, pankreas, akciğerler, lökositler ve eritrositlerde bulunurken ALT esas olarak karaciğerde bulunur. ALT sitozolde, AST ise hem sitozolde hem de mitokondride yer alır. Laktat dehidrogenaz pekçok normal ve malign dokuda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Enzimin beş izoenzimi (LDH 1-5) olup, elektroforetik olarak en yavaş olanı (LDH-5) karaciğerde bulunan izoenzimidir. Transaminazlar normal hücre döngüsünü yansıtabilecek şekilde dolaşımda az miktarda bulunur, transaminazlardan zengin dokularda zedelenme durumunda serum düzeyleri yükselir. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Sadece fulminan seyirli hepatitlerde artık nekroze olacak yeterli miktarda hepatosit kalmadığında düzeyleri normal hatta düşük olabilir ki; bu kötü prognoz belirtisidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi T.I.C.A.M. (Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi) laboratuvarında 08/02/2007 tarihli 12 sayılı etik kurul kararıyla yapıldı. Araştırmamızda 230 ± 30 gr. ağırlıkta *Sprague-Dawley* cinsi albino sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları TİCAM'dan temin edilerek, deney süresince 12:12 aydınlık karanlık ışıklandırması olan, ısısı (22 ± 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 *recombinant mouse leptin* (*Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.*) kullanılmadan önce *phosphate-buffered saline*'de pH 7.4'de çözülerek kullanıldı.

- **Grup 1 Kontrol ($n=8$):** Hayvanlara hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı.

- **Grup 2 ($n=8$):** % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal SF uygulanması. Hayvanlara laparatomiden 60 dakika önce intraperitoneal olarak 2ml/kg olarak serum fizyolojik verildi ve laparatomiden 24 saat sonra vena kava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi.

- **Grup 3 ($n=8$):** % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal SF uygulanması. Hayvanlara laparatomiden 60 dakika önce intraperitoneal olarak 2ml/kg olarak serum fizyolojik verildi ve laparatomiden 48 saat sonra vena kava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi.

- **Grup 4 ($n=8$):** % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal SF uygulanması. Hayvanlara laparatomiden 60 dakika önce intraperitoneal olarak 2ml/kg olarak serum fizyolojik verildi ve laparatomiden 72 saat sonra vena kava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi.

- **Grup 5 ($n=8$):** % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal leptin uygulanması. Hayvanlara laparatomiden 60 dakika önce intraperitoneal olarak

20 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ *phosphate-buffered saline* içinde çözülmüş leptin verildi. Laparatomiden 24 saat sonra vena kava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi.)

- **Grup 6 (n=8):** % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal leptin uygulanması. Hayvanlara laparatomiden 60 dakika önce intraperitoneal olarak 20 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ *phosphate-buffered saline* içinde çözülmüş leptin verildi. Laparatomiden 48 saat sonra vena kava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi.

- **Grup 7 (n=8):** % 70 Parsiyel KC rezeksiyonu + intraperitoneal leptin uygulanması. Hayvanlara laparatomiden 60 dakika önce intraperitoneal olarak 20 $\mu\text{gr}/\text{kg}$ *phosphate-buffered saline* içinde çözülmüş leptin verildi. Laparatomiden 72 saat sonra vena cava inferiordan kan örnekleri alındı ve daha sonra da kalan karaciğerleri total olarak rezeke edildi.



Şekil 3.1. Denek hayvanının karın bölgesinin hazırlanması ve laparotomi uygulanması.

Günlük değişen rejeneratif cevabın etkisine engel olmak için operasyonlar 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 traşları yapıldıktan sonra 2,5 cm uzunluğundaki orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı (Şekil 3.1). Karaciğer sol lateral ve median lobların pedikülleri 4/0 ipek ile bağlanarak *Higgins* ve *Anderson*'un tanımladığı şekilde %70 hepatektomi yapıldı (62). Tüm sıçanların laparotomi insizyonları 4/0 ipek kullanılarak iki sıra sürekli dikişlerle kapatılarak parsiyel KC rezeksiyonu yapılan ratların 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.

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

3.2. Doku - Kan Örneklerinin Alınması ve Değerlendirilmesi

Grup 1'e ait (kontrol) hayvanların karaciğerlerinin yaş ağırlıkları (*Bel Enginnering Mark* 500 model) hassas terazi ile ölçüldü. Grup 2,3,4,5,6 ve 7'e ait 24., 48. ve 72. saatlerde alınan karaciğerlerin yaş ağırlıkları kontrol grubuna benzer şekilde ölçüldü ve karaciğerlerin rejenerasyon oranları *Child*'in formülüne (formül 3.1) yerleştirilerek hesaplandı (89).

24, 48, 72, saatlerdeki Operasyon sonrasında

Rejenerasyon = $\frac{\text{alınan KC ağırlığı} - \text{kalan KC'in tahmini ağırlığı}}{\text{Total Karaciğer Oranı}} \times 100$

Oranı (RO) Total Karaciğer Oranı

3.1. KC rejenerasyon oranını hesaplamada kullanılan *Child*'in formülü.

Karaciğerin ağırlık ölçümleri hızlı bir şekilde gerçekleştirildikten sonra %10'luk formalin tespit solusyonuna alınarak 24 – 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Daha sonra rutin takip işlemleri uygulanarak parafin blokları hazırlandı. 5 µ kalınlığındaki kesitlere hematoksilin-eosin boyası yapılarak hepatositlerin mitotik

indeksleri çıkarıldı. Mitotik indeks için farklı kesitlerde 1000 adet mitozun değişik evrelerindeki hepatositler ışık mikroskobunda sayıldı.

3.2.1. Biokimyasal Analizler:

Karaciğer rezeksiyonundan sonra 24. saat'de grup 1,2, 5 48. saat' de; grup 3, 6, 72. saat.'de; grup 4, 7'ye tekrar 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) anestezisi uygulandı. 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) anestezisi altındaki ratlar dekapitasyon uygulanarak öldürüldü ve ölümden hemen önce 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) anestezisi altındaki deneklerden biyokimyasal analiz için vena kava inferiordan kan numuneleri alındı. AST, ALT, bilirubin hastanemiz biyokimya laboratuvarların da rutin biyokimyasal tetkiklerle yapıldı. Protrombin zamanı tayinleri ise hastanemiz hematoloji laboratuvarların da rutin hematolojik tetkiklerle yapıldı. Geride kalan karaciğer dokuları rejenerasyonu değerlendirmek için rezeke edildi.

3.2.2. Mitotik İndeks

Hematoksilen-eozin (H-E) ile boyanmış tüm karaciğer kesitlerinde kontrol grubu ile karşılaştırılmalı olarak iki histolog tarafından kör olarak 1000 adet hepatosit sayılarak mitotik indeks tespit edildi. Mitozun değişik aşamalarındaki hepatositler her hayvana ait ortalama 25 kesitte inceledi. Kesit alanları rastgele seçilmiş olup hepatositler oküler mikrometresi takılmış X40 büyütmeyle *OLYMPUS* CX31 marka mikroskopta sayılmıştır.

3.2.3. İstatiksel Analizler:

İstatiksel değerlendirme, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı tarafından yapıldı. Analizlerde *SPSS for Windows* 13.0 kullanıldı. Veriler ortalama \pm Standart Sapma (ort \pm SD) olarak özetlendi. Normal dağılıma uygunluk *Shapiro Wilk Testi* ile test edildi. Normal dağılım gösteren verilere parametrik, normal dağılım göstermeyen verilere parametrik olmayan testler uygulandı. Grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden *ANOVA* kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda ise *POST HOC* testlerden *Tukey HSD* testi kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında parametrik olmayan testlerden ise *Kruskal Wallis* testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda ise *Mann Whitney U* testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Aşağıda parsiyel hepatektomi sonrası kontrol, leptin ve serum fizyolojik uygulanan gruplar daki ratlardan elde edilen AST, ALT, bilirubin, rejenerasyon oranı, PTZ, aPTT, fibrinojen, INR, tahmini total KC ağırlığı, ilk rezeke edilen KC ağırlığı, kalan tahmini KC ağırlığı, son rezeke edilen KC ağırlığı ortalama değerleri tablo halinde verilmiştir (Tablo 4.1).

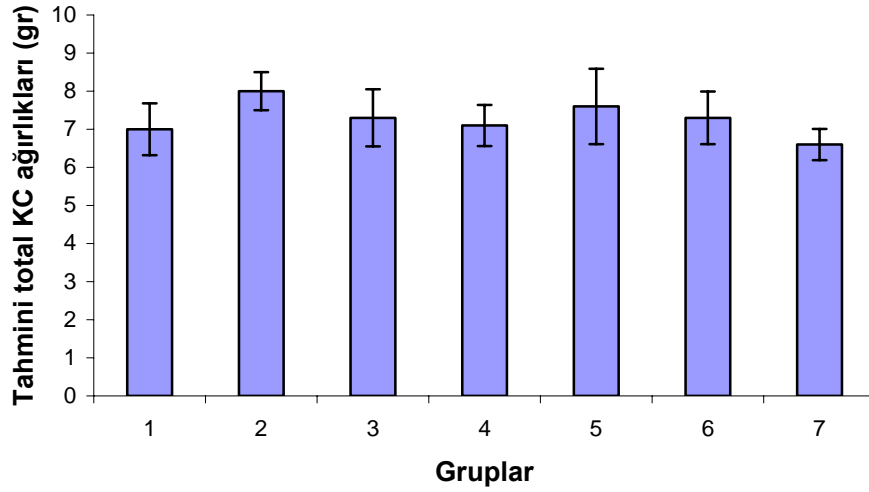
Tablo 4.1. Parsiyel hepatektomi sonrası kontrol, leptin ve serum fizyolojik uygulanan gruplardaki ratlardan elde edilen AST, ALT, bilirubin, rejenerasyon oranı, PTZ, aPTT, fibrinojen, INR, tahmini total KC ağırlığı, ilk rezeke edilen KC ağırlığı, kalan tahmini KC ağırlığı, son rezeke edilen KC ağırlığı ortalama değerleri.

	Grup 1	Grup2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
İlk rez. edilen KC ağı.	-	5,3±0,4	4,0±0,5	4,2±0,6	4,5±0,4	4,5±0,5	4,0± 1,0
Kalan tahmini KC ağı.	-	2,7±0,40	3,3±0,35	2,8±0,37	3,1±0,63	2,5±0,43	2,5±0,43
Son rez. edilen KC ağı.	-	3,5±0,5	4,4±0,5	4,1±0,75	5,8±0,57	6,8±1,12	6,4±0,41
AST	333±79	1565±672	970±348	538±164	3291±638	1489±581	550±181
ALT	78±18	629±374	356±242	197±48	2229±525	865±402	253±75
Bil.	0,1±0,09	0,31±0,36	0,2±0,07	0,15±0,06	0,37±0,18	0,33±0,22	0,18±0,05
Rej. Oranı	-	11±4,9	10±9,6	18,5±10,7	20,2±9,3	21,6±9,2	25,6±8,2
PTZ	9,5±0,6	10±2,3	9,5±1	8,6±0,4	10,5±0,9	9,5±0,9	8,4±0,5
aPTT	17,2±4,6	15,1±3,4	20,2±3,7	18,6±3,1	17,5±1,1	18,2±3,8	17,9±3,6
Fibr.	162±73	205±83	241±91	260±29	219±18	267±34	253±54
INR	0,9±0,04	0,96±0,18	0,92±0,9	0,84±0,06	1±0,06	0,92±0,07	0,82±0,04
Tahmini total KC ağı.	7,0±0,68	8,0±0,5	7,3±0,75	7,1±0,54	7,6±0,99	7,3±0,69	6,6±0,41

4.1. Tahmini Total KC Ağırlığı (gr)

Çalışmaya dahil edilen ratların tahmini total KC ağırlıkları; *Bel Engineering Mark 500* model hassas terazi ile ölçülen vücut ağırlıklarının % 3.4' ü olarak kabul edildi(131). Gruplar arasında sadece grup 2 ve grup 7 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı($F= 3.87$, $P< 0.01$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

Ratların tahmini total KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.1).

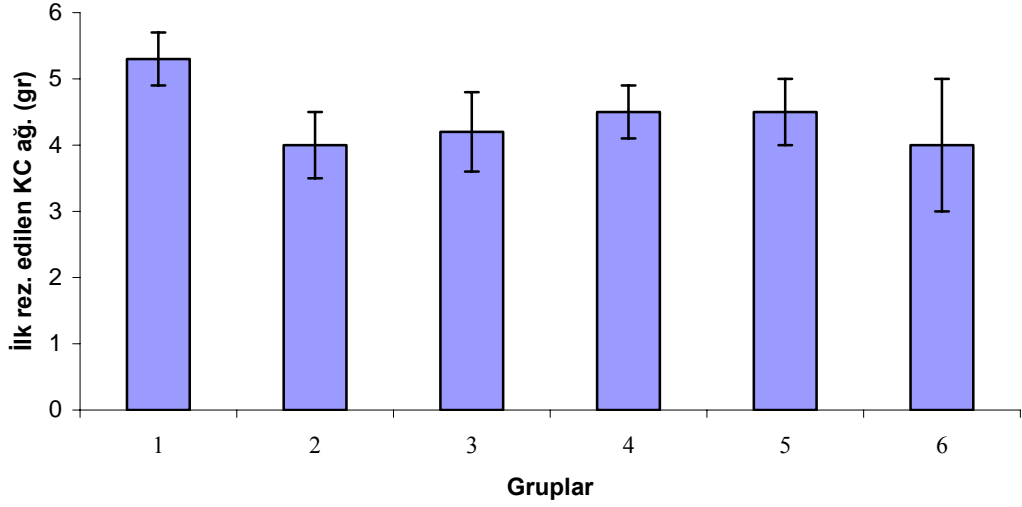


Şekil 4.1. Ratların tahmini total KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri.

4.2. İlk Rezeke Edilen KC Ağırlığı

İlk rezeke edilen KC ağırlıklarında sadece grup 2 diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmaktadır($F=4.92$, $P< 0.001$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Ratların ilk rezeke edilen KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.2).

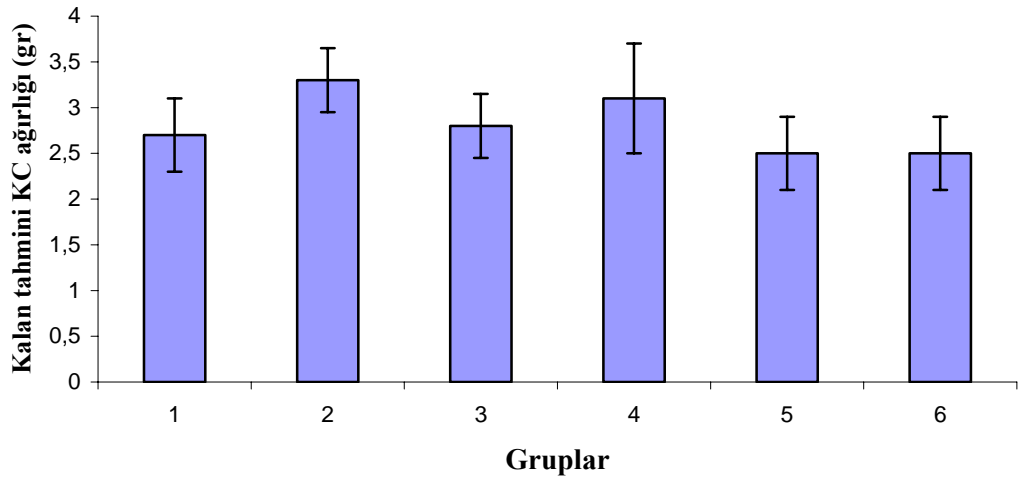


Şekil 4.2. Ratların ilk rezeke edilen KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri.

4.3. Kalan Tahmini KC Ağırlığı

Ratların kalan tahmini KC ağırlıklarında Grup 3; Grup 2-6-7'den istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmaktadır ($P < 0.05$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Ratların kalan tahmini KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.3).

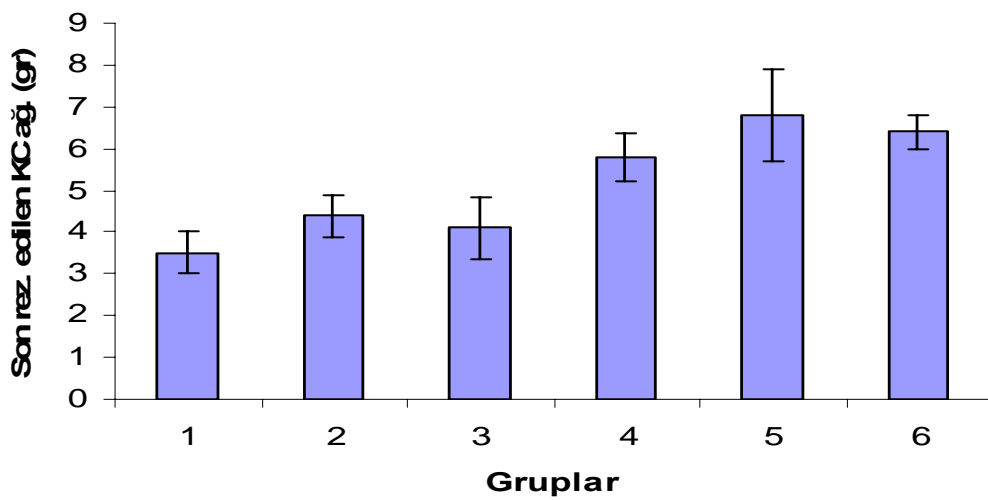


Şekil 4.3. Ratların kalan tahmini KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri.

4.4. Son Rezeke Edilen KC Ağırlığı

Son rezeke edilen KC ağırlıklarında grup 2, grup 3-5-6-7'den($P<0.05$); grup 3, grup 5-6-7'den; ($P<0.01$) grup 4, grup 5-6-7'den($P<0.01$); istatistiksel olarak oldukça anlamlı farklı bulunmaktadır. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Ratların son rezeke edilen KC ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.4).

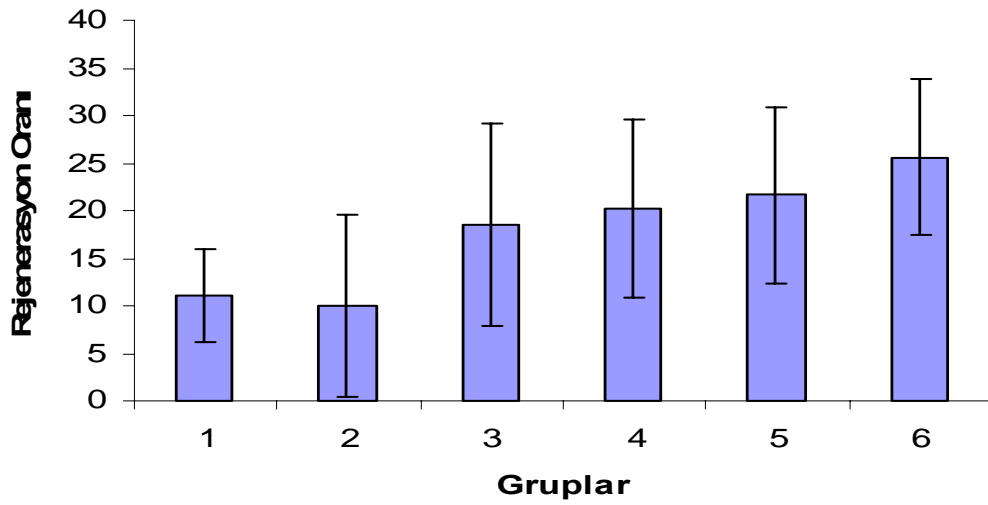


Şekil 4.4. Ratların son rezeke edilen Kc ağırlıklarının gruplara göre ortalama değerleri.

4.5. Rejenerasyon Oranı

Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların rejenerasyon oranlarında grup 2, grup 3'den($P<0.01$); grup 3 de grup 7'den($P<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmaktadır. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların rejenerasyon oranlarının gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların rejenerasyon oranlarının gruplara göre ortalama değerleri.

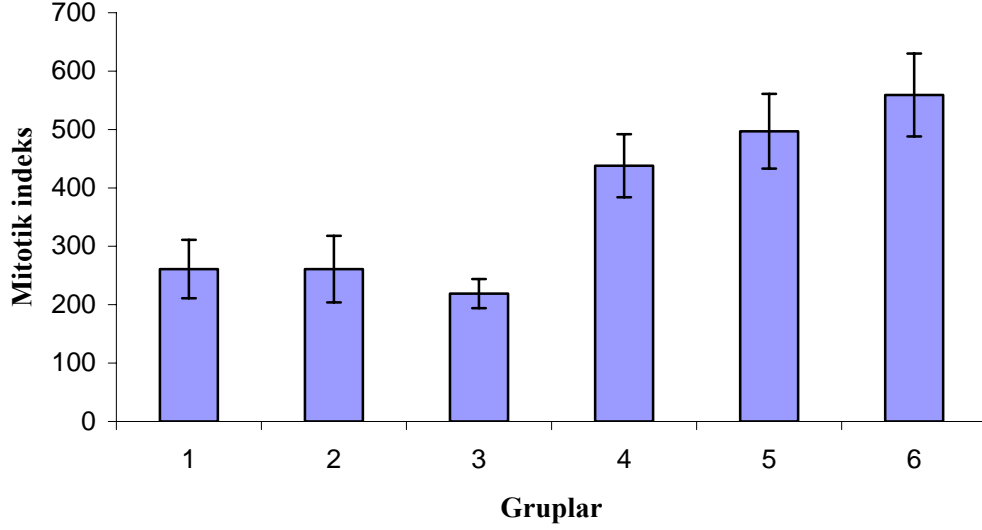
4.6. Mitotik İndeks

Parsiyel hepatektomi sonrası leptin ve serum fizyolojik uygulanan ratlardan elde edilen mitotik indeks değerleri aşağıda tablo halinde verilmiştir. (Örn Gr 2, 1. rat için $329/10000 = \% 3.3$ gibi)

Tablo 4.2. Ratlardaki mitotik indeks değerleri.

Grup	1. rat mit.ind.	2. rat mit.ind.	3. rat mit.ind.	4. rat mit.ind.	5. rat mit.ind.	6. rat mit.ind.	7. rat mit.ind.	8. rat mit.ind.
Grup 2	329	288	183	204	281	309	253	246
Grup 3	366	323	204	267	218	204	246	267
Grup 4	212	211	232	176	239	246	246	197
Grup 5	394	457	366	380	443	464	521	485
Grup 6	394	444	492	535	457	514	584	563
Grup 7	479	612	704	521	556	507	570	528

Parsiyel hepatektomi sonrası serum fizyolojik ve leptin uygulanan ratlardan elde edilen ortalama mitotik indeks değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (şekil 4.6 , Tablo 4.3).



şekil 4.6. Gruplar arası ortalama mitotik indeks değerlerinin dağılımı.

Parsiyel hepatektomi sonrası serum fizyolojik ve leptin uygulanan ratlardan elde edilen mitotik indeks değerleri aşağıda tablo halinde verilmiştir(mitotik indeks değerleri elde olunan değerlerin 10000'e bۆlünmesiyle elde edilir.).

Tablo 4.3. Parsiyel hepatektomi sonrası serum fizyolojik ve leptin uygulanan ratlardan elde edilen ortalama mitotik indeks değerleri.

Gruplar	n	Ort ± SD	GR2	GR3	GR4	GR5	GR6	GR7
GR2	8	261.63±50.25	-	ns	ns	***	***	***
GR3	8	261.88±57.95	ns	-	ns	***	***	***
GR4	8	219.88±25.30	ns	ns	-	***	***	***
GR5	8	438.75±54.30	***	***	***	-	ns	**
GR6	8	497.88±64.03	***	***	***	ns	-	ns
GR7	8	559.63±71.20	***	***	***	**	ns	-

ns = $P > 0.05$; ** = $P < 0.01$; *** = $P < 0.001$

(F= 53; $P < 0.001$)

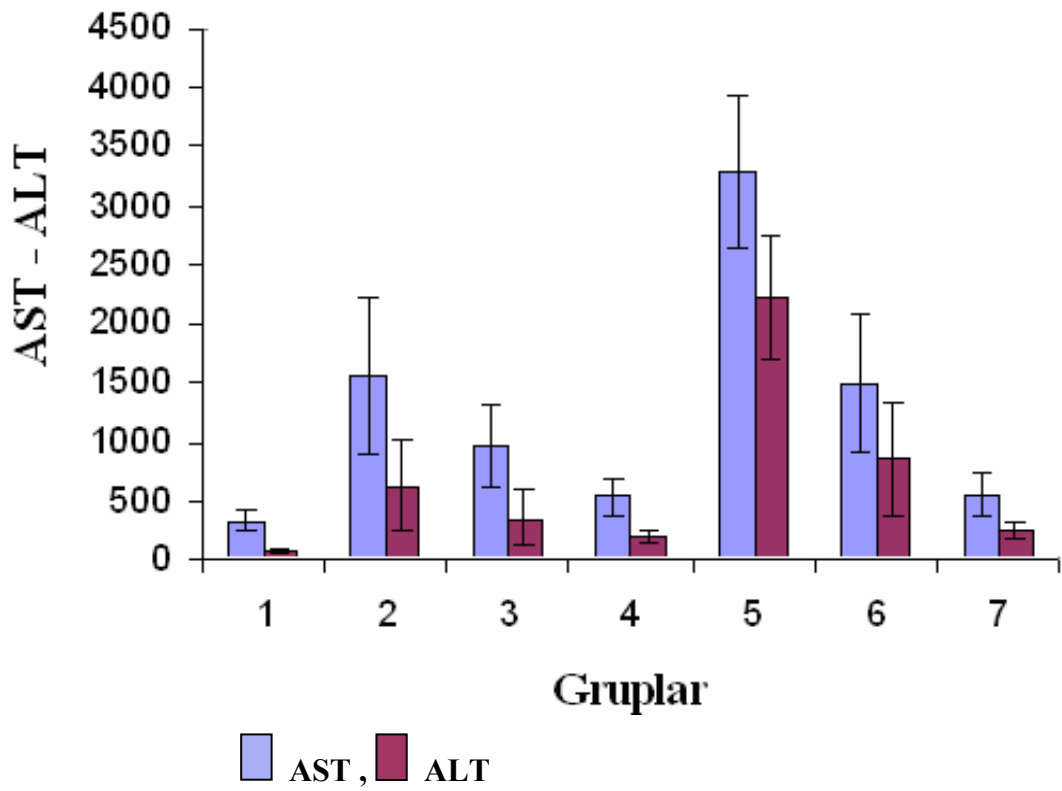
Gruplar arası mitotik indeks değerleri bakımından (istatistiksel) fark bulunmuştur.

4.7. AST – ALT

Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların AST değerlerinde, kontrol grubuyla(grup 1) diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı($p < 0.01$). Ayrıca grup 2, grup 4-5-7'den($p < 0.05$); grup 3, grup 4-5-7'den($p < 0.05$); grup 4, grup 2-3-5-7'den ($p < 0.05$); grup 5, grup 2-3-4-7'den($p < 0.05$); grup 6, grup 4-7'den($p < 0.05$); grup 7 de, grup 2-3-5-6'dan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi.

Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların ALT değerlerinde, kontrol grubuyla(grup 1), grup 5 diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi($p < 0.01$). Ayrıca grup 3, grup 4-6'dan($p < 0.01$); grup 4, grup 3-6'dan($p < 0.01$); grup 6, grup 3-4-7'den($p < 0.01$); grup 7 de, grup 5-6'dan($p < 0.01$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi.

Ratların AST – ALT değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri aşağıda şekil 4.7'de verilmiştir.

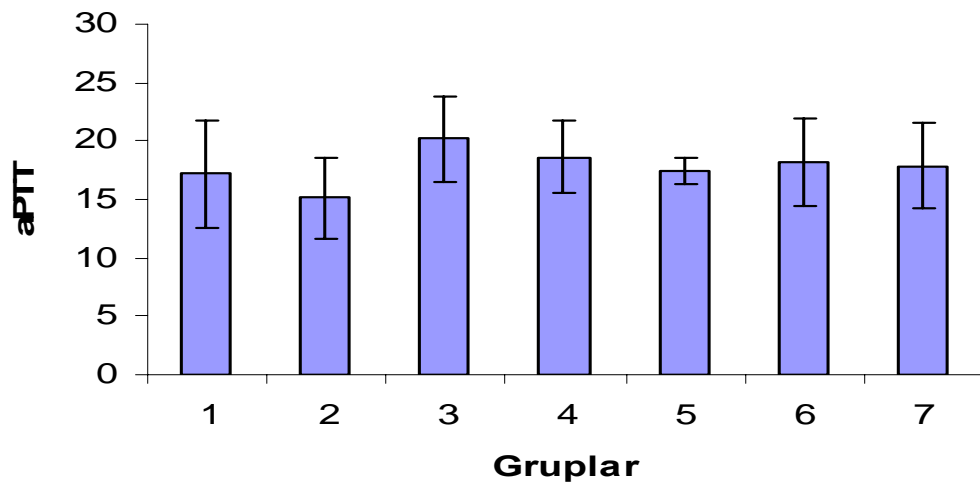


Şekil 4.7. Ratların AST – ALT değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri.

4.8. aPTT(sn)

Ratların aPTT değerlerinde gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($F=1,61 - p>0,05$).

Ratların aPTT değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.8).

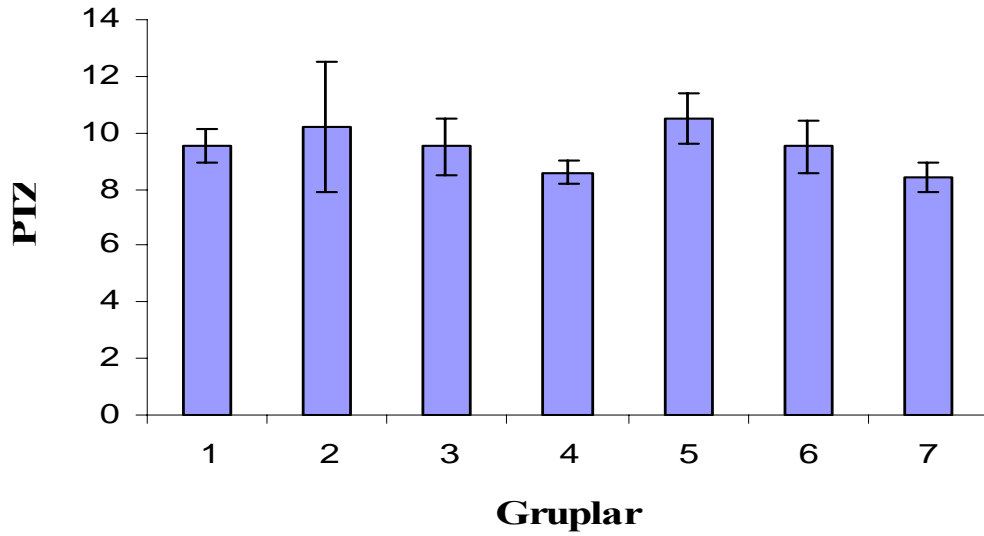


Şekil 4.8. Ratların aPTT değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri.

4.9. PTZ(sn)

Ratların PTZ değerlerinde grup 1, grup 4-5-7'den($P<0.05$); grup 2, grup 7'den($P<0.05$); grup 3, grup 4-5-7'den($P<0.05$); grup 4, grup 1-3-5-6'dan($P<0.05$); grup 5, grup 1-3-4-6-7'den($P<0.05$); grup 6, grup 4-5-7'den($P<0.05$); grup 7'de grup 1-2-3-5-6'dan($P<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi.

Ratların PTZ değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.9).

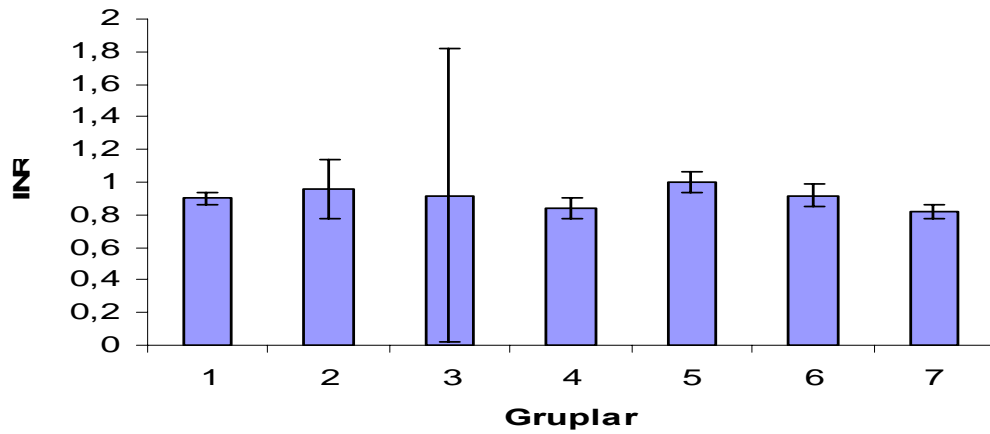


Şekil 4.9. Ratların PTZ değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri.

4.10. INR

Ratların INR değerlerinde grup 1, grup 4-5-7'den($P<0.05$); grup 2, grup 7'den($P<0.05$); grup 3, grup 4-5-7'den($P<0.05$); grup 4, grup 1-3-5-6'dan($P<0.05$); grup 5, grup 1-3-4-6-7'den($P<0.05$); grup 6, grup 4-5-7'den($P<0.05$); grup 7'de grup 1-2-3-5-6'dan($P<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi.

Ratların INR değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.10).

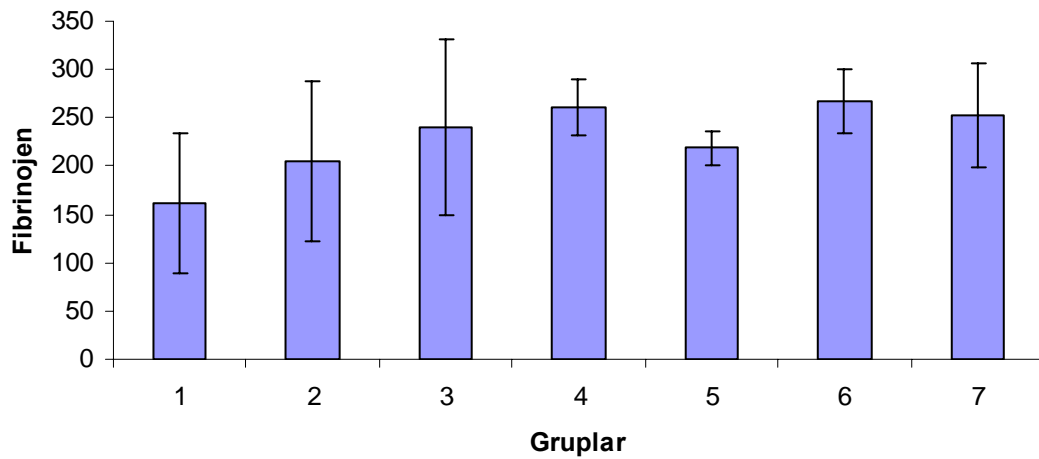


Şekil 4.10. Ratların INR değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri.

4.11. Fibrinojen

Ratların fibrinojen değerlerinde grup 1, grup 3-4-6'dan ($P < 0.05$); grup 3, grup 1-5'den ($P < 0.05$); grup 4, grup 1-5'den ($P < 0.05$); grup 5, grup 3-4-6'dan ($P < 0.05$); grup 6, grup 1-5'den ($P < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P > 0.05$).

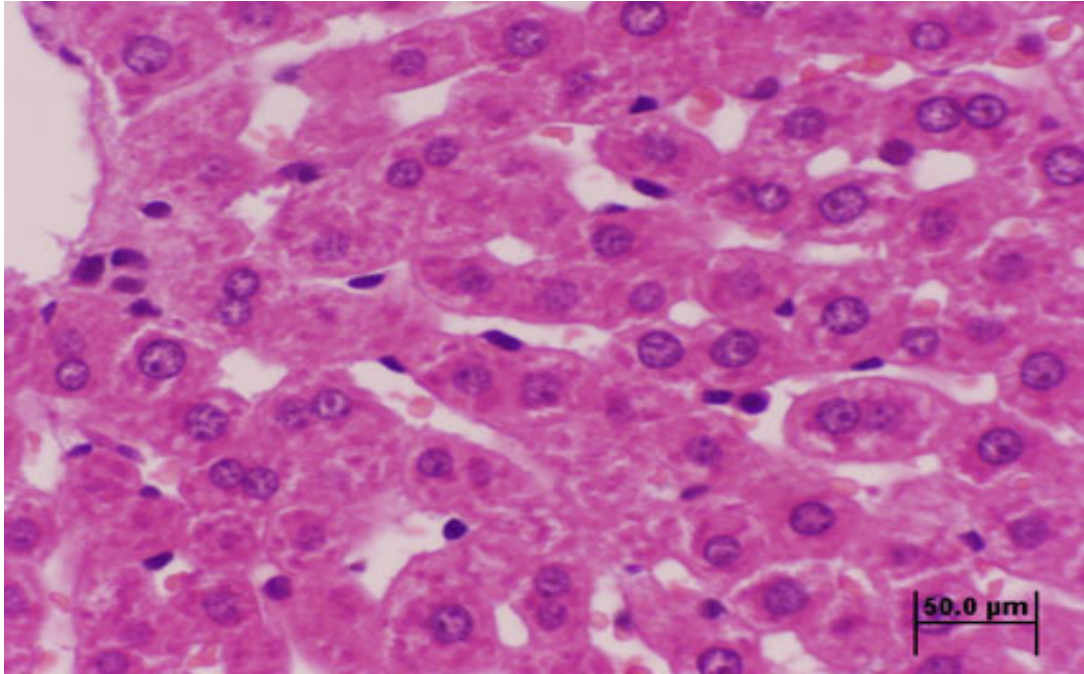
Ratların fibrinojen değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri aşağıda grafik halinde verilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Ratların fibrinojen değerlerinin gruplara göre ortalama değerleri.

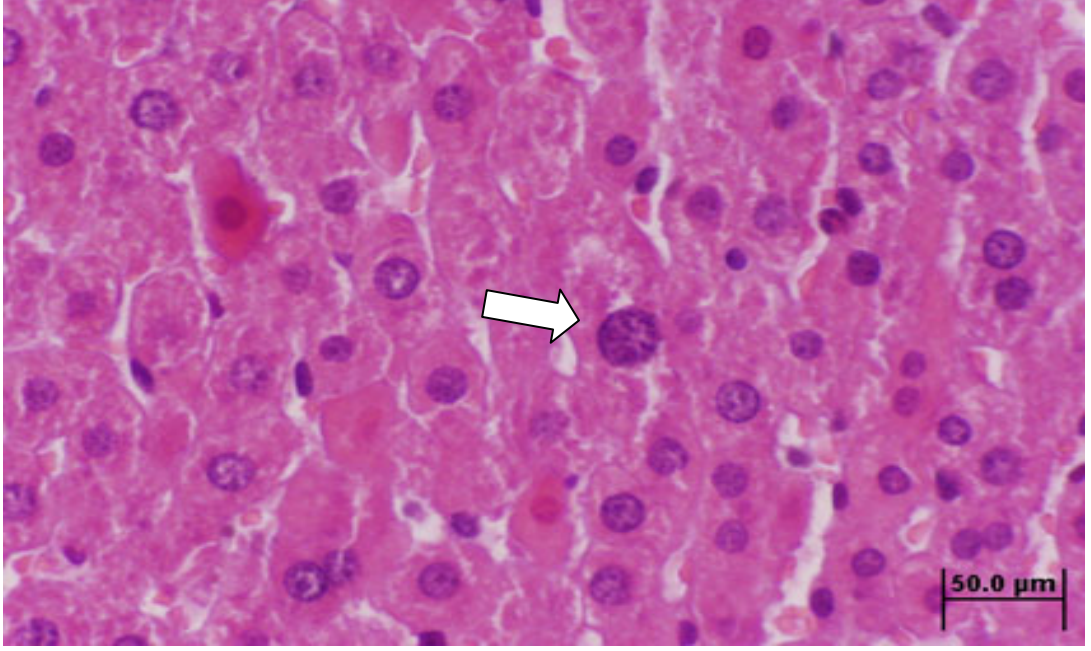
4.12.Histolojik Değerlendirme

Kontrol grubuna (Grup 1) ait hayvanların karaciğer kesitlerinde klasik karaciğer lobülünün ortasında yer alan vena santralis çevresinde, hepatositlerin ışınal tarzda düzenlenmiş kordonlar oluşturduğu gözlenmektedir (Şekil 4.12). Kordonlar arasında sinüzoidler yer almaktadır. Sinüzoidlerin duvarında endotel hücreleri ve *Kupffer* hücreleri gözlenmektedir. Lobüllerin birleşme alanlarında ise portal alanlar vardır. Hepatositlerin büyük ve yuvarlak şekilli bir ya da iki tane nükleusları bulunmaktadır. Mitoz aşamasındaki hücelere rastlanmamıştır.

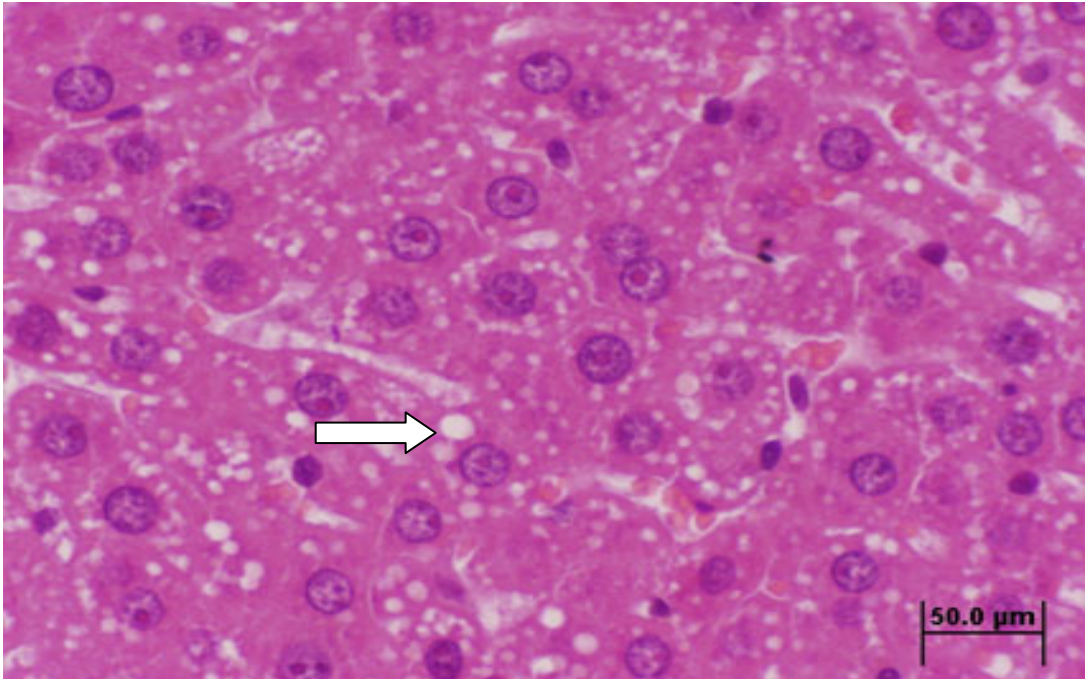


Şekil 4.12. Kontrol grubu hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena santralis çevresinde kordonlar şeklinde düzenlenmiş hepatositler. H-E.

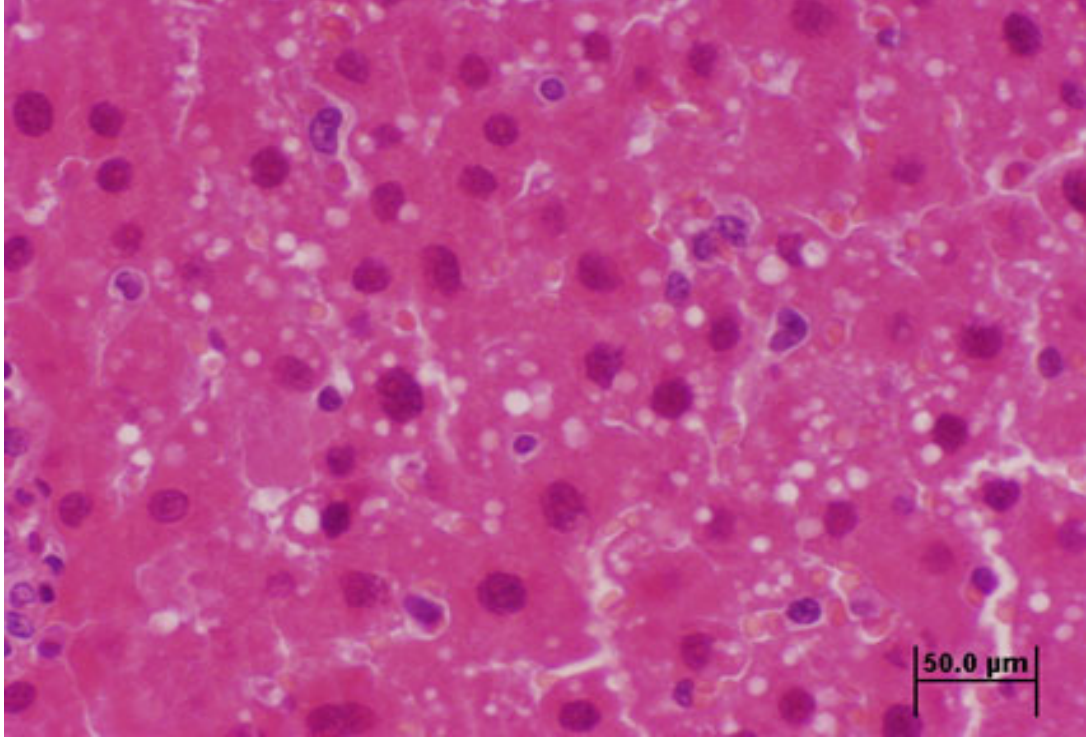
Parsiyel hepatektomi uygulanan(Grup 2) hayvanların 24.saatte alınan karaciğer kesitlerinde hepatositlerde replikasyonun yaygın olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.13). 48.saat örneklerinde(Grup 3) ise mitoz figürleri yanı sıra yaygın vakuolizasyon (Şekil 4.14). 72. saat örneklerinde(Grup 4) hepatositlerde mitozun devam ettiği gözlenmektedir (Şekil 4.15). Ayrıca parsiyel hepatektomi uygulanan gruplarda genellikle, kesitlerde kesi alanlarında polimorf nükleer hücre(PMNL) infiltrasyonu gözlenmektedir.



Şekil 4.13. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 24.saate ait karaciğer kesitlerinde yeni oluşan lobüllerde (→) replikasyon aşamasında ve eosinofilik sitoplazmalı hepatositler. H-E.

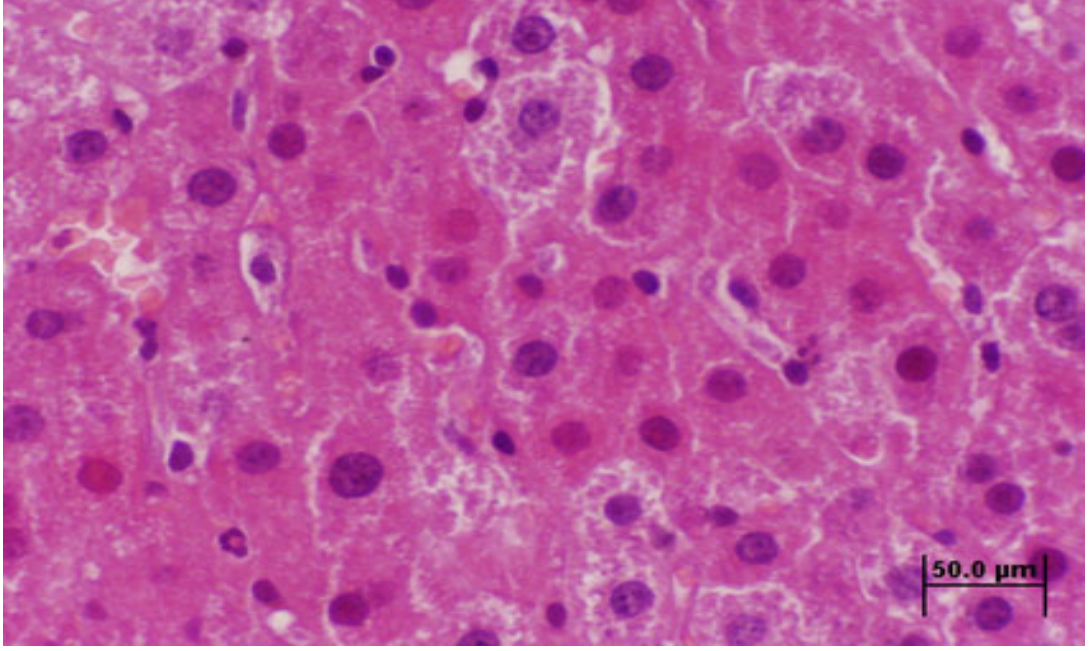


Şekil 4.14. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 48.saate ait karaciğer kesitlerinde hepatositlerde yaygın (→) vakuolizasyon . H-E.

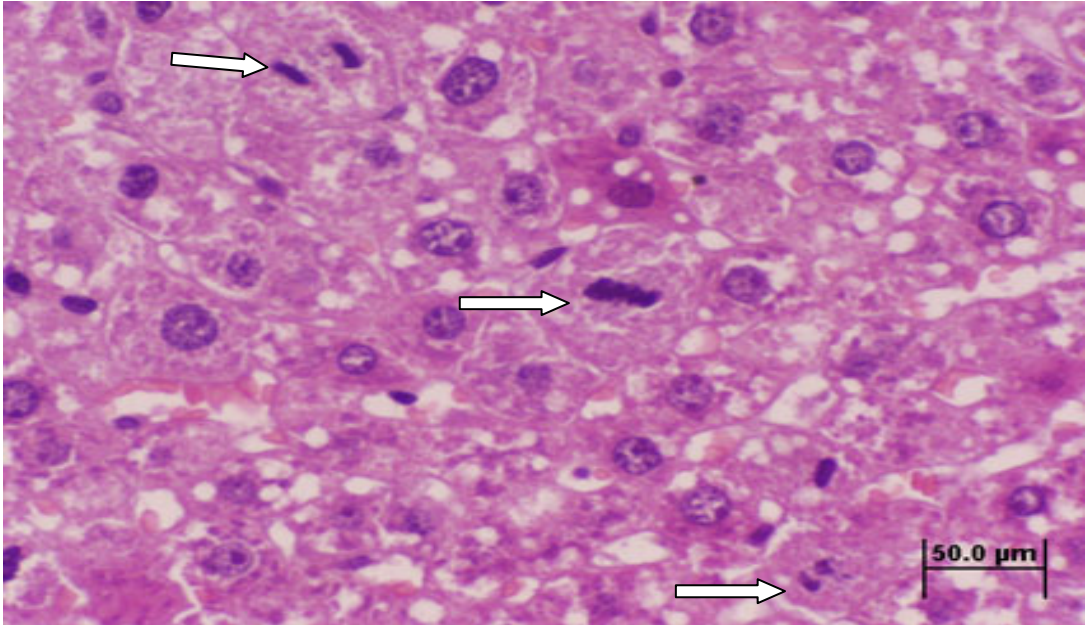


Şekil 4.15. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 72.saate ait karaciğer kesitlerinde yeni oluşan lobüllerde eosinofilik sitoplazmalı hepatositler. H-E.

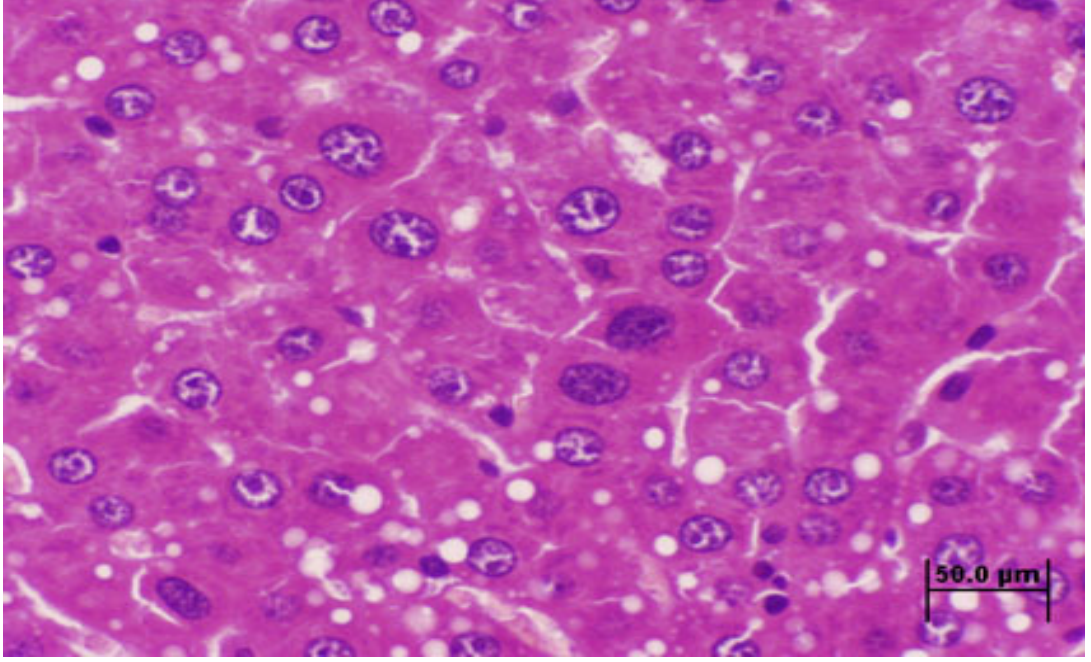
Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan grupların 24. saatine ait (Grup 5) karaciğer kesitlerinde replikasyonun oldukça yaygın olduğu (Şekil 4.16), 48.saate ait(Grup 6) karaciğer kesitlerinde mitozun değişik safhalarındaki hepatositlerin sayıca oldukça artmış olduğu gözlenmektedir (Şekil 4.17). 72.saate ait karaciğer kesitlerinde ise mitozun devam ettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.18). Leptin uygulanan tüm gruplarda hepatositlerde vakuolizasyonun kısmen azaldığı görülmüştür. Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan hayvanların bazılarında, kesi alanlarında PMNL infiltrasyonu gözlenmektedir.



Şekil 4.16. Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan hayvanların 24.saate ait karaciğer kesitlerinde yaygın replikasyon ve mitoz. H-E.



Şekil 4.17. Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan hayvanların 48.saate ait karaciğer kesitlerinde (→) mitozun değişik safhalarındaki hepatositler. H-E.



Şekil 4.18. Parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanların 72.saate ait karaciğer kesitlerinde yeni oluşan lobüllerdeki hepatositlerde mitoz ve azalmış vakuolizasyon. H-E.

5.TARTIŞMA

Karaciğer tüm sistemleri ilgilendiren önemli metabolik fonksiyonları olan bir organdır. Günümüzde karaciğer cerrahisi gerek preoperatif hazırlık gerekse postoperatif bakım ve komplikasyonları nedeniyle ancak büyük merkezlerde yapılabilmektedir.

Karaciğerin rejenerasyon özelliğinin incelenmesi hem patofizyolojik, hem de deneysel bakımdan ilgi odağı olmaktadır. Bunu araştırmak için oluşturulan deneysel modellerden bir tanesi, karaciğerin büyük bir kısmının cerrahi rezeksiyon ile çıkarılması ve bunun sonunda rejenerasyon aktivitesinin incelenmesidir. Bu durumda kalan karaciğer dokusunda, belirli zaman dilimlerinde rol alan hücre büyümesi, hepatosit proliferasyonunun durması ve karaciğer fonksiyonlarının tamamen restore edilmesi ile sonlanan bir dizi histolojik olay başlar(89, 90).

Karaciğerin 2/3' nin kaybından sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu sonuç, rezeke lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofisine bağlıdır. Karaciğer rezeksiyonu veya parsiyel hepatektomi karaciğer kütleini azaltır fakat az da olsa geride hasarlı hücreler bırakır. 2/3 parsiyel hepatektomi modelinde, sol ve medial loblar ligate edilip eksize edilir. Böylece karaciğerin %65-70'i eksize edilmiş olur. Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücresele hasarın eşlik etmediği pür karaciğer rejenerasyonu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu *invivo* rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubu hariç diğer tüm gruplardaki ratlara, *Higgins* ve *Anderson*'un tanımladığı şekilde % 70 hepatektomi yapıldı(57) ve hepatik rejenerasyonu değerlendirmek için *Micholopoulos* ve *De Frances*'in de belirttiği gibi en uygun modeli seçtiğimizi düşünüyoruz(60).

Leptin sentezi; enfeksiyon, endotoksin, TNF- α ve IL-1 gibi sitokinler tarafından stimüle edilir. Beslenme davranışı ve enerji balansını regüle etmesine ilaveten leptin'in sitokin düzeylerinin artışı sonucunda yükselmesi, inflamatuvar durumlarda anoreksi ve kilo kaybına katkıda bulunabilir (91).

Kronik ve akut KC hasarındaki mekanizmaları genel olarak inflamasyon, fibrojenik miyofibroblast aktivasyonu(*Hepatic stellate cells*), fibriler ekstrasellüler matriks depolanması ve muhtemel neo-anjiogenezisten oluşmaktadır(92). Bugüne kadarki verilere göre de leptin bu basamaklarda düzenleyici olarak yer almaktadır. Ayrıca leptin yapılan ölçümlerde KC hastalıklarında yüksek bulunmuştur(5).

Sierra-Honigmann ve ark. insan dolaşımında ve insan endotel hücre kültürlerinde yaptıkları çalışmada; leptin Ob/Rb reseptörlerinin endotel hücrelerinde bulunduğunu ve leptin'in rat korneasına verildiğinde anjiyogenetik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir(93). Literatürde daha birçok çalışma da leptinin anjiyogenetik aktivite gösterdiği bildirilmiştir(15-23-33-38-40-93-94).

Bu nedenle bu deneysel çalışmamızda; % 70 parsiyel hepatektomi uygulanan ratlarda intraperitoneal olarak uygulanan leptinin KC rejenerasyonu üzerine olan etkisini araştırdık.

Yapılan çalışmalarda karaciğer rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması için DNA sentezi ve mitoz sayısı, mitotik indeks, son karaciğer volümü, hücre proliferasyonu, ve mitokondrial aktivite gibi birçok marker kullanılmıştır(60). Gerdes ve ark. tarafından hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan monoklonal antikor tanımlanmıştır(74). Biz de çalışmamızda son KC volümü ve mitotik indeksi rejenerasyon kriteri olarak kullandık.

Ratların tahmini total KC ağırlıklarında sadece grup 2 ve grup 7 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı($F= 3.87$, $P< 0.01$). Bu değerler her ne kadar benzer seçilmeye çalışılsa da aradaki farkın, çalışmanın sonuçlarına etkisi olmayacağı kanaatindeyiz.

Ratların ilk rezeke edilen KC ağırlıklarında sadece grup 2 diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmaktadır($F=4.92$, $P< 0.001$). Bu değerlerin de her ne kadar benzer olması istenilse de, aradaki farkın çalışmanın sonuçlarını etkilemeyeceği kanaatindeyiz.

Xu ve arkadaşları(94) % 75 KC rezeksiyonu sonrası geride kalan KC dokusunda 3 gün sonra % 108.8 oranında artış olduğunu belirtmişlerdir. *Yamauchi H.* ve arkadaşlarının(95) yaptığı çalışmada da %70 parsiyel hepatektomi sonrası normal ratlardaki KC ağırlıkları, leptin yetmezlikli ratlara oranla belirgin derecede fazla bulunmuş ve bu nedenle de db/db sıçanlardaki %70 parsiyel hepatektomi, deneysel KC rejenerasyonunu değerlendirmek için en uygun model olarak

değerlendirilmiş. Çalışmamız da ise KC ağırlıklarında Gr 2' de % 29, Gr 3' de % 33, Gr 4' de % 46; leptin alan gruplar da ise Gr 5' de % 87, Gr 6' da % 162, Gr 7' de ise % 160 oranında artış olarak bulunmuş ve leptin alan gruplardaki KC ağırlıklarında ki artış leptin almayan gruplardaki KC ağırlıklarında ki artışa göre istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark mevcuttur($P<0.01$). Oysa ratların kalan tahmini KC ağırlıklarında grup 3; grup 2-6-7'den istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmaktaydı($P<0.05$) ve diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktaydı($p>0.05$).

Parsiyel hepatektomi uygulanan ratların rejenerasyon oranlarına bakıldığında ise leptin alan grupların rejenerasyon oranları yüksek olmasına karşın; sadece grup 3 grup 7'den($P<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu. Ayrıca leptin almayan gruptaki grup 2, grup 3'den istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu($P<0.01$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Mitotik hücreler normal durumlarda pek gözlemlenmezken, hepatektomiyi takiben 24 ile 48 saat sonra sıklıkla gözlemlenir(96, 97). Çalışmamızda grup 1' de mitoz aşamasındaki hücelere rastlanmamıştır(Şekil 4.12). Parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan grupların 24. saatine ait (grup 5) karaciğer kesitlerinde replikasyonun oldukça yaygın olduğu (Şekil 4.16), 48.saate ait(grup 6) karaciğer kesitlerinde mitozun değişik safhalarındaki hepatositlerin sayıca oldukça artmış olduğu gözlemlendi(Şekil 4.17). 72.saate ait karaciğer kesitlerinde ise mitozun devam ettiğini gözlemledik(Şekil 4.18). Mitotik indeks ise bir hücre topluluğunda mitozu uğrayan hücre sayısının, toplam hücre sayısına oranıdır(97). *Selzner* ve arkadaşları(97) 24 ve 48. saat mitotik indeks değerlerini sırasıyla % 2 ve % 3, Akcan A. ve arkadaşları da(98) sırasıyla % 2,6 ve % 6,4 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da ise 24. saat leptin almayan grupta((grup 2) mitotik indeks % 2,6 leptin alan grupta(grup 5) ise mitotik indeks % 4.4'dı ve aralarında istatistiksel olarak çok anlamlı bir fark saptandı($p<0,001$). 48. saat leptin almayan grupta((grup 3) mitotik indeks % 2,6 leptin alan grupta(grup 6) ise mitotik indeks % 5'di ve aralarında istatistiksel olarak çok anlamlı bir fark saptandı($p<0,001$). 72. saat leptin almayan grupta(grup 4) mitotik indeks % 2,2 leptin alan grupta(grup 7) ise mitotik indeks % 5,6'dı ve aralarında istatistiksel olarak çok anlamlı bir fark

saptandı($p<0,001$). Bu sonuçlar *Selzner*(97) ve arkadaşlarının sonuçlarından biraz daha yüksek, *Akcan A.*(98) ve arkadaşlarının sonuçlarına ise benzerdir.

Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Karaciğerde hücre yıkımını gösteren en güvenilir parametrelerden birisi ALT düzeyidir(58). Bizim çalışmamızda tüm gruplarda yapılan %70 hepatektomi ALT ve AST düzeylerinin yüksek olmasında etken olmuştur; kontrol grubuyla(grup 1) diğer tüm gruplar arasında AST ve ALT değerleri bakımından istatistiksel olarak oldukça anlamlı farklılık saptandı($p<0.01$).

Çalışmamızda leptin alan gruplardaki(Gr5-Gr6) AST ve ALT değerleriyle leptin almayan gruplardaki(Gr2-Gr3) AST ve ALT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı($p<0.05$); leptin alan gruplardaki(Gr5-Gr6) AST ve ALT değerleri daha yüksekti. Ancak 72. saat'deki leptin alan(Gr 7) ve almayan(Gr 4) gruplardaki AST ve ALT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.($p>0.05$) Bu sonuç leptinin amrinone ve metformin ile yapılan çalışmaların aksine, erken dönemde kullanılmasının hücresel hasarı önleyemediğini düşündürülebilir(98, 99). Ancak leptin uygulanan tüm gruplarda hepatositlerde vakuolizasyonun kısmen azaldığı ve bu şekilde hepatositlerin korunduğu düşünülmektedir, leptin almayan 48.saat örneklerinde(grup 3) ise mitoz figürleri yanı sıra yaygın vakuolizasyon izlenmekteydi(Şekil 4.14). Bunun yanında parsiyel hepatektomi yanı sıra leptin uygulanan hayvanların bazılarında, kesi alanlarında PMNL infiltrasyonu gözlenmektedir(Resim 4.18). AST ve ALT düzeylerindeki bu artış leptinin antioksidan özelliği ile KC mikrozomal sitokrom P-450 sistemiyle etkileşimine bağlanabilir. *Fruchbeck* ve arkadaşları iv leptin enjeksiyonunun doza bağlı olarak normotansif *Wistar* ratlarda plazma nitrit/nitrat konsantrasyonlarını arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca parsiyel hepatektominin erken sonuçlarından bir tanesinin de NO konsantrasyonlarında artma olduğu önceki yayınlarda belirtilmiştir. Leptinin bilinen bu nitrik oksiti artırıcı etkisi direkt olarak leptine veya leptinin diğer fizyolojik etkilerine sekonder olarak oluşabilir. Leptinin ilginç olarak, uzun zincirli helikal sitokin ailesine yapısal benzerliği gösterilmiştir ve bugüne kadar sitokin varlığı ile indüklenen arjinin-NO yolu ile ilgili çok sayıda çalışma gösterilmiştir. Alkol verilen ratlara ekzojen olarak leptin verilmesi süperoksit ve serbest NO radikalleri arasında etkileşime yol açarak peroksinitrit oluşumuna yol açar. Daha

sonra nitrik oksit spontan ve hızlı bir şekilde moleküler oksijen ile reaksiyona girerek nitrojen dioksit (NO₂), dinitrojen trioksit (N₂O₃) gibi nitrik oksit türevleri oluşur. Bu radikaller hücre membranlarında hasar yaparak KC enzimlerindeki artışın sebebi olabilir. Artmış oksidatif stres KC dokusunda değişiklikle sonuçlanır(98-100).Çalışmamızdaki tüm gruplarda 72. saat'deki AST ve ALT değerleri düşmüştür.

Hepatik rezeksiyon sonrası KC fonksiyonlarında azalmaya bağlı olarak koagülasyon defektleri oldukça sıktır. Hepatektomize tavşanlarda yapılan ölçümlerde kan fibrinojen seviyeleri progresif olarak düşük bulunmuştur. Parsiyel defibrinasyon değişmez sonuçtur ve bu kan fibrinojen seviyesindeki düşüşden önce meydana gelir ve daha sonra hafif derecede artar. KC'i olmayan tavşanlarda fibrinojen rejenerasyonuna ait herhangi bir kanıt bulunamamıştır. Buradan da fibrinojenin tek kaynağının KC olduğu sonucuna ulaşılmış. Bu yüzden fibrinojeni KC sentez yeteneğini değerlendirme de bir parametre olarak kullanabiliriz(95). Çalışmamızda fibrinojen düzeylerinde; leptin alan gruplar ile almayan gruplar arasında çok anlamlı fark saptanmadı. Sadece kontrol grubu grup 3, 4 ve 6'dan anlamlı olarak farklı saptandı(P<0.05).

Hepatektomi sonrası hepatosellüler disfonksiyon yetersiz protrombin sentezine bağlı olabilir. Protrombin preoperatif dönemde cerrahiye karar verme parametresi olarak kullanılabilirken, postoperatif dönem de ise parankimal hasarın derecesini ve prognozu değerlendirme de kullanılabilir(76, 101-104). PTZ hepatik rejenerasyonu değerlendirme de önemli bir parametredir(101-104) ve leptin alan gruplardaki PTZ değerleri leptin almayan gruplara göre 72. st(Gr 4) hariç istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi. Ratların aPTT değerlerinde gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır(F=1,61 - p>0,05). Bu sonuçlar bize leptinin hepatik rezeksiyon sonrası sınırlı hepatik rezervi olan hastalar da kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak leptinin erken dönemde kullanılması biyokimyasal parametreler açısından hücresel hasarı önleyememiştir. Ancak histopatolojik veriler % 70 hepatektomize ratlarda intraperitoneal leptin uygulanmasının KC rejenerasyonunu arttırdığını göstermektedir. Bu nedenle hepatik rezervi sınırlı hastalarda kullanılabilirdiği düşünülebilir ancak leptinin koagülasyon mekanizması ve

hepatositler üzerine etkilerinin açıklanması için daha fazla randomize çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1- Geride kalan KC ağırlıklarında leptin alan gruplardaki KC ağırlıklarında ki artış leptin almayan gruplardaki KC ağırlıklarında ki artışa göre istatistiksel olarak oldukça anlamlı farklı bulunarak yüksek tespit edildi($P<0.01$).

2- Leptin alan gruplardaki mitotik indeks değerleri, aynı saatte leptin kullanılmayan diğer gruplara göre istatistiksel olarak çok anlamlı bir fark saptanarak($p<0,001$) yüksek tespit edildi.

3- Tüm gruplarda yapılan %70 hepatektomi ALT ve AST düzeylerinin yüksek olmasında etken olmuştur.

4- Kontrol grubuyla(grup 1) diğer tüm gruplar arasında AST ve ALT değerleri bakımından istatistiksel olarak oldukça anlamlı farklılık saptandı($p<0.01$).

5- Leptin alan gruplardaki(Gr5-Gr6) AST ve ALT değerleriyle leptin almayan gruplardaki(Gr2-Gr3) AST ve ALT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı($p<0.05$); leptin alan gruplardaki AST ve ALT değerleri daha yüksekti.

6- 72. st'deki leptin alan(Gr 7) ve almayan(Gr 4) gruplardaki AST ve ALT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı($p>0.05$). Tüm gruplarda 72. st'deki AST ve ALT değerleri düşük olarak tespit edildi.

7- Ratların aPTT değerlerinde gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır($F=1,61 - p>0,05$).

8- Leptinin parsiyel KC rezeksiyonu yapılan ratlarda klinik ve histopatolojik açıdan, KC rejenerasyonunu arttırdığı tespit edildi.

9- Bu sonuçlar bize leptinin hepatik rezeksiyon sonrası sınırlı hepatik rezervi olan hastalar da kullanılabileceğini göstermektedir ancak leptinin koagülasyon mekanizması ve hepatositler üzerine etkilerinin açıklanması için daha fazla randomize çalışmaya ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y et al. Human liver regeneration after major hepatic resection. *Ann Surg* 1987;206:30-9.
- 2- Ali Uzunköy, İlyas Özardalı, Abdurrahim Koçyiğit, Ali Coşkun, Ö Faruk Akıncı. Hepatektomi Yapılan Ratlarda Ranitidin, Famotidin ve Omeprazolün Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisi: *Ulusal Cerrahi Dergisi* 1999;15(3):143-148
- 3- Wheatley J, Rosenfield NS, Berger L et al. Liver regeneration in children after major hepatectomy for malignancy. *J Surg Res* 1996;61:183-189.
- 4- Perek S, Kapan S, Ed:Değerli Ü,Bozfakıoğlu Y. *Cerrahi Gastroenteroloji*. s.194-208. 5. Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2000.
- 5- <http://www.obezitecerrahisi.com/index.htm> ISSN 0960-8923, Online ISSN: 1708-0428 [04/03/2007]
- 6- Koerner A, Kratzsch J and Kiess W. Adipocytokines: leptin-the classical, resistin-the controversial, adiponectin-the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19: 525-546.
- 7- Giamila Fantuzzi and Raffaella Faggioni. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology*. 2000;68:437-446.
- 8-<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/bodyweight/leptin.html> [07/04/2007]
- 9- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994; 372: 425-32
- 10- Murphy Je, Zhou S, Giese K et al.: Long-term correction of obesity and diabetes in genetically obese mice. *Curr. Opin. Pharmacol.* (2003) 3(6):655-659.

- 11-** WK Samson, TC Murphy, D Robison, T Vargas, E Tau and JK Chang. A 35 amino acid fragment of leptin inhibits feeding in the rat. *Endocrinology*, Vol 137, 5182-5185.
- 12-** Halaas J L, Gajiwala K S, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *J Biol Chem*, 1996; 271 (8): 3971-3974
- 13-** Michael D Jensen, Niels Møller, K Sreekumaran Nair, Paul Eisenberg, Michael Landt and Samuel Klein. Regional leptin kinetics in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 69, No. 1, 18-21, January 1999
- 14-** Friedman JM, Halas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-770.
- 15-** Kemal Aslan, Zehra Serdar, H. Asuman Tokullugil. Multifonksiyonel Hormon: Leptin. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 30 (2) 113-118, 2004
- 16-** C. S. Mantzoros The Role of Leptin in Human Obesity and Disease: A Review of Current Evidence *Ann Intern Med*, April 20, 1999; 130(8): 671 – 680
- 17-** R. Ishida-Takahashi, S. Uotani, T. Abe, M. Degawa-Yamauchi, T. Fukushima, N. Fujita, H. Sakamaki, H. Yamasaki, Y. Yamaguchi, and K. Eguchi. Rapid Inhibition of Leptin Signaling by Glucocorticoids in Vitro and in Vivo. *J. Biol. Chem.*, May 7, 2004; 279(19): 19658 - 19664.
- 18-** Rexford S. Ahima and Jeffrey S. Flier' Leptin. *Annu Rev. Physiol*, 2000; 62: 413-437.
- 19-** Ahima RS, Osei SY. Leptin signaling. *Physiol & Behavior*. 2004 Apr; 81 (2): 223-241
- 20-** K. Patel, A. Muir, J. G. McHutchison, and H. M. Patton. A link between leptin and steatosis in chronic hepatitis C? Time to weigh up the fats. *American Journal of Gastroenterology* Volume 98 Issue 5 Page 952 - May 2003
- 21-** V. Sanchez-Margalet, C. Martin-Romero, J. Santos-Alvarez, R. Goberna, S. Najib & C. Gonzales-Yanes. Role of leptin as an immunomodulator of blood

- mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol*, 2003; 133: 11-19
- 22-** Mantzoros, CS The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med* 1999;130,671-680
- 23-** Wallace AM. Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 244-252.
- 24-** Rexford S, Ahima and Suzette Y. Osei. Leptin signaling. *Physiology & Behavior*, 2004; 81: 223-241
- 25-** Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269: 540-543.
- 26-** Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J. Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J Clin Invest* 1996; 98:1277-82
- 27-** Dali Chen and Abhimanyu Garg. Monogenic disorders of obesity and body fat distribution. *J. Lipid Res.* 1999 40: 1735-1746.
- 28-** http://www.swegene.org/Swegene_membrane_proteins_eng.php?Id=26&kommer_fran=admin&Openerreload=true [09/03/2007]
- 29-** <http://learn.md.huji.ac.il:1050/hujistudent/Default.asp> [08/03/2007]
- 30-** Montague CT, Farooqui S, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-908.
- 31-** <http://www.google syndicated search.com/u/KingsLondon?query=leptin> [11/03/2007]
- 32-** Auwerx J, Staels B. Leptin [review article]. *Lancet* 1998; 351: 737-742.
- 33-** Lu HUANG and Cai LI. Leptin: a multifunctional hormone. *Cell Research* (2000) 10, 81-92. doi:10.1038/sj.cr.7290038
- 34-** Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters RD, Boone T, Collins F. 1995 Effect of obese gene product on body weight regulation in ob/ob

- mice. *Science* 269:540–543
- 35-** Graham M. Lord, Giuseppe Matarese, Jane K. Howard, Richard J. Baker, Stephen R. Bloom and Robert I. Lechler. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, 1998; 394: 897-901
- 36-** L. Steinman, P. Conlon, R. Maki, and A. Foster. The intricate interplay among body weight, stress, and the immune response to friend or foe. *J. Clin. Invest.*, January 15, 2003; 111(2): 183 - 185.
- 37-** Matarese G, La Cava A, Sanna V, Lord GM, Lechler RI, Fontana S, Zappacosta S. Balancing susceptibility to infection and autoimmunity: a role for leptin? *Trends Immunol*, 2002; 23 (4): 182-187
- 38-** Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue:anatomic,metabolic and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 1997;4: 211-32
- 39-** Anne Bouloumié, Hannes C. A. Drexler, Max Lafontan, , Rudi Busse. Leptin, the Product of Ob Gene, Promotes Angiogenesis. *Circ Res*, 1998; 83: 1059-1066
- 40-** M. Rocío Sierra-Honigmann, Anjali K. Nath, Chiaki Murakami, Guillermo García-Cardena, Andreas Papapetropoulos, William C. Sessa, Lisa A. Madge, Jeffrey S. Schechner, Michael B. Schwabb, Peter J. Polverini, and Jaime R. Flores-Riveros. Biological Action of Leptin as an Angiogenic Factor. *Science*, 1998; 281: 1683-1686
- 41-** Riad-Gabriel MG, Jinagouda SD, Sharma A, Boyadjian R, Saad MF. Changes in plasma leptinduring the menstrual cycle. *Eur J Endocrinol* 1998;139: 528-31
- 42-** Kenichi Ikejima, Kyoko Okomura, Tie Lang, Hajime Honda, Wataru Abe, Shunhei Yamashina, Nobuyuki Enomoto, Yoshiyuki Takei, Nobuhiro Sato. The role of leptin in progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Hep. Res.* 33

- (2005) 151-154.
- 43-** Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang YJ, Lang T, Fukuda T, Yamashina S, Kitamura T, Sato N. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology*. 2002 May;122(5):1399-410
- 44-** Leclercq IA, Field J, Farrel GC. Leptin-specific mechanisms for impaired liver regeneration in ob/ob mice after toxic injury. *Gastroenterology* 2003 May;124(5):1451-64.
- 45-** Leclercq IA, Vansteenbergh M, Lebrun VB, VanHul NK, Abarca-Quinones J, Sempoux CL, Picard C, Stärkel P, Horsmans YL. Defective hepatic regeneration after partial hepatectomy in leptin-deficient mice is not rescued by exogenous leptin. *Lab Invest*. 2006 Nov;86(11):1161-71. Epub 2006 Sep 18.
- 46-** Ratych RE, Smith GW. Anatomy and physiology of the liver. GD Zuidema. (Ed). *Shackelford's Surgery Of The Alimentary Tract*. Fourth ed. Philadelphia: Saunders, 1996: Vol.3;357-73.
- 47-** İwatsuki S, Shaw BW Jr, Starzi TE. Experience with 150 liver resections. *Ann Surg* 1983;197:247-252.
- 48-** Batman F, Arslan S. Karaciğer fizyolojisi ve fonksiyon testleri. *Sayek Temel Cerrahi* 2. Baskı, Ankara güneş yayınevi, 1996:1205-17.
- 49-** Emre A, Kalaycı G. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi. *Genel Cerrahi Cilt 2* 2002;1083-1090.
- 50-** Bismuth H, Houssin D, Castaing D. Major and minor segmentectomies reglees in liver surgery. *World J Surg* 1982;6:10-17.
- 51-** Nuzzo G, Giuliante F, Giovannini I, Tebala GD, Cosmo G. Hepatic resections in normothermic ischemia. *Surgery* 1996;120(5): 852-858.
- 52-** Schaffner F. Structural and functional aspects of regeneration of human liver.

Dig Dis Sci 1991;36:1282-6

- 53-** 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.
- 54-** Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA, et al. A hundred years of the hepatotrophic controversy. *Ciba Found Symp* 1977;111-129.
- 55-** Diehl AM, Rai R. Review: regulation of liver regeneration by proinflammatory cytokines. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:466-470.
- 56-** Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. *Arch Surg* 2000;135:1353-1358.
- 57-** Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following surgical removal. *Arch Pathol* 1931;12:186-206.
- 58-** 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; 16:1485-92.
- 59-** Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology* 1992;15:149-55.
- 60-** Michalopoulos GK, De Frances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66.
- 61-** Lindroos PM, Zornegor R, Michalopoulos GK. Hepatocyte growth factor (Hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology* 1991;13:743-50.
- 62-** 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.
- 63-** Kinoshita T, Tashiro K, Nakamura T. Marked increase of HGF mRNA in nonparanchymal liver cells of rats treated with hepatotoxins. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165:1229-34.
- 64-** Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanism of growth control. *Faseb J* 1990;4:176-87.
- 65-** Noguchi S, Ohba Y, Oka T. Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Endocrinol* 1991;128:425-31.
- 66-** 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.
- 67-** Francavilla A, Polimeno L, Barone M et al. Hepatic regeneration and growth factors. *J Surg Oncol* 1993,13:1-7.
- 68-** LaBrecque DR, Steele G, Fogerty s et al. Purification and physical-chemical characterisation of hepatic stimulator substance. *Hepatology* 1987;7:100-6.
- 69-** Van Thiel DH, Stauber R, Gavalier JS et al. Hepatic regeneration. Effects of age, sex hormone status, prolactine and cyclosporine. *Dig Dis Sci* 1991;36:1309-12.
- 70-** Svonos GW, Eagon PK, Elm M et al. Effect of antiandrogen flutamide on measures of hepatic regeneration in rats. *Dig Dsi Sci* 1989;34:1916-23.
- 71-** Ekberg S, Luther M, Nakamura T et al. Growth hormone promotes early initiation of hepatocyte growth factor gene expression in the liver of hypophysectomised rats after partial hepatectomy. *J Endocrinol* 1992;135:59-67.
- 72-** Goss JA, Mangino MJ, Callery MP et al. Prostaglandin E2 down regulates kupffer cell production of IL-1 and IL-6 during hepatic regeneration. *Am J Physiol* 1993;601-8.

- 73-** Tsujii H, Okamoto Y, Kikuchi E et al. Prostaglandin E2 and liver regeneration. *Gastroenterology* 1993;105:495-9.
- 74-** 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.
- 75-** 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.
- 76-** Şaylı BS. Medikal Genetik. Sodeman's Pathologic Physiology. Türkçe 1. Baskı. Türkiye Klinikleri Yayınevi. 1991:73-77.
- 77-** La Brecque DL, Feigenbawn A, Bachur NR. Diurnal rhythm: Effects on hepatic regeneration and hepatic regenerative stimulator substance. *Science* 1978;199:1082-1084.
- 78-** 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.
- 79-** 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.
- 80-** 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.
- 81-** De Sequra AG, Aguilera MJ, Codesal J, Codoceo R, De-Miguel E. Comparative effects of growth hormone in large and small bowel resection in the rat. *J Surg Res* 1996;62:5-10.

- 82-** 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(1): 107-113.
- 83-** Kallioniemi OP, Blanco G, Alavaikko M, Hietanen T, Mattila J. Improving the prognostic value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA index and S-phase fraction. *Cancer* 1988;62:2183-2190.
- 84-** Chow PKH, Jeyaraj P, Tan SY, Cheong SF, Soo KC. Serial ultrasoundguided percutaneous liver biopsy in a partial hepatectomy porcine model: a new technique in the study liver regeneration. *J Surg Res* 1997;70:134-137.
- 85-** 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(5): 917-923.
- 86-** Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R, Dieterich H, Feichter GE. MIB-1 (Ki-67) immunostaining cancer cells in cytologic smears. *Acta Cytol* 1997;41 (2):229-237.
- 87-** 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(2):421-428.
- 88-** F.C. Fishback, A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal, *Arch. Pathol.* 7 (1929), p. 956.
- 89-** Hortelano S, Dewez B, Genaro A, Diaz Guerra MJ, Boşça L. Nitric oxide is released in regenerating liver after partial hepatectomy. *Hepatology* 1995;21(3):776-786
- 90-** Sarraf P, Frederich RC, Turner EM, Ma G, Jaskowiak NT, Rivet DJ 3rd, et al.
- 91-** Nelson Fausto. Liver regeneration. *Journal of Hepatology* 2000; 32(suppl. 1): 19-31
- 92-** Sierra-Honigman MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G,

- Papapetropoulos A, Sessa WC, et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683-6.
- 93-** Ahima RS, Osei SY. Molecular regulation of eating behavior: new insights and prospects for therapeutic strategies. *Trends Mol Med.* 2001 May;7(5):205-13.
- 94-** Xu HS, Rosenlof LK, Jones RS. Bile secretion and liver regeneration in partially hepatectomized rats. *Ann Surg* 1993;218(2):176-182.
- 95-** Yamauchi H, Uetsuka K, Okada T, Nakayama H, Doi K. Impaired liver regeneration after partial hepatectomy in db/db mice. *Exp Toxicol Pathol.* 2003 Mar;54(4):281-6.
- 96-** S. Laconi, F. Curreli, S. Diana, D. Pasciu, G. De Filippo, D.S.R. Sarma and P. Pani, Liver regeneration in response to partial hepatectomy in rats treated with retrorsine A kinetic study, *J. Hepatol.* 31 (1999), p. 1069.
- 97-** M. Selzner and P.A. Clavien, Failure of regeneration of the steatotic rat liver
- 98-** Alper Akçan, Can Kucuk, Engin Ok, Ozlem Canoz, Sebahattin Muhtaroglu, Namik Yilmaz and Zeki Yilmaz. The Effect of Amrinone on Liver Regeneration in Experimental Hepatic Resection Model. *J. Surg. Research* 2006:130, 66-72
- 99-** Torlak O. A. Ratlarda nonalkolik yağlı karaciğerde rezeksiyon sonrası metforminin karaciğer rejenerasyonuna etkisi(Deneysel çalışma). Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütüf Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul,2001
- 100-** V. Balasubramaniyan, J. Kalaivani Sailaja and N. Nalini. Role of leptin on alcohol-induced oxidative stress in Swiss mice. *Pharmacological Res.* 47. 3. (2003) p. 211-216
- 101-** Angela M. Watson, Samuel M. Poloyac, Georgette Howard, and Robert A. Blouin. Effect of Leptin on Cytochrome P-450, Conjugation, and Antioxidant Enzymes in the ob/ob Mouse. 1999; 27: 695-700

- 102-** Sonsoles Hortelano, Beatrice Dewez, Ana M. Genaro, María J. M. Díaz-Guerra, Lisardo Bosca. Nitric oxide is released in regenerating liver after partial hepatectomy. *Hep.* 2005 Dec; 21(3): 776-786
- 103-** Farinati F, Pengo V, Bassi N, Naccarato R, D'Amico D. Monitoring liver regeneration after right hepatectomy. *Ital J Surg Sci.* 1985;15(1):75-7.
- 104-** R. H. Rixon, P. R. Walker, J. F. Whitfield. Fibrinolysis and liver regeneration. *Journal of cellüler physiology.* 2005 Feb; 92(1): 13-21