

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FÖTAL SIÇAN HEPATOSİT SÜSPANSİYONUNUN  
ALLOGRAFTİK ERİŞKİN DALAK PARANŞİMİNE  
TRANSPLANTASYONU**

DOKTORA TEZİ

*Hazırlayan*

Dr.T.Murad AKTAN

T 54871

*Danışman*

Prof.Dr.Hasan CÜCE

KONYA-1996

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR BİLGİ.....	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Karaciğer .....	2
2.2.1 Anatomisi.....	2
2.2.2. Histolojisi.....	4
2.2.3. Hepatosit Elektron Mikroskopisi.....	5
2.2.4. Embriyoloji .....	6
2.2.5. Fotal Hepatositler.....	7
2.2.6. Fötal Hepatosit Fizyolojisi.....	11
2.3. Dalak .....	12
2.3.1. Anatomisi.....	12
2.3.2. Histolojisi.....	13
2.4. Karaciğer Transplantasyonuna Genel Bir Bakış .....	17
2.5. Alternatif Olarak Hepatosit Transplantasyonu.....	17
3. MATERYAL VE METOT .....	20
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	31
6. ÖZET .....	36
7. SUMMARY.....	37
8. KISALTMALAR.....	38
9. LİTERATÜR .....	39
10. ÖZGEÇMİŞ .....	53
11. TEŞEKKÜR.....	54

## 1.GİRİŞ

Bu çalışmadaki amaç; sıçanlarda fötal hepatositlerin erişkin dalağına nakli ve hem erişkin dalağındaki uyumu,hücre organizasyonu ve gç etme eğilimi ile hemde karaciğer yetmezliği durumlarında bir tedavi yöntemi olup olamayacağının araştırılmasıdır.

Karaciğer, pıhtılaşmadan ilaçların detoksifikasyonuna kadar hayati görevleri olan bir organımızdır.Hastanelerin dahiliye ve cerrahi servislerindeki hastaların önemli bir blmde bu hayati organın patolojisinden dolayı buralara gelmektedir. Karaciğeri ileri yetmezliğe girmiş olan hastalara son müdahale olarak yapılan karaciğer organ transplantasyonuna ise uygun verici bulunmaması,doku reddi,yoğun immunosupresif kullanımı,büyük cerrahi operasyon riskleri ve operasyon maliyetinin ykseklিđi gibi sebeplerden dolayı çok başvurulamamaktadır. Fötal hücre transplantasyonunda ise doku reddine sebep olan yüzey antijenleri zayıf olduğundan doku reddi belirgin derecede azalmıştır ve gereken cerrahi girişim nisbeten daha az riskli bir müdahaledir.

Fötal hücrelerin bir başka avantajı daha bulunmaktadır ki bu avantaj bu hücrelerin birçok kere bölünme gücünden dolayı erişkin insandaki olgunluğunu tamamlamış hücrelere göre daha fazla sayıda mitozu yatkın olmasıdır.Bol miktarda blast formu ihtiva etmesinden dolayı uygun ortamlarda hızlı bir çoğalma ile yüksek sayıya ulaşırlar(114).Hepatositler için uygun ortamın anlamı bol oksijenli, dolaşım kanının yeterli düzeyde olduğu bir yer ile uygun bağ dokusu desteğidir.Dalak bir organ olarak bu iki hayati şartın birleştiği bir yerdir. Dalağın kan dolaşımı bol olduğu gibi ayrıca kan dolaşımı akımının yavaş olmasıda hücreleri temiz kana dolayısı ile oksijenle temasını artırmaktadır.Gene dalağın sahip olduğu bağ dokusu elemanlarından retiküler fibrillerin yaygın bulunuşu hepatositler için tutunma görevi yapmaktadır.Hepatositlerin yeni keşfedilen bir diğer avantajı da gelişen teknoloji ile beraber türler arasındada tedaviye imkan verecek özelliklerin mevcudiyetidir,buna misal olarak alginat jel uygulamalarını verebiliriz(74,108,150).

Unutulmaması gereken önemli bir hususda,ikinci trimestrdaki karaciğerin immun sistemin ana hücrelerini bulundurduğundan kemik iliği naklindede alternatif tedavi olarak kullanılmasıdır(5,22,26,36).

## 2.LİTERATÜR BİLGİ

### 2.1. TARİHÇESİ

Hepatik doku transplantasyonu ilk olarak 1898 yılında Dr.Ribbert Uber tarafından yapılmıştır (33). Bundan sonra 1930'larda karaciğer doku parçaları gözün ön kamerasına transplante edilmiş ancak kısa bir müddet sonra transplante doku dejenere olup kaybolmuştur (41).1960'lı yıllarda ilk defa tek hücre formuna getirilmiş hepatositlerin uygulamaları, O.Seglen ve M.Berry tarafından enzim teknolojisi ve teknik aletlerin yardımı ile başarıldı (32,33,41) . Fötal hepatositlerin klinikte insan üzerinde ilk kullanımı 1960 yılında A.B.D.'de A.Morrison tarafından immun yetersizliği olan hastalarda gerçekleştirildi (141).Hepatositlerin transplante edilmesi; hepatositlerinde glukuronidaz eksikliği bulunan Gunn adlı özel bir sıçan türünde serum bilirubin seviyelerinde düşme yapması ile gündeme 1970'li yıllarda gelmiştir (32). 1980'li yıllarda özellikle Uzakdoğu milletleri dini inancında organ naklinin yasak olması ve tek hücre formu naklinin uygun olması sebebiyle konuya özel ilgi gösterdiler. Özellikle Japon bilimadamlarından Dr. M.Mito ve Dr. M.Kusano'nun yaptığı yoğun çalışmalar ile transplantasyonun alıcı organ olarak dalak tarafından hem en fazla kabul gördüğü gibi hemde fizyolojik işlevlerini gerçekleştirdiği anlaşılmış (25) ve Hindistan gibi tıbbi etiğin zayıf olduğu ülkelerde bile karaciğer yetmezliği olan insanlarda klinik(46) uygulamalar yapılmaya başlanılmıştır. Bunu takiben özellikle A.B.D.'de uygulamalar bilimsel temeller üzerine oturtulmuş (104) ve bugün ise suni karaciğer yapımına doğru hızla yol alınmaktadır (65,92, 93).

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embrioloji Anabilim Dalının imkanları ve cerrahi müdahalelerde Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalının katkıları ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda denek olarak Wistar Albino rat'lar kullanılmıştır.

### 2.2.KARACİĞER

#### 2.2.1.ANATOMİSİ

İnsanda ön abdominal duvarda,üst sağ kuadrantta palpe edilebilen bir organ olup, diafragmanın altında,mide ve barsakların üstünde, regio hypochondriaca

dekstra'nın tamamını, regio hypokondriaca sinistra'nın da yukarı ve sağ kısmını ve regio epigastica'nın büyük bir kısmını dolduran vücudun en büyük miks salgı bezidir. Ağırlığı 1500-1700gr'dır ki buda yetişkin insan ağırlığının ellide biri kadardır. Küçük çocuklarda ise vücut ağırlığının onsekizde biri kadar ağırlığı ile karnın öne doğru bir şişkinlik yapmasına sebep olur. Ayrıca canlıda karaciğer içinde bir kilogram kadarda kan bulunur. Koyu esmer kırmızı renkte ,katı ve gevrek kıvamda bir organ olduğundan trauma sonucunda kolaylıkla yırtılabilir(3,4,18,23,69,158).

Organın lobulasyonuna baktığımızda, sağ ve sol loba ilave olarak rudimenter kaudal ve kuadrat gibi iki lob daha bulunmaktadır. Loblar üç oluk ile birbirlerinden ayrılır. Organının alt, üst ve arka olmak üzere üç yüzü ve üç kenarı; sağ ve sol olmak üzere iki ucu vardır. Karaciğerin bağları; üzerini örten peritoneum yaprakları komşu organlara ve diafragmaya atarken meydana gelir. Bunlar dört tane olup;

1-Lig. Coronarium Hepatis, karaciğerin arka yüzünde bulunur,

2-Lig. Triangulare Dekstrum, sağ uçta bulunur,

3-Lig. Triangulare Sinistrum sol uçta bulunur ,

4-Lig. Falciforme Hepatis'dir ki, tabanı Lig. Teres Hepatis'de, tepesi diafragmanın karaciğere temas ettiği yerde bulunur (3,4,69).

Organ Glisson kapsülü denilen ince fibröz bir kapsül ile sarılmıştır, bu zar visseral periton'un altındaki bağ dokusundan yapılmıştır. Bu bağ dokusu porta hepatis'den içeri giren damar ve safra kanalları çevresinde kılıflar yaparak onlara destekler(158).

Organ damarlanma açısından çok zengindir. Ama damar sistemi diğer organlara benzemeyip aşağıdaki gibidir.

1. Karaciğer parenkimasını besleyen; arteria hepatica propria kan dolaşımından gelir,

2. Karaciğerin fonksiyonel damarı ; vena porta olup bağırsaklardan emilen besinleri karaciğere taşır. Bu kan a. hepatica proprianın kanı ile sinuzoidlerde karışır ki v. porta kanı iki kapiller sonrasında genel dolaşıma katıldığı için bu dolaşım PORTAL DOLAŞIM adını alır(69,132):

Lenf damarları açısından değerlendirildiğinde karaciğerin içinden gelen lenf yolları arter, ven ve safra yolları ile birlikte porta hepatis'e doğru ilerlerler. Diğer bir kısım lenf yollarında karaciğerin içinden trabekülaları takip ederek kapsulayı geçerler ve peritonun altında lenf ağı yaptıktan sonra dışarıya devam ederler(158).

Pleksus hepaticus'un sinir lifleri, karaciğere giren damarları takip ederek girer ve hücrelerine kadar dağılır(140).

### 2.2.2.HİSTOLOJİSİ

Organ , tunika seroza ile çevrili olup , parenkimasını hepatosit kordonlar meydana getirir ve kordonlar arasında zengin bir sinuzoidal dolaşım vardır(110).

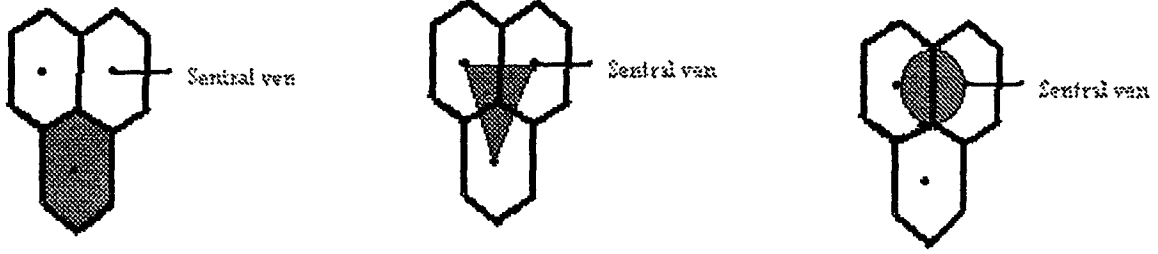
Organ diaframla ve arka.yüzde abdomen duvarı ile temas eden kısımları dışında tamamen periton ile örtülüdür(110).

Glisson kapsülü,peritonun altında bulunan ve organı tümüyle dıştan kuşatan elastik fibrillerden zengin bağ dokusudur.Hilus bölgesinde Glisson kapsülü içeriye doğru girer ve organı lobüllere ayırır.Dört lobdan oluşan karaciğeri lobüllere ayıran bağ dokusu insanlarda az geliştiğinden lobül sınırları kolayca seçilemez(123,156).

Lobül içindeki bağ dokusunda retiküler fibriller vardır.Hepatositler ile sinusoid kan damarları arasında yer alan retiküler fibriller organın parenkimasını taşır ve çatısını meydana getirir(110).

#### Karaciğer Lobülleri:

Karaciğer'den bir kesit yapılır ise kesit üzerinde 1-2,5mm. çapında kabartılar görülür.Bunlara "Lobuli Hepatis" adı verilir.Bu lobcuklar 5-6 köşeli ve kenarları gayri muntazam prizma şeklindedir.Bu lobcukların birleşmesinden karaciğer meydana gelir.Bu lobcuklar birbirinden septa interlobularia adı verilen bağ dokusu bölmeleri ile ayrılmışlardır.Üç lobçuğun köşelerinin biraraya geldikleri yerde üçgen şekilli yıldız benzeyen aralıklar vardır.Bu aralıklara spatia interlobularia(Kiernan aralıkları)adı verilir.Her bir Kiernan aralığında bulunan bağ(Kapsula Fibrosis Perivaskularis) dokusu içinde vena Porta'nın bir dalı olan vena interlobularis,arteria Hepatika'nın bir dalı olan arteria interlobularis,bir safra kanalcığı olan duktuli interlobularis,sinir lifleri ve lenf damarları bulunur.Lobuli Hepatika'nın merkezinde bulunan damar ise vena centralis'dir.Karaciğerde üç tür lobül tanımı vardır(4,110).



Şekil 1. Sırası ile klasik,portal ve asinüs lobülleri şematize edilmiştir.

1)Klasik Lobül: Enine kesitte altıgen biçiminde olup merkezinde v.sentralis bulunur ,lobülde bulunan hücreler ışınsal dizilmiştir ki bunlara Remark kordonları denir. Yaklaşık bir milyon lobül bulunur.

2)Portal Lobül:Safra salgısı gözönüne alınarak yapılan sınıflandırmadır.Portal aralık içindeki bir safra duktusuna safra veren komşu karaciğer hücreleri portal lobül olarak adlandırılır.Üç klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleştirilmesi ile portal lobülün sınırları çizilir ki üç köşelidir.

3)Hepatik Asinüs: A.İnterlobularis'in kanlanması esas alınarak tanımlanmıştır, sınırları iki vena sentralis ve iki portal aralığın birleştirilmesiyle çizilir ki kesitlerde baklava biçiminde görülür.Bu şekildeki sınıflamada portal aralığa en yakın olanlar zon 1, vena sentralise en uzak olanlar zon 3, ara bölge yani zon1 ile zon3 arası zon 2 olarak isimlendirilir(10,37,110,123,156).

### 2.2.3.HEPATOSİTLERİN ELEKTRON MİKROSKOPİSİ

Çekirdeği diğer hücelere göre belirgin farklılık gösterir.Kromatini orta yoğunlukta zor seçilen ince filament ve granüllerden oluşur.Kromatin kitlesinin yakınında 300Å<sup>o</sup>luk perikromatin granülleri bulunur ki bunları 250Å<sup>o</sup>luk bir açıklık çevreler ve bu granüllerde uranil asetat ve indium ile boyandıkları için nükleik asit ihtiva ettikleri kabul edilir.Nükleolusda 60Å<sup>o</sup>luk ince fibriller ile 150Å<sup>o</sup>luk yoğun granüller bulunur,bu iki yapı nükleolonemada anastomozlaşmış haldedir.Diğer hücelerde olduğu gibi çekirdek iki paralel membranın oluşturduğu nükleer zar ile sınırlı ve GER ile komşudur.Dış zar üzerinde ribozom taşır ve belli noktalarda GER ile devam eder(123,134).

Hepatosit sitoplazmasında hem GER hemde AGER bulunur.GER; genellikle 3-20 paralel siternadan oluşur ama bunlar diğer protein sentezi yapan hücrelere göre daha aralıklı konumdadır.GER ile AGER'un birbiri ile devam eden geçiş yerleri vardır. AGER ağı yapıya benzeyen dallanan ve anastomozlaşan tüplerden oluşur. Ribozomlar ER'a bağlı olabileceği gibi spiraller halinde serbest olarakta gözlenirler(58).

Glikojen 300-400A°luk yoğun partiküller halinde tek tek veya 0.1-0.2mikron çapında yığınlar halinde bulunur.Glikojen dağılımı rasgele olmakla beraber düz yüzlü ER'un olduğu yerlerde daha çok toplanmıştır(123).

Golgi organelleri safra kanalikülleri civarında toplanmış 3-5 yassı paralel sisterna halindedir ki bu sisternaların uçlarında 300-800A°luk orta yoğunlukta granüller tespit edilmiştir(134).

Hepatosit mitokondriumları;böbrekler gibi kuvvetli flouresan verirler (A vitamini kaynaklı) belirli bir ayırıcı özelliğe sahip değildir (10). Rastgele dağılmış hücre başına ortalama 1000 mitokondri sitoplazmaya eozinofilik özellik verir.Safra kanalikülü yakınlarında membranla çevrelenmiş 0.2-0.5mikron çaplı heterojen yoğun unsurlara sahip hidrolitik enzim kapsayan ve lizozom oldukları varsayılan yapılar gözlenmiştir. Membran ile çevrili küresel ekzantrik kristal yapı ihtiva eden peroksizomlarada rastlanmaktadır ki bunun hücre başına 200-300adet bulunduğu kabul edilmektedir(134).Söz konusu kristal yapı içinde "uricase" enzimi bulunduğu tesbid edilmiştir(110).

#### 2.2.4. EMBRİYOLOJİSİ:

Dördüncü haftanın başında önbarsağın kaudal kısmının ventralinde bir tomurcuk belirir ve buradan karaciğer,safra kesesi ve safra kanalları gelişir . Karaciğer tomurcuğu veya hepatic divertikulum septum transversuma doğru uzanır.Septum transversum perikardial kese ile vitellus kesesi arasında bulunan mezodermal bir kitledir.Septum transversum diafragmanın bir kısmını ve bu bölgede ventral mezenterin oluşturur.Hepatic divertikulum hızlı bir büyüme gösterir ve ventral mezenterin tabakaları arasında iki bölüme ayrılır(70,116).

Büyük olan kranial divertikulum karaciğerin ilk taslağıdır.Prolifere olan endodermal hücreler bir kordon şeklinde yerleşecek olan karaciğer hücrelerini ve intrahepatik safra yollarının epitelyal duvarlarını yaparlar.Hepatic kordonlar mevcut endotelyum döşeli boşlukların etrafında anastomozlar yaparlar,bunlarda hepatic



sinüzoidlerin ön taslakları durumundadır.Karaciğerin fibröz, hematopoetik bileşenleri ile Kupffer hücreleri septum transversum mezenkiminden türerler(116).

Bu gelişmeleri takiben karaciğer hızla büyür ve abdominal kavitenin önemli bir bölümünü işgal eder.Başlangıçta sağ ve sol loblar eşit ebaddadır ama daha sonra sağ lob daha fazla gelişir.Kaudal ve quadrat loblar sağ lobun alt üniteleri olarak gelişir(64,97).

Hemopoezis karaciğerde 6. hafta civarında başlar,karaciğere parlak kırmızı görünüm verir.Gelişimin 7. ila 9. haftalarındaki karaciğerin büyük oluşu bu aktiviteden dolaydır(116).

Dokuzuncu hafta civarı total vucut ağırlığının %10'ununu oluşturan karaciğer, hücrelerinin safra üretimine başlaması onikinci hafta içerisinde. Karaciğer hücrelerinde en fazla proliferasyon 2.trimestr'da gerçekleşir ve bu safhadaki organda büyüme faktörleri maksimum seviyededir(60,97,116).

Hepatik divertikulumun küçük kaudal parçasında bir genişleme husule gelir ve safra kesesi oluşur;organın sapı duktus sistikus halini alır. Başlangıçta ekstrahepatik safra yolları endodermal hücrelerle doldurulmuş haldedir ancak daha sonra duodenumda olduğu gibi vakuolizasyon ve dejenerasyon neticesinde kanallanma meydana gelir.Hepatik ve sistik duktusları duodenuma birleştiren sap müşterek safra duktusu (duk. hepatikus kommunis) adını alır.Başlangıçta duodenumun ventral yüzüne bağlantılı kanal , duodenum gelişip rotasyon yaptıkça ,dorsal duodenuma açılmış bir hal alır .Safra kesesi karaciğerin salgıladığı safrayı yoğunlaştırır ve 13. haftadan sonra barsağa ulaşan safra sayesinde mekonyumun rengi koyu yeşil olur.(64,116)

#### 2.2.5.FÖTAL HEPATOSİTLER

Hepatositler kısaca karaciğerde metabolizma ve bilirubin ile safra üretiminin yapıldığı parenkimal hücrelerdir.Bu hücreler embriolojik aşamada iken ele alınırsa insanda embrio 3.-4. haftada , 3-4mm civarında iken ön barsağın arka ventral yüzeyindeki endodermal epitelden çıkan divertikül hepatosit taslağıdırki bu safhadaki (36) hepatositler;

- 1.Hepatoblastlar,
- 2.Tip 1 hepatositler,
- 3.Prehepatositler olarak adlandırılır (86,116) .

Söz konusu divertikül septum transversumun küçük kan damarları olan mezenkimal yapıları ile kaynaşır.Mezenkimal hücrelerle primitif hepatositleri kaynaştırıp

organogenezisi başlatanın bazal membran proteinleri ile L-CAM (Liver-Cell Adhesion Molecule)'ın mediatörlüğü olduğu kabul edilir.Mezenkimal kökenli laminin'in hepatosellüler yüzeyinde reseptörleri bulunur (34,130) .

Bu 4 haftalık hepatosellüler kitledeki hücreler ; polarizasyon göstermeyip hemen tüm yüzeylerinde mikrovillus mevcut,büyük çekirdekli,gevşek kromatinli ve az sitoplazmalıdır.Çok bol serbest ribozom ihtiva eder. $\alpha$ -fetoprotein, $\alpha$ -1-antitripsin, transferrin gibi bazı proteinleri hücre dışı amaç için sentezler.Döllenme sonrası 5.-6. haftadaki hepatositlerin büyük çoğunluğu hem bazal hemde apikal polarizasyona girer ve daha ileri olgun hücre olmaya adım atarlar (hepatosit tip 3 ), geri kalan hücreler (89) intrahepatik safra kanallarını oluşturacak yönde ilerler.Gene bu zaman dilimindeki karaciğerde hepatositlerin birbirine bakan kenarlarında komşu pluripotent hematopoietik ana hücreler belirir.5.-6. haftadaki hepatositin protein sentez amacı değişir.Golgi ve G.E.R. organeli hızlı bir gelişme sürecine uğrar.Üretilen proteinler ya sekresyon yada plazma membranı içindir (82) .Diğer epitelyal hücrelerde olduğu gibi plazma membranı iki ana kutuba sahiptir;

1.Apikal

2.Bazolateral

Lateral yüzde komşu hepatosit ile birleşir,bazalde sinüzoidal kan akımına,sinüzoidal hücelere komşudur.Apikalde hepatosit kanaliküler yüze komşudur.Sinüzoidal yüze bakan membranda mikrovilluslar vardır.Lateral yüz düzdür,desmosom ve gap-junctionlar ihtiva eder (103).

Son çalışmalara göre bazolateral yüz, hepatosellüler differansiasyonda çok kritik bir rol oynar.Hepatositler diğer birçok epitelyal hücreden bazal membrana sahip olması ile ayrılır.Ancak bugün anlaşılmıştır ki bu membran hepatositlerle sinüzoidal hücreleri arasında mevcuttur ama identifikasyonu çok zordur .Bazal membranın çatısını sinüzoidal hücrelerin salgıladığı tip 4 kollajen oluşturur (116) .Olgun karaciğerde,laminin ve fibronektin adlı iki glikoprotein kollajenin hepatositlere bağlanmasını sağlar,sinüzoidal kısımda spesifik ekstraselüler matriks unsurlarına tutunma reseptörleri vardır.Tip 4 kollajen ile bu bağlantı proteinlerinin bağlanmasını sağlamlaştıranlar ise hepatositlerce yapılıp plazma membranlarında bulunan heparan sülfat gibi proteoglikanlardır.İn vitro deneyler göstermiştir ki bazal membran ayrılırsa veya yerine başka tabiatlı unsurlar konulursa hepatosit normal şeklini kaybetmekte ve dışarıya yaptığı sekresyon da dahil icra ettiği fonksiyonlarında değişmektedir (9,128,146).

İmmatür ve matür hücreler arasında bazal membran bileşenlerinde kompozisyon farkı vardır. İmmatür hücrelerde, heparan sülfat oranı daha düşüktür, laminin fibronektinden daha önemli bir bağlayıcı protein işlevi görür, asialoglikoprotein reseptörüne nadiren rastlanır ve immatür hücre yüzeyinde “insulin” veya IGF-1 reseptörü olgun hücrelere göre daha çok bulunabilir(19).

Gebeliğin 5.-6. haftasında karaciğer taslağı hematopoezis gücü kazanır. Hepatositler özellikle eritrositler olmak üzere bu immatür hematopoetik hücreleri çevreleyen sitoplazmik uzantılar çıkarırlar, birkaç hepatosit uzantısı birleşip retikulum yapısı oluşturur, bu yapı kemik iliğindeki retikuler bağ dokusuna benzeyen histolojik görüntüyü andırır. Hepatositlerle eritroblastlar birbirlerine desmosom benzeri yapılarla ve interdigityasyonlarla bağlanıp temas kurarlar ve bu aşamadaki hepatositlerin eritropoietin benzeri madde salgıladığı tahmin edilmektedir(36).

Hepatositte glikojen sentezi 3. ayda başlar. Bu zamandaki ultrastrüktürel incelemelerde hücrede glikojen granülleri görülür( 116 ).

Hepatosit seviyesinde incelememizi sürdürdüğümüzde göz ardı edemeyeceğimiz bir durumda yukarıda asinüs tipi zonlanma da bu zonlardaki hepatositler muhatap oldukları kana göre değişik organel fonksiyonları icra ederler. Zon 1, enterohepatik dolaşıma esas maruz kalan hücrelerdir ve safra tuzunu en çok salan hücrelerdir. Gene en zengin besine ve kan oksijenine ulaşma imkanına sahip olup en çok glikoneogenezis, glikojen sentezi, protein sekresyonu ve diğer enerji ile ilgili işlevleri icra eder. Buna mukabil zon 3 hepatositleri glikolizis ve biotransformasyon faaliyetleri (urogenezis dahil) ile daha fazla iştil ederler. Uterus içi canlıda hepatositlerin işlevleri muhtemelen düşük oksijenden dolayı böyle farklılaşmamış olup daha homojenizedir. Gene zon 3'te hücre içi glutamin sentetaz yoğunluğu daha fazladır (127). Uterus içinde iyi oksijen alan sol lob daha fazla P450 muhteviyatı ile sağ lobtan farklı görev yapabilir(39).

Yine açıkça anlaşılmıştır ki zonal konum erişkindede genetik ifadeyi (fenotipi) etkilemekte(40), üstelik in vitro izolasyon yapılsa bile, örneğin zon 3 hepatositleri her zaman için sitokrom P450'nin fenobarbital uyarımına daha fazla meyyaldır (54) . Bu farklılığın .sebebinin zonal özel ekstraselüler maddelerin olabileceği düşünülmektedir. Ancak unutmayalım ki bu farklılıklar hepatositlerin her özelliği için söz konusu değildir, mesela albümin her yerde homojen üretim halindedir(116).

Fötal hepatositlerde mitogenezis kontrolü ele alındığında hücrenin proliferasyon ve olgunlaşmasını etkileyen faktörler aşağıdadır.Kısaca;

Proliferasyonu:

- 1.Plasental laktojen
- 2.GH
- 3.IGF-1
- 4.IGF-2
- 5.İnsulin
- 6.EGF
7. $\alpha$ FGF
- 8.TGF- $\alpha$ (78,93)

Hücre Olgunlaşmasını:

- 1.Kortizol
  - 2.T<sub>3</sub>
  - 3.İnsulin
  - 4.IGF-1(tahmin ediliyor)
  - 5.IGF-2(tahmin ediliyor)
  - 6.ECF(tahmin ediliyor)
- unsurları etkiler (116).

Hepatositler erişkinde değerlendirildiğinde 6 veya daha fazla kenarı olan polihedral hücrelerdir.Hepatositlerin :

- 1.Perisinüzoidal aralığa bakan
- 2.safra kanalikülüne bakan
- 3.komşu karaciğer hücresine bakan yüzü

olmak üzere üç yüzü olup bu yüzler arasında morfolojik farklılıklar vardır.Her ne kadar hücreden hücreye değişsede çekirdek düzgün yüzlü,yuvarlak ve büyüktür.Ebaddaki farklılık poliploidi neticesidir.Birçok hücre tek çekirdeklidir ancak bazı türlerde binükleer durum görülür(örn.Makaku tip maymunlarda).Çift çekirdekli hücrelerde çekirdek boyları değişmez.Çekirdek veziküler olup dağınık kromatin yığınları ve bir veya birçok nukleolus ihtiva eder.Erişkin karaciğerde normalde mitoz nadirdir ancak yara iyileşmesi için tamir varsa sık mitoz gözlenir(110,158).

Hepatosit sitoplazması hücrenin yoğun faaliyet halinde olduğunu gösterir ve diğer hücrelerden belirgin farklılığı depo materyali olarak glikojen ve yağ ihtiva etmesidir(10). Karaciğer hücre popülasyonunun %80'inini sadece hepatositler oluşturur(116).

## 2.2.6.FÖTAL HEPATOSİT FİZYOLOJİSİ

Fötal hepatosit fizyolojisi bazı durumlarda erişkinden farklılıklar gösterir.Bu farklılıklar vücudun büyümesi,olgunlaşması ve yeni yapıların oluşmasıdır.Aynı zamanda fetüsün plasenta ve maternal metabolizma ile olan çok sıkı bir ilişkisi söz konusudur.Bununla birlikte,tam tanımlanmamış faktörler salgılayan,plasenta ile maternal metabolizma arasında süregelen bu ilişkilerin detayları çok az anlaşılmış durumdadır (60). Fötüs fizyolojisini plasentadan bağımsız olarak incelemek mümkün değildir (60,91). Bu sebepten dolayı fötal dokuların fizyolojisi hakkında kesin olan bilgilerimiz azdır. Bir diğer açıklığa kavuşmamış konu, fetüs metabolizmasında üretilen enerjinin ne kadarının ısı üretimine; ne kadarının anabolizma faaliyetlerine harcandığının bilinmemesidir (60, 77).

Fötal karaciğer fizyolojisinin anlaşılmasında doku enzimlerinin nitelik ve niceliklerinin tespiti önemlidir.Karaciğer karbonhidrat metabolizmasındaki glikolitik ve pentoz fosfat yolu ile ilgili enzimler biosenteze yetecek kadar bol miktardadır.Glikoneogenesis enzimleri çok düşük seviyededir,glikoz sentezi oldukça sınırlıdır,ancak glikojen deposu açısından beklenenden zengindir,bu birikimde glukokortikoidlerin ve insulin ile insulin benzeri unsurların (somatomedinler) önemli etkisi olduğu yapılan fötal hepatosit kültür çalışmaları ile anlaşılmıştır ki bu birikimde glikojen yıkımının zayıf olmasıda rol oynar.Glikokinaz aktivitesi çok düşüktür ama hekzokinaz enzim aktivitesi çok yüksektir, terme doğru azalır,galaktozkinaz aktivitesi doğumdan önce çok yüksektir, fruktokinazlar ise doğum sonrasında artar. Yine doğum öncesi dönemde fruktoz 1,6-bifosfat aldolaz enziminin izoenzim A tipi dominanttır.Fötal hepatositin glikoz tutma miktarı çok yüksektir, insulin etkisinden bağımsız olup sadece glukagonun yüksek kan seviyelerinde inhibisyonu ile kontrolü söz konusudur. Piruvat kinaz tip IV izoenzim miktarı yüksektir ve erişkindeki gibi sitozol ile değil endoplazmik retikulum ile daha sıkı ilişkidir (60,88).

Lipid metabolizması açısından ise, plasentadan yağ asitlerinin geçişi oldukça kolaydır ve gebeliğin ikinci yarısındaki yağ asidi sentezi erişkine göre daha yüksektir , insulin bu sentezin oluşumunu olumlu yönde; glukagonsa olumsuz yönde etkiler. Ancak fetal karaciğer yağ metabolizması annenin beslenmesine en duyarlı fizyolojik süreç olup incelenen türler arasındada farklar olduğu için daha ileri çalışmalara ihtiyaç göstermektedir(60).

Amino asid sentezide yine erişkine göre daha yüksektir ve plasentadan geçişleri bol miktardadır. Çeşitli amino asitlerin fetal hepatositlerde senteziyle ilgili enzimler fetal hayatın değişik periodlarında değişik oranlarda bulunur,örneğin doğuma yakın tirozin,arginin ve sistein senteziyle ilgili fenilalanin hidrosilaz,ornitin aminotransferaz ve sistationaz enzim miktarı çok artar(60).

Ayrıca incelenen türlerin çok ayrı olması ve az da olsa farklılıklar arz etmeleri kesinleşen bilgilerin az olmasına sebep olmaktadır (14).

Erişkin insandaki hepatositlerin fizyolojisini değerlendirdiğimizde; bilinenler aşağıdadır(90).

1. Safra tuzları,kolesterol,lesitin ve safra pigmentlerini sentez eder.
2. Amonyacı CO<sub>2</sub> ile birleştirip protein katabolizmasının toksik olmayan son ürünü olan üre'yi sentez eder.
3. Glikoz-6-fosfat'ı serbest glikoz haline getirir.Aynı şekilde glikoz karaciğerde sentez edilmektedir(glikoneogenezis).
4. Angiotensinojen bu hücrelerce sentez edilmektedir.
5. Hücrenin mikrozomal enzim sisteminde biotransformasyon gerçekleştirilir. İlgili enzimler AGER üzerinde bulunur.
6. Pıhtılaşma mekanizmasında K vitaminine bağlı unsurları (protrombin, F7, F9,F10) ve fibrinojeni sentez eder.
7. Testosteron ve östrojen hormonlarının yıkımı ile ilgili enzim faaliyetleri bulunmaktadır(63,116).

### 2.3. DALAK

#### 2.3.1.ANATOMİSİ:

Vücuttaki immun organların en büyüğü olup, ortalama bir kişinin sıkılmış yumruğu büyüklüğündedir ve yaklaşık 12 cm uzunluğunda ve morumsu renktedir.

Vücutun; sol kısmında, diyafragmanın hemen altında, mide, sol böbrek ve kalın barsağa dayanmaktadır(4). Organ dışarıdan bağ dokusu kapsül ile sarıdır. Bu kapsül içeriye bağ dokusu uzantıları olan bölmeler gönderir ki organ bu bölmelerle lobüllere ayrılır. Lobüller içinde kırmızı pulpa organın parenkimini oluştururken, küçük beyaz pulpada dağılmış olarak bulunur(18).

Organın başlıca fonksiyonu; kanı yabancı antijenlerden filtre etmek ve fagositik hücre ile monositlerin fonksiyonlarını yapabilecekleri bir ortamı sağlamaktır. Kardiovasküler ve lenfatik sistemde katkıları aşağıdaki şekilde değerlendirilebilir:

1. Makrofajlar dalağın içinde dolaşırken ölü veya hasarlı eritrositleri ve trombosit, mikroorganizma ile kandaki artık unsurları temizler. Makrofajlar eritrositlerdeki hemoglobulinde bulunan demiri ayırırlar ve kemik iliğindeki yeni kırmızı kürelerin yapımında bu demir kullanılır. Hemoglobinin yıkılması ile bilirubin pigmenti ortaya çıkar, bu molekülde karaciğere ulaşır ve safranın bileşenlerinden birini oluşturur.

2. Dalağın içindeki dolaşımda bulunan antijenler lenfositleri aktive ederler ve onların antikör üretecek hücrelere dönüşmesini sağlarlar.

3. Dalak fetal hayatta eritrositlerin üretiminin yapıldığı bir organdır. Doğum sonrasında ise eritrosit ve trombositlerin depolanıp ihtiyaç teşekkül ettiğinde tekrar dolaşıma verilir.

Dalak çok bol miktarda kan ihtiva eder. Kanı depoladığı için bedenini ani bir kan kaybına uğraması durumunda dalak kasılır ve içindeki depoladığı kanı genel dolaşıma verir (dalak dolaşıma 1 dakikada 200 ml kan verecek kapasitededir). Ani fiziksel aktivitelerde kalbe aşırı venöz basınç binmemesi için gene kanın duraklatıldığı bir yerdir, böylece kalb rahat tutulmuş olur(23,132,140,158).

### 2.3.2.HİSTOLOJİSİ:

Organ yaygın kırmızı pulpa içinde yer yer beyaz pulpa adacıkları içeren bir parenkima ile etrafını kuşatan kapsülden oluşmuş olup kapsül organın içine doğru trabeküla denilen uzantılar gönderir. Bunları histolojik açıdan tek tek inceleyelim.

Stroma, kapsül ve trabeküla yoğun bağ dokusu ve az miktarda düz kas ihtiva eder. Trabeküllerdeki kollajen fibriller pulpadaki retiküler fibriller ile devam eder. Kollajen fibril ağının içinde elastik lifler bulunur ve bir şebeke oluştururlar. İnsanda en kalın elastik liflerin bulunduğu bölge kapsülün derin kısmıdır. Kapsülün dış kısmı peritona ait tek sıralı mezotelyal hücrelerce döşenmiştir. Trabeküldeki elastik lif miktarı

kapsüldeki elastik lif miktarından daha fazladır.Düz kas unsurları küçük gruplar halinde veya kordonlar halinde bulunurlar.Bunlar yavaş ritmik kasılmalarla organın hacmini değiştirirler(10,37,134,158).

Trabekülalar içerisinde arteria ve vena trabekularis ile sınırlar seyrederek. Lenfatik damarlar trabekülalar içinde başlayarak hilustan organı terk ederler.Trabeküla ve kapsül arasında retiküler fibril, retiküler hücre ve makrofajlar ağ şeklinde çatı oluştururlar.Dalak pulpası bu ağın boşluklarını doldurur.Kesintili trabekülalarla dalak lobüllere ayrılır.Lobül çapı 1mm civarındadır.Kan arteria sentralis ile lobüle ulaşır,lobül kanı trabekülalarda seyreden venlerle drene olur.Tam olarak trabeküla ile kuşatılmadığından lobül sınırları keskin çizgilerle ayrılamaz(58, 110, 123).

Parenkima,çatıyı oluşturan bağ dokusu gözeneklerinin arasında kırmızı ve beyaz pulpa olarak bulunur.

#### a)Beyaz Pulpa:

Arterin adventisiasının yerini alan ve arteri yolu boyunca kuşatan lenfatik dokudur.İki şekilde bulunur;ya gevşek lenfatik doku ya da aralıklı bulunan lenfatik nodül halinde ki buna dalak nodülü veya Malpighi nodülü adı da verilir.Bu doku içerisinde en çok bulunan hücre küçük lenfositlerdir, diğer hücreler ise orta ve büyük çaplı lenfositler, plazma hücreleri ve monositlerdir(110).

Beyaz pulpada sentrum germinativum bulunabilir.Klasik lenfatik nodül yapısındadır.Çocukta her nodülde sentrum germinativum bulunursa da erişkinde daha az rastlanır.Beyaz pulpa içerisinde arteriola sentralis bulunur ama ismi gibi pulpanın merkezinde yer almaz,periferde bulunur.Bu durum dalak nodüllerini diğer nodüllerden ayırır.Sentrum germinativumda arteriol bulunmaz.Beyaz pulpa ile kırmızı pulpa arasında yer alan ve bol venöz sinüs,az miktarda B-lenfosit çok fazla sayıda aktif fagositik makrofaj içeren Marginal hat bulunmaktadır.Retiküler hücre ile retiküler fibriller marginal hatta ve arterler çevresinde hem çok sayıda hemde sıkıca bir araya gelmişlerdir. Beyaz pulpadaki a.sentralisten çıkan pulpa arteriolleri kanı beyaz pulpadan dışa doğru taşır,daha sonra pulpa nodülünü çepeçevre kuşatan marginal hattaki hendek şeklindeki venöz sinüslara açılırlar(110,158).

Beyaz pulpa sayısı pubertede 100.000-200.000 arasında değişir.Bu sayı yaşlandıkça azalır ve kırmızı pulpa daha geniş yer tutmaya başlar.Beyaz pulpa stabil olmayıp zaman zaman kaybolup yeniden meydana gelebilir. Yeni oluşacak beyaz pulpa mevcut orta çaplı lenfositlerin ya mitozu ya da primitif retiküler hücrelerin



transformasyonu ile sayıca artan lenfosit yığınları şeklinde gelişir.Bu aşamada sadece yoğun olarak orta çaplı lenfositler bulunur,küçük lenfositlere rastlanmaz , Bare Centrum Germinativum olarak adlandırılır.Daha sonra hacmi mitoz ile artar ve çevre lenfatik dokudaki küçük çaplı lenfositler buraya birikmeye başlar(48,110).

b)Kırmızı Pulpa:

Tipik olarak Billroth kordonlarıda denen dalak kordonları ve venöz sinuslardan yapılıdır.Gevşek süngerimsi yapıdaki kırmızı pulpanın boşluklarını sinüzoidler doldurur.Bu sinüzoidlerin seyri boyunca yer yer daralıp genişlemeler bulunur.Küçük,orta ve büyük çaptaki lenfosit sayısı hem beyaz pulpadakinden daha az hemde lenfositler daha gevşek biçimde düzenlenmiştir.Böylece lenfatik doku tüm kan hücreleri ile infiltrat edilmiştir.Beyaz pulpada mitoz ile oluşan lenfositlerin bir kısmı amoeboid hareket ile kırmızı pulpaya gelerek belli bir düzen göstermeden yerleşirler.Dalak kordonlarında etiküler hücreler,sabit ve hareketli makrofaj,monosit, lenfosit,plazma hücreleri ile eritrosit,trombosit ve granülositler gibi kan hücreleri yer alırlar.Sinüslerin duvarı ince olduğundan kolay seçilemediğinden böylece sinüs içindeki eritrosit ile pulpa kordonunda bulunan eritrositi ayırmak güçtür. İnfeksiyonlarda,bazı anemi ve lösemilerde bazı kan harabiyeti yapan madde zehirlenmelerinde organın yerel iltihaplanmalarında myeloid metaplazi görülür. Myelositler, megakaryositler, eritroblastlar kırmızı pulpa içinde oluşurlar. Megakaryosit insanlarda fetal dalakta bulunursada erginde yoktur(37,48,110,156).

c)Kan Dolaşımı:

Hilusdan dalağa giren arteria lienalis dallara ayrılarak trabekülalara girer ve arteria trabekularis (a.interlobularis) adını alır.A.Trabekularis m.üsküler tip bir arterdir.A.Trabekularis dalak parenkiması içine girince adventisya tabakasının yerini lenfoid doku alır ve merkezi olmamasına karşın arteriola sentralis adını alır.Seyri sırasında beyaz pulpanın lenfositik kılıfı yer yer kalınlaşarak beyaz pulpayı oluşturur. Beyaz pulpadaki geçişi sırasında , beyaz pulpayı besleyen birçok kapillerler verir.Bu kapillerler kırmızı pulpa içinde de devam ederler.Beyaz pulpadan direkt venöz dönüş yoktur.A.sentralis ve dallanması ile oluşan kapillerler kübik endotel ile döşelidir. Beyaz pulpa içinde birçok kez dallandıktan sonra marginal zona ulaşan a.sentralisin beyaz pulpa kılıfı marginal hatta çok incelir.Burada her arteriol bir fırça görünümü veren küçük

dallara ayrılırlar (a.penisillata=fırçamsı arteriöl). A.penisillataların birbirini izleyen ve giderek çapı daralan üç bölümü vardır.Bunlar sırası ile;

a)Pulpa arteriolu:Kübik endotel ile döşelidir.Bazal lamina tamdır.Düz seyirli ince bir ya da iki sıra düz kas tabakası ve ince bir adventisyası bulunan en uzun segmenttir.

b)Kılıflı arteriol (elipsoid arteriol) :Gerçekte kapillerdir,duvarında kas tabakası bulunmaz, endotel dışında kuvvetli fagositik aktivitedeki retiküler hücrelerden oluşan bir kılıf bulunur ki bu hücreler konsantrik düzenlenmişlerdir ve aralarında retiküler fibriller yer alır(Scheigger-Siedel kılıfı).İnsanda bu kılıf çok belirgin değildir.

c)Terminal arteriel kapillerler:Her kılıflı arteriol iki ya da daha çok sayıda kapillere ayrılır, son bölümleri ampullada denen konik biçimde genişleme gösterir ve duvarı yalnızca endotelden oluşur.Nasil sonlandıkları hakkında fikir birliği yoktur (132,151,158).

Venöz sinüsler ve venler açısından incelediğimizde;arteriel kapillerler kanını venöz sinüslara boşaltırlar.Venöz sinüsler marginal hatta beyaz pulpayı çepeçevre kuşatan bir hendek biçiminde başlayarak,kırmızı pulpa içinde birbirleri ile anastomozlaşırlar ve dalak kordonlarını birbirinden ayırırlar.Yapısal özellik açısından incelersek, sinüs tanımının kullanılması lümenin çok düzensiz ve venlere oranla daha geniş olması,çapının organdaki kan miktarına göre değişmesidir.Endotel hücreleri(Littoral hücre) kübik biçimli olup aralıklı yerleşimlidir.Bazal membran kesintilidir,kalınlığı da değişkenlik gösterirki böylece kan ile komşu doku arasındaki alışveriş kolaylaşmıştır.Endotel hücrelerinin fagositik özellikleri az gelişmiştir ve hücrelerin çoğu dairesel seyirli oldukça kalın retiküler fibrillerle kuşatılmıştır(23,110).

Venöz sinüsler birleşerek kırmızı pulpa venlerini (pulpa venleri=toplayıcı venül) yaparlarki bu venlerde kas tabakası bulunur.Pulpa venleri trabeküla içine girince vena trabekularis adını alır.Bu venin duvarı yalnızca endotelden yapılıdır ve trabekülanın fibromüsküler yapısı damarı destekler.Vena hilustan çıkınca vena splenika adını alır(110).

Dalakta arterlerle venlerin devamlılığı diğer organlardan farklılık arz eder. Konu hakkında tam bir fikir birliği bulunmamakla beraber üç farklı görüş bulunmaktadır:

a)Açık Dolaşım :Buna göre arteriel kapillerler splenik kordonun retiküler hücreleri arasına doğrudan doğruya açılır.Kan venöz sinüslara yavaş yavaş filtre olur.

b)Kapalı Dolaşım :Arteriel kapillerler doğrudan doğruya venöz sinüs lümenine açılır.

c)Hem Açık-Hemde Kapalı Dolaşım:Bu İki tip dolaşım da aynı zamanda vardır.Bu iddia şu şekilde modifiye olmuştur;Kontrakte dalakta kapalı,gevşek olan dalakta açık dolaşım bulunur(110).

#### 2.4.KARACİĞER ORGAN TRANSPLANTASYONUNA GENEL BİR BAKIŞ

Karaciğer cerrahisinde 1960-1980 yılları arasında devrim niteliğinde önemli gelişmeler olmuştur.Bu dönemde bazı araştırmacılar tedavi imkanı olmayan hepatik yetmezlikteki hastalar için organ naklinin gerçekleştirilebileceğini ortaya koydular. İmmunosüpresiflerin kullanıma girmesi,immunolojik doku gruplarının tayin imkanlarının (MHC antijenleri) ortaya çıkması ve gerekli tıbbi teknik cihazların geliştirilmesi ile karaciğer organ nakli gerçekleşmiştir. Konu cerrahi açıdan büyük ameliyat sınıfına girmekte,uzun anestezi gerektirmekte ve uzun bir postoperatif bakım süresine ihtiyaç göstermektedir.Organ naklinin klinik endikasyonlarından başlıcaları,alkolik ve non-alkolik siroz,primer malignensi,primer bilier siroz,sklerozan kolanjitis,sekonder bilier siroz, $\alpha$ -1-antitripsin yetmezliği, Budd-Chiari sendromu,Akut hepatit-B,Adenomatosis,hemakromatozis ve protoporfiria olarak sıralanabilir.

Karaciğer organ nakli hayat kurtarıcı bir uygulamadır.Ancak beraberinde doku reddi tehlikesini taşıması hayatiyetini sürdürme açısından olumsuz bir faktör olarak değerlendirilmektedir.Cerrahi girişimin immun sistemin süpresyonunu gerektiriyor olması trombositopeniye kadar (16) beraberinde birçok riski getirmektedir.Ayrıca konunun maliyeti de oldukça yüksektir(133).Bütün bunlardan dolayı daha az riskli ve maliyeti düşük fötal hepatosit nakli gibi tedavi metodları düşünülmektedir.

#### 2.5.ALTERNATİF OLARAK FÖTAL HEPATOSİT TRANSPLANTASYONU

Bu uygulamanın en önemli avantajı total organ transplantasyonundaki gibi büyük cerrahi girişime ihtiyaç göstermemesidir(150).Uygulamanın cerrahi basamağını batın boşluğunun açılması ve uygun damar ya da organa enjeksiyonun yapılması teşkil eder ki bazen hiç batını açmadanda sol subkostal insizyon ile uygulamanın başarıyla gerçekleştirilmesi söz konusudur (154).Henüz gelişme çağında bulunan hücre süspansiyonu tedavisine büyük ümitler bağlanmış olup yurtdışında konu üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmaktadır.

Fötal hepatositlerin zayıf immunolojik özelliklerinden dolayı doku reddi reaksiyonuna (GVHD) uğramaması lehde olan çok önemli bir özelliktir (93,145).

Hücre süspansiyonu uygulamasını fötal hepatositler yönünden değerlendirdiğimizde, total organ transplantasyonuna alternatif olma ihtimali (150) yanında ayrıca iki çeşit klinik faydası daha vardır.Fötal karaciğer 2.trimestr başında kan hücrelerinin üretim yeri olması nedeniyle çok bol blast form ihtiva etmektedir(59,70,73,79,143,144,160). Bu özelliğinden dolayı yaptığımız uygulamanın tedavi spektrumunu ele aldığımızda geniş bir hastalık grubuna hitap edebileceği ortaya çıkmaktadır(144,148,160). İlerlemiş aplastik anemide (67),SCID (ileri kombine immun yetmezlik sendromu) (5,79,122,141),akut lösemi(79,141), EBV-infektif limfoblastoid serinin inhibisyonu(115), Bare Lenfosit Sendromunun ve Adenosin deaminaz eksikliğinin uterus içi tedavisi(146),yeni doğanlardaki lizozomal depo hastalıkları,Fabry hastalığı, Gaucher hastalığı, Familial amiloidis, Fukosidosis, Neimann-Pick A,B,C, Glikogenosis, Hurler sendromu, metakromatik lökodistrofi, Adrenolökodistrofi, Morquio B, San Filippo B,Hunter sendromu, Gangliosidosis ,  $\beta$ -Talesemi(79) gibi patolojiler fötal hepatosit uygulamaları ile tedavi edilmeye başlanmıştır.Ayrıca lizozomal depo hastalıklarında farelerde olumlu sonuçlar alınmıştır (113,153).

Tüm bu imkanların dışında fötal hepatosit kültürü ontogenik hematopoezis araştırmaları (89,102,109,118,122,142),karaciğer içi hücre ilişkileri (76,131,135,137) ve hem fötal hemde erişkin immunoloji araştırmaları (15,22,26,143) için oldukça aydınlatıcı ve faydalı olmaktadır.Fötal hücre transplantasyonunun chimerizm imkanının bulunması (79,95,100,113,115,148) gelecekte daha etkin uygulamaların söz konusu olabileceği ihtimalini artırmaktadır.Chimerizm olayında  $CD4^+$  T-hücre kolonileri çok bol miktarda IL-10 salgılamakta ve bu salgı neticesinde istenilen immünsüpresyonun gerçekleştiği üzerinde durulmaktadır (145). Ratlarda deneysel olarak gerçekleştirilen fulminant karaciğer yetmezliğinin tedavisinde oldukça güzel neticeler alınmıştır (20).%90 hepatektomi ile yapılan karaciğer yetmezliğinde gene bu uygulama ile başarılı sonuçlara ulaşılmıştır (28).Karaciğer yetmezliğinden husule gelen ensefalopatinin tedavisinde gerek deneysel (120) gerekse klinik başarılarla ulaşılmıştır(104,144,145,147 ).

Türkçeye suni veya yapay karaciğer olarak aktarabileceğimiz "bioartificial" karaciğer olarak adlandırılan ve fulminan sirozun akut koma safhasında hayat kurtarıcı uygulamaları deney hayvanlarında (30,51,61,75,85,98,99,108,136,137) ve kliniklerde başarı ile gerçekleştirilmiştir (79,104,125).Söz konusu suni karaciğerin başarısını

artırmada kullanılacak hepatositin hangi hayvandan olacağı biotransformasyon hızına bağlı olup türler arası biotransformasyon farklılığı değerlendirilmektedir(65).Akut hepatik yetmezlikte hepatosit hücre süspansiyonunun bile uygulanması hasta ratlarda belirgin bir iyileşmeye yol açmaktadır (8).Bilirubin metabolizması bozukluğuna sahip Gunn ratlarla yapılan çalışmalarda total hücre sayısının %12'sinin bile bilirubin seviyesini istenilen marjlar arasında tutmaya yettiği gözlenmiştir(149).

Dondurulup saklama tekniği de dahil bütün hepatosit uygulamalarının başarılı olması bize geniş bir kullanım sahası vermektedir(27,83,99,113,117).Ayrıca uygun sıvıda 10-12 saat bekletilebilme(17) veya +4<sup>oC</sup>,de bir hafta canlı olarak süspansiyon halinde saklama imkanı bulunmaktadır (83,87).

Bu uygulamanın verici grubunu tıbbi açıdan ele alacak olursak, medikal abortuslar oluşturmaktadır.Bu durum sıkı bir etik denetimin beraberinde dikkatle uygulanıyor olmasını gerektirmektedir (81).

Uygulama insanlarda klinik olarak amaçlanan hedeflerin birçoğunda başarı ile neticelenmiştir (72,104,145).Bu çalışmalarda önemle üzerinde durulan bir konuda safra drenajının ne olacağıdır,ancak hiçbir klinik veya deneysel çalışmada safra üretiminin mevcudiyeti ortaya çıkmamıştır ve dolayısı ile sorun olmamıştır ki bu durumun özellikle portal dolaşımın özelliği olan ve safra salgısını uyaran barsak emilimi ürünlerinin olmamasından kaynaklandığı üzerinde durulmaktadır (154).

### 3.MATERYAL VE METOD

Çalışmada 4 grupta 48'i deney,12'si kontrol olmak üzere toplam 60 matür sıçan ile 10 adet gebe sıçan kullanıldı.Wistar Albino tipi sıçanlar hazır pellet yem ile beslendi ve çeşme suyu verildi, ayrıca buldukları ortamın sürekli 25°C sıcaklıkta olması sağlandı.

Enjekte edilen fetal hepatositlerin hazırlanması için dişi ratlar ve erkek ratlar birbirlerinden ayrı kafeslere konularak 2 hafta cinsel buluşma engellendi.Bu süre sonunda 4 dişi ratla 1 erkek rat aynı kafese konularak gece çiftleşmeye bırakıldı,sabah dişi ratların vajinal tıkaçlarına bakıldı ve tesbit edilenler gebeliğin 0.günü olarak kabul edildi.3.trimesterin başı olan 15.-16. günlerde 10 gebe sıçan hafif eter anestezisi altında ve takip eden tüm işlem basamaklarında steril şartlar sağlanarak batınları açılıp uteruslarına ulaşıldı,her bir fetus forseps ile tek tek alındı ve petri kutusunda biriktirildi (RESİM-1) ayrı annenin fütüsleri ayrı ayrı petri kutularında toplanıp takip eden işlemler boyunca karıştırılmadı.Her bir fütüs ince makas ile batının kaburgalarla birleştiği yerde sağ tarafta insizyon yapılarak karaciğerine ulaşıldı.Fötal karaciğer şişkin olan yapısının verdiği basınç ile bu insizyondan dışarı taşıdığı ince makasın içbükey yüzü organın altına yerleştirilip fütüsdan ayrıldı ve 4°C'deki HBS solüsyonuna petri kutusunda toplandı (RESİM-2).Ancak bu basamak kritik bir işlemdir çünkü büyüteç ile karaciğerin saf organ olarak alındığının dikkatli tetkikini gerektirir. Eğer mide,mide sıvısı ve barsak parçaları kontaminasyon yapmış ise alınan parça toptan atılır ve cerrahi işlem malzemeleri PBS ile iyice yıkanır.Toplanan fetal karaciğerler HBS solüsyonu içeren yeni petri kutularına alınıp yıkanır ve bisturi yardımı ile küçük doku parçalarına ayrılır.İşlem bundan sonra 0.066mm çaplı özel doku disasiasyon eleğinden özel cam havaneli (RESİM-3) ile mekanik baskı uygulanarak fetal karaciğer doku parçalarının tek tek hücre haline ayrılması sağlanarak altındaki yeni HBS solüsyonlu petri kutularında toplanması ile devam edildi (bu basamakta kullanılan hücre disasiasyon malzemesi SİGMA katoloğunda CD-1 kodu adı altında geçmektedir).Her fetal karaciğer dokularına geçtikçe disasiayon ağırları HBS solüsyonu altında iyice yıkandı ve sonra kullanıldı.Petri kutularında toplanan hücre süspansiyonları pipete çekilip tekrar petri kutusuna verilme işlemi birkaç kere tekrarlanarak ajitasyon yardımı ile adhezif hücreler dağıtılmaya çalışıldı ve hemen takiben santrifüj tübüne alınan hücreler 600-700 rpm.'de 10 dakika iki defa süpernatantı değiştirilerek santrifüje (RESİM-4) edildi ki bu basamak kritik öneme sahiptir . Çünkü daha yüksek değerlerde viabilitenin düştüğünü tesbit ettik.Son

santrifüjden sonra süpernatant alındı, süspansiyondaki HBS solüsyonu 5ml'ye tamamlandı, Trypan Blue boya Exclusion değerlendirmesine (RESİM-5) alınarak canlılık açısından total hücre sayısı standart hemositrometri kullanılarak hesaplandı ve bu bilgiler yardımıyla 0.1ml'ye  $2 \times 10^6$  fötal hepatosit olacak şekilde ayarlama yapıldı. Böylece insulin enjektörleri içinde  $2 \times 10^6$  fötal hepatosit konsantrasyonuna sahip HBS solüsyonlarımız (RESİM-6 ve 7)  $4^{\circ}\text{C}$ 'de uygulamaya hazır beklemektedir. Hepatositler Sutherland ve arkadaşlarının metodunun modifikasyonu ile elde edildi(136). Bu işlemlerin en hızlı ve seri bir şekilde yapılması yanında fötal hücre süspansiyonu hazır olur olmaz deney gruplarını oluşturan ratlara hemen uygulanması cerrahi ekibiyle çok uyumlu bir senkronizasyon gerektirmektedir

Deney grupları her değerlendirme haftası için 3 adet olmak üzere toplam her grup için 12'şer olarak ayrıldı ve aşağıda belirtildiği gibi oluşturuldu:

#### 1. Deney grubu:

$2 \times 10^6$  sayıda hepatosit her bir dalak için alt kutbundan organın paranzimine ,önce dalak arteri ve veni bağlandıktan sonra insulin iğnesi yardımıyla ekildi (RESİM-8). Ekimden 96 saat sonra ratların karaciğeri %40-45 oranında rezekte edildi. Ekim 0.gün kabul edilerek 1.,2.,3. ve 4.haftalarda dalaklar alındı ve hepatositler değerlendirildi.

Kontrol grubu olarak 4 sığana aynı işlemden sonra 0.1cc HBS solüsyonu dalağa enjekte edildi.

#### 2. Deney Grubu:

$2 \times 10^6$  sayıda hepatosit her bir dalak için alt kutbundan organın paranzimine verilmeden hemen önce dalak arteri ve veni bağlandıktan sonra insulin iğnesi yardımıyla enjekte edildi, 1. grubtan farklı olarak karaciğer rezeksiyonu uygulanmadı. 1.,2.,3. ve 4.haftalarda dalaklar alındı ve hepatositler değerlendirildi.

Kontrol grubu olarak 4 sığana aynı işlemden sonra 0.1cc HBS solüsyonu dalağa enjekte edildi.

#### 3. Deney Grubu:

$2 \times 10^6$  hepatosit her bir dalak için alt kutbundan organın paranzimine enjekte edildi ve 96 saat sonra %40-45. karaciğer rezeksiyonu yapılarak 1.,2.,3. ve 4.haftalarda dalaklar alındı ve hepatositler değerlendirildi.

Kontrol grubu olarak 4 sığana aynı işlemden sonra 0.1cc HBS solüsyonu dalağa enjekte edildi.

#### 4. Deney Grubu:

$2 \times 10^6$  hepatosit her bir dalak için alt kutbundan organın parenşimine enjekte edildi, organın damarları bağlanmadığı gibi karaciğerdede rezeksiyon yapılmadı. 1., 2., 3. ve 4. haftalarda dalaklar alındı ve hepatositler değerlendirildi.

Kontrol grubu olarak 4 sıçana aynı işlemden sonra 0.1cc HBS solüsyonu dalağa enjekte edildi.

1. ve 3. deney gruplarımızda yaptığımız hepatektomi, dalak içi hepatosit proliferasyonuna rezeke karaciğerin sistemik dolaşıma vereceği HGF ve diğer hepatotrofik faktörlerin olumlu etkisinin gözlenmesi amacıyla yapıldı (12,43,50,68,71,119,155,157,159). Karaciğere yapılan hepatektomi median lob damarının bağlanması ve rezeksiyon ile gerçekleştirildi (35). Yapılan rezeksiyon sonrası ratlar rezeksiyon sonrası oluşan hipoterminin olumsuz etkisini kompanse etmek için (35)  $35-37^{\circ}\text{C}$  ayarlanmış ısıtıcı lambalar altında 12-16 saat bekletildiler. Enjeksiyon yapılan dalak bölgesine kısa süreli tampon yapılması ve buradan olabilecek sızmalarda hepatosit kaybının önlenmesine dikkat edilmiştir ki bu sızmada verilen hepatositlerin %40 oranında kaybının olabileceği sözkonusudur (149).

Dalak damarlarının ligasyonu organdan damar akımına bağlı hücre kaybının önlenip önlenemeyeceğini araştırmak amacıyla yapıldı (105).

Dalağı alınacak olan ratlar eter anestezisi altında uyutulduktan sonra batin bölgesi linea alba trasesi boyunca insizyon ile açıldı, abdominal aortadan 5cc'lik enjektör ile girilip nötral formol salin enjekte edildi. Böylece sıçanın bütün organları tesbit edildi ve takiben dalağa ulaşıldı, organın etrafındaki varsa adhezif unsurlar temizlendi ve organ çıkarılıp nötral formol salin içine  $0.5 \times 1 \times 1 \text{cm}$  olacak şekilde kesilip bırakıldı. 48 saat sonra parafin takibine alındı.

Beş mikron kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen Eozin ile boyandıktan sonra Olympus PM-10 AD foto ataşmanlı ışık mikroskobu ile incelendi.



#### 4.BULGULAR

Bütün deney gruplarında hepatotomi yapılması veya dalak damarlarının bağlanması göz önüne alınmaksızın yapılan hepatosit ekimlerinin 1.,2.,3. ve 4.hafta değerlendirmeleri yapıldığında sonuçlarda dikkate değer bir değişiklik olmadığı çalışmada tesbid edildi.

Ekim yapılan fetal hepatositlerin dalak paransimindeki düzenlenmesi değerlendirildiğinde 1.,2.,3. ve 4. haftalarda organize (RESİM-9) bir yapılanma olmadığı görüldü.Bütün gruplar arasında yapılan inceleme sonucu fetal hepatositlerin kırmızı pulpa içerisinde dağınık durumda bulunduğu(RESİM-10),yer yer beyaz pulpa etrafında lokalize olduğu gözleniyorsada genel incelemede bu yapılanmanın anlamlı olmadığı tesbid edildi (RESİM-11).

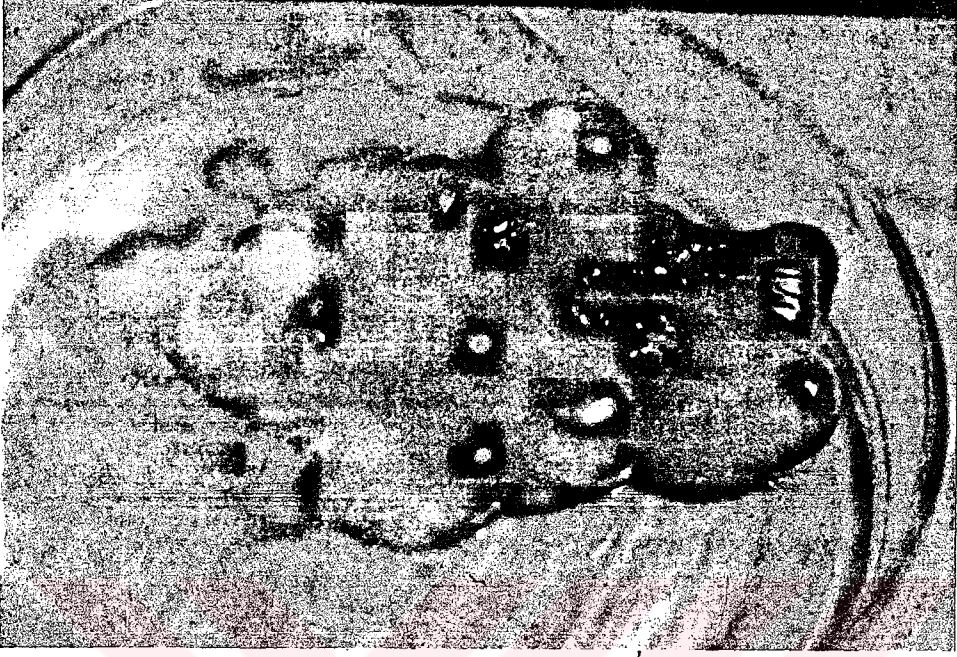
Eozinofilik sitoplazmaya ve ökaryotik nukleusa sahip ekim yapılan fetal hepatositlerin konturlarının düzenliliğine bakılarak hücrelerin fizyolojik,canlı olduğu tesbid edildi (RESİM- 12).Fetal hepatositlerin etrafında normal dalak hücrelerinin gruplaşma veya yoğunlaşma yapmadığı,akut doku reddi reaksiyonunda gözlenen mononükleer hücre infiltrasyonunun olmadığı görüldü ve bu durum fetal hepatositlerin dalakta yabancı unsur olarak tanınmadığı kanaatini uyandırdı.Ayrıca dalak paransiminde normal görüntüden farklı bir şey yoktu ve nekroz bulguları görülmedi.

İlk iki haftalardaki incelemelerde dalak paransimi içinde bir miktar doku sıvısı varlığı tesbid edilmekle beraber,ancak daha sonraki haftalarda bu kayboldu (RESİM-13).

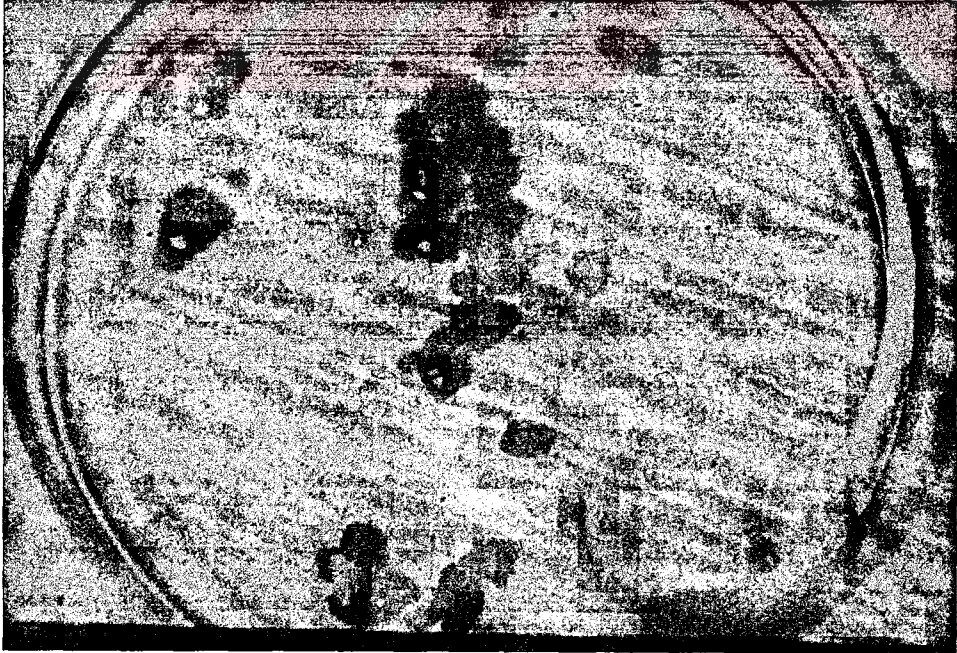
Her deney grubunda kontrol olarak dalak paransimine verilen 0.1ml HBS solüsyonunun dalakta herhangi bir dikkate değer değişikliğe sebep olmadığı tesbid edildi.

Deney gruplarında gözlenen diğer önemli bir bulguda fetal kaynaklı hematopoetik hücrelerin kırmızı pulpada tesbid edilmesi idi (RESİM-13).

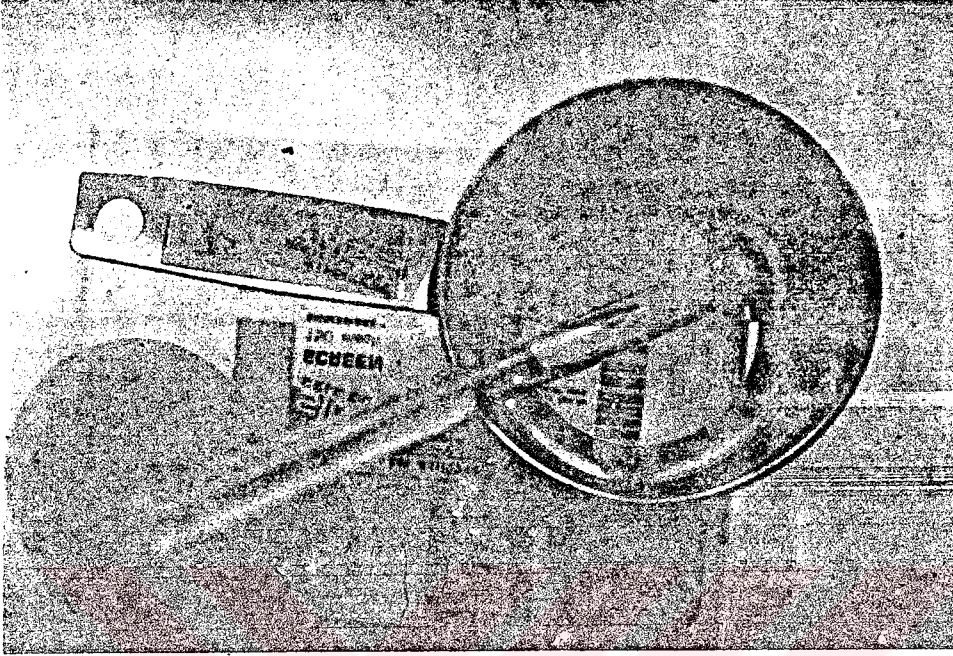
Sonuç olarak bütün guruplarda ve incelenen haftalara bağlı olmaksızın dalak paransimine ekimi yapılan fetal hepatositlerin kırmızı pulpada canlı olarak dağılmış olduğu gözlendi.Guruplararası bir değişiklik olmadığı için ekilen fetal hepatositlerin göç veya kaybı konusunda değerlendirme yapılmamıştır.



Resim 1.Petri kutusunda toplanan 3.trimestr başındaki sıçan f6t6sları.



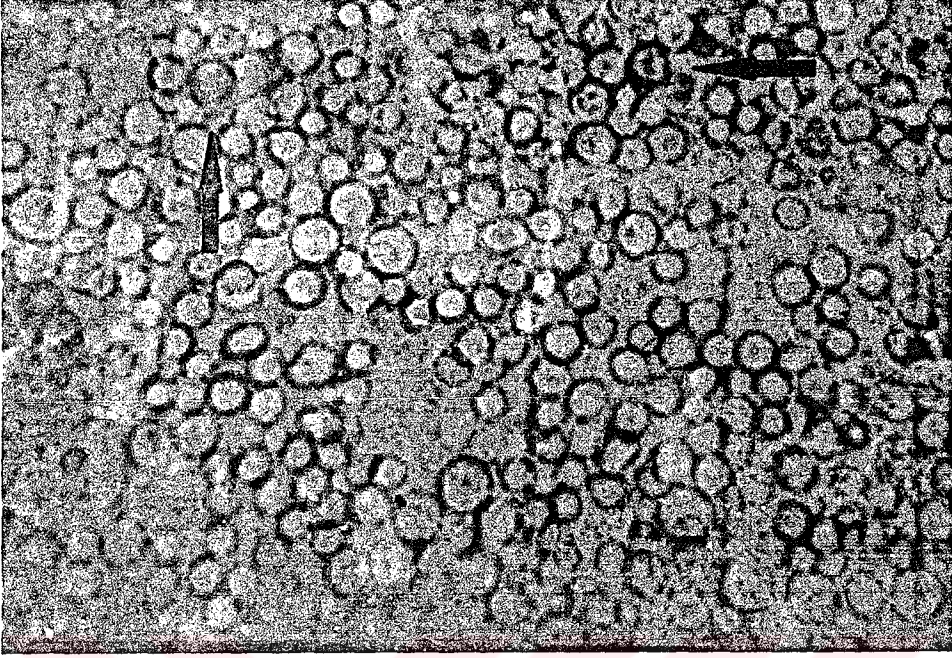
Resim 2. Petri kutusunda toplanan sıçan f6t6s karaciğerleri.



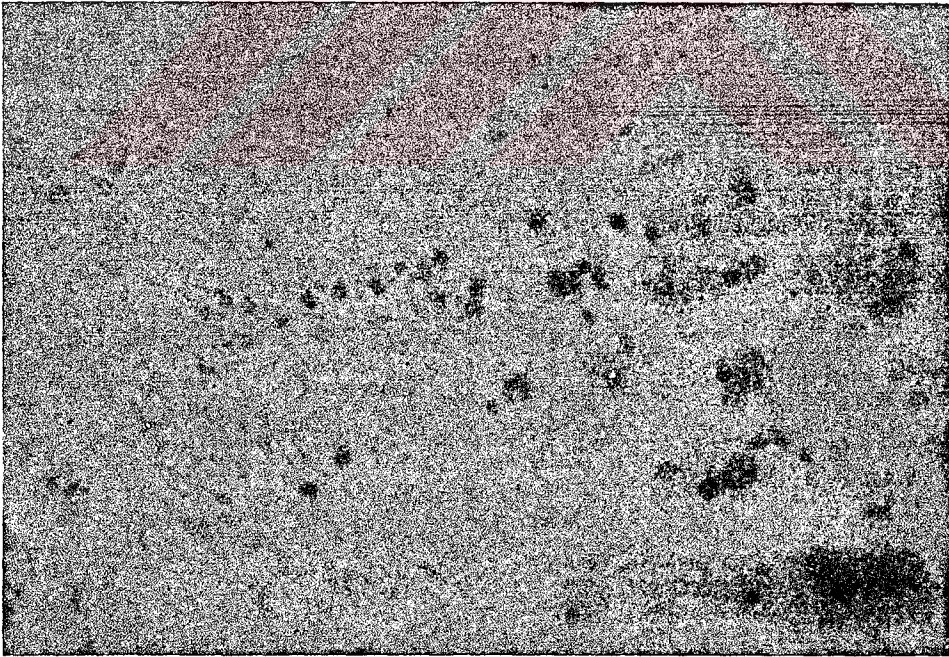
Resim 3. Özel doku disosiasyon ekipmanı.



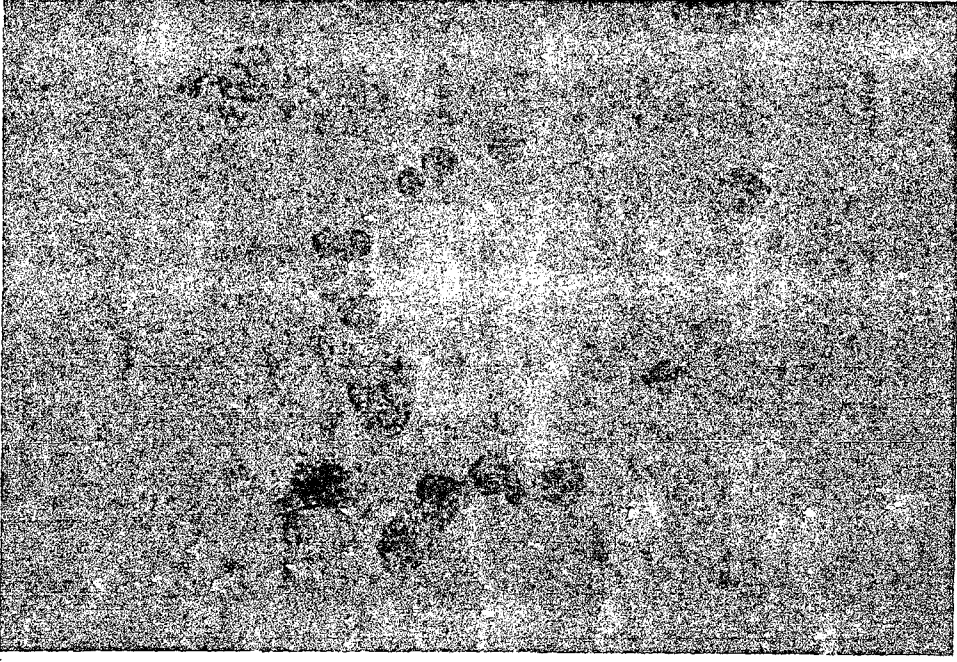
Resim 4. Tübün alt kısmında santrifüje edilmiş hepatositler görünmekte.



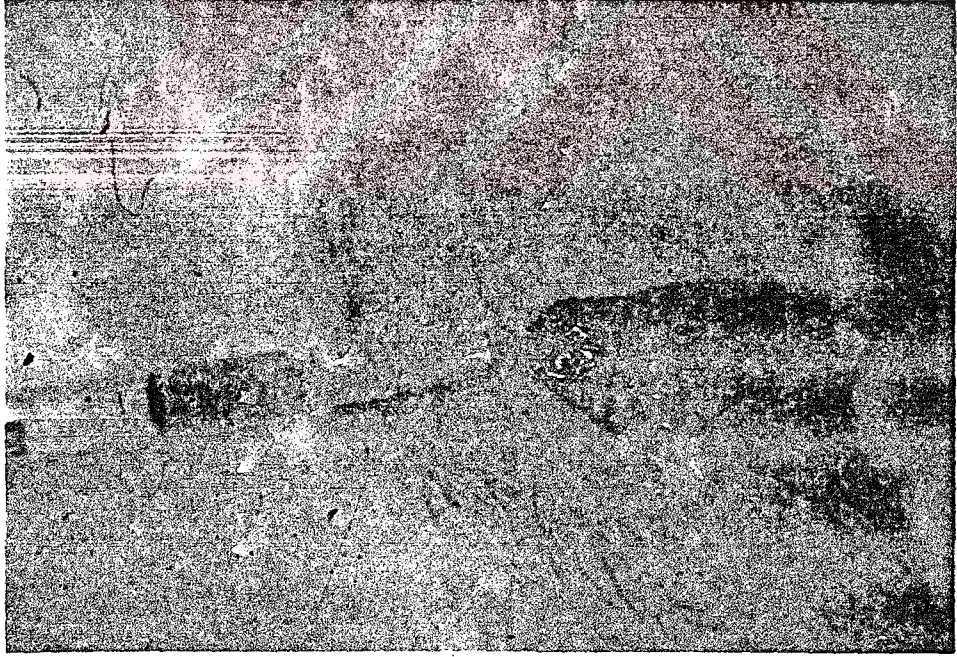
Resim 5. Trypan blue canlılık testi.Boya alan koyu hücreler ölü hücrelerdir.



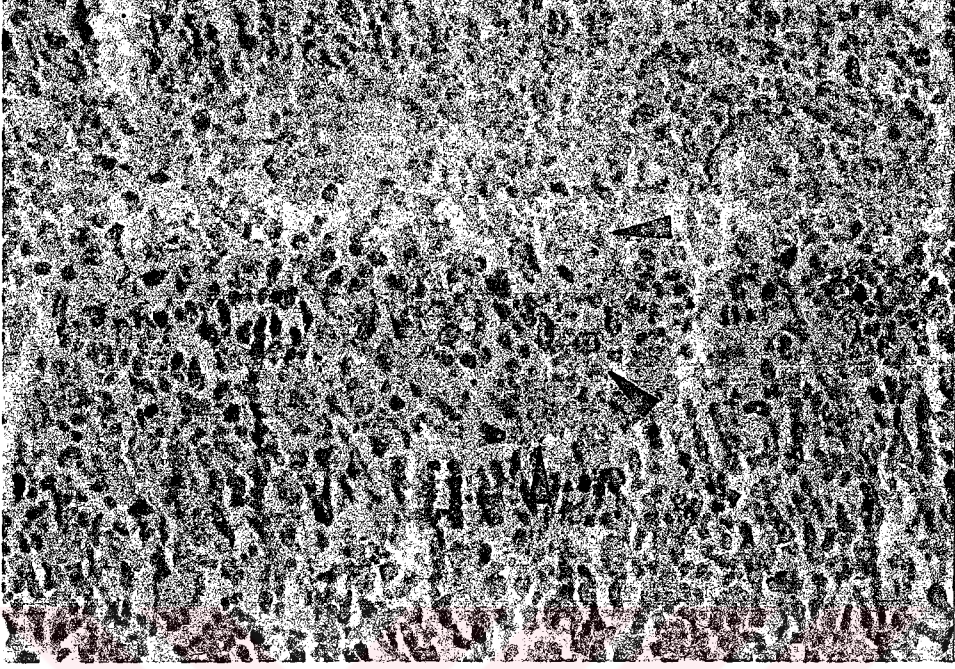
Resim 6: Transplantasyona hazır tek hücre formuna getirilmiş hepatosit süspansiyonunun yayması.H.E. ;FMB, X 132.



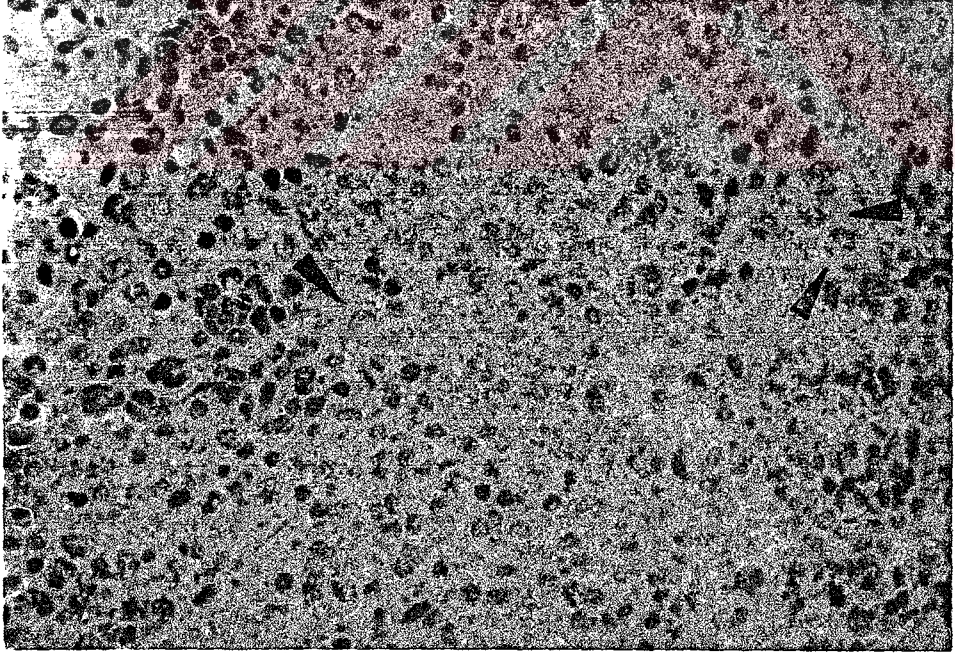
Resim 7: Transplantasyona hazır tek hücre formuna getirilmiş hepatosit süspansiyonunun yayması.H.E.;FMB, X 330.



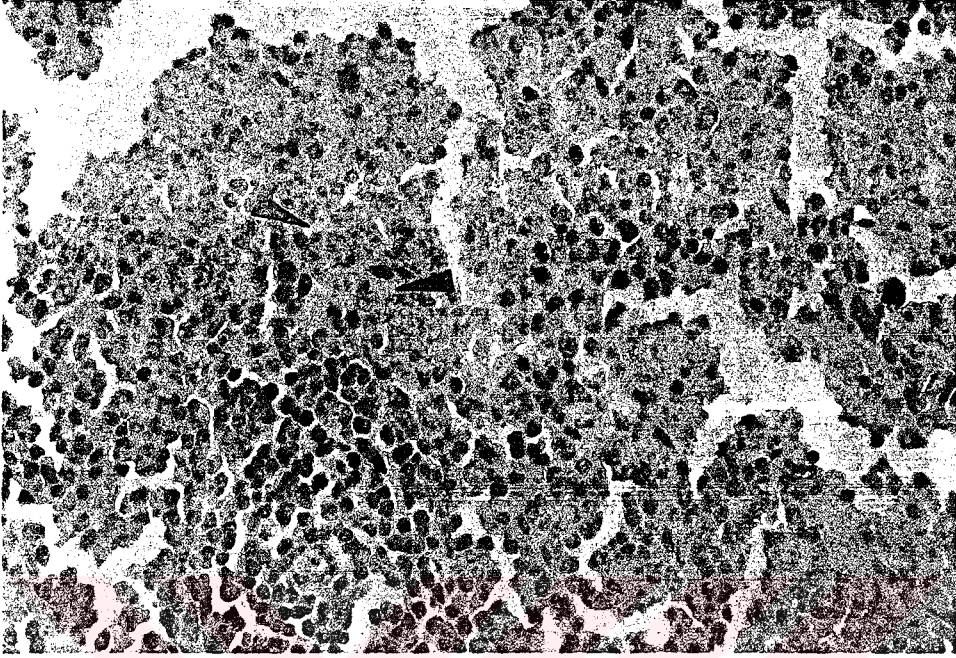
Resim 8: İnsulin iğnesi ile dalağın alt kutbuna uygulanan fötal sıçan hepatosit süspansiyonunun enjeksiyonu.



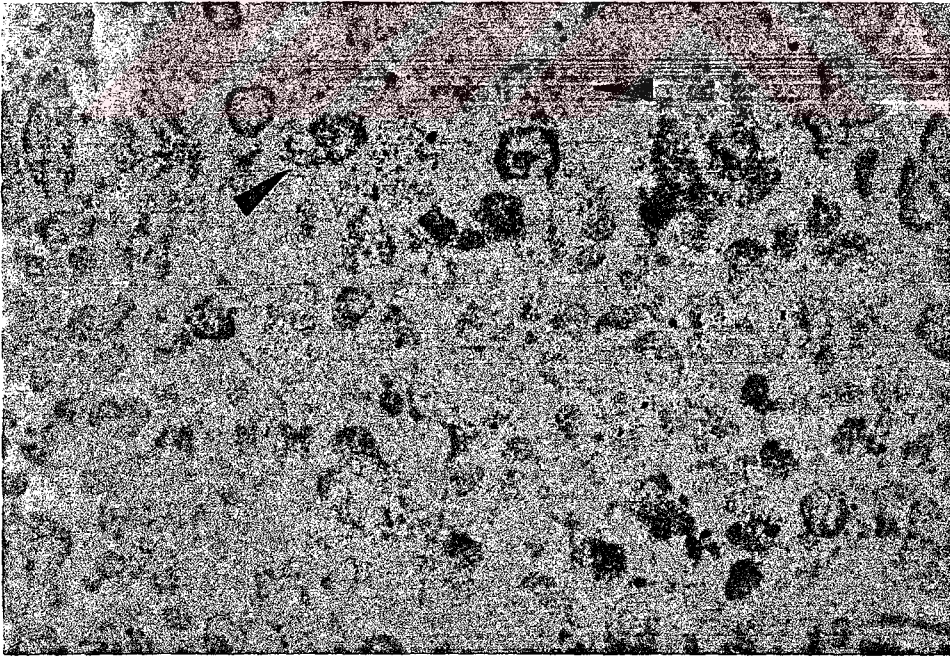
Resim 9: Kırmızı pulpa içerisinde dağınık fetal hepatositler.H.E.;FMB, X 132.



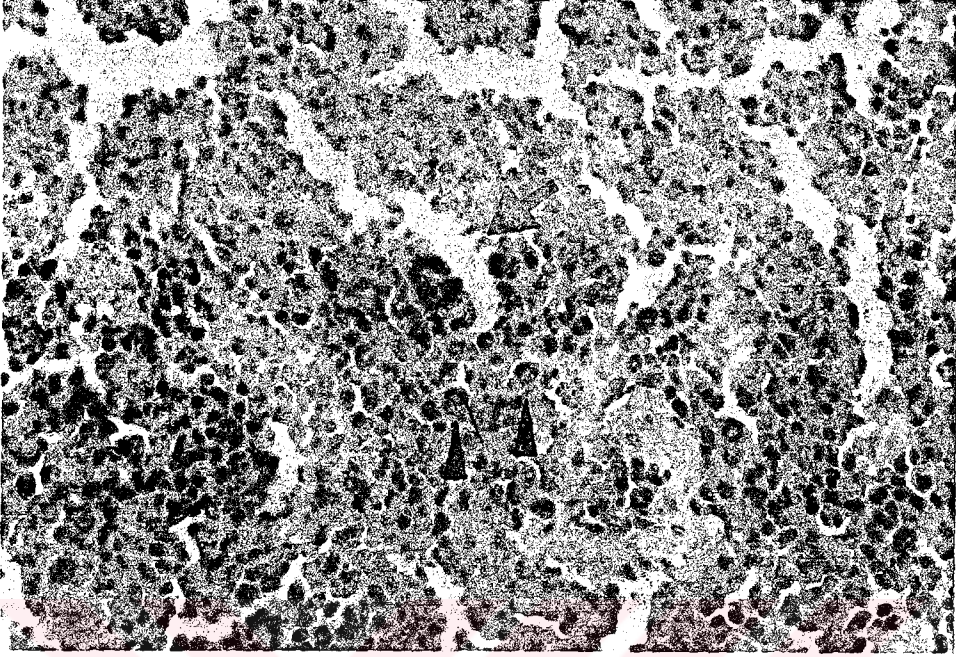
Resim 10: Transplantasyon sonrası dalak parenşiminde sıçan hepatositleri gözlenmekte.H.E.;FMB, X 132.



Resim 11: Kırmızı pulpa içerisinde yer yer beyaz pulpaya yakın lokalize olmuş ancak organizasyon göstermeyen hepatositler.H.E.;FMB,X 132.



Resim 12: Kırmızı pulpa içerisinde fizyolojik, canlı hepatositler.H.E.;FMB, X 330



Resim 13: Uygulamanın ilk iki haftasında az miktarda doku sıvısı (büyük ok) ve hematopoetik kök hücreler (küçük ok) dalak parenşiminde gözlenmekte. H.E.; FMB. X 132.



## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Fötal hepatositlerin tek hücre formunda elde edilmesinde aspirasyon (6,93) ve kollagenaz (49,50,121,126) metodu alternatif olarak mevcuttur ve bu yollarla daha yüksek sayıda hepatosit sağlanabilmesine rağmen daha hızlı olduğu için çalışmamızda mekanik yol tercih edildi (117).Mekanik yol kullanılırken Pronase,Dispase II veya DNAase uygulaması tek tip hücre eldesi için önemli bir yardımcı konumdadır ancak çalışmada bu enzimleri kullanma imkanı bulunamadı.Bu enzimlerin kullanımı hücreler arasında agregasyonu önlediği için tek hücre uygulamasında yardımcıdır,çalışmada bunun yerine hepatosit süspansiyonunun pipetle ajitasyonu yapıldı,bunun dezavantajı canlı hücre yüzdesini %2-5 oranında azaltmasıdır.

Çalışma gruplarındaki dalakların ilk hafta bulgularının elde edilmesi, literatürde daha çok 4-10 aylık ekim sonrası değerlendirmeler bulunduğu göz önüne alındığında sonuçlar bu açıdan olumlu bir özellik taşımaktadır.

DeneySEL çalışmalar rat ve farelerde başlamış köpek (12,117),at(124), maymun (16), tavşan(50),koyun(124),domuz(106),keçilerde (113) başarıyla uygulanmıştır.Değişik deney hayvanları arasında hepatositlerin dalaktaki tutunma ve fonksiyon farklılığını kıyaslamak istedik fakat yapılan çalışmalardaki amaçlar çok çeşitli idi.Bazı araştırmacılar immün yetmezliklerin tedavisindeki yerini bazıları ise değişik karaciğer patoljilerindeki özelliklerini incelemiş.Genelleme yapmayı zorlaştıran bir unsur da kullanılan hepatositlerin kökeninden kaynaklanmaktadır:Bazı yayında ksenograftik amaç gözlenmişken bazısında syngenik uygulama yapılmış,fötal alım periodları arasındada farklılıklar dikkat çekicidir. Genelleme yapmakta karşılaşılan bir diğer problemde çalışmalar arası kullanılan transfer vasatındaki ileri farklılıklardır ki ;kimisi fötal at serumunu %10, kimisi %20,kimisi fötal dana serumunu değişik oranlarda kullanırken bir başka araştırmacı neonatal dana serumu kullanmış kimisi hiç serum kullanmamış,hepatotrofik ve mitotik ajanlar kullanmıştır.Bir kısım araştırmacı dondurup saklama tekniğinin özel vasatlarını kullanmış,bir kısım araştırmacıda vasat içeriği hakkında bilgi vermemiştir.Bu sebeplerden dolayı yani çalışma standartlarının ileri derecede birbirinde farklı olması genelleme imkanını ortadan kaldırmıştır.Bütün bunlara ilaveten hemen her araştırmacının ekimde kullandığı total ve canlı hepatosit oranında sonuçları önemli derecede etkileyecek farklılıklar bulunmaktadır.

Fötal hepatosit süspansiyon transplantasyonu hangi organa yapılmalıdır? Bu üzerinde çok çalışılan bir konudur.Karaciğerin bağ dokusu dağılımı açısından disse

aralıklarında tip 1 ve tip 3 kollajenden zengin olması aynı özellikleri taşıyan dalak, akciğer ve damar yatakları üzerine daha çok durulmasına sebep olmuştur(38) . Üzerinde en çok durulan organlar periton içi (2,13,14,86,121), dalak (12,21,29,42,84,107,111,126), pankreas (56,57,154), akciğer(126,139), pulmoner vasküler yatak (129),portal vasküler yatak (52,152), böbreküstü bezi kapsülü, interskapular yağ dokusu(45), deri altı yağ dokusu,mezotestis(33), gözün ön kamarası (33,41,50),renal kapsül altı , ayak dorsal yağ dokusu (41) gibi yerlerdir .Bu amaç için TC-99<sup>M</sup>-HIDA ile sintigrafi çalışmaları yapılmıştır (21).Hepatosit ekim yerleri arasında kıyaslamalar yapıldığında (41) parametre olarak :

Transplantasyon şekli açısından; dorsal ayak yağ dokusu,perkütan;peritoneal kavite,perkütan;böbrek kapsülü altı, pankreas, dalak ve karaciğer,laporatomi ile.

Muhtemel komplikasyonlar açısından; dorsal yağ dokusu ,peritoneal kavite,minimal;böbrek kapsülü altı,pankreas, cerrahi girişim'e bağlı;dalak,orta derece;karaciğer ise portal ven trombozu ve infark riski ile dikkatli cerrahi girişim gerektirir.

Hepatosit barındırma kapasitesi açısından; dorsal ayak yağ dokusu ve karaciğer orta ;böbrek kapsülü altı en düşük;pankreas ve dalak orta veya düşük kapasitede bulunmaktadır.

Hepatosit'in dokuda tutunma süresi açıdan; dorsal ayak yağ dokusu,peritoneal kavite,böbrek kapsülü altı ve pankreas için ortalama 90 gün ömür tesbid edilmiştir;dalak ve karaciğer ise ömür boyu transplante hepatosite yataklık etmektedir.

Metabolik patolojileri düzeltmesi açısından ise; dorsal ayak yağ dokusu ve renal kapsül altında tedavi edici özellik bulunmamaktadır;peritoneal kavite, pankreas,dalak ve karaciğerde yapılan uygulamalarda ise tedavi edici sonuçlar alınmıştır.

Tüm bu değerlendirmelerden çıkaracağımız netice; hepatositler için en çok istenen özelliğin ekstrasellüler matriksin karaciğerdekine benzer özellikler taşımasıdır.Bunun içinde en uygunu organın yapısındaki retiküler bağ dokusu bakımından karaciğere benzerliğinden dolayı dalak olduğu anlaşılmaktadır (25,41,95).

Bizim çalışmamızda; erişkin 200gm'lık ratta toplam hepatosit hücre miktarı  $5 \times 10^8$  (149) olup çalışmamızda  $2 \times 10^6$  fötal karaciğer hücre enjeksiyonu yapılmıştır, bu toplam hepatosit sayısınının %0.4'üne denk gelmekte ancak fötal rat karaciğerinde hematopoetik dokunun hepatosit oranı erişkine göre yüksek olup yaptığımız enjeksiyondaki hepatosit miktarını olumsuz yönde etkilemiştir.Süspansiyondaki

hepatositlerin saflaştırılması santrifüj yoğunluk dağılım özelliklerine göre yapılabilirdi ancak uygulama zamanını uzatacağı için tercih edilmedi. Diğer rat çalışmalarında kullanılan transfer vasatı ile bizim çalışmada kullandığımızı kıyaslarsak bizim kullandığımız HBSS besleyici değeri olmıyan ancak kısa süreli muhafazaya müsait ve sadece tampon sıvı özelliği olan zayıf bir vasattır. Bu alıcıdaki tutunan hepatositleri olumsuz yönde etkileyecek bir durumdur. Çalışmamızda; Henne-Bruns ve arkadaşlarının(49) 1. haftadaki bulguları ile kıyaslarsak, kırmızı pulpada bizim daha az tutunan hücrelerimiz mevcut, bunun sebebini bu ekibin bizden 20 kat fazla hepatosit ekimi yaptığına bağlıyabiliriz. 4.hafta bulgusu olarak Cuervas ve arkadaşlarının (21)“kırmızı pulpada dağınık hepatosit” değerlendirmesi ile uyumludur ancak Hıllan ve arkadaşlarının 4.hafta bulgusu olarak kırmızı pulpanın %4-17'sinin hepatize olması bizim bulgularımızda ise sadece kırmızı pulpa içinde tek tek dağınık olması yani çok düşük bir yüzde tutması belirgin bir farklılıktır, Hıllan çalışmasında karaciğer CCl<sub>4</sub> ile hasara uğratılmış ve bizden farklı olarak 10<sup>7</sup> hepatosit ekimi Leibowitz 15 vasatı kullanılarak yapılmıştır.

Dalakta organizasyon açısından hepatosit gruplaşmasının 12.haftadan sonra belirginleşmeye başladığı Darby ve arkadaşlarıncı (25) belirtilmektedir. Bu organizasyonda hepatositlerin kordon düzenine geçmesi ve dalağın %40 civarında hepatize olması beklenmektedir.

Ekim yeri olarak organizmanın dalak veya karaciğer dışındaki diğer vücut bölgelerine yapılan hepatosit ekimi enkapsüle edilmemiş yani alginat gibi biouyumluluğu olan bir organik bir polimer ile kaplanmamış ise tutunmamakta, kaybolmaktadır. Buna sebep olarak karaciğer parenkimal özelliklere uygun retiküler lif dağılımının olmadığı dokularda hepatosit yüzey reseptörlerinin hücreyi hayatta tutan sinyalleri veremediği veya retiküler dağılım özelliğinin oluşturduğu ve hepatositler için adeta bir ağ veya file fonksiyonu eksikliği sözkonusu olunca hepatositlerin venöz dolaşıma geçip kaybolduğu görüşü mevcuttur(41).

Çalışmamızda yapılan allograftik uygulamada immünoşüpresif kullanılmaması, ikinci trimester başındaki fötüsün immunolojik özelliklerinin gelişmemiş olduğu yolundaki Touraine ve arkadaşlarının (144) görüşünü desteklemektedir.

Dalağın organ olarak en önemli dezavantajı tutabileceği hepatosit sayısının sınırlı olmasıdır (41). Ancak kapsadığı retiküler lif ve dağılım yapısı karaciğere benzediğinden tutunmaya en uygun ve hayatini sürdürmesi için de en iyi vücut parçasıdır

(12,21,29,41,84,111). Bizde bundan dolayı dalağı seçtik.Dalağın bu düşük hepatosit kabul kapasitesi organ yatağına olan gereksinimi ortadan kaldırmaya yönelik çalışmalara bilim adamlarını yönlendirmiş ve hepatositlerin kollajen, alginat jellere,polivinil alkol gövdeler veya politetrafloroetilen (11,15,53,62,74,94) yapılara enjekte edilip uygulanması ve bu uygulamanın mikrokapsül ile yapılması durumunda ksenograf uygulamalarının bile immünsüpresyona ihtiyaç bırakmadan kullanım imkanı bulunmuştur (1,31,108,114). Mikrokapsül uygulaması olmadanda ksenograf transplantasyonlar yapılmış karaciğer yetmezliğinde tedavi edici neticelere ulaşılmıştır,MHC antijenlerinin hayati tehlike sözkonusu olduğunda göz ardı edilebilecek unsurlar olduğu fikri gelişmiştir (84,86).

Hepatositlerin karaciğerdeki periportal ve perivenöz yerleşimli olanlarının saflaştırılması ve bu şekildeki saf formların amaca yönelik olarak süspansiyonlarının transplantasyonu üzerinde çalışılmakta ve tedavide başarı yüzdesinin artması beklenmektedir. Bu durumda hastalığın tedavisine en uygun hücre grubu seçilebilecektir(120).

Dalak içi hepatosit uygulamasının ne şekilde iyileşmeye sebep olduğunun tam izahı yapılamamış olup hepatositlerin metabolik etkisinden ziyade salgıladığı hepatotrofik faktörlerden kaynaklanmış olabileceği söz konusudur. Deneysel karaciğer yetmezliğine sevk edilen ratlar normal hepatosit sayılarının %1-5'i enjekte edilince bile hayatlarını kurtarmaktadır,bu durumun izahı henüz yapılmamış ama hayat kurtarıcının hepatosit salgıları olabileceği ileri sürülmektedir (120).

Uygulama tek hücre formunda değilde doku implantları tarzında (0.8mm'den küçük olmak şartı ile) yapıldığında bile istenilen neticelere ulaşılmıştır (33,80,138). Akut karaciğer yetmezliğinde hasta ömrünü önemli ölçüde uzatmıştır,implant uygulamasında alıcı organ dalak (7) ,omentum(133) ve inguinal yağ dokusu (47) çalışılmıştır,hepatositlerin buralarda önemli fonksiyonları icra ettikleri bulunmuştur.

Uygulamanın klinik kaynağı olarak hepatositler düşüklerden temin edilebileceği gibi erişkin kadavralarındanda temin edilebilir ki sıcak iskemi zamanı yaklaşık 90 dakika olan bu hücrelerin söz konusu süre içinde %79 canlı olduğu bildirilmektedir (137).Bu şekilde yeni ölmüş bir şahsın hepatositleri tek hücre şekline getirilip -85 °C dercede dondurulup bir banka oluşturmak bile mümkündür.Bu uygulamanın istikbal açısından bir çok avantajı olup bunları sıraladığımızda; "gen terapisi" olarak adlandırılan yeni klinik uygulamalara müsait olması (44,45,66,152) , hepatosit proliferasyon hızını artırmada karaciğer sitozol perfüzyonunun uygulanmasının olumlu neticeler vermesi umut bağlanan

deneysel çalışmalardır (96). Renkli imaj sistemleri ile hepatositlerin total sayı ve hacminin akibetinin ne olduğu deneysel ve klinik biopsilerinde çok detaylı olarak çalışılabilirliği (55), uygulamanın bir versiyonu olan deneğin kendi sağlam hepatositlerinin kültüre edilip çoğaltılması ve ototransplantasyon halinde uygulanması (150), gene üzerinde yoğun çalışılan araştırma konusu ise uygun şartların temini ile neonatal hepatosit kullanım imkanının geliştirilmesi çalışmalarıdır(101) ki hepatositleri pankreas adacıkları ile beraber kültüre edip kotransplantasyon yapıldığında hepatositlerin proliferasyonu artırmakta olup, konunun daha ileri araştırmalara ihtiyaç gösterdiği açıktır(24,76,78,107,112).

Ancak intrasplenik hepatosit transplantasyonunda enjekte edilen hücrelerin proliferasyon göstermediğine dair yayınlarda mevcuttur ki (49)bunun izahı yapılamamıştır. zerinde çalıştığımız bu projede amaçlanan işlem basamaklarının uygulanması başarılı ve uyumlu bir ekip çalışması ile gerçekleştirilmiş ve deney modelinin uygulaması yapılmıştır.Dalakta hepatosit organizasyonu için immunohistokimya kullanımını faydalı bir yöntem olmakla beraber çalışmamızda imkan bulunamadı.Ancak tutunan hepatositlerin varlığı fötal hepatositler için erişkin dalağının uygun bir organ olduğu anlaşılmıştır.

Yenilikleri takip ve bunların kliniğe yansımadaki pratiğin ilk basamakları olmasına rağmen çalışmanın neticesi cesaret vericidir.Gene bu çalışmanın kazandıracığı tecrübe ve bilgi birikimleri ile fötal hücrelerin diğer organlardaki uygulama sahalarna daha rahatlıkla girip şu anda ileri ülkelerde uygulaması yapılan nöroblastların Parkinson hastalığında kullanımını ve pankreas endokrin patolojilerinde beta hücre nakli gibi ülkemize kazandırılması gereken teknikler üzerinde çalışmaların n açılmıştır.Bu alışma sürecinde bu konunun yurt dışındaki otrlerinden Dr.J.L.Touraine (Claude-Bernard Üniversitesi,Tıp Fakültesi,Lyon-Fransa) ve Dr.Norman Kneteman (Alberta Üniversitesi,Tıp Fakültesi,Edmonton-Kanada) ile bizzat karşılıklı yüz yüze şahsi temas yapılmış ve her iki otrnde belirtiği ve tıpta yeni bir kavram olarak “single cell therapy” ifadesi ile yer bulan bu uygulamalar geleceğin tedavi metodlarını oluşturacakları mit edilmektedir.

## 6.ÖZET

Oldukça yüksek bir morbidite ve mortaliteye sahip olan akut karaciğer yetmezliğinde akut kritik dönem geçici olarak bile olsa sağlanacak hepatik desteğin çok önemli olduğu bilinmektedir.Akut karaciğer yetmezliğinde taze olarak hazırlanan hepatosit süspansiyonunun en azından geçici bir destek olduğu tesbid edilirken son dönem karaciğer hastalığı ve yenidoğanların ilgili genetik hastalıklarında yegane seçenek olarak gözlenen orthotropik karaciğer nakline alternatif olarak hepatoselüler transplantasyon gündeme gelmiştir.Bu transplantasyonda fötal dönem eğer uygun şekilde değerlendirilirse zayıf antijenik özelliklere sahip olan hücrelerin nakli doku reddi ve alıcıda immünsüpresyon uygulamasını ortadan kaldırmaktadır.Çalışmada hücrelerin daha iyi tutunma şartları imkanını araştırmak için oluşturulan dalak damarlarının bağlanması ve hepatokteminin sağlayacağı hepatotrofik faktör salgılanmasının olumlu etkileri, deney guruplarında haftalara bağlı kalmaksızın canlı fötal hepatositlerin kırmızı pulpada dağılmış olması bulgusunun ortak olması nedeniyle gruplar arası farklılık olmadığı sonucuna götürmüştür.Uygulamada allograftik fötal hücreler immünsüpresyon yapılmadan enjekte edildi ve alıcı organ olan dalakta doku reddi gözlenmedi.

Ekimi yapılan fötal hücreler için dalağın uygun bir yatak olduğu anlaşılmıştır.

Yapılan işlemler bir ekip çalışmasını gerektirmekte olup uzun bir deneyim safhasından sonra amaçlanan metod gerçekleşmiştir.

## 7.SUMMARY

Acute liver failure has a high degree of morbidity and mortality and it is known that even a transient support to the organ is very important during the acute critical stage. It is now understood that during acute liver failure hepatocyte suspension can give at least transient support. For late stage liver failure and newborn liver genetic diseases the classic method is orthotopic liver organ transplantation but currently hepatocellular transplantation is an alternative approach for these diseases. If the fetal period can be used properly we can obtain cells with low antigenic properties and so when using these cells in transplantation for allogenic organisms there is no transplantation failure and we don't need immunosuppression. In the study clamping spleen vessels and hepatocemia hepatotrophic factors were made to understand if they had any desired effects on hepatocyte survival in the spleen. But in all experiment groups and in all weeks explored the results were very similar as, viable fetal hepatocytes separated in the red pulp of the spleen. So neither clamping spleen vessels nor hepatotrophic factors from hepatocemia gave any advantage on hepatocyte survival in the spleen. In the study allograftic fetal cells were injected and no immunosuppression was made and no transplantation failure was observed.

It is understood that spleen can be a good receptive organ for transplanted fetal hepatocytes.

The procedures done need a good team concordance and after a long, deep experience stage realizing the methods with success was achieved.

## 8.KISALTMALAR

1. L-CAM.....Liver Cell Adhesion Molecule
2. IGF-1.....Insulin Like Growth Factor-1
3. IGF-2.....Insulin Like Growth Factor-2
4. GH.....Growth Hormon
5. T<sub>3</sub>.....Triiodotironin
6. EGF..... Epidermal Growth Factor
7. VLDL.....Very Low Density Lipoprotein
8. HBSS.....Hank's Buffered Salt Solution
9. PBS.....Phosphate Buffer Saline
- 10.HGF.....Hepatocyte Growth Factor
- 11.GER.....Granüler Endoplazmik Retikulum
- 12.AGER.....Agranüler Endoplazmik Retikulum



## 9.LİTERATÜR

1. Aebischer,P., Buchser,E., Joseph,J.M., Favre,J., Tribolet,N., Lysaght,M., Rudnick,S., Goddard,M. (1994) Transplantation in humans of encapsulated xenogeneic cells without immunosuppression.*Transplantation*,58,11,1275-1276.
2. Aiken,J.,Cima,L.,Schloo,B.,Mooney,D.,Johnson,L.,Langer,R.,Vacanti,J..(1990) Studies in rat liver perfusion for optimal harvest of hepatocytes. *J.Pediatric Surgery*. 25,No 1,140-145.
3. April,E.W.(1984) *Anatomy*,First edition, Harwal Publishing Company Media, Pennsylvania.
4. Arıncı,K.Elhan,A.(1995) *Anatomi Cilt 1*, 1.Baskı,Güneş Kitabevi,Ankara.
5. Bacchetta,R.,Vandekerckhove,A.Tourine,J.L.,Bigler,M.,Martino,S.,Gebuhrer,L.,Vries,J.,Spits,H.,Ronarolo,M.G.(1993)Chimerism and tolerance to host and donor in severe combined immunodeficiencies transplanted with fetal liver stem cells.*J.Clin.Invest*.91,1067-1078.
6. Bataillard,A.,Vincent,M.,Sassard,J.,Tourine,J.L.(1991) Fetal liver cell transplantation fails to transfer hypertension from genetically hypersensitive rats of the Lyon strain.*J.Hypertension*.9,85-90.
7. Baumgartner,D.,O'Neill,P.M., Sutherland,D., Najarian,J.S. (1983) Effects of intrasplenic injection of hepatocytes,hepatocyte fragments and hepatocyte culture supernants on D-galactosamine induced liver failure rats.*Eur.Surg.Res*.15,129-135.
8. Berg,R.G.M.,Dronkers,C,Marquet R.,Westbroek (1985) Effect of viable isolated hepatocytes or hepatocyte fractions on survival rate following galactosamine-induced acute liver failure.*Eur.Surg.Res*.17, 109-118.
9. Bissell,D.M. (1987) Support of cultured hepatocytes by a laminin rich gel. Evidence for a functionally significant subendotelial matrix in normal rat liver.*J.Clin. Invest.*,79,801-809.
10. Bloom,W.,Fawcett,D.(1968) *A textbook of Histology*.W.B.Saunders Comp. 407-410.
11. Borel-Rinkes,I.H.M., Bijma,A.M., Kappers,W.A., Sinaasappel,M., Hoek, F.J., Jansen,P.L.M.,Valerio,D.,Terpstra,O.T. (1992) Evidence of metabolic activity of adult and fetal rat hepatocytes transplanted into solid supports. *Transplantation*.54,210-214.

12. Briand,D.,Centene,N.A., Astre,C., Aubert,B.S., Joyeux,H. (1993)Comparison of two methods of autologous intrasplenic hepatocellular transplantation in partially hepatectomized dogs. *Eur.Surg.Res.*25,104-109.
13. Bruns,H.,Krüger,U.,Sümpelmann,D.,Lierse,W.,Kremer,B. (1991) Intraperitoneal hepatocyte transplantation: morphological results.*Virchows Archiv A Pathol Anat.* 419,45-50.
14. Bruns,H.,Sümpelmann,D.,Krüger,U.,Kremer,B.(1990) Intraperitoneal hepatozten transplantation: morphologische befunde und klinische relevanz. *Helv. Chir. Acta.* 57,717-723.
15. Bumgardner,G.L., Almond,P.S., Chen,S., Matas,A.J. (1991) Indirect antigen presentation of hepatocyte (HC) MHC Class I antigen in HC-sponge matrix allografts.*Transplantation Proceedings.*23,No 1,835-836.
16. Cain,G.R.,Chaplin,R.,Jain,N. (1989) Immune thrombocytopenia in dogs after fetal liver hematopoietic cell transplantation.*Exp.Hematol.*17, 287-291.
17. Caraceni,P., Gasbarrini,A., Ryu,H.S., Nussler,A., Bartoli,F.,Faggiuoli,S.,Borle,B., Thiel, D.H.V.(1994) Human hepatocytes differ from rat hepatocytes in their sensitivity to anoxia-reoxygenation injury.*Transplantation Proceedings*,26,6,3307-3308.
18. Carola,R.,Harley,J.,Noback,C.R. (1992) Human anatomy and physiology.2<sup>th</sup> edition .McGraw Hill Company.682-683.
19. Chernausek,S.D. (1987) Characteristics of hepatic receptors for somatomedin-C/insulin in the developing human.*J.Clin.Endocrinol.Metabol*,64,737-743.
20. Cuervas-Mons,V.,Cienfuegos,J.A.,Maganto,P.,Golitsou,A.,Eroles,G.,Castillo-Olivares, J.,Segova de Arana,J.M. (1984) Time-related efficacy of liver cell isografts in fulminant hepatic failure.*Transplantation.*38,No 1,23-25.
21. Cuervas-Mons,V.,Cienfuegos,J.A.,Maganto,P., Rodrigez,V., Erolas,G., Pinedo,I., Santamaria,L., Ramos,J., Ortiz,J.L., Castillo-Olivares,J.L., Segova,J.M. (1984) Long-term evaluation of isolated syngeneic hepatocytes transplanted into the normal rat spleen by Tc<sup>99m</sup>-HIDA scintigraphy.*Transplantation.*39,87-90.
22. Champlin,R.(1987) Bone marrow transplantation for leukemia:Effects of T lymphocyte depletion of donor bone marrow.*Transplantation Proceedings.*19,No 1,157-159.
23. Çimen,A.(1987) *Anatomi*,3.Baskı ,Uludağ Üniversitesi Basımevi,Bursa.

24. Dafoe,D.,Wang,X.,Tafra,L.,Berezniak,R.,Lloyd,R.(1992).Pancreatic Islet Cell Regeneration and Growth. First Edition. Plenum Press, 171-177.
25. Darby,H.,Gupta,S.,Johnstone,R.,Selden,C.,Humprey,J.(1986) Observations on rat spleen reticulum during the development of syngeneic hepatocellular implants.Br.J.Exp.Path.67,329-339.
26. Davenport,C.,Kumar,V.,Bennett,M. (1993) Use of newborn liver cells as a murine model for cord blood cell transplantation.J.Immunology.151, 1597-1605.
27. Demetriou,A.A.,Felcher,A.,Moscioni,A.D. (1991) Hepatocyte transplantation a potential treatment for liver disease.Digestive Disaeses and Sciences.
28. Demetriou,A.A., Reisner,A., Sanchez,J., Levenson,S.M., Moscioni,A.D., Chowdhury, J.R. (1988) Transplantation of microcarrier-attached hepatocytes into %90 partially hepatectomized rats.Hepatology.8,No 5, 1006-1009.
29. Demetriou,A.A., Whiting,J.F., Feldman,D., Levenson,S.M., Chowdhury,N.R., Moscioni, A.D., Kram, M.,Chowdhury,J.J. (1986) Replacement of liver function in rats by transplantation of microcarrier-attached hepatocytes. Science.233,1190-1192.
30. Demma,I.,Houssin,D.,Capron,M., Minato,M., Morin,J., Gigou,M.,Szekely,A.M., Bismuth,H. (1986) Therapeutic efficacy of the transplantation of isolated hepatocytes in rats with surgically induced acute hepatic failure:A study of the mechanism.Eur.Surg.Res.18,12-18.
31. Dixit,V.,Darvasi,R.,Arthur,M.,Brezina,M,Lewin,K.,Gitnick,G.(1989) Restoration of liver function in gunn rats without immunosuppression using transplanted microencapsulated hepatocytes.Hepatology.12, No 6, 1342-1349.
32. Dixit,V., Darvasi,R., Arthur,M., Lewin,K., Gitnick,G. (1993) Cryopreserved microencapsulated hepatocytes transplantation studies in Gunn rats. Transplantation. 55,616-622.36,No 9,1320-1326.
33. Ebata,H.,Onodera,K.,Sawa,M.,Mito,M. (1988) A study of liver regeneration using fetal rat liver tissue transplanted into the spleen.Japanese J. Surg. 18,No 5,540 -547.
34. Edelman,G.M.(1983)Early epocal maps of two different cell adhesion molecules. Proc.Natl.Acad.Sci.USA,New York.
35. Emond,J., Laudereau,M., Meriggi,F., Bernuau,J., Reynes,M., Houssin.D. (1989) Extent of hepatectomy in the rat.Eur.Surg.Res.21,251-259.
36. Emura,I.(1983) Four types of presumptive hemopoetic stem cells in human fetal liver. Arch.Histol Jap.,46,645-657.

37. Erbenği,T.(1990) Histoloji 2,İkinci Baskı,Güneş Yayınevi,Ankara.
38. Geerts,A.,Schuppan,D.,Lazeroms,S.,Zanger,R.,Wisse,E. (1990) Collagen type I and III occur together in hybrid fibrils in the space of Disse of normal rat. *Hepatology*.12,No 2,233-241.
39. Gumicio,J.,J. (1986) The isolation of functionally heterogenous hepatocytes of the proximal and distal half of the liver acinus in the rat.*Hepatology* No 6,932-940.
40. Gumicio,J.J.,May,M.,Dvorak,C.,Chianale,J.,Massey,V. (1986) The isolation of functionally heterogeneous hepatocytes of the proximal and distal half of the liver acinus in the rat.*Hepatology*.6,No 5,932-944.
41. Gupta,S.,Chowdhury,J.R. (1992) Hepatocyte transplantation:Back to the future. *Hepatology*.15,No 1,156-161.
42. Gupta,S., Chowdhury,N., Jagtai,R., Gustin,K., Aragona,E., Shafritz,D., Chowdhury, J.R.,Burk,R.D. (1990) A novel system for transplantation of isolated hepatocytes utilizing HB<sub>s</sub>Ag-producing transgenic donor cells. *Transplantation*. 50,472-475.
43. Gupta,S., Johnstone,R., Darby,H., Selden,C., Price,Y., Hodgson,H.J. (1987) Transplanted isolated hepatocytes:effect of partial hepatectomy on proliferation of long-term syngeneic implants in rat spleen.*Pathology*.19, 28-30.
44. Gupta,S.,Vemuru,R.P.,Yerneni,P.R.,Chowdhury,N.R.,Jagtiani,R.K., Shafritz,D., Burk,R.,Chowdhury,J.R. (1993) Hepatocyte transplantation: Prolonged cell survival following ex vivo manipulation and release from culture matrix components.*Transplantation Proceedings*.25, No 3,2370-2374.
45. Gupta,S., Wilson,J.M., Chowdhury,J.R. (1992) Hepatocyte transplantation: Development of new systems for liver repopulation and gene therapy.*Seminars in Liver Disease*.12,No 3,321-331.
46. Habibullah,C.M., Seyd,I., Qamar,A., Uz,Z., (1994) Human fetal hepatocyte transplantation in with fulminant hepatic failure.*Transplantation*,58,951-952.
47. Hagihara,M., Shimura,T., Takebe,B., Munkhbat,B., Watanabe,K., Tsuji,K.(1994) Immunohistochemical study of isogenic fetal liver fragment transplants in rats. *Transplantation Proceedings*,26,6,3499.
48. Ham,A.,W., Cormack,D..H. (1979) *Histology*, 8<sup>th</sup> Edition ,J.B. Lippincott Comp., Philadelphia.

49. Henne-Bruns,D.,Ambrass,F.O.,Schmiegelow,P.Höhne,M. and Paul,D. (1989) Intrasplenic hepatocyte transplantation:Evaluation of DNA synthesis and proliferation in auxillary transplanted cells.*Res.Exp.Medition*189,295-302.
50. Hillan,K.J.,Burt,A.D.,George,W.D.,Macswen,R.N.M.,Griffiths,M.R.,Bradley,J.A. (1989)Intrasplenic hepatocyte transplantation in rats with experimental liver injury: Morphological and morphometric studies.*J.Pathology*.159,67-73.
51. Hirai,S.,Kasai,S.,Mito,M. (1993) Encapsulated hepatocyte transplantation for the treatment of D-Galactosamine induced acute hepatic failure rats.*Eur. Surg. Res.* 25,1193-202.
52. .Holzman,M.D.,Rozga,J.,Neuzil,D.F.,Griffin,D.,Moscioni,A.D.,Demetriou, A. A. Selective intraperitoneal hepatocyte transplantation in analbuminemic and Gunn Rats. *Transplantation*. 55,No 6,1213-1219.
53. Hu,M.Y.,Sielaff,T.D.,Cerra,F.B. (1994) Enhancement of Cytochrome P450 function of collagen-entrapped hepatocytes by the addition of liver extracellular matrix components. *Transplantation Proceedings*,26,6,3293
54. Iannaccone,P. (1987) A probable model of mosaciasm based on the histological analysis of chimeric rat.*Development* 99:187-190.
55. Imamura,H.,Kawasaki,S.,Shiga,J.,Bandai,Y.,Sanjo,K,Idezuki,Y.(1991)Quantitive evaluation of parenchymal liver cell volume and total hepatocyte number in cirrhotic patients.*Hepatology*.14,Vol. 3,448-453.
56. Jaffe,V.,Darby,H.,Bishop,A.,Hodgson,H.J.F. (1991) The growth of liver cells in the pancreas after intra-splenic implantation:the effects of portal perfusion. *Int. J. Exp.Path.*72,289-299.
57. Jaffe,V.,Darby,H.,Selden,C.,Hodgson,H. (1988) The growth of transplanted liver cells within the pancreas.45,No 2,497-498.
58. Johnson,K.(1991) *Histology and Cell Biology*.2<sup>nd</sup> Edition.Harwal Publishing Company, Pennsylvania.
59. Jordan,C.T., McKearn,P., Lemischka,I.R. (1990) Cellular and developmental properties of fetal hematopoietic stem cells.*Cell*.61,953-963.
60. Jones,C.T.,Rolph,T.P. (1985) Metabolism during fetal:A functional assesment of metabolic development. *Phy.Rew*.65,N0 2,361-373.

61. Kasai,S., Sawa,M., Hirai,S., Nishida,Y., Onodera,K., Yamamoto,T., Mito,M. (1992) Beneficial effect of hepatocyte transplantation on hepatic failure in rats. Transplantation Proceedings.24,No 6,2990-2992.
62. Kaufmann,P.M., Sano,K., Uyama,S., Takeda,T., Vacanti,J.P. (1994) Heteropic hepatocyte transplantation: Assessing the impact of hepatotrophic stimulation. Transplantation Proceedings, 26,4,2240-2241.
63. Kayaalp, O.(1993)Tıbbi Farmakoloji Cilt-3. 6.Baskı ,Feryal Matbaası,Ankara.
64. Kayalı,H., Şatıroğlu,G., Taşyürekli,M. (1989) İnsan Embriolojisi,Altıncı Baskı, Evrim Basım Yayın,İstanbul.
65. Klooster,G.A.E., Nijnanten,F.M.A., Klein,W., Blaauboer,B., Noordhoek,J., Miert, A.S. (1992) Effects of various medium formulations and attachment substrata on the performance of cultured ruminant hepatocytes in biotransformation studies.Xenobiotica,22,No 5,523-534.
66. Koch,K.S., Brownlee,G.G., Goss,S.J., Martinez-Conde,A., Leffert,H.L. (1991) Retroviral vector infection and transplantation in rats of primary fetal rat hepatocytes. J.Cell Science. 99, 121-130.
67. Kochupillai,V., Sharma,S.,Sundram,K.,Ahuja,R.(1991) Hemopoitic improvement following fetal liver infusion in aplastic anemia.Eur.J.Haem. 47,319-325.
68. Kokudo,N., Ohashi,K., Takahashi,S., Bandai,Y., Sanjo,Y., Idezuki,Y., Nozawa, M.(1994)Effect of %70 hepatectomy on DNA synthesis in rat hepatocyte isograft into spleen.Transplantation Proceedings,26,6, 3464-3465.
69. Kuran,O. (1983) "Sistematik Anatomi",1.Baskı, Filiz Kitabevi, İstanbul.
70. Kurt,E.(1992) Development Anatomy,1<sup>st</sup> Edition, Harwal Publishing,İndiana.
71. Kwon,A., Uetsuji,S., Yamamura,M., Hioko,K., Yamamoto,M. (1989) Effect of administration of fibronectin or aprotinin on liver regeneration after experimental hepatectomy. Ann. Surg. 211,No 3,295-300.
72. Landa,I.,Calleja,J.,Gomez,M.,Jover,J.,Arais,J.,Sevilla,P.,Valenzuela,C.,Moreno,E (1990) Evaluation of a Prospective protocol for liver transplantation in the treatment of acute liver failure.Transplantation Proceedings,22,Vol 5,2293-2294.
73. Landorp,P.M., Dragowska,W., Mayani,H. (1993) Ontogeny-related changes in proliferative potential of human hematopoietic cells.J.Exp.Medition 178,787-791.
74. Langer,R.,Vacanti,J.P.(1993)Tissue Engineering,Science,260,920-925.

75. Lazar,A.,Peshwa,M.,Wu,F.,Chi,C.,Cerra,F.B.,Hu,W.(1995) Formation of porcine hepatocyte spheroids for use in a bioartificial liver.Cell Transplantation.4,No3,1.
76. Legrelle,M., Chapá,O., Race,J.M., Mallegol,S., Capron, F.,Altman,J.J. (1993) Islet and hepatocyte cotransplantation in rats. Transplantation Proceedings.25,No 1,981.
77. Lemons,J.A.,Schreiner,R.L.(1983)Amino acid metabolism in the ovine fetus. Am. J. Physiol. 244,E459-E-466.
78. Leroith,D.,Werner,H.,Burguera,B.,Roberts,C.,T.,Mulroney,S.,Haramati,A.(1992) Pancreatic Islet Cell Regeneration and Growth,1<sup>st</sup>Edition,Plenum Press,New York.
79. Levitt,D.,Mertersmann,R. (1994) Hematopoietic Stem Cells.First Edition.Marcel Dekker, Inc.369-390.
80. Lindell,S.L., Southard,J.M., Vreugdenhil,P., Folkert,O.B. (1994) Kupffer cells depress hepatocyte protein synthesis on cold storage of the rat liver. Transplantation, 58,8, 869-874.
81. Low,W.C.,Eastlund,T., Verfaille,C., Hirschel,M., Virnig,B., Weese,K., Norris,B., Chrysler,G., Peterson,A.(1994) Human fetal tissue from spontaneous abortions as potential source of donor tissue for cell transplantation. Transplantation Proceedings, 26,6,3500.
82. Luzzato,A.C.(1981) Hepatocyte differentiation during early fetal development in the rat. Cell Tissue Res.,215,133-142.
83. Maganto,P., Cienfuegos,J., Santamaria,L.,\* Rodriguez,V., Eroles,G., Andres,S., Olivares,J.L, Municio,A.M.(1990)Auxiliary liver by transplanted frozen-thawed hepatocytes. J.Surg. Res. 48, 24-32.
84. Maganto,P.,Traber,P.G.,Rusnell,C.,DobbinsIII,W.O.,Keren,D.,Gumucio,J. (1989) Long-term maintenance of the adult pattern of liver specific expression for P-450b,P-450e,albumin and  $\alpha$ -fetoprotein genes in intrasplenically transplanted hepatocytes. Hepatology:11,585-592.
85. Makowka,L.,Falk,R.E.,Rotstein,L.E.,Falk,J.A.,Nossal,N.,Langer,B.,Blendis,L.M. Phillips,M.J. (1980) Cellular transplantation in the treatment of experimental hepatic failure.Science.210,901-903.
86. Makowka,L., Rothstein,L.E., Falk,R.E., Falk,J.A., Nossal,N.A., Langer,B., Blendis,L.M., Phillips,A.J. (1980) Allogeneic and xenogeneic hepatocyte transplantation in experimental hepatic failure.Transplantation.30,Vol 6,429-435.

87. Marsh,D.C., Hjelmhaug,J.A., Vreugdenhil,P.K., Kerr,J.A., Rice,M., Belzer,F.O., Southrad,J.H. (1990) Hypothermic preservation of hepatocytes.III.Effects of resuspension media on viability after up to 7 days of storage.Hepatology.13,No 3, 500-508.
88. Martin,A.T.,Caldes,T.,Benito,M.,Medina,J. (1981) Regulation of glycogenolysis in the liver of newborn rat in vivo.Biochem.Biophysics Acta,672,262-267.
89. Medlock,E.,Haar,J.L. (1983) The liver hemopoietic environment:I. Developing hepatocytes and their role in fetal hemopoiesis.Anatomical Record.207,31-41.
90. Merrill,A.H., Wang,E., Larocque, R.,Mullins, R.,Morgan,E.T., Hargrove,J. Bonkovsky, H.L.,Popova,I.A. (1992) Differences in glycogen,lipids and enzymes in livers from rats flown on COSMOS 2044.Am. Physiology Society .161:142S-147S.
91. Meschia,G.(1982) The function of the plasenta as it relates to the transport of metabolic substrates to the fetus.The Biochemical Development of the Fetus and Neonate.1<sup>st</sup> Edition .Jones,C.T.Elsevier,Amsterdam.
92. Meyers,R.(1995) Molecular Biology and Biotechnology,First Edition.VCH Publish, New York.
93. Michalopoulos,G.,K.(1990)Liver Regeneration:molecular mechanisms of growth control. FASEB, 4,176-186.
94. Mikos,G.A.,Sarakinis,G.,Lyman,M.D.,Ingber,D.E.,Vacanti,J.P.,Langer,R.(1993) Prevascularization of porous biodegradable polymers.Biotechnology and Bioengineering, 42, 716-723.
95. Mito,M.,Ebata,H.,Kusano,M.,Onishi,T.,Saito,T.,Sakamoto,S. (1979) Morphology and function of isolated hepatocytes transplanted into rat spleen. Transplantation. 28,No 6,499-505.
96. Miyazaki,M.,Makowka,L.,Falk,R.,Falk,J.,Falk,W.,Venturi,D.(1983) Reversal of lethal, chemotherapeutically induced hepatic necrosis in rats by regenerating liver cytosol. Surgery.8,142-150.
97. Moore,K. (1988) "The Developing Human",W.B. Saunders.Int.Edition,Canada.
98. Morsiani,E.,Rozga,J.,Scott,H.C.,Kong,L.B.,Lebow,L.T.,McGrath,M.F.,Moscioni,A. D.(1994) Automated large-scale production of porcine hepatocytes for bioartificial liver support. Transplantation Proceedings,26,6, 3505-3506.
99. Moscioni,A.D.,Chowdhury,J.,Barbour,R.,Brown,L.,Chowdhury,N.,Competiello,LS., Lahiri,P.,Demetriou,A.A.(1989) Human liver cell transplantation.96,1546-1551.



100. Nagona, H., Monden, M., Gotoh, M., Tanigawa, T., Tasuike, Y., Akagi, K., Yoshida, T., Nishisho, I. (1994) Existence of microchimerism in the spleen after intraportal injection in molecular-biological and immunofluorescence study. *Transplantation Proceedings*, 26, 6, 3471.
101. Nakamura, T., Nagao, M., Ichihara, A. (1987) In vitro induction of neonatal rat hepatocytes by direct contact with adult rat hepatocytes. *Experimental Cell Research*. 169, 1-14.
102. Namikawa, R., Weilbaecher, K.N., Kaneshima, H., Yee, E.J., McCune, J.M. (1990) Long term human hematopoiesis in the SCID-hu mouse. *J. Exp. Med.* 172, 1055 - 1063.
103. Nesi, A.C. (1981) Foetal haemopoiesis during the hepatic period. I. Relation between in vitro liver organogenesis and erythropoietic function. *Anat. Rec.*, 200, 221-230.
104. Neuzil, D.F., Rozga, J., Moscioni, A.D., Ro, M., Hakim, R., Arnout, W.S., Demetriou, A.A. (1993) Use of a novel bioartificial liver in a patient with liver insufficiency. *Surgery*. 113, 340-343.
105. Nieto, J.A., Escandon, J., Betancor, C., Ramos, J., Canton, T., Cuervas-Mons, V. (1989) Evidence that temporary complete occlusion of splenic vessels prevents massive embolization and sudden death associated with intrasplenic hepatocellular transplantation. *Transplantation*. 47, 449-450.
106. Nordlinger, B., Bouma, S.R., Ballet, F., Verthier, N., Huguet, C. and Infante, R. (1985) High-Yield preparation of porcine hepatocytes for long survival after transplantation in the spleen. *Eur. Surg. Res.* 17, 377-382.
107. Nordlinger, B., Wang, S.R., Bouma, M.E., Verthier, N., Hillan, K., Delolo, R., Infante, R. (1987) Can hepatocytes proliferate when transplanted into the spleen? *Eur. Surg. Res.* 19, 381-387.
108. Nyberg, S.L., Platt, J.L., Shirabe, K., Williams, D.P., Hu, W., Cerra, F.B. (1992) Immunoprotection of Xenocytes in a Hollow Fiber Bioartificial Liver. *ASAIO Journal* 38, M463-467.
109. Ogimoto, M., Yoshikai, Y., Matsuzaki, G., Matsumoto, K., Kishihara, K., Nomoto, K. (1990) Expression of T cell receptor V $\gamma$ 5 in the adult thymus of irradiated mice after transplantation with fetal liver cells. *Eur. J. Immunol.* 20, 1965-1970.
110. Paker, Ş. (1993) "Histoloji", Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.

111. Panis, Y., Puts, P., Ballet, F., Penin, E., Delelo, R., Verthier, N., Nordlinger, B. (1990) The isolated perfused rat spleen. *Transplantation*. 49, 756-759.
112. Papalois, A., Arkadopoulos, N., Papalois, B., Pataryas, T., Papadimitriou, J., Golematis, B. (1994) Comparison of two experimental models for combined hepatocyte-islet transplantation. *Transplantation Proceedings*, 26, 6, 3473.
113. Pearce, R.D., Kiehm, D., Armstrong, D.T., Little, P.B., Callahan, J.W., Klunder, L.R., Clarke, T.R. (1989) Induction of hemopoietic chimerism in the caprine fetus by intraperitoneal injection of fetal liver cells. *Experientia*. 45, 307-308.
114. Petruzzo, P., Cappai, A., Ruiu, G., Brotzu, G. (1994) Cell microencapsulation: a new method. *Transplantation Proceedings*, 26, 6, 3507-3508.
115. Plotnicky, H., Tourine, J.L. (1993) Cytotoxic T cells from a human chimera induce regression of Epstein-Barr virus infected allogeneic host cells. *International Immunology*. 5, No 11, 1413-1420.
116. Polin, R., Fox, W. (1992) "Fetal and Neonatal Physiology Volume-2", First edition, W.B. Saunders Comp., Pennsylvania.
117. Prümmer, O., Raghavarachar, A., Werner, C., Calvo, W., Carbonell, F., Steinbach, I., Fliedner, T.M. (1985) Fetal liver transplantation in the dog. *Transplantation*. 39, No 4, 349-355.
118. Rabinowich, H., Umiel, T., Globerson, A. (1983) T Cell Progenitors in the mouse fetal liver. *Transplantation*. 35, No 1, 40-48.
119. Raper, S., Burwen, S., Barker, M., Jones, A. (1987) Translocation of epidermal growth factor to the hepatocyte nucleus during rat liver regeneration. *Gastroenterology*. 92, 1243-1250.
120. Ribeiro, J., Nordlinger, B., Ballet, F., Cynober, L., Coudray-Lucas, C., Baudrimont, M., Legendre, C., Delelo, R., Panis, Y. (1992) Intrasplenic hepatocellular transplantation corrects hepatic encephalopathy in porto-caval shunted rats. *Hepatology*. 15, No 1, 12-18.
121. Rinkes, I.N.M.B., Bijma, A., Sinaasappel, M., Terpstra, O.T. (1993) Hepatocyte transplantation into spleen or solid supports: Comparison of morphology, function and proliferative response. *Transplantation Proceedings*. 25, No 1, 1014-1016.
122. Roncarolo, M.G., Yssel, H., Tourine, J.L., Bacchetta, R., Gebuhrer, L., Vries, J., Spits, H. (1988) Antigen recognition by MHC-incompatible cells of a human mismatched chimera. *J. Exp. Med.* 168, 2139-2152.

123. Ross, M., Reith, E. (1985) *Histology*, First Edition, Lippincott Company, New York.
124. Royo, C., Tourine, J.L., Veyron, P., Aitouche, A. (1987) Survey of experimental data on fetal liver transplantation. *Thymus*. 10, 5-12.
125. Rozga, J., Podesta, L., LePage, E., Morsani, E., Moscioni, A.D., Hofmann, A., Sher, L., Vilmail, F., Woolf, G., McGrath, M., Kong, L., Rosen, H., Lanmann, T., Vierling, J., Makowka, L., Demetriou, A.A. (1994) A bioartificial liver to treat severe acute liver failure. *Annals of Surgery*. 219, No 5, 538-546.
126. Sandbichler, P., Then, P., Vogel, W., Erhart, R., Dietze, O., Philadelphia, H., Fridrich, L., Klima, G. Margreiter, R. (1992) Hepatocellular transplantation into the lung for temporary support of acute liver failure in the rat. *Gastroenterology*. 102, 605-609.
127. Sasse, D. (1979) The development of functional heterogeneity in the liver parenchyma of the golden hamster. *Anat Embryology* 156, 153-161.
128. Schuetz, E. (1988) Regulation of gene expression in adult rat hepatocytes cultured on a basement membrane matrix. *J. Cell Physiol.*, 134, 309-315.
129. Selden, C., Gupta, S., Johnstone, R., Hodgson H.J.F. (1984) The pulmonary vascular bed as a site for implantation of isolated liver cells in inbred rats. *Transplantation*. 38, 81-83.
130. Shiojiri, N., Katayama, H. (1987) Secondary joining of the bile ducts during the hepatogenesis of the mouse embryo. *Anat. Embryol.*, 177, 153-160.
131. Sierra, E., Maganto, P., Gonzales, M., Madrid, R., Codesal, J., Castillo-Olivares, J.L. Arahuetes, R.M. (1994) Antioxidant enzymatic activities in fetal hepatocyte transplanted into the spleen. *Transplantation Proceedings*, 26, 6, 3501-3503.
132. Snell, R.S. (1992) *Clinical Anatomy*. 4<sup>th</sup> Edition. Little Brown Pub., Washington.
133. Starzl, T.E., Iwatsuki, S., Shaw, B., Thiel, D. (1987) *The Liver*. 1<sup>th</sup> Edition. W.B. Saunders Comp. 3398-3447.
134. Stevens, A. (1992) *Histology*, First Edition, Gower Medical Publish, New York.
135. Strain, A.Hill, D., Swenne, I., Milner, R. (1987) Regulation of DNA synthesis in human fetal hepatocytes by placental lactogen, growth hormone and insulin-like growth factor I/somatomedin-C. *J. Cellular Phy.* 132, 33-40.
136. Sutherland, D.E.V., Numata, M., Matas, A.J., Simmons, R.L., Najarian, J.S. (1977) Hepatocellular transplantation in acute liver failure. *Surgery*. 82, No 1, 124-132.

137. Takahashi, M., Matsue, H., Matsushita, M., Nakajima, Y., Uchino, J. (1993) Isolation and culture of human hepatocytes from resected liver tissue as a bioartificial liver. *Artificial Organs*. 17, No 7, 653-659.
138. Takebe, K., Shimura, T., Munkhbat, B., Hagihara, M., Tsuji, K. (1994) Fetal liver fragment transplantation for acute and chronic liver failure in rats. *Transplantation Proceedings*, 26, 6, 2239.
139. Then, P., Sandbichler, P., Erhart, R., Dietze, O., Klima, G., Vogel, W., Margrieter, R. (1991) Hepatocyte transplantation into the lung for treatment of acute hepatic failure in the rat. *Transplanting Proceedings*. 23, No 1, 892-893.
140. Thibodeau, G.A., Patton, K.T. (1993) "Anatomy and Physiology", Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
141. Thomas, D.B. (1993) The infusion of human fetal liver cells. *Stem Cells*. 11, No 1, 66-71.
142. Thomson, A.W., Lu, L., Subbotin, Li, Y., Noyola, H., Qian, S., Rao, A.S., Demetris, A.J., Starzl, T. E. (1994) Propagation of dendritic cell progenitors from mouse liver and their in vivo migration to T-dependent areas of allogeneic lymphoid tissue. *Transplantation Proceedings*, 26, 6, 3484-3486.
143. Tocci, A., Rezzoug, F., Wahbi, K., Tourine, J.L. (1995) Fetal liver generates low CD<sub>4</sub> hematopoietic cells in murine stromal cultures. *Blood*. 85, No 6, 1463-1471.
144. Touraine, J.L. (1992) *Fetal Tissue Transplantation*. 1<sup>th</sup> Edition. Oxford Uni. Press. 155-174.
145. Tourine, J.L., Bacchetta, Yssel, H., Vries, J., Roncarolo, M.G. (1995) Transplantation of mismatched human fetal liver cells: Tolerance induction via clonal deletion and clonal anergy. *Transplantation Proceedings*. 27, No 1, 622-624.
146. Touraine, J.L., Raudrant, D., Royo, C., Rebaud, A., Roncarolo, M.G., Souillet, G., Philippe, N., Touraine, F., Betuel, H. (1989) In-utero transplantation of stem cells in bare lymphocyte syndrome. *Lancet*. June, 1382.
147. Touraine, J.L., Raudrant, D., Vullo, C., Frappaz, D., Freycon, F., Rebaud, A., Barbier, F., Roncarolo, M.G., Gebuhrer, L., Beteul, H., Zabot, M.T. (1990) New developments in stem cell transplantation with special reference to the first in utero transplants in humans. Pav. P, H. Edouard Herriot, Lyon Cedex. 92-97.

148. Touraine, J.L., Roncarolo, M.G., Plotnicky, H., Bachetta, R., Spits, H. (1994) T-lymphocytes from human chimeras do recognize antigen in the context of allogenic determinants of the major histocompatibility complex. *Immunology Letters*. 39, 9-12.
149. Uyama, S., Kaufmann, P.M., Takeda, T., Vacanti, J.P. (1993) Delivery of whole liver-equivalent hepatocyte mass using polymer devices and hepatotrophic stimulation. *Transplantation*. 55, 939-935.
150. Vacanti, J.P., Morse, M.A., Saltzman, W.M., Domb, A., Atayde, A., Langer, R. (1988) Selective cell transplantation using bioabsorbable artificial polymers as matrices. *Journal of Pediatric Surgery*. 23, No 1, 3-9.
151. Vander, A., Sherman, J., Luciano, D. (1994) *Human Physiology*, 6<sup>th</sup> Edition, McGrawhill, New Caledonia:
152. Vemeru, R.P., Davidson, A., Aragona, E., Chowdhury, J.R., Burk, R.D., Gupta, S. (1992) Immune tolerance to a defined heterologous antigen after intrasplenic hepatocyte transplantation: implications for gene therapy. *FASEB*. 6, 2836-2842.
153. Veyron, P., Touraine, J.L. (1990) Fetal liver cell transplantation: Survival of grafted BALB/C lysosomal storage disease mice. *Transplantation Proceedings*. 22, No 5, 2253-2254.
154. Vroemen, J.P.A.M., Buurman, W.A., Linden, C.J., Visser, R., Heirwegh, K.P.M., Kootstra, G. (1988) Transplantation of isolated hepatocytes into the pancreas. *Eur. Surg. Res.*, 20, 1-11.
155. Vroemen, J.P.A.M., Buurman, W.A., Schutte, B., Maessen, J.G., Linden, C.J., Kootstra G. (1988). The cytokinetic behavior of donor hepatocytes after syngeneic hepatocyte transplantation into spleen. *Transplantation*. 45, 600-607.
156. Weiss, L., Greep, R.O. (1977) *Histology*. 4<sup>th</sup> Edition. McGraw Hill, New York.
157. Wiederkehr, J.C., Kondos, G.T., Pollak, R. (1990) Hepatocyte transplantation for the low-density lipoprotein receptor-deficient state. *Transplantation*. 50, 466-476.
158. Williams, P., Bannister, L.H., Berry, M.M., Collins, P., Dyson, M., Dussek, J.E., Ferguson M.W.J. (1995) *Gray's Anatomy*. 38<sup>th</sup> Edition. Churchill Livingstone, Norwich.
159. Wolf, H., Zarnegar, R., Michalopoulos, G.K. (1991) Localization of hepatocyte growth factor in human and rat tissues: An immunohistochemical study. *Hepatology*. 14, No 3, 488-494.

160.Zanjani,E.,Ascensao,J.,Tavassoli,M. (1993) Liver derived fetal hematopoietic stem cells selectively and preferentially home to the fetal bone marrow.Blood.81,No 2,399-404.



## 10.ÖZGEÇMİŞ

1965 yılında Ankara'da doğdum.İlk ve orta öğrenimimi çeşitli okullarda tamamladıktan sonra 1983 yılında İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesine girip 1989 yılında tamamladım.Sağlık Bakanlığına bağlı kurumlarda hizmette bulundum,1990-1991 yılları arasında askerlik görevimi yedek subay olarak tamamladım.Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesinde Histoloji Embrioloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimime 1991 yılında başladım ve aynı Anabilim Dalına 1995 yılında Uzman kadrosuna atandım ve halen burada çalışmaktayım.

Evli ve bir çocuk babasıyım.



## 11.TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardım , ilgi ve sabırlarını esirgemeyen sayın hocam ve tez yöneticim olan Prof.Dr.Hasan CÜCE'ye , tez aşamasında gerekli olan her türlü anlayış ve yardımı sağlayan sayın hocam ve Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr.Refik SOYLU'ya , yardım ve desteğini esirgemeyen Doç.Dr.Selçuk DUMAN'a ve Yrd.Doç.Dr.Aydan CANBİLEN'e teşekkürlerimi arz ederim.

Yaptığım çalışma için gerekli olan uzun ve zahmetli cerrahi aşamasının gerçekleşmesinde fedakarane yardımcı olan sayın hocam ve Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı olan Yrd.Doç.Dr.Alaeddin DİLSİZ'e ve Arş.Gör. kıymetli arkadaşlarım Dr.Aytekin KAYMAKÇI ve Dr.Burhan KÖSEOĞLU'na Anabilim Dalımız elemanlarından Dr.Murat TOSUN , Dr.Ender ERDOĞAN ve Teknisyen Yaşar KAHRAMAN'a teşekkürü borç bilirim.