



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**% 70 HEPATEKTOMİ YAPILMIŞ SIÇANLARDA EKSTERNAL BİLİYER
DRENAJIN VE ENGINAR EKSTRESİNİN KARACİĞER
REJENERASYONUNA ETKİSİ**

Dr. Erhan GÖKÇE

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2012



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**% 70 HEPATEKTOMİ YAPILMIŞ SIÇANLARDA EKSTERNAL BİLİYER
DRENAJIN VE ENGINAR EKSTRESİNİN KARACİĞER
REJENERASYONUNA ETKİSİ**

Dr. Erhan GÖKÇE

UZMANLIK TEZİ

Danışman : Prof. Dr. Yılmaz ÖZEN

BURSA - 2012

İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iii
Giriş.....	1
Karaciğer Rejenerasyonu.....	4
Bilyer Drenaj.....	13
Enginar.....	16
Gereç ve Yöntem.....	21
Anestezi ve Cerrahi Teknik.....	21
İmmünohistokimyasal ve Histolojik İnceleme.....	28
İstatiksel Analiz.....	30
Bulgular.....	31
3. Gün Sonuçları.....	34
7. Gün Sonuçları.....	37
Tartışma ve Sonuç.....	44
Kaynaklar.....	50
Teşekkür.....	55
Özgeçmiş.....	56

ÖZET

Eksternal biliyer drenaj, ameliyat öncesi drenaj amacıyla kullanılabilirdiği gibi tümöre bağlı karaciğer rezeksiyonu sonrası ve canlı donör karaciğer transplantında biliyer drenaj amaçlı veya safra yolu komplikasyonlarını azaltmak amacıyla da kullanılan bir yöntemdir. Ancak yapılan az sayıda çalışmada eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonunu özellikle erken dönemde bozduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada karaciğer rezeksiyonu ile eş zamanlı yapılan eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonuna olan etkisi, ayrıca özellikle son yıllarda bu hastalar tarafından sıklıkla kullanılan enginar lif ekstresi kapsüllerinin rejenerasyona olan katkısı araştırıldı. Kırksekiz adet dişi Sprague-Dawley tipi sıçan 4 gruba ayrıldı. 1. Kontrol grubu: sadece %70 hepatektomi yapıldı. 2. Enginar ekstresi grubu: %70 hepatektomi yapıldı ve enginar ekstresi verildi. 3. Biliyer drenaj grubu: %70 hepatektomi ile beraber eksternal biliyer drenaj yapıldı. 4. Biliyer drenaj+enginar ekstresi grubu: %70 hepatektomi ile beraber eksternal biliyer drenaj yapıldı ve enginar ekstresi verildi. Enginar ekstresi oral gavaj şeklinde verildi. 3. ve 7. günlerde karaciğer rejenerasyonu Ki-67 proliferasyon indeksine bakılarak değerlendirildi. Bütün gruplarda 3. günde karaciğer rejenerasyonun çok daha yoğun olduğu, 7. günde karaciğer rejenerasyonunun istatistiksel olarak ileri derecede azaldığını gördük. Ancak hem 3. gün hem de 7. gün sonuçlarına baktığımızda eksternal biliyer drenajın ve enginar lif ekstresinin karaciğer rejenerasyonuna olumlu ya da olumsuz bir etkisi görülmedi. Bu sonuçla sağlam karaciğerde, karaciğer rezeksiyonu ile eş zamanlı olarak yapılan eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonuna olumsuz etkisi olmadığı sonucuna ulaşıldı. Ayrıca hastalar tarafından kullanılan enginar lif ekstresi kapsüllerinde önerilen dozda karaciğer rejenerasyonuna etkisi olmadığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Biliyer drenaj, karaciğer rejenerasyonu, enginar.

SUMMARY

The Effects of the External Biliary Drainage and the Artichoke Extract on Liver Regeneration on the Rats That Underwent 70% Hepatectomy.

Just as external biliary drainage is used for the purposes of drainage before surgery; it is also a method that is used after liver resection associated with tumor and as a biliary drainage during the living donor liver transplants or to reduce the biliary tract complications. However, in few studies conducted, it was reported that the external biliary drainage impeded the liver regeneration especially in early periods. In this study, the affects of the external biliary drainage on the liver regeneration which is simultaneously performed with liver resection along with the contribution that the artichoke leaf extract capsules has on regeneration, which are frequently being used by these patients especially in recent years were investigated. Forty eight Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups. 1. Control group: only 70% hepatectomy was performed. 2. Artichoke extract group: artichoke extract was administered following 70% hepatectomy. 3. Biliary drainage group: 70% hepatectomy and concomitant external biliary drainage. 4. Biliary drainage + artichoke extract group: 70% hepatectomy and concomitant external biliary drainage followed by artichoke extract administration. Artichoke extract was administered as oral gavage. Liver regeneration was tested on 3rd and 7th days of procedure by Ki-67 proliferation index. It was observed that, in all the groups liver regeneration was much more intense on the 3rd day and there was a statistically significant decrease on the 7th day. However, when we examined the results of both the 3rd and the 7th days, neither positive nor negative impacts of the external biliary drainage and the artichoke leaf extract had on liver regeneration were observed. With this result, it was concluded that the external biliary drainage performed simultaneously with the liver resection on a healthy liver did not have any negative effects on liver

regeneration. In addition, it also was observed that the artichoke leaf extract capsules taken by the patients in recommended dosage did not have any effects on the liver regeneration.

Key words: Biliary drainage, liver regeneration, artichoke.

GİRİŞ

Biliyer drenaj tıkaçıcı safra yolu patolojisi olan hastalarda özellikle biliyer sistemin dekompresyonu ve bu sayede postoperatif komplikasyonların azaltılması için sıklıkla uygulanan bir yöntemdir (1, 2). Diğer taraftan yapılan bazı çalışmalarda ise postoperatif komplikasyonları, morbiditeyi, mortaliteyi azaltmadığını da göstermiştir (3, 4). Perkütan, endoskopi eşliğinde veya USG eşliğinde uygulanabilir. Genellikle cerrahi öncesinde, yada cerrahi sırasında uygulanabilen bir işlemdir. Eksternal veya internal olarak yapılabilir. Eksternal biliyer drenaj; obstrüksiyonla seyreden safra yolu malignitelerinde çoğu zaman preoperatif olarak, benign darlık ya da tıkanıkla seyreden hastalıklarda, canlı donör karaciğer transplantasyonlarında, safra yolu yaralanmalarında vb. durumlarda kullanılabilen bir yöntemdir. Özellikle canlı donör karaciğer transplantasyonlarında ve safra yolu malignitelerinde karaciğer rezeksiyonu ile beraber uygulanır. Sınırlı deneysel çalışmalarda eksternal biliyer drenajın, parsiyel hepatektomi sonrasında karaciğer rejenerasyonuna olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (5, 6).

Iyomasa ve ark.'nın (5) yaptığı deneysel çalışmada obstrüktif sarılık modeli oluşturulan sıçanlarda yapılan eksternal biliyer drenajın parsiyel hepatektomi sonrası rejenerasyona etkisine bakılmıştır. DNA polimeraz- α ve mitotik indekse bakılarak kalan karaciğerin rejenerasyon kapasitesi değerlendirilmiştir. Eksternal biliyer drenajın obstrüktif sarılığın erken dönemlerinde karaciğer rejenerasyon kapasitesini azalttığı görülmüştür. Suzuki ve ark.'nın (6) yaptığı çalışmada ise eksternal biliyer drenajla internal biliyer drenaj karşılaştırılmıştı. Parsiyel hepatektomi yapılmış olan sıçanlarda internal olarak yapılan biliyer drenajın, eksternal biliyer drenaj gibi karaciğer rejenerasyonunu azaltmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada da eksternal biliyer drenajın negatif etkileri olduğu gösterilmiştir.

Karaciğer metabolik fonksiyonları, protein sentezi, safra sentezi ve salgısı, detoksifikasyon, vitamin depolanması vb. birçok fonksiyonu olan vazgeçilmez bir organımızdır. Karaciğerin bir bölümünün çıkarılması benign

ve malign birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Geçmişte yüksek mortalite ve morbiditesi nedeni ile korkulan bir cerrahi prosedür olan karaciğer rezeksiyonu, günümüzde daha rahat uygulanabilmektedir. 1980'li yıllarda %10-20 mortalite oranlarından bahsedilirken (7); günümüzde teknolojik gelişmeler, tecrübe, preoperatif volümetrik analizler, postoperatif yoğun bakım şartlarının daha iyi olması sayesinde bu oran yeni yayınlarda 0 olarak verilebilmektedir (8). Artık majör rezeksiyonlar bile çok düşük morbidite ve mortalite oranları ile yapılabilmektedir. Kalan karaciğer dokusunun fonksiyonel ve rejeneratif kapasitesi postoperatif morbidite ve mortaliteyi engeller. Kalan doku yetersiz ise hastalarda postoperatif karaciğer yetmezliği gelişmektedir. Kalan doku ne kadar olursa yeterli olur bu konuda tartışmalar mevcuttur.

Amerikan Hepato-Pankreatiko-Biliyer Cerrahi derneği konsensus toplantısında kabul edilen görüş, normal karaciğerde %80 rezeksiyonun yapılabileceği, %20 remnant karaciğer dokusunun yeterli olduğudur. Siroz ve karaciğer yağlanması ise kalan karaciğer dokusunun %30 – 40 olması gerektiği önerilmektedir. Yapılacak rezeksiyonlarda daha az karaciğer kalacaksa gerekirse PVE (portal ven embolizasyonu) ile remnant karaciğer kütlesinin artırılması önerilmektedir (9).

Tüm bu majör cerrahi rezeksiyonların, PVE ile remnant karaciğer dokusunun artırılabilmesinin, canlı donör karaciğer transplantasyonlarının yapılabilmemesinin nedeni karaciğerin sahip olduğu eşsiz rejenerasyon yeteneğidir. Eski yunan mitolojisindeki hikayelerde bile karaciğerin bu eşsiz yeteneğinden bahsedilmektedir. Hem insan hemde hayvan karaciğerinde bu eşsiz özellik mevcuttur. Aslında bu tam olarak bir rejenerasyon olayı değildir. Rejenerasyon kelime anlamı olarak aynı dokunun yeniden oluşması olarak tarif edilmektedir. Karaciğer rejenerasyonunda ise durum biraz farklıdır. Rezeke edilen dokunun aynısının oluşmasından ziyade kalan karaciğerin fonksiyonlarını devam ettirecek kadar kompensatuvar olarak büyümesidir (10).

Normal bir karaciğerde hepatositlerin büyük bir kısmında bölünme görülmez. Fakat karaciğer rezeksiyonundan sonra sessiz halde duran

hepatositler bir veya iki kez bölünerek bu kompensatuar büyümeyi gerçekleştirirler (10). Rejenerasyon insanda 3. haftada başlar ve 4-5. ayda tamamlanır (11). Bu süreç sitokinlerin, büyüme faktörlerinin, metabolik faktörlerin ve bunların kendi aralarındaki etkileşimlerinin kontrolündedir (10). Bu karmaşık sürecin aydınlatılabilmesi ve etkili faktörlerin bulunabilmesi için birçok çalışma yapılmaktadır.

Karaciğer rejenerasyonunu araştıran çalışmalar etik nedenler ve zorluğu nedeniyle genelde hayvan modellerinde yapılmıştır. Teknik olarak kolay olup, daha rahat uygulanması nedeniyle de genelde sıçan modeli kullanılmaktadır. En popüler olanı, maksimum rejenerasyonu sağlayan Higgins ve Anderson'un (12) tanımladığı %70 hepatektomi modelidir. Bu modele göre sıçan karaciğerindeki median ve sol lateral loblar pediküllerinden bağlanıp eksize edilerek, yaklaşık olarak %70 hepatektomi yapılmaktadır. Normalde hepatositlerde hücre bölünmesi nadir görülür ve hücrelerin birçoğu G0 fazındadır. Hepatektomi sonrasında sıçan karaciğerinde normalde bölünmeden G0 fazında duran hepatositlerin %95'i hücre siklusuna girer. DNA sentezi rezeksiyondan sonra 12. saatte artmaya başlar ve 24. saatte maksimuma ulaşır (13). DNA sentezinin zamanı sirkadyen ritm nedeniyle etkilenebilir (14). Karaciğer kütleindeki artış 3. günde maksimuma ulaşır ve 7-10 günde tamamlanır (15).

Karaciğerin bu rejenerasyon yeteneği ve bunu etkileyen faktörlerin bulunması için birçok çalışma yapılmaktadır. Rejenerasyonu etkileyen biyolojik ve moleküler faktörler, hormonlar, sitokinler, sinyal iletim sistemleri araştırmacılar tarafından titizlikle araştırılmıştır. Bu sayede bu sürecin nasıl daha kısa hale getirilebileceği ve rezeksiyon sonrasında organizmanın postoperatif karaciğer yetmezliğinden nasıl korunabileceği anlaşılmasına çalışılmıştır.

Son yıllarda tüm dünyada ve ülkemizde de hastalıklar için bitkisel kaynaklı destek tedavilerin kullanılması artmıştır. Özellikle bir çok bitki ve bunların ekstreleri, belli hastalıklara iyi geldiği düşünülerek kullanılmaktadır. Birçoğu için yapılmış olan kontrollü çalışmalar olmamakla beraber ampirik olarak kullanılmaktadırlar. Enginar Türkiye'de yetiştirilebilen ve doğal olarak

yetişen çok yıllık bir otsu bitkidir. Halk arasında enginarın özellikle karaciğer koruyucu, safra söktürücü, karaciğeri yenileyici özellikleri olduğu söylenmektedir (16). Bu amaçla yapılmış olan sınırlı sayıda çalışmada enginarın karaciğerin rejenerasyonunu artırdığı, hepatositleri koruduğu gösterilmiştir. Antioksidan özellikleri olduğu da saptanmıştır.

1. Karaciğer Rejenerasyonu

Mitolojik yunan kaynaklarında bir Titan olan Prometheus'un ateşi çaldığı ve bunu insanlara verdiği için Zeus tarafından cezalandırıldığından bahsedilir. Bu duruma kızan Zeus'un Prometheus'u Kafkas dağlarının en yüksek noktasına zincirlediği ve her gün gelen kartalın karaciğerinden bir parça yediği, karaciğerin ertesi gün eski halini aldığından bahsedilir. Bu antik hikayede bile bahsedilen karaciğerin rejenerasyon kapasitesi yapılan bir çok çalışmada araştırılmıştır. Gerçek anlamda karaciğer rejenerasyon fikrini ilk kez Cruveilhier 1833'te ortaya atmıştır (17). Higgins ve Anderson'un (12) 1931 yılında yaptığı ve halen günümüzde kullanılan deneysel modelde de net olarak gösterilmiştir. % 70 parsiyel hepatektomi modeli önce sıçanlarda uygulanmış ve bu anlamda klasik hayvan modeli haline gelmiştir. Bugün bile rejenerasyonla ilgili yapılan deneysel çalışmalarda sıklıkla uygulanan yöntemdir. Sıçan karaciğerinin median ve sol lateral lobları vena cavaya yakın yerden bağlanarak eksize edilmiş ve remnant karaciğer dokusundaki büyüme gösterilmiştir. Karaciğerin yaklaşık 1 haftada eski boyutuna ulaştığı gösterilmiştir.

Karaciğer rejenerasyonu bilinen rejenerasyondan biraz farklıdır. Hasarlanan ya da rezeke edilen karaciğer lobları yeniden oluşmaz. Geride kalan karaciğer dokusundaki tüm matür hücre tiplerinin replikasyonunu içeren bir hiperplastik büyüme söz konusudur. Bu büyüme kompensatuar bir büyümedir ve oluşan doku organizma için yeterli hale geldiğinde proliferasyon durur (13). Normal bir rejenerasyonun aksine, burada etkili olan hücreler kök hücreler değildir. Kemik iliği kaynaklı kök hücreler bu olayda

%20 veya biraz daha fazla görev alırlar. Özellikle non parankimal hücrelerin ve endotelial hücrelerin rejenerasyonunda görevlidirler (18).

Karaciğerin en önemli hücre popülasyonu parankimi oluşturan hepatositlerdir. Karaciğerin yaklaşık % 80'ini oluştururlar. Bunun dışında %20'lik kısmını ise parankim dışı hücreler oluşturur. Bunlar Kupffer hücreleri (karaciğerdeki makrofajlar), Stellate hücreler (hepatik stromal hücrelerdir; büyüme faktörlerinin, ekstraselüler matrisin yapımından, ayrıca yağ ve yağda eriyen vitaminlerin depolanmasından sorumludurlar), lenfositler, endotelial hücreler ve kolanjiositlerdir (biliyer epitelyal hücreler) (13). Rejenerasyondan sorumlu olan esas hücreler hepatositlerdir. Normalde sağlıklı karaciğerde hepatosit replikasyon oranı çok düşüktür. Herhangi bir zamanda karaciğerde DNA sentezine giren hepatosit sayısı 1/1000'den daha azdır. Bu bazal replikasyon oranı, apoptoz nedeniyle oluşan doku kaybını dengelemek ve karaciğer kütlelerini korumak için yapılır (19). Karaciğerde bu replikasyon bütün bölgelerde eşit değildir. Özellikle periportal alanda daha fazla görülürken, venüllerin çevresinde daha az görülür (20). Periportal alanda bu proliferasyon oranının fazla olması ise, yapılan çalışmalarda esas olarak portal kan akımına bağlanmıştır (21).

Parsiyel hepatektomi ya da karaciğer hücre hasarından sonra hepatositler hızla DNA sentezine başlarlar. Sıçan modelinde 12 saat sonra DNA sentezi başlar ve 24 saatte maksimuma ulaşır. Bu süre türler arasında farklılık gösterebilir. Farede bu süre biraz daha uzundur yaklaşık 36 saattir (22). Endotelial hücreler ise 2-3 gün sonra proliferasyona başlar ve 5-7 günde tamamlanır. Stellate hücrelerin proliferasyonu ise tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (22). Tüm bu olaylar neticesinde sıçan karaciğeri 7. günde rejenerasyonunu hemen hemen tamamlamış olur. İnsan karaciğerinde ise durum biraz daha farklıdır. İnsanda bu aşama 2-3 hafta, tam olarak rejenerasyonun tamamlanması ise 3-5 ay sürer.

1.A. Karaciğer Rejenerasyonun Evreleri

Parsiyel hepatektomi sonrasında olan karaciğer rejenerasyonu 3 aşamada gerçekleşmektedir. Priming, proliferasyon ve terminasyon (23).

1.A.1. Priming Safası

Ateşleme veya başlangıç safası denebilecek bu aşamada G0 fazında sessiz duran hepatositlerin büyük bir kısmı hücre siklusuna girerek G1 fazına geçer. Daha sonra G1/S fazına geçerler. Karaciğer rejenerasyonundaki en kısa safadır. Rejenerasyonu tetikleyen mekanizmanın ne olduğunu öğrenmek için en çok araştırılan aşamadır (23). Bu aşamada birçok sinyal yolu ve doku fonksiyonları beraber çalışır. Hiç biri tek başına baskın rol oynamazlar (24). Bu aşamada 100'ün üzerinde gen karaciğerde üretilir. Birçoğu karaciğer rejenerasyonu için gereklidir (13).

Rejenerasyonun bu erken aşamasında ilk olan olay; %70 karaciğer hacmi çıkarıldığı için, kalan karaciğer dokusunun portal kan akımının artması ve yaklaşık 3 katına çıkmasıdır. Buna bağlı olarak da portal vendeki basınç ve stress artar. Bu da endotelial hücrelerden NO (nitrik oksid) salgılanmasına neden olur (25). NO rejenerasyon için gerekli faktörlerden biridir. Parsiyel hepatektomiden hemen sonra uPa (Urokinaz plazminojen aktivatör) ve onun reseptörü hepatositler tarafından üretilir. uPa hepatositler için potent bir mitojen olan HGF'yi (hepatosit growth faktör) aktif formuna dönüştürür (26). HGF hücre yüzeyinde met reseptöre bağlanır ve rejenerasyonu uyarır (23). Yine bu dönemde duodenumdaki Brunner salgı bezlerinden salgılanan EGF (epidermal growth faktör) portal sistemde artar ve rejenerasyonu pozitif yönde etkiler (27).

Rezeksiyondan 30- 60 dk. sonra retikuloendotelial sistem hücrelerinden IL-6 ve TNF α salgılanır. Bu sitokinler kendileri direkt olarak rejenerasyonu etkilemese de dolaylı olarak rejenerasyona pozitif katkıda bulunurlar. Bilinen mitojenik ajanlar olduğunda sinerjistik etki gösterirler (28). Bunun dışında birçok hücre içi sinyal iletim sistemi ve sitokin salınır. Stat3, NFkB(Nükleer faktör kappaB), MMP 9 (metalloproteinaz), cMet, insülin, norepinefrin vb. bir sürü hormon, sitokin ve hücre içi iletim sistemi bu dönemde aktive olur. Bu aşama sıçanlarda 12-18 saat kadar sürmektedir.

1.A.2. Proliferasyon Safası

Bu safada hepatositlerin DNA sentezi tamamlanır. Hücre siklusu tamamlanır ve hepatositler yeniden G0 fazına girerler. Hepatositlerin olduğu

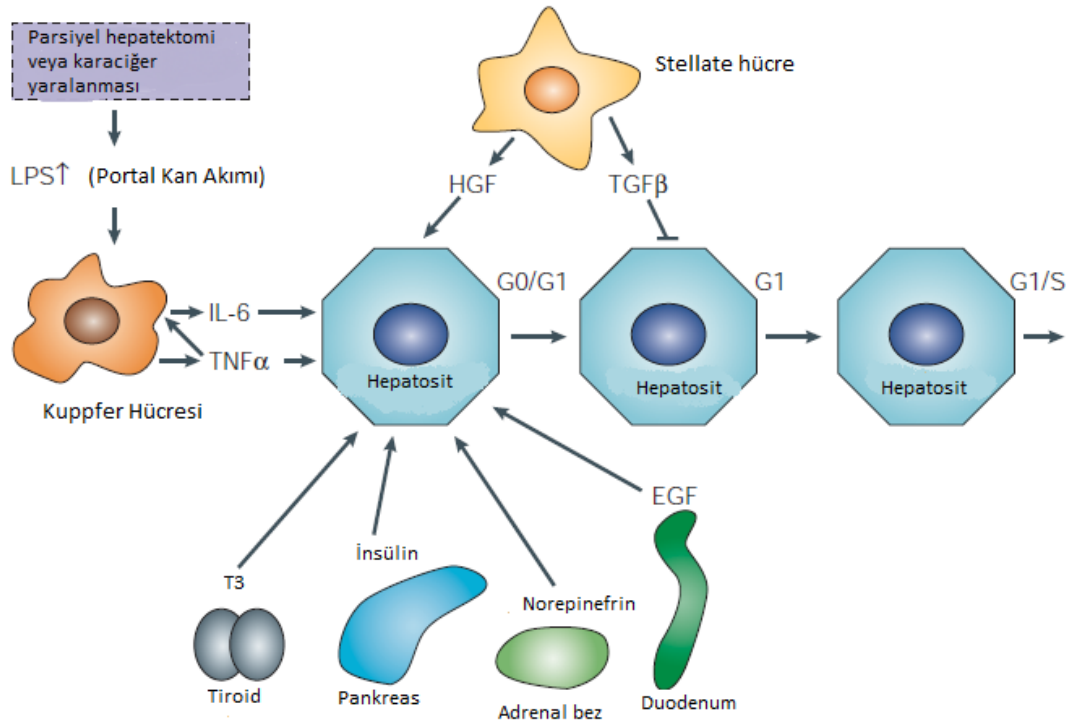
alan kalınlaşmaya başlar ve sinüsoidlere baskı yapmaya başlar. Parsiyel hepatektomiden 72 saat sonra sinüsoidal endotel hücrelerinin porları azalmaya başlar (29). Kolanjiositlerin replikasyonu 2-3. günlerde maksimuma ulaşır. Bu sırada başlangıç aşamasında çözülen hepatositler arasındaki sıkı bağlar yeniden oluşturulur. Böylece safra salgısı 3. gün yeniden başlar. Fakat safra yollarının yeniden eski güçlü ve olgun yapısına kavuşması 10. günde olur (30). 4. günde satellit hücreler ekstraselüler matriks proteinlerinin üretimini ve depolanmasını artırarak ekstraselüler matriksin oluşturulmasını tamamlarlar (31). Bu aşama rezeksiyon yada hücre hasarından sonraki 12-18. saatlerde başlar. Tam olarak tamamlanması 4. günde olur.

1.A.3. Terminasyon Safası

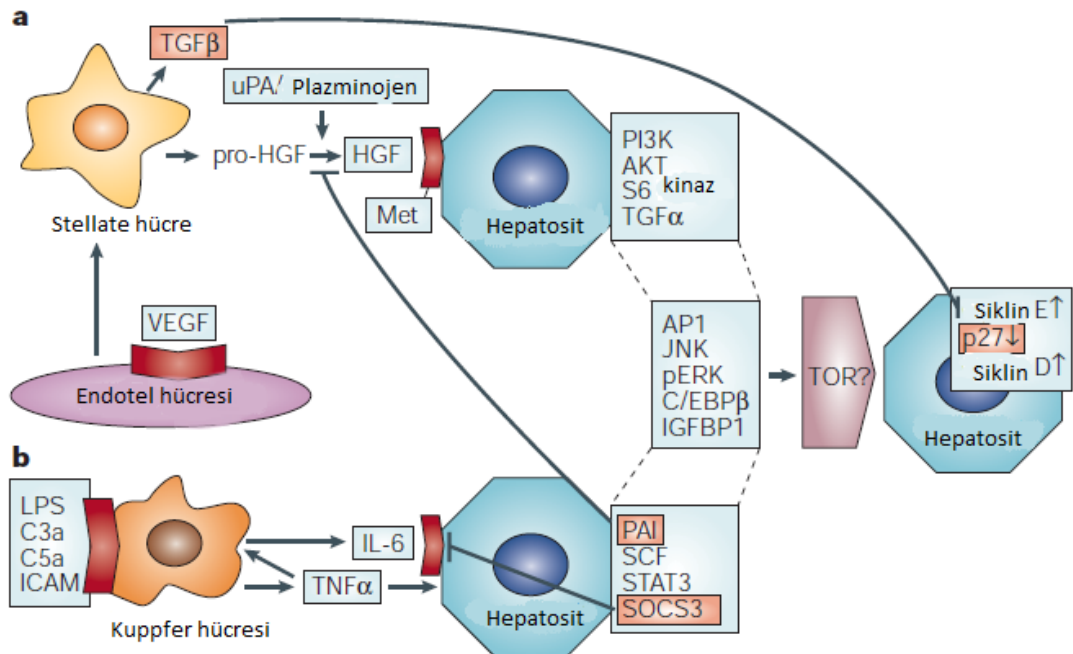
Bu safra inhibitör sinyaller ile rejenerasyonun tamamlanarak, hepatik hemostazın yeniden sağlandığı aşamadır. 4. günde başlar ve 7. gün ve sonrasında da devam eder (23). Bu aşamada etkili olan en önemli faktör bilinen en güçlü inhibitör olan TGF β 1'dir (Transforming Growth Factor β 1) (23).

1.B. Rejenerasyonda Etkili Olan Hormonlar, Sitokinler, Mediatörler

Rejenerasyon sonrasında karaciğerde birçok hormon, mediatör, sitokin ve büyüme faktörlerinin çalışmasıyla rejenerasyon düzenlenir. Hiç biri tek başına bu süreçten tamamıyla sorumlu değildir. Erken dönemde büyüme faktörleri ve sitokinler arasındaki ilişki tarafından rejenerasyon düzenlenir (Şekil-1, 2) (13).



Şekil-1: Parsiyel hepatektomi veya karaciğer hasarı sonrasında tetiklenen karaciğer rejenerasyonu (Taub R. 2004).



Şekil-2: a: HGF medyatorluğundeki yol, b: Sitokin medyatorluğundeki yol ve buna aracılık eden sinyal proteinleri (Taub R. 2004).

HGF: Karaciğer matriksinde diğer bulunduğu akciğer, plesanta ve beyine göre daha fazla bulunur. Ağırlıklı olarak satellit hücrelerden üretilir. Reseptörü cMet aracılığıyla etkilerini gösterir (32). Parsiyel hepatektomiden sonra plazmadaki seviyesi 10-20 kat artar. Hepatositlerde kültür ortamında da güçlü mitojenik uyarı oluşturur. Portal venden HGF verilen normal sıçanlarda hepatositlerde proliferasyon ve karaciğerlerinde genişleme görülmüştür (33). Karaciğerdeki HGF reseptörü olan cMet parsiyel hepatektomiden sonraki 30-60. dakikada aktive olur. cMet'in genetik olarak elimine edilmesiyle yapılan fare çalışmalarında karaciğer rejenerasyonun olmadığı veya çok eksik olduğu görülmüştür (34). Norepinefrin ve IL-6 yapımını artırır. Etkilerinin bir kısmını TGF α üretimini sitümüle ederek gösterir. Tüm bu nedenlerden dolayı HGF karaciğer rejenerasyonu için çok önemlidir. Karaciğer rejenerasyonunu başlatmadaki anahtar olarak görülebilirse, HGF'den önce de bir sürü olay olmaktadır. Günümüzde karaciğer rejerasyonuna liderlik eden ve başlatan tek bir olay olduğuna dair yeterli kanıt yoktur. HGF bunlar içinde bilinen en önemli faktörlerden birisidir (22).

EGF: Duodenumdaki Brunner bezlerinden ve tükrük bezlerinden ketakolaminlerin uyarısı ile üretilir (27). Hepatositler için kültür ortamında da güçlü mitojenik etkileri oluşu gösterilmiştir (22). EGF verilen normal hayvanlarda da hepatosit proliferasyonu görülmüştür (35)

TGF α : EGF reseptörü üzerinden etki göstermektedir. Hepatositlerden üretilir ve parsiyel hepatektomiden 2-3 saat sonra üretilmeye başlar. Hepatositler yanında endotel hücreler ve safra endotel hücreleri için de mitojeniktir (22).

TNF(Tümör nekrotizan faktör): .Birçok hücre ve dokuda etki gösterir. Karaciğerde Kuppfer hücrelerinden salınır. Genellikle promitojenik etkileri mevcuttur. Bu etkilerini NFkB aktivasyonu ile oluşturur (36). Rejenerasyon sırasında oluşan matriks yeniden yapılandırmasından sorumludur. TNF antikoru rejenerasyonu olumsuz yönde etkilemektedir. Hepatositler üzerinde direkt mitojenik aktiviteleri yoktur. Fakat hem in-vivo, hem de in-vitro çalışmalarda direkt mitojenik etkileri olan moleküllerin (örneğin HGF), etkilerini artırdığı gözlenmiştir (37).

IL-6: Kupffer hücreleri tarafından oluşturulur. Kendisi direkt olarak hepatositler için mitojen değildir. Biliyer epitel hücreleri için ise direkt mitojendir. Parsiyel hepatektomi sonrasında plazmadaki düzeyi artmaz. Gp130 reseptörü üzerinden etkilerini gösterir: IL-6 olmayan farelerde yapılan çalışmalarda rejenerasyonda gecikme saptanmıştır (38).

Norepinefrin: Santral ve periferik otonom sinir sisteminde bir nörotransmitterdir. Serbest sinir uçları ve adrenal medulladan salgılanır. HGF ve EGF'nin hepatositler üzerindeki mitojenik etkilerini artırır. Bilinen en güçlü karaciğer rejenerasyon inhibitörü olan TGF β 1'in de etkilerini azaltarak, rejenerasyona pozitif katkıda bulunur (22). Ayrıca duodenumdaki Brunner bezlerinden de EGF üretimini artırır (39).

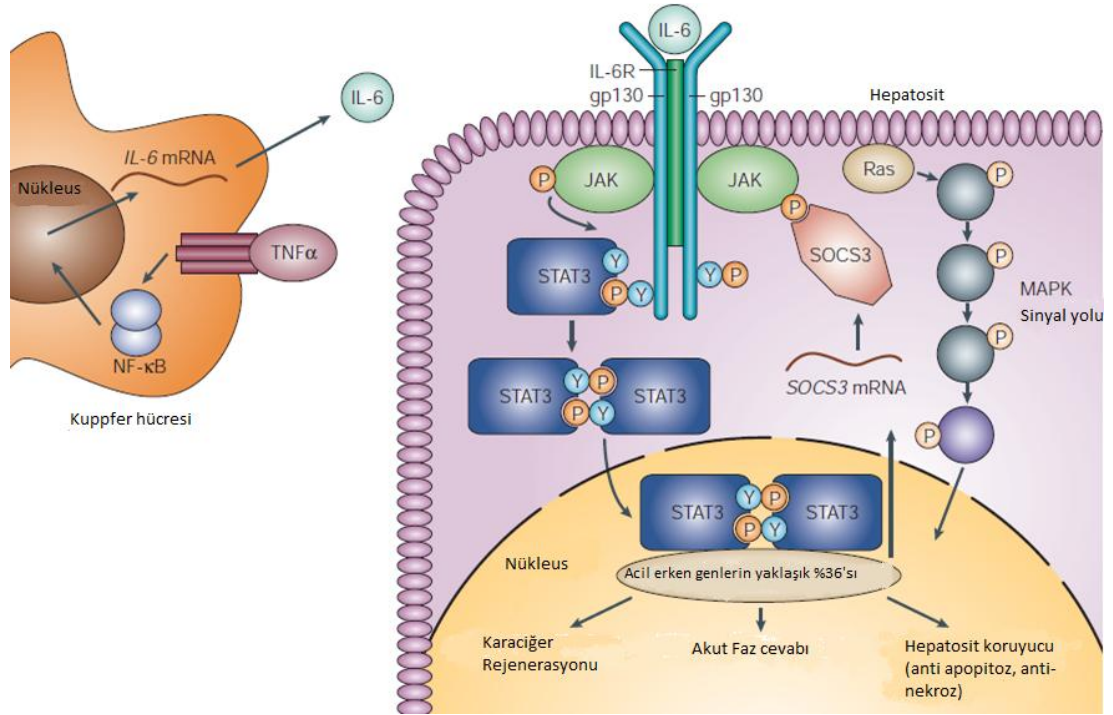
İnsülin: Kendisi hepatositler için direkt mitojenik değildir. Portosistemik şant yapılan deneysel çalışmalarda karaciğerde 1/3 oranında atrofi görülmüştür (40). Bu sıçanlarda karaciğere doğrudan insülin tedavisi uygulandığında hızla hepatosit proliferasyonu görülmüştür. Hücre kültüründe insülin olmaması, hepatositlerin büyüme faktörlerine verdiği cevabın azalmasına neden olmaktadır(41).

Kompleman sistemi: C3 ve C5 komplemanların eksik olduğu farelerde yapılan çalışmalarda parsiyel hepatektomi ve CCl₄(karbon tetra klorür) ile oluşturulan hasar sonrası karaciğer rejernasyonunda eksiklik gösterilmiştir (42). Mekanizması tam olarak bilinmemektedir.

TGF β 1: Ağırlıklı olarak karaciğer ito (satellit) hücrelerinden üretilir. Genel olarak anti mitojenik etkiye sahiptir. Ekstraselüler matriks proteinlerinin üretimini sitümüle eder. Hücre kültürü düzeyinde, hepatositlerdeki proliferasyonu inhibe eder (22). Ayrıca HGF üretimini baskılayarak ve ürokinaz aktivasyonunu baskılayarak da, HGF üzerinden rejenerasyonu inhibe eder (43).

Diğer etkili sistemler: Bunların dışında da birçok faktör karaciğer rejenerasyonun düzenlenmesinde görev almaktadır. Bunlar arasında VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü), T3 (triiodotironin), serotonin sayılabilir (22). Bunların dışında hücre içi sinyal iletiminde etkili birçok molekül, reseptör sistemleri ve bunların arasındaki karmaşık ilişki ile de hepatositlerde hücre

içinde rejenerasyon düzenlenir (Şekil-3)(13).



Şekil-3: IL-6 ve STAT3 geni aracılığıyla karaciğer rejenerasyonunun hücre içinde düzenlenmesi (Taub R. 2004).

1.C. Karaciğer Rejenerasyonunun Değerlendirilmesi

Karaciğer rejenerasyonunun değerlendirmesinde birçok metod kullanılmıştır. Ağırlık ölçümleri, immünohistokimyasal yöntemler, direkt ışık mikroskobu ile mitotik indeks bakılması gibi pek çok yöntem çalışmalarda kullanılmıştır.

PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) indeksi: 36 kDa moleküler ağırlığında bir proteindir. Siklin olarak da bilinir. Hücre siklusunun G1 ve S fazlarında sentezlenir. DNA (Deoksiribonükleik asit) polimeraz için kofaktör görevi gören bir proteindir ve iki formu vardır. Replikasyonda yer almayan çözünür formu ve çözünür olmayan DNA sentezi ile ilişkili formu ki, bu formu hücre nükleusunda bulunmaktadır. DNA sentezinin arttığı durumlarda, nükleusdaki ekspresyonunun artışı immünohistokimyasal olarak gösterilebilmektedir (44).

Rölatif karaciğer ağırlık formülü: Rejenerasyonu değerlendirmek için kullanılan formüllerden biridir. "100Xrejenerasyon sonrası çıkarılan

karaciğer ağırlığı-tahmini rezeksiyon sonrasında kalan karaciğer ağırlığı/baştaki toplam tahmini karaciğer ağırlığı” formülü kullanılarak hesaplanır. % olarak ifade edilir (45). Karaciğer rejenerasyon oranı olarak kullanılmaktadır.

BrdU (5-bromo 2-deoksiüridin): Yeni sentezlenen DNA'yı ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Bir timidin analogu olan BrdU hayvan sakrifiye edilmeden önce verilir. S fazındaki hücreler tarafından bu timidin analogu kullanılır. Bu molekülü DNA sentezinde substrat olarak kullanan hücreler antikor ile ya da floresan mikroskopi ile görünür hale getirilerek değerlendirilir. Hücre siklusunun S fazına spesifik olması ve retrospektif incelemeye olanak tanımaması nedeniyle kullanımı sınırlıdır (46).

Mitotik indeks: Rutin parafin doku takibine alınan karaciğer dokusundan kesitler alınır. Bunlar standart Hematoksilen-Eozin ile boyanır. Belli sayıda alan ışık mikroskopunda incelenerek, mitoz görülen hepatositlerin total hepatositlere oranı % olarak ifade edilir (47).

Ki-67 proliferasyon indeksi: 1983'de Gerdes ve ark. (48) tarafından hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan monoklonal antikorun insan dokusunda hücre proliferasyonunu göstermede güvenilir bir yöntem olduğu tariflenmiştir. Ki-67 proteini hücre siklusunun tüm aşamalarında tariflenmiştir. Hücre siklusu ilerledikçe antijen içeriği artar. G2-M evresinde maksimal seviyeye erişir. Ki-67 antijenine karşı tanımlanan monoklonal antikor ile hücre siklusunun G0 evresi hariç diğer tüm evreleri gösterilmiştir. Bu antikorun prognostik olarak korelasyon gösterdiği durumlar arasında non hodgkin lenfoma, yumuşak doku sarkomları, santral sinir sistemi tümörleri (glioma, oligodendrioglioma, pineoblastoma, primer sinir sistemi lenfoması ve nörofibroma), meme kanseri sayılabilir. Ki-67'nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece S evresinden ziyade, hücredeki siklusun tüm evrelerini gösterebilmesidir. Bu özelliği nedeniyle birçok çalışmada rejenerasyonu göstermek için proliferasyon indeksi olarak, Ki-67 monoklonal antikoru ile immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılmıştır (46, 49).

2. Biliyer Drenaj

Canlı donör karaciğer transplantasyonlarında ve kolanjioselüler karsinomlarda karaciğer rezeksiyonu ile beraber yapılabilir. Obstrüktif sarılıkta biliyer sistemin dekompresyonu, hiperbilürubineminin düzeltilmesi içinde PBD (preoperatif biliyer drenaj) sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Genellikle postoperatif komplikasyonların azaltılması için yapılır. Biliyer drenaj eksternal yapılabildiği gibi internalde yapılabilir. Gelişen teknoloji ve aletler sayesinde cerrahi gereksinimi olmadan, perkütan olarak ya da endoskopik olarak yapılabilir. Seçilmiş vakalarda ise halen cerrahi olarak uygulanmaktadır.

2.A. Perkütan Biliyer Drenaj

PTBD(perkütan transhepatik biliyer drenaj) endoskopi ya da floroskopi eşliğinde yapılabilir. Temel olarak yapılan işlem bir görüntüleme yöntemi kullanarak safra yollarının görünür hale getirilmesi, ardından kataterize edilmesidir.

Malign tümörlerde palyasyon ve tanı amaçlı, karaciğer transplantasyonunda, benign biliyer darlıklarda, kolanjitte, cerrahi öncesi biliyer sistemin dekompresyonu için, biliyer sistemin kaçaklarında(genellikle iatrojenik), obstrüktif biliyer sistem taşlarında, transplantasyon sonrası biliyer komplikasyonların tedavisinde kullanılabilen bir yöntemdir.

İşlem öncesi standart kan testleri ve özellikle pıhtılaşma parametrelerine bakılır. Sedasyon eşliğinde veya sedasyon olmadan supin pozisyonda hastalar masaya alınır. 21G bir ince iğne ile (chiba) genişlemiş sağ ya da sol safra yoluna subkostal alana yapılan batikonlu cilt temizliğinin ardından girilir. Günümüzde bu giriş kısmı da genellikle USG (Ultrasonografi) eşliğinde yapılmaktadır. Daha sonra safra yolu görünür hale geldikten sonra uygun kılavuz tel eşliğinde eğer yapılabiliyorsa internal- eksternal, yapılamıyorsa eksternal olarak drenaj katateri yerleştirilmektedir. Dışarıdaki kısmı bir torbaya bağlanarak drenaj sağlanır. Daha sonra sadece eksternal drenaj yapılmış olan vakalarda metal ya da plastik stentler (genellikle malign vakalarda) ile veya balon dilatasyonu (benign) ile darlık olan kısım açılmaya

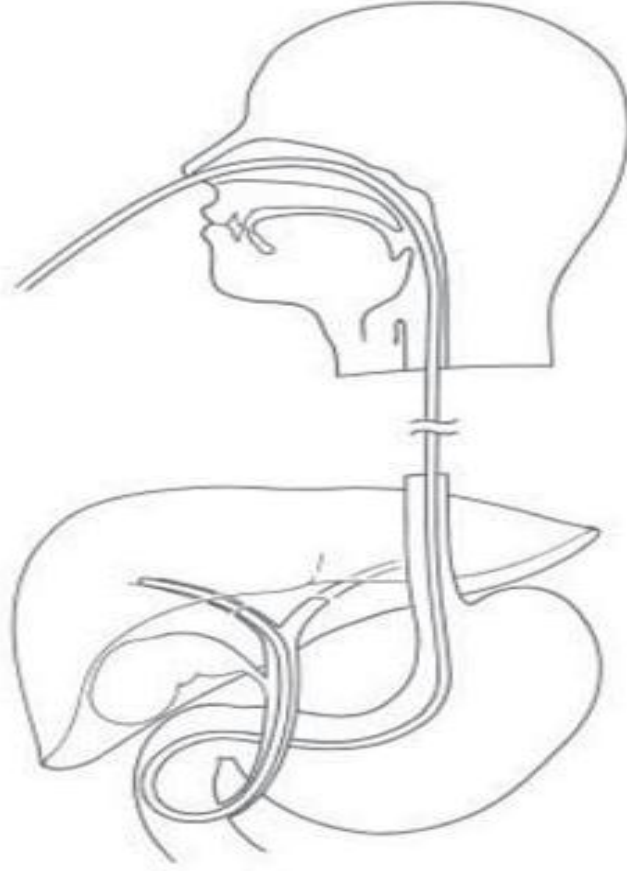
çalışılır (50). Yine bu şekilde, eğer varsa safra yolundaki taşlar da gerekirse kırılarak çıkarılabilir.

Özellikle karaciğerde safra yollarının anatomisi hakkında çok iyi bilgi veren bir yöntemdir. Endoskopik yonteme göre kolanjiyeluler kanserlerde, Klatskin tümörlerinde ve preoperatif kolanjitin tedavisinde daha iyi bir yöntemdir. Endoskopik yöntem proksimal kolanjikarsinomlarda kolanjit riskini artırırken, bu risk PTBD'da daha azdır (51).

2.B Endoskopik Biliyer Drenaj

En sık kullanılan biliyer drenaj yöntemidir. Malign ve benign biliyer darlıklarda kullanılabilen bir yöntemdir. Transpapiller biliyer drenaj temel olarak ERCP (Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi) ile papilin selektif olarak kanülasyonu ile yapılır. ERCP ile duodenumda papil görülerek kataterize edilir. Kontrast madde verilerek safra yolları görünür hale getirilir. Daha sonra sfinkteratom ile papil kesilir. EBD (endoskopik biliyer drenaj) iki şekilde yapılabilmektedir. Stentler ile internal olarak ya da ENBD (endoskopik nazobiliyer drenaj) şeklinde eksternal olarak yapılabilmektedir (52).

ENBD bir eksternal biliyer drenaj prosedürüdür. Burada 5-7 Fr bir tüp kullanılır. ERCP ile selektif kanülasyonun ardından kılavuz tel eşliğinden burundan girilerek kataterin diğer ucu koledoğa yerleştirilir (Şekil-4). Avantajları sfinkterotomiye ihtiyaç duyulmaması, drenaj kataterinin yıkanabilmesi olarak sayılabilir. Dezavantajı ise burundaki kataterin rahatsızlığı, yerinin değişmesi, elektrolit ve sıvı kaybıdır (52).



Şekil-4: ENBD'in şematik görüntüsü (Tsuyuguchi T ve ark. 2007).

ENBD diğer perkütan ve endoskopik yöntemlere göre hiler kolanjiyelüler kanserli hastaların preoperatif biliyer drenajında seçilebilecek en iyi yol olarak tanımlanmaktadır (53).

Endoskopik internal biliyer drenaj ise stent ile yapılmaktadır. Stentler metal ya da plastik olabilir. Burada ERCP ile selektif kanülasyonun ardından kılavuz tel üzerinden 7-10 Fr. stent yerleştirilmektedir. Dezavantajı stent için sfinkterotominin gerekli olması, stentin tıkanıp yer değiştirebilmesidir. Bazen sadece kanülasyon, ardından sfinkterotomi ile tıkanmış bir taş çıkarılarak da biliyer drenaj sağlanabilir (52).

Endoskopik olarak yeni bir yöntem ise EUS (endoskopik ultrasonografi) ile yapılan biliyer drenajdır. Bu yöntemde intrahepatik safra yollarına transözefageal, transgastrik ya da transjejunal yol ile; ekstrahepatik safra yollarına ise transduodenal ya da en sık olarak mide antrum kısmı

kullanılarak ulaşılır. Burada kanülasyon transgastrik olarak EUS yardımıyla yapıldıktan sonra kılavuz tel yollarır. Bu kılavuz tel distale ilerletildikten sonra rutin endoskopik biliyer drenaj işlemi uygulanır. Ya da o organa drenaj sağlanır. Koledokoduodenal, gastrohepatik drenaj sağlanır. Özellikle ERCP ile papil kanüle edilemeyen durumlarda kullanılabilen bir yöntemdir (54).

2.C.Cerrahi Biliyer Drenaj

Endoskopik veya perkütan yolla drenaj yapılamadığı durumlarda ve bazı özel durumlarda cerrahi olarak biliyer drenaj uygulanabilir. Bu drenaj yöntemleri arasında t-tüp drenaj, koledokojejunostomi, koledokoduodenostomi, hepatikojejunostomi kolesistostomi, malign vakalarda gerekirse Whipple operasyonu, canlı donör karaciğer transplantasyonu yapılan hastalardaki eksternal drenaj yöntemleri sayılabilir. Bu yöntemlerle internal veya eksternal olarak biliyer drenaj yapılabilir. Günümüzde perkütan ve endoskopik yöntemdeki gelişmeler nedeniyle artık daha az uygulanmaktadırlar.

Canlı donör karaciğer nakillerinde en sık görülen komplikasyon biliyer komplikasyonlardır. Bu komplikasyonları engellemek ya da olduğunda müdahalenin kolay olması için t-tüp drenaj ya da operasyon masasında perkütan olarak transplante edilecek karaciğere perkütan biliyer drenaj uygulanabilen yöntemlerdir (55). Bu sayede ileride olacak biliyer problemlerde müdahale etmek kolaylaşmaktadır.

3. Enginar

Latince adı Cynara Scolymus L. olan bir bitkidir. Asteraceae familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir. Boyu 2 metreye kadar uzayabilir. Mavi-mor renkli çiçekleri mevcuttur (Resim-1). Baş kısmında yeşil dikenli yaprakları bulunur. Baş kısmı sebze olarak kullanılmaktadır.

Enginar tarihi Yunan mitolojisine kadar uzanmaktadır. Cynara Zinari adasında yaşayan genç ve güzel bir kadındır. Zeus kardeşi denizler tanrısı Poseidon'u ziyarete gittiğinde onu görür. Tanrılardan korkmayan bu kızıdan hoşlanır, onla birlikte olur ve onu tanrıça yapar. Olimpos'ta yaşamaya

başlarlar. Cynara ailesini özlediği için Zeus'tan izinsiz dünyaya gider. Zeus bu duruma çok kızar ve Cynara 'yı cezalandırır. Onu dünyaya bir bitki olarak geri gönderir. Bu bitki bugün bizim bildiğimiz ismiyle enginar'dır. Eski Roma ve Yunanlılar tarafından da bilinen bir sebzedir.

Günümüzde Akdeniz bölgesinde, Amerika'da California'da yetiştirilmektedir. Türkiye'de İzmir, Bursa ve Yalova civarında yetiştirilmektedir. Geçici bir bitkidir. Mayıs, Haziran aylarında olgunlaşır. Taze ve konserve olarak tüketilen bir sebzedir. Aynı zamanda yaprak ekstraları da doğal kaynaklı ilaç takviyesi olarak kullanılan bir bitkidir.



Resim-1: Enginar bitkisi.

3.A. İçerdiği Aktif Bileşikler

Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında kimyasal olarak polifenol türevleri, mono ve dicaffeoylquinic asitler ve flavanoidlerin majör bileşenleri olduğu görülmüştür (56, 57). Özellikle enginarın lif ekstraları geleneksel tıp uygulamalarında bitkisel kaynaklı ilaç olarak kullanılmaktadır. İçerdiği bileşiklerin kuvvetli antioksidan özellikleri mevcuttur (58). İçerdiği antioksidan bileşiklerden bazıları (58):

- Luteolin-7-O- β -glucopyranoside (cynaroside)
- Luteolin-7-O-R-L-rhamnosyl(1f6)- β -glucopyranoside (luteolin-7- rutinoside)

- 1-Caffeoylquinic acid
- 1,3-dicaffeoylquinic asit (Cynarin)
- Apigenin 7-rutinoside
- Narirutin
- Klorojenik asit

3.B. Biyolojik Aktivitesi ve Çalışmalarda Kullanılması

Anadolu'da enginarın %2-3 lük çözeltileri iştah açıcı, diüretik ve safra salgısını artırıcı olarak kullanılır. Yapraklarından hazırlanan ekstreleri ise karaciğer hastalıklarında kullanılmaktadır. Afrodisyak etkili olduğu düşünülerek eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Genel olarak zehirli bileşikler taşımazlar (59).

Enginar ve ekstrelerinin safra salgısını artıran (60), antimikrobiyal (61), antioksidan (62, 63), karaciğer hasarından koruyucu olarak (64, 65), antihiperlipidemik (66, 67), karaciğer rejenerasyonunu artıran (68) özellikleri olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Zhu XF ve ark'nın (61) yaptığı çalışmada enginar lif ekstresindeki fenolik bileşiklerin antimikrobiyal özellikleri test edilmiştir. İzole edilen 8 adet fenol bileşiğinin hepsinin kullanılan mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle Klorojenik asit, cynarin, luteolin-7-rutinoside, and cynaroside'de bu etkinin daha belirgin olduğu belirtilmektedir. Ayrıca antifungal özelliklerinin antimikrobiyal özelliklerine göre daha belirgin olduğu görülmüştür.

Antioksidan etkileri olduğu in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (62, 63). Enginar yaprak ekstreleri primer kültür sıçan hepatositleri kullanılarak, hidroperoksit nedenli oksidatif strese karşı test edilmiş ve koruyucu olarak bulunmuştur (62).

Enginarın karaciğer hasarından koruyucu etkileri olduğu yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bazılarında ise böyle bir etki saptanmamıştır. Yapılan bir çalışmada CCl₄ (karbon tetra klorür) ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı etkileri araştırılmış. Sıçanlara 2 hafta boyunca gavaj ile enginar lif ekstresi yüksek dozda verildikten sonra CCl₄ ile karaciğer hasarına uğratılmış. Enginar ekstresi verilen grupta oksidatif stresle ilişkili hepatosit

hasarının daha az olduğu gösterilmiştir (64). İzole sıçan hepatositleri ile yapılan başka bir çalışmada ise bu etkinin daha çok içeriğindeki cynarin tarafından gösterildiği saptanmıştır (65). R. Huber ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise kronik Hepatit C olan 17 hastaya 12 hafta süreyle 3200 mg standardize enginar lif ekstresi verilmiştir. ALT'nin normale dönmesi primer parametre olarak kullanılmıştır. 12 haftalık tedavinin sonunda kontrol grubuna göre ekstre verilen grupta anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (69).

Antihiperlipidemik etkilerine bakıldığında yapılan bir çalışmada enginar ekstre tozu sıçan hepatositlerinde insülinin uyardığı HMGCöA redüktaz aktivitesi üzerindeki etkisini araştırılmak üzere hepatositlere inkübe edilmiştir. Yaprak ekstresi HMGCöA redüktaz enzimini kuvvetli şekilde inhibe etmiştir. Bu etkisiyle kolesterol biyosentezini doğrudan değil, ama dolaylı olarak azalttığı gösterilmiştir (66). Klinik olarak yapılan randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada ise total kolesterol değerleri >280 mg/dl olan 143 hastaya 6 hafta süreyle 1800 mg kuru lif ekstresi verilmiş. Sonuçta plaseboya göre anlamlı olarak kolesterol seviyelerini düşürdüğü görülmüştür (67).

Maros T ve ark.'nın (68) 1968 yılında yaptığı çalışmada; enginar yaprak ekstresi verilen sıçanlarda özellikle 3 ve 7. günlerde karaciğer rejenerasyonun, verilmeyenlere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı özellikle canlı donör karaciğer transplantasyonu ve kolanjiyelüler karsinomlarda eş zamanlı uygulanabilen biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonuna etkisini modellemektir. Daha önceki yapılan sınırlı çalışmada eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonunu olumsuz etkilediği gösterilmişti. Ayrıca halk arasında geleneksel tedavi edici özelliği olduğu düşünülen ve karaciğer hastalığı olanlara önerilen enginarın da karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkısı olduğu düşünülüyordu. Enginarın karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkileri olduğunu gösteren çok sınırlı kaynak vardı. Yapılan o çalışmalarda da şu anda insanların bitkisel takviye olarak kullandığı lif ekstresi kullanılmamıştı. Enginarın, şu anda bitkisel takviye olarak aktarlarda satılan lif ekstresinin karaciğer rejenerasyonuna

olumlu katkısı olup olmadığını araştırmak istedik. Amacımız eğer böyle bir etki varsa ve özellikle biliyer drenajın olumsuz olduğunu düşündüğümüz etkilerini azaltabiliyormu bunu incelemek istedik. Kısaca amaçlarımız;

1. Biliyer drenaj karaciğer rejenerasyonunu gerçekten olumsuz etkiliyor mu?
2. Enginarın düşünüldüğü gibi karaciğer rejenerasyonunu artırıcı etkisi var mı?
3. Verilecek bu enginar ekstresi ile biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonuna olası olumsuz etkileri azaltılabilir mi?

Bu sayede hastalara uygulanan biliyer drenaj yönteminde gerekirse değişiklik nerebileceğiz. Hastalara bilimsel temellere dayanarak bitkisel kaynaklı ürün kullanmalarını nerebileceğiz.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 14/2/2012 tarih, 2012 – 02/08 no'lu izni ile yapıldı.

Çalışmamız Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Merkezden temin edilen ağırlıkları 200-250 gr arasında, 8-10 haftalık, 48 adet dişi Sprague-Dawley tipi sıçan kullanıldı. Sıçanlar çeşme suyu ve standart laboratuvar yemi ile beslendi. 12 saatlik aydınlık–karanlık sikluslarında, tekli kafeslerinde ve oda sıcaklığında tutuldular. Denekler her grupta 12 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldılar.

Grup 1: Eksternal biliyer drenaj yapılan grup.

Grup 2: Enginar ekstresi verilen grup.

Grup 3: Eksternal biliyer drenaj yapılan ve enginar ekstresi verilen grup.

Grup 4: Kontrol grubu.

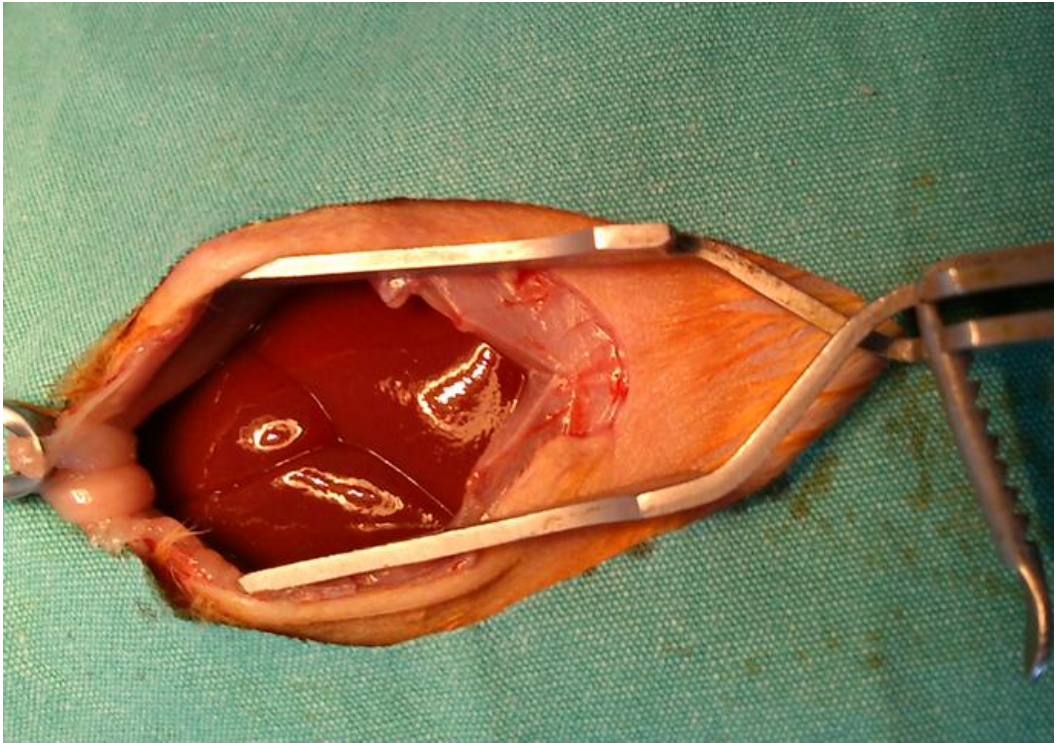
Grup 2 ve 3 teki sıçanlar cerrahi işlemden 2 gün öncesinden, ticari olarak aktarlarda satılan enginar lif ekstresi (MNK-Aygül İtiryat) ile beslenmeye başladılar. Enginar lif ekstresi 30 mg/kg dozunda 1 ml serum fizyolojik içinde sulandırıldı. Günlük tek doz olarak orogastrik sonda ile gavaj şeklinde verildi. Bu işleme sıçanlar sakrifiye edilinceye kadar devam edildi.

1.Anestezi ve Cerrahi Teknik

Günlük değişen rejenaratif cevabın etkisine engel olmak için cerrahi işlemler günün ilk yarısında yapıldı. Steril olmayan temiz şartlarda çalışıldı. Anestezi % 3'lük sevoflurane ile sağlandı. Sıçanların karın orta hattı tıraş edildikten sonra povidon iyot ile saha temizliği yapıldı (Resim-2). 2,5 – 3 cm lik orta hat insizyonu yapıldı. Batın içi ve karaciğeri daha iyi explore edebilmek için otomatik ekartör yerleştirildi (Resim-3).



Resim-2: Sıçanın karın orta hattının traş edilip daha sonra povidon iyot ile saha temizliğinin yapılması.

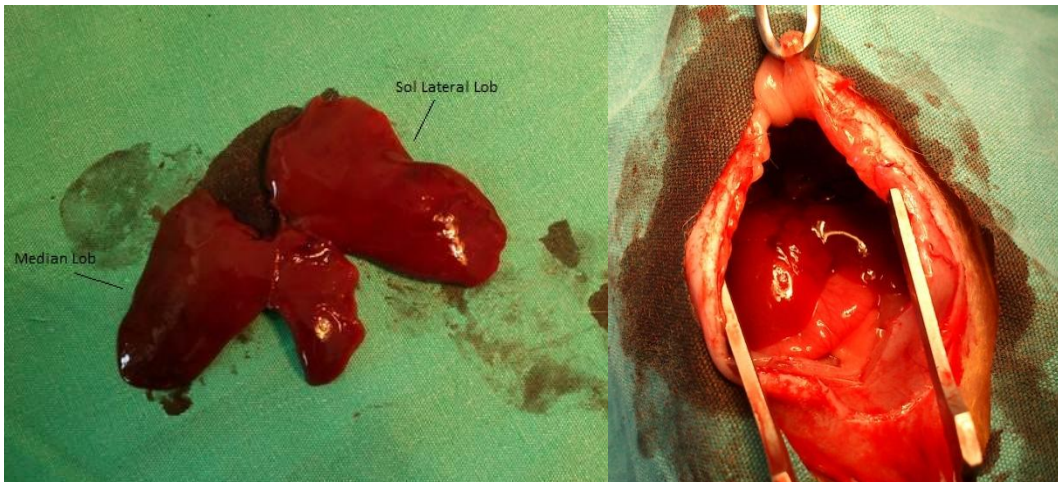


Resim-3: Karaciğerin otomatik ekartör ile eksplorasyonu.

Median lob ve sol lateral lob falsiform, gastrokolik ve diğler ligamanları kesilerek mobilize edildi ve batın dışına alındı. Higgins ve Anderson'un (12) tanımladığı şekilde pedikülleri 4/0 ipek ile bağlandı (Resim-4). Daha sonra bu loblar eksize edildi (Resim-5). Yaklaşık olarak %70 hepatektomi yapılmış oldu.

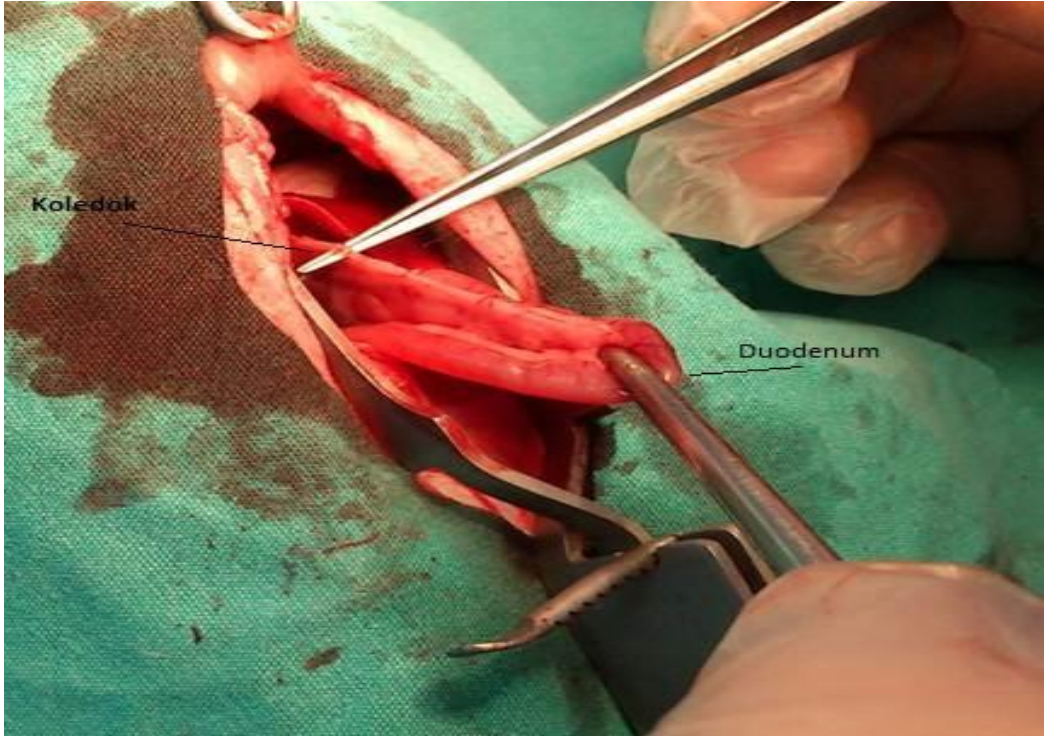


Resim-4: Karaciğler median lob ve sol lateral lobun batın dışına alınıp pediküllerinin bağlanması.

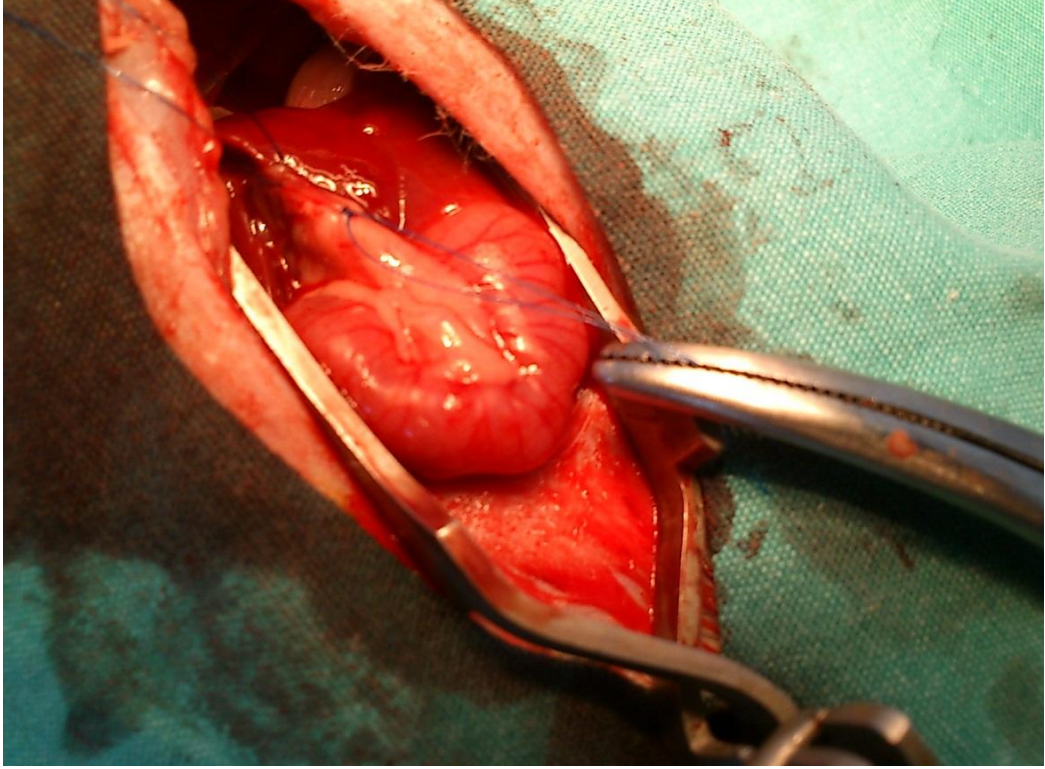


Resim-5: Eksize edilen karaciğler lobları ve geride kalan karaciğler dokusu.

Eksternal biliyer drenaj yapılan gruplarda daha sonra duodenum çekilerek koledok görünür hale getirildi. Etraf dokudan koledok keskin diseksiyonla ayrılarak pankreatik kanal birleşim yerinin hemen proksimalinden askıya alındı (Resim-6). Pankreatik kanal korunarak koledok 6/0 prolen ile bağlandı (Resim-7).

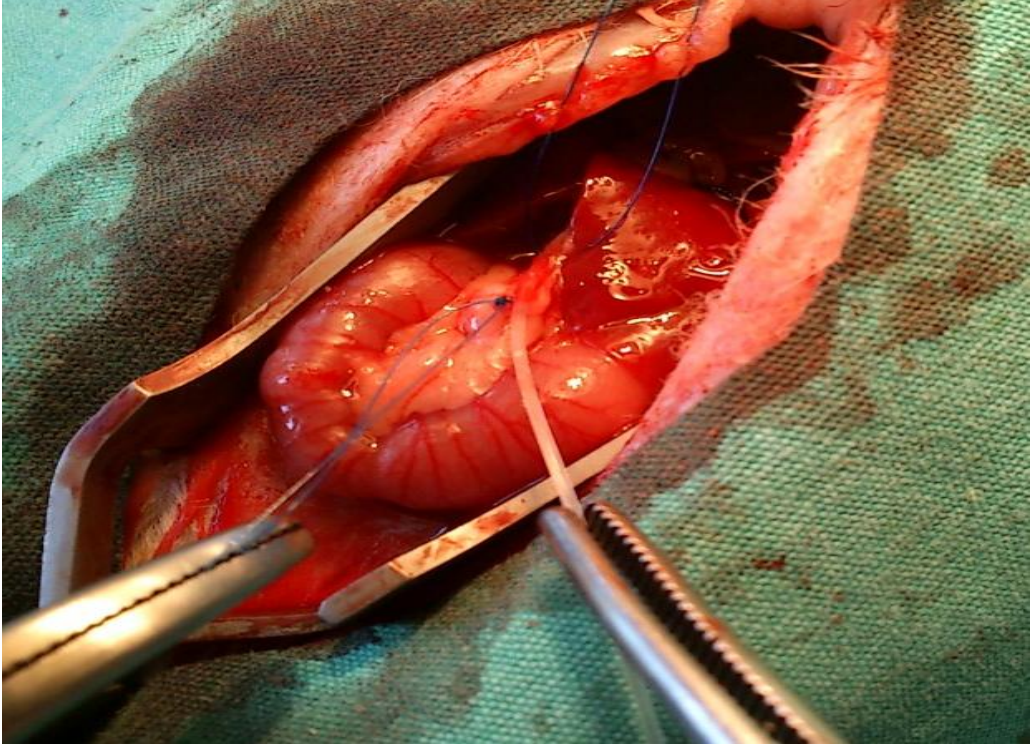


Resim-6: Koledoğun diseke edilip askıya alınması.

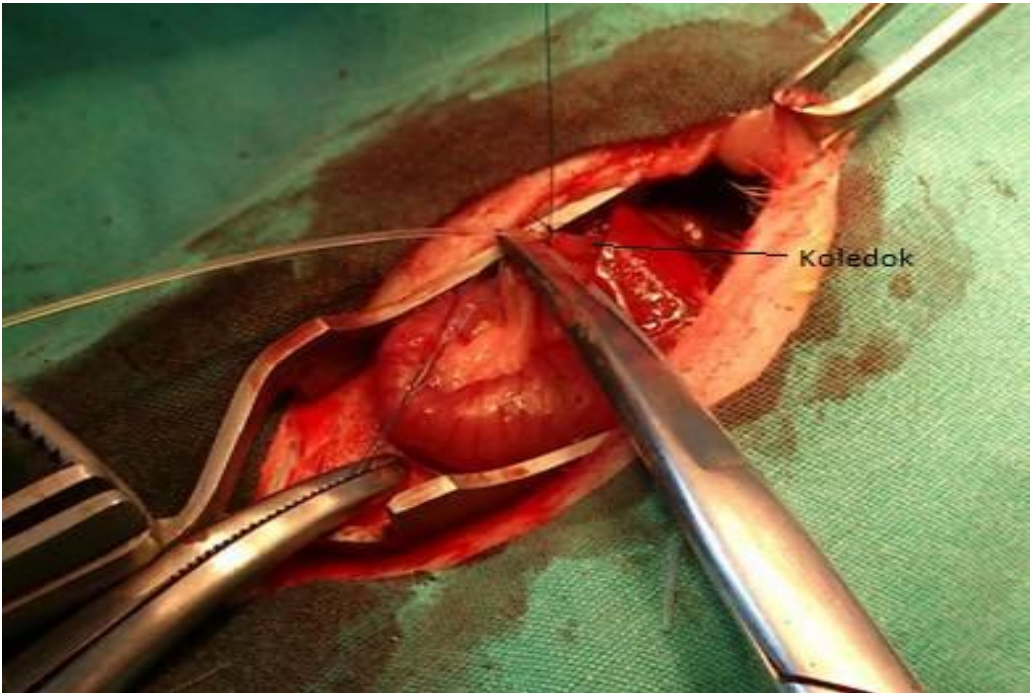


Resim-7: Koledoğun pankreatik kanalın hemen üzerinden bağlanması.

Koledok cut-down tekniğine uygun olarak PE-10 katater kullanılarak kataterize edildi (Resim-8). İlk askıya alınan 6/0 prolene suture ile koledok katater üzerinden bağlandı. Böylece katater tespit edilmiş oldu (Resim-9).



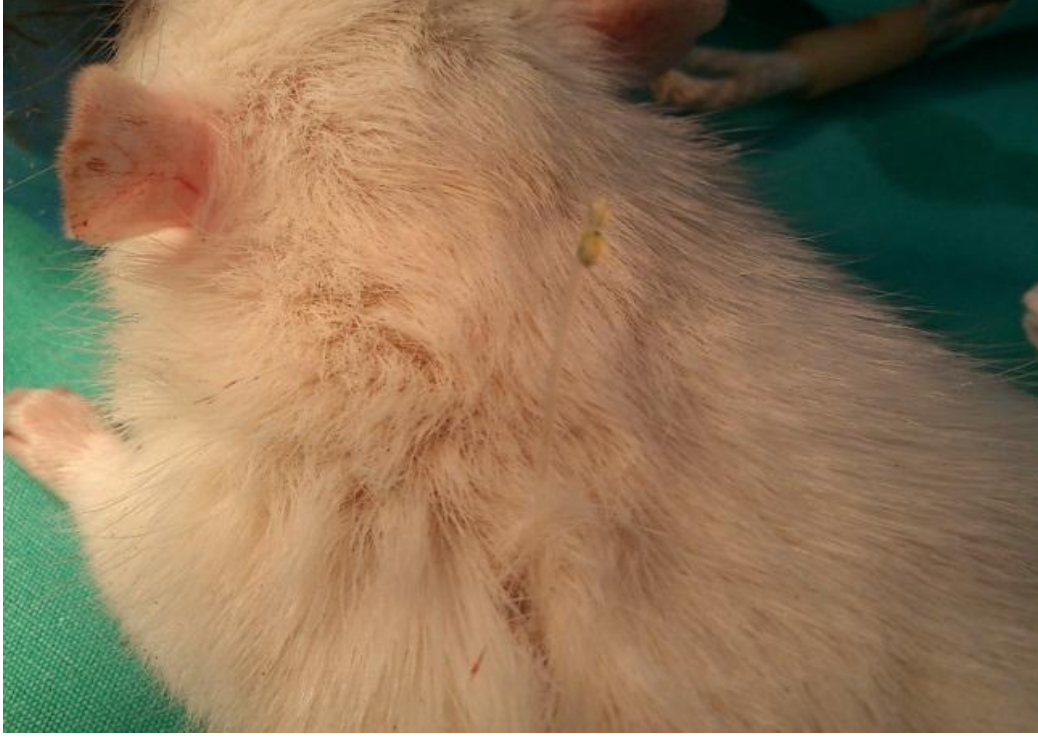
Resim-8: Koledoğun kataterize edilmesi.



Resim-9: Kataterin koledoğa tespit edilmesi.

Katater önce karında kaslar geçilerek cilt altına alındı. Daha sonra cilt altı

tünelizasyon ile sıçanın ense bölgesinden cilt dışına alındı. Burada cilde 5/0 prolen ile tespit edildi ve serbest drenaja bırakıldı (Resim-10).



Resim-10: Kataterin sıçanın ense bölgesinden çıkarılması ve serbest drenaja bırakılması.

Karın orta hat 4/0 ipek ile çift kat devamlı sütürlerle kapatıldı. Sırt bölgesinde cilt altına 10 ml serum fizyolojik verildi. Cerrahi işlem sonrasında tüm denekler tekli kafeslere alındılar. Enginar lif ekstresi verilen gruptardaki sıçanlara enginar ekstresi her gün aynı saatte tek doz olarak oragastrik gavaj şeklinde verildi. Denekler sakrifiye edilinceye kadar bu işleme devam edildi. Biliyer drenaj yapılan sıçanlara safra ile kaybettikleri sıvı için her gün 5 ml serum fizyolojik deri altına verilerek kayıpları karşılandı.

Her gruptan 6 adet sıçan postopertaif 3.günde, 6 adet sıçan ise postoperatif 7.günde sakrifiye edildiler. Sakrifiye edilmeden önce ketamin HCL (Ketalar) 40mg/kg anestezisi altında deneklerin batın orta hattı yeniden açıldı. Geride kalan ve rejenere olan karaciğer dokuları eksize edildi (Resim-11). Rejenerasyonu değerlendirmek için immünohistokimyasal inceleme yapılmak üzere çıkarılan dokular %10'luk formalinli kaplara alındılar.



Resim-11: Rejenere olan karaciğer dokusu.

2. İmmünohistokimyasal ve Histolojik İnceleme

İmmünohistokimyasal değerlendirme için preparatlar Bursa Adenom patoloji laboratuvarında yapıldı. Histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış formalinde dokular tespit edildi. Ki-67 ekspresyonunu belirlemek amacı için parafin bloklardan 3 mikrometre kalınlığında hazırlanan kesitler 'Poly- L-Lysine' li lamlara alındı.

Ki-67 (Biocare-SP6-USA) kullanıma hazır rabbit monoklonal antikoru ile immunohistokimyasal boyama prosedürü uygulandı. Poly- L-Lysine'li lama alınan dokular etüvde bütün gece 37 derecede bırakıldı. Deparafinizasyon amacıyla 2 kez 15'er dakika ksilende ve 2 kez 15'er dakika %96 alkolde bekletildi. Akan çeşme suyunda yıkama işlemi yapıldı. Rehidratasyon için 5 dakika distile suda bekletildi. 72cc distile suya 8cc citrate buffer solüsyonu konularak 80cc' lik antijen retrieval solüsyonu hazırlandı. Lamlar plastik şalelerde antijen retrieval solüsyonu ile birlikte 600watt da solüsyon kaynayana kadar (3-4 dk), daha sonra de-frost (130watt) ayarında 5'er

dakikadan toplam 15 dk, aralarda solusyon seviyesi kontrol edilip, azaldığında ilave edilerek solüsyona tabi tutuldu. Mikrodalgadan çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 20 dakika tutulduktan sonra distile su ile 5dk yıkandı.

375 cc distile su üzerine 25 cc Phosphate Buffered Saline solusyonu ilave edilerek 400 cc PBS (phosphate buffer saline) solüsyonu elde edildi. Endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için %3'luk hidrojen peroksit ile 20 dakika inkübe edildi. Kesitler önce çeşme suyu, sonra distile su ve en son PBS solüsyonunda 5'er dakika yıkandı. Streptoavidin-biotin boyama tekniği kullanılarak süper blokda 10 dakika bekletildikten sonra PBS solüsyonunda yıkanmadan Ki-67 monoklonal antikoru damlatılarak oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edildi. Antikor inkübasyonundan sonra 5'er dakikadan 2 defa PBS solüsyonunda yıkama işlemi yapıldı. SensiTek HRP (Anti-Polyvalent) solüsyonlarında 15'er dakika inkübe edildi. Her aşama sonunda yıkama için PBS kullanıldı.

DAB substrate ile 10 dakika boyanma işleminde arada kontrol edilerek çekirdeklerin kahverengi renkte boyanması sağlandı. Çeşme suyunda 5 dakika yıkama işlemi yapıldı. İşlemler sonunda rutin boyama işlemleri olarak hematoksilin ile 1 dakika boyandı. Çeşme suyunda 5 dakika yıkama işlemi yapıldı. Dokuların dahada morlaşıp belirginleşmesi için PBS solüsyonunda 5 dakika yıkanıp tekrar çeşme suyu ile yıkandıktan sonra 15 dakikadan 2 defa %96'lık alkolde bekletildi. Daha sonra 15 dakikadan 2 defa Klisende bekletilip entellam ile kapatma işlemi yapılarak preperatlar hazırlandı. Ayrıca her dokudan rutin Hematoksilin-Eozin boyama ile preperatlar hazırlandı.

Ki-67 proliferasyon indeksi belirlenirken 400X büyütmede çalışıldı. Boyanma heterojen olduğu için her denek için rastgele 5 saha seçildi. Bu sahalardaki ki-67 ile pozitif boyanan hepatositlerin toplam hepatositlere oranı belirlendi. Her sıçan için böylece toplam 1000 adet hepatosit sayıldı. Sonuçlar % olarak belirlendi.

Mitotik indeks sayılırken yine 400 X büyütmede çalışıldı. Her sıçan için preperatta rastgele 5 alan seçildi. Mitozda olan hepatositler belirlendi.

Mitotoik indeks her 250 hepatosit için hesaplandı.

3. İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Gruplar arasında farklılığı oluşturan grubun tespitinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Mikroskopik incelemede rutin hematoksilen eozin boyamada, hepatosit sitoplazmalarında vakuoler dejenerasyon, özelleşmiş doku makrofajları olan Kupffer hücrelerinde aktivasyon görüldü. Megalositozis, multinükleasyon, nekrobiozlar, mitotik figürler görüldü. Tüm bu değişiklikler rejeneratif durumlar ile uyumlu bulundu. Birkaç prepatta kiernan aralıklarında mononükleer hücre infiltrasyonları da gözlemlendi.

Rejenerasyonu değerlendirmek için Ki-67 ve Mİ (mitotik indeks) sayıldı. Her bir denek için 40X büyütme altında 5 saha incelendi. Sonuçlar tablolar halinde aşağıda verilmiştir.

Tablo-1: %70 hepatektomi yapılan kontrol grubundan 3 gün sonra elde edilen Ki-67 ve mitotik indeks sonuçları.

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	55,63	4,4
2	67,09	4,6
3	30,18	3
4	62,45	3,2
5	24,45	1,6
6	54,36	3

Tablo-2: %70 hepatektomi yapılan kontrol grubundan 7 gün sonra elde edilen Ki-67 ve mitotik indeks sonuçları

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	4,72	0,6
2	1,27	0
3	2,45	0,4
4	5,45	1,4
5	4,09	0,4
6	4,9	0,6

Tablo-3: %70 hepatektomi ve enginar ekstresi verilen gruptan 3 gün sonra elde edilen Ki-67 ve mitotik indeks değerleri.

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	37,81	1,8
2	29,45	1,8
3	27,27	1,6
4	30,27	1,6
5	57,6	3,2
6	31,09	1,8

Tablo-4: %70 hepatektomi ve enginar ekstresi verilen gruptan 7 gün sonra elde edilen Ki-67 ve Mİ değerleri

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	9,18	1,8
2	5	0,6
3	4,36	0,2
4	13,9	1,4
5	3,45	0,2
6	8	0,8

Tablo-5: %70 hepatektomi ile beraber eksternal biliyer drenaj yapılan gruptan 3 gün sonra elde edilen Ki-67 ve mitotik indeks değerleri.

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	68,01	3,4
2	51,45	3
3	33,18	1
4	27,45	0,4
5	74,27	4,6
6	63,36	3

Tablo-6: %70 hepatektomi ile beraber eksternal biliyer drenaj yapılan gruptan 7 gün sonra elde edilen Ki-67 ve mitotik indeks değerleri.

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	3,81	0,8
2	5,18	0,8
3	4,09	1,4
4	8,9	0,4
5	11,18	1,8
6	4,72	0,6

Tablo-7: %70 hepatektomi + biliyer drenaj yapılan ve enginar ekstresi verilen gruptan 3 gün sonra elde edilen Ki-67 ve mitotik indeks değerleri.

Denek	Ki-67	Mitotik indeks
1	51,81	3,6
2	43,36	4
3	71,36	3,2
4	21,18	1,6
5	23,18	3,6
6	38,72	3,4

Tablo-8: %70 hepatektomi + biliyer drenaj yapılan ve enginar ekstresi verilen gruptan 7 gün sonra elde edilen Ki67 ve mitotik indeks değerleri.

Denek	Ki-67	Mitotik İndeks
1	4,18	0
2	8,45	0
3	11,45	2,4
4	8,09	0,4
5	4,18	0,2
6	2,18	0,2

1.3. Gün Sonuçları

Ki-67 değerlerine baktığımızda 3. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Kontrol grubuna göre enginar ekstresi verilen grupta ortalama Ki-67 değerleri daha düşük olarak bulundu. Fakat bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi ($p=0,394$).

Eksternal biliyer drenaj yapılan grupta ise kontrol grubuna göre ortalama Ki-67 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,589$).

Eksternal biliyer drenaj yapılan gruba göre eksternal biliyer drenaj ile beraber enginar ekstresi verilen grupta ortalama Ki-67 değerleri daha düşük olarak bulundu fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi ($p=0,240$).

Mİ değerlerine baktığımızda bu değerlerde Ki-67 değerleri ile farklılık göstermiyordu. Bu verilerde de 3. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

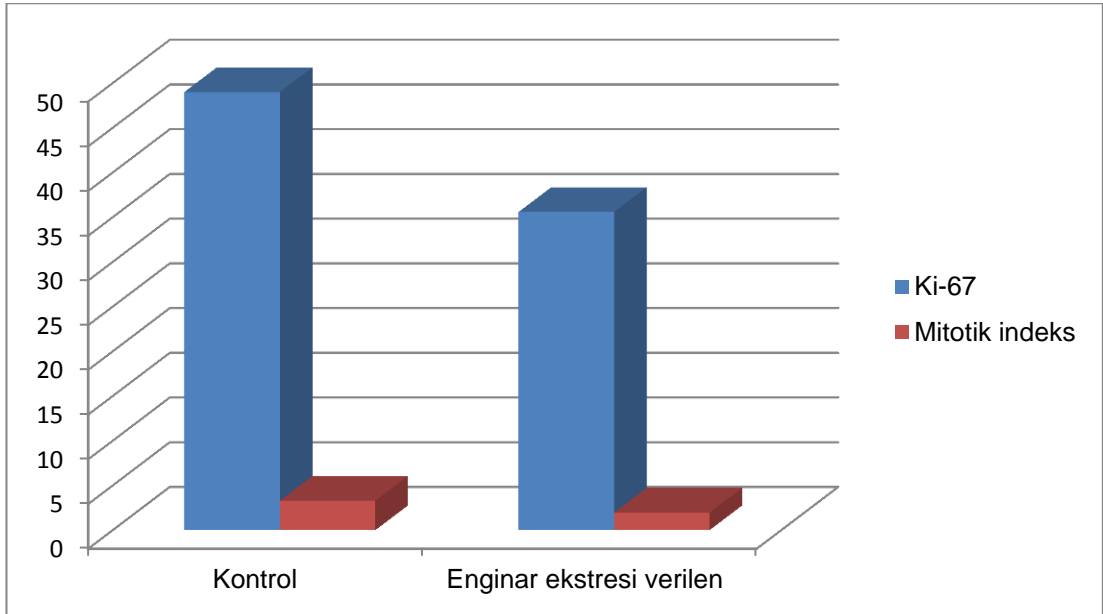
Kontrol grubuna göre enginar ekstresi verilen gruptaki ortalama Mİ değerleri daha düşüktü. Ama istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,093$).

Kontrol grubuna göre eksternal biliyer drenaj yapılan gruptaki ortalama Mİ değerleri daha düşüktü fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,485$).

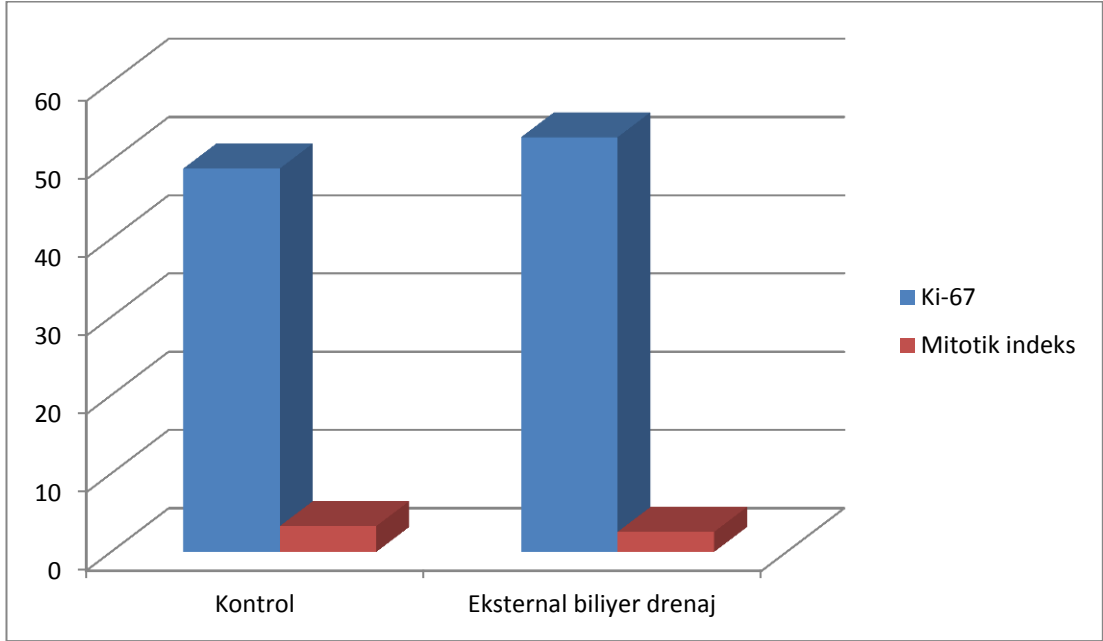
Eksternal biliyer drenaj yapılan gruba göre eksternal biliyer drenaj ile beraber enginar ekstresi verilen grupta ortalama Mİ değerleri biraz daha yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,240$).

Sonuç olarak 3. gün verilerine göre eksternal biliyer drenajın ve enginar ekstresinin karaciğer rejenerasyonuna istatistiksel olarak anlamlı, olumlu ya da olumsuz etkisi görülmedi.

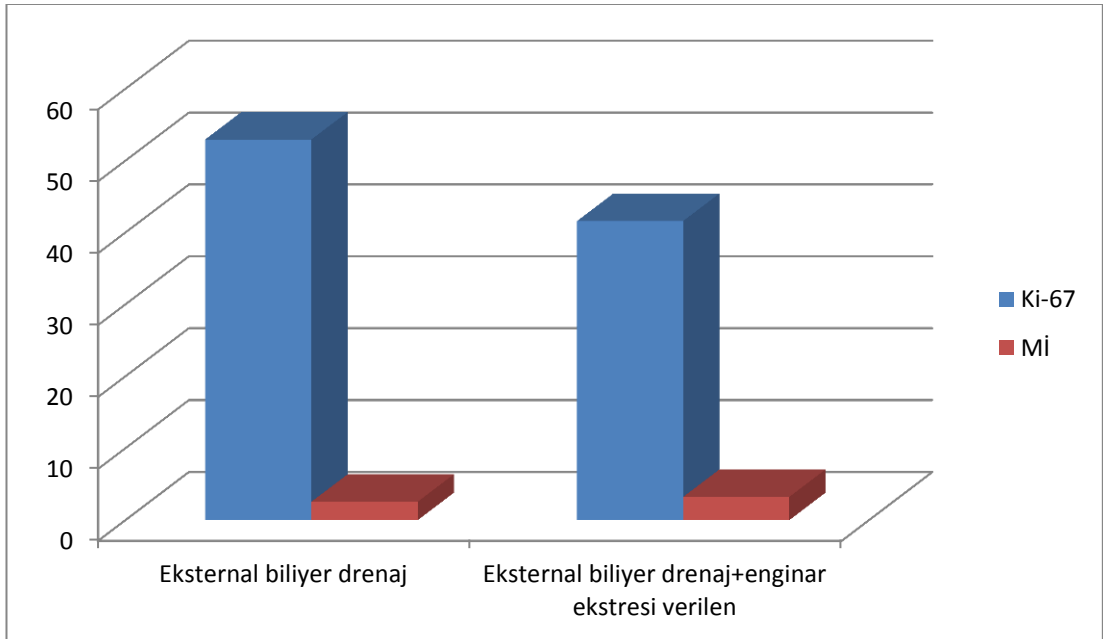
Tablo-9: Enginar ekstresi verilen grup ile kontrol grubunun 3. gün karşılaştırılması (Ki-67, $p=0,394$; mitotik indeks, $p=0,093$).



Tablo-10: Kontrol grubu ile eksternal biliyer drenaj grubunun 3. gün karşılaştırılması (Ki-67,p=0,589; mitotik indeks, p=0,485).



Tablo-11: Eksternal biliyer drenaj ile eksternal biliyer drenaj ile beraber enginar ekstresi verilen grubun 3. gün karşılaştırılması (Ki-67, p=0,394; mitotik indeks, p=0,24).



2. 7. Gün Sonuçları

Ki-67 değerlerine baktığımızda 7. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Kontrol grubuna göre enginar ekstresi verilen gruptaki ortalama ki-67 değerleri biraz daha yüksek bulundu fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,132$).

Eksternal biliyer drenaj yapılan gruptaki ortalama ki-67 değerleri ile kontrol grubundaki değerler arasında 7. günde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,310$).

Eksternal biliyer drenaj yapılan grup ile eksternal biliyer drenaj yapıp enginar ekstresi verilen grup arasında 7. günde ki-67 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=1$).

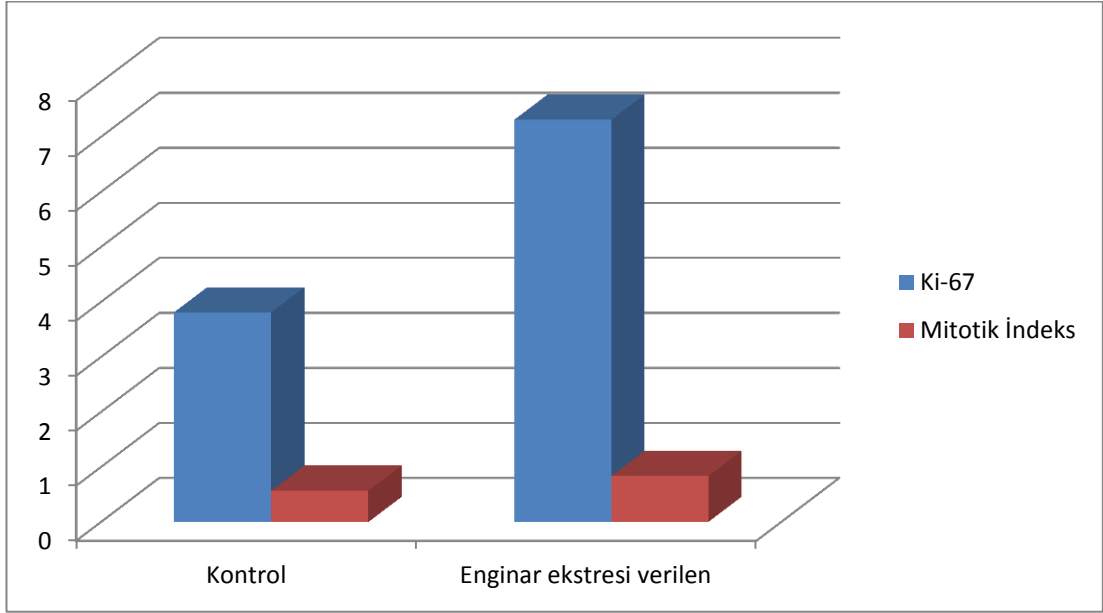
Mİ değerleri açısından da 7. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Kontrol grubuna göre enginar ekstresi verilen grup arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0,485$).

Eksternal biliyer drenaj grubundeki ortalama Mİ değerleri ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,132$).

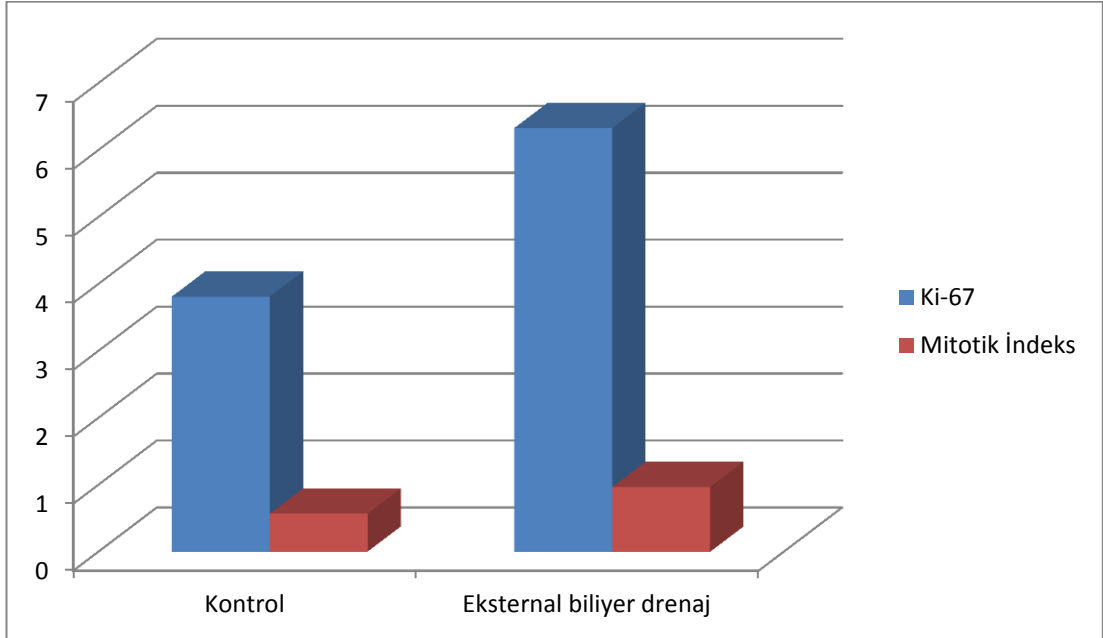
Eksternal biliyer drenaj yapılan gruptaki ortalama Mİ değerleri ile eksternal biliyer drenaj yapıp enginar ekstresi verilen grup arasında da anlamlı farklılık yoktu ($p=0,065$).

Sonuç olarak 3. gün gibi 7. günde de eksternal biliyer drenajın ve enginar ekstresinin karaciğer rejenerasyonuna istatistiksel olarak anlamlı olumlu ya da olumsuz etkisi görülmedi.

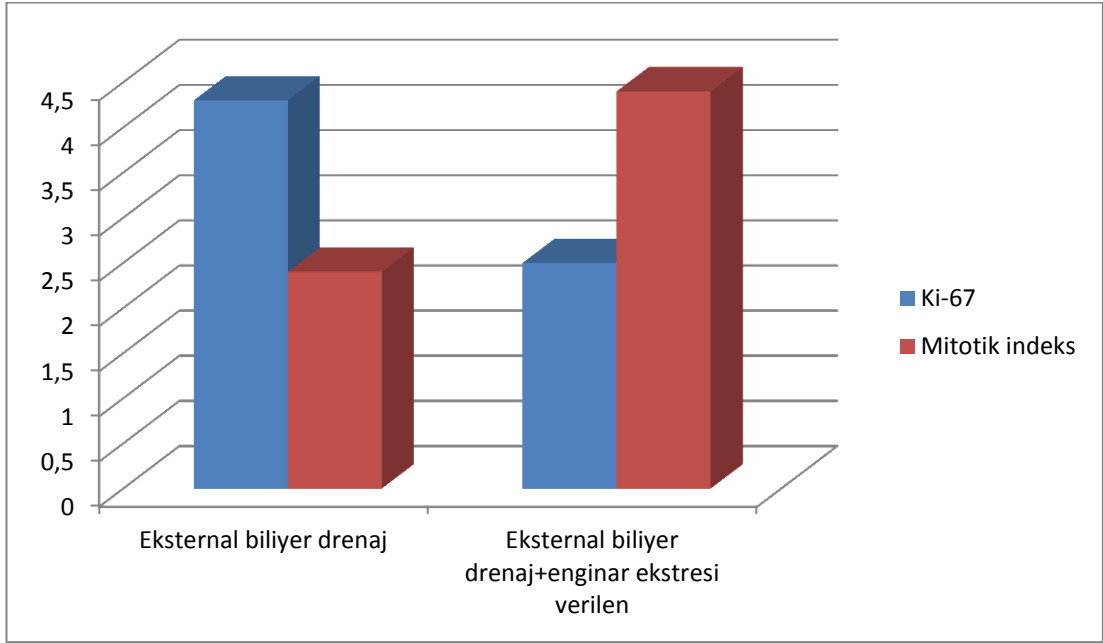
Tablo-12: Kontrol grubu ile enginar ekstresi verilen grubun 7. gün karşılaştırılması (Ki-67, $p=0,132$; mitotik indeks, $p=0,485$).



Tablo-13: Kontrol grubu ile eksternal biliyer drenaj yapılan grubun 7. gün karşılaştırılması (Ki-67, $p=0,31$; mitotik indeks, $p=0,132$).



Tablo-14: Eksternal biliyer drenaj ile eksternal biliyer drenaj+enginar ekstresi verilen grubun 7. gün karşılaştırılması (Ki-67, p= 1; mitotik indeks, p=0,065).



Grupların kendi içinde 3 ve 7 gün sonundaki Ki-67 ve Mİ değerleri karşılaştırıldığında ise 7. günde rejenerasyon hızının 3. güne göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı saptandı. 7. günde rejenerasyon hemen hemen tamamlandığı için bu sonuç ise literatürle uyumlu olarak bulundu.

Tablo-15: Ki-67 değerlerinin grup içi 3. ve 7. gün karşılaştırılması.

	Kontrol		Enginar ekstresi verilen		Eksternal Biliyer drenaj		Eksternal biliyer drenaj+Enginar ekstresi verilen	
	Ortalama	S.D	Ortalama	S.D	Ortalama	S.D	Ortalama	S.D
3. gün	49,02	17,53	35,58	3,90	52,95	19,14	41,6	18,74
7. gün	3,81	1,61	7,31	3,90	6,31	3,01	6,42	3,47
Grup içi p	P=0,002		P=0,002		P=0,002		P=0,002	

Tablo-16: Mitotik indeks değerlerinin grup içi 3. ve 7. gün karşılaştırılması.

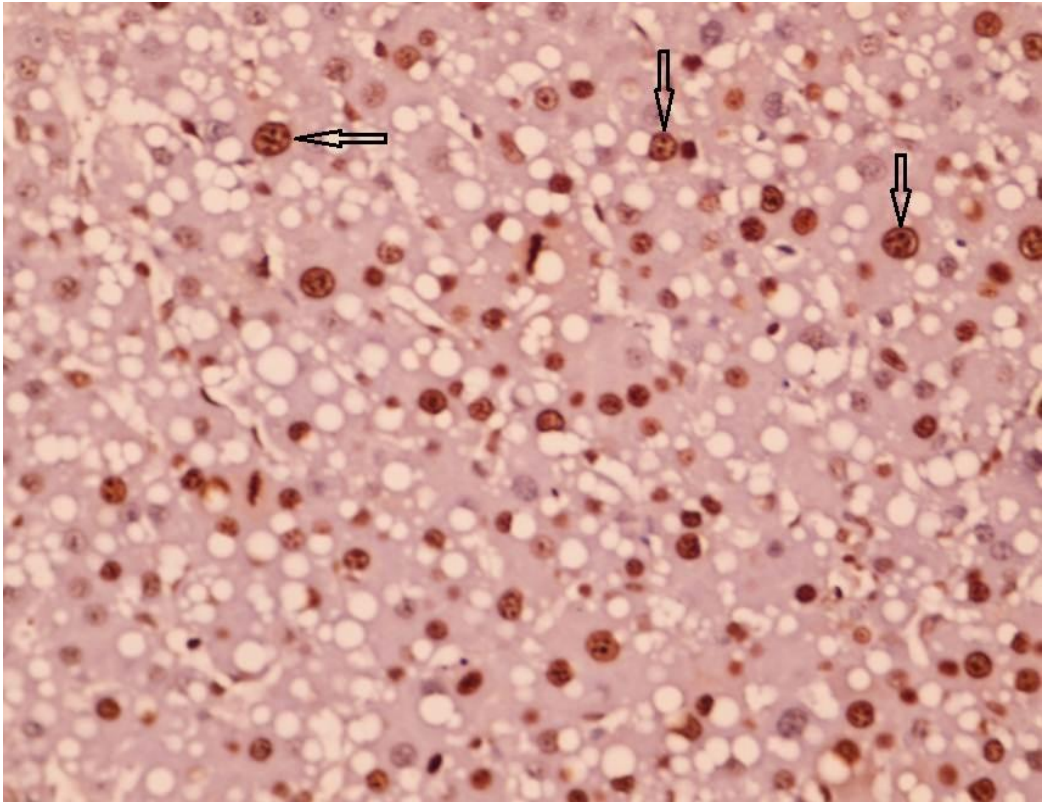
	Kontrol		Enginar ekstresi verilen		Eksternal Biliyer drenaj		Eksternal biliyer drenaj+Enginar ekstresi verilen	
	Ortalama	S.D	Ortalama	S.D	Ortalama	S.D	Ortalama	S.D
3. gün	3,3	1,09	1,96	0,61	2,56	1,57	3,32	0,84
7. gün	0,56	0,46	0,83	0,65	0,96	0,52	0,53	0,92
Grup içi p	P=0,002		P=0,009		P=0,093		P=0,004	



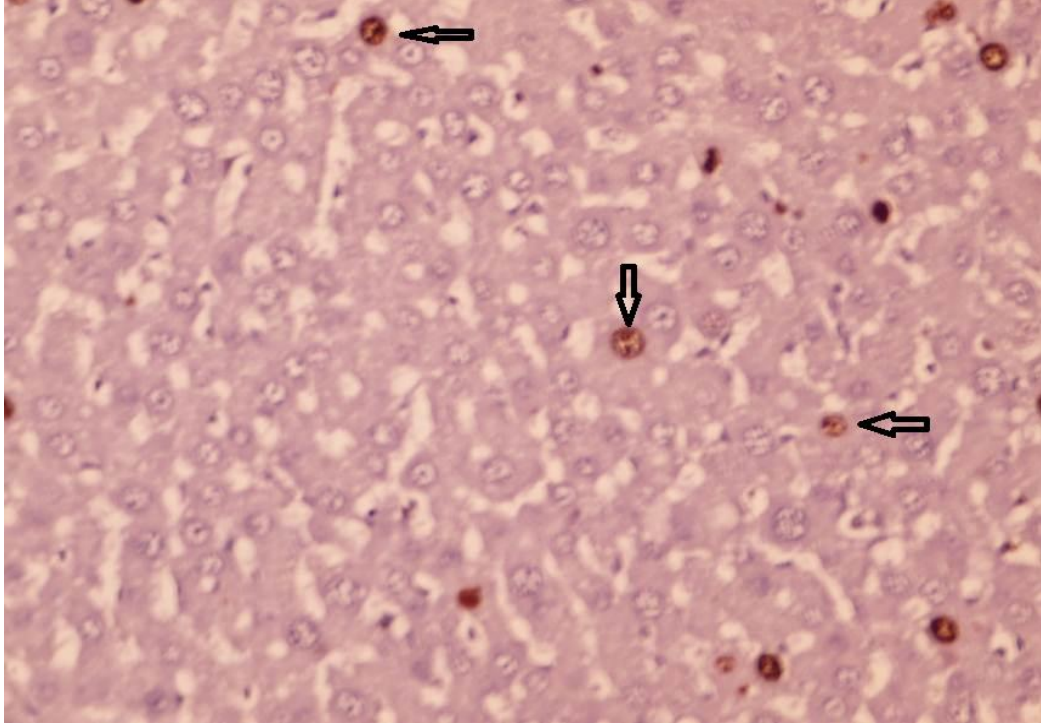
Resim-12: Rezeksiyon sonrası kalan karaciğer lobları.



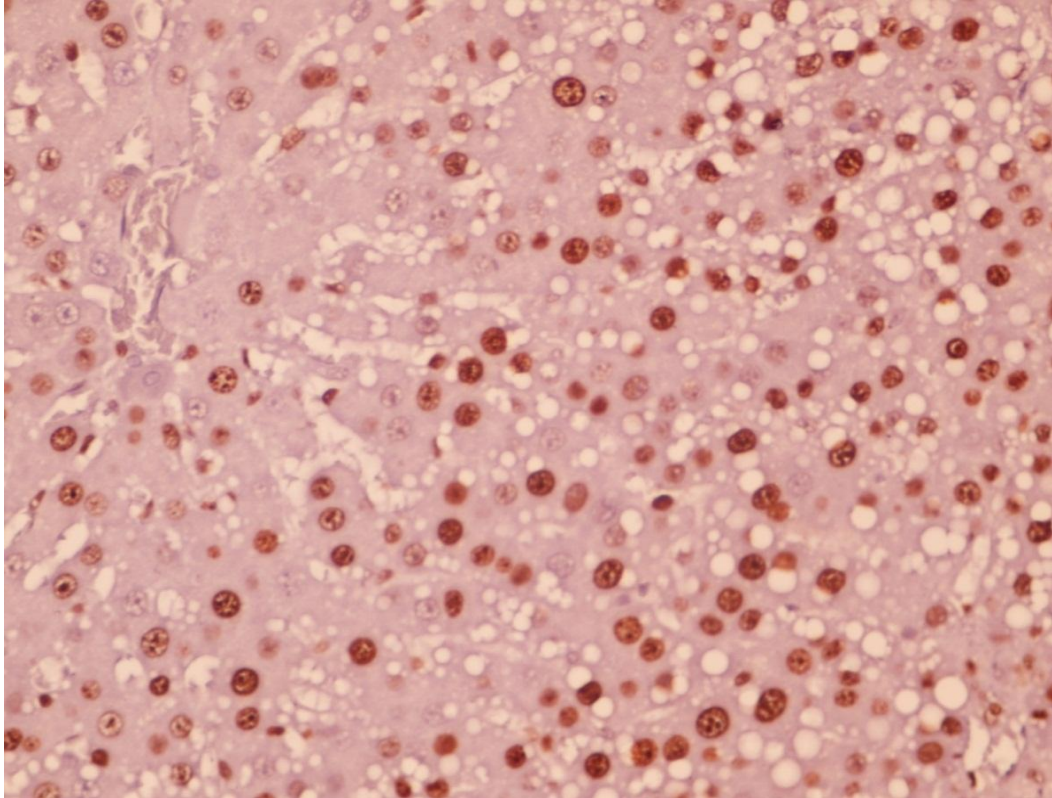
Resim-13: Kalan karaciğer dokusunun 3. gün rejenere olmuş hali.



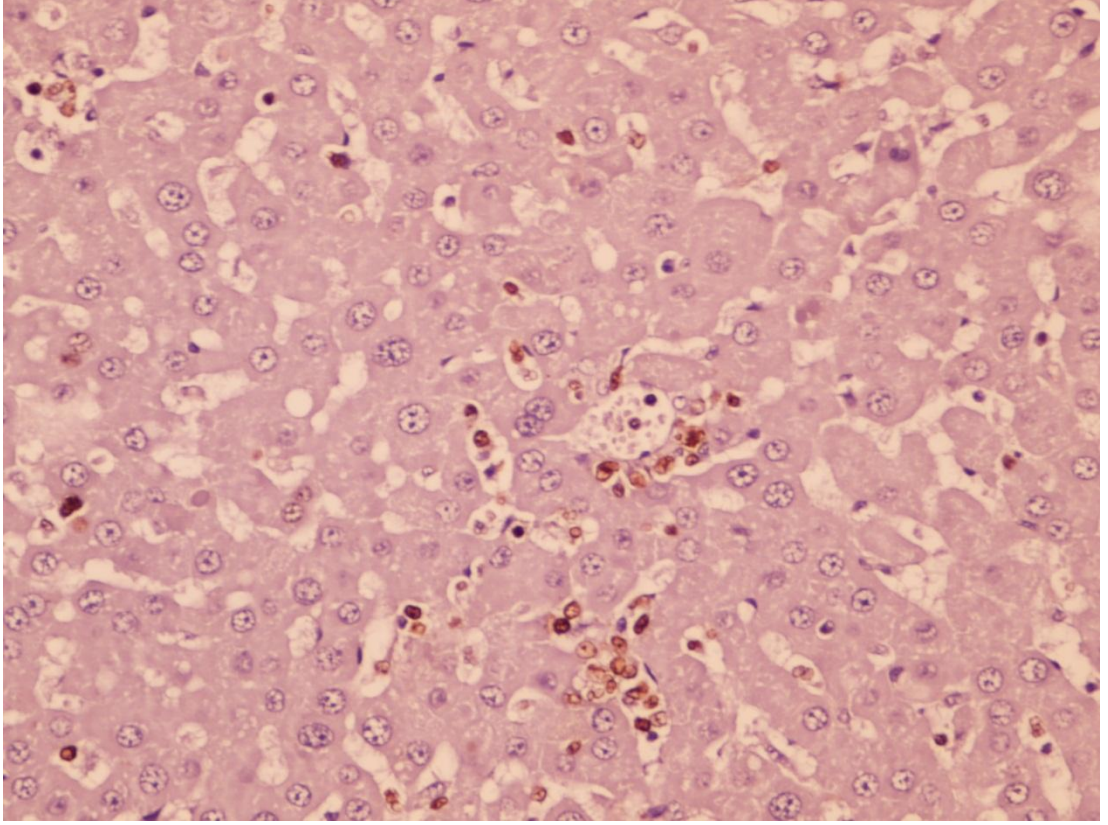
Resim-14: Kontrol hepatektomi grubunun 3. gün Ki-67 boyamasının mikroskopik görüntüsü, ok ile işaretli koyu boyananlar Ki-67 (+) hepatositler.



Resim-15: Enginar ekstresi verilen grubun 7. gün Ki-67 boyamasının mikroskopik görüntüsü, ok ile işaretli olanlar (+) boyanan hepatositler.



Resim-16: Biliyer drenaj yapılan grubun 3. gün Ki 67 boyamasının mikroskopik görüntüsü.



Resim-17: Biliyer drenaj+enginar ekstresi verilen grubun 7. Gün Ki-67 boyamasının mikroskopik görüntüsü.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Karaciğer metabolik fonksiyonları, protein sentezi, safra sentezi ve salgısı, detoksifikasyon, vitamin depolanması vb. birçok fonksiyonu olan vazgeçilmez bir organımızdır. Karaciğerin bir bölümünün çıkarılması benign ve malign birçok hastalığı tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Geçmişte yüksek mortalite ve morbidite oranları ile yapılan bu cerrahi girişim günümüzde çok daha düşük morbidite ve mortalite oranları ile yapılabilmektedir. Karaciğer cerrahisinde bu majör rezeksiyonların, canlı donörden karaciğer transplantı yapılabilmesinin nedeni karaciğerin sahip olduğu rejenerasyon yeteneğidir. Hem insan hemde hayvan karaciğerinde bu özellik mevcuttur.

Rejenerasyon sürecini ve bu süreçte etkili olan faktörleri araştıran çalışmalar genellikle hayvanlar üzerinde yapılmaktadır. En sık kullanılan da Higgins ve Anderson (12) tarafından tanımlanan %70 hepatektomi modelidir. Biz de çalışmamızda bu modeli kullandık. Parsiyel hepatektomiden 12 saat sonra DNA sentezi artarak 24. saatte maksimuma ulaşır (13). Karaciğer kütlesindeki artış 48-72 saatte maksimuma ulaşmaktadır. Rejenerasyon karaciğer kütlesi yeterli boyuta ulaşınca kadar devam etmekte ve 7-10 gün içinde tamamlanmaktadır (15). Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda karaciğer rejenerasyonu 3. günde çok daha yoğunken 7. günde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştı. Bu sonuç daha önce yapılan çalışmalar ile uyumluydu. İnsanda ise rejenerasyon sıçandan farklı olarak 3. haftada başlayıp, 4.-5. ayda tamamlanmaktadır (11).

Mikroskopik incelememizde rejenerasyonun karaciğerin tüm kısımlarında aynı olmadığını gördük. 3. günde tüm gruplarda, özellikle periportal alanlarda replikasyon çok daha fazlaydı. Portal damarlar genişlemişti. Erken dönemde periportal alanda daha fazla olan replikasyonun geç dönemlerde ise karaciğer parankiminin periferinde daha fazla olduğunu gözlemledik. Yine 3. günde sinusoidal damarlar ve diğer hücrelerde de replikasyonun başladığını gözlemledik. Bu bulgularımız daha önceki

çalışmalar ile uyumluydu. Schweizer ve ark.'nın (21) yaptığı çalışmada bu bölgedeki proliferasyonun daha fazla olmasının nedeni olarak kalan karaciğer dokusundaki portal kan akımındaki artış gösterilmiştir.

Karaciğer rejenerasyonunu değerlendirmek için birçok marker kullanılmıştır. PCNA, mitotik indeks, BrdU, Ki-67 proliferasyon indeksi gibi birçok yöntem karaciğer rejenerasyonunu değerlendirmek için yapılan çalışmalarda kullanılmıştır. İlk kez 1983'de Gerdes ve ark. (48) tarafından hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan antikor gösterilmiş ve bunun insan dokusunda hücre proliferasyonunu göstermede güvenilir bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Ki-67'nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece S evresinden ziyade hücredeki siklusunun tüm evrelerini gösterebilmesidir. Bu özelliği nedeniyle birçok çalışmada kullanılmıştır (46-49) Biz de çalışmamızda Ki-67 immünohistokimyasal boyama kullandık. Karaciğerde rejenerasyon her bölgede eşit olmadığı için her bir preparat için 40X büyütmede 5 rastgele alan seçilerek hata payını azaltmaya çalıştık. Ayrıca rutin boyamada her 250 hepatosit için mitotik indeks de baktık. Elde ettiğimiz veriler korelasyon gösteriyordu. Ki-67 proliferasyon indeksi ve mitotik indeks ile tüm gruplardan elde ettiğimiz bulgular literatür ile uyumluydu.

Biliyer drenaj temel olarak tıkayıcı safra yolu patolojisi olan hastalarda özellikle biliyer sistemin dekompresyonu ve bu sayede postoperatif komplikasyonların azaltılması için sıklıkla uygulanan bir yöntemdir (1, 2). Özellikle canlı donör karaciğer transplantasyonlarında ve safra yolu malign tümörlerinde karaciğer rezeksiyonu ile beraber eksternal biliyer drenaj da yapılmaktadır. Daha önce yapılan az sayıda çalışmada da yapılan bu eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonunu olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (5,6).

Iyomaso ve ark.'nın (5) yaptığı deneysel çalışmada obstrüktif sarılık modeli oluşturulan sıçanlarda yapılan eksternal biliyer drenajın parsiyel hepatektomi sonrasında karaciğer rejenerasyonuna etkisine bakılmıştı. DNA polimeraz- α ve mitotik indekse bakılarak yapılan değerlendirmede eksternal biliyer drenajın obstrüktif sarılığın erken dönemlerinde karaciğer rejenerasyon

kapasitesini azalttığı görülmüştü. Bizim çalışmamızda biz böyle bir etki görmedik. İlk başta bu bir çelişki gibi görülebilir. Fakat bu çalışmada bizimkinden farklı olarak biliyer drenajın hepatektomiden 1, 3, 5 gün önce yapıldığı ve daha sonra hepatektomi yapıldığı görülüyor. Biz ise hepatektomi ile biliyer drenajı aynı operasyonda eş zamanlı olarak yaptık. 1, 3, 5 gün öncesinden yapılan biliyer drenajın enfeksiyon riskini artırmasından dolayı karaciğer rejenerasyonu olumsuz etkilenmiş olabilir. Yine bu deneyde kullanılan sıçanlara öncesinde yapılan bir operasyon ile obstrüktif sarılık oluşturulmuştu. Biz ise obstrüktif sarılık modeli haline getirilen değil, normal sıçanlarla çalıştık. Çalışmada karaciğer rejenerasyon kapasitesi azalmış olarak görünüyordu. Biz çalışmamızda operasyonda 3 ve 7 gün sonra sıçanları sakrifiye ederek karaciğer rejenerasyon oranlarında bakmıştık. Oysa yapılan bu çalışmada hepatektomiden 28 saat sonra karaciğer rejenerasyon oranlarına bakılmıştı. Bu çalışmada da 3. ve 7. günlerdeki karaciğer rejenerasyon oranlarına bakılmamıştı. Belki de bu etki gerçekten sadece 1. günde var. Biz çok erken olduğu için 1. günde deneyimizi sonuçlandırmadık.

Suzuki ve ark.'nın (6) yaptığı çalışmada ise eksternal biliyer drenajla internal biliyer drenaj karşılaştırılmıştı. Bu çalışmada ise internal biliyer drenajın eksternal biliyer drenaj gibi karaciğer rejenerasyonuna olumsuz etkisi olmadığı gösterilmişti. Eksternal biliyer drenajın ise karaciğer rejenerasyonuna olumsuz etkileri olduğu gösterilmişti. Bu çalışmada da biliyer obstrüksiyon ile sarılık oluşturulan sıçanlar kullanılmıştı. Esas olarak kolestatik karaciğerde internal ve eksternal drenajı karşılaştırmak için yapılmıştı. Bizim çalışmamızdan farklı olarak 5 günlük bir biliyer drenajın ardından internal ve eksternal grupları karşılaştırılmış ve eksternal drenaj grubunda rejenerasyonun bozulduğu saptanmıştı. Biz ise biliyer drenaj ile hepatektomiyi eş zamanlı yaptık. Bir önceki çalışma gibi bunda da erken yapılan eksternal biliyer drenajın enterohepatik sirkülasyonu bozması ve intestinal bariyer fonksiyonlarını bozmasından dolayı rejenerasyon bozulmuş olabilir (70). Ayrıca biliyer obstrüksiyon zaten kendi başına karaciğer rejenerasyonu olumsuz etkilediği bilinen bir durumdur. Biliyer obstrüksiyon ile

karaciğer rejenerasyonunun bozulmasında hemodinamik parametreler, apopitozun artması, rejenerasyonda etkili faktörlerinin azalması ve enterohepatik dolaşımın bozulmasının bu etkiye sebep olduğu düşünülmektedir (70). Biliyer obstrüksiyon yapılarak zaten karaciğer rejenerasyonunun bozulduğu durumda biliyer drenaj yöntemleri karşılaştırıldığı için bizim sonuçlarımızdan farklı olabilir.

Yapılan bu çalışmalarda hepatektomi öncesi oluşturulan obstrüktif sarılık zaten karaciğer rejenerasyonunu olumsuz etkilediği bilinen bir durumdur. Sonrasında yapılan biliyer drenajın normal karaciğerdeki etkileri farklı olabilir. Biz kolestatik değil normal karaciğere sahip denekler kullandık. Böylece bizim amacımıza daha uygun olarak, normal rejenerasyon olan bir karaciğer modelinde biliyer drenajın etkilerine bakmış olduk. J. Ueda ve ark.'nın (71) yaptığı çalışmada ise bizim çalışmamıza benzer olarak normal karaciğer dokusunun eksternal ya da internal biliyer drenajla rejenerasyonun ne kadar etkileneceğine bakılmış ve bunun olası mekanizmaları araştırılmıştı. 1 hafta öncesinden yapılan eksternal ya da internal biliyer drenajın ardından parsiyel hepatektomi yapılmış 1, 3 ve 7 günlerdeki rejenerasyon oranları karşılaştırılmıştı. Eksternal biliyer drenaj grubunda maksimum DNA sentezi 3. günde saptanmıştı. 3. ve 7. günlerde de internal ve eksternal biliyer drenaj grupları arasında DNA sentezi ve PCNA işaretleme ile elde edilen veriler arasında fark yoktu. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar da benzerdi. Sadece karaciğer rejenerasyonunun 24 saat sonra farklı olduğu bulunmuştu. Biz 24 saat sonra rejenerasyona bakmadığımız için bizdeki sonuç nasıl olurdu bilemiyoruz. Yine bizim çalışmamızdan farklı olarak burada da biliyer drenaj hepatektomiden 7 gün önce yapılmıştı. Saiki ve ark.'nın (72) yaptığı çalışmada ise yine obstrüktif sarılık oluşturulmuş sıçanlarda preoperatif olarak yapılan eksternal ve internal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonuna etkisine bakılmıştı. Bu çalışmada da diğer bu alandaki çalışmalar gibi obstrüktif sarılık modeli kullanılmıştı. Obstrüktif sarılık oluşturulduktan sonra 7 gün sonra biliyer drenaj yapılmıştı. Biliyer drenajlardan 7 gün sonra ise hepatektomi yapılmış hepatektomi ile beraber bütün biliyer drenajlar internal biliyer drenaja çavrilmişti. Bu çalışmada da 1.

günde eksternal biliyer drenaj grubunda karaciğer rejenerasyonu internal biliyer drenaja göre daha kötü bulunurken 3. ve 7. günlerde ise istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştı. Bu da bizim bulduğumuz sonuçlar ile benzer özellikteydi. Yine bu çalışmada preoperatif olarak yapılan biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonunu olumsuz etkilediği gösterilmişti. Biz eş zamanlı yaptığımız için biz böyle bir etki görmemiş olabiliriz. Diğer çalışmalarda bizden farklı olarak rejenerasyonun kötü etkilenmesinin bir nedeni de hemen hemen hepsinde preoperatif olarak yapılan biliyer drenaj olabilir.

Bizim bu çalışma ile yaptığımız model canlı donör karaciğer transplantında yapılan eksternal biliyer drenajın bir benzerini yaparak bu durumun karaciğer rejenerasyonunu nasıl etkilediğini görmektir. Ayrıca son zamanlarda özellikle karaciğer rezeksiyonu ve transplantasyonu yapılan hastalara bitkisel destek ürünleri de çok sık verilmeye başladı. Bu anlamda en sık kullanılan ya da önerilen ürünlerden biri de eski tarihlerden beri ampirik olarak karaciğer hastalıklarına iyi geldiği düşünülen halk arasında kullanılan enginar. Biz de bunun bu hastalarda nasıl etki edebileceğini görebilmek için hem biliyer drenaj yaptığımız hemde yapmadığımız sıçanlara enginar lif ekstresi verdik. Enginarın ya da şu anda ticari olarak bitkisel takviye olarak satılan enginar kapsüllerinin karaciğer rejenerasyonunu nasıl etkilediğini de görmek istedik. Bu anlamda literatürde çok fazla çalışma yoktu. Karaciğer rejenerasyonu ile enginarı ilişkilendiren bulabildiğimiz tek kaynak olan Maros ve ark.'nın (68) yaptığı çalışmada enginar yapraklarına alkol tatbiki ile elde edilen ekstrenin verilmesiyle parsiyel hepatektomi sonrasında 3. ve-7. günlerde karaciğer rejenerasyonunun arttığı gösterilmişti. Bu etki tam olarak içerdiği hangi bileşikten kaynaklanıyor bu bilinmemektedir. Biz de çalışmamızda enginar lif ekstresi kullanarak gerçekten etkisi var mı onu araştırdık. Literatüreden farklı verdiğimiz standardize enginar lif ekstresi ile karaciğer rejenerasyonunda olumlu ya da olumsuz bir etki görmedik. Doz olarak o çalışma ile mukayese edemiyoruz, çünkü o çalışmada yaprakla alkol tatbiki ile kendi elde ettikleri bir ekstre kullanılırken biz ticari olarak satılan içinde ne kadar kuru lif ekstresi olduğu bilinen bir ürün kullandık. Ayrıca rejenerasyon parametresi olarak o çalışmada rölatif ağırlık ölçümü

kullanılmıştı. Sadece ağırlık artışı rejenerasyonun arttığını göstermeyebilir. Biz bu yüzden Ki-67 kullandık. Dozumuzu insandakine benzer önerilen ve daha önceki çalışmalarda kullanılan doza göre belirledik. Fakat yapılan bazı deneysel çalışmalarda sıçanlar için insanda kullanılan dozlardan çok daha yüksek oranda kullanılabilirdi bilinmektedir (64). Verdiğimiz dozun az olmasından dolayı bu etkiyi net olarak görmemiş olabiliriz. Bizim kullandığımız enginar lif ekstresinde belkide elde edilmiş biçimi itibariyle bazı etken maddeler kaybolmuş ya da elde edilememiş olabilir. Tabi gerçekten böyle bir etkisi de olmayabilir. Enginar lif ekstreleri ile yapılan bazı çalışmalarda karaciğer fonksiyonuna bir etkisi olmadığı da bulunmuştur. Bu anlamda değişik lif ekstreleri kullanılarak yapılacak yeni çalışmalarla bu etkinin olup olmadığı daha net anlaşılabilir.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile hepatektomi ile eş zamanlı yapılan eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonuna olumsuz bir etkisini görmedik Tabi sadece bu sonuçlara bakarak canlı donör karaciğer transplantı ya da kolanjiyelüler karsinomlarda eksternal biliyer drenaj yapılabilir diyemeyiz. Sadece karaciğer rejenerasyonu açısından değil olayın sindirim sistemi fizyolojisini de ilgilendiren bir boyutu olduğundan diğer yandaş durumlar göz önüne alınarak hasta için en uygun drenaj yöntemi seçilmelidir. Yine hastalar tarafından kullanılan enginar lif ekstresi kapsüllerinin de karaciğer rejenerasyonuna olumlu bir katkısını görmedik. Biz hastalara şu anda bu ürünlerin karaciğer rejenerasyonuna olumlu bir katkısı olduğunu söyleyemiyoruz. Tabi değişik ürünlerle yeni bir çalışma yapıp daha net bir sonuç da elde edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Denning DA, Ellison EC, Carey LC. Preoperative percutaneous transhepatic biliary decompression lowers operative morbidity in patients with obstructive jaundice. *Am J Surg* 1981;141:61-5.
2. Nakayama T, Ikeda A, Okuda K. Percutaneous transhepatic drainage of the biliary tract: technique and results in 104 cases. *Gastroenterology* 1978;74:554-9.
3. Qiu YD, Bai JL, Xu FG, Ding YT. Effect of preoperative biliary drainage on malignant obstructive jaundice: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2011;17:391-6.
4. Tsai YF, Shyu JF, Chen TH, Shyr YM, Su CH. Effect of preoperative biliary drainage on surgical outcome after pancreaticoduodenectomy. *Hepatogastroenterology* 2006;53:823-7.
5. Iyomasa S, Terasaki M, Kuriki H, et al. Decrease in regeneration capacity of rat liver after external biliary drainage. *Eur Surg Res* 1992;24:265-72.
6. Suzuki H, Iyomasa S, Nimura Y, Yoshida S. Internal biliary drainage, unlike external drainage, does not suppress the regeneration of cholestatic rat liver after partial hepatectomy. *Hepatology* 1994;20:1318-22.
7. Kanematsu T, Takenaka K, Matsumata T, Furuta T, Sugimachi K, Inokuchi K. Limited hepatic resection effective for selected cirrhotic patients with primary liver cancer. *Ann Surg* 1984;199:51-6.
8. Itoh S, Shirabe K, Taketomi A, et al. Zero mortality in more than 300 hepatic resections: validity of preoperative volumetric analysis. *Surg Today* 2012;42:435-40.
9. Abdalla EK, Adam R, Bilchik AJ, Jaeck D, Vauthey JN, Mahvi D. Improving resectability of hepatic colorectal metastases: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol* 2006;13:1271-80.
10. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006;43:45-53.
11. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Kohno H, Nakamura T. Human liver regeneration after major hepatic resection. A study of normal liver and livers with chronic hepatitis and cirrhosis. *Ann Surg* 1987;206:30-9.
12. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. *Arch Pathol* 1931;12:186-202.
13. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:836-47.
14. Matsuo T, Yamaguchi S, Mitsui S, Emi A, Shimoda F, Okamura H. Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division in vivo. *Science* 2003;302:255-259.
15. Grisham JW. A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver: autoradiography with thymidine-H3. *Cancer Res* 1962;22:842-849.

16. Atabek A. *Cynara scolymus* L.'un fitoterapideki kullanımı üzerine araştırmalar (Yüksek Lisans Tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi; 2008.
17. Schaffner F. Structural and functional aspects of regeneration of human liver. *Dig Dis Sci* 1991;36:1282-6.
18. Fujii H, Hirose T, Oe S, et al. Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Hepatol* 2002;36:653-9.
19. Black D, Lyman S, Heider TR, Behrns KE. Molecular and cellular features of hepatic regeneration. *J Surg Res* 2004;117:306-15.
20. Michalopoulos GK, DeFrances M. Liver regeneration. *Science* 1997;276:60-6
21. Schweizer W, Duda P, Tanner S, et al. Experimental atrophy/hypertrophy complex (AHC) of the liver: Portal vein, but not bile duct obstruction, is the main driving force for the development of AHC in the rat. *J Hepatol* 1995;23:71-8.
22. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol.* 2007;213:286-300.
23. DeFrances M, Michalopoulos GK. Liver Regeneration and Partial Hepatectomy: Process and Prototype. In: Dieter Häussinger (eds). *Liver Regeneration*. Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG; 2011. 1-16.
24. Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 2010;176:2-13.
25. Schoen JM, Wang HH, Minuk GY, Lautt WW. Shear stress-induced nitric oxide release triggers the liver regeneration cascade. *Nitric Oxide* 2001;5:453-64.
26. Mars WM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Activation of hepatocyte growth factor by the plasminogen activators uPA and tPA. *Am J Pathol* 1993;143:949-58.
27. Skov Olsen P, Boesby S, Kirkegaard P, et al. Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Hepatology* 1998;8:992-6.
28. Diehl AM, Rai R. Review: Regulation of liver regeneration by pro-inflammatory cytokines. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:466-70.
29. Wack KE, Ross MA, Zegarra V, et al. Sinusoidal ultrastructure evaluated during the revascularization of regenerating rat liver. *Hepatology* 2001;33:363-78.
30. Lesage G, Glaser SS, Gubba S, et al. Regrowth of the rat biliary tree after 70% partial hepatectomy is coupled to increased secretin-induced ductal secretion. *Gastroenterology* 1996;111:1633-44.
31. Martinez-Hernandez A, Amenta PS. The extracellular matrix in hepatic regeneration. *FASEB J* 1995;9:1401-10.
32. Naldini L, Vigna E, Narsimhan RP, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) stimulates the tyrosine kinase activity of the receptor encoded by the proto-oncogene c-MET. *Oncogene* 1991;6:501-4.
33. Patijn GA, Lieber A, Schowalter DB, Schwall R, Kay MA. Hepatocyte growth factor induces hepatocyte proliferation in vivo and allows for

- efficient retroviral-mediated gene transfer in mice. *Hepatology* 1998;28:707–16.
34. Borowiak M, Garratt AN, Wüstefeld T, et al. Met provides essential signals for liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:10608–13.
 35. Bucher NL, Patel U, Cohen S. Hormonal factors concerned with liver regeneration. *Ciba Found Symp* 1977;55:95–107.
 36. Kirillova I, Chaisson M, Fausto N. Tumor necrosis factor induces DNA replication in hepatic cells through nuclear factor kappaB activation. *Cell Growth Differ* 1999;10:819–28.
 37. Webber EM, Bruix J, Pierce RH, Fausto N. Tumor necrosis factor primes hepatocytes for DNA replication in the rat. *Hepatology* 1998;28:1226–134.
 38. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 1996;274:1379–83.
 39. Olsen PS, Poulsen SS, Kirkegaard P. Adrenergic effects on secretion of epidermal growth factor from Brunner's glands. *Gut* 1985;26:920–7.
 40. Evarts RP, Raab M, Marsden E, Thorgeirsson SS. Histochemical changes in livers from portacaval shunted rats. *J Natl Cancer Inst* 1986;76:731–8.
 41. Cruise JL, Houck KA, Michalopoulos GK. Induction of DNA synthesis in cultured rat hepatocytes through stimulation of alpha 1 adrenoreceptor by norepinephrine. *Science* 1985;227:749–51.
 42. Strey CW, Markiewski M, Mastellos D, et al. The proinflammatory mediators C3a and C5a are essential for liver regeneration. *J Exp Med* 2003;198:913–23.
 43. Mars WM, Kim TH, Stolz DB, Liu ML, Michalopoulos GK. Presence of urokinase in serum-free primary rat hepatocyte cultures and its role in activating hepatocyte growth factor. *Cancer Res* 1996;56:2837–43.
 44. Assy N, Gong Y, Zhang M, et al. Use of proliferating cell nuclear antigen as a marker of liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *J Lab Clin Med* 1998;131:251–6.
 45. Selzner M, Clavien PA. Failure of regeneration of the steatotic rat liver: Disruption at two different levels in the regeneration pathway. *Hepatology* 2000;31:35–42.
 46. Gerlach C, Sakkab DY, Scholzen T, Dassler R, Alison MR, Gerdes J. Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Hepatology* 1997;26:573–8.
 47. Schmidt SC, Schumacher G, Klage N, et al. The impact of carbon dioxide pneumoperitoneum on liver regeneration after liver resection in a rat model. *Surg Endosc* 2010;24:1–8.
 48. Gerdes J, Lemke H, Barsch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunology* 1984;133:1710–15.

49. Gerdes J. Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. *Semin Cancer Biol* 1990;1:199-206.
50. Parıldar Z, Çınar C, Barutçuoğlu B, Başol G, Parıldar M. Effects of percutaneous transhepatic biliary drainage on renal function in patients with obstructive jaundice. *Diagn Interv Radiol* 2011;17:74-9.
51. Nimura Y. Preoperative biliary drainage before resection for cholangiocarcinoma (Pro). *HPB (Oxford)* 2008;10:130-3.
52. Tsuyuguchi T, Takada T, Kawarada Y, et al. Techniques of biliary drainage for acute cholangitis: Tokyo Guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007;14:35-45.
53. Kawakami H, Kuwatani M, Onodera M, et al. Endoscopic nasobiliary drainage is the most suitable preoperative biliary drainage method in the management of patients with hilar cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol* 2011;46:242-8.
54. Artifon EL, Ferreira FC, Otoch JP, et al. EUS-guided biliary drainage: a review article. *JOP* 2012;13:7-17.
55. Haberal M, Boyvat F, Moray G, Karakayali H, Emiroğlu R, Dalgiç A. A new technique for bile duct reconstruction in liver transplantation. *Transplant Proc* 2006;38:584-8.
56. Adzet T, Puigmacia M. High-performance liquid chromatography of caffeoylquinic acid derivatives of *Cynara scolymus* L. leaves. *J. Chromatogr* 1985;348:447-52.
57. Nichiforescu E. A Composition of caffeoylquinic acid derivatives of artichoke (*Cynara scolymus*). *Plant Med Phytother* 1970;4:56-62.
58. Wang M, Simon JE, Aviles IF, et al. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *J Agric Food Chem* 2003;51:601-8
59. Baytop T (eds). *Türkiye’de bitkilerle tedavi*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri; 1999.
60. Saénz Rodríguez T, García Giménez D, de la Puerta Vázquez R. Choleric activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. *Phytomedicine* 2002;9:687-93
61. Zhu XF, Zhang HX, Lo R. Phenolic compounds of artichoke (*Cynara scolymus* L) and their antimicrobial activities. *J Agric Food Chem* 2004;52:7272-8.
62. Gebhardt, R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997;144:279-86.
63. Jiménez-Escrig A, Dragsted LO, Daneshvar B, Pulido R, Saura-Calixto F. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. *J Agric Food Chem* 2003;51:5540-5.
64. Mehmetçik G, Ozdemirler G, Koçak-Toker N, Cevikbaş U, Uysal M. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-

- induced liver injury and oxidative stress. *Exp Toxicol Pathol* 2008;60:475-80.
65. Adzet T, Camarasa J, Laguna JC. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCL4 toxicity in isolated rat hepatocytes. *J Nat Prod* 1987;50:612-7.
 66. Gebhardt R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;286:1122-8.
 67. Englisch W, Beckers C, Unkauf M, Ruepp M, Zinserling V. Efficacy of artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinaemia. *Arzneimittelforschung* 2000;50:260–5.
 68. Maros T, Seres-Sturm L, Racz G, et al. Effect of *Cynara scolymus*-extracts on the regeneration of rat liver 2. *Arzneimittelforschung* 1968;18:884–6.
 69. Huber R, Müller M, Naumann J, Schenk T, Lüdtkke R. Artichoke leave extract for chronic hepatitis C - a pilot study. *Phytomedicine* 2009;16:801-4.
 70. Yokoyama Y, Nagino M, Nimura Y. Mechanism of impaired hepatic regeneration in cholestatic liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007;14:159-66.
 71. Saiki S, Chijiwa K, Komura M, et al. Preoperative internal biliary drainage is superior to external biliary drainage in liver regeneration and function after hepatectomy in obstructive jaundiced rats. *Ann Surg* 1999;230:655-62.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızın ortaya çıkmasında gösterdikleri destek ve yardımlardan dolayı Prof. Dr. Yılmaz Özen ve Prof. Dr. Remzi Emiroğlu'na teşekkür ederim. Asistanlık hayatım boyunca benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen tüm Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerimize teşekkür ederim. Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin tüm çalışanlarına bana her türlü kolaylığı gösterdikleri ve sabırları için, patolojik incelemeyi yapan Bursa Askeri Hastanesi Başhekim'i Doç. Dr. Şükrü Yıldırım ve Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Araş. Gör. Dr. Aylin A. Demirel'e, preparatların hazırlanmasında desteklerinden dolayı Bursa Adenom Patoloji Merkezi'ne, istatistiksel değerlendirmelerin yapılmasında desteklerinden dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı'na, Genel Cerrahi hemşire ve personeline, asistanlık hayatım boyunca beraber çalıştığım arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak da beni yetiştiren ve her zaman yanımda olan aileme, dünyalar tatlısı kızlarıma, tezimin her aşamasında benden desteğini hiç esirgemeyen değerli eşime sonsuz teşekkürler ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Ankara'da doğdum. İlkokulu Kent-Koop İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra orta öğrenimimi Milli Piyango Anadolu Lisesi'nde tamamladım. Lise öğrenimimi Kırıkkale Fen Lisesi ve Batıkent Mobil Lisesi'nde 2007 yılında tamamladım. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazanarak yüksek öğrenimimi 2005 yılında tamamladım. 2006 yılında kısa bir pratisyenlik hekimlik deneyiminin ardından Kasım 2006'da Uludağ Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda göreve başladım. Halen bu görevdeyim.