



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KONTROLLÜ NON-HEART BEATING
DONOR MODELİNDE EDARAVONUN KARACİĞER
HASARINA ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Mustafa ÇETİN

KAYSERİ – 2008



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KONTROLLÜ NON-HEART BEATING
DONOR MODELİNDE EDARAVONUN KARACİĞER
HASARINA ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Mustafa ÇETİN

Danışman

Prof. Dr. A. Zeki YILMAZ

KAYSERİ – 2008

TEŞEKKÜR

BaŐta tez danıŐmanım Prof. Dr. A. Zeki Yılmaz olmak üzere tım hocalarıma, asistan ve hemŐire çalışma arkadaŐlarıma ve aileme en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Dr. Mehmet M. etin

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
RESİM VE GRAFİK LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Karaciğer	4
2.1.1. Embriyoloji	4
2.1.2. Histoloji.....	4
2.2. Karaciğerin anatomisi	5
2.2.1. Yapısal Anatomi.....	5
2.2.2. Vasküler anatomi	10
2.3. Karaciğerin fizyolojisi	10
2.4. Karaciğerin görevleri	11
2.5. Karaciğer nakli	11
2.6. Non–heart beating donörler	14
2.7. Karaciğerde iskemi–reperfüzyon hasarı	19
2.8 Serbest Oksijen Radikalleri(SOR)	22
2.9. Edaravone(MCI-186, 3-metil-1 fenil-2 pirazolin-5-one).....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Deneysel model.....	26
3.2. Biyokimyasal parametreler	29
3.2.1 Karaciğer fonksiyon testleri.....	29
3.2.2 IL-10,1L-6,TNF- α	29
3.3. Histopatolojik parametreler.....	29
3.3.1. Prolifere olan hücre nükleer antijeni (PCNA) ile işaretlenme oranı.....	29
3.3.2. Bcl–2 ile işaretlenme oranı	30

3.4. İstatistiksel analiz	30
4. BULGULAR.....	32
4.1. Biyokimyasal bulgular	32
4.1.1. AST sonuçları.....	32
4.1.2. ALT sonuçları	32
4.1.3 IL-10 sonuçları	33
4.1.4 IL-6 sonuçları	33
4.1.5 TNF- α sonuçları	33
4.2. Histopatolojik Sonuçlar	34
4.2.1. Prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) sonuçları	34
4.2.2. Bcl-2 sonuçları.....	34
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR	53
7. KAYNAKLAR	55
KABUL ONAY	69

KISALTMALAR

A	: Arteria
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
Bcl-2	: B cell lenfoma-2
DNA	: Deoksiribonükleik asit
g	: Gram
HBD	: Heart beating donör
HPB	: Hepato Pankretiko Bilier
HTK	: Histidin triptofan ketoglutarat
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IM	: Işık mikroskopisi
IL	: İnterlökin
IL-6	: İnterlökin-6
IL-10	: İnterlökin-10
ICAM-I	: İntrasellüler adezyon molekülü-1
İHK	: İmmünohistokimya
KCL	: Potasyum klorür
LDH	: Laktat dehidrogenaz
NHBD	: Non-heart beating donör
MDA	: Malondialdehyde

ng/mL	: Nanogram / mililitre
OBP	: 2-okso-3-(fenilhidrazon)-butonoik asite
OLT	: Ortohopik karaciğer organ nakli
PCNA	: Prolifere olan hücre nükleer antijeni
pg/mL	: Pikogram / mililitre
SC	: Subkutan
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TNF-α	: Tümör nekroze edici faktör alfa
TGF	: Transforming growth faktör
WU	: Wisconsin Üniversitesi
μ	: Mikro

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Sham grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri.....	37
Tablo 2. Kontrol I grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri.....	37
Tablo 3. Kontrol II grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri.....	37
Tablo 4. Çalışma I grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri	38
Tablo 5. Çalışma II grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri.....	38
Tablo 6. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki AST, ALT değerleri	38
Tablo 7. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki IL-6, IL-10, TNF- α değerleri	38
Tablo 8. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki PNCA değerleri.....	39
Tablo 9. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki bcl-2 değerleri	39

RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

Resim 1. Karaciğerin Segmenter Anatomisi	7
Resim 2. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi	8
Resim 3. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi.....	8
Resim 4. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi.....	9
Resim 5. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi	9
Resim 6. Edaravonun kimyasal yapısı.....	23
Resim 7. Edaravonun antioksidan etkinliğinin kabul görmüş mekanizması.....	24
Resim 8. Edaravonun soğuk iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliğini gösteren mekanizma.....	25
Resim 9. Çıkarılan ve perfüzyon için hazırlanan (portal ven ve vena kava kateterize) karaciğer dokusu.....	27
Resim 10. Çalışma II grubunda PCNA ile hepatositlerdeki nükleer boyanma (x100).....	39
Resim 11. Çalışma I. grubunda bcl-2 ile zayıf sitoplazmik boyanma (x100)	40
Resim 12. Çalışma II grubunda bcl-2 ile kuvvetli sitoplazmik boyanma (x100).....	40
Resim 13. Çalışma II grubunda Zon 3’de bcl-2 ile kuvvetli sitoplazmik boyanma (x100)	41
Grafik 1. Kontrol ve çalışma grupları perfüzetlerin AST değerlerinin karşılaştırılması.....	34
Grafik 2. Kontrol ve çalışma grupları perfüzetlerin ALT değerlerinin karşılaştırılması.....	35
Grafik 3. Kontrol ve çalışma grupları perfüzetlerin IL-10 değerlerinin karşılaştırılması.....	35
Grafik 4. Kontrol ve çalışma grupları perfüzetlerin IL-6 değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Grafik 5. Kontrol ve çalışma grupları perfüzetlerin TNF- α değerlerinin karşılaştırılması.....	36

DENEYSEL KONTROLLÜ NON-HEART-BEATING DONÖR MODELİNDE EDARAVONUN KARACİĞER HASARINA ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Sıçanlarda deneysel kontrollü non-heart beating donör modelinde, edaravonun karaciğer hücre canlılığına etkisini ve kullanılabilirliğini araştırmak.

Materyal ve Metod: Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Ocak-Aralık 2008 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlığı 225-290 gram arasında değişen, 40 adet Wistar-Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlardan sham, kontrol I, kontrol II, çalışma I ve çalışma II grubu şeklinde her biri 8 sıçan içeren 5 grup oluşturuldu. Sıçanlara kardiyak arrest yapıldığı için anestezi madde verilmedi. Kardiyak arrestten önce tüm sıçanlara 0,1 ml heparin subkutan olarak uygulandı. Bütün sıçanlara 0,2 ml intrakardiyak KCl verilerek kardiyak arrest sağlandı. Daha sonra tüm gruplarda 30 dakikalık kardiyak arrest sonrası sıcak iskemi süresi beklendi. Her bir sıçana orta hat insizyon ile total hepatektomi uygulandı. Falsiform ligament kesilerek karaciğer serbestleştirildi. Tüm bağları açılarak karaciğer total olarak disseke edildi. Yukarıda vena kava ve alt tarafta vena porta disseke edilerek serbestleştirildi. Daha sonra portal ven lumenine uygun 3,5 french bir katater yardımıyla portal ven kataterize edildi. Bu katater yardımıyla 50 ml Euro Collins solüsyonu ile invivo olarak karaciğer yıkandı. Total olarak çıkarılan karaciğerler sirkulatuar bir sistem yardımıyla kontrol gruplarındaki deneklere 0,5 ml SF, HTK solüsyonu içinde verildi. Çalışma gruplarındakilere 1mg/kg edaravone HTK solüsyonu ile verilerek kontrol ve çalışma grupları 30 ve 60 dakika perfüze edildi. AST, ALT, IL-6, IL-10, TNF- α ölçümleri için perfüzyon sıvıları, İHK çalışmaları için de karaciğerler uygun koşullarda saklandı.

Bulgular: AST, ALT, IL-6 ve TNF- α değerleri, edaravone verilen gruplarda, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük ($p<0,001$) ve IL-10

değerleri, edaravone verilen gruplarından kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulundu ($p<0,001$). PCNA işaretleme oranları ve Bcl-2 boyanma şiddeti açısından karşılaştırıldığında sonuçlar kontrol gruplarında edaravone gruplarına göre istatistiksel olarak düşük bulundu. ($p<0,001$).

Sonuç: Edaravone; deneysel, kontrollü non-heart beating donör modelinde hepatosit canlılığını, biyokimyasal ve morfolojik açıdan artırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Edaravone, NHBD, sıcak iskemi

THE EFFECT OF EDARAVONE ON LIVER DAMAGE IN CONTROLLED EXPERIMENTAL NON-HEART-BEATING DONOR MODEL

ABSTRACT

Aim: The aim of this study is to investigate the effect of edaravone on viability of hepatocytes in experimental controlled non-heart beating donor models of rats and additionally to determine the usefulness of these grafts.

Materials and Methods: This experimental study has been performed in Hakan Çetinsaya Experimental and Clinical Research Center (DEKAM) at Erciyes University Medical Faculty between Oct-Dec 2008. Forty Wistar-Albino male rats weighing between 225 and 290 gr were used in this study. The rats were divided into five groups which included 8 rats as sham, control I, control II, study I and study II groups. No anesthetic agents were given to rats because cardiac arrest was performed. Before the cessation of cardiac activity 0,1 ml heparin was administered subcutaneously to each of the rats. Cardiac arrest is performed by intracardiac 0,2 ml KCL injection. The waiting interval between cessation of cardiac activity and organ retrieval was 30 minutes. Midline laparotomy incision and total hepatectomy was performed to each rat. After dissection of vena cava and portal vein hepatic grafts were retrieved. Then a suitable catheter was inserted into the portal vein. Liver grafts were washed out with 50 ml Euro Collins solution via portal vein catheter. Liver grafts which were dissected totally had been perfused for 30 and 60 minutes with HTK solution and 0,5 ml SF in control groups by using a circulator system. And perfused with HTK and 1 mg/kg edaravone solution in study groups by using a circulator system During this period samples were taken to asses hepatocellular injury. AST and ALT, IL-10, IL-6, TNF- α levels were measured in perfusion fluids. The grafts were saved under suitable conditions for histopathologic assesment.

Results: AST, ALT, IL-6, TNF- α levels were significantly lower and IL-10 level was significantly higher in edaravone group ($p < 0.001$). When PCNA labeling index

was evaluated there was statistically difference between the groups ($p < 0,001$). In edaravone groups amounts of bcl-2 was statistically lower when compared with the other groups ($p < 0,001$).

Conclusion: Edaravone increases the viability of hepatocytes biochemically and morphologically in experimental controlled non-heart beating donor models of rats.

Key Words: Edaravone, non-heart beating donor, warm ischemia,

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son dönem organ yetmezliği olan hastalarda fonksiyonunu yitirmiş organın yerine görev yapmak üzere yeni bir organ nakledilmesine organ nakli denir. Organ nakli 20. yüzyıl son çeyreğinde temel tıp bilimlerindeki gelişmelerin de katkısı ile ve özellikle iletişim kaynaklarının sağlandığı bilgi paylaşımı sayesinde çok hızlı gelişen bir tıp dalı olmuştur. Organ fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması, vasküler cerrahi tekniklerinin gelişmesi, immünoloji ve farmakolojideki gelişmeler organ naklinin gelişmesine katkıda bulunmuştur. Beyin ölümü kavramının kabul görmesiyle kalbi çarpan kadavra kavramının literatüre girmesi her organın nakli için çalışmalar yapılmış ve organ nakli günümüzdeki başarılı düzeyine ulaşmıştır (1).

Karaciğer nakli yüz güldüren sonuçları ve genişleyen endikasyonlarından dolayı son dönem karaciğer hastalığı olan hastalar için iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Ne yazık ki potansiyel alıcı sayısının artması ve donör sayısının değişmemesiyle, organ nakli bekleyenlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır (2). Karaciğer naklinden yarar görecektir hastalara organ sağlamak amacı ile bir dizi yeni yöntem kabul görmüştür. Bunlar arasında canlıdan canlıya yetişkin, canlıdan canlıya pediatrik (3,4) ve kadaverik karaciğer nakli yer almaktadır (5). Bu yöntemler uygun kadaverik donör havuzunun artmasını sağlamış olsa da hala aşılması gereken büyük problemler bulunmaktadır. Bununla beraber potansiyel alıcıların sayısının artmasından dolayı organ kullanımı da artmakta ve kimlerin marjinal donör olarak refere edileceği tartışılmaktadır (2). NHBD'den alınan organlara ilgi, organ yetersizliğin giderek artması, sıcak iskemi periyodunun artmasına karşın greft surviyinin iyi olması ve

organların iyi fonksiyon görmesiyle artmıştır (6,7).

Karaciğer nakli son dönem karaciğer hastalığı olan hastaların tedavisi için 1-5 yıllık survi oranlarının % 70-80'lere çıkmasıyla iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fakat sadece karaciğer nakil adayları bu tedavinin yararlarını görmektedir (8).

Erken NHBD greft surveyleri ile ilgili çalışmalar bir yıllık sağkalımın %73–91, beş yıllık sağkalımın %58–80 oranlarında olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar kadaverik heart beating donör transplantlarla karşılaştırılabilir düzeydedir (9).

Kadaverik heart beating donörün (HBD) ölümü, beyin sapı fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kesilmesine dayanmaktadır. NHBD'lerin ölümü ise dolaşım ve solunum fonksiyonlarının geri dönüşümsüz durmasına dayanmaktadır. Kadaverik HBD'lerde beyin ölümü gerçekleşmiştir, ancak kardiyorespiratuar sistem çalışmaktadır. Bu nedenle beyin ölümlü donörlerde organ iskemisi minimaldir çünkü dolaşımsal arrest, solüsyonların perfüzyonu ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir. Oysa NHBD'lerde organlar daha az idealdir. Çünkü perfüzyon öncesi uzamış dolaşımsal arrest nedeniyle organlar iskemiye maruz kalmaktadırlar (10).

Uzun zamandır marjinal donör olarak adlandırılan ve fonksiyonları ve canlılığı açısından diğer donörlerden daha kötü durumda olan hastaların verici haline getirilmesi ile organ havuzları anlamlı oranda artırılmaktadır. Kadaverik HBD'ler ile NHBD'ler arasındaki ana farklılık akut inflamatuvar bir süreç oluşturan iskemi–reperfüzyon sürecidir. İskemi reperfüzyonun (IR) şiddeti karaciğer naklinin başarısını etkileyen önemli faktörlerden birisidir. IR hasarı reaktif oksijen radikallerinin üretimi gibi birçok patofizyolojik olaya yol açmaktadır ki bunlar direkt oksidatif stress ile DNA, protein ve lipidlerde hasara yol açabilir (11-13). Daha da ötesinde redoks ilişkili yolların sinyalizasyonu ile sitokinleri, makrofajları ve inflamatuvar işlemlerin diğer bileşenlerini aktive ederler ve bu şekilde hücre lipid ve inflamasyonunu kontrol eden birçok hücresel cevabın aktivasyonunda ikincil mesajcı gibi davranabilirler (14-16). Bunlar, platelet-aktive eden faktör, tümör nekroze edici faktör α (TNF- α), kemokinler ve CD-18 ailesi, intrasellüler adezyon molekülü 1 ve selektinlerin upregülasyonunu arttırırlar (17,18). Bu olayların birçoğunun Kupffer hücre aktivasyonu üzerinden gerçekleştiği söylenmektedir. Bu yıkıcı inflamatuvar kaskadın yanı sıra IL–10 ve IL–6 gibi karaciğerden salındığı bilinen antiinflamatuvar

faktörler kontrol edilemeyen inflamatuvar yanıtı karşı koruyucudur (19-21). IL-10 en etkili antiinflamatuvar olarak bilinmektedir. IL-10, TNF- α , IL-1, IL-8, IL-12 ve nitrik oksit gibi proinflamatuvar etkili ajanların sentezini azaltır (19,22,23). Bundan dolayı hepatik iskemi-reperfüzyonu belirlemede; doku hasarının sınırlandırılmasında majör öneme sahiptir.

MCI-186 (edaravone) hidroksil radikallerinin güçlü bir toplayıcısıdır ve Japonya'da akut beyin enfarktüsü tedavisinde kullanılmıştır. MCI-186'nın deneysel hepatik sıcak iskemi reperfüzyon hasarında; hepatositlerin maruz kaldığı oksidatif hasardan korunmada faydalı olduğu gösterilmiştir (24).

Bu çalışmada amaç, kontrollü NHBD modelinde kardiyak arreste maruz kalmış karaciğerde iskemik değişikliklerin edaravone ile azaltılması ve bu organların kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Embriyoloji

Karaciğer, ön barsağın (foregut) endoderminden ve septum transversumun mesoderminden köken alır. Dört haftalık embriyoda, ön barsağın daha sonra duodenumun gelişeceği ventral bölgesinde bir divertikül meydana gelir. Divertikülün kaudal bölümü duktus sistikus ve safra kesesi şeklinde gelişir. Kranial bölümden ise karaciğer meydana gelir (25).

2.1.2. Histoloji

Karaciğer, dolaşım sistemi ile sindirim sistemi arasında alış-veriş sağlayan bir geçiş bölgesidir. Vücuda sindirim sistemi ile giren sıvı, elektrolit ve gıda maddeleri karaciğer tarafından işlenerek hücreler ve dokuların kullanımına uygun hale getirilir. Bu maddelerin depolanıp gerektiğinde kana verilmesi yanında oluşan metabolitler ile açığa çıkan toksinlerin nötralizasyonu ve atılması aşamasında da kilit rol oynar. Bu görevleri yapabilmesi için sindirim sistemi ile dolaşım sisteminin birleşim noktasında bulunur (25).

Karaciğerin temel yapısını hepatositler oluşturur. Bu epitelial kökenli hücreler karaciğerin en küçük yapısal birimi olan lobülleri oluştururlar. Lobüller yaklaşık 0,7 x 2 mm boyutlarında poligonal yapılardır. İnsanlarda, lobüller birbirleriyle yakın temasta oldukları için kesin sınırları ayırt etmek oldukça güçtür. Bazı bölgelerde,

lobüller safra kanalları, lenfatikler, sinirler ve kan damarları içeren bağ dokusuyla sınırlanmıştır. Portal alanlar adı verilen bu bölgeler, lobüllerin köşelerinde bulunur ve portal triadlarla çevrilidir. İnsan karaciğeri her lobülde 3-6 portal triad içerir. Portal triad venül, arteriol ve safra kanalı içerir. Ek olarak lenfatiklerde bu portal boşlukta yer alır (25).

Lobülün ortasında bir santral ven yer alır ve hepatositler bu venden portal boşluğa doğru bir kat hücreden oluşan ışınal bir dizilim gösterir. Bu hepatosit dizileri arasında kapiller ağ içeren sinüsoidler bulunur. Hepatositler ile kapiller endotel hücreleri arasında Disse aralığı bulunur. Hepatositlerin mikrovillusları bu aralığa uzanırken, kapiller endotel yüzündeki porlar da bu aralığa açılır. Bu özel porlu yapı sayesinde hepatositler ile kapiller damarlar arasında makromolekül transferi gerçekleşebilmektedir. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan Kupffer hücreleri bulunur, bu hücreler endotel hücrelerinin lümenine bakan yüzeyinde yerleşmiştir. Kupffer hücreleri tipik makrofajlardır. Ayrıca Disse aralığında A vitamini metabolizması ve depolanmasında etkinliği olan İto hücreleri bulunmaktadır (25).

2.2. Karaciğerin anatomisi

2.2.1. Yapısal Anatomi

Karaciğer vücut ağırlığının yaklaşık 1/50'ini kapsamaktadır (26). Karında sağ üst kadrmanı doldurur. Karaciğer büyük bir bölümü göğüs kafesi ile korunmaktadır. Karaciğer peritonla kaplı bir organ olmakla beraber safra kesesi yatağı, porta hepatis ve arka yüzeyde V. cava inferior'un sağ komşuluğundaki diyafram ile temas halinde olan bölge (çıplak alan) peritonsuzdur. Bu periton güçlü bir bağ dokusu halindedir ve bu şekilde Glisson kapsülü olarak adlandırılan kapsülü oluşturur (27).

Peritonun karaciğer üzerinden yansıdıktan sonra oluşturduğu katlantılara ligaman denir. Periton diafragmatik ve visseral yüzeyden ilerler ve posteriorda diyafram ile komşu olan çıplak alana geldiğinde kendi üzerinde dönerek sırasıyla anterior ve posterior koroner ligamanları oluşturur. Bu iki yaprak şeklindeki ligaman sağda ve solda birleşerek sağ ve sol triangular ligamanları oluşturur. Anterior koroner ligaman karaciğer yüzeyi ile anterior karın duvarı arasında uzanan bir katlantı yapar ve falsiform ligamanı oluşturur. Falsiform ligaman karın ön duvarına, umblikusa ve

diyaframa doğru uzanmaktadır. Bu ligamanın yaprakları arasında embriyojenik dönemde aktif olan umblikal venin kalıntısı olan yuvarlak ligamanı (ligamentum teres) oluşturur (27,28). Yukarıda tanımlanan koroner ligamanlar, triangular ligamanlar, falsiform ligaman ve ligamentum teres, karaciğeri diyafram ve karın ön duvarına asmaktadır. Karaciğer üzerinden devam eden periton portal hilusuda içine alacak şekilde duodenum ve mide küçük kurvaturuna doğru uzanır. Bu iki yapıya sırasıyla hepatoduodenal ve hepatogastik ligaman denir. Bu iki ligamana birlikte küçük omentum (omentum minus) denir (28).

Karaciğerde gerçek sağ ve sol lob ayırımı V. cava inferior'un sağ kenarı ile safra kesesi yatağı arasındaki düzlem ile olur. Bu hat Cantlie çizgisi olarak bilinir (28). Bu tip bir ayırım sadece karaciğerin mobilizasyonu veya basit girişimlerde anlamlı olabilmekte, daha komplike yöntemlerde yararlı olamamaktadır (29).

Karaciğerin fonksiyonel anatomisinde her biri kendi portal pedikülüne (portal ven, hepatik arter ve safra yolu) sahip sekiz segment bulunmaktadır (27,30). (Resim 1). Ek olarak üç ana hepatik venin oluşturduğu oluklarla birbirinden ayrılan dört sektör tarif edilmektedir (27,30). Sağ lobda segment 5, 6, 7, 8 ve sol lobda, segment 2, 3, 4 vardır. Segment 4, falsiform ligamentin sağında segment 2, 3 ise solunda yer alır (31, 32).

Aralık 1998'de İsviçre Bern'de yapılan bir toplantıda Uluslararası Hepato Pankreatiko Bilier (HPB) organizasyonunun bilimsel komitesi hepatik anatomi ve karaciğer rezeksiyonlarının terminolojisindeki karışıklığı gidermek için bir terminoloji komitesi kurdu. Bu komite dünya çapındaki 8 HPB cerrahından oluşmaktaydı. Terminoloji komitesi 18 aylık çalışma süreci sonunda bulgularını Avustralya Brisbane'de düzenlenen uluslar arası HPB kongresinde bilimsel komiteye sundu. Bu yeni terminolojiyi içeren bulgular karaciğer anatomisi ve rezeksiyonda 2000 yılı Brisbane terminolojisi olarak adlandırıldı (33).

Bu terminolojiye göre segment 5 ve 8 sağ anterior sekşin, cerrahi rezeksiyon ise sağ anterior sekşinektomi olarak adlandırıldı. Segment 5 ve 8 aynı zamanda sağ anterior sektör veya paramedian sektör olarak adlandırılır (33).

Segment 6 ve 7 sağ posterior sekşin, cerrahi rezeksiyon ise sağ posterior sekşinektomi olarak adlandırıldı. Segment 6 ve 7 aynı zamanda sağ posterior sektör

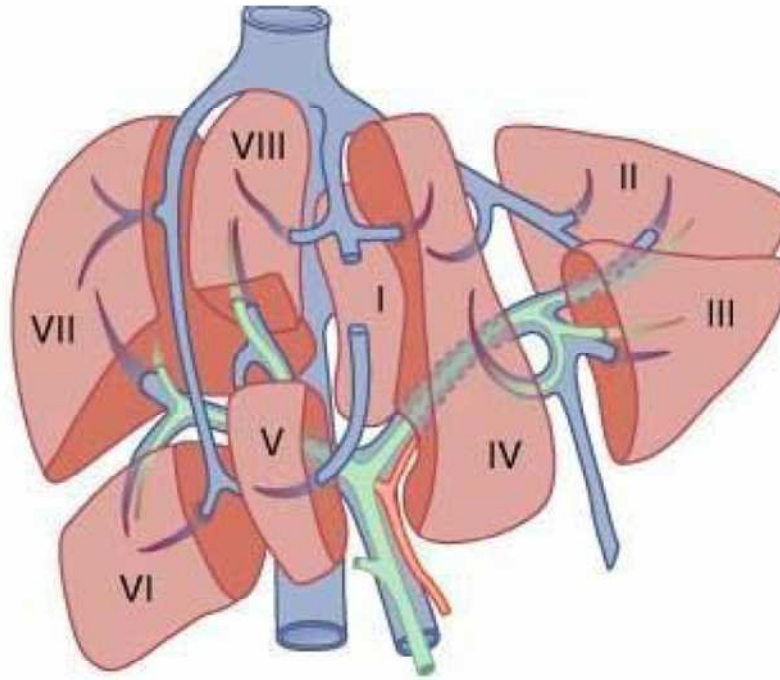
veya sağ lateral sektör olarak adlandırılır (33).

Segment 4 ise sol medial sekşin, cerrahi rezeksiyon ise sol medial sekşinektomi veya segmentektomi 4 veya segment 4 rezeksiyonu olarak adlandırıldı. Segment 2 ve 3 ise sol lateral sekşin, cerrahi rezeksiyon ise sol lateral sekşinektomi veya bisegmentektomi 2,3 olarak adlandırıldı (33).

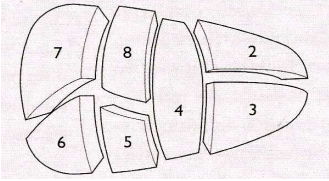
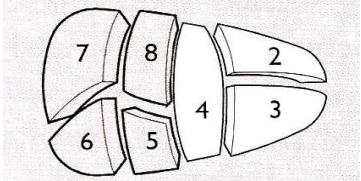
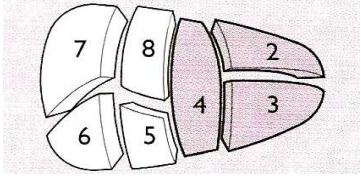
Segment 4,5,6,7 ve 8 ise sağ hemikaraciğer artı sol medial sekşin, cerrahi rezeksiyon ise sağ trisekşinektomi veya genişletilmiş sağ hemihepatektomi olarak adlandırıldı. Segment 2,3,4,5 ve 8 ise sol hemikaraciğer artı sağ anterior sekşin, cerrahi rezeksiyon ise sol trisekşinektomi ve genişletilmiş sol hemihepatektomi olarak adlandırıldı (33).

Segment 2 ise sol lateral sektör, cerrahi rezeksiyon ise sol lateral sektörektomi veya sol posterior sekterektomi veya segmentektomi 2 olarak adlandırıldı (33).

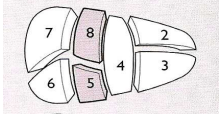
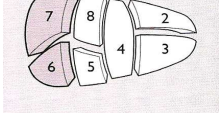
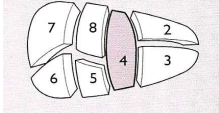
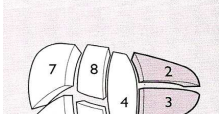
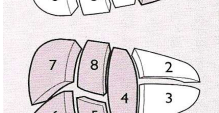
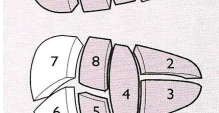
Segment 3 ve 4 ise sol medial sektör ve sol paramedian sektör olarak adlandırılır. Cerrahi rezeksiyon ise sol medial sektörektomi veya sol paramedian sektörektomi veya bisegmentektomi 3,4 olarak adlandırıldı (33). (Resim2,3,4,5)



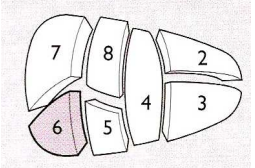
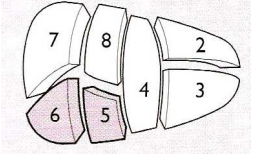
Resim 1. Karaciğerin Segmenter Anatomisi(28)

Segmentler			
Anatomik terim	Couinaud	Cerrahi rezeksiyon terimi	Şekil
Sağ hemi karaciğer veya Sağ karaciğer	Segment 5-8 (+/- segment 1)	Sağ hepatektomi veya sağ hemihepatektomi	
Sol hemi karaciğer veya sol karaciğer	Segment 2-4 (+/- segment 1)	sol hepatektomi veya sol hemihepatektomi	

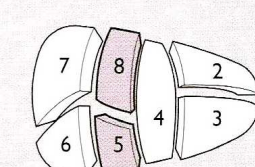
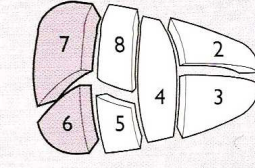
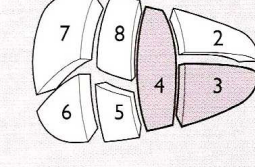
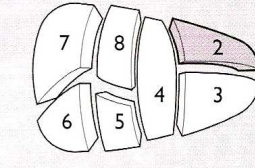
Resim 2. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi (33)

Anatomik terim	Couinaud	Cerrahi rezeksiyon terimi	Şekil
Sağ anterior sekşin	Segment 5,8	Sağ anterior sekşinektomi	
Sağ posterior sekşin	Segment 6,7	Sağ posterior sekşinektomi	
Sol medial sekşin	Segment 4	Sol medial sekşinektomi Veya Segment 4 rezeksiyonu Veya Segmentektmi 4	
Sol lateral sekşin	Segment 2,3	Sol lateral sekşinektomi Veya Segment 2,3 rezeksiyonu	
Sağ hemi karaciğer Artı Sol medial sekşin	Segment 4-8 (+/- segment)	Sağ hemisekşinektomi veya Genişletilmiş sağ hepatektomi Veya Genişletilmiş sağ hamihepatektomi	
Sol hemi karaciğer Artı Sağ anterior sekşin	Segment 2-5,8 (+/- segment)	Sol trisekşinektomi veya Genişletilmiş sol hepatektomi Veya Genişletilmiş sol hemihepatektomi	

Resim 3. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi (33)

Anatomik terim	Couinaud	Cerrahi rezeksiyon terimi	Şekil
Segment 1-8 (Segment tektomi 6)	Segment 1-8'a kadar 1 segment	Segmentektomi	
İki segment	Segment 1-8'a kadar 2 segment	Bi Segmentektomi	

Resim 4. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi (33)

Anatomik terim	Couinaud	Cerrahi rezeksiyon terimi	Şekil
Sağ anterior sektör veya sağ paramedial sektör	Segment 5,8	Sağ anterior sektörektomi veya Sağ paramedial sektörektomi	
sağ posterior sektör veya sağ lateral sektör	Segment 6,7	Sağ posterior sektörektomi veya Sağ lateral sektörektomi	
sol medial sektör veya sol paramedial sektör	Segment 3,4	Sol medial sektörektomi veya Sol paramedial sektörektomi veya Bisegmenttektomi 3,4	
sol lateral sektör veya sol posterior sektör	Segment 2	Sol lateral sektörektomi veya Sol posterior sektörektomi veya Segmentektomi 2	

Resim 5. Karaciğerin Anatomi ve Rezeksiyonlarının Terminolojisi (33)

2.2.2. Vasküler anatomi

Karaciğere gelen kan arteriyel sistem kanı yanında, venöz kanı da içerir. Karaciğere dakikada 1500 ml. kan gelir. Bu miktarın %25'ini hepatik arter, %75'ini portal ven karşılar. Karaciğerin oksijen ihtiyacının %50'sini hepatik arter, %50'sini portal ven karşılar (28,26).

Arteria hepatica communis, hepatica propria'nın dalıdır. A. gastrica sinistra ve a. linealis ile birlikte çölyak trunkustan çıkar ve omentum minus içinde, koledoğun solunda ve vena portanın önünde seyrederek karaciğere girer(26). Karaciğer pedikülü içinde önce sağ ve sol olmak üzere iki dala, sonrada karaciğerin segmentlerine göre defalarca dallara ayrılarak interlobüler arterleri oluşturur. Bazıları portal kanallara akarlar, bazıları da portal aralıktan değişen uzaklıktaki sinüzoidler içinde direkt sonlanan arteriyelleri oluşturur. Böylece sinüzoidler içinde arteriyel ve portal venöz kan karışır(27).

Portal ven üç büyük venin birleşmesiyle oluşur. Splenik ven ve superior mezenterik ven pankreas boynu hizasında birleşirler, inferior mezenterik ven de bu venlere katılır ve portal ven oluşur. Mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen venöz kanı karaciğere taşır. Portal ven dalları karaciğer içinde segmentlere göre dağılım gösterir. Portal ven defalarca dallanarak portal triadlara ulaşır (28, 34).

Karaciğerin venöz drenajını üç major hepatik ven ile sağlar. Sağ lobun kanı sağ hepatik ven ile inferior vena kavaya boşalır. Sol hepatik ven 2. ve 3. segmentlerin kanını alır, orta hepatik venle birleşmek üzere yukarı yönde parankim içinde oldukça yüzeysel bir durumda seyrederek. Orta hepatik ven genellikle sol hepatik venle birleşip tek trunkus halinde inferior vena kavaya açılır Segment 1 (kaudat lob)'in venöz drenajı ise doğrudan vena kava inferioradır ve üç ana hepatik venden bağımsızdır (35,36).

2.3. Karaciğerin fizyolojisi

Karaciğer fizyolojik olarak birçok göreve sahiptir. Bunların başında kandan gelen besin maddelerinin alımı, depolanması ve dağılımı gelir. Ayrıca vücudun normal işlevleri için gerekli birçok endojen ve eksojen substratların sentezlenmesi, metabolizması ve atılımı ile vücuda zararlı toksinlerin temizlenmesi gibi fonksiyonlara da sahiptir (37).

2.4. Karaciğerin görevleri

Karaciğer vücuttaki tüm sistemleri ilgilendiren önemli görevler üstlenmiştir.

Karaciğerin temel görevleri şu şekilde sıralanabilir.

- Vasküler rezervuar fonksiyonu: Genişleyebilen bir organ olduğundan hepatik venler ve sinüsler içinde normalde var olan 450 ml'lik kan rezervuarına duruma göre ekstra 500 – 1000 ml daha kan ekleyebilir.
- Filtre fonksiyonu: Portal sistemde bağırsaklardan gelen mikroorganizmalar hepatik sinüslerde bulunan makrofajlar (Kuppfer hücreleri) aracılığı ile filtrelenmiş olur.
- Metabolik fonksiyonu: Karaciğer karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında kritik görevler gerçekleştirir. Aynı zamanda vitamin, mineral ve enerji yedeği oluşturacak glikojen gibi maddelerin depolanmasında ve koagülasyon faktörlerinin sentezinde de görev alır.
- Detoksifikasyon fonksiyonu: Dışarıdan alınan ilaçların, dışarıdan alınan veya endokrin sistemde üretilen hormonların fazlasının veya kalsiyum gibi minerallerin fazlasının detoksifikasyonunu veya safra ile atılımını sağlar.
- Sekretuar fonksiyonu: Safra üretimi ve gastrointestinal sisteme aktarılması işlevi vardır. Bu şekilde sindirim sistemi içinde de görev alır. Bu fonksiyonları nedeniyle insan biyokimyası biliminin odağında bu organ vardır (38).

2.5. Karaciğer nakli

Karaciğer nakli son dönem karaciğer hastalığındaki tedavi seçeneğidir ve cerrahların hemoraji kontrolü, karaciğer anatomisi ve rejenerasyonu tabanlı yaptığı yeniliklerin son noktasını teşkil etmektedir. Rezeksiyon ve organ nakli cerrahileri, gelişimleri esnasında birbirlerini karşılıklı olarak etkilemişlerdir. Bir tarafta, karaciğer nakli cerrahisindeki gelişmeler, karaciğer rezeksiyonundaki cerrahi tekniğin evrimini baz almaktadır. Öte yandan, onkolojik karaciğer cerrahisindeki yenilikçi konsept, karaciğer organ nakli için kullanılan yeni teknik özelliklerin ışığında gelişmiştir. İmmünespresif rejimlerin gelişmesi, doku korunması, enfeksiyon hastalıklarının azalması ve daha iyi postoperatif yönetime bağlı olarak ortotopik karaciğer nakli hasta ve allogreft survey oranlarını geliştirmiştir. Böylece hem organ nakli

endikasyonları hem de potansiyel alıcı sayısı artmıştır(39).

Organ nakilleri arasında karaciğer nakli önemli farklılıklar gösterir. Günümüze kadar nakil yapılan organlar arasında teknik açıdan en güç olanı şüphesiz ki karaciğer naklidir. Teknik özelliklerinin yanında karaciğer metabolizmasının oldukça kompleks olması nakil sonrasında önemli sorunlara yol açmaktadır. Böbrek hastalıklarında uygulanabilen diyaliz gibi bir yöntemin karaciğer için olmaması organ naklini daha da güçleştirmektedir. Tüm bu güçlüklerle rağmen karaciğer nakli günümüzde başarı ile uygulanabilen altın standart tedavi modalitesidir. Karaciğer naklinin başarı ile yapılabilirliği şüphesiz immünsüpresyon ve teknikteki gelişmelere bağlıdır (40).

Karaciğer nakli ilk olarak Welch tarafından 1955’de köpek modelinde yapılmıştır. İnsanda ilk karaciğer nakli 1963’de Starzl tarafından yapılmış, fakat başarısız olunmuştur. Ancak 1967 yılında yine aynı ekip tarafından başarılı sonuçlar alınmıştır. 1967’den 1980 yılına kadar Colaroda Üniversitesinde azatioprin, kortikosteroid ve antilenfosit globülin kullanılarak 170 karaciğer nakli yapılmış ve yıllık sağ kalım % 30 düzeyinde gerçekleşmiştir. Calne ve arkadaşları 1979 yılında modern immünosupresif tedavinin ilk ilacı olan siklosporini klinik kullanıma sokmuşlardır. Siklosporinin kullanıma girmesi karaciğer naklinde bir devrim yaratmış ve sağ kalım oranları iki katına çıkmıştır. Survey oranları ilk yıllarda %50’nin altındaydı ancak teknik ve postopertatif hasta tedavi ve takibindeki gelişmelere paralel olarak survey oranları zamanla iyileşmiştir (40).

Her ne kadar ilk insan karaciğer nakli 1963’ de yapılmış olsa da bir yıllık sağkalım oranlarının %80-90’ı bulduğu ortotropik karaciğer nakli (OLT) son iki dekada başarılmıştır (41).

1990’lı yıllarda karaciğer donör havuzunu genişletme çabalarına ağırlık verildi ve NHBD’ler ilgi odağı haline geldi. Günümüzde de bu tip marjinal donörlerin havuza dahil edilmesi konusunda karşıt fikirlerin tartışması devam etmektedir. Bu donörlerin havuza dahil edilmesi ile bekleyen hasta listelerinin kalabalıklığı azalmaktadır ve hastalar nakil şanslarını durumları kötüleşmeden kullanabilmektedir. Organ nakli modalitesinde bu tür greftlerin kullanılması geleceğe dönük umut vadetmektedir (26).

Ülkemizde de Haberal ve arkadaşları 1989 yılında karaciğer naklini başarıyla uygulamaya başlamışlardır. Karaciğer ektopik bir lokalizasyonda ikinci bir organ olarak heterotopik veya hasta karaciğer çıkarılarak onun yerine ortotopik olarak transplante edilebilir. Bugün daha sıklıkla kullanılan ve sonuçları daha iyi olan ortotopik karaciğer naklidir (40).

Karaciğer nakli, birçok akut ve kronik karaciğer hastalığı için endikedir. Siroz, yetişkinlerde organ nakli uygulamasının %80' den fazla nedenidir ve hepatit C ve alkolizm en sık siroz nedenleridir. Diğer endikasyonlar; kolestatik karaciğer bozuklukları(primer bilier siroz, sklerozan kolanjit, bilier atrezi), metabolik hastalıklar (Wilson hastalığı, nonalkolik steatohepatit), fulminan hepatik yetmezlik ve hepatosellüler karsinomdur. Çocuklarda karaciğer nakli için major endikasyonlar bilier atrezi ve metabolik karaciğer hastalıklarıdır (39).

Karaciğer naklinin önemli meselelerinden birisi organ naklinin uygun zamanlamasıdır. Fulminan hepatik yetmezlik terimi bozulmuş sentez fonksiyonunu ve ensefalopati ile birlikte şiddetli akut karaciğer hasarını işaret eder ve bu hastaların öncelikli normal bir karaciğere veya hastalığı iyi kompanze edilmesine ihtiyaçları vardır(42). Bu hastaların organ nakli merkezlerine erken refere edilmesi en iyi sağkalımın elde edilmesinde kritik karardır (39).

Fulminan hepatik yetmezlik hastaları bekleme listesinde en öncelikli hastalardır. Sadece siroz varlığı organ nakli için yeterli değildir. Bununla birlikte sirozlu hastalardaki yüksek morbidite ve mortalite varlığı komplikasyonları ile ilişkilidir ve iyi kompanze edilen hastalar uzun yıllar stabil seyredebilir(43). Bununla birlikte dekompanzasyon işaretleri ortaya çıktığında(varis kanaması, asit vb) 5 yıllık sağkalım % 50' ye düşmektedir ve hastalara karaciğer nakli önerilmektedir. Varis kanaması sirozda en dramatik ve hayatı tehdit eden durumdur, ayrıca hipoalbuminemi ve asit de uzun dönem sağ kalımı kısaltan nedenlerdir. Hepatorenal sendrom gelişimi kötü bir işarettir ve kısa sürede nakil ihtiyacını gösterir(39).

Kronik karaciğer hastalarında ideal karaciğer nakli zamanı, multiorgan hasarı gelişmeden önce 1-2 yıllık sağkalım şansının %50' den daha az olduğu zamandır. Bir kez multi organ hasarı geliştiğinde organ nakli sonrası sağkalım oranı sadece % 20-30' dur (44).

Yaşam beklentisini azaltan eşlik eden geri dönüşümsüz kardiyak ve pulmoner hastalıklar gibi ciddi sağlık problemleri ve cilt kanseri hariç maligniteleri olan hastalarda organ nakli kontrendikedir. Madde bağımlılığı, uyumsuz kişilik, kontrol edilemeyen psikiyatrik hastalıklar psikososyal kontrendikasyonlar olarak sayılmaktadır. Hem portal hem de mezenterik venlerde geniş tromboz ve vücut kitle indeksinin 35'in üzerinde olması da teknik kontrendikasyonlar arasında sayılabilir (40).

2.6. Non–heart beating donörler

Karaciğer nakli son dönem karaciğer hastalığı olan hastaların tedavisi için 1-5 yıllık survi oranlarının % 70-80'lere çıkmasıyla iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fakat sadece karaciğer nakil adayları bu tedavinin yararlarını görmektedir (8). Donör organ azlığı; bekleyen hasta listelerinin kalabalıklaşmasının ve organ nakli için beklerken ölen hasta sayısının artmasının ana nedenidir. Hastalar bekleme listesinde geçirdikleri zaman zarfında uygun grefte ulaşamadıkları için kaybedilmektedir. NHBD karaciğerleri donör havuzunu genişletmekte iyi bir potansiyeldir ancak yeni bir yaklaşım değildir. Beyin ölümü tanınmadan önce organ nakli için organlar sadece kardiyak arrest sonrası alınmaktaydı. Bu yöntem de bir bakıma NHBD anlamına gelmektedir. Ancak beyin ölümü kriterleri belirlendikten sonra greftler HBD'lerden sağlanma yoluna gidilmiştir. Ancak günümüzde organ havuzunun azlığı, ilgiyi tekrar aslında farkında olunmadan daha önce kullanılan NHBD'ler üzerine odaklamıştır (45).

Heart beating donörün (HBD) ölümü, beyin sapı fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kesilmesine dayanmaktadır. NHBD'lerin ölümü ise dolaşım ve solunum fonksiyonların geri dönüşümsüz durmasına dayandırılmaktadır. HBD'lerde ölüm nörolojik kriterlere dayanır. NHBD'lerde ise esas nokta kardiyak arrest olup olmadığıdır. En belirgin ana fark kardiyak arrest anına kadar NHBD'ler halen hayattadır ancak HBD'lerde beyin ölümü gerçekleşmiştir (46).

NHBD 4 kategori içinde incelenir. (Maastricht klasifikasyonu)

Kategori I: Eks Duhul hastalar

Kategori II: Başarısız Resüsitasyon

Kategori III: Kardiak arrest gelişmesi beklenen hastalar

Kategori IV: Beyin ölümü gerçekleşmiş kardiyak arrest gelişen hastalar.

NHBD'ler iki grupta incelenir. Kategori I ve II kontrolsüz NHD diye adlandırılır. Katerogi III ve IV kontrollü NHBD diye adlandırılır (8).

Kontrollü NHBD'lerde iskemik hasar daha azdır ve organ nakli sonrası organ fonksiyonları daha iyidir (7).

Karaciğerin sıcak iskemiye dayanma süresi günümüzde yaklaşık 20 dk olarak kabul edilmektedir ve 20 dk'dan sonra hepatositlerde hasar başlamaktadır (47).

Canlı donörlerden sağlanan greftler, karaciğer nakli için bekleme listelerinin fazlalığı ve organ azlığı nedeniyle sıklıkla kullanılan bir yöntem halini almıştır ancak bu yöntem; verici için yüksek mortalite ve morbitide riskleri içermektedir. Canlı donör organ nakilleri erişkin dönem organ naklilerinin %5-10'unu oluşturmaktadır (48, 49).

Canlı donörün avantajları; elektif operasyonu sağlaması, greftin en iyi şartlarda hazırlanabilmesi ve bekleme sürecindeki ölüm hızını azaltmasıdır. Bu yöntemde canlı donörün ameliyat esnasında ve sonrasında güvende olması primer amaç olmalıdır. Sonuç olarak bu yöntem donör havuzunu genişletmesine rağmen soru işaretleri ile doludur. Bu teknik temelde donör havuzunu genişletebilir ama tek başına da organ yetersizliği çözememektedir. Son dönem karaciğer yetmezliğine sahip, bekleme listesinde zaman geçirmeye vakti olmayan hastalar için iyi bir yöntemdir ancak vericinin risklerinin farkında olunulmalıdır (50,51).

Canlı donasyon alıcı için tabii ki altın standart tedavi şansıdır. Operasyon elektifir ve bekleme listesinde geçirdiği zaman sona ermektedir. Alıcının şartları bozulmadan organ ihtiyacı karşılanmış olmaktadır. Alıcı listede yerini aldıktan sonra mortalite ve morbitide hızı yükselmeden grefte kavuşmaktadır (52).

Kategori I ve II, kontrolsüz NHBD'ler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu tür donörlerde organ donasyonu için zaman yoktur. Bu hastalar genellikle acil servislerdedir. Ölüm kesinleştikten sonra organ donasyonuna karar verilmektedir. Ailenin izni genelde kardiyak arrestten sonra alınmaktadır. Organ alınma yöntemi ölüm deklarasyonunun

hemen sonrasında başladığı için genelde bu iki grup organlar uzamış sıcak iskemiyeye maruz kalmaktadır. Kategori III NHBD'ler en fonksiyonel greft sağlanan gruptur. Ailenin izni ve ekibin hazırlığı için geçen süre kısadır. Çünkü planlanan durum eğer mümkün olamazsa aileye daha öncesinden haber verilmekte ve hazırlıklar başlamaktadır. Böylece bu gruptan elde edilen greftler çok daha kısa süre sıcak iskemiyeye maruz kalmaktadırlar. Kategori IV'deki donörler beyin ölümü gerçekleşmiş yoğun bakım şartlarında takip edilmekte olan ve ani kardiyak arrest gelişen hastalardan oluşmaktadır (46).

Sıcak iskemiyenin süresinin hangi noktada başladığı konusundaki tartışmalar halen devam etmektedir. 1995'de Hollanda'da Maastricht toplantısında sıcak iske mi süresi; "kardiyak arrest anından soğuk yıkamanın başladığı ana kadar geçen zamandır" olarak tanımlanmıştır. Literatürde karaciğer nakli için sıcak iskemiyeyi bütün ayrıntıları ile tanımlayan ortak bir fikir birliği yoktur. Sıcak iskemiyenin başlama anını organın alınmaya başladığı an olarak kabul etmektedir (46).

NHBD'lerden sağlanan organlar için ana problem uzamış sıcak iske mi zamanıdır. Organ prezervasyonu ve organ nakillerinin iske mi-reperfüzyon injürisi ile doğrudan ilişkili olduğu kabul edilen bir görüştür. Soğuk ortamda organ hazırlanması (+4°C) metabolizmayı yavaşlatmakta ve iskemiyenin etkilerini sınırlandırmaktadır. ATP'nin azalması ve O₂ eksikliği anaerobik metabolizmayı aktifler. Laktat ve hipoksantin artmaya ve birikmeye başlar. Tüm bunlar sonucunda da intrasellüler asidoz gelişmektedir. Reperfüzyon, SOR eşliğinde hipoksantin ve ürata dönüşmesini sağlamaktadır. Bu yolak lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır. Fizyolojik olmayan bu sapmalar greft disfonksiyonunun en güçlü nedenlerinden birini oluşturmaktadır (46,47).

Na-K pompalarının çalışması ve dolayısıyla tüm hücre sel kompartımanlarda elektrolit balansının korunması için ATP mutlak gereklidir. ATP'nin azalması bu pompaların çalışmasını bozmakta ve hücre sel ödeme neden olmaktadır. Na-K pompalarının efektif çalışmaması elektrolit gradient kaybının oluşmasına neden olur ve membran bütünlüğü sağlanamaz hale gelir. Membran disfonksiyonu da kalsiyumun hücre içine girmesine neden olur. Asidik hücre içi ortamla karşılaşan kalsiyum hücre içinde çökeltiler oluşturmaya başlar ve sonuç olarak kalsiyum hücre içinde çöker (53).

SOR ürünleri, nitrik oksit ve proinflamatuvar sitokinlerin salınması ile Kupffer hücreleri de aktive olmaktadır. Bu süreçte; adezyon moleküllerinin de salınması lökositlerin olay yerine toplanmasına neden olmaktadır. Tüm bu olaylarla eş zamanlı kompleman sisteminin aktivasyonu da hücrel ödem ve lökosit birikimini artırmakta ve tetiklemektedir (17,19,46). Winconsin Üniversitesi (WU) solüsyonu ile soğuk yıkama bu etkileri engellemek ve organ nakli başarısını artırmak için tasarlanmıştır (46).

NHBD organlarında soğuk iskeminin etkileri sıcak iskemi sırasında oluşan injuriye eklenmektedir. Sıcak ve soğuk iskemi paterni arasında farklılıklar mevcuttur. Soğuk iskeminin başlaması injuri etkilerini sinozoidal–endotelyal hücrelerde gösterirken, sıcak iskemi esas olarak hepatositleri zedelemektedir (46, 49).

Kategori I NHBD’lerden organların organ nakilleri zordur. Çünkü kardiyak arrest nedeniyle organ canlılığı ile bağdaşmayan iskemi süresi gerçekleşmiştir. Ayrıca bu tür vakalarda detaylı araştırmalara ve sorgulamalara rağmen çoğu zaman ölüm sonrası geçirdikleri iskemik periodun ne kadar olduğuna dair verilere ulaşılammaktadır (8).

Kategori II NHBD’lerde bu bilgi tam olarak bilinmektedir, çünkü hasta sağlık personeli ya da doktor gözetimindeyken kardiyak arrest geçirmektedir. Kardiyak arrest anı ve süresi belirlidir. Bu gruptaki organların ölüm sonrasında canlılık birkaç farklı yöntem ile sağlanmaya çalışılmaktadır. Tabii ki kardiyopulmoner destek mutlakdır. Ancak bu tip vakalarda resüsitasyon sırasında manuel olarak abdominal destek ile intravasküler volüm arttırılmaya çalışılmalıdır. Yani standart kardiyopulmoner resüsitasyona ek olarak abdomenin manuel olarak kompresyonu intravasküler basıncı belirgin anlamda artırmakta ve organ canlılığın sağlanması ve devamı açısından önemli faydalar sağlamaktadır. Bir diğer yöntem kardiyopulmoner bypasstır. Hasta; aileden ve kanuni izinler alınarak ölüm deklarasyonundan hemen sonra operasyon odasına alınmalıdır. Sağ femoral ven ve arter kanüle edilerek kardiyopulmoner bypass sistemine bağlanmalıdır ve bu şekilde organın canlılığı sürdürülmeye çalışılmalıdır. Kategori II NHBD’lerin sonuçları HBD’lere benzemektedir. Hasta surveyi açısından neredeyse aynıdır ancak greft surveyi açısından %20 daha kötü olarak gerçekleşmektedir. Bu oranın yüksek olması HBD’lere göre NHBD’lerde greftte daha fazla injuri olması ile açıklanabilir (8).

NHBD'lerde greft yetmezliğinin ve disfonksiyonunun en sık ve önemli nedeni sıcak iskemi süresinin uzunluğudur. Bu süre kabaca resüsitasyon sırasındaki süre olarak tanımlanabilir. Buna rağmen düşük akımlı sıcak iskemi hiç akımın olmadığı sıcak iskemiden daha az injuriye neden olmaktadır. Bu yüzden NHBD'lerde sirkülasyonun düşük akımlı da olsa bir miktar sağlanması greft canlılığı açısından anlamlı faydalar sağlamaktadır. Ancak tüm müdahalelere rağmen günümüzde henüz bu injüri seviyesi HBD'lerden daha kötüdür (8).

Kategori III hastaları yaşam desteği alan yoğun bakım ünitelerindeki hastalar oluşturmaktadır. Yaşam desteğini sonlandıracak olan takım ile organ donasyon takımı birbirinden bağımsız çalışan farklı kişilerden oluşmalıdır. Bu tür durumlarda alınan kararlar ortak olmamalıdır. Eğer tüm kararlar aynı yöndeysen ve fikir birliği sağlandıysa ailenin de izni mümkün oluyorsa kardiyopulmoner destek kesilir ve hasta planlı NHBD halini alır (54).

Kategori IV NHBD'ler beyin ölümi gelişmiş ancak donasyon işlemleri başlamadan ani kardiyak arrest olan hastalardan oluşmaktadır. Bu vakaların işlemleri daha komplekstir çünkü sıcak iskemi süreleri uzundur. Bu sorunlar da greft fonksiyonlarını önemli ölçüde etkilemektedir (54).

NHBD'ler sıcak iskemiyeye maruz kaldıkları için primer greft nonfonksiyonu daha sıklıkla gelişmektedir. İskemik karaciğerin canlılığını *in vivo* değerlendirebilen kabul edilmiş uygun bir teknik olmaması nedeniyle NHBD greftlerinin kullanıldığı organ nakli yapılan geniş serili deneysel modeller hazırlanarak NHBD'lerdeki bu en temel sorun olan sıcak iskemi konusundaki sorular cevaplanmalıdır. Literatürde karaciğerin sıcak iskemiyeye toleransını araştıran çok az deneysel çalışma mevcuttur (55).

Sıcak iskemi süresi ne kadar uzun ise transaminazlardaki yükselme de o kadar erken başlamaktadır. Eğer AST yüksekliği erken dönemde gelişıyorsa o greft surveyi ve fonksiyonu için kötü bir gelecek oluşacağı söylenebilir. Sıcak iskeminin kendisi karaciğer hasarına yol açmaktadır ki bu hasarı iskemi–reperfüzyon injurisi daha da artırmaktadır. Reperfüzyondan önce karaciğer spesmenlerinin incelendiği çalışmalarda sıcak iskeminin kendi başına etkisi koagülasyon, hepatosit nekrozu ve vakuolizasyon ile kanıtlanmıştır (56, 57).

Sıcak iskemi süresi limitasyonunda fikir birliği için bir çok çalışma literatürde devam

etmektedir. Yi Ma ve ark. çalışmasında bu süre 30 dk olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada sıcak iskemi süresi arttıkça histolojik değişiklikler artmıştır. Yine bu çalışmada NHBD'lerde reperfüzyon sırasındaki injurinin sıcak iskemi süresi ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada sonuç olarak sadece sıcak iskemiye maruz kalan greftlerde iskemi süresi 60 dk'nın altında ise hasar geri dönüşümlü olarak tanımlanmaktadır. Ancak hasarın reperfüzyon sırasında da arttığı bildirilmektedir. Bu yüzden sıcak iskemi süresi 30 dk olarak sağlanabilirse reperfüzyon sağlandıktan sonra bile hasar geri dönüşümlü olarak gerçekleşmektedir. Bu çalışmanın sonucunda özellikle sıçan karaciğer greftleri için sıcak iskemi süresinin 30 dk olarak sağlanması gerektiği vurgulanmaktadır (55).

Çalışmalar göstermektedir ki NHBD'lerin kullanıma girmesi ile donör organ sayısı yaklaşık %20–25 oranında artmaktadır. Organ hazırlanmasındaki, pre–postoperatif bakımdaki ve immünyüpresyondaki teknolojik gelişmeler sayesinde bu tür greftlerin fonksiyon ve surveyleri optimize edilebilmektedir. Bu sayede NHBD'ler günümüzde organ nakli modalitesi için umut vaat eder hale gelmiştir. Ayrıca NHBD'lerin donasyonunun temel prensipler göz önüne alındığında daha etik olması nedeniyle de ilgi her geçen gün artmaya devam etmektedir (58).

NHBD karaciğerleri için seçilen yıkama solüsyonu çoğu merkezde histidin triptofan ketoglutarat (HTK)'tır. Bu solüsyon koloidal maddeleri içermemesi nedeniyle viskozitesi düşüktür ve maliyeti diğer solüsyonlardan belirgin ölçüde azdır. Optimal prezervasyon için NHBD karaciğerlerinin efektif yıkanması major öneme sahiptir. Karaciğer içerisindeki kan artıklarının ve doku debrislerinin temizlenmesi greft fonksiyonu ve surveyi açısından anahtar rol oynamaktadır. HTK, NHBD karaciğer greftleri için çoğu merkezde en yaygın olarak kullanılan yıkama solüsyonudur (59).

2.7. Karaciğerde iskemi–reperfüzyon hasarı

Karaciğer iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı klinikte sıkça karşılaşılan ciddi problemlerden birisidir. Özellikle günümüzde artan karaciğer nakilleri bu konunun önemini artırmaktadır. Kan akımı kesilen dokularda birbiri ardı sıra bazı kimyasal reaksiyonlar gelişir. Bu reaksiyonlar sonucu hücresel disfonksiyon, hücresel ve interstisyel ödem, sonuçta hücresel kaos ve ölüm meydana gelir. Hücrelerin canlılığının ve fonksiyonunun devam edebilmesi için gerekli olan temel yakıtın

eldesinde oksijen, merkezi bir role sahiptir. Aerobik metabolizmalar normal hücre fonksiyonu için gerekli olan enerjiyi yüksek enerjili fosfat bağları şeklinde depo ederler. Oksijen yokluğunda anaerobik metabolizma devreye girer ve lokal olarak ilgili dokuda laktik asit konsantrasyonu artar bu hasarda önemli bir yer tutar (60). Sonuçta ortaya çıkan asidoz, hücrelerdeki normal enzim kinetiklerini değiştirir ve daha az miktarlarda yüksek enerjili bağlar oluşturur. Homeostazın korunması için gerekli enerji sağlanamaz (61). İskemi ile artan ATP ihtiyacı, glikolizi indükler. Glikolizde merkezi role sahip olan heksokinaz aktivitesinin ölçülmesi ile ATP üretimi hakkında bilgi sahibi olunabilir (62). İskemi ile aktive olan anaerobik glikoliz sonucunda laktat üretimi artar. Bu reaksiyonlar zincirinin son basamağı olan pirüvatın laktata dönüştüğü ve laktat dehidrogenaz enziminin (LDH) kontrol ettiği reaksiyon iskemi hasarı sonrası önemli bir parametredir (63).

Karaciğer tarafından tolere edilebilen normotermik iskeminin üst süresi tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde elektif şartlarda yapılan karaciğer rezeksiyonlarında, portal triad klempaj süresinin 90 dakikaya kadar uzatılabileceği kabul edilmektedir (26,34). İskeminin 90 dk'dan uzun sürelerde, karaciğerde geri dönüşümsüz değişikliklere neden olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (64,65).

Reperfüzyon hasarından sorumlu olduğu bilinen birçok spesifik mekanizma varken, özellikle karaciğerde reperfüzyon hasarı tam olarak aydınlatılamamıştır. Karaciğerdeki iskemi–reperfüzyon hasarı değişik mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Hasara neden olan faktörler; serbest oksijen radikalleri, lökosit migrasyonu ve aktivasyonu, sinüzoidal endotelial hücre hasarı, mikrosirkülasyondaki düzensizlikler, hücre adezyon moleküllerinin artması ve koagülasyon sisteminin aktivasyonu olarak özetlenebilir (66,67).

İskemiye sekonder aktif transmembran transport yetmezliği, buna bağlı endotelial ve Kupffer hücre şişmesi ve intrasellüler ödem ortaya çıkar. Vazokonstriksiyon, sinüzoidal lümeni daraltarak lökosit akışkanlığını azaltır, hepatik mikrosirkülasyondaki sinüzoidal akıma engel olur ve hipoksi süresi uzar (68). İskemi–reperfüzyon sırasında Kupffer hücreleri ve nötrofiller aktive olur. Bu hücrelerden inflamatuvar sitokinler, proteazlar, TNF, lökotrienler gibi toksik mediatörler ortaya çıkar. Ayrıca aktive olmuş Kupffer hücrelerinin prostaglandin ve tromboksanları da salgıladığı bilinmektedir (69,70).

Karmaşıklığa rağmen reperfüzyon hasarının, hepatik rezeksiyon ve organ nakli yapılan deneysel çalışmalarda farmakolojik olarak baskılanması başarılmıştır. Bu da deneysel modellerin klinikte uygulanabileceği ümidini vermektedir (71).

Normal koşullarda insan karaciğeri 3 gün içinde rejenerasyona başlar ve 6 ay içinde önceki boyutuna ulaşır. Sıçanlarda yapılan parsiyel hepatektomi sonrası rejenerasyon süreci saatler içinde başlar ve 7–10 gün içinde tamamlanır (72,73).

PCNA, 36 kilodalton ağırlığında, asidik nükleer proteindir ve hücre çoğalması ve DNA onarımı sırasında salınır. PCNA, DNA polimeraz gama için gerekli bir protein olup hücre proliferasyonunun başlamasında son derece önemli rol oynamaktadır. PCNA boyanan hücreler normal karaciğer dokusunda oldukça az sayıda iken, rejeneren olan karaciğer dokusunda artar (74). Bu proteinin ekspresyonu, hücre siklusunda S fazını temsil etmekte ve immünohistokimyasal olarak bu proteinin saptanması dokudaki proliferen olan hücre fraksiyonunu göstermesi nedeniyle önemli bir proliferasyon ve canlılık markeri olarak ortaya çıkmaktadır (75).

Apopitozis karaciğer greftlerinde akut rezeksiyon sırasında görülen hepatosit hücre ölüm yoludur. Hepatositlerin apopitozisindeki yönetici moleküllerden başlıcaları; Fas ligand/fas, TGF beta–1/ TGF beta–1 reseptörü, TNF α /TNF α reseptörü ve bcl–2’dir (76).

Apopitozis kontrol ve düzenlenme aşamasında ölüm reseptörleri, adaptör moleküller, caspase kaskadı, mitokondri ve bcl–2 ailesinin dahil olduğu ölüm sinyalleri ile bağlantıyı sağlayan çeşitli proteinler vardır (77).

Bcl–2 karaciğerdeki esas anti–apopitotik gen olup sadece bilier hücrelerde üretilmektedir. Bcl–2’nin karaciğer rejenerasyonunda erken dönemde hepatositleri apopitozdan koruduğu ve hepatosit canlılığının devamında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (78). Bcl–2 hücre yaşamını apopitozisi bloke ederek uzatmaktadır. İşkemiye maruz kalan hücrelerin seçtikleri ölüm yolu olan apopitozisin baskılanması da karaciğer greftlerinde canlılığın devamı için önemlidir (79).

Hepatositlerin ve bilier hücrelerin apopitozisi greft rezeksiyonunda kilit noktada yer almaktadır. Apopitozis nedeniyle kaybedilen hücre sayısı ile rezeksiyonun şiddeti belirlenmektedir. Apopitozis sıklıkla iskemi ile indüklenen ölüm şekli olarak da

tanımlanmaktadır. Apoptozis hücrenin maruz kaldığı akut iskemiye verilen geçici bir cevaptır. Atrofi ve hiperplazi ise kronik cevaplar olarak görülmektedir (80).

2.8 Serbest Oksijen Radikalleri(SOR)

Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı karaciğer nakli, karaciğer cerrahi ve şok sonrası ,hepatik yetmezlik gibi bir çok klinik durumlarda ortaya çıkan ortak ve önemli bir problemdir. İskemik dokunun reperfüzyonu ile serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar ki bunların karaciğerin değişik hücreleri üzerinde yıkıcı etkileri vardır. Dokuları bunlardan korumak için hücresel oksidan enzimlerin aktivasyonu veya antioksidanların efektif olduğu bildirilmiştir (81–86).

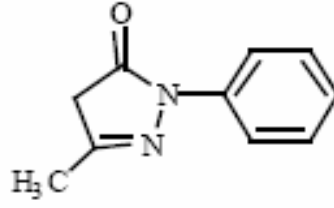
Süperoksit Dismutaz'ın (SOD) iskemi reperfüzyon hasarı sırasında apoptozisi tetiklediği ve başlıca üretildiği SOR'un major bir toplayıcısı olduğu bilinmektedir. Lipid peroksidasyonunun düşük bir ürünü olan malondialdehide (MDA) nükleik asitin aminosu ile reaksiyona girerek sitotoksite oluşturabilir (87).

MDA seviyelerinin ve SOD aktivitesinin lipid peroksidasyon seviyesindeki değişiklikleri ortaya koyan iyi bir indikatör olduğu ve bundan dolayı doku hasarının ciddiyetini gösteren bir parametre olduğu rapor edilmiştir (88).

SOR süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren iskemi reperfüzyon hasarında potansiyel öneme sahiptir. Süperoksit intrasellüler olarak mitokondri tarafından üretilir ve süperoksit dismutazla hidrojen peroksite çevrilir. SOR Kupffer hücreleri ve nötrofiller tarafından intrasellüler oksidatif stres sonucu meydana getirilir.(89,90). Fakat oksidant bu hücre membranlarından süperoksit değil hidrojen peroksit şeklinde diffüze olur (91,92).

Lipid peroksidasyonuna neden olan diffüze olan hidrojen peroksitten aşırı düzeyde hidroksil radikalleri oluşmaya başladığı zaman hücre membran permeabilitesi değişir (93).

2.9. Edaravone(MCI-186, 3-metil-1 fenil-2 pirazolin-5-one)

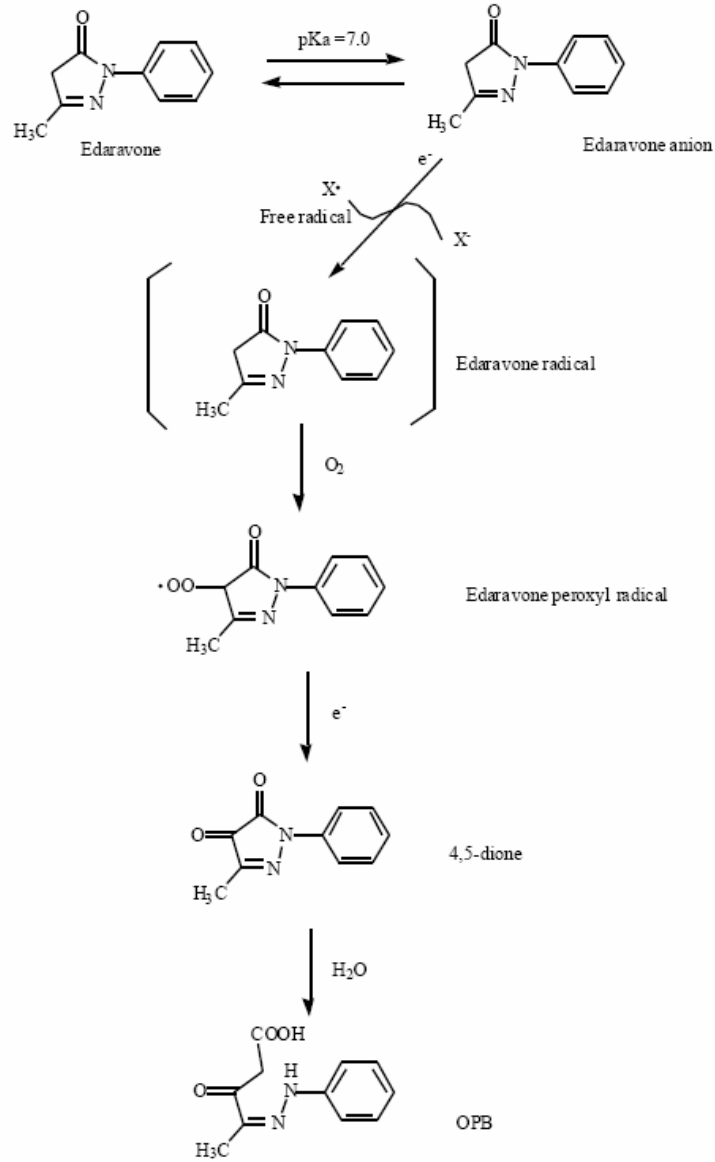


Resim 6. Edaravonun kimyasal yapısı(95)

Edaravone hidroksi radikallerinin iyi bir toplayıcısıdır ve demir kaynaklı peroksidasyon hasarını azaltmaktadır (94).

Edaravone portal akım volümünü, safra üretimini ve NHBD donörlerde karaciğer için enerji gereksinimini azaltır ve AST ve LDH'ı düşürür. Proinflamatuvar sitokin üretimini inhibe eder ve lipid peroksidasyonunu çok iyi baskılar (94).

Edaravone karaciğerde edaravone glukonata metabolize olur ve sulfatla konjüge olarak hızlı bir şekilde idrarla atılır. Edaravonun Antioksidan aktiviteyi nasıl etkilediğini kabul edilen mekanizma aşağıdaki tabloda verilmiştir.



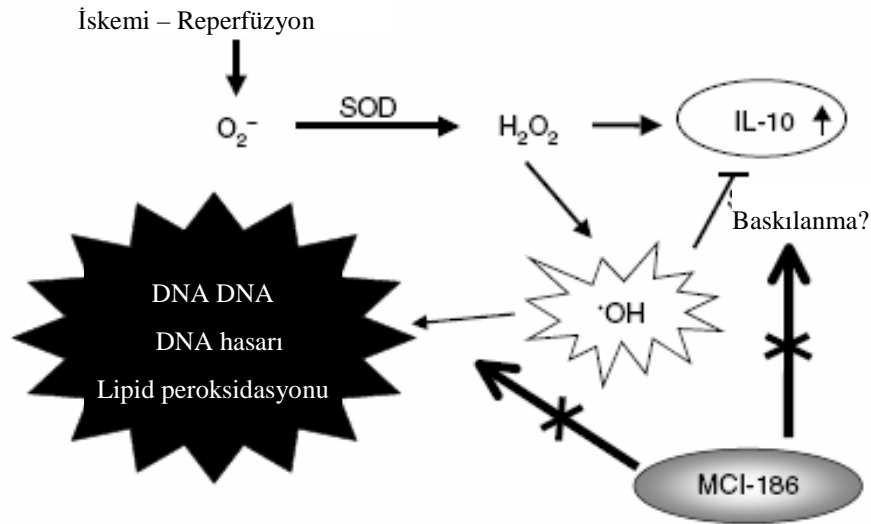
Resim 7. Edaravonun antioksidan etkinliğinin kabul görmüş mekanizması(95)

Edaravone anionundan bir elektron peroksil radikaline transfer olur. Bunun sonucunda edaravone radikali ve peroksil anyonu oluşur. Bu reaksiyon lipid oksidasyonundaki zinciri kırar. Daha sonra edaravone peroksil radikali bir hidrojen atomu ve bir elektron eliminasyonu ile 4,5 –dion'a dönüşür. Sonuç olarak 4,5 dionun hidrolizi sonucu 2-okso-3-(fenilhidrazon)-butonoik asite (OBP) dönüşür. Edaravonun hücre membranı yanında veya belki hücre membranında olduğu söylenmektedir. Edaravone düşük molekül ağırlığına sahiptir (MW 174.2). Hem yağda hem de suda çözünürlüğü olan ve hücre membran permeabilitesi çok iyi olan bir maddedir(95).

Direk koruyucu etkisinin yanı sıra edaravone, kritik anti-inflamatuar ve

immunregülatuar özellikleri etkisi altında tuttuğu bilinen IL-10 salınımını güçlü bir şekilde arttırmıştır. Daha önce yapılmış bir çok çalışmada karaciğer hasarı ile IL-10 salınımı arasındaki ilişki rapor edilmiştir (96-99).

Le Moine ve arkadaşları reperfüzyon sonrası 18 saatten uzun süren soğuk iskemide IL-10 salındığını rapor etmişlerdir (23). Ayrıca soğuk hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası IL-10 salınımı ile hidrojen peroksidin ortamdan toplandığını göstermişlerdir. Edaravonun hidrojen peroksit üzerinde direkt etkisi olduğu söylenmemektedir. Bu durumlar göz önüne alındığında IL-10 salınımı, hidroksi radikallerinin negatif etkisi ile düzenlenmektedir veya proteinlerin oksidatif modifikasyonlarına göre IL-10 üretimi düzenlenmektedir. Tabloda edaravon verilmesi ile IL-10 salınımının nasıl arttığının mekanizması gösterilmiştir (23).



Resim 8. Edaravonun soğuk iskemi-reperfüzyon hasarında etkinliğini gösteren mekanizma(24)

Karaciğer dokusunun endojen savunma sistemi olarak SOR'un oluşturduğu sinyallere bağlı IL-10 salınımını gerçekleştirdiği söylenmektedir. Fakat ciddi iskemi reperfüzyon hasarında toksik hidroksil radikallerinin aşırı üretimi ile IL-10 salınımı süprese olabilir. Bundan dolayı edaravon ile tedavi IL-10 salınımı artırarak bu negatif regülasyonun önüne geçecektir (24).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Ocak-Aralık 2008 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındı (Etik Kurul Karar Tarihi:08.05.2007 Karar No: 01/232).

3.1. Deneysel model

Çalışmada ağırlığı 225–290 gram arasında değişen, 40 adet Wistar–Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlardan sham, kontrol I, kontrol II, çalışma I ve çalışma II grubu şeklinde her biri 8 sıçan içeren 5 grup oluşturuldu. Sıçanlara kardiyak arrest yapıldığı için anestezik madde verilmedi. Kardiyak arrestten önce tüm sıçanlara 0,1 ml heparin subkutan olarak uygulandı. Bütün sıçanlara 0,2 ml intrakardiyak KCl verilerek kardiyak arrest sağlandı. Daha sonra tüm gruplarda 30 dakikalık kardiyak arrest sonrası sıcak iskemi beklendi. Her bir sıçana orta hat insizyon ile total hepatektomi uygulandı. Falsiform ligament kesilerek karaciğer serbestleştirildi. Tüm bağları açılarak karaciğer total olarak disseke edildi. Yukarıda vena kava ve alt tarafta vena porta disseke edilerek serbestleştirildi. Daha sonra portal ven lumenine uygun 3,5 french bir katater yardımıyla portal ven kataterize edildi. Bu katater yardımıyla 50 ml Euro Collins solüsyonu ile invivo olarak karaciğer yıkandı. Perfüzyon solüsyonu ile portal vene yerleştirilen kateterden verildi. Total olarak çıkarılan karaciğerler sirkulatuvar bir sistem yardımıyla kontrol gruplarındaki deneklere 0,5 ml SF HTK solüsyonu ile perfüze edildi. Çalışma gruplarındakilere

1mg/kg edaravone HTK solüsyonu ile verilerek perfüze edildi. AST, ALT, IL-6, IL-10, TNF- α ölçümleri için perfüzyon sıvıları, İHK çalışmaları için de karaciğerler uygun koşullarda saklandı.

Çalışma gruplarında anlatıldığı üzere kardiyak arrest yapıldıktan sonra yukarıda anlatıldığı gibi hepatektomi yapıldıktan sonra 3methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one (edaravone) 1 mg/L 'den perfüzyon solusyonuna katılarak 30 ve 60 ar dakikalık peryodlarla perfüze edildi.



Resim 9. Çıkarılan ve perfüzyon için hazırlanan (portal ven ve vena kava kateterize) karaciğer dokusu.

Grup I. Sham grubu (n=8): Bu grupta 8 sıçan kullanıldı. 0,2 ml KCL'ün intrakardiyak enjeksiyonu ile kardiyak arrest yapıldı. 30 dakika sıcak iskemi süresi beklendi. Laparotomi yapıldı ve total hepatektomi şeklinde karaciğer çıkarıldı. Herhangi bir invivo yıkama ve perfüzyon yapılmadan karaciğer formaldehit içerisinde alınarak patolojide incelenmek üzere sabitlendi.

Grup II. Kontrol I grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara intrakardiyak KCL enjeksiyonu yapıldıktan ve kardiyak arrest sonrası 30 dakika sıcak iskemi süresi beklendi. Laparotomi yapılarak karaciğerler yıkama ve perfüzyona uygun şekilde disseke edilerek hazırlandı. Daha sonra 50 ml Euro Collins (Fresenius, Germany) solüsyonu ile karaciğerler portal ven aracılığıyla invivo yıkandı. Hepatektomi tamamlanarak

karaciğer total olarak çıkarıldı. Karaciğerler 30 dk süreyle HTK (Custodiol, Germany) solüsyonu ile perfüze edildi. Bu perfüzyon esnasında solüsyonun içinde SF uygulandı. Karaciğerler patolojik tetkik için hazırlandı.

Grup III. Kontrol II grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara intrakardiyak KCL enjeksiyonu yapıldıktan ve kardiyak arrest sonrası 30 dakika sıcak iskemi süresi beklendi. Laparotomi yapılarak karaciğerler yıkama ve perfüzyona uygun şekilde disseke edilerek hazırlandı. Daha sonra 50 ml Euro Collins (Fresenius, Germany) solüsyonu ile karaciğerler portal ven aracılığıyla invivo yıkandı. Hepatektomi tamamlanarak karaciğer total olarak çıkarıldı. Karaciğerler 60 dk süreyle HTK (Custodiol, Germany) solüsyonu ile perfüze edildi. Bu perfüzyon esnasında solüsyonun içinde SF uygulandı. Karaciğerler patolojik tetkik için hazırlandı.

Grup IV. Çalışma I grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara kontrol grubuyla aynı şekilde kardiyak arrest yapıldıktan sonra 30 dakika sıcak iskemi süresi beklendi. Laparotomi yapılarak karaciğerler yıkama ve perfüzyona uygun şekilde disseke edilerek hazırlandı. Daha sonra 50 ml Euro Collins (Fresenius, Germany) solüsyonu ile karaciğerler portal ven aracılığıyla invivo yıkandı. Karaciğerler 30 dk süreyle HTK solüsyonu ile perfüze edildi. Perfüzyon solüsyonuna edaravone 1 mg/L olacak şekilde uygulandı. Karaciğerler patolojik tetkik için hazırlandı.

Grup V. Çalışma II grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara kontrol grubuyla aynı şekilde kardiyak arrest yapıldıktan sonra 30 dakika sıcak iskemi süresi beklendi. Laparotomi yapılarak karaciğerler yıkama ve perfüzyona uygun şekilde disseke edilerek hazırlandı. Daha sonra 50 ml Euro Collins (Fresenius, Germany) solüsyonu ile karaciğerler portal ven aracılığıyla invivo yıkandı. Karaciğerler 60 dk süreyle HTK solüsyonu ile perfüze edildi. Perfüzyon solüsyonuna edaravone 1 mg/L olacak şekilde uygulandı. Karaciğerler patolojik tetkik için hazırlandı. Kontrol ve çalışma grubundaki sıçanların perfüzetleri daha sonra AST, ALT, IL-6, IL-10 ve TNF- α çalışılmak için çalışma gününe kadar -80 C°'de saklandı.

3.2. Biyokimyasal parametreler

3.2.1 Karaciğer fonksiyon testleri

Alınan perfüzet örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80 C°de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda AST, ALT düzeyleri Konelab 60i (Thermo Clinical LabSystems, Espoo, Finland) otoanalizatör cihazında ölçüldü ve IU/L olarak birimlendirildi.

3.2.2 IL-10,IL-6,TNF- α

Alınan perfüzet örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80 C°de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda IL-10 düzeyi elisa kiti ile(Assaypro) ng/mL, IL-6 düzeyi elisa kiti ile (Biosource) pg/mL, TNF- α düzeyi elisa kiti ile(Assaypro) ile ng/mL olarak birimlendirildi.

3.3. Histopatolojik parametreler

3.3.1. Prolifere olan hücre nükleer antijeni (PCNA) ile işaretlenme oranı

%10'luk formol içinde saklanan karaciğer dokusuna parafin emdirildikten sonra spesmenlerden 5 μ kalınlığındaki kesitler, yapıştırıcı madde olarak poli-L-lizin ile kaplanmış lamalar üzerine alındı. PCNA boyanacak preparatlar 60⁰C'lik etüvde bir saat bekletildikten sonra ksilol ve derecesi giderek azalan alkolden geçirilerek distile suda yıkandı. Kesitler sitrat buffer (pH:6,0) ile 20 dakika kaynatıldı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için bütün preparatlara 15 dakika süreyle %3'lük H₂O₂ uygulandı. On dakika tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda yıkandı. Primer antikor olarak sıçan monoklonal antikor olan PCNA (clone PC10) hazır kiti kullanıldı. Primer antikor uygulandıktan sonra 30 dk bekletildi. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı.

İmmünohistokimyasal boyamaya şu şekilde devam edildi: 10 dakika fosfatla tamponlanmış salin solüsyonu (PBS) ile yıkandı,10 dakika biotinlenmiş sekonder antikor uygulandı, 10 dakika streptavidin peroksidaz konjugatı uygulandı, 10 dakika PBS ile yıkandı, 15 dakika DAB kromojen uygulandı, 5 dakika PBS ile yıkandı, 5

dakika deiyonize su ile yıkandı, 1 dakika Mayer'in hematoksileni ile zıt boya yapıldı, 2 dakika distile suda yıkandı, derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek, ksilolde bekletildi, kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Otuz büyük büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı ve her 1000 hücreye oranı şeklinde tanımlandı.

3.3.2. Bcl-2 ile işaretlenme oranı

%10'luk formol içinde saklanan karaciğer dokusuna parafin emdirildikten sonra spesmenlerden 5 µ kalınlığındaki kesitler, yapıştırıcı madde olarak poli-L-lizin ile kaplanmış lamalar üzerine alındı. Bcl-2 boyanacak preparatlar 60°C'lik etüvde bir saat bekletildikten sonra ksilol ve derecesi giderek azalan alkolden geçirilerek distile suda yıkandı. Kesitler sitrat buffer (pH:6,0) ile 20 dakika kaynatıldı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için bütün preparatlara 15 dakika süreyle %3'lük H₂O₂ uygulandı. On dakika tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda yıkandı. Primer antikor olarak sıçan monoklonal antikor olan bcl-2 α kiti kullanıldı. Primer antikor uygulandıktan sonra 30 dk bekletildi. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı. İmmünohistokimyasal boyamaya PCNA'da olduğu gibi devam edildi. Otuz büyük büyütme sahasındaki bcl-2 ile boyanmış hücreler boyanma şiddetine göre semikantitatif değerlendirildi.

Pozitif kontrol olarak PCNA ve bcl-2 için normal tonsil dokusu kullanıldı. Kesitlerin kurumaması için işlemlerin tümü oda ısısında ve nemli bir ortamda gerçekleştirildi. Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Kesitlerin değerlendirilmesi, randomize olarak ve uzman bir patoloğun preparatın hangi gruba ait olduğunu bilmeden yapıldı.

3.4. İstatistiksel analiz

Veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) ve SigmaStat 3.5 İstatistik Paket programları ile analiz edildi. Gruplararası karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için Tek Yönlü Varyans Analizi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal Wallis Analizi kullanıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi'nde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalarda homojen varyans gösteren gruplar için Tukey testi kullanıldı.

Kruskal Wallis Analizi'nde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar Dunn yöntemi ile yapıldı. İki nitel değişkenin karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testinin Exact yöntemi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (100).

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal bulgular

4.1.1. AST sonuçları

Sham, kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi. Perfüzetlerden AST çalışıldı. Sham grubunda AST'in median değeri $9\pm 3,779$ kontrol I grubunda AST 'ın median değeri $477,5\pm 57,950$ IU/l, kontrol II AST'nin median değeri $858.5\pm 378,372$ IU/l, çalışma I grubunda AST'nin median değeri $151\pm 36,607$ IU/L, çalışma II grubunda AST'nin median değeri $72,5\pm 7,927$ IU/L olarak tespit edildi. Kontrol ve çalışma grubunun AST değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve çalışma grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 1),(Tablo 6) ($p<0,001$).

4.1.2. ALT sonuçları

Sham, kontrol ve çalışma grubundaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi. Perfüzetlerden ALT çalışıldı. Sham grubunda ALT'in median değeri $10.5\pm 4,334$ kontrol I grubunda ALT 'ın median değeri $241\pm 56,068$ IU/l, kontrol II ALT'nin median değeri $1570\pm 964,537$ IU/l, çalışma I grubunda ALT'nin median değeri $173\pm 62,202$ IU/L, çalışma II grubunda ALT'nin median değeri $68\pm 18,629$ IU/L olarak tespit edildi. Kontrol ve çalışma grubunun ALT değerleri karşılaştırıldığında

kontrol ve çalışma grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 2), (Tablo 6) ($p<0,001$).

4.1.3 IL-10 sonuçları

Sham, kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi. Perfüzetatlardan IL-10 çalışıldı. Sham grubunda IL-10'un median değeri $15\pm 1,505$ ng/ml, kontrol I grubunda IL-10'un median değeri $18\pm 1,195$ ng/ml, Kontrol II grubunda IL-10'un median değeri $18,5\pm 1,060$ ng/ml, çalışma I grubunda $54\pm 2,445$ IL-10'un median değeri ng/ml, çalışma II grubunda IL-10'un median değeri $58\pm 1,807$ ng/ml olarak tespit edildi. Sham, kontrol ve çalışma gruplarının IL-10 değerleri karşılaştırıldığında sham, kontrol ve çalışma grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 3), (Tablo 7) ($p<0,001$).

4.1.4 IL-6 sonuçları

Sham, kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi. Perfüzetatlardan IL-6 çalışıldı. Sham grubunda IL-6'un median değeri $21,5\pm 1,164$ pg/ml, kontrol I grubunda IL-6'un median değeri $110\pm 8,345$ pg/ml, kontrol II grubunda IL-6'un median değeri $135\pm 9,258$ pg/ml, çalışma I grubunda IL-6'un median değeri $24\pm 2,133$ pg/ml, çalışma II grubunda IL-6'un median değeri $18,5\pm 1,060$ pg/ml olarak tespit edildi. Sham, kontrol ve çalışma gruplarının IL-6 değerleri karşılaştırıldığında sham, kontrol ve çalışma grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 4), (Tablo 7) ($p<0,001$).

4.1.5 TNF- α sonuçları

Sham, kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi. Perfüzetatlardan TNF- α çalışıldı. Sham grubunda TNF- α 'un median değeri $115\pm 8,864$ ng/ml kontrol I grubunda 'un TNF- α median değeri $405\pm 10,796$ ng/ml, Kontrol II grubunda TNF- α un median değeri $430\pm 9,258$ ng/ml, çalışma I grubunda TNF- α 'un median değeri $360\pm 12,464$ ng/ml , çalışma II grubunda TNF- α 'un median değeri $320\pm 10,350$ ng/ml olarak tespit edildi. Sham, kontrol ve çalışma gruplarının TNF- α

değerleri karşılaştırıldığında sham, kontrol ve çalışma grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 5), (Tablo 7) ($p<0,001$).

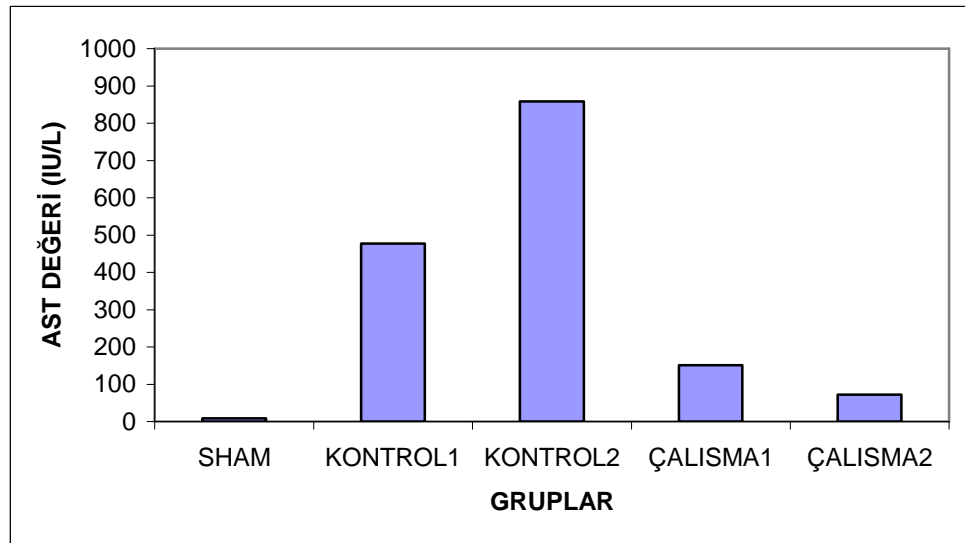
4.2. Histopatolojik Sonuçlar

4.2.1. Prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) sonuçları

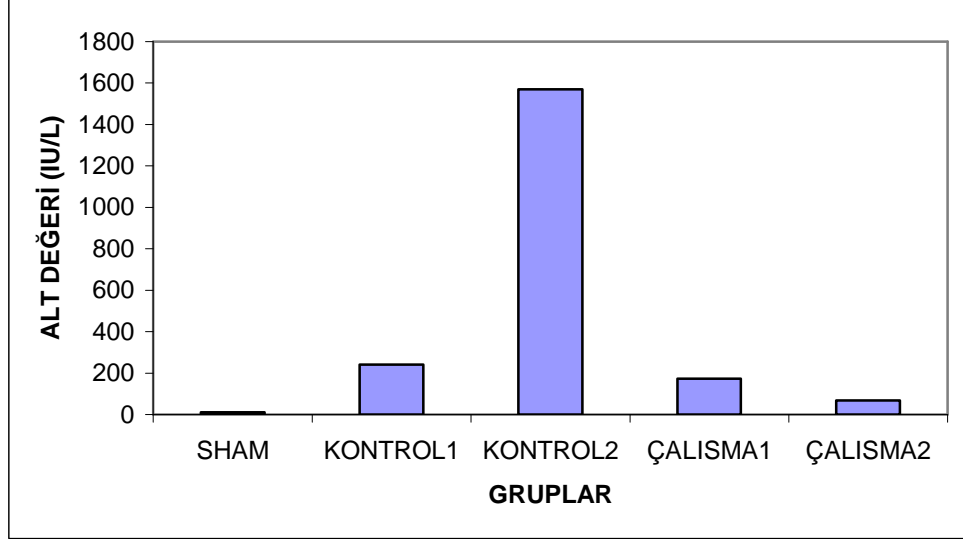
Sham, kontrol ve çalışma gruplarında saptanan PCNA değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (Resim 1), (Tablo 8) ($p<0,001$).

4.2.2. Bcl-2 sonuçları

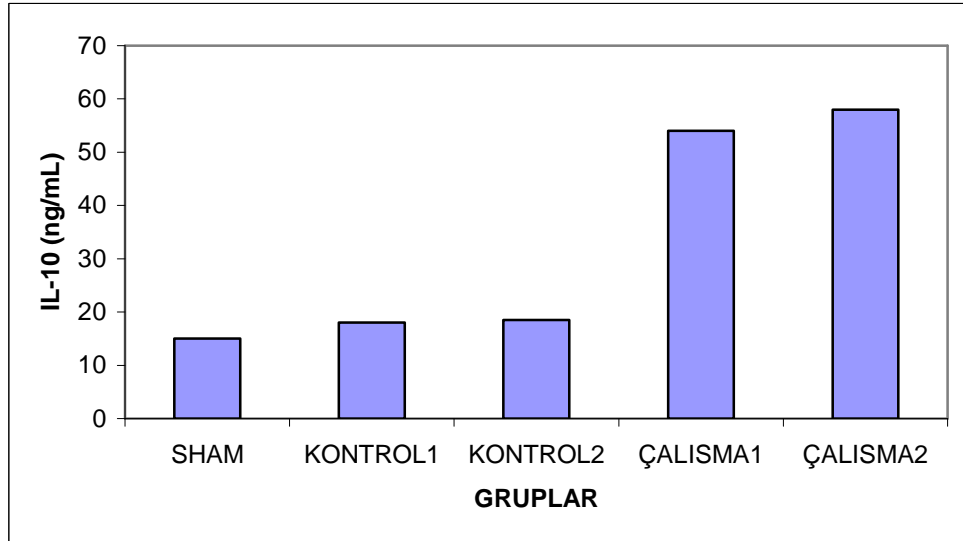
Bcl-2 ile yapılan boyama sonucunda sonuçlar negatif, zayıf pozitif ve kuvvetli pozitif olarak tanımlandı. Sham, kontrol ve çalışma gruplarında saptanan bcl-2 ile boyanma kriterleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (Resim 2,3,4), (Tablo 9) ($p<0,001$).



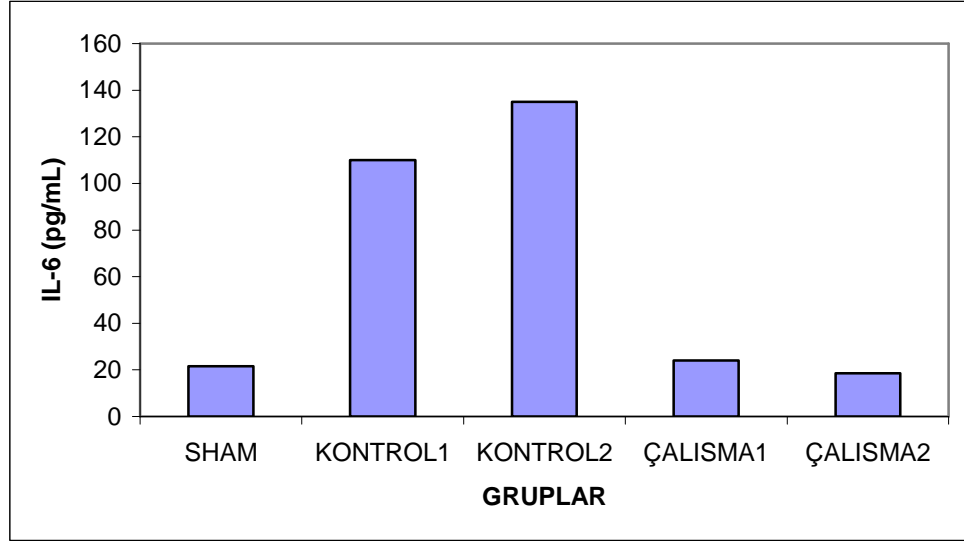
Grafik 1. Kontrol ve çalışma grupları prefüzetlerinin AST değerlerinin karşılaştırılması



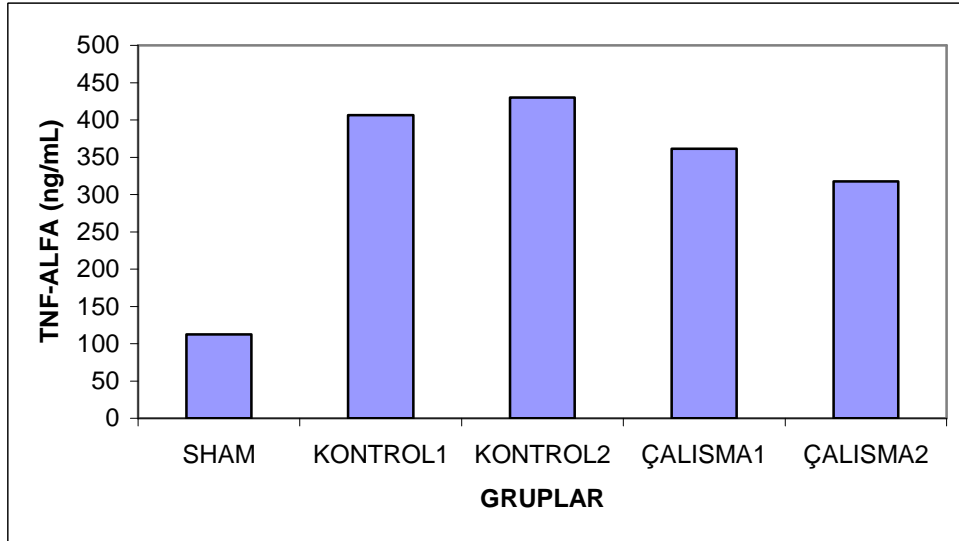
Grafik 2. Kontrol ve çalışma grupları prefüzetlerin ALT değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 3. Kontrol ve çalışma grupları prefüzetlerin IL-10 değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 4. Kontrol ve çalışma grupları prefüzetlerin IL-6 değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 5. Kontrol ve çalışma grupları prefüzetlerin TNF- α değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 1. Sham grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri

	AST	ALT	IL10	TNF- α	IL6
N	8	8	8	8	8
Mean	9,0000	11,2500	14,6250	112,5000	21,2500
Median	9,0000	10,5000	15,0000	115,0000	21,5000
Std. Deviation	3,77964	4,33425	1,50594	8,86405	1,16496
Minimum	3,00	5,00	12,00	100,00	20,00
Maximum	15,00	17,00	16,00	120,00	23,00

Tablo 2. Kontrol I grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri

	AST	ALT	IL10	TNF- α	IL6
N	8	8	8	8	8
Mean	447,5000	229,6250	18,0000	406,3750	108,7500
Median	477,5000	241,0000	18,0000	405,0000	110,0000
Std. Deviation	57,95072	56,06868	1,19523	10,79600	8,34523
Minimum	397,00	113,00	16,00	390,00	100,00
Maximum	551,00	289,00	20,00	421,00	120,00

Tablo 3. Kontrol II grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri

	AST	ALT	IL10	TNF- α	IL6
N	8	8	8	8	8
Mean	1007,8750	1613,2500	18,6250	430,0000	135,0000
Median	858,5000	1570,5000	18,5000	430,0000	135,0000
Std. Deviation	378,37262	964,53745	1,06066	9,25820	9,25820
Minimum	694,00	343,00	17,00	420,00	120,00
Maximum	1629,00	2940,00	20,00	440,00	150,00

Tablo 4. Çalışma I grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri

	AST	ALT	IL10	TNF- α	IL6
N	8	8	8	8	8
Mean	151,1250	160,3750	53,3750	361,2500	23,6250
Median	151,0000	173,0000	54,0000	360,0000	24,0000
Std. Deviation	36,60772	62,20229	2,44584	12,46423	2,13391
Minimum	105,00	65,00	48,00	340,00	20,00
Maximum	206,00	234,00	56,00	380,00	26,000

Tablo 5. Çalışma II grubundaki AST, ALT, IL-10, TNF- α , IL-6, değerleri

	AST	ALT	IL10	TNF- α	IL6
N	8	8	8	8	8
Mean	69,3750	74,7500	57,8750	317,5000	18,6250
Median	72,5000	68,0000	58,0000	320,0000	18,5000
Std. Deviation	7,92712	18,62985	1,80772	10,35098	1,06066
Minimum	56,00	58,00	55,00	300,00	17,00
Maximum	76,00	104,00	60,00	330,00	20,00

Tablo 6. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki AST, ALT değerleri

Grup	Sham	Kontrol I.	Kontrol II.	Çalışma I.	Çalışma II.	P
AST	9 \pm 3,77	477,5 \pm 57,95	858,5 \pm 377,37	151 \pm 36,6	72 \pm 7,92	p< 0,001
ALT	10,50 \pm 4,3	241 \pm 56,06	1570,5 \pm 964,53	173 \pm 62,2	68 \pm 18,6	p< 0,001

Tablo 7. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki IL-6, IL-10, TNF- α değerleri

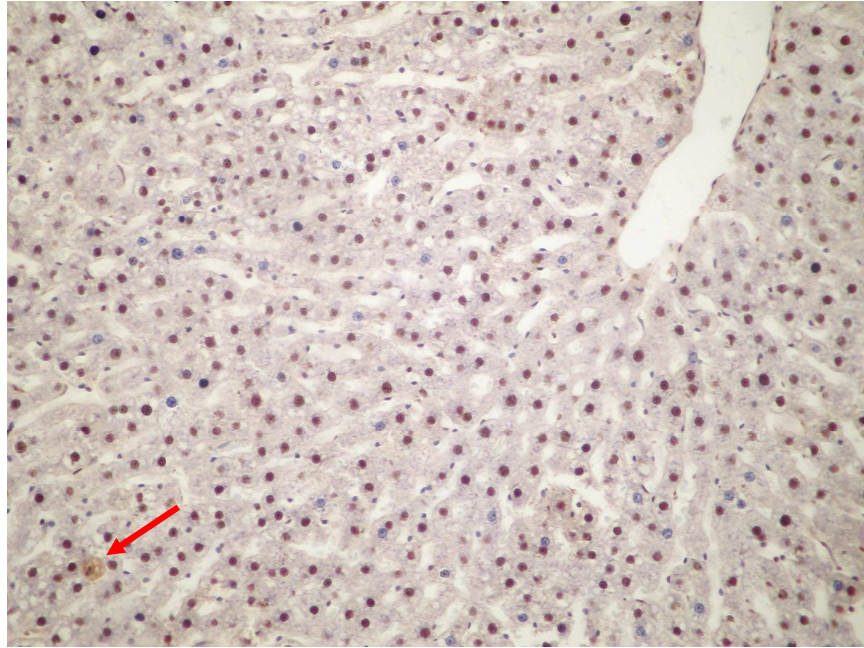
Grup	Sham	Kontrol I.	Kontrol II.	Çalışma I.	Çalışma II.	P
IL-6	21,5 \pm 1,16	110 \pm 8,34	135 \pm 9,25	24 \pm 2,13	18,5 \pm 1,06	p< 0,001
IL-10	15 \pm 1,5	18 \pm 1,19	18,5 \pm 1,06	54 \pm 2,44	58 \pm 1,80	p< 0,001
TNF- α	112,5 \pm 8,864	406,3 \pm 10,79	430 \pm 9,25	361,2 \pm 12,46	317,5 \pm 10,35	p< 0,001

Tablo 8. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki PNCA değerleri

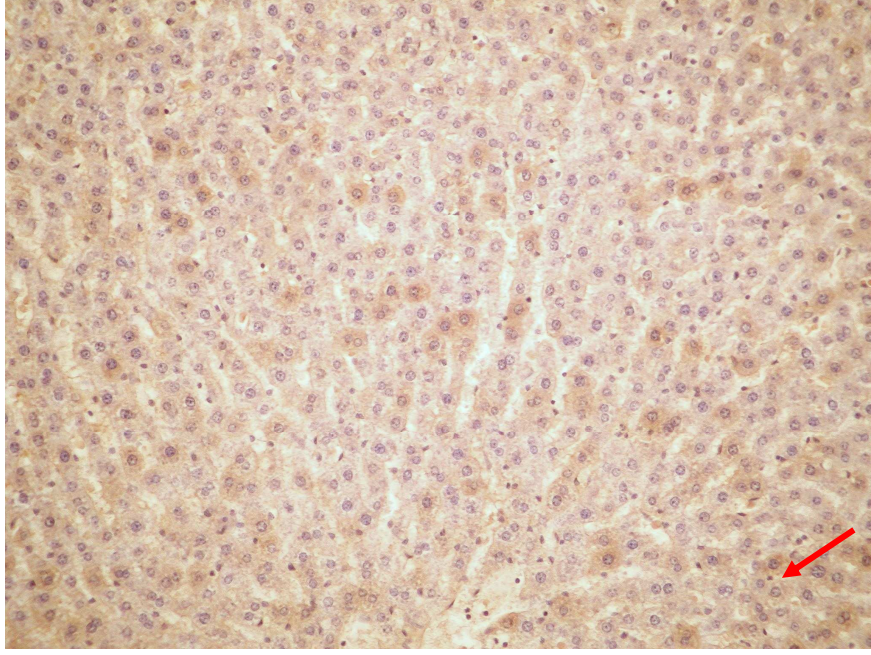
Grup	Sham	Kontrol I.	Kontrol II.	Çalışma I.	Çalışma II.	P
PCNA	60±15,41	39,62±11,50	42,38±17,02	46,5±13,67	69±12,20	p< 0,001

Tablo 9. Sham, Kontrol ve Çalışma gruplarındaki bcl-2 değerleri (p<0,001)

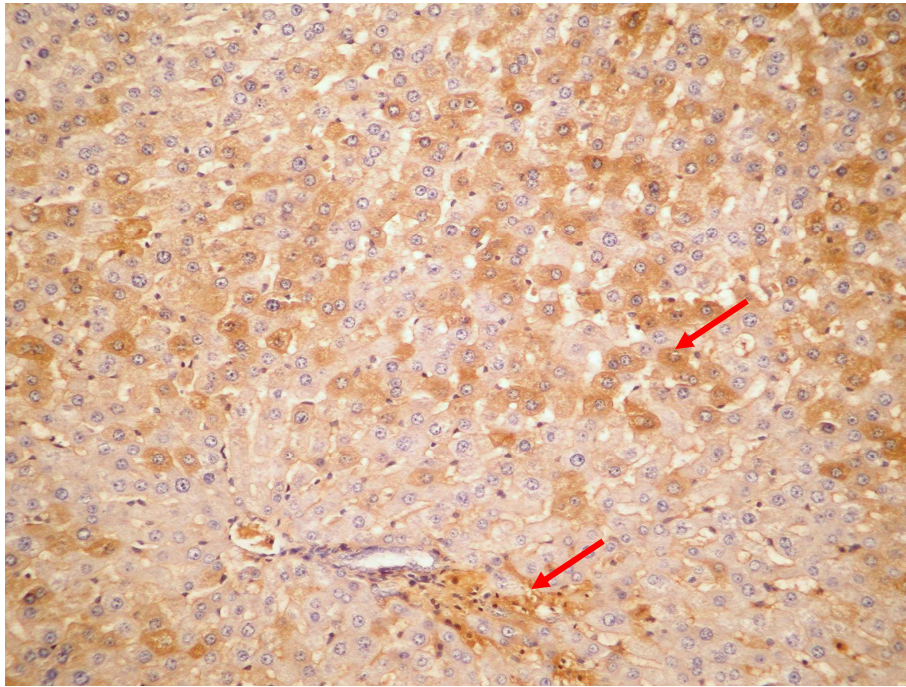
			bcl2			Total
			boyanma yok	zayıf	kuvvetli	
grup	SHAM	Count	8	0	0	8
		% within grup	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	KONTROL1	Count	6	2	0	8
		% within grup	75,0%	25,0%	,0%	100,0%
	KONTROL2	Count	7	1	0	8
		% within grup	87,5%	12,5%	,0%	100,0%
	ÇALISMA1	Count	0	8	0	8
		% within grup	,0%	100,0%	,0%	100,0%
	ÇALISMA2	Count	0	6	2	8
		% within grup	,0%	75,0%	25,0%	100,0%
Total		Count	21	17	2	40
		% within grup	52,5%	42,5%	5,0%	100,0%



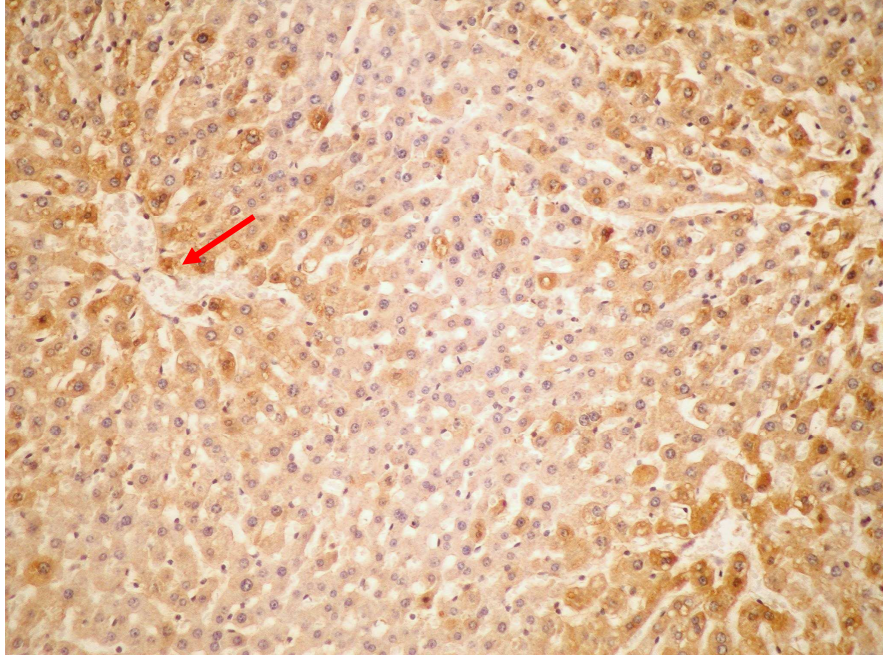
Resim 10. Çalışma II grubunda PCNA ile hepatositlerdeki nükleer boyanma (x100)



Resim 11. Çalışma I. grubunda bcl-2 ile zayıf sitoplazmik boyanma (x100)



Resim 12. Çalışma II grubunda bcl-2 ile kuvvetli sitoplazmik boyanma (x100)



Resim 13. Çalışma II grubunda Zon 3'de bcl-2 ile kuvvetli sitoplazmik boyanma
(x100)

5. TARTIŞMA

Son dönem organ yetmezliği olan hastalarda fonksiyonunu yitirmiş organın yerine görev yapmak üzere yeni bir organ nakledilmesine organ nakli denir. Organ nakli 20. yüzyıl son çeyreğinde temel tıp bilimlerindeki gelişmelerin de katkısı ile ve özellikle iletişim kaynaklarının sağlandığı bilgi paylaşımı sayesinde çok hızlı gelişen bir tıp dalı olmuştur. Organ fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması, vasküler cerrahi tekniklerinin gelişmesi, immünoloji ve farmakolojideki gelişmeler organ naklinin gelişmesine katkıda bulunmuştur. Beyin ölümü kavramının kabul görmesiyle kalbi çarpan kadavra kavramının literatüre girmesi her organın nakli için çalışmalar yapılmış ve organ nakli günümüzdeki başarılı düzeyine ulaşmıştır (1).

Karaciğer nakli yüzgüldüren sonuçları ve genişleyen endikasyonlarından dolayı son dönem karaciğer hastalığı olan hastalar için iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Ne yazık ki potansiyel alıcı sayısının artması ve donör sayısının değişmemesiyle, organ nakli bekleyenlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır (2).

Karaciğer organ naklinden yarar görecekt hastalara organ sağlamak amacı ile bir dizi yeni yöntem kabul görmüştür. Bunlar arasında canlıdan canlıya yetişkin, canlıdan canlıya pediatrik (3,4) ve kadaverik karaciğer nakli yer almaktadır (5). Bu yöntemler uygun kadaverik donör havuzunun artmasını sağlamış olsa da hala aşılması gereken büyük problemler bulunmaktadır. Bununla beraber potansiyel alıcıların sayısının artmasından dolayı organ kullanımında artmakta ve kimlerin marjinal donör olarak refere edileceği tartışılmaktadır (2). NHBD'den alınan organlara ilgi organ

yetersizliğin giderek artması, sıcak iskemiyi periyodunun artmasına karşın greft surveyinin iyi olması ve organların iyi fonksiyon görmesiyle artmıştır (6,7).

Günümüzde organ nakli yapılan organlar arasında şüphesiz ki en güç olanı karaciğer naklidir. Karaciğer nakli diğer organ nakillerinden önemli farklılıklar gösterir. Karaciğer metabolizmasının diğer organlarla da bağlantılı kompleks yapısı organ nakli sonrasında önemli sorunlara yol açmaktadır. Tüm bu güçlüklerle rağmen karaciğer nakli günümüzde başarı ile uygulanan altın standart tedavi modalitesidir. Organ naklinin başarı ile yapılabilirliği immünyüpresyon, teknikteki gelişmeler ile donör azlığının efektif olarak giderilmesine bağlıdır (40).

Organ nakli için yeterince greftin bulunamaması organ nakli bekleyen hastaların artmasına ve hastaların bekleme sürecinde kaybedilmesine neden olmaktadır. Bundan dolayı günümüzde tüm çalışmalar donör organ sayısı azlığı üzerine yoğunlaşmıştır. Geçmişte beyin ölümü kriterlerinin tanımlanmadığı dönemlerde farkında olunmadan kullanılan NHBD'ler organ havuzunun genişletilmesinde iyi bir potansiyel oluşturmuştur. Bu donörlerin karmaşık süreçlerinin greft survey ve fonksiyonlarına yansıyan kötü yanları geliştirilen stratejiler ile düzeltilenirse NHBD'ler organ havuzunu çözmekte çok daha önemli rol oynayacaklardır. Tahminler, NHBD'lerin organ havuzuna her yıl yaklaşık 1000 donör eklenmesiyle kadaverik organ havuzunu potansiyel olarak %25–42 oranında arttıracığını göstermektedir (9, 10).

Canlı donörlerden sağlanan greftler, karaciğer nakli için bekleme listelerinin yoğunluğu ve organ azlığı nedeniyle sıklıkla kullanılan bir yöntem haline almıştır, ancak bu yöntem; verici için mortalite ve yüksek morbitide riskleri içermektedir. Canlı donör organ naklileri erişkin yaş grubu böbrek organ naklilerinin çoğunluğunu buna karşın karaciğer organ naklilerinin %5–10'unu oluşturmaktadır (49).

2002 yılında bir canlı donörün operasyon sonrasında kaybedilmesi, dünyadaki tüm merkezlerde canlı donör organ nakillerini sınırlamıştır. Tüm tartışmalara rağmen son dönem karaciğer yetmezliği olanlarda canlı donör organ nakilleri halen başarı ile uygulanmaktadır. Çünkü bekleme listesinde geçen zamanda, karaciğer yetmezlikli hastalarda morbidite artmakta ve bazen de organ nakli şansını kullanamadan hastalar kaybedilmektedir. Tüm sonuçlara karşı konu tartışmalıdır ve canlı donörün taşıdığı

riskler halen minimize edilememiştir (49).

NHBD'ler organ nakillerindeki organ havuzuna ek bir kaynak sağlamaktadır. Yöntemleri daha kompleksdir ve buna karşın sonuçları HBD'lere göre daha kötüdür. Donör havuzunu genişletmedeki rolleri umut vadetmektedir. Acile geldiğinde eks olan, hastanede ani kardiyak arrest geçirerek kaybedilen hastaların greft kaynakları olarak kullanılabilmesi NHBD'ler sayesinde olmaktadır (45).

NHBD'ler daha az ideal organlardır. Çünkü perfüzyon öncesi uzamış sirkülatuar arrest nedeniyle organlar iskemiye maruz kalmaktadırlar (10). NHBD'lerin kullanıma girebilmesi için bu organlardaki iskemi ve iskemi–reperfüzyon etkilerinin azaltılması yönündeki çalışmalar devam etmektedir. Kontrollü NHBD'lerde iskemik hasar daha azdır ve organ nakli sonrası organ fonksiyonları daha iyidir. Tüm bu çabalar sayesinde NHBD'ler son birkaç yıldır kadaverik donörlerin %5'ini oluşturmaktadırlar (9, 10). Karaciğerin sıcak iskemiye dayanma süresi günümüzde yaklaşık 20 dk olarak kabul edilmektedir ve 20 dk'dan sonra hepatositlerde hasar başlamaktadır (47).

Monbaliu ve ark NHBD'lerle yaptıkları geniş serili deneysel bir çalışmada karaciğerin sıcak iskemiye tolerans zamanını belirlemeye ve ortak bir fikir oluşturmaya çalışmışlardır. Monbaliu ve ark çalışmalarında, 15–30–45 ve 60 dk'lık sıcak iskemi sürelerine maruz kalan greftler arasında farklılıkları araştırmışlardır. 60 dk sıcak iskemiye maruz kalan grupta anlamlı olarak daha fazla primer greft nonfonksiyonu geliştiğini; 30 ve 45 dk sıcak iskemiye maruz kalan gruplarda da kısmen kabul edilebilir fonksiyon bozuklukları geliştiğini göstermişlerdir. Monbaliu ve ark çalışmalarında karaciğer için kabul edilebilir sıcak iskemi süresinin 15–45 dk arasında olduğunu bildirmişlerdir (53).

Karaciğerin 15–20 dakikaya kadar olan klasik normotermik iskemiye iyi tolere ettiği bilinmesine rağmen, iskemi süresinin artmasının cerrahi sonuçları ne oranda etkilediği hala tartışma konusudur. Günümüzde elektif şartlarda yapılan karaciğer rezeksiyonlarında portal triadın klempaj süresinin 90 dakikaya kadar uzatılabileceği savunulmaktadır. İskemi ve reperfüzyonun karaciğer üzerindeki etkileri iskeminin devamlılığı ile ilişkilidir. Karaciğerde 30–60 dakikalık iskemi geri dönüşümlü hasara neden olurken, 90–120 dakikalık iskemi geri dönüşümsüz hasara neden olur (65).

Valero ve ark karaciğer greftleri için tolere edilebilir sıcak iskemi süresini 20 dk olarak bildirmişlerdir (58).

Literatür bilgisi göz önüne alınarak bizim çalışmamızda, kardiyak arrest sonrası 30 dk'lık süre geçirildikten sonra cerrahi işleme başlandı.

Otero ve ark çalışmasında kategori II NHBD'lerden alınan karaciğerler ile elde ettikleri %55'lik greft survey oranı kategori III ve IV NHBD'ler ve 70 yaşın üzerindeki HBD'lerden alınan karaciğer greft surveyleri ile karşılaştırılabilir düzeydedir. Kategori II NHBD vakalarının karaciğer greft kaynağı olarak gösterilebilmesi için hasta ve greft survey oranlarının HBD'lere yaklaştırılması gerekmektedir. Otero ve ark. çalışmalarında kategori II donörlerin sıcak iskemi süreleri; kardiyopulmoner resüsitasyon ve abdominal-göğüs duvarı kompresyonu eşliğinde 130 dk'yı aşmadığında sonuçlar HBD'ler ile karşılaştırılabilir olduğunu bildirmektedirler (8).

Ninomiya ve arkadaşları 2003 yılında Japonyada yaptıkları çalışmada edaravonun hidroksil radikallerini toplayarak deneysel soğuk hepatik iskemi reperfüzyon hasarını anlamlı olarak düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 ekspresyonunun artırılması ile iskemi reperfüzyon hasarını sadece erken safhası değil geç safhasında da edaravonun etkili olduğunu göstermişlerdir. Klinik kullanımda güvenli ve kolay kullanılabilir olduğu ispatlanan edaravone karaciğer nakli cerrahisinde bir terapötik ajan olarak kullanımı için ümit vaat etmektedir(24).

2004 yılında Tomatsuri ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada edaravonun bir intestinal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde antioksidan aktivite gösterdiğini ve potansiyel bir serbest radikal toplayıcısı olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuç edaravonun cerrahi tedavi veya organ nakli gerektiren şoka bağlı intestinal iskemi reperfüzyon hasarından koruyabileceğini ortaya koymuştur. Gelecekte insanlarda iskemi reperfüzyon hasarının tedavisinde ve korunmasında edaravonun kullanılabilirliğinin araştırılması gerekmektedir (101).

Higashi ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışma ile kardiovasküler hastalıklarda edaravonun yararlılığını araştırmışlardır. Yaptıkları bir çalışmada edaravonun akut myokard enfarktüsü geçiren hastalarda sadece iskemi reperfüzyonu takip eden myorkardial ve vasküler hasarda değil kronik fazdaki aterosklerozda

yararlı olduğunu göstermişlerdir. Geçmiş çalışmalarda amyotrofik lateral skleroz (102) ve mitokondria myopati gibi (103) değişik hastalıklarda edaravonun kullanılabilirliğini göstermiştir. Geçmişte yapılan klinik çalışmalarda edaravone tedavisinin ağır oksidatif stresli hastalarda yararlı mı ve bu hastalarda mortalite oranlarını düşürmekte mi sorularına net bir cevap verememektedir. Fakat çalışmalar patogenezinde oksidatif stres bulunan birçok hastalıkta edaravone ile tedavinin yararlı olacağını rapor etmektedir (95).

Radikal toplayıcı veya antioksidan birçok madde bulunmuştur. Fakat hala bunların dokuya geçişi ve hızlı vücut klirensi terapötik ajan olarak kullanımlarını sınırlamaktadır. Edaravone lipofilik özelliği ve dokuya hızlı geçişiyle öne çıkan yeni bir antioksidandır (104).

Taniguchi ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada edaravonun rat karaciğeri üzerindeki olumlu etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışma edaravonun portal ven aracılığıyla verilmesinin intravenöz verilmesine göre daha efektif olduğunu ortaya koymuştur. Bilinmektedir ki karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında reperfüzyonun başlaması ile hepatik lipid peroksidasyonu artmakta ve böylece reperfüzyon esnasında karaciğer oksidatif strese bağlı zarar görmektedir. Bu da plazmaya kaçan karaciğer enzimleri ile ortaya konmaktadır. Bu çalışmada edaravone ile tuz verilerek hepatik lipid peroksidasyonu ve karaciğer hasarı karşılaştırılmış ve edaravone tuza göre anlamlı olarak hepatik lipid peroksidasyonunu ve karaciğer hasarını azaltmıştır. Bundan dolayı edaravone reperfüzyon esnasında karaciğerde üretilen serbest radikalleri toplayarak oksidatif stresi azaltmaktadır ve karaciğer hasarını sınırlandırmaktadır. Oksidatif strese bağlı hepatik iskemi reperfüzyon hasarında inflamatuvar mediatörler Kupffer hücreleri tarafından üretilir. (105) Aktive olan Kupffer hücrelerinin oksijen bağımlı serbest radikallerinin (106,107) ve sitokinlerin (108,109) üretimini artırdığı rapor edilmiştir. Bu inflamatuvar mediatörler yoğun bir inflamatuvar reaksiyona neden olan endotel hücreleri (85,110,111), nötrofil (108,112) ve Kupffer hücrelerinin (113) kendilerinin stimülasyonunu artırmaktadır. TNF- α hepatik iskemi reperfüzyon hasarında hepatositlerdeki apoptozisi tetikleyen önemli sitokinlerden birisidir (114) ve TNF- α adezyon moleküllerini eksprese ettiği bilinmektedir (85,111,115). Bu çalışmada edaravone TNF- α ekspresyonunu inhibi ederek hepatik iskemi reperfüzyon hasarını anlamlı olarak azaltmıştır (116).

Bizim çalışmamızda da edaravone kullanımı ile hepatik iskemi reperfüzyon hasarında hepatik enzimler ve TNF- α düzeyleri çalışma gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu da edaravonun iskemi reperfüzyon hasarında karaciğeri reperfüzyonun zararlı etkilerinden koruduğunu desteklemektedir.

Serbest oksijen radikalleri ve sitokinlerin reperfüzyon sonrası üretildiği ve bunların adezyon moleküllerinin up regülasyonunun ekspresyonunu stimüle ettiği rapor edilmiştir. Hepatik iskemi reperfüzyon hasarında adezyon molekülleri hedef dokulardaki nötrofil migrasyonunu artırarak hasarı ağırlaştırmaktadır (117).

Alfa-tokotrienol (118) ve lesitine superoksit dismutaz (119) adezyon moleküllerinin artmasını ve endotel hücrelerindeki inflamatuvar hücrelerin adezyonunu inhibe etmektedir. Edaravonunda adezyon moleküllerinin artmasını azaltarak iskemi reperfüzyon hasarında etkili olduğu rapor edilmiştir. Şimdilerde edaravone beyin enfarktüsünde serbest radikal toplayıcısı olarak sıklıkla klinik olarak kullanılmaktadır. Edaravonunda başka klinik kullanımda serbest radikal toplayıcı kullanımının uygun olmaması ile hepatik iskemi reperfüzyon hasarı gibi hastalıklarda da değişik serbest radikal toplayıcılar içinde kullanımı uygun olan iyi bir ajandır. Bu çalışmada sonuç olarak edaravone oksidatif stresi minimize ederek ve inflamatuvar sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin üretimini azaltarak sonradan ortaya çıkan inflamasyonu inhibe etmekte ve hepatik iskemi reperfüzyon hasarını azaltmaktadır (115).

Song ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada edaravonun retinal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde retinal dokuda oksidatif parametreleri hafifleterek retinal nöronların apoptozdan koruduğunu ve retinal iskemi reperfüzyon hasarı sonrası bu hücrelerde koruyucu etkileri olduğunu rapor ettiler (120).

Metabolik işlemler için oksijen ana bir kaynak ve hayat için kritik bir maddedir. Fakat oksijenin reaktif metabolitleri hücreler için toksik olabilmektedir. İskemiye bağlı sekonder hasar, perfüzyon esnasında dokuya ani oksijen girişi ile serbest radikal kaskatını tetikler, endojen serbest radikal toplayıcılarını baskılayarak hasarı artırır (120).

Edaravone hidrojen peroksit radikalleri aracılığı ile indüklenen lipid

peroksidasyonunu ve başlangıçtan sonra ortaya çıkan hidrojen peroksit radikalleri ile indüklenen lipid peroksidasyonunun ilerlemesini tetikleyen mekanizmaları elemine eder. Edaravone bir stabil oksidasyon ürünü meydana getirerek (OPB, 2-oxo-3-(fenilhidrazon)-butanoik asit) hem peroksi hem hidroksi radikalleri etkiler (121). Daha önceden edaravonun beyin (122,123), kalp (124) ve karaciğer (115,128)'i serbest radikal bağımlı hasardan koruduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada da yazarlar ratlarda olan retinal iskemi hasarında edaravonun koruyucu etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır (120).

Tahara ve arkadaşları köpeklerde yaptıkları bir çalışma ile 3mg/kg edaravonun renal soğuk iskemi reperfüzyon hasarı modelinde surviyi artırdığını bildirmişlerdir(125). Doi ve arkadaşları ise 2004 yılındaki yaptıkları çalışmada 45 dakika sıcak iskemi reperfüzyon hasarı modeline maruz bırakılan rat böbrek fonksiyonlarının edaravone uygulanması ile anlamlı olarak düzeldiğini biokimyasal ve patolojik olarak göstermişlerdir (126). Edaravone güçlü bir hidroksi radikal toplayıcıdır (127).

Hiranuma ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışma ile edaravonun karaciğeri iskemi reperfüzyon hasarından koruduğunu biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmışlardır. Bu çalışmayla edaravone karaciğer hasarı ile giden iskemi reperfüzyon hasarına bağlı karaciğere olan nötrofil infiltrasyonunu azaltmaktadır. Ayrıca histolojik bulgularda hepatik iskemi reperfüzyon hasarında edaravonun koruyucu etkilerini göstermektedirler. Ayrıca bu çalışmada iskemi reperfüzyon hasarı başlamadan hemen önce verilen edaravonun daha efektif olarak hasarı önlemede etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Bundan dolayı edaravonun klinik olarak parsiyel hepatektomi ve karaciğer naklinde kullanılabileceği rapor edilmiştir (128).

İskemi reperfüzyon hasarının patogeneğinde SOR birçok yolla oluşabilir. İskemi reperfüzyon hasarı sonrası hepatositlerdeki direkt SOR oluşumu ilk sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır (129). SOR membrandaki fosfolipidlerin non-enzimatik lipid peroksidasyonuna sebep olarak hücre membran bütünlüğünü bozar. Edaravonun sıcak saklama sonrası reperfüze edilen rat karaciğer greftlerinde lipid peroksidasyonu üzerine baskılayıcı etkilerini malondialdehit üretimini azaltmasının ortaya konmasıyla göstermiştir (130).

Küçük ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tıkanma sarılığında eksojen olarak

verilen Dimetilsulfoksit'in lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyelerindeki yükselmeye, dolayısıyla lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir (131).

Nakamura ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışma ile potansiyel serbest radikal toplayıcısı olan edaravonun sıcak iskemi reperfüzyon hasarına maruz kalan NHBD greftlerin fonksiyonuna katkısını araştırmışlardır. Bu çalışmada edaravone NHBD'lerden alınan karaciğer greftlerinde portal akım hacmini, safra üretimini ve enerji düzeyini iyileştirmiştir, kandaki AST ve LDH düzeyini düşürmüştür. Ayrıca proinflamatuvar sitokin üretimi inhibe edilmiştir ve lipid peroksidasyonunu baskılanmıştır (94).

NHBD greftlerin kullanıldığı bu çalışmada lipid peroksidasyonun bir ürünü olan lipid hidroperoksidaz edaravone tedavisi ile azaltılmış ve sıcak iskemi reperfüzyon hasarında karaciğerdeki lipid peroksidasyonu radikal toplayıcılarla baskılandığı öne sürülmüştür. Edaravone tedavisi ile perfüzatta düşen AST ve LDH değerleri SOR'ların toplanmasının hücrel membranlarda lipid peroksidasyonu ile oluşan membran hasarının azaltıldığını göstermiştir (94). Bizim çalışmamızda perfüze sıvısındaki AST ve ALT değerleri anlamlı olarak düşük bulunmuş bu da edaravonun yararlı etkilerini ortaya koymuştur.

AST ve ALT, akut hepatosellüler hasarın en iyi serum göstergeleridir. Sitoplazmik ve mitokondrial bir enzim olan AST, karaciğer dışında kalp, iskelet kası, böbrek, beyin gibi bir çok dokuda bulunurken, sitoplazmik bir enzim olan ALT başlıca karaciğerde bulunur ve AST'ye göre daha özgündür. Bu enzimler parankim hasarının olduğu dönemden itibaren yükselmeye başlar. Enzimlerin serum değerlerindeki yükselme hepatosellüler hasarın boyutlarını yansıtır. İskemi-reperfüzyon hasarının belirlenmesinde en sık kullanılan laboratuvar parametreleridirler (132).

Bizim çalışmamızda hepatektomi sonrası perfüze edilen kontrol ve çalışma grupların karaciğerlerin perfüzeatları uygun koşullarda saklandı ve daha sonra AST ve ALT değerleri ölçüldü. Perfüzyon sırasında düşük viskoziteye sahip yıkama solüsyonu kullanıldı. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi. Çalışma gruplarındaki değerler kontrol gruplarına göre belirgin olarak daha düşüktü. Çalışma gruplarında AST ve ALT değerlerinin düşük bulunması, SOR'un edaravone

tarafından toplanmasının karaciğer hücre hasarının daha az gerçekleştiğinin kanıtı olarak söylenebilir. Bu görüş ile yola çıkıldığında AST ve ALT değerlerinin düşük olduğu edaravone grubunda karaciğer hücre canlılığının daha iyi olduğu ve greft survey ve fonksiyonu açısından daha iyi sonuçlar verebileceği öngörülebilir.

Okatani ve arkadaşları hepatik akımın oklüzyonu ile indüklenen hepatik iskemi reperfüzyon modelinde edaravonun mitokondrial lipid peroksidasyonundan ve buna bağlı olarak mitokondrial yapıların disorganizasyonundan hücreyi koruduğunu göstermişlerdir (134). Nakamura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NHBD greftlerde edaravane mitokondrial hasarı azaltmaktadır ve safra üretimi ile gösterilen karaciğer fonksiyonunu iyileştirmektedir (94).

Bir çok çalışmada SOR'un sinüzoidal endotel hücrelerin ölmesini takiben mikrosirkülasyonun bozulmasına ve vazokonstriktör imbalansına neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada portal akım hacmi edaravone ile tedavi edilen grupta anlamlı olarak artmıştır (94).

Schauer ve arkadaşları *invivo* bir mikroskop gözlemi ile transplante edilen rat karaciğerlerinde mikrosirkülasyon bozulmasının Kupffer hücre fonksiyonlarının baskılanması ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Kupffer hücre blokajı ile Kupffer hücrelerinden elde edilen SOR'un azaldığını göstermişlerdir (134).

Mikrosirkülasyondaki bozukluk SOR'a bağlı olabilir ve edaravone tarafından azaltılabilir. Bu çalışma ile edaravonun sıcak iskemi reperfüzyon hasarına maruz kalmış NHBD greftlerde hücrelerdeki lipid peroksidasyonunu direkt olarak inhibe ederek ve Kupffer hücre aktivasyonunu süprese ederek membran bütünlüğünü ve enerji metabolizmasını koruduğu ortaya konmuştur. Bu çalışma ile NHBD greftleri kullanılarak yapılan karaciğer nakillerinde edaravone greft aktivitesini yenileyen potansiyel ve güçlü bir ajan olduğu ispatlanmıştır (94).

Araki ve arkadaşlarının 2003 yılındaki yaptıkları çalışmada dekstran sulfan sodyum ile oluşturdukları deneysel kolit modelinde edaravone verilmesi ile kolitin baskılandığını, mukozal myeloperoksidaz aktivitesini ve IL-6 düzeyini düşürdüğünü göstermişlerdir (135).

Bizim çalışmamızda da edaravonun antienflamatuar sitokinleri artırdığı, proinflamatuar sitokinleri baskılayarak sıcak iskemiyeye maruz kalmış NHBD'lerde faydalı olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca perfüzyon sıvısındaki AST ve ALT

değerlerinin edaravone verilen gruplarda anlamlı düşük olmasında NHBD'lerde edaravonenin faydalı etkilerini ortaya koymaktadır.

Normal karaciğerde PCNA antikoru ile immünohistokimyasal inceleme sonrası önemsenmeyecek kadar az sayıda hücrede boyanma saptanırken, rejeneren olan karaciğerde son derece yüksek sayıda hücrede pozitif boyanma saptanmaktadır (75). Yamano ve ark. portal ven ligasyonu sonrası rejenerasyonu uyardıkları çalışmada portal ven ligasyonu yapılmamış olan ve rejenerasyon oluşan lobda, artmış PCNA aktivitesini göstermişlerdir (136).

Akalın ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Deneysel Non-Heart Beating Donor Modelinde Rantes'in Met-rantes ile blokajının inflamasyonun birçok basamağını bloke ederek karaciğer hücre hasarını daha az gerçekleştirdiğini göstermişlerdir (137).

Bizim çalışmamızda tüm gruplarda PCNA değerlerine bakılarak, rejenerasyon açısından değerlendirilmesi amaçlandı. PCNA açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi. Çalışma gruplarının PCNA ile boyanması; edaravonun karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkisini göstermiştir.

Bcl-2 hücre yaşamını apoptozisi bloke ederek uzatmaktadır. İskemiye maruz kalan hücrelerin seçtikleri ölüm yolu olan apoptozisin baskılanması da karaciğer greftlerinde canlılığın devamı için önemlidir (76).

Yamamoto ve ark tarafından yapılan çalışmada, sıçan karaciğerlerinin rejeksiyon sırasında apoptozise rezistans gösterdiklerini ve hepatositlerin canlılıklarını korumaya çalıştıklarını göstermişlerdir. Herhangi bir nedenle iskemiye maruz kalan hücrenin apoptozisten korunmak için bcl-2 ekspres ettiğini yayınlamışlardır (138).

Gruplar karşılaştırıldığında bcl-2 boyanma şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Kontrol gruplarında bcl-2 zayıf oranda boyanırken, çalışma gruplarında bcl-2 kuvvetli boyandı. Çalışma II grubunda sanral ven etrafında zon 3'de çok kuvvetli boyanma tespit edildi. Hepatositlerin bcl-2 ile boyanması, edaravonenin karaciğeri iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğu söylenebilir.

Sonuç olarak son dönem karaciğer hastalığı olan ve organ nakline gidecek hastaların artması ve donör havuzlarının azalması ile ortaya çıkan organ yetersizliği gelecekte NHBD üzerine yapılacak çalışmalarla rutin olarak uygulanabilir bir metod haline

gelebilir. Bu bağlamda sıcak iskemiye maruz kalmış NHBD'lerde edaravone güçlü bir radikal toplayıcısı olarak çok faydalı ve ümit verici bir ajandır.

6. SONUÇLAR

Ocak–Aralık 2008 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yapılan, deneysel kontrollü non–heart beating donör modelinde edaravonun karaciğer hücre canlılığına etkisinin ve bu greftlerin kullanılabilirliğinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şeklide sıralanabilir:

1. Bu çalışmada biyokimyasal olarak karaciğer hasarının belirgin göstergelerinden olan serum AST ve ALT düzeyleri araştırılmıştır. Kontrol ve çalışma gruplarının karaciğer perfüzyon sıvılarından çalışılan bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu biyokimyasal sonuçlar non–heart beating donörlerdeki en temel sorun olan sıcak iskemi süresinin hepatositler üzerindeki yıkıcı etkisinin edaravone ile yapıldığı çalışma gruplarında daha az gerçekleştiğini ve edaravonenin hepatosit canlılığının devamlılığında koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

2. Bu çalışmada biyokimyasal olarak anti-inflatuar bir sitokin olan IL-10 düzeyi gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Kontrol gruplarında IL-10 düzeyi düşük iken çalışma gruplarında IL-10 seviyesi artmıştır. Kontrol ve çalışma gruplarının karaciğer perfüzyon sıvılarından çalışılan IL-10 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. Edaravone verilmesi ile IL-10 proinflatuar sitokinlerin oluşumunu azaltarak sıcak iskemi sürecinde karaciğeri SOR'un zararlı etkilerinden korur.

3. Bu çalışmada biyokimyasal olarak proinflatuar sitokinler olan IL-6 ve TNF- α

düzeylei araştırıldı. Proinflamatuvar sitokinler olan IL-6, TNF- α düzeylei kontrol ve çalışma gruplarının karaciğer perfüzyon sıvılarından çalışılan bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu biyokimyasal sonuçlar non-heart beating donörlerdeki sıcak iskemi sürecinde ortaya çıkan proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin edaravone verilmesi ile azaldığı ve edaravonun hücre canlılığının devamlılığında koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

4. S fazındaki hücrede eksprese edilen PCNA, hücrenin proliferere olduğunun immünohistokimyasal kanıtıdır. Proliferasyon sürecini yaşayan hücrelerden salınan PCNA bir anlamda hücrenin canlılığının koruduğunun göstergesidir. Bizim çalışmamızda da hücre için proliferasyon ve canlılık belirteci olarak nitelendirilebilecek PCNA boyanarak karşılaştırıldı. PCNA değerleri açısından tüm gruplar karşılaştırıldığında çalışma gruplarında daha fazla hepatositin PCNA ile boyandığı görüldü. Sham, kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak fark tespit edildi. Edaravone hücreleri proliferasyona sürüklemektedir.

5. Bcl-2, çeşitli nedenlerle iskemiye maruz kalan hücrelerde apoptozisten korunma amaçlı salgılanan bir proteindir. Bcl-2 salgılayan hücrenin iskemiye maruz kaldığı söylenebilir. Bcl-2 boyanma şiddeti açısından gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. Bu çalışmada bcl-2'nin çalışma gruplarında, daha kuvvetli boyandığı görüldü. Her üç grubun iskemi süreleri eşit gerçekleştirildiğinden; hücrede iskemi etkisi ile apoptosizden korunmak için eksprese edilen bcl-2'nin edaravone verilen çalışma grubunda daha çok boyanması, edaravonun hepatositleri iskeminin kötü etkilerinden koruduğunu göstermektedir.

Tüm bu sonuçlar, sıcak iskemi zamanının en temel sorun olduğu NHBD'lerde edaravonun hepatositlerin iskemiye dayanırlıklılığını arttırdığına göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Titiz İ, Aker F, Arman A, et. al. Renal Organ nakliia Pratik Yaklaşım, 2. Baskı, İstanbul, 2004:7-8
2. D'Alessandro AM, Robert M, Hoffman BS et al. Liver transplantation for controlled from non-heart beating donors. Surgery 2000;128:579-88.
3. Marcos A. Right lobe living donor liver transplantation: a review. Liver Transpl 2000;6:3-20.
4. Tanaka K, Uemoto S, Tokunaga Y, et al. Living related liver transplantation in children. Am J Surg 1994;168:41-8.
5. Busuttill RW, Goss JA, Yersiz H, et al. Split liver transplantation. Ann Surg. 1999;299:313-21.
6. D'Alessandro AM, Hoffmann RM, Bezler FO. Non-heart-beating donors: opportunities and challenges. Transplant Rev 2000;14:1-17.
7. Nicholson ML. Renal transplantation from non-heart-beating donors: one response to the organ shorgate. Transplant Rev 1995;9:168-176. .
8. Otero A, Gomez–Gutierrez M, Suarez F, et al. Liver transplantation from Maastricht category 2 non–heart–beating donors: a source to increase the donor pool? Transplant Proc. 2004;36:747–50.
9. Kimber RM, Metcalfe MS, White SA, Nicholson ML. Use of non–heart–beating donors in renal transplantation. Postgrad Med J. 2001;77:681–85.
10. Reich DJ, Munoz SJ, Rothstein KD et al. Controlled non heart–beating donor liver transplantation: a successful single center experience, with topic update. Transplantation. 2000;70:1159–66.

11. Kumamoto Y, Suematsu M, Shimazu, et al. Kupffer cell-independent acute hepatocellular oxidative stress and decreased bile formation in post-cold-ischemic rat liver. *Hepatology* 1999;30:1454-63.
12. Ravanat JL, Di Mascio P, Martinez GR, et al. Singlet oxygen induces oxidation of cellular DNA. *J Biol Chem* 2000;275:40601-04.
13. Casini A, Ceni E, Salzano R, et al. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide. *Hepatology* 1997;25:361-67.
14. Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, et al. Tumor necrosis factor-induced, superoxide, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *Hepatology* 1997;26:113-20.
15. Kamotsu H, Koo A, Ghadishah E, et al. Neutrophil accumulation in ischemic reperfused rat liver: evidence for a role for superoxide free radicals. *Am J Physiol* 1992;262:G669-76.
16. Cutrin JC, Boveris A, Zingaro B, et al. In situ determination by surface chemiluminescence of temporal relationships between evolving warm ischemia-reperfusion injury in rat liver and phagocyte activation and recruitment. *Hepatology* 2000;31:622-32.
17. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki S, et al. Involvement of platelet-activating factor in cytokine production and neutrophil activation after hepatic ischemia-reperfusion. *Hepatology* 1996;23:1656-63.
18. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, et al. Role of tumor necrosis factor- α in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest* 1990;85:1936-43.
19. Le Moine O, Louis H, Stordeur P, et al. Role of reactive oxygen intermediates in interleukin 10 release after cold liver ischemia and reperfusion in mice. *Gastroenterology* 1997;113:1701-06.

20. Camargo CA Jr, Madden JF, Gao W, et al. Interleukin-6 protects liver against warm ischemia/reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent. *Hepatology* 1997;26:1513-20.
21. Lentsch AB, Yoshidome H, Warner RL, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor in mice regulates local and remote organ inflammatory injury induced by hepatic ischemia/reperfusion. *Gastroenterology* 1999;117:953-61.
22. Lee TS, Chau LY. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-10 in mice. *Nat Med* 2002;8:240-46.
23. Le Moine O, Louis H, Demols A, et al. Cold liver ischemia-reperfusion injury critically depends on liver T cells and is improved by donor pretreatment with interleukin 10 in mice. *Hepatology* 2000;31:1266-74.
24. Ninomiya M, Shimada M, Harada N, et al. The hydroxyl radical scavenger MCI-186 protects the liver from experimental cold ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 2004;91:184-90
25. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology* (10th ed). Lange, Connecticut 2002,pp.307–20.
26. Sielaff TD, Curley SA. Liver. In: Bruchinardi FC, Anderson DK, Billiar TR (eds), *Schwartz's Principles of Surgery* (8th ed) McGraw–Hill, Philadelphia 2004,pp.1139-1186.
27. D'Angelica M, Fong Y. The Liver. In. Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, et al. (Eds) *Sabiston Textbook of Surgery*. 17. edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004;1513-69.
28. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ, Çeviri: Seven R, Yatlı T, Erbil Y, Değerli Ü. *Cerrahi Anatomi ve Teknik*. Karaciğer. 2. baskı, İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi;2000:ss,531-72.
29. Blumgart LH, Hann LE. Surgical and radiologic anatomy of the liver and biliary tract. In: Blumgart LH, Fong Y (Ed). *Surgery of Liver and Biliary Tract*. London: WB Saunders.2000: pp,3-34.

30. Gupta SC, Gupta CD, Arora AK. Subsegmentation of the human liver. *J Anat* 1977;124:413-23.
31. Lafortune M, Madore F, Patriguin H. Segmental anatomy of the liver. *Radiology* 1991;181:443–8.
32. Fasel JH, Selle D, Evertsz CJ. Segmental anatomy of the liver; poor correlation with CT. *Radiology* 1988;206:151–7.
33. Belghiti J, Clavien P-A, Gadzijiv E, et al. The Brisbane 2000 Terminology of Liver Anatomy and Resections. *HPB* 2000;2:333-39.
34. Dominioni L, Chiappa A, Cuffari S, Dionigi R. Vascular occlusions during resection of the liver. In: Dionigi R, Madariaga J (eds). *New technologies for liver resections*. Karger Landes Systems Basel 1997; pp. 68–94.
35. Bismuth H. Surgical anatomy of the liver. In: Bengmark S, Blumgart LH (eds), *Liver surgery* Churchill Livingstone, Edinburgh 1986,pp.1–7.
36. Meyers WC, Jones RS. Anatomy. In: Meyers WC, Jones RS (eds), *Textbook of liver and biliary surgery* JB Lippincott Company, Philadelphia 1990,pp.18–38.
37. Emre A. Karaciğerin cerrahi anatomisi. Kalaycı G (ed). *Genel Cerrahi*. Nobel Tıp Kitabevi 2002;sf.1083–9.
38. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. The liver as an organ. 9. edition. Philadelphia:WB Saunders company, 1996:883-888.
39. Lopez P, Martin P, Update on Liver Trasplantation: Indications, Organ Alloation and Long-Term Care. *The Mount Sinai J. Med.* 2006;73:1056-66.
40. Abbasoğlu O, Karaciğer Transplantasyon, Sayek İ, Kaynaroğlu V, Kalayoğlu M, Temel Cerrahi, Güneş Kitabevi, 3. Baskı, 2004,sf.774–80.
41. Seaberg EC, Belle SH, Beringer KC, et al. Liver transplantation in the United States from 1987-1998: Updated results from the Pitt-UNOS liver transplant registry. In: Cecka JM, Terasaki PI, Eds. *Clinical transplants 1998*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory; 1999. pp. 17–37.

42. O'Grady JG, Alexander GJ, Haylar M, et al. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 97:439–445.
43. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112:463–72.
44. Marino IR, Morelli F, Doria C, et al. Preoperative assessment of risk in liver transplantation: a multivariate analysis in 2376 cases of the UW era. *Transplant Proc* 1997;28(1-2):454-55.
45. Lopez-Navidad A, Caballero F. Extended criteria for organ acceptance. Strategies for achieving organ safety and for increasing organ pool. *Clin Transplant*. 2003;17:308–24
46. Reddy S, Zilvetti M, Brockmann J, McLaren A, Friend P. Liver transplantation from non-heart-beating donors: current status and future prospects. *Liver Transpl*. 2004;10:1223–32.
47. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look. *Exp Mol Pathol*. 2003;74:86–93.
48. Bernal W, Wendon J. Liver transplantation in adults with acute liver failure. *J Hepatol*. 2004;40:192–97.
49. Russo MW, Brown RS. Adult living donor liver transplantation. *Am J Transplant*. 2004;4:458–65.
50. Broelsch CE, Frilling A, Testa G, Malago M. Living donor liver transplantation in adults. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003 ;15:3-6.
51. Schemmer P, Mehrabi A, Friess H et al. Living related liver transplantation: the ultimate technique to expand the donor pool? *Transplantation*. 2005; 80:5138-41.
52. Williams RS, Alisa AA, Karani JB, et al. Adult-to-adult living donor liver transplant: UK experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15:7-14.

53. Monbaliu D, Crabbe T, Roskams T et al. Livers from non-heart-beating donors tolerate short periods of warm ischemia. *Transplantation* 2005; 79:1226-30.
54. Doig CJ, Rucker G. Retrieving organs from non-heart-beating organ donors: a review of medical and ethical issues *Can J Anaesth.* 2003;50:1069–76.
55. Ma Y, Wang GD, Wu LW, Hu RD. Dynamical changing patterns of histological structure and ultrastructure of liver graft undergoing warm ischemia injury from non-heart-beating donor in rats. *World J Gastroenterol.* 2006;12:4902–5.
56. Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP. Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc.* 1995;27:2893–4.
57. Sanchez-Fructuoso AI, Prats D, Torrente J, et al. Renal transplantation from non heart-beating donors: a promising alternative to enlarge the donor pool. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:350–8.
58. Valero R, Garca-Valdecasas, Juan C, et al. L-arginine reduces liver and biliary tract damage after liver transplantation from non heart beating donor pigs. *Transplantation.* 2000;70:730–37.
59. Bessems M, Doorschodt BM, Albers PS, et al. Wash-out of the non-heart-beating donor liver: a comparison between ringer lactate, HTK, and polysol. *Transplant Proc.* 2005;37:395–8.
60. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81:637-47.
61. Rhodes RS, DePalma RG. Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock. *Surg Gynecol Obstet* 1980;150:347-352.
62. Magnani M, Stocchi V, Dacha M, et al. Regulatory properties of rabbit red blood cell hexokinase at conditions close to physiological. *Biochimica et Biophys Acta* 1984;804:145-53.
63. Nieminen AL, Gores GJ, Wray BE, et al. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Celi Calcium* 1988;9:237-46.

64. Karwinski W, Ulvik R, Farstad M, et al. Effect of allopurinol on the concentration of endogenous glutathione in hepatocytes after an hour of normothermic liver ischemia. *Eur J Surg* 1993;159:355–59.
65. Foschi D, Castoldi L, Lesma A, et al. Effect of ischemia and reperfusion on liver regeneration in rats. *Eur J Surg* 1993;159:393–98.
66. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 1983;94:428–32.
67. Usami M, Furuchi K, Shirowa H, Saitoh Y. Effect of repeated portal triad cross clamping during partial hepatectomy on hepatic regeneration in normal and cirrhotic rats. *J Surg Res* 1994;57:541–43.
68. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, et al. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant for liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145:1421-23.
69. Bremer C, Bradford BU, Hunt KJ, et al. Role of Kupffer cell in the pathogenesis of hepatic reperfusion injury. *Am J Physiol* 1994;267:630–36.
70. Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, et al. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996;23:506–14.
71. Serracino–Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia–reperfusion injury. *Am J Surg* 2001;181:160–66.
72. Huguet C, Gavelli A, Chieco A, et al. Liver ischemia for hepatic resection: Where is the limit. *Surgery* 1992;111:251–59.
73. Court FG, Wemyss–Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* 2002;89:1089–95.
74. Nakamura T, Tomita Y, Hirai R, et al. Inhibitory effect of transforming growth factor-B on DNA synthesis of adult rat hepatocytes in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1975;133:1042-50.

75. Tanno M, Taguchi T. Proliferating cell nuclear antigen in normal and regenerating rat livers. *Exp Mol Pathol* 1999;67:192–200.
76. Hiroyasu S, Shiraishi M, Koji T, et al. Analysis of the Fas system and Bcl-2 in rat liver allograft rejection. *J Surg Res.* 1999;15:204–11.
77. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Cellular pathology I: cell injury and cell death. In: Kumar V, Fausto N, Abbas A (eds), *Robbins Pathologic Basis of Disease* (7th ed) WB Saunders Company, Philadelphia 2004,pp.1–41
78. Tzung SP, Fausto N, Hockenbery DM. Expression of Bcl-XL family during liver regeneration and identification of Bcl-XL as a delayed early response gene. *Am J Pathol* 1997;150:1985–95.
79. Bergese SD, Klenotic SM, Wakely ME, et al. Apoptosis in murine cardiac grafts. *Transplantation.* 1997;63:320–25.
80. Kanzler S, Galle PR. Apoptosis and liver. *Cancer Biology* 2000;10:173–84
81. Thurman RG, Marzi I, Seitz G, et al. Hepatic reperfusion injury following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1988;46:502-6
82. Arthur MJ, Bentley IS, Taner AR, et al. Oxygen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology* 1985;89:1114-22.
83. Gonzalez-Flecha B, Cutrin JC, Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J. Clin. Invest* 1993;91:456-64.
84. Ito K, Miwa N, Hagiwara K et al. Regulation of methionine adenosyltransferase activity by glutathione level in rat liver during ischemia-reperfusion. *Surg. Today* 1999;29:1053-8
85. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in ischemic tissue injury. *N. Eng. J. Med.* .1985;312:159-63
86. Werns SW, Lucchesi BR. Free radicals and ischemic tissue injury. *Trends Pharmacol. Sci.* 1990;11:161-6

87. Anderson RE, Maude MB, Neilsen JC. Effect of lipid peroxidation on rhodopsin regeneration. *Exp Eye Res* 1985;4:65-71.
88. Xie Z, Wu X, Gong Y, et al. Intraperitoneal injection of Ginkgo biloba extract enhances antioxidation ability of retina and protects photoreceptors after light-induced retinal damage in rats. *Curr Eye Res* 2007; 32: 471–9.
89. Bizler M, Jaechke, H. Volmarr AM, et al. Prevention on Kupffer cell-induced oxidant injury in rat liver by atrial natriuretic peptide. *Am J Physiol* 1999;276:1137-44
90. Jaesche H, Ho YS, Fisher MA, et al. Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia:importance of an intracellular oxidant stress. *Hepatology* 1999;29:443-50.
91. Chateau MT, Rabesandratana H, Caravano R. Differentiated U937 cells and human monocytes exhibit a differential production of extracellular oxygen species: O₂⁻ excretion versus H₂O₂ diffusion. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1996;13:19-28
92. Motoyama Sk, Minamiya Y, Saito R, et al. Hydrogen peroxide derived from hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell apoptosis in perfused hypoxic rat liver. *Gastroenterology* 1998;114:153-163.
93. Takeuchi T, Nakajima M, Morimoto K. Relationship between the intracellular reactive oxygen species and the induction of oxidative DNA damage in human neutrophil-like cells. *Carcinogenesis* 1996;17:1543-1548.
94. A. Nakamura, Y. Akamatsu, S. Miyagi, T. Fukumori, S. Sekiguchi, and S. Satomi. A Free radical scavenger, edaravone, prevents ischemia-reperfusion injury in liver grafts from non-heart-beating donors. *Transplantation Proceedings* 2008;40:2171-74.
95. Higashi Y, Jitsuiki D, Chayama K, et al. Edaravone(3-Methyl-1-Phenyl-2-Pyrazolin-5-One), A Novel free radical scavenger, for treatment of cardiovascular diseases. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery*, 2006;1:85-93.

96. Bourdi M, Mascbuchi Y, Reilly TP, et al. Protection against acetaminophen-induced liver injury and lethality by interleukin 10: role of inducible nitric oxide synthase. *Hepatology* 2002;35:289-298.
97. Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, et al. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology* 1998;28:1597-1606.
98. Louis H, Van Leathem JL, Wu W, et al. Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Hepatology* 1998;28:1607-1615.
99. Rai RM, Loffreda S, Karp CL, et al. Systemic release of interleukin-10 during orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1994;20:889-892.
100. Özdemir K. SPSS ile Biyoistatistik. 5. Baskı, İstanbul: Kaan Kitabevi; 2003 ss.341-366.
101. Tamotsuri N, Yoshida N, Takagi T, et al. Edaravone, a newly developed scavenger, protects against ischemia-reperfusion injury of the small intestine in rats. *International J of Mol Med.* 13:105-109,2004.
102. Yoshino H, Kimura A. Investigation of the therapeutic effects of edaravone, a free radical scavenger, on amyotrophic lateral sclerosis (Phase II study). *Amyotrop Lateral Scler* 2006;7:241-5
103. Maeda, K, Tatsumi M, Yasuda H, et al. A case of stroke-like episode of MELAS of which progressive spread would be prevented by edaravone. *Rinsho Shinkeigaku* 2005;45:416-21.
104. Watanabe T, Egawa M. Effects of an antistroke agent MCI-186 on cerebral arachidonate cascade. *J. Pharmacol. Exp Ther.* 1994;268:1597-604.
105. Shiratori Y, Kiriyaama H, Fukushi Y, et al. Modulation of ischemia-reperfusion-induced hepatic injury by Kupffer cell. *Dig Dis Sci* 1994;39:1265.
106. Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* 1991;260:G355-62.

107. Li W , Chan AC, Lau YJ, et al. Superoxide and nitric oxide production by Kupffer cells in rats with obstructive jaundice: Effect of internal and external drainage. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:160-65.
108. Peralta C, Prats N, Xaus C, et al. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999;30:1481-89.
109. Valatas V, Kolios G, Manousou P, et al. Tumor necrosis factor alpha act on cultured human vascular endothelial cells to increase the adhesion of pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2000;21:392-97.
110. Sakamoto S, Okanue T, Itoh Y, et al. Involvement of Kupffer cells in the interaction between neutrophils and sinusoidal endothelial cells in rats. *Shock* 2002;18:152-57.
111. Nazowa F, Hiroto M, Okabe A, et al. Tumor necrosis factor alpha acts on cultured human vascular endothelial cells to increase the adhesion of pancreatic cancer cells . *Pancreas* 2000;21:392-97.
112. Yang H, Shi M, Richardson A, et al. Attenuation of leukocyte-endothelium interaction by antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med* 2003;35:266-76.
113. Brock RW, Lawlor DK, Haris KA, et al. Initiation of remote repatic injury in the rats: Interactions between Kupffer cells, tumor necrosis factor-alpha, and microvascular perfusion. *Hepatology* 1999;30:133-41.
114. Rudiger HA, Clavien PA. Tumor necrosis factor alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology* 2002;122:202-10.
115. Eppihimer MJ, Russell J, Langley R, et al. Role of tumor necrosis factor and interferon gamma in endotoxin-induced E-selectin expression. *Shock* 1999;11:93-97.
116. Tanuguchi M, Uchinami MN, Doi K, et al. Edaravone reduces ischemia-reperfusion injury mediators in rat liver. *J of Surg Res* 2007;137:69-74.
117. Garcia-Criado FJ, Palma-Vargas JM, Valduncel-Garcia JJ, et al. Sulfo-Lewis

- diminishes neutrophil infiltration and free radicals with minimal effect on serum cytokines after liver ischemia and reperfusion. *J Sur Res* 1997;70:187-94.
118. Theriault A, Chao JT, Gapor A. Tocotrienol is the most effective vitamin E for reducing endothelial expression of adhesion molecules and adhesion to monocytes. *Atherosclerosis* 2002;160:21.
 119. Koo DD, Welsh KI, West NE, et al. Endothelial cell protection against ischemia/reperfusion injury by lecithinized superoxide dismutase. *Kidney Int* 2001;60:786-96.
 120. Song Y, Gong Y, Xie Z, et al: Edaravone (MCI186) , a free radical scavenger, attenuates retinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 823-28
 121. Anemiya S, Kamiya T, Nito C, et al. Anti-apoptotic and neuroprotective effect of edaravone following transient focal ischemia in rats. *Eur J Pharmacol* 2005;516:125-30.
 122. Mizuno A, Umemura K, Nakashima M. Inhibitory effect of MCI-186 , a free scavenger, on cerebral ischemia following rat middle cerebral artery occlusion. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 575–8.
 123. Xiao B, Bi FF, Hu YQ, et al. Edaravone neuroprotection effected by suppressing the gene expression of the Fas signal pathway following transient focal ischemia in rats. *Neurotox Res* 2007;12:155-62.
 124. Wu TW, Zeng LH, Wu J, et al. Myocardial protection of MCI-186 in rabbit ischemia-reperfusion. *Life Sci* 2002;71:2249-55.
 125. Tahara M, Nakayama M, Jin MB, et al. A radical scavenger, edaravone, protect canine kidneys from ischemia-reperfusion injury after 72 hours of cold preservation and autotransplantation. *Transplantation* 2005;80;213-21.
 126. Doi K, Suzuki Y, Nakao A, et al: Radical scavenger edaravone developed for clinical use ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat kidney . *Kidney Int* 2004;65;1714-23.

127. Watanabe K, Hayase T. Radical scavenging mechanisms of MCI-186. *Jpn Pharmacol Ther* 1999; 40: 729–36.
128. Hiranuma S, Ito K, Noda Y, et al. Amelioration of hepatic ischemia/reperfusion injury in the remnant liver after partial hepatectomy in rats. *Hepatology* 2007; 22: 2167–72.
129. Jaeschke H: Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact* 1991;79:115-36.
130. Ninomiya M, Shimada M, Harada N, et al: Beneficial effect of MCI-186 on hepatic warm ischemia-reperfusion in the rat. *Transplantation* 2002;74:1470-76.
131. Küçük C. Deneysel Tıkanma Sarılığında Dimetilsulfoksit'in Etkisi. Erciyes Üni. Tıp Fak. Genel Cerrahi A.D. Tıpta Uzmanlık Tezi 1999; sf.72.
132. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, et al. Vascular occlusions for liver resections. *Ann Surg* 1989;209:211–18.
133. Okatani Y, Wakatsuki A, Enzan H, et al: Edaravone protects against ischemia/reperfusion-induced oxidative damage to mitochondria in rat liver. *Eur J Pharmacol* 2003;465:163-70.
134. Schauer RJ, Bizler M, Kalmuk S, et al: Microcirculatory failure after rat liver transplantation is related to Kupffer cell derived oxidant stress but not involved in early graft dysfunction. *Transplantation* 2001;72:1692-99.
135. Araki Y, Andoh A, Fujiyama Y. The free radical scavenger edaravone suppresses experimental dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Int J Mol. Med.* 2003;12:125-29
136. Yamano T, Hirai R, Hato S, Uemura T, Shimizu N. Delayed liver regeneration with negative regulation of hepatocyte growth factor and positive regulation of transforming growth factor- β 1 RNA after portal branch ligation in biliary obstructed rats. *Surgery* 2002;131:163–71.

137. Akalın B. Deneysel Kontrolle Non-Heart Beating Donor Modelinde Met-Rantesin Karaciğer Hasarına Önleyici Etkisi, Erciyes Üni. Tıp Fak. Genel Cerrahi A.D. Tıpta Uzmanlık Tezi 2007; sf.46.
138. Yamamoto H, Ohdan H, Shintaku S, et al. Expression of Bcl-2/Bax mRNA in grafted liver during acute rejection after rat liver transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:2950-51.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Mehmet Mustafa ÇETİN'e ait "Deneysel Kontrollü Non-Heart Beating Donör Modelinde Edaravonun Karaciğer Hasarına Etkisi" adlı çalışma, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :

İmza :

Başkan : Prof. Dr. Yücel ARITAŞ

İmza

Üye : Prof. Dr. A. Zeki YILMAZ

İmza

Üye : Prof. Dr. M. Erdoğan SÖZÜER

İmza

Üye : Prof. Dr. Tahir PATIROĞLU

İmza

Üye : Doç. Dr. K. Can KÜÇÜK

İmza