



T.C
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**KRONİK OBSTRUKTİF SARILIK OLUŞTURULAN
PREPUBERTAL SIÇANLARDA KARACİĞER HASARI
ÜZERİNE URSODEOKSİKOLİK ASİT VE SELEKTİF
SİKLOOKSİJENAZ-2 İNHİBİTÖRÜ SELEKOKSİB'İN
KORUYUCU ETKİLERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. ADEM KÜÇÜK

DÜZCE, 2011



T.C

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**KRONİK OBSTRÜKTİF SARILIK OLUŞTURULAN
PREPUBERTAL SIÇANLARDA KARACİĞER HASARI
ÜZERİNE URSODEOKSİKOLİK ASİT VE SELEKTİF
SİKLOOKSİJENAZ-2 İNHİBİTÖRÜ SELEKOKSİB'İN
KORUYUCU ETKİLERİ**

Dr. Adem KÜÇÜK

ÇOCUK CERRAHİ UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hülya ÖZTÜRK

Yardımcı Araştırmacılar

Yrd.Doç. Dr. Ümran Yıldırım

Patoloji Anabilim Dalı

DÜZCE, 2011

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca eğitimimde katkısı olan, başta tez hocam Doç. Dr.Hülya ÖZTÜRK ve Yrd.Doç.Dr.Aybars ÖZKAN'a, Yrd.Doç.Dr.Murat KAYA 'ya, tezimde bana yardımcı olan Abant İzzet baysal Üniversitesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı başkanı Prof.Dr.Hayrettin ÖZTÜRK'e ve Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Ümran YILDIRIM'a teşekkür ederim

Asistanlık eğitimime bebaber başladığım bilgi ve tecrübesinden istifade ettiğim değerli hocam Doç.Dr.Zekeriya İLÇE'ye verdiği eğitim ve emeğinden dolayı teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitiminde tek başıma olduğumu hissettirmeyen; hastaların tedavi ve bakımında yardımlarını esirgemeyen bütün hemşire arkadaşlarıma, hayatımın her döneminde yanımda olan, bu günlere gelmemi sağlayan, yardım ve desteklerinden her zaman faydalandığım başta annem ve babam olmak üzere bütün yakınlarıma; iyi ve kötü günlerimizde sevinç ve hüznümüzü paylaştığımız, beni hiç yalnız bırakmayan eşim Şükran'a; ailemizin mutluluk kaynakları olan oğlum Halil Efe ve kızım Zeynep Ece'ye; ayrıca gerek mesleki hayatımda tecrübe ve deneyimlerinden yararlandığım, gerekse ihtiyaç duyduğumda yanımda olan bütün dostlarıma minnettarlığı sunarım.

Dr.Adem KÜÇÜK

TÜRKÇE ÖZET

Kolestaz karaciğer hücre ölümü, fibrozis, siroz ve sonunda karaciğer yetmezliğine yol açar. Ursodeoksikolik asit (UDKA) kolestatik bozuklukların tedavisi için Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmış tek ilaçtır. Hepatik siklooksijenaz-2 (COX-2) virüs veya toksinler tarafından neden olunan çeşitli kronik karaciğer hastalıklarında artar. Bu çalışma, safra kanalı ligasyonu (SYL) yoluyla neden olunan kolestatik bir sıçan modelinde inflamasyon ve fibrojeniz üzerinde UDKA ve selektif COX-2 inhibitörü selekoksib'in etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

21 gün SYL uygulanan 50 Sprague-Dawley sıçan (sham, SYL, SYL sonrası UDKA tedavi grubu, SYL sonrası selekoksib tedavi grubu ve SYL sonrası UDKA ve selekoksib kombinasyonu tedavi grubu) beş tedavi grubuna ayrıldı. 21 gün sonra serum ve karaciğer örnekleri alındı. Fibrozis, duktular proliferasyon ve portal inflamasyon karaciğer örneklerinde skorlandı. Karaciğer fonksiyon testlerinin düzeyleri ölçüldü.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SYL grubunda serum biyokimyasal enzimlerinde yükselme ile birlikte duktular reaksiyon, fibrosis, inflamasyon gibi histolojik değişiklikler karaciğer hasarını gösterdi. Bu patofizyolojik değişiklikler UDKA ve selekoksib tedavisi ile azaldı.

Bulgularımız UDKA'e selekoksibin eklenmesi karaciğerde inflamasyon ve fibrozisi azaltır ve kolestatik hastalıklar için UDKA ile etkili bir tamamlayıcı tedavi olabileceğini göstermektedir. UDKA ve selekoksibin kombinasyonunun olumlu etkileri sitoprotektif antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri ile ilişkili olabilir.

İNGİLİZCE ÖZET

Cholestasis leads to liver cell death, fibrosis, cirrhosis, and eventually liver failure. Ursodeoxycholic acid (UDKA) is the only Food and Drug Administration-approved treatment for cholestatic disorders. Hepatic cyclooxygenase-2 (COX-2) expression increases in various chronic liver diseases caused either by viruses or toxins. The present study was conducted to investigate the effects of ursodeoxycholic acid (UDKA) and selective COX-2 inhibitor selekoksib on inflammation and fibrogenesis in a rat model of cholestasis induced by bile duct ligation (SYL).

Fifty Sprague–Dawley rats underwent common bile duct ligation (SYL) for 21 days were assigned to one of five treatment groups (sham-operation, SYL, daily UDKA treatment following SYL, daily selekoksib treatment following SYL, and daily selekoksib and UDKA combination treatment following SYL). Serum and liver samples were collected after 21 days. Fibrosis, ductular proliferation and portal inflammation were scored in liver samples. The levels of liver function tests were measured.

In comparison with the control group, the SYL group showed hepatic damage as evidenced by histological changes and elevation in serum biochemicals, ductular reaction, fibrosis, and inflammation. These pathophysiological changes were attenuated by chronic UDKA and selective COX-2 inhibitor selekoksib supplementation.

Our findings indicate that the addition of Selekoksib to UDKA reduces liver inflammation and fibrosis and might be an effective supplemental therapy with UDKA for cholestatic diseases. The beneficial effects of chronic UDKA and Selekoksib supplementation may be associated with potential cytoprotective, anti-oxidative and anti-inflammatory.

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.Biliyer atrezi.....	2
2.2. Embriyoloji – Etyoloji.....	3
2.4. Sınıflama.....	5
2.5. Patoloji.....	5
2.6. Biyokimyasal Değişiklikler.....	6
2.7. Tanı.....	8
2.8. Ursodeoksikolikasid.....	11
2.9. COX-2 İnhibitörleri.....	13
2.9.1. Selekoksib.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Deney Modeli.....	16
3.2. Deney protokolü.....	18
3.3. Biyokimyasal Çalışma.....	18
3.4. Histopatolojik Çalışma	19
3.5. İstatistiksel analiz.....	19
4. BULGULAR	20
4.1. Ağırlık.....	20
4.2. Biyokimya.....	21
4.3. Histopatoloji.....	27
3.4. Histopatolojik Çalışma	19
3.5. İstatistiksel analiz.....	19
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ	72
9. KAYNAKLAR	77
10. RESİMLEMELER LİSTESİ	86
10.1.Resimler listesi.....	86

10.2.Tablolar listesi.....	87
10.3.Şekiller listesi.....	87
11. ÖZGEÇMİŞ.....	88
12. EKLER.....	89
Ek-1. Etik Kurul Onay Örneği Türkçe.....	90
Ek-2 Etik Kurul Onay Örneği İngilizce.....	91

SİMGE ve KISALTMALAR

TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa

CMV : Citomegalovirüs

HPV: Human papilloma virüs

ALT: Alanin aminotransferaz

AST: Aspartat aminotransferazın

ALP: Alkalen fosfataz

GGT: Gama glutamil transpeptidaz

5'NT: 5'Nükleotidaz

Lp-X: Lipoprotein-X

USG: Ultrasonografi

HIDA: Tc 99m iminodiaseteik asit hepatobilier sintigrafi

ERCP: Endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi

MRCP: Magnetik rezonans kolanjiografi

UDKA: Ursodeoksikolikasid

COX İnhibitörleri: Siklooksijenaz İnhibitörleri

CCL4: Karbon tetraklorid

NSAİ: Non-Stroid Antiinflamatuvar İlaç

PG: Prostoglandin

PS: Prostatiklin

TBX: Tromboksan

EHSY: Ekstrahepatik safra yolları

FDA: Food and Drug Administration

SYL: Safra kanalı ligasyonu

ET1: Endotelin 1

TXA2: Tromboksan A2

PNL: Polimorfo nötrofiler lökosit

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ekstrahepatik ve intrahepatik biliyer bozukluklar yenidoğan ve erişkinlerde değişik nedenlerle ortaya çıkabilir. Tıkanıklık ve kesinti porta hepatisden, duodenuma kadar herhangi bir yerde olabilir. Yenidoğan döneminde en sık neden biliyer atrezidir (1). Tüm dünyada görülme olasılığı 1/8000 – 1/15000'dir (2,3). Çocuklarda koledok kisti diğer en sık görülen safra yolu patalojisidir.

Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda kronik obstruktif sarılık tedavi edilmediğinde ilerleyici inflamasyon ve sklerotik reaksiyonlar ile karaciğerde fibrozis gelişimine yol açarak ekstrahepatik biliyer ağacın tamamen kapanmasına neden olduğu gösterilmiştir (4). Tedavi edilmeyen bebeklerde ortalama 8. ayda ölümlerle sonuçlanır. Karaciğerde fibrozis gelişimine neden olan başlıca faktörlerin; portal ve sistemik endotoksemi, oksidatif-antioksidan sistemlerinde denge bozukluğu ve lipid peroksidasyonunda, TNF- α , prostoglandinler ve sitokinlerin salınımında artış olduğu gösterilmiştir (5,6). Oluştugu bildirilen bu etkileri önleyebilmek için glukokortikoidler, UDKA, glutamin, fenobarbital, COX-2 inhibitörleri ve curcumin gibi farklı ilaçlar kullanılarak karaciğer hasarının azaltılabileceği gösterilmiştir (6).

Çalışmamızdaki amacımız prepubertal sıçanlarda kronik obstruktif sarılık oluşturarak bu obstrüksiyonun karaciğer üzerine hasarını ortaya koymak; eğer varsa, daha önceki çalışmaların ışığında, olumlu etkileri gösterilen COX-2 inhibitörleri ve Ursodeoksikolik asidin ayrı-ayrı kullanımlarında ve birlikte kullanıldıklarında bu olumsuz etkileri önlemedeki rolünü saptamak.

2. GENEL BİLGİLER

Yenidoğan dönemindeki kolestatik hastalıkların en sık nedeni biliyer atrezi olup, diğer başlıca nedenleri ise; koledok kisti, interlobüler biliyer hipoplazi, koyulaşmış safra sendromu, safra kanallarında taş ve ekstrahepatik safra kanallarının idiopatik perforasyonudur (1,5). Burada yenidoğan ve çocukluk çağında obstruktif sarılığını en sık nedeni olan biliyer atrezi üzerinde durulacaktır. Ekstrahepatik biliyer atrezi, yenidoğanların hepatik veya ortak safra kanalının tıkanıklığı ya da kesintiye uğraması ile karakterize hastalıktır. Bu tıkanıklık ya da kesinti porta hepatisden, duodenuma kadar herhangi bir yerde olabilir (4). Biliyer atrezide safra kanalları fibroz band halinde veya tamamen kaybolmuştur. Biliyer atrezinin tüm dünyada görülme sıklığı 1/8000 – 1/15000 arasındadır. En sık görüldüğü yer Asya kıtası olup, bunu Kuzey Amerika ve Avrupa kıtaları izler. Kızlarda ve Afrika kökenli Amerikalılarda görülme sıklığı fazla olmakla birlikte, mevsimlere bağlı da görülme sıklığı artmaktadır. Biliyer atrezi ile doğan bebekler normal doğum yaşlarında ve kilolarında, sağlıklı görünümlü olup, doğum sonrası erken dönemde sarılık gelişir (12,13,18).

2.1. Biliyer Atrezi

Tarihçe

Biliyer atrezi ile ilgili ilk değerlendirme 1891'de Thomson tarafından yapılmıştır. 1916 yılında Holmes, hastalığı düzeltilebilir ve düzeltilemeyen olarak üzere iki gruba ayırmıştır (88). 1928'de Ladd düzeltilebilir tipte ilk başarılı ameliyatı uygularken, düzeltilemeyen biliyer atrezili hastalarda ise Kasai ve arkadaşları (1955) hepatik portoenterostominin başarılı sonuçlarını göstermişlerdir (9). Kasai ameliyatlarında başarılı olabilmek için yüksek cerrahi tecrübeye sahip olmak gerekmektedir. Kasai işlemiyle sağlanan gelişme ve iyilik halinin uzaması ve olası karaciğer transplantasyonunun 10 yıla kadar ertelenebildiği bilinmektedir (4). 1963'de Starzl ve arkadaşları başarısız hepatik portoenterostomi yapılmış hastalara karaciğer transplantasyonunu önermişlerdir (10). Schoen ve arkadaşları ise farklı bir

bakış açısı sunmuştur. Emory üniversitesinde yapılan çalışmada 1986 ve 1999 yılları arasında Kasai prosedürü uygulanmış 31 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiş ve 2mg/dl ya da daha düşük bilirubin düzeyleri bulunan hastalarda daha başarılı sonuçlar tariflemişlerdir. Laparoskopik Kasai işlemi halen gelişim aşamasındadır. Esteves ve arkadaşları ilk başarılı laparoskopik Kasai operasyonunu gerçekleştirmişlerdir (11).

2.3. Embriyoloji – Etyoloji

Biliyer atrezide etyoloji Tablo 1’de verildi. Biliyer atrezi, uzun yıllar konjenital bir bozukluk olarak değerlendirilmiştir (14). Hepatik ve biliyer sistem embriyonik hayatın 3. haftasında foregut’un endodermal epitelyum çıkıntısı şeklinde belirir. Hepatik divertikül ile ön barsak arasındaki bağlantı daralarak Safra Kanallarını oluşturur. Safra kanalından kaynaklanan küçük ventral çıkıntı safra kesesi ve sistik kanal haline gelişir. Hepatik divertikül kaudal ve kranial komponentlere ayrılır. Safra kesesi, duktus sistikus ve koledok kanalı kaudal komponentten gelişirken, proksimal ekstrahepatik kanallar ve intrahepatik kanalların çoğu kranial komponentten gelişir. Bu embriyolojik tanımlamaya göre düzeltilebilir (correctable) tip biliyer atrezide proksimal ekstrahepatik safra kanalları açık, distal kanallar tıkalıdır. Düzeltilemez (uncorrectable) tipte ise bunun tersi söz konusudur. Karaciğer 12. haftada hepatik hücrelerden safra üretmeye başlar. Bu arada safra kesesi ve sistik kanalda oluşur. Sistik kanal hepatik kanalla birleşerek koledok kanalını meydana getirdiğinden üretilen safra barsağa akabilir. Bazen, gelişimleri sırasında solid evre geçiren safra kanalları, rekanalize olamayabilir. Bu defekt ekstrahepatik biliyer atrezi olarak bilinir. Ekstrahepatik biliyer atrezili hastaların % 15-20’si açık proksimal kanallara ve düzeltilebilir bir defekte sahipken, geri kalanlar karaciğer transplantasyonu olmaksızın yaşayamazlar (15). Fetal biliyer atrezili transgenik fare modelinde (inv fare) 4. kromozomdaki insersiyonel mutasyon situs inversus, ilerleyici sarılık ve biliyer atreziye neden olmaktadır. İnsanlarda bu genin analogu gösterilememiştir (4). Safra kesesi, duktus sistikus ve koledok açık proksimal hepatik kanallar ise kapalıdır. Ancak biliyer atrezili bebeklerin çoğunluğunda (%83) kranial ve kaudal komponentlerin oluşturduğu tüm kanallar tıkalıdır. Etyolojide çevresel faktörler daha

fazla suçlanmıştır. Enfeksiyonlar, immün ve otoimmün bozukluklar, toksinler, vasküler defektler, kan akımının kesilmesi, anormal safra asit metabolizması ve pankreatikobiliyer birleşme anomalisidir. Biliyer atrezi patogenezinde rolü olduğu düşünülen farklı virüsler vardır. Bunlar sitomegalovirüs (CMV), reovirüs, rotavirüs ve human papilloma virüstür (HPV). Viral enfeksiyonlar suçlanmış ancak ispatlanamamıştır (16). Bilier atrezi ile reovirus arasındaki ilişki reovirus 3 ile infekte farelerin safra yollarında bilier atrezi benzeri lezyonların ortaya konması ile ortaya çıkmıştır (19,20). Tüm bu teorilere rağmen biliyer atrezinin kesin oluş sebebi hala tartışmalıdır.

Bazı deliller biliyer atrezinin bir inflamatuvar proses olduğunu, intrahepatik ve sonunda da ekstrahepatik safra kanallarını oblitere eden bir tür sklerozan kolanjite neden olduğunu göstermektedir (4).

Tablo 1. Biliyer atrezide etyoloji

Doğumsal Anamoliler	Edinsel Anamaliler
Embriyogenezde hata Rekanalizasyonda yetersizlik Pankreatikobiliyer maljunction teori	Akira Matsui, nekroz - inflamatuvar; perinatal
Desmet 'ductal plate malformation' teorisi	Landing 'infantile obstructive cholangiopathy' teorisi
Tan ve Howard'ın 'remodelling proces failure' teorisi	Viral enfeksiyonlar CMV, reovirüs, rotavirüs ve HPV
Otoimmün bozukluklar: HLA B-12, HLACw4/7,HLAB-8, DR3, DR6, A33, B44, A9-B5, A28-B35 olgularda yüksek (31,32)	Anormal safra asidi metabolizması
İmmun - inflamatuvar yanıt	İskemi - toksik hasar

HLA-DR, ICAM-1, IL-2, IL-18 ekspresyonlarında artış CD68 VE proapoptotik Fas Ligand'ın artması	
---------------------------------------------------------------------------------------------------	--

2.4. Sınıflama

Biliyer Atrezide ekstrahepatik biliyer kanallar değişik derecelerde etkilenebilir. Dekstrüktif inflamasyon porta hepatisden duodenumdaki oddi sfinkterine kadar biliyer duktusu değişik seviyelerde etkileyebilir. En sık kullanılan sınıflama:

Tip I: Koledok kanalının atrezisi: Bu tipte karaciğer hilusuna yakın kesimdeki ekstra hepatik safra kanallarında içi sıvı dolu kistik genişlemeler vardır. Ancak bunların intrahepatik safra yolları ile ilişkisi yoktur. %10 sıklıkta görülür.

Tip II: Hepatik kanalların atrezisi: Safra kesesi ve sistik kanalın altında kalan koledok açıktır. %2 sıklıkta görülür.

Tip III: Sağ ve sol hepatik duktus atrezisi veya porta hepatis atrezisi (%88). Geleneksel olarak Tip I düzeltilebilir lezyon olarak tanımlanırken Tip II ve III düzeltilemez lezyonlar olarak tanımlanmış olmakla birlikte günümüzde uygulanan Kasai portoenterostomi sonrasında sağlanan drenajın ışığında bu tanımlama artık pek doğru sayılmaz.

2.5. Patoloji

Patolojik değişiklikler hem intrahepatik hem de ekstrahepatik safra kanalı sistemini etkiler. Ekstrahepatik biliyer sistem morfolojik olarak değerlendirildiğinde genellikle porta hepatisdeki aktif inflamasyona eşlik eden, fokal tam tıkanıklar izlenir. Safra kesesi çoğunlukla yoktur, varsa duvarında inflamatuvar ve fibrotik değişiklikler izlenir. Biliyer atrezinin histolojik olarak en belirleyici özelliği biliyer kanalikülleri tıkayan biliyer duktus proliferasyonu ve portal fibrozisdir (17). Portal traktus ödem ve yoğun nötrofilik infiltrasyon nedeniyle izlenemeyebilir. Hastalık

ilerledikçe portal ve periportal alanlardaki fibrozis hepatosit dejenerasyonu ile sonuçlanır. Bu durum kolestaz ve safra göllenmesine neden olur. Tedavi edilmediğinde kalıcı obstrüksiyon, tekrarlayan kolanjit, primer inflamasyonun devamı nedeniyle intrahepatik duktusların kaybı ve yaklaşık 10. ayda ölümlerle sonuçlanır (4).

İntrahepatik safra kanallarının tutulumu sadece patolojik değil aynı zamanda klinik olarak önemlidir. Biliyer atrezi için en tipik histolojik değişiklik duktal proliferasyon ve portal fibrozisdir. Fibrozisin derecesi bebek ne kadar yaşarsa o kadar fazla olur. Olguların çoğunda portoenterostomiye rağmen karaciğer fibrozisinin devam ettiği ve biliyer sirozla sonuçlandığı gözlenmiştir.

2.6. Biyokimyasal Değişiklikler

Bilirubin: Safra yolu tıkanıklarının klasik bulgusu plazma direkt bilirubin yüksekliğidir. Karaciğer fonksiyonlarında bozukluk olmaksızın bazı hastalıklarda da direkt bilirubin yükselebilir. Kolestatik sarılıklarda billürubin barsağa akışı engellenmiştir. Bu nedenle idrarda ürobilinojen bulunmaz ve idrar rengi koyulaşır. Aynı zamanda dışkı rengi açılarak akolik hale gelir (22).

Serum enzimleri: Transaminazlar, bir amino grubunun, alfa-amino asitin, alfa keto aside transferini katalize eden bir grup enzim topluluğudur. Bunlar mitokondrial enzimlerdir. Transaminazların bulunduğu dokular akut bir yaralanmaya veya parçalanmaya maruz kalırsa bu enzimler sistemik dolaşıma katılırlar ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artış olur (23). Klinikte yaygın olarak kullanılan transaminazlardan alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferazın (AST) serum düzeyleri biliyer obstrüksiyonda artar (24). Yapılan deneysel çalışmalar biliyer obstrüksiyon sonrasında AST artışının daha değerli bir bulgu olduğunu göstermiştir (22,24). Bu enzimler tüm vücutta yaygın olarak bulunmakla beraber kalp, karaciğer ve iskelet kasında daha fazla bulunurlar (25). ALT ise karaciğerde diğer organlardan daha fazla bulunur. Kronik karaciğer hastalıklarında ise hastalığın tipine ve siroz gelişip gelişmemesine göre enzim düzeyindeki artışlar farklılık gösterir (22).

Membran Enzimleri: Alkalen fosfataz (ALP) bir izoenzim topluluğudur. Bu enzim organizmada birçok dokuda, özellikle kemik, barsak, karaciğer, dalak, plasenta ve böbrekte bulunur. Normal plazmada bulunan ALP karaciğer kaynaklıdır. ALP'nin safrada temel olarak iki komponenti bulunur. Birisi karaciğer hasarıyla seyreden hastalıklarda yükselen ve hepatosit tarafından yapılan formudur. İntrahepatik kolestaz ile ekstrahepatik kolestazın ayırımında ALP'nin ikinci komponenti daha önemlidir. ALP büyük boyuta sahip olup diğer büyük boyutlu enzimler gibi membrana yerleşmiştir (22). Tüm kolestaz formları, özellikle obstrüktif sarılıkta ALP seviyesinde yükselme meydana gelir (26,27). ALP'nin kemik yada karaciğer kaynaklı olup olmadığının anlaşılabilmesi için gama glutamil transpeptidaz (GGT) seviyesine bakılması gerekir.

Karaciğer hücre hasarında serum seviyesi artan GGT aynı zamanda kolestazın en iyi göstergelerinden biridir (28). Bu enzimin serum aktivitesinin yükselmesi, sıklıkla karaciğer, biliyer kanal ve pankreas hastalıklarında olur. ALP'nin yükselmesine neden olan hastalığın saptanmasında GGT tayinleri klinik olarak önemlidir. ALP ve GGT beraber yükselmişse ALP karaciğer kaynaklıdır. İzole ALP yüksekliği olan olgularda GGT normal düzeylerde ise ALP'nin kesin kaynağının belirlenmesi için 5'Nükleotidaz (5'NT) seviyelerine bakılması gerekir.

5' NT daha çok karaciğerde bulunan orijinal bir fosfattır (25). 5'NT, ALP ve GGT gibi büyük boyutta olup kanaliküler ve sinozoidal membranda yerleşmiştir. Hepatobiliyer hastalıklarda ALP'dan daha spesifik olduğu savunulmaktadır. Çocuklarda serum seviyeleri düşük olup yaşla artar. Kolestazda serum değerlerinin yükselme nedeni, kolestaz esnasında biriken safra asitlerinin sinozoidal ve kanaliküler membranda hasar oluşturarak 5' NT'ı açığa çıkarmasıdır (25).

Lipoprotein-X (Lp-X): Biliyer atrezili bebeklerin tümünde yüksek bulunurken, neonetal hepatit olgularının % 20-40 oranında yüksek olduğu gözlenmiştir. Serumda GGT ve Lp-X birlikte yüksek bulunması biliyer atreziyi desteklemektedir (30).

Kolestazda özetle; Biyokimyasal değerlerde, serum total bilirubini artar, total bilirubin düzeyi 3 mg/L üzerine çıktığı zaman klinik olarak ikter belirir. Total bilirubinin %60'dan fazlasını direkt bilirubin oluşturur. Malign tıkanıklıklarda bilirubin progresif olarak artar. Serum transaminazları AST ve ALT normalin 2-3

katı artarken, ALP normalin 10 katı artar. Uzamış ekstrahepatik tıkanmalarda ALP'nin normal olması nadirdir. GGT bunlara paralel olarak normalin 2-4 katı artış gösterir (29).

2.7. Tanı

Antenatal dönemde gestasyonun 32. haftasında USG ile karaciğer hilusu ve safra kesesi ile ilgili patalojilerin tanımlanması mümkündür (33). Postnatal dönemde ana semptomlar uzamış sarılık, akolik gayta, koyu renkli idrar ve hepatomegalidir. Sarılık bazen neonatal sarılığı takiben ortaya çıkarken bazen de doğumdan kısa bir süre sonra görülebilir. Yeni doğmuş hastalarda mekonyum rengi normaldir. İlerleyen zaman içerisinde akolik gayta gelişir. İdrar rengi koyu kahverengidir. Karaciğer aylar içerisinde giderek büyür. Hepatomegaliyi takiben splenomegali gelişebilir (34). Doğumdan sonraki ilk bir kaç ay hastalar aktiftir ve normal büyürler (34). Daha sonra yağda eriyen vitaminlerin malabsorbsiyonu, anemi, malnutrisyon, gelişme geriliği ve karaciğer sirozu gelişir. Biliyer atrezide tanı yöntemleri Tablo 2'de verildi.

Bilier atrezili hastalar için fenilketonüri, işitme testi gibi yenidoğan döneminde uygulanan standart bir tarama testi henüz belirlenmemiştir. Her yenidoğanda kan örneği alarak serum safra asitlerinin ve konjuge bilirubin değerlerinin ölçümü hem pratik değildir, hem de yapılan çalışmalar istenilen sonucu vermemiştir.

En önemli tarama çalışmalarından birisi olan “dışkı rengi kartları” Japonya’da başlatılmıştır. Şu anda ise Japonya’nın yanı sıra İngiltere, Galler, İspanya, Arjantin ve Tayvan gibi ülkelerde kullanılmaktadır. Dışkı renklerini örnekleyen 7 karttan oluşan bu tarama yönteminde annelere verilen bu kartlara bakarak 1. ay kontrolünden hemen önce çocuğunun dışkısına uyan rengin numarasını belirleyerek bir forma doldurması istenir. Dışkı rengi hekimi tarafından doğrulandıktan sonra kartlar ve form kitlesel tarama merkezine gönderilir. Bu yolla bilier atrezi hastalarının erken tanınması ve tedavisi mümkün olmaktadır (21).

Neonatal hepatit ve biliyer hipoplazi, biliyer atrezi ile en sık karışan patolojilerdir. Sarılığı olan bir bebekte akolik gayta, koyu idrar ve hepatomegali görüldüğü zaman biliyer atreziden şüphelenilmelidir. Biliyer atrezide karaciğer fonksiyon testleri tek başına tanı koymak için yeterli değildir. Kesin tanı için spesifik biyokimyasal çalışmalar, ekstrahepatik safra kanallarının açık olup olmadığının

kontrol edilip ve aynı zamanda histopatolojik çalışma için iğne biyopsisinin alındığı testler genellikle gereklidir (36). Serum Lp-X testi biliyer atrezili hastaların tamamında pozitifdir. Lp-X testi pozitif olan neonatal hepatitli hastaların %20-40'ında biliyer atrezi yoktur. GGT seviyesi de biliyer atrezili hastalarda yüksek olduğu için her iki testin beraber yapılması önerilmektedir (30). Serum safra asit seviyesi diğer kolestatik sarılıklı hastalarda da yüksek olduğu için ayırıcı tanıda faydası yoktur (37).

Duodenal sıvı aspirasyon testi safra kanallarından geçiş olup olmadığını gösteren kolay, hızlı ve ucuz bir testir (38). Aralıklı duodenal aspirasyonlarda veya 24 saatlik takipte alınan duodenal sıvıda safra saptanırsa biliyer atrezi ekarte edilir. Biliyer atrezili bebekte gayta üzerinde spektroskopi ile 730-nm dalga boyunda ışık elde edilemez. Biliyer atrezinin ayırıcı tanısında teknesyum ile işaretlenmiş ajanların kullanıldığı hepatobiliyer sintigrafi de kullanılabilir. İnce barsaklarda izotopun gösterilmesi biliyer atreziyi ekarte ettirir (38). USG kolestatik sarılıklı hastalarda yapılması gereken basit ve non-invaziv bir tanı yöntemidir (39). İntrahepatik safra kanalları inflamatuvar değişikliklerden etkilendiğinden genellikle dilate değildir. Koledokun görülememesi ya da safra kesesinin varlığı ise biliyer atrezi'yi ekarte ettirmez. Son yıllarda tanımlanmış olan portal ven bifurkasyonunun kranialinde üçgen ya da tübüler yapıda ekojenik bir dansitenin varlığı "triangüler kord bulgusu" olarak adlandırılır ve triangüler kordun 4 mm'den kalın olması biliyer atrezi tanısında %80 duyarlılık, %98 öznellik ve %94 pozitif prediktif değere sahiptir (21,59,60).

İnvaziv olmayan diğer testler arasında Tc 99m iminodiaseteik asit hepatobiliyer sintigrafi (HIDA), HIDA'nın duyarlılığı %95, özneliği %50-75 dir. Ursodeoksikolik asit kullanımı ile özneliği %88 düzeyine çıkmıştır (21).

Küçük çaplı endoskopların geliştirilmesi ile bebeklerde de endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) yapılabilmektedir (40).

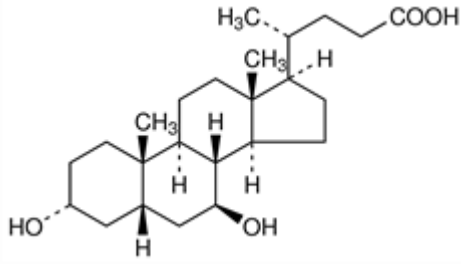
Magnetik rezonans kolanjiografi de tanıda kullanılmaktadır. MRCP'nin %100 kesin sonuç verdiği söylenmekle birlikte deneyimler henüz sınırlıdır. Özellikle, yenidoğan bebekte derin sedasyon gerektirmesi, solunum artefaktlarının fazla olması yorum yapılmasını güçleştirmekte ve tanı ve ayırıcı tanıda pek yararlı değildir (21).

Eksploratif laparotomi/laparoskopi ve intrahepatik kolanjiografi yapılırken aynı anda tanının doğrulanması için karaciğer biyopsisi de alınabilir.

Tablo 2. Biliyer atrezide tanı yöntemleri:

Antenatal Tanı	-USG Gestasyonun 32. haftasında karaciğer hilusu ve kistik kitlenin tanımlanması (33)
Postnatal Tanı	1. Belirti – bulgu (sarılık > 2 hafta, gayta rengi ve idrar renginde koyulaşma, hepatomegali, splenomegali, anemi, malnutrisyon, gelişme geriliği, siroz, kafa-içi kanama) 2. Rutin inceleme (Gayta rengi, KC fonksiyon testleri, T -4, TSH, TORCH serolojisi) 3. Özel biyokimya tetkikleri (Serum Lp X, serum safra asidleri, idrarda safra asidleri, Alfa-1 Antitripsin, galaktoz-1-fosfat UDT) 4. Ultrasonografi 5. KC – safra yolları sintigrafisi 6. KC – biopsi 7. MRCP 8. ERCP 9. Duodenum tubajı 10. Tanısal– laparoskopi 11. Tanısal Operasyon – eksplorasyon – kolanjiografi

2.8. Ursodeoksikolik asid



Resim 1. Ursodeoksikolikasit'in kimyasal yapısı gösterilmiştir.

Normal insan safrasında çok düşük miktarlarda bulunan bir safra asidi olan ursodeoksikolikasit (Ursodiol) (UDKA) ilk kez bu yüzyılın başlarında, geleneksel tıpta çeşitli amaçlarla kullanılan Çin Siyah Ayısının safrasından izole edilmiştir (40). Daha sonra Japonya'da sentetik olarak üretimine başlanan bu safra asidi 1970'li yıllardan itibaren çeşitli kolestatik karaciğer hastalıklarında kullanılmaya başlanmış ve özellikle 1980'li yıllardan sonra kullanım endikasyonlarıyla ilgili çalışmalar artmıştır (42). Safra tuzlarının önemli bir kısmı hidrofobik özelliktedir ve bu özellik ile hepatotoksisite arasında doğrudan ilişki bulunduğu gösterilmiştir. UDKA majör safra tuzlarından kenodeoksikolik asit'in 7 β epimeridir ve normal insan safra havuzunun ancak %1'ini teşkil eder. Kendisinde bir dihidroksi safra tuzu olmakla beraber, hidroksil grubunun β yerleşimi kenodeoksikolikasit'ten daha fazla hidrofilik ve bundan dolayı da daha az hepatotoksik olmasını sağlamaktadır (43).

İlk kez 1985 yılında, Lewchner ve arkadaşları, kolesterol safra taşlarını eritmek amacıyla UDKA kullanan kronik aktif hepatitli hastalarda serum aminotransferaz düzeylerinde belirgin azalma olduğunu bildirmişlerdir (44). Bu önemli gözlemi izleyen yıllarda çeşitli karaciğer hastalıklarında yapılan çalışmaların büyük bir kısmında da benzer sonuçların elde edilmesi, UDKA hepatolojinin popüler ilaçlarından birisi haline getirmiştir (45,46).

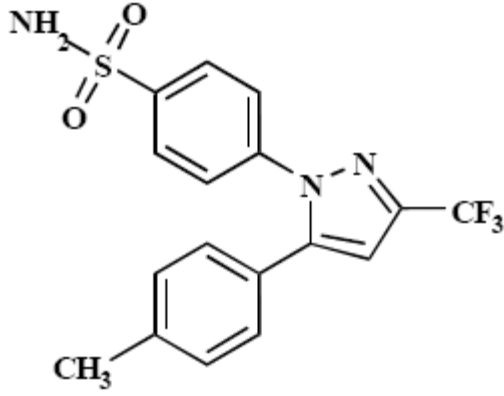
UDKA bir başka önemli etkisi hücre membranlarının stabilizasyonudur. İlacın özellikle hepatositlerin membranındaki kolesterol ve fosfolipidlerin çözünürlüğünü azaltarak toksik safra tuzlarının hepatotoksik etkisini engellediği düşünülmektedir (47). Tedavi dozlarında verilen UDKA hiperkolerezis, toksik safra tuzlarının ileumdan geri emilimini azaltma, safrada bulunan hidrofobik safra tuzlarının yerine geçerek safranın kompozisyonunu değiştirme, membran stabilizasyonu ve immün modülasyon gibi çeşitli etkileri ile kolestatik karaciğer

hastalıklarında siroza kadar giden patolojik değişiklikleri önleyebildiğine inanılmaktadır. Bunun yanısıra ve belkide en önemlisi, 1-2 yıllık tedavi dönemi sonunda başlangıç biyopsilerine göre belirgin histolojik düzelme görüldüğü öne sürülmektedir (48).

Oral yolla alınan UDKA %30-60'ı barsaklardan emilir. Emilen UDKA %60'dan fazlası karaciğerden ilk geçişte hepatositler içine alınır. Dolayısıyla, kolestatik ve belirgin karaciğer hastalığı olmadığı takdirde, ilacın çok az bir kısmı sistemik dolaşıma aktarılabilmektedir. Karaciğerde glisin ve taurinle konjugasyondan sonra süratle safraya atılan UDKA alınımından 1 -3 saat sonra buradaki zirve düzeyine ulaşır. Farmakolojik dozlarda safranin temel tuzu haline gelerek, safra tuzu havuzundaki payı %50'ye kadar çıkar. Daha sonra barsağa geçen UDKA büyük bir kısmı geri emilirken, bir kısmı da çözünmeyen safra tuzları haline dönüştürülerek gayta ile atılır. İnsanlarda UDKA biyolojik yarı ömrü 3.5 ile 5.8 gün arasında değişmektedir. İlaç kesildikten sonra, safra ve serumdaki düzeyleri giderek düşer. Kolestramin, kolestipol, aktif kömür, sukralfat ve antasitler gibi ajanlar UDKA emilimini bozarak biyo-yararlanımını azaltırlar (49).

UDKA tedavisinin en yoğun biçimde uygulandığı kolestatik karaciğer hastalığı primer biliyer sirozdur (50). Bu hastalarda UDKA tedavisi ile serum bilirubin, alkalen fosfataz, aminotransferazlar ve glutamil transpeptidaz düzeylerinde belirgin düşme olduğu gösterilmiştir (51,52).

2.9. Siklooksijenaz İnhibitörleri (COX İnhibitörleri)



Resim 2. Siklooksijenazın'ın kimyasal yapısı gösterilmiştir.

Siklooksijenazın yapısal (COX-1) ve indüklenebilir (COX-2) olmak üzere iki tipi vardır. COX-2 çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından indüklenmektedir. Glukokortikoidler selektif olarak COX-2 nin indüklenmesini inhibe ederler, COX-1'e dokunmazlar. COX-2'nin iltihap olayına yol açan çeşitli etkenler tarafından indüklenmesi pro-inflamatuar etkili prostoglandinlerin oluşumuna yol açarken, fizyolojik stimuluslar, trombositlerde damar endotelinde, mide mukozasında, böbrekte, pankreasın langerhans adacıklarında, seminal vezikülde ve beyinde COX-1 aracılığıyla genelde koruyucu işlev yapan çeşitli siklooksijenaz ürünleri oluşumuna yol açmaktadır. Ancak COX-2'nin de birçok fizyolojik işlevlere katkısı vardır. Başlangıçta Non-Stroid Antiinflamatuvar İlaçlar'ların (NSAİ) yararlı etkilerinin COX-2 inhibisyonuna ve zararlı etkilerinin ise COX-1'in inhibisyonuna bağlı olduğuna inanılması nedeniyle; COX-2'yi selektif veya spesifik olarak inhibe eden bir ilacın, bu iki izoformun ikisinde inhibe eden NSAİ'lardan daha güvenli olacağını düşünülmiştir. COX inhibitörleri, iki izoform karşısındaki etki güçleri göz önüne alınarak dört gruba ayrılmıştır (53):

- COX-1'e özgül
- COX2'ye özgül olmayan
- COX-2'ye selektif
- COX-2'ye özgül inhibitörlerdir.

COX-2 inhibitörü ilaçlar mukoza hasarına bağlı gastrointestinal yan etki oluşturmak açısından güvenilir ilaçlardır. Ayrıca COX-2 indüksiyonunun ve bu enzim aracılığıyla oluşan yararlı prostoglandinlerin olaya karıştığı peptik ülser iyileşmesi,

Helicobacter Pylori gastriti ve inflamatuvar kolon hastalıkları gibi gastrointestinal patolojilerde ve böbreğin hemodinamik ve su-tuz itrahi ile ilgili işlevlerinde klasik NSAİ'lar gibi, olumsuz etki yapmamaktadırlar. Son zamanlarda selektif COX-2 inhibitörlerinin kardiyovasküler sistemle ilgili yan etkileri bildirilmiştir. Bu nedenle, bu grup ilaçların klasik NSAİ'ların özellikle gastroenteropatik yan etkileri çok daha düşük oranda göstermelerine karşılık, başka sistemlerle ilgili önemli yan etkileri olması olasıdır (53).

Halen kullanılan COX-2'ye selektif üç ilaç (meloksikam, nimesulid, etodolak) ve COX-2'ye özgül iki ilaç (selekoksib, rofekoksib) vardır.

2.9.1. Selekoksib

COX-2'ye özgül ilaçlar içinde klinik kullanıma giren ilk ilaçtır. Diarilpirazol türevidir. COX-2'ye, COX-1'den 375 kez daha selektiftir. Çok yüksek dozlarda bile trombosit fonksiyonlarını bozmaz. Oral alımdan sonra absorpsiyon hızı orta düzeydedir. Alındıktan 2-4 saat sonra plazmada maksimum seviyeye ulaşır. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır. İlacın çok az bir kısmı değişmeden atılır, büyük çoğunluğu karboksilik asit ve glukronik metabolitleri şeklinde gayta ve idrarla atılır. Eliminasyon yarılanma ömrü yaklaşık 11 saattir. Flukanazol ve lityum ile önemli ilaç etkileşimleri söz konusudur. CYP2C9 ile metabolize olmaktadır, aynı enzimle metabolize olan ilaçlarla birlikte kullanılmamalıdır. Selekoksib'in başlıca yan etkileri sersemlik, karın ağrısı, epigastrik rahatsızlık hissi, ödem ve su retansiyonu, bulantı, ekşime, diare, baş ağrısı ve kaşıntıdır. Kan basıncını yükseltebilir.

COX-2'nin birçok prostoglandin (PG), prostasiklin (PS) ve tromboksanların (TBX) üretiminde önemli rolü vardır. Karaciğer fibrozisi ve ve hepato-karsinogenezde COX-2 inhibitörlerinin kemoprotektif etkinliği hayvan modellerinde gösterilmiştir. Bu sonuçlar COX-2 inhibitörlerinin karaciğer fibrozisini önlemesi ve hepato-karsinogenezde ve karaciğer kanseri tedavisinde bir hedef olma olasılığını yükseltir (54).

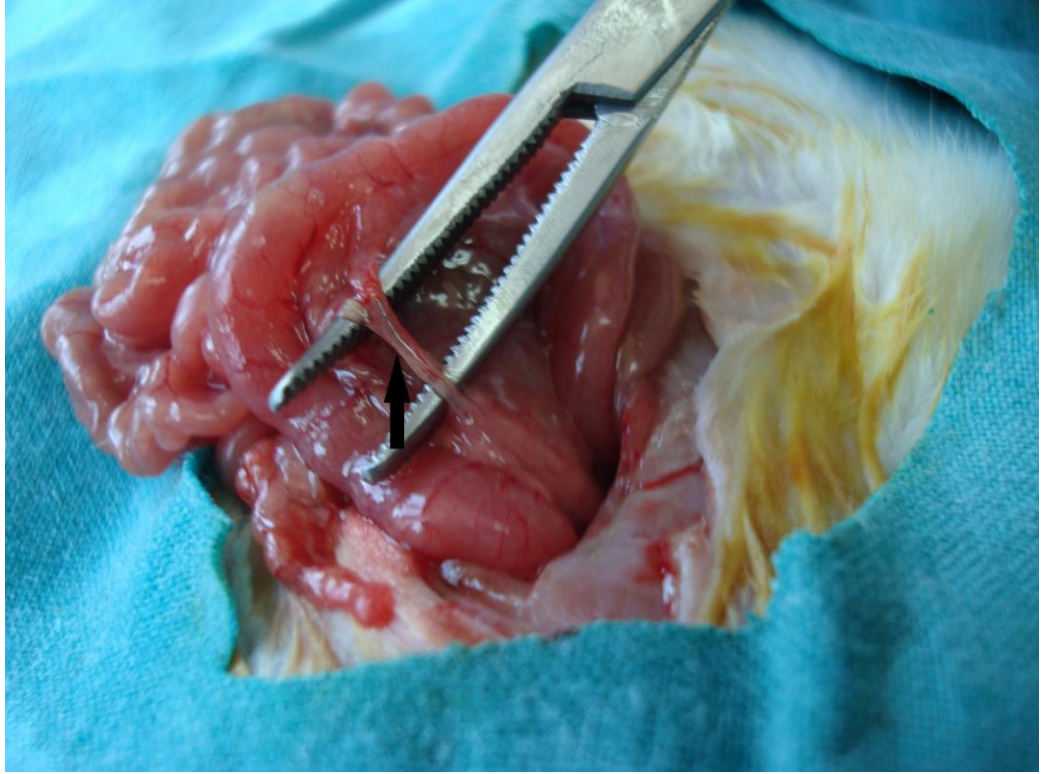
3. MATERYAL ve METOD

3.1. Deney Modeli

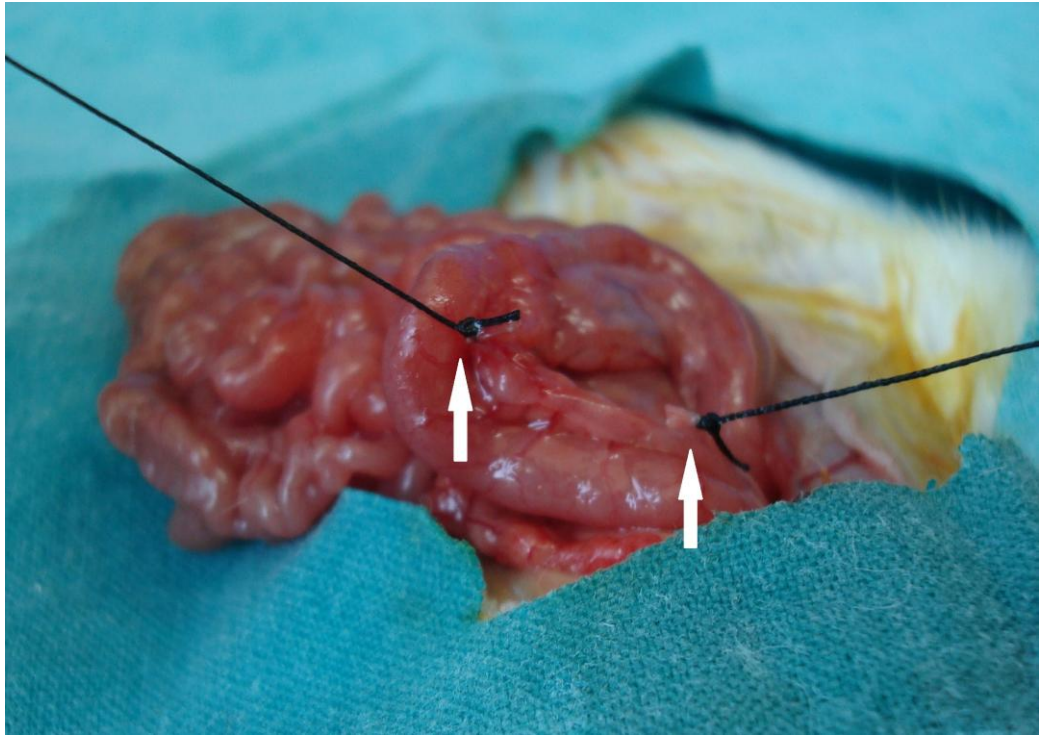
Ekstrahepatik safra yolları (EHSY) obstrüksiyonu ağırlıkları 120-220 gram arasında değişen 50 prepubertal Sprague-Dawley erkek sıçan kullanılarak oluşturuldu. Deney Düzce Üniversitesi Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Hayvanların işlem öncesi ve sonrası standart yem ve şehir şebeke suyu ile beslenmeleri serbest bırakıldı.

Preanestezik olarak ketamine hidroklorür (Ketalar[®], Eczacıbaşı, İstanbul/Türkiye) (25mg/kg, im), sedasyon amacıyla ketamine+xylazine hydrochlorure (Rompun[®] 23.32 mg/ml, Bayer, Germany (10 mg/kg ve 3mg/kg sırasıyla, ip.) analjezi için buprenorphine (Tengesic[®] 0.3 mg, Schering, Germany, 01-0.05 mg/kg, sc.) kullanıldı.

Sıçanların karın derisi traş edilip steril koşullarda orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. Kontrol (Sham) grubunda EHSY sadece çevre dokularından serbestlendi. İlaç verilmeyen, UDKA ve COX-2 inhibitor alan gruplarda EHSY çevre dokularından serbestlendikten sonra Criado ve arkadaşlarının tariflediği şekilde iki adet 4/0 ipek ile bağlanarak kesildi (78) (Resim 3 ve 4). Karın ön duvarı 4/0 ipek ile tek tek kapatıldı.



Resim 3. Ekstrahepatik safra yollarının çevre dokularından serbestlendikten sonraki görünümü.



Resim 4. Ekstrahepatik safra yollarının kesildikten sonraki görünümü.

3.2. Deney protokolü

Her biri 10 sıçandan oluşan 50 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Tüm gruplarda işlem öncesi: Sıçanların ağırlıkları alındı.

Tüm gruplarda işlemden sonraki 3. haftanın sonunda: Sıçanların ağırlıkları tekrar ölçüldü. ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP için kan, histopatolojik değerlendirme için karaciğer dokusu alındı.

Grup 1 (Sham-Kontrol grubu, n = 10): Laparotomi uygulanarak EHSY sadece çevre dokularından serbestlendi ve karın kapatıldı.

Grup 2 (İlaç tedavisi almayan grup, n = 10): Laparotomi uygulanarak EHSY çevre dokularından serbestlendi 4/0 ipek ile bağlanarak kesildi ve karın kapatıldı.

Grup 3 (2,5g/kg UDKA asit alan grup, n = 10): Laparotomi uygulanarak EHSY çevre dokularından serbestlendi 4/0 ipek ile bağlanarak kesildi ve karın kapatıldı. 21 gün boyunca 2,5g/kg UDKA gavaj tüpü ile verildi.

Grup 4 (30mg/kg COX-2 inhibitor alan grup, n = 10): Laparotomi uygulanarak EHSY çevre dokularından serbestlendi ve 4/0 ipek ile bağlanarak kesildi, karın duvarı kapatıldı. 21 gün boyunca 30mg/kg COX-2 inhibitor selekoksib gavaj tüpü ile verildi.

Grup 5 (2,5g/kg UDKA asit ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan grup, n = 10): Laparotomi uygulanarak EHSY çevre dokularından serbestlendi ve 4/0 ipek ile bağlanarak kesildi, karın duvarı kapatıldı. 21 gün boyunca 2,5g/kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitorü gavaj tüpü ile verildi.

3.3. Biyokimyasal Çalışma

Abdominal aortadan 3-4 ml kan heparinize tüplere alındı. Kan santrifüje edildi ve biyokimyasal çalışmalar için standard bir otoanalizör olan Roche HITACI Cobas 6000 enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak ALP, GGT, total bilirubin, AST, ALT ve total protein değerleri ölçüldü.

3.4. Histopatolojik Çalışma

Çalışma dört gruptaki tüm sıçanlardan hepatektomi ile alınan 50 adet karaciğer dokusu üzerinde yapıldı. Karaciğer dokuları %10'luk formol içinde tespit edildi. Bu bloklardan alınan kesitler (5 µm kalınlığında) Hemotoksilen- Eosin (H-E) ve fibrozis için Masson's trichrome ile boyandı. Kesitlerde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal enflamasyon, polimorfo nötrofiler lökosit (PNL) ve hepatosit nekrozu varlığı için incelendi.

Histopatolojik değerlendirmede 10 farklı alanda objektif takılı mikrometre (x200 büyütme ile , Nikon Eclipse 80i) veya ışık mikroskopu (x100 büyütme , Nikon Eclipse 80i) ile değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel analiz

Verilerin karşılaştırılması SPSS (Statistical Package for Social Scienses) 10.0 istatistik programında yapıldı. Değerler ortalama±SD (Standard Deviasyon) olarak gösterildi. Ağırlık, biyokimyasal sonuçlar ve Histopatolojik sonuçların gruplar arasındaki değerlendirilmesinde, One-Way ANOVA Post Hoc Tukey's b test ve normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Testi ve farklılığa neden olan grubun tesbitinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğu zaman anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Prepubertal sıçanlarda EHSY obstrüksiyonunun biyokimyasal ve morfolojik olumsuz etkilerini saptamak ve bu etkilerin UDKA ve COX-2 inhibitörleri ile düzelişip düzelmeyeceğini araştırmak amacıyla planlanan çalışmamızda şu sonuçlar alındı.

Tüm grupların 3 haftalık takibi sonucunda kontrol grubunda ve EHSY obstrüksiyonu yapılan Grup 2 sıçanlarda 4 sıçan öldü. UDKA asit verilen Grup 3 sıçanlarda 1, COX-2 inhibitorleri verilen Grup 4 sıçanlarda 1 sıçan öldü, UDKA ve COX-2 inhibitorleri birlikte kullanılan sıçanlardan ölen olmadı. Ölen sıçanların yerine yeni sıçanlar deney için kullanılarak tüm gruplar 10 sıçana tamamlandı.

4.1. Ağırlık

Tüm gruplardaki sıçanlara ait kilo takip sonuçları tablo 3’de verildi. Grup 1, 2, 3, 4 ve 5 için EHSY bağlanmadan önce ve bağlandıktan sonra ölçülen kilo takip sonuçlarının ortalamaları sırasıyla $126,4 \pm 7,6$ ve 167 ± 10 , $138,9 \pm 6,1$ ve $114,3 \pm 7,3$, $170,3 \pm 6,7$ ve $153,6 \pm 8,3$, $172,5 \pm 6,1$ ve $153,3 \pm 6,4$, $177,3 \pm 5,8$ ve $166,5 \pm 5,7$ bulundu.

Tablo 3. Gruplara ait EHSY bağlanmadan önce ve bağlandıktan sonraki kilo sonuçları

Sıçan	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		Grup 5	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	130	150	140	118	165	152	175	155	185	180
2	125	165	148	125	180	165	168	152	168	165
3	118	170	135	112	168	150	175	148	175	170
4	136	160	128	105	175	155	168	145	178	160
5	140	180	138	118	172	165	172	152	182	170
6	125	175	140	108	178	162	167	168	185	165
7	122	155	142	112	175	155	170	152	175	165

8	116	170	135	115	160	145	175	158	170	160
9	130	180	148	125	168	145	170	148	180	165
10	122	165	135	105	162	142	165	155	175	165
Ortalama±SD	126,4±7,6	167±10	138,9±6,1	114,3±7,3	170,3±6,7	153,6±8,3	172,5±6,1	153,3±6,4	177,3±5,8	166,5±5,7

EHSY kesilen ve bağlanan Grup 2, 3, 4 ve 5’de 21 günlük takip sonucunda kontrol grubuna göre belirgin kilo kaybı olduğu saptandı ($p < 0,05$). Grup 2’de sıçanların Grup 3, 4, ve 5’e göre daha fazla kilo kaybettikleri gözlemlendi ($p < 0,05$). Grup 5’de sıçanların Grup 3 ve 4’e göre daha az kilo kaybettikleri gözlemlendi ($p < 0,05$).

Tablo 4. Grupların işlem öncesi ve sonrası ortalama kilo sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar	Ağırlık (gram)	
	Önce	Sonra
Grup 1	126,4±7,6	167±10
Grup 2	138,9±6,1	114,3±7,3
Grup 3	170,3±6,7	153,6±8,3
Grup 4	172,5±6,1	153,3±6,4
Grup 5	177,3±5,8	166,5±5,7

4.2. Biyokimya

Grup 1 (Sham-Kontrol)

EHSY sadece çevre dokularından serbestlenen kontrol (sham) grubunda ölçülen biyokimyasal değerler tablo 5’de gösterildi. Serumdan elde edilen ortalama

ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP değerleri sırasıyla 198,4±21,7, 7,3±1,25, 0.07±0.024, 177,7±36,7, 63,2±7,4 ve 4,7±0,85 bulundu.

Tablo 5. Grup 1 sıçanların 21 günlük takip sonrası ollen biyokimyasal değerleri

Sıçan	ALP (units/l)	GGT (units/l)	TB (mg/dl)	AST (units/l)	ALT (units/l)	TP (units/l)
1	156	6	0,13	223	71	6,2
2	209	5,8	0,07	172	54	4,8
3	199	7	0,05	143	62	4,7
4	206	8,3	0,07	187	58	4,6
5	189	5,5	0,09	140	59	5,9
6	201	7	0,09	124	63	5,1
7	244	8	0,05	242	59	4,8
8	193,7	7,7	0,05	190,2	71,4	3,4
9	189	9	0,07	168	77	3,9
10	198	8,8	0,08	188	58	4,1
Ortalama±SD	198,4±21,7	7,3±1,25	0.07±0.024	177,7±36,7	63,2±7,4	4,7±0,85

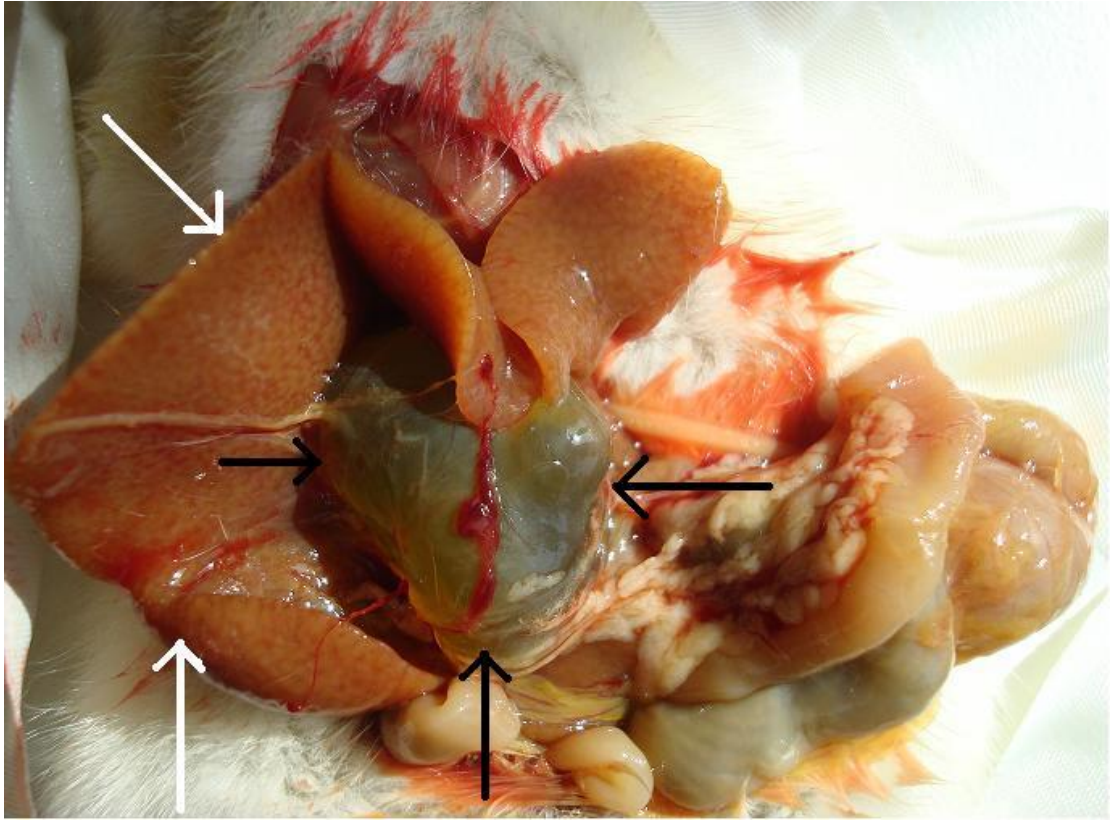
Grup 2 (Tedavi verilmeyen grup)

EHSY obstrüksiyonu sonrası tedavi verilmeyen Grup 2 'de (Resim 4) ollen biyokimyasal bulguların sonuçları tablo 6'da sunuldu. Ortalama ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP değerleri sırasıyla 387±8,4, 49±3,5, 10,6±2,3, 562,1±21, 142±4,7 ve 6,0±0,2 bulundu.

Tablo 6. Grup 2 sıçanların 21 günlük takip sonrası her bir sıçan için ollen biyokimyasal değerleri

Sıçan	ALP (units/l)	GGT (units/l)	TB (mg/dl)	AST (units/l)	ALT (units/l)	TP (units/l)
1	380	48	8,54	550	140	6,1
2	398	55	11,38	587	147	6,2
3	382	43	15,83	540	143	6,2

4	377	49	11,8	538	139	5,7
5	400	53	8,36	589	137	6,1
6	388	46	10,9	550	142	5,8
7	394	47	9,6	555	150	6,5
8	390	48	12,3	576	148	5,9
9	376	52	8,9	590	140	6,1
10	388	51	8,8	554	136	6,1
Ortalama±SD	387±8,4	49±3,5	10,6±2,3	562±21	142±4,7	6,0±0,2



Resim 5. Ekstrahepatik safra yolları kesildikten 21 gün sonra dilate olmuş proksimal safra yollarının görünümü (Siyah ok) ve Karaciğer (beyaz ok)

Grup 3 (2,5g/kg UDKA alan grup)

EHSY obstrüksiyonu yapılan ve 2,5g/kg UDKA verilen Grup 3'de ölçülen biyokimyasal bulgular tablo 7'de gösterildi. Serumdan elde edilen ortalama ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP değerleri sırasıyla 299,3±37,5, 27,7±3,62, 11,6±2,3, 371,3±69,4, 92,6±3,5 ve 5,3±0,7 bulundu.

Tablo 7. Grup 3 sıçanların 21 günlük takip sonrası her bir sıçan için ölçülen biyokimyasal değerleri

Sıçan	ALP (units/l)	GGT (units/l)	TB (mg/dl)	AST (units/l)	ALT (units/l)	TP (units/l)
1	289	32	11,4	455	94	4,1
2	211	27	10,38	340	88	6
3	337	21	14,82	288	89	5,7
4	348	30	9,62	449	92	6,1
5	298	33	7,9	457	94	4,2
6	295	25	14,14	303	90	5
7	327	27	13,57	290	95	5,9
8	296	30	9,9	333	89	5,8
9	305	25	14,3	378	98	5,4
10	287	27	10,8	420	97	5,1
Ortalama±SD	299,3±37,5	27,7±3,62	11,6±2,3	371,3±69,4	92,6±3,5	5,3±0,7

Grup 4 (30mg/kg COX-2 inhibitor alan grup)

EHSY obstrüksiyonu yapılan ve 30mg/kg COX-2 inhibitor verilen Grup 4'de ölçülen biyokimyasal bulgular tablo 7'de gösterildi. Serumdan elde edilen ortalama ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP değerleri sırasıyla 259,8±58, 13,5±2,63, 12,2±0,6, 234,7±59,5, 70±10 ve 6,0±0,2 bulundu.

Tablo 8. Grup 4 sıçanların 21 günlük takip sonrası her bir sıçan için ölçülen biyokimyasal değerleri

Sıçan	ALP (units/l)	GGT (units/l)	TB (mg/dl)	AST (units/l)	ALT (units/l)	TP (units/l)
1	223	13	11	341,3	72	5,8
2	335	13	11,51	127,2	68	6
3	245	15	12,65	203,2	65	6,1
4	217	12	12,58	228,8	73	5,9
5	248	14	12,87	177,5	75	6,2
6	339	13	12,31	277,9	67	6,3
7	195	8	12	270,7	68	6,1
8	339	16	12,43	269,8	71	6,3
9	194	18	12,1	217,1	73	6
10	263	13	12,9	234	70	5,7
Ortalama±SD	259,8±58	13,5±2,63	12,2±0,6	234,7±59,5	70±10	6,0±0,2

Grup 5 (2,5g/kg UDKA asit ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan grup)

EHSY obstrüksiyonu yapılan ve 2,5g/kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitor verilen Grup 5'de ölçülen biyokimyasal bulgular tablo 7'de gösterildi. Serumdan elde edilen ortalama ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP değerleri sırasıyla 303,8±44,84, 24±5,92, 9,9±0,9, 345,2±62,8, 74,2±13,2 ve 6,1±0,2 bulundu.

Tablo 9. Grup 5 sıçanların 21 günlük takip sonrası her bir sıçan için ölçülen biyokimyasal değerleri

Sıçan	ALP (units/l)	GGT (units/l)	TB (mg/dl)	AST (units/l)	ALT (units/l)	TP (units/l)
1	238	28	10,07	386	79	6,1
2	255	17	10,01	209	51	6,3
3	335	22	8,37	346	95	6
4	266	36	11,01	427	92	5,9
5	353	15	11,68	287	65	6

6	367	28	10,08	325	75	6,2
7	320	25	9,08	410	61	6,2
8	287	22	8,9	340	74	5,8
9	277	24	10,6	367	77	6,5
10	340	23	9,9	355	73	6,2
Ortalama±SD	303,8±44,84	24±5,92	9,9±0.9	345,2±62,8	74,2±13,2	6,1±0,2

Tablo 10. Sıçanların 21 günlük takip sonrası tüm gruplara ait biyokimyasal değerlerin ortalamaları (Mean±SD)

Grup	ALP (units/l)	GGT (units/l)	TB (mg/dl)	AST (units/l)	ALT (units/l)	Total Protein (units/l)
1	198,4±21,7	7,3±1,25	0.07±0.024	177,7±36,7	63,2±7,4	4,7±0,85
2	387±8,4*	49±3,5*	10,6±2,3*	562±21*	142±4,7*	6,0±0,2*
3	299,3±37,5*‡	27,7±3,62*‡	11,6±2,3*	371,3±69,4*‡	92,6±3,5*‡	5,3±0,7*†
4	259,8±58*‡	13,5±2,63*‡Δ	12,2±0,6*	234,7±59,5*‡Δ	70±6,2*‡	6,0±0,2*
5	303,8±44,84*‡	24±5,92*‡	9,9±0.9*§	345,2±62,8*‡	74,2±13,2*‡	6,1±0,2*

* Ligasyon yapılan tüm grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP değerleri yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p< 0,05).

‡ Grup 3,4,5'in ALP, GGT, AST, ALT değerleri açısından Grup 2'le karşılaştırılmasında düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p< 0,05).

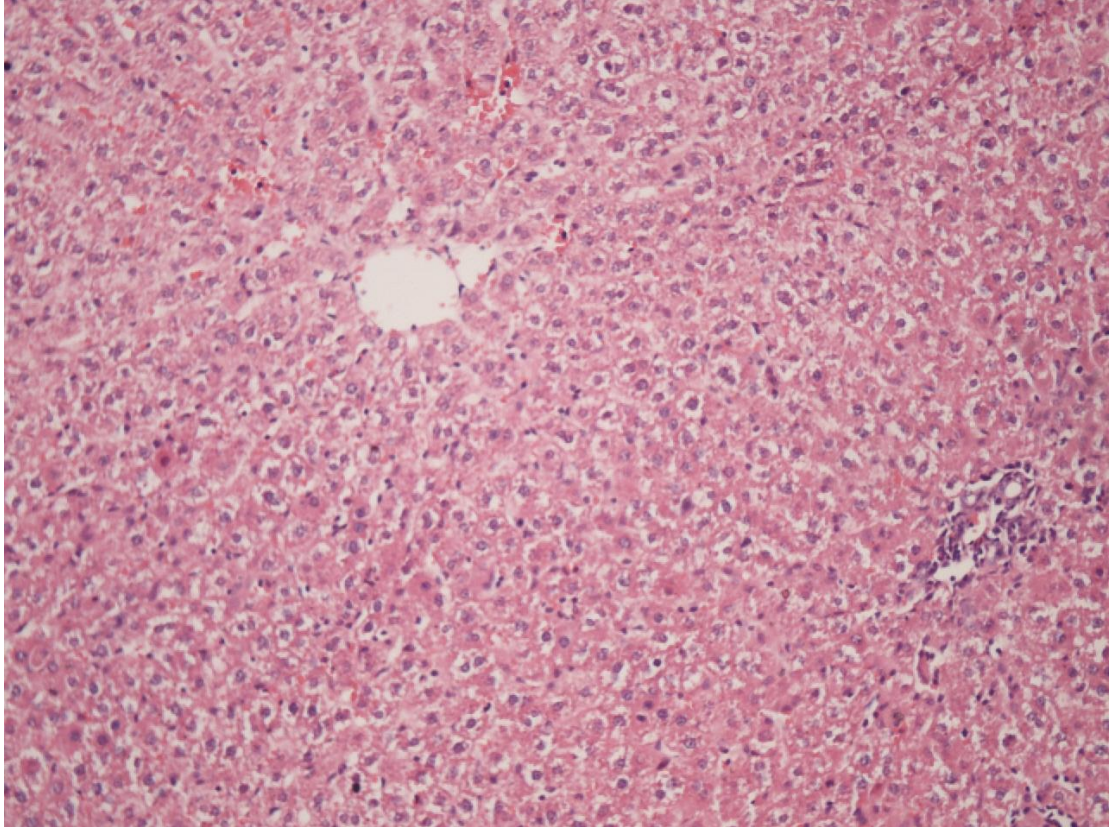
† Grup 3'ün TP değerleri açısından Grup 2,4,5'le karşılaştırılmasında düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p< 0,05).

Δ Grup 4'ün GGT ve AST değerleri açısından Grup 3 ve 5'le karşılaştırılmasında dūřuk olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

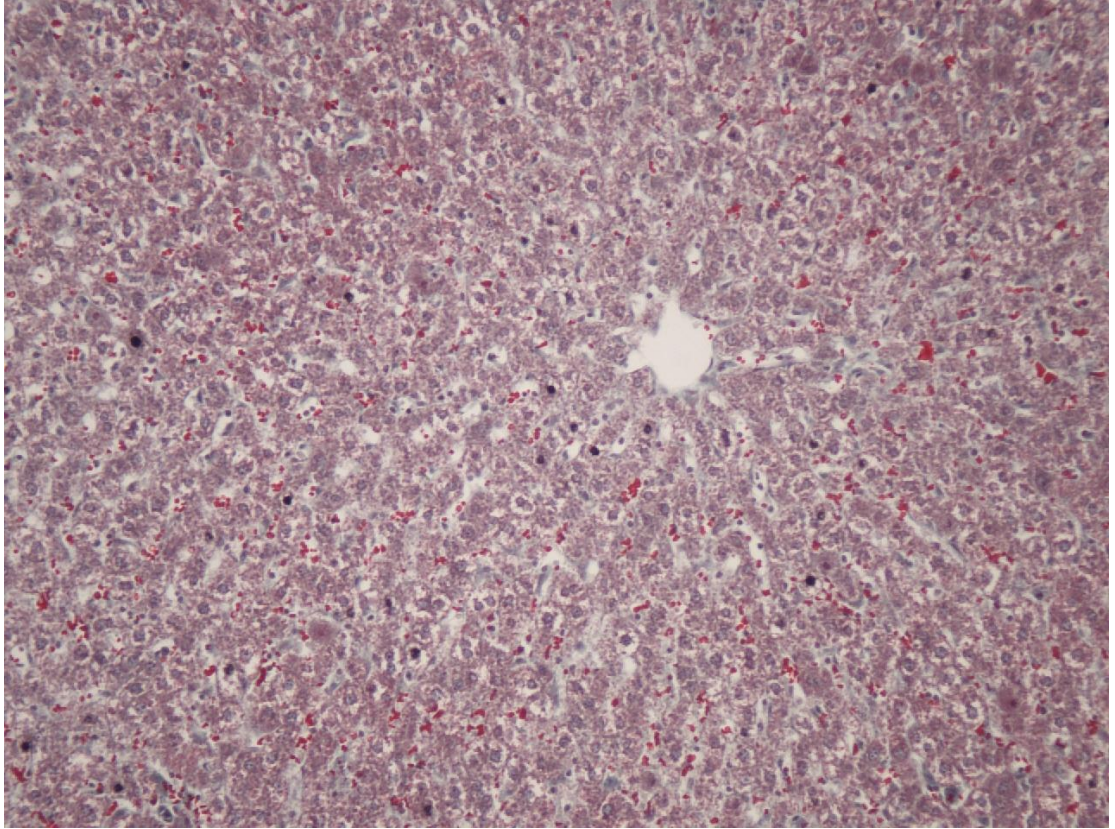
§ Grup 5'in TB değerleri açısından Grup 4'le karşılaştırılmasında dūřuk olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

4.3. Histopatoloji

Kontrol grubunda H&E ve Masson's trichrome boyama ile karaciğer dokusunda histopatolojik olarak herhangi bir morfolojik bozukluk gōzlenmedi (resim 6 ve 7).

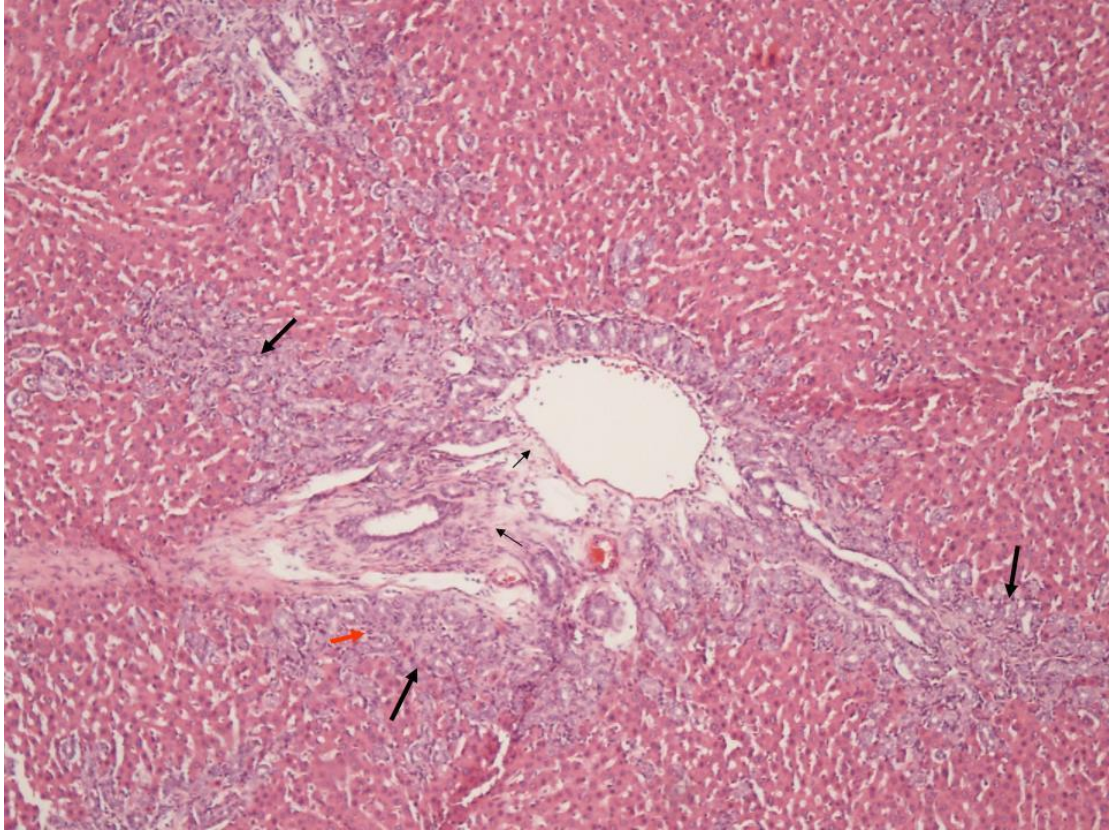


Resim 6. Grup 1'de (Sham-Kontrol) karacięerin normal histolojik gōrūnūmū (H&E, X200).

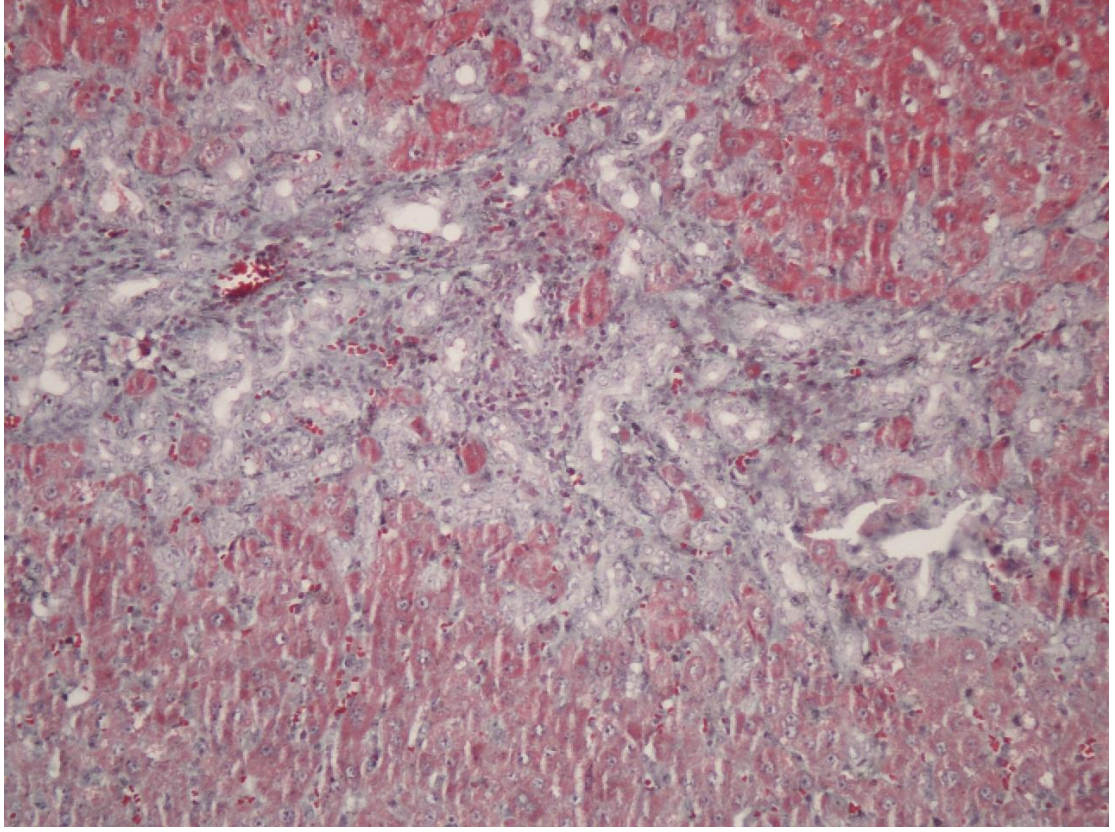


Resim 7. Grup 1'de (Sham-Kontrol) karaciğerin Masson's trichrome boyama ile normal histolojik görünümü (Masson's trichrome, X200).

EHSY kesilerek bağlanan ve tedavi verilmeyen Grup 2 sıçanların karaciğer dokularının histopatolojik olarak incelenmesinde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL ve hepatosit nekrozu alanları gözlemlendi. Masson's trichrome ile boyamada portal ve periportal alanda konnektif doku artışı saptandı (Resim 8, 9) (Tablo 12).

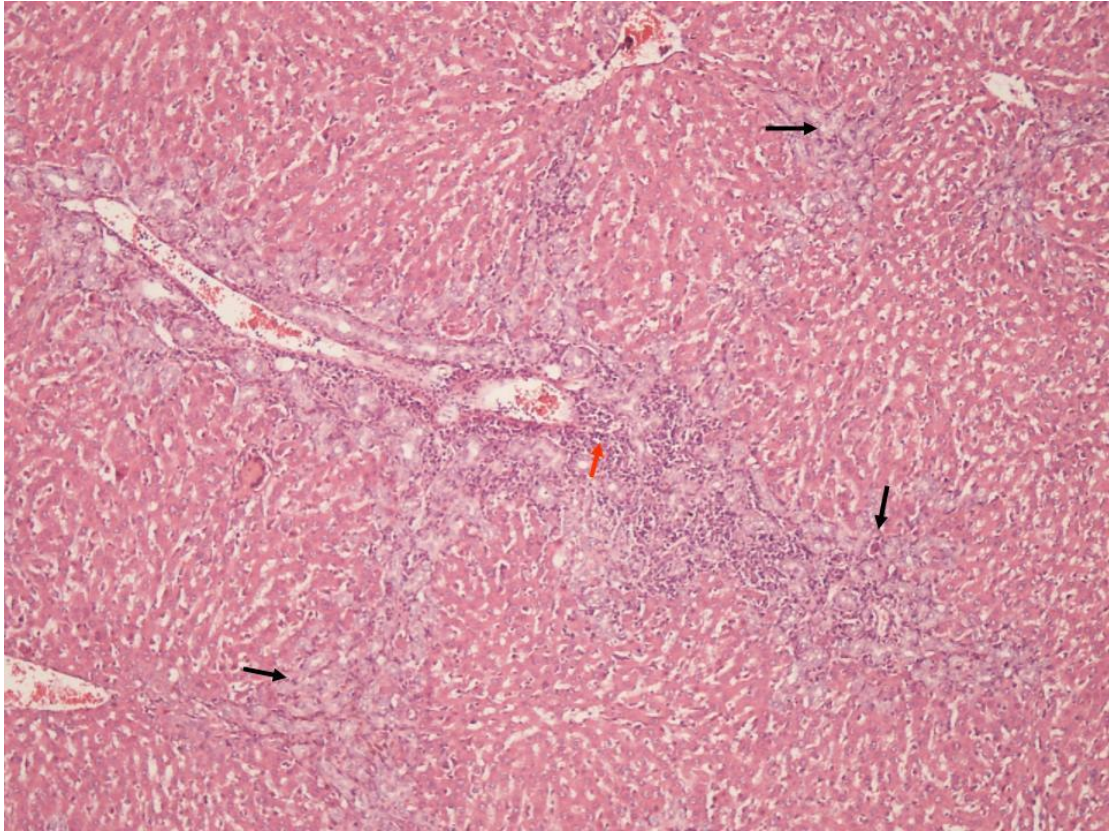


Resim 8. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve herhangi bir ilaç verilmeyen Grup 2 sıçanların histopatolojik bulguları. Duktüler proliferasyonun (kalın siyah ok) izlendiği portal alan çevresinde ödem (ince siyah ok), iltihabi hücre infiltrasyonu (kırmızı ok) bulguları (H&E, X100).

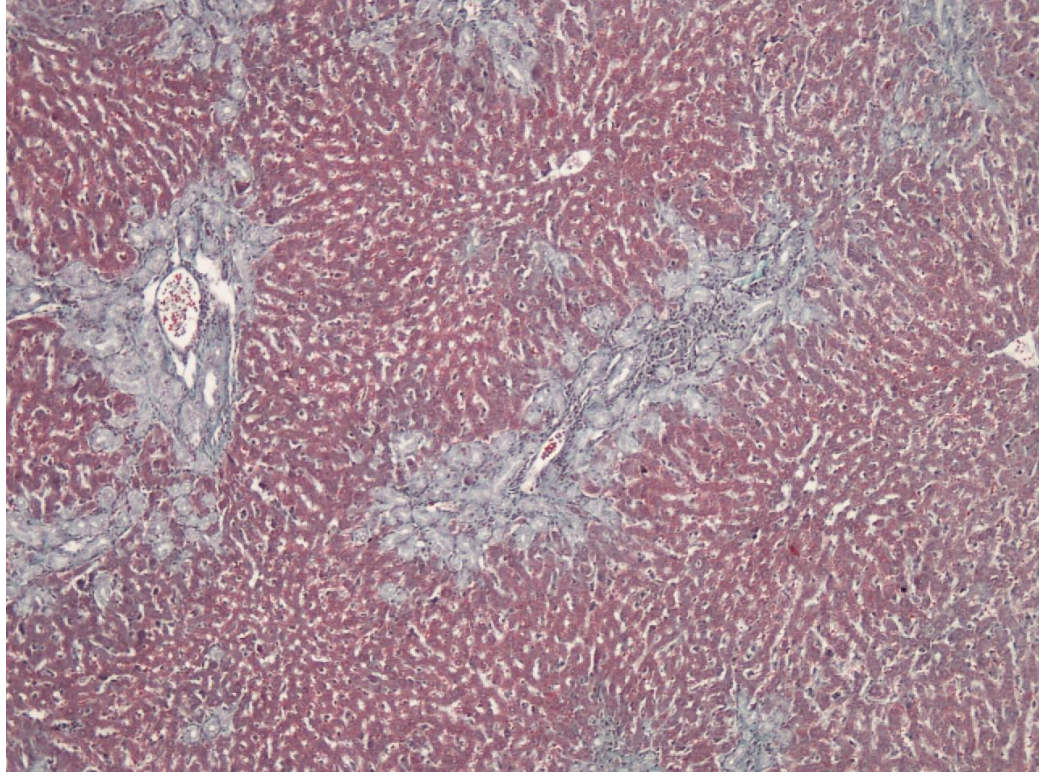


Resim 9. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve herhangi bir ilaç verilmeyen Grup 2 sıçanların histopatolojik bulguları. Belirgin konnektif doku artışının görünümü (Masson's trichrome, X200).

EHSY obstrüksiyonu oluşturularak 2,5g/kg UDKA asit alan Grup 3 sıçanların karaciğer dokularının histopatolojik olarak incelenmesinde portal ve periportal biliyer duktlarda daha az oranda proliferasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları saptandı. Masson's trichrome ile boyamada portal ve periportal alanda konnektif dokunun daha az biriktiği bulundu (Resim 10, 11) (Tablo 13).

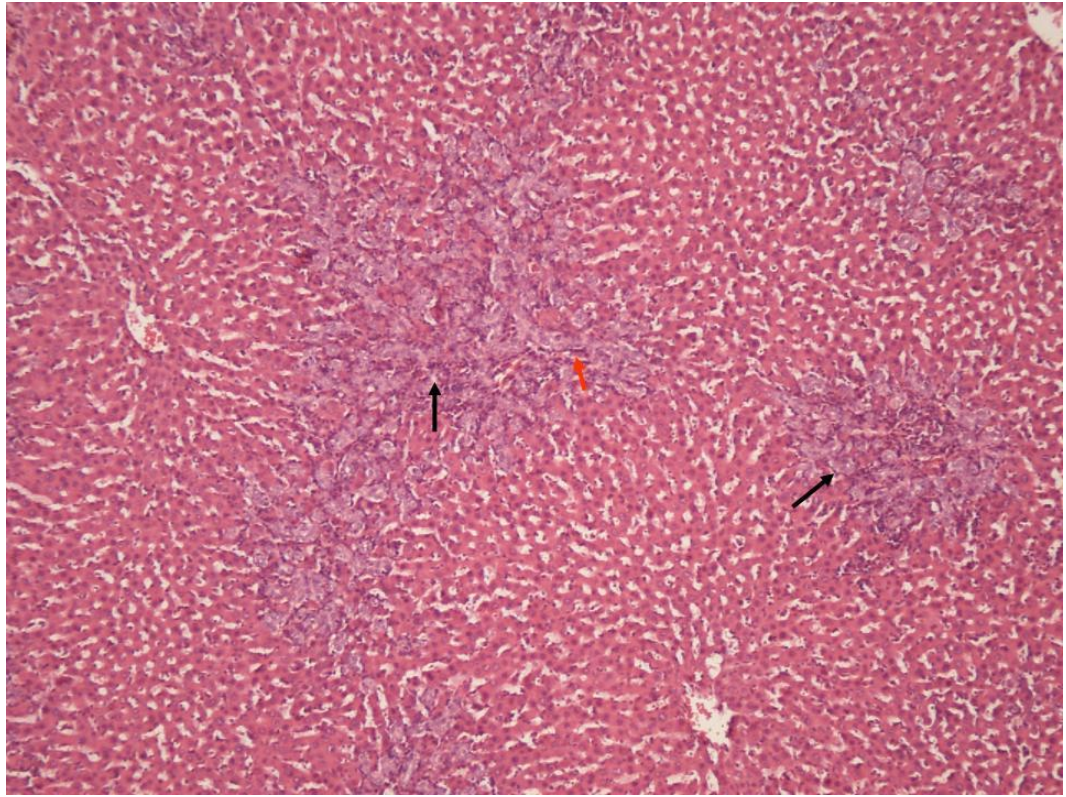


Resim 10. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve 2,5g/kg UDKA alan Grup 3 sıçanların histopatolojik bulguları. Grup 2 de izlenen bulgularla karşılaştırıldığında minimal düzeyde azalma gösteren portal ve periportal biliyer duktlarda proliferasyon (kalın siyah ok), inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları (kırmızı ok) (H&E, X100).

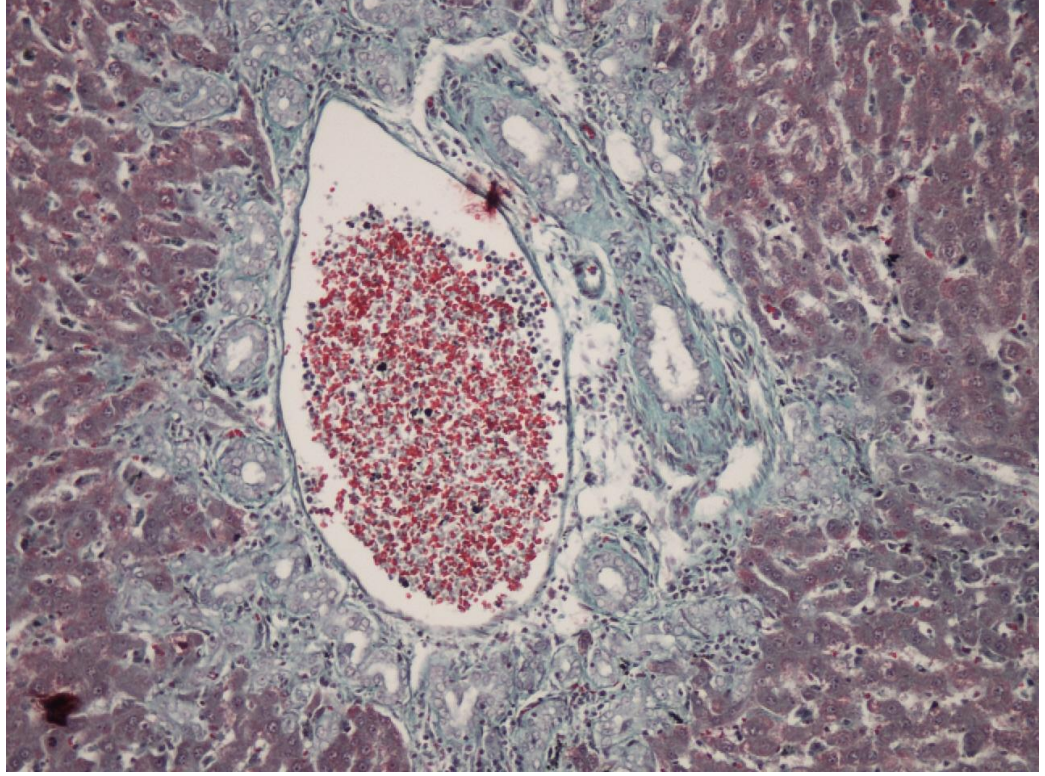


Resim 11. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve 2,5g/kg UDKA alan Grup 3 sıçanların histopatolojik bulguları. Grup 2 ile karşılaştırıldığında miyofibroblastik proliferasyonda minimal düzeyde azalma belirlendi (Masson's trichrome, X100).

EHSY obstrüksiyonu oluşturularak 30mg/kg COX-2 inhibitor alan Grup 4 sıçanların karaciğer dokularının histopatolojik olarak incelenmesinde portal ve periportal biliyer duktlarda daha az oranda proliferasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları saptandı. Masson's trichrome ile boyamada portal ve periportal alanda konnektiv dokunun daha az biriktiği bulundu (Resim 12, 13) (Tablo 14).

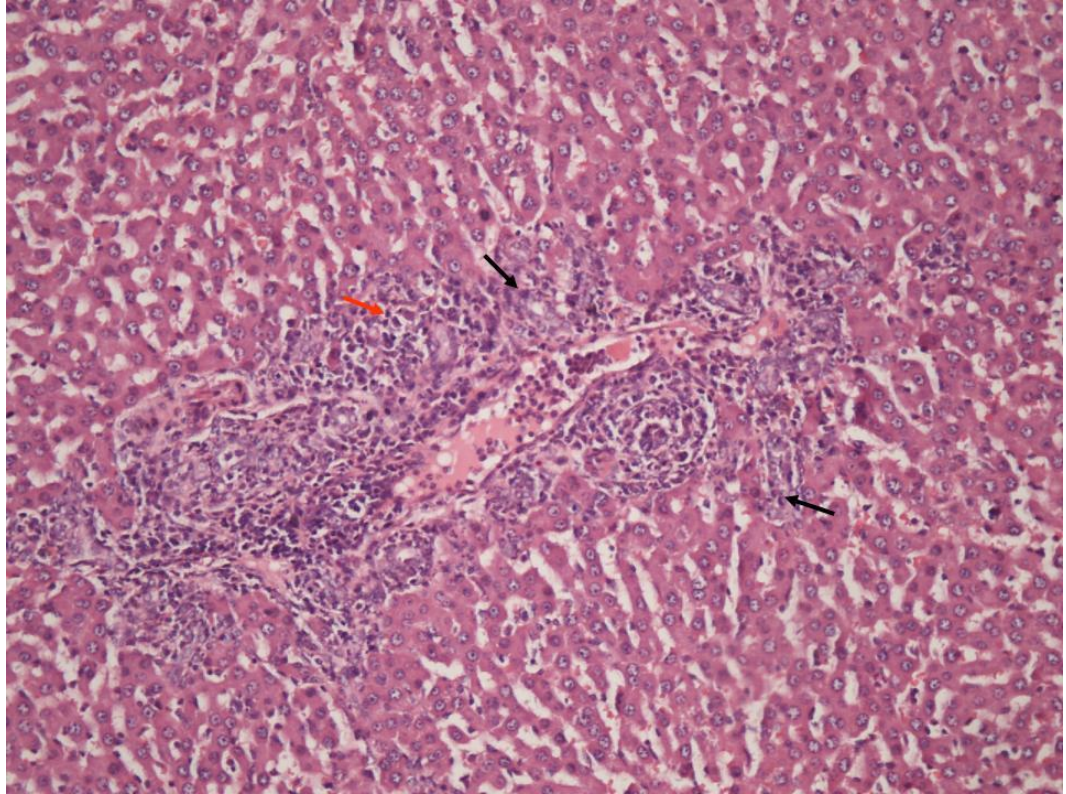


Resim 12. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan Grup 4 sıçanların histopatolojik bulguları. (H&E, X100). Grup 2' ye göre hafif derecede azalma gösteren portal ve periportal biliyer duktlarda proliferasyon (kalın siyah ok), inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları (kırmızı ok)

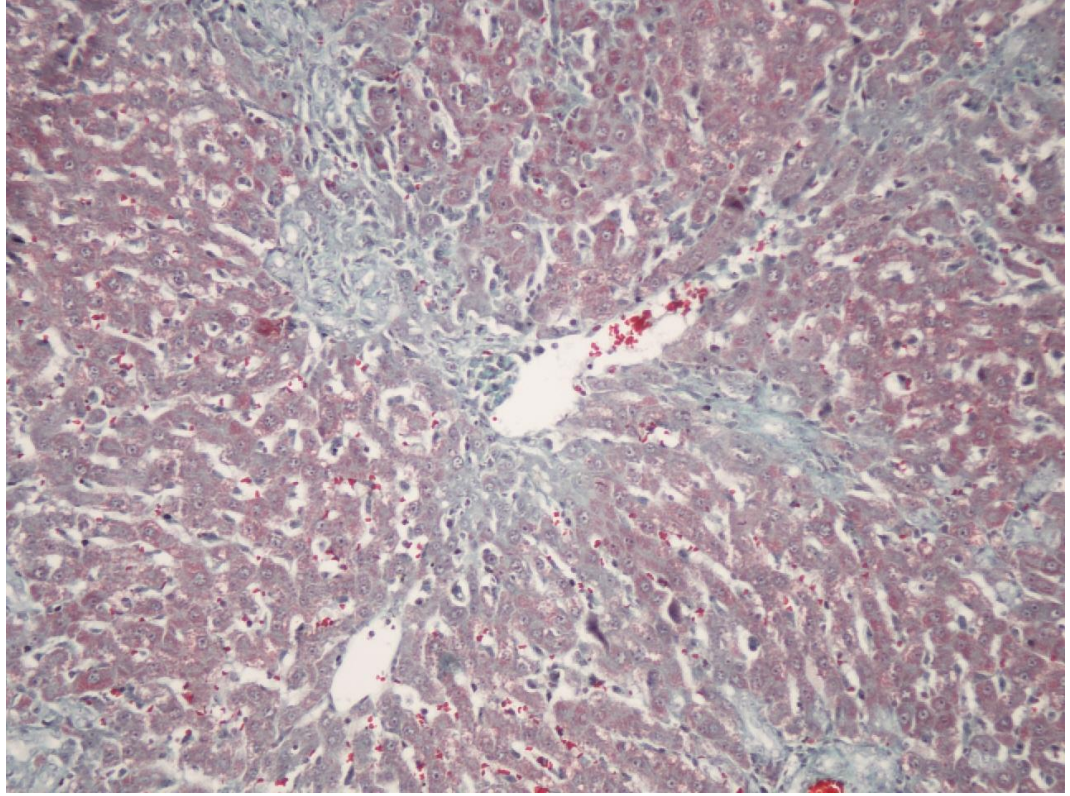


Resim 13. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan Grup 4 sıçanların histopatolojik bulguları. (Masson's trichrome, X200).

EHSY obstrüksiyonu oluşturularak 2,5g/kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan Grup 4 sıçanların karaciğer dokularının histopatolojik olarak incelenmesinde portal ve periportal biliyer duktalarda daha az oranda proliferasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları saptandı. Masson's trichrome ile boyamada portal ve periportal alanda konnektiv dokunun daha az biriktiği bulundu (Resim 14, 15) (Tablo 15).



Resim 14. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve 2,5g/ kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan Grup 5 sıçanların histopatolojik bulguları. Grup 2 ile karşılaştırıldığında portal ve periportal biliyer duktuslarda proliferasyonda belirgin derecede azalma (kalın siyah ok) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda (kırmızı ok) ise daha az oranda bir azalma belirlendi. (H&E, X200).



Resim 15. EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve 2,5g/kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitör alan Grup 5 sıçanların histopatolojik bulguları. Grup 2'ye göre hafif derecede azalma gösteren fibrozis alanları belirlendi (Masson's trichrome, X200).

Sonuç olarak, Grup 2'de tarif ettiğimiz periportal mesafede aktif proliferasyon odakları Grup 3, 4 ve 5'de izlenmedi.

Grup 1 (Sham-Kontrol)

EHSY sadece çevre dokularından serbestlenen kontrol (sham) grubunda yapılan Pataloji incelemesinde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL ve hepatosit nekrozu sırasıyla 0 ± 0 , 0 ± 0 , 0 ± 0 , 0 ± 0 , $0,2\pm 0,4$, $0,1\pm 0,3$ ve 0 ± 0 bulundu.

Tablo 11. Grup 1 sıçanların 21 günlük takip sonrası patolojik değerlendirilmesi

Gruplar	Fibrozis	Duktuler Proliferas	Fokal Duktuler	Portal Tract	Portal İnflamasy	PNL	Hepatosit Nekrozu

		yon	Kolestaz	Ekspansi on yonu			
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	1	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	1	0	0
8	0	0	0	0	0	1	0
9	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
Ortalama ±SD	0±0	0±0	0±0	0±0	0,2±0,4	0,1±0,3	0±0

Grup 2 (Tedavi verilmeyen grup)

EHSY obstrüksiyonu sonrası tedavi verilmeyen Grup 2'de yapılan patoloji incelemesinde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL ve hepatosit nekrozu sırasıyla 2,6±0,5, 2,9±0,3, 1,9±0,7, 2,7±0,4, 2,7±0,4, 1,9±0,5 ve 2,3±0,4 bulundu.

Tablo 12. Grup 2 sıçanların 21 günlük takip sonrası patolojik değerlendirilmesi

Gruplar	Fibrozis	Duktuler Proliferasyon	Fokal Duktuler Kolestaz	Portal Tract Ekspansiyonu	Portal İnflamasyon	PNL	Hepatosit Nekrozu
1	3	3	2	3	3	2	2
2	2	3	1	3	2	2	2
3	3	3	3	2	3	1	2
4	2	3	1	3	3	2	3
5	2	3	2	3	3	2	2

6	3	3	2	2	2	1	2
7	3	3	2	3	3	2	3
8	3	3	3	3	3	2	3
9	2	3	1	3	3	3	2
10	3	2	2	2	2	2	2
Ortalama ±SD	2,6±0,5	2,9±0,3	1,9±0,7	2,7±0,4	2,7±0,4	1,9±0,5	2,3±0,4

Grup 3 (2,5g/kg UDKA alan grup)

EHSY obstrüksiyonu yapılan ve 2,5g/kg UDKA verilen Grup 3'de yapılan Patoloji incelemesinde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL ve hepatosit nekrozu sırasıyla 2,2±0,6, 2,3±0,4, 1,4±0,5, 2,3±0,4, 1,1±0,3, 1±0 ve 0,8±0,4 bulundu.

Tablo 13. Grup 3 sıçanların 21 günlük takip sonrası patolojik değerlendirilmesi

Gruplar	Fibrozis	Duktuler Proliferasyon	Fokal Duktuler Kolestaz	Portal Tract Ekspansiyonu	Portal İnflamasyon	PNL	Hepatosit Nekrozu
1	2	2	1	2	1	1	1
2	2	2	1	2	1	1	1
3	3	3	1	3	1	1	0
4	3	3	1	3	2	1	1
5	2	3	1	2	1	1	1
6	3	2	1	3	1	1	1
7	2	2	2	2	1	1	1
8	2	2	2	2	1	1	0
9	2	2	2	2	1	1	1
10	1	2	2	2	1	1	1
Ortalama ±SD	2,2±0,6	2,3±0,4	1,4±0,5	2,3±0,4	1,1±0,3	1±0	0,8±0,4

Grup 4 (30mg/kg COX-2 inhibitor alan grup)

EHSY obstrüksiyonu yapılan ve 30mg/kg COX-2 inhibitor verilen Grup 4'de yapılan Patoloji incelemesinde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL ve hepatosit nekrozu sırasıyla $2,2\pm 0,6$, $2,3\pm 0,4$, $1,4\pm 0,5$, $2,3\pm 0,4$, $1,1\pm 0,3$, 1 ± 0 ve $0,8\pm 0,4$ bulundu.

Tablo 14. Grup 4 sıçanların 21 günlük takip sonrası patolojik değerlendirilmesi

Gruplar	Fibrozis	Duktuler Proliferasyon	Fokal Duktuler Kolestaz	Portal Tract Ekspansiyonu	Portal İnflamasyon	PNL	Hepatosit Nekrozu
1	3	3	1	3	1	1	1
2	3	3	1	3	1	1	0
3	2	3	1	2	2	1	0
4	2	3	2	3	1	1	1
5	3	3	1	3	1	1	0
6	2	3	1	2	2	1	0
7	3	3	1	3	1	1	1
8	2	1	1	2	1	0	1
9	1	2	1	2	1	0	0
10	1	1	1	2	1	0	0
Ortalama ±SD	$2,2\pm 0,7$	$2,5\pm 0,8$	$1,1\pm 0,3$	$2,5\pm 0,5$	$1,2\pm 0,4$	$0,7\pm 0,4$	$0,4\pm 0,5$

Grup 5 (2,5g/kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitor alan grup)

EHSY obstrüksiyonu yapılan ve 2,5g/kg UDKA ve 30mg/kg COX-2 inhibitor verilen Grup 5'de yapılan patoloji incelemesinde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL ve hepatosit nekrozu sırasıyla $2,1\pm 0,8$, $2,1\pm 0,8$, 1 ± 0 , $2,4\pm 0,6$, $1,6\pm 0,5$, $0,3\pm 0,4$ ve $0,4\pm 0,5$ bulundu.

Tablo 15. Grup 5 sıçanların 21 günlük takip sonrası patolojik değerlendirilmesi

Gruplar	Fibrozis	Duktuler Proliferasyon	Fokal Duktuler Kolestaz	Portal Tract Ekspansiyonu	Portal İnflamasyon	PNL	Hepatosit Nekrozu
1	2	3	1	3	2	0	1
2	3	3	1	3	2	0	0
3	3	2	1	3	1	0	1
4	3	3	1	3	2	0	0
5	2	2	1	2	2	0	0
6	2	3	1	3	2	0	1
7	3	2	1	2	1	0	0
8	1	1	1	1	1	1	1
9	1	1	1	2	1	1	0
10	1	1	1	2	2	1	0
Ortalama ±SD	2,1±0,8	2,1±0,8	1±0	2,4±0,6	1,6±0,5	0,3±0,4	0,4±0,5

Yirmi bir günlük takip sonrası elde edilen tüm gruplara ait patoloji incelemesi değerlerinin ortalamaları tablo 16’da sunuldu.

Tablo 16. Sıçanların 21 günlük takip sonrası tüm gruplara ait patolojik değerlerin ortalamaları (Mean±SD)

Gruplar	Fibrozis	Duktuler Proliferasyon	Fokal Duktuler Kolestaz	Portal Tract Ekspansiyonu	Portal İnflamasyon	PNL	Hepatosit Nekrozu
1	0±0	0±0	0±0	0±0	0,2±0,4	0,1±0,3	0±0
2	2,6±0,5*	2,9±0,3*	1,9±0,7*	2,7±0,4*	2,7±0,4*	1,9±0,5*	2,3±0,4*#
3	2,2±0,6*	2,3±0,4*	1,4±0,5*	2,3±0,4*	1,1±0,3*§	1±0*§	0,8±0,4*#◆
4	2,2±0,7*	2,5±0,8*	1,1±0,3*Δ	2,5±0,5*	1,2±0,4*§	0,7±0,4*§	0,4±0,5◆
5	2,1±0,8*	2,1±0,8*†	1±0*Δ	2,4±0,6*	1,6±0,5*§	0,3±0,4*§¶	0,4±0,5◆

* Grup 2, 3, 4 ve 5'in fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu ve portal inflamasyon gelişmesi açısından Grup 1 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

Hepatosit nekrozu açısından Grup 2 ve Grup 3'ün Grup 1'in ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Grup 4 ve 5'in Grup 1 ile karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Δ Grup 4 ve 5'in fokal duktuler kolestaz açısından Grup 2 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

† Grup 5' in duktuler proliferasyon açısından Grup 2 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

§ Portal inflamasyon ve PNL açısından Grup 3, 4 ve 5'in Grup 2 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

¶ Grup 5'in PNL açısından Grup 3 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

◆Hepatosit nekrozu açısından Grup 3, 4 ve 5'in Grup 2 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

5. TARTIŞMA

Safra asitlerinin enterohepatik dolaşımı bağırsaktan yağların ve yağda çözünen vitaminlerin emilimini ve karaciğerden kolesterol, toksinler ve bilirubin gibi

metabolik yan ürünlerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Normal safra oluşumu hepatosit, safra kanalı epitelyum hücreleri (kolanjiosit) ve enterositler gibi enterohepatik yolda bulunan membran transport sistemlerinin uygun fonksiyonu ile birlikte, hem posttranskripsiyonel mekanizmalar hem de nukleer reseptörler tarafından düzenlenen transkripsiyonel eşgüdülerine bağlıdır (79). Safra akımındaki bir bozukluğun ya da akışın kesilmesi olarak bilinen kolestaz, karaciğerde safra asitlerinin diğer toksinlerin birikimine ve hücre içi ve hücre membranlarında hasara bağlı hepatotoksisiteye neden olur. Kolestazın nedeni yenidoğan döneminde en sık biliyer atrezi ve koledok kistidir. Bunun dışında kolestaz kolelitiazis, gebelik kolestazi, primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjit gibi birçok karaciğer hastalıklarının bir komponentidir (80). Kolestatik karaciğer hasarı aynı zamanda kronik karaciğer hastalığının önemli bir nedenidir. Toksik safra asitlerinin kronik retansiyonu oksidatif stres, apoptoz ve fibrozisin dahil olduğu hücre toksisitesi için önemli bir mekanizmadır (81). SYL uygulanan sıçanların karaciğer kesitlerinin histolojik analizinde safra kanalı proliferasyonu, parankimal nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu düzeylerinin artmış olduğu bulundu (82).

Criado ve arkadaşlarının (78) tanımladığı metoda uygun şekilde sıçanlarda deneysel olarak oluşturduğumuz EHSY ligasyonu yöntemi sonucunda biyokimyasal değerlerde (ALP, GGT, TB, AST, ALT ve TP) kontrol grubuna göre yükselme olduğu ve histopatolojik olarak karaciğerde fibrozis, duktuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, PNL artışı ve hepatosit nekrozu ortaya çıktığı görüldü. Uyguladığımız bu model intrahepatik safra yollarında bir staza sebep olup uygun bir model olarak değerlendirilmiştir. Aynı şekilde safra yolu ligasyonu yaptığımız ve farklı ilaç tedavileri uyguladığımız grup 3, 4 ve 5'de kontrol grubuna göre biyokimyasal değerlerde yükselme olduğu ve histopatolojik olarak da değişiklikler ortaya çıktığı görülmüştür. Bununla birlikte, biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar grup 3, 4 ve 5'de sırasıyla verdiğimiz UDKA, Cox2 inhibitörü selekoksib, Cox2 ve UDKA kombinasyonu ile tedavi edilen sıçanlarda sadece EHSY ligasyonu yapılan gruba göre daha iyi olduğu bulundu.

UDKA normalde insanda bulunan, safra havuzunun %0.1-5'ini oluşturan endojen tersiyer doğal bir safra asitidir. UDKA, primer biliyer siroz tedavisinde,

kronik kolestatik hastalık için FDA tarafından onaylanmış tek ilaç olup kronik kolestatik karaciğer hastalıkları ve kolesterol safra taşlarının eritilmesinde etkinliği kanıtlanmıştır (83). Barsaklardan kolesterol emilimini, kolesterol sekresyonunu ve safrada kolesterol kristali oluşumunu inhibe eder. UDKA karaciğer hücre membranının lipid tabakasını hidrofobik safra tuzlarının toksik etkisine karşı korur (sitoprotektif etki) (84). Kenodeoksikolik asit ve kolik asit gibi safra asitlerinin enterohepatik sirkülasyona katılmasına engel olup toplam safra tuzlarının %40-55'ini oluşturur hale gelir, bikarbonattan zengin bol miktarda safranin oluşumunu sağlar (kolehepatik şant) (85). Tıkanma sarılıklı sıçanlara çeşitli safra tuzlarının oral yoldan verilmesi endotoksinin intestinal emilimini azaltarak endotoksemiye ortadan kaldırmaktadır. UDKA tıkanma sarılıklı sıçanlarda oksidatif hasara karşı hepatositleri koruyarak hepatoprotektif etki gösterir. Ayrıca, safra tuzlarının intraluminal bakterilerin hücre duvarları üzerine litik etkiye sahip olduğu iddia edilmiştir (86). UDKA hepatositte aşırı miktarda HLA-Klas I antijen ekspresyonunu, bilier epitelde HLA-Klas II antijen ekspresyonunu azaltır (87). Abdelmalek ve ark steatohepatitli bir hastaya 1 yıl UDKA vermiş, karaciğer fonksiyon testleri düzelmiş, ilaç kesildikten sonra tekrar yükselmiş, ilaç tekrar başlandığında yine düşmüştür (88). Laurin ve ark 24 alkolik olmayan karaciğer hastasına 13-15 mg/kg/gün , 1 yıl süreyle UDKA vermişler, tedavi sonunda steatoz, ALT, AP ve GGT düzeylerinde önemli oranda azalma saptamışlardır. Bunu UDKA'nın membran stabilizan ve sitoprotektif etkilerine bağlamışlardır (89). Barone ve arkadaşlarının sıçanlarda parsiyel safra yolu ligasyonu ile oluşturdukları çalışmada Ursodeoksikolat'ın kolanjiyosit proliferasyonunun artırdığını ve kolestatik kronik karaciğer hastalıklarının tedavisinde ursodeoksikolatın kullanımının desteklediğini ileri sürmüşlerdir. Ursodeoksikolat'ın karaciğer tahribatını ve apoptozisi azalttığını ve proliferasyonun stimülasyonu ile duktopenik stagi geciktirdiğini bildirmişlerdir (90). Deneysel kolestatik veya hayvanların toksik safra asitleri ile tedaviye tabi tutulduğu hepatositlerde karaciğerde glutatyon (GSH) düzeyinde düşme olduğu bildirilmiştir. GSH düzeyinde düşme antioksidan savunmayı tehlikeye sokar ve yaralanmaya katkıda bulunur. Bazı diğer çalışmalarda glutamate-cysteine ligase (GCL) aktivitesinde bir düşüş olduğunu göstermişlerdi (81). UDKA kronik kolestatik sırasında GCL seviyesinde düşmeyi engellediği ve GCL seviyesinde artış sağladığı

ifade edilmiştir (91). Yang ve arkadaşlarının yaptığı bir deneysel çalışmada ise UDKA'nın GSH seviyesini koruduğu ve karaciğer hasarını önlediği ileri sürülmüştür (81). Kitani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tıkanma sarılığı oluşturulan hayvan grubuna UDKA verilmesini takiben hepatositlerde görülen mikroveziküler yağlanma da önemli azalma ve buna bağlı olarak AST, ALT ve GGT değerlerinde düşme olduğunu gösterilmiştir (41). Beuers ve arkadaşlarının kolestaz oluşturulan sıçanlarda UDKA'nın yararlı etkisinin onun konjugasyonu yoluyla veziküler ekzositozun Ca^{+2} bağımlı stimülasyonu ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (92). Al-Hathlol ve arkadaşları çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde ve çoğu nekrotizan enterokolit tanısı alan 13 bebekte ortalama 36 günlük iken kolestaz saptamışlar ve yaklaşık 3 aylık UDKA tedavisiyle bilirubin düzeylerinde belirgin azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (72).

Siklooksijenaz enziminin (COX) kronik kolestaz durumunda aktif inflamasyonun bir sonucu olarak arttığı gösterilmiştir. Siklooksijenaz enziminin iki izoformu vardır: COX-1 ve COX-2. COX-1 yapısal olarak birikir, yani üretildiği hücrelerde sürekli sentez edilmesi nedeniyle daima vardır. COX-2, inflamasyon, mitojenik uyarılar ve çeşitli büyüme faktörleri sonucunda yükselir. COX-2 enziminin indüksiyonu inflame olan dokularda prostaglandin senteziyle sonuçlanır. Sıçanlarda erken fibrozis gelişimi esnasında hepatosellüler hasar ve portal hipertansiyonun gelişiminde kupfer hücrelerde ortaya çıkan vazokonstriktif endotelin1 (ET1) ve tromboksan A2 (TXA2) önemli rol oynar. COX2 enzimi prostaglandin sentezi sırasında ET1 ve TXA2 artışında rol oynayan anahtar enzimlerden biridir (93). Bu COX-2'nin inflamasyon, hücre proliferasyonu, anti-apoptoz, hücre büyümesi ve anjiyogenezdeki prostaglandin ve onların metabolitlerinin sentezine karışan düzenleyici bir enzim olması gerçeği ile ilişkilidir. Bu nedenle, COX-2 inhibisyonu kronik inflamasyon ve fibrozis durumlarında prostaglandin üretimini azaltmak için farmakolojik hedef olmuştur. COX-2 inhibitörlerinin antifibrotik etkisi daha önce böbrek interstisyel fibrosis ve desmoplasia gibi çeşitli in vivo ve in vitro deneysel çalışmalarda rapor edilmiştir. Ek olarak, selektif COX-2 inhibitörlerinin karaciğerde antifibrotik bir ajan olarak rol oynadığı bilinmektedir (94,95,96). Kim ve arkadaşlarının SYL uygulanan sıçanlarda kolestazın karaciğer COX-2 birikimine neden olduğu ve selektif COX-2 inhibitörü

meloksikamın SYL ile neden olunan karaciğer fibrozisini azalttığı ileri sürülmüştür. Selektif COX-2 inhibitörü meloksikamın bu etkisinin karaciğerdeki siklooksijenaz aktivitesini azaltması ile birlikte karaciğer TGF- β 1 birikimini düşürmesine bağlamışlardır (97). Yu ve arkadaşlarının safra yolları ligasyonu yapılan sıçanlarda selektif Cox-2 inhibitörü selekoksib ile yapılan çalışmalarda morfolojik ve moleküler biyolojik kanıtların kolestatik karaciğer fibrozisinde selekoksib'in rolünü ortaya koymuştur. SYL sıçanlarda erken dönemde selekoksib'in karaciğer inflamasyonuna karşı koruyucu olduğu ancak karaciğer fibrozisi üzerine etkili olmadığını bildirmişlerdir (58).

Çalışmamızda ilaç tedavisi verdiğimiz Grup 3, 4 ve 5'in karaciğer fonksiyonları ALP, GGT, AST ve ALT değerlerinin Grup 2 ile karşılaştırılmasında anlamlı derecede düştüğü ve karaciğer fonksiyonlarının daha iyi durumda olduğu bulundu. UDKA tedavisi alan Grup 3'ün TP değerleri Grup 2, 4 ve 5 TP değerleri ile karşılaştırıldığında düşük olduğu ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptandı. Cox2 inhibitörü Selekoksisib tedavisi alan Grup 4'ün karaciğer fonksiyonları GGT ve AST değerlerinin Grup 3 ve 5 GGT ve AST sonuçları ile karşılaştırılmasında düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. UDKA ve Cox2 inhibitörü selekoksisib kombinasyonu ile tedavi edilen Grup 5 sıçanların TB değerlerinin Grup 4'le karşılaştırılmasında düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. EHSY ligasyonu yapılan tüm grupların karaciğer dokularının histopatolojik incelenmesinde ductuler proliferasyon, fokal duktuler kolestaz, portal tract ekspansiyonu, portal inflamasyon, polimorfonükleer lökositöz artışı, hepatosit nekrozu ve fibrosis yönünden kontrol grubu (Grup1) ile karşılaştırılmasında anlamlı değişiklik olduğu ortaya çıktı. Bununla beraber Grup 4 ve 5'in hepatosit nekrozunun Grup 1'le karşılaştırıldığında anlamlı derecede olmasada mevcut olduğu bulundu. Hepatosit nekrozu açısından Grup 2 ve 3'ün Grup 1'le karşılaştırıldığında yüksek olduğu buna karşın Grup 4 ve 5'in grup 1'le karşılaştırılmasında fark bulunamamıştır. İlaç tedavisi verdiğimiz grupların tümünde ilaç tedavisi almayan Grup 2'ye göre hem biyokimyasal değerlerde hemde histopatolojik incelemede daha iyi sonuçlar alınmasına rağmen Cox-2 inhibitörü selekoksisib kullandığımız grubun hem biyokimyasal hemde histopatolojik değerlendirilmesinde sonuçların daha pozitif olduğu bulundu. Karaciğer dokularının histopatolojik incelenmesinde daha olumlu

sonuçlar cox-2 inh. ve ursedeoksikolik asid kombinasyonu ile tedavi edilen ve her iki ilacın aditif etkilerinin ön plana çıktığı grup 5 sıçanlarda bulunmuştur. Karaciğer üzerine bu olumlu etkiler UDKA'nın sitoprotektif ve antioksidan etkileri ve cox2 inhibitörü selekoksibin anti-inflamatuar, hücresel proliferasyonu engelleyici ve anti-apopitoz etkilerinin kombinasyonu sonucunda olabileceği gerçeğini düşündürmektedir.

SONUÇ

Bulgularımız UDKA'e selekoksibin eklenmesi inflamasyon ve karaciğerde fibrozisi azaltarak kolestatik hastalıklar için UDKA ile etkili bir tamamlayıcı tedavi olabileceğini göstermektedir. Klinik olarak COX-2 ve UDKA'nın ayrı ayrı ve birlikte kullanılmasının preoperatif dönemde karaciğer fibrozisini önlemede faydası olabilir. Ancak bu konu ile ilgili daha ileri çalışmaların yapılması faydalıdır. Selekoksib ve UDKA kombinasyonu safra yolu ligasyonu uygulanan sıçanlarda karaciğer hasarını azaltır.

KAYNAKLAR

- 1- Bishop WP: Neonetal cholestasis.In Donnellan WL et al (eds): Abdoominal surgery of Infancy and Childhood, Louxembourg, Harwood Academic Publishers, 2004, 31/1-17
- 2- Kimura K, Inomata Y: Biliary atresia. In Donnellan WL et al (eds):infancy and Chilhood, Louxembourg, Harwood Academic Publishers, 2004, 32/1-13. (Can Başak:133)
- 3- Ohi R, Masaki N: The jaundiced infant: Biliar atresia and other obstructions, In O'neill JA et al (eds): Pediatric Surgry. St. Louis, Mosby, 1998, pp. 1465-1481.

- 4- Mastery of surgery Josef E. Fischer, Faisal G. Qureshi, Herni R. Ford ve okan Ergün
5.baskı 1187-1195
- 5- Okazaki T, Kobayashi H, Yamataka A, et al: Long-term postsurgical outcome of biliary atresia. J Pediatr Surg 1999,34:312-315.
- 6- P7 ve Gastroenterologist. 1994 Mar;2(1):74-9.The current status of ursodeoxycholate in the treatment of chronic cholestatic liver disease.Luketic VA, Sanyal AJ.Section of Hepatology, Medical College of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond 23298.)
- 7- Thomson J: On congenital obliteration of bile ducts, Edinb Med J 1892, 37:724.
- 8- Holmes JB, Congenital obliteration of the bile ducts diagnosis and suggestions for treatment. Am J dis Child 11: 405-43 1916.
- 9- Kasai M et al: Changes of portal vein pressure and intrahepatic blood vessels after surgery for biliary atresia. J Pediatr Surg 1981,16:152.
- 10- Starzl TE et al: Homotransplantation of the liver in humans, Surg Gynecol Obstet 1963, 117:659.
- 11- Pediatrik Surg. 2002;18;737
- 12- Fitzgerald JF: Cholestatic disorders of infancy pediatr Clin Northam 35 (2): 357-373, 1988
- 13- Kamath KR: Abnormalities of the bşilier tree. Clin Gastroenterol 15(1):157-172, 1986
- 14- Ylppö A: Zwei Falle von kongenitalem gallengangsverschluss. Fett- und bilirubin- stoffwechselfersuche bei einem derselben. Z Kinderheilk 1913, 9:319.
- 15- Langman's Medikal embriyoloji 7. baskı T.W. Sadler.
- 16- Domiati-Saad R, Dawson DB, Margraf LR, et al. Cytomegalovirus and human herpesvirus 6, but not human papillomavirus, are present in neonetal giant cell hepatitis and extrahepatic biliar atresia, Pediatr Dev Patol 3(4): 367-373
- 17- Ohi R, Chiba T, Endo N: Morphologic studies of the liver and bile ducts in biliary atresia. Acta Pediatr Jpn 1987, 29:584.
- 18- Petersen C. Pathogenesis and treatment opportunitiesfor biliary atresia. Clin Liver Dis 2006;10:73-88, vi.
- 19- Matsui A, Sasaki N, Tanaka, Kobita K (1992) Reovirus type 3 and biliary atresia (Abstract). Hepatology 1992;16:192A

- 20- Morecki R, Glaser JH, Johnson AB, Kress Y. Detection of reovirus type 3 in the porta hepatis of an infant with extrahepatic biliary atresia: ultrastructural and immunocytochemical study. *Hepatology* 1984;4:1137- 42.
- 21- ERGÜN M.O. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Surg-Special 20 Topics* 2010;3(2) 16-25
- 22- Sayek İ. *Temel Cerrahi*; 3.baskı. Ankara: Güneş Kitabevi. 2004, 1295-1300.
- 23- Stein TA, Burns GP, Wise L: Diagnostic value of liver function tests in bile duct obstruction. *J Surg Res* 1989, 46:226-29.
- 24- Sada E, Tashiro S ,Morino Y: The significance of serum mitochondrial aspartate aminotransferase activity in obstructive jaundice : experimental and clinical studies. *Jpn J Surg* 1990, 20:392-405.
- 25- İlçin G, Biberoglu K, Ünal S , Akalın S , Süleymanlar G: *Temel iç hastalıkları 1.Baskı.* İstanbul: Güneş Kitabevi. 1996, 1103-05.
- 26- Bessey OAH et al. *J Biol Chem* 1946; 164:321.
- 27- Hauseman TU et al. *Clin Chim Acta* 1967; 15:241
- 28- Lieber CS, Robins SJ, Li J , De Carlı LM et al: Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Gastroenterology* 1994,106:152.
- 29- Nychytailo MI, Malyk SV: Biochemical markers in diagnosis and prognosis of obturative jaundice. *Klin Khir.* 2004 ; ;(8):13-18.
- 30- Tazawa Y, et al: Significance of serum lipoprotein-X and gammaglutamyl transpeptidase in the diagnosis of biliary atresia. Preliminary study in 27 cholestatic young patients. *Eur J Pediatr* 1986,145:54.
- 31- Silveira TR, Salzano FM, Howard ER, Movat AP. Congenital structural abnormalities in biliary atresia: evidence for etiopathogenetic heterogeneity and therapeutic implications. *Acta Paed Scand* 1991;80:1192-9.
- 32- A-Kader HH, El-Ayyouti M, Hawas S, et al. HLA in Egyptian children with biliary atresia. *J Pediatr* 2002;141:432-4.
- 33- Kaynak: Iwai N, Deguchi E, Sasaki Y, Idoguchi K, Yanagihara J: Antenatal diagnosis of biliary atresia (noncorrectable cyst type): a case report. *Eur J Pediatr Surg* 1999, 9:340-2.
- 34- Chiba T et al: Japanese biliary atresia registry. In Ohi R, editor: *Biliary atresia*, Icom Associates Tokyo, 1991.

- 35- Dillon PW, Tracy TF: Biliary Atresia, In Oldham KT, Colombani PM, Foglia RP, Skinner MA (eds): Principles and Practice of Pediatric Surgery, Lippincott / Williams / Wilkins, Philadelphia, 2005, pp. 1475-1493.
- 36- Balistreri WF: Neonatal cholestasis. *J Pediatr* 1985;106:171.
- 37- Javitt NB et al: Serum bile acid patterns in neonatal hepatitis and extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr* 1977, 90.
- 38- Dick M, Mowat AP: biliary scintigraphy with DISIDA. A simpler way of showing bile duct patency in suspected in biliary atresia. *Arch Dis Child* 1986, 61:191.
- 39- Sera Y, Ikeda S, Akagi M: Ultrasonographic studies for the diagnosis of infantile cholestatic disease. In Ohi R, editor: Biliary atresia, Tokyo, Professional Postgraduate Services 1987.
- 40- Takahashi H et al: ERCP in jaundiced infants. In Ohi R, editor: Biliary atresia, Tokyo, Professional Postgraduate Services 1987.
- 41- Kitani K. Et all. Hepatoprotective effect of ursodeoxycholic acid in experimental animals. In: Strategies for the Treatment of Hepatobiliary Diseases: Paumgartner G. Stiehl A, Barbara L., Roda E (eds) Kluwer Academic Publishers Dordrecht/Boston /London. 1990. pp. 43-56.
- 42- Cirillo NW, Zwas FR: Ursodeoxycholic acid in the treatment of chronic liver disease. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1447-1452.
- 43- Rubin RA, Kowalski TE, Khandelwal M, Malet PF: Ursodiol for hepatobiliary disorders. *Ann Intern Med* 1994;121:207-218.
- 44- Leuschner U, Leuschner M, Sieratzki J et al.: Gallstone dissolution with Ursodeoxycholic acid in patients with chronic active hepatitis and two years follow-up. A pilot study. *Dig Dis Sci* 1985;30:642-649.
- 45- Thompson JN, Cohen J, Blenkarn JI, McConnell JS, Barr J, Blumgart LH: A randomized clinical trial of oral ursodeoxycholic acid in obstructive jaundice. *Br J Surg.* 1986 Aug;73(8):634-6.
- 46- Lacaille PK, Paraclis K: The Immunosuppressive effect of ursodeoxycholic acid: a comparative in vitro study on human peripheral blood mononuclear cells. *Hepatology*

1993;18:165-172.

47- Guldutuna S, Zinimer G, Imhof M. et al.: Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. Gastroenterology 1983; 104:1736-1744.

48- Galle P, Theilmann L, Raedsch R et al. Ursodeoxycholate reduces hepatotoxicity of bile salts in primary human hepatocytes. Hepatology 1990;12:486-491.

49- Bateson MC: Bile acid research and applications. Lancet 1997;349:5-6.

50- Stiehl A: Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary sclerosing cholangitis. Ann Med. 1994 Oct;26(5):345-9.

51- Poupon RE, Eschwege E, Poupon R: Ursodeoxycholic acid for the treatment of primary biliary cirrhosis. Interim analysis of a double-blind multicentre randomized trial. The UDKA -PBC Study Group. J Hepatol. 1990 Jul;11(1):16-21



52- Mizoguchi Y, Kioka K, Seki S, Kobayashi K, Morisawa S: Effects of ursodeoxycholic acid on intrahepatic cholestasis. Osaka City Med J. 1989 Nov;35(2):71-82. 48

53- Melli M, Kayaalp SO. Non-steroidal antiinflatuar ilaçlar, Kayaalp SO, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı, Hacettepe Taı, Ankara; 2002. p.960-94

54- Jidong Cheng¹; Hada Toshikazu¹ Şu Tıbbi Kimya - Anti-inflatuar Ajanlar & Anti-Alerji, Cilt 4, Sayı 2, Nisan 2005, s. 199-206 (8)

55- Seong Min Kim¹, Ki Chung Park¹, Ho Guen Kim², Seok Joo Han^{1,*} Article first published online: 7 MAY 2008 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00339.x © 2008 The Japan Society of Hepatology Hepatology Research Volume 38, Issue 8, pages 800–809, August 2008

56- Hui AY, Leung WK, Chan HL, Chan FK, Go MY, Chan KK, Tang BD, Chu ES, Sung JJ. Department of Medicine & Therapeutics, Prince of Wales Hospital, The Chinese University of Hong Kong, Shatin, Hong Kong. Liver Int. 2006 Feb;26(1):125-36.

57-Hayrettin Ozturk^a  , Ayten Gezici^b and Hulya Ozturk^c Karaciğer iskemi selekoksib etkisi, bir selektif COX-2 inhibitörü / reperfüzyon-sıçanlarda oksidatif stresin

58- Yu J, Hui AY, Chu ES, Go MY, Cheung KF, Wu CW, Chan HL, Sung JJ. The anti-inflammatory effect of selekoksib does not prevent liver fibrosis in bile duct-ligated rats. Liver Int. 2009 Jan;29(1):25-36.

- 59- Hump hrey TM, Strin ger MD. Bi li ary at re si a: US di ag no sis. Ra di o logy 2007;244(3):845-51.
- 60- Tan Ken drick AP, Phu a KB, Oo i BC, Sub ra - ma ni am R, Tan CE, Goh AS, et al. Ma king the di ag no sis of bi li ary at re si a using the tri an gu lar cord sign and gall blad der length. Pe di atr Ra di ol 2000;30(2):69-73.
- 61- Rege Rv, adverse effect of bilier obstrucion: İmplicasion for treatment of patients with obstructive jaundice AJR 1995 : 164 287-293
- 62- Clements WDB, Halliday MI, Mc Caugie M. Effect of extrahepatik obstruktive jaundice on kupfer cell clerance capacity. Arch surg. 1993; 128,200-205
- 63- Vajro P, Couturier M, Lemonnier F, et al: Effects of postoperatif kolesteramine and phenobarbital administration on bile flow restoration in infants with extrahepatic biliary atresia. J Pediatr Surg 21:362, 1986
- 64- Albrecht C, Meijer DKF, Lebbe C, Sagesser H, Melgert BN, Po- elstra K., et al: Targeting naproxen coupled to human serum albumin to nonparenchymal cells reduces endotoxin-induced mortality in rats with biliary cirrhosis. Hepatology 1997, 26: 1553-9.
- 65- Gale PR, Theilman L, Raedsch R, et al: Ursodeoxycholic acid choleresis: relationship to biliary HCO₃ and effects of Na⁺ - H⁺ Exchange inhibitors. Am j Physiol 254: G232, 1988.
- 66- Heuman DM, Mills AS, Mc Call J, et al: Conjugates of ursodeoxycholate protect aganist cholestasis and hepatocelluler necrosis caused by more hydrophobic bile salts. Gastroenterolog 100:203, 1991
- 67- Parks RW, Cameron CH, Gannon C et al: Changes in gastrointestinal morphology associated with obstructive jaundice. J Path 2000; 192: 526-532
- 68- Nychytailo MIu, Malyk SV: Biochemical markers in diagnosis and prognosis of obturative jaundice. Klin Khir. 2004 ; ;(8):13-18.
- 69- GÜR SOY M.H. Turkiye Klinikleri J Pediatr Surg-Special Topics 2010;3(2):32-39

- 70- Angulo P, Batts KP, Therneau TM, Jorgensen RA, Dickson ER, Lindor KD. Long-term ursodeoxycholic acid delays histological progression in primary biliary cirrhosis. 1999;29:644-7
- 71- Levine A, Maayan A, Shamir R, Dinari G, Sulkes J, Sirotta L. Parenteral nutrition-associated cholestasis in preterm neonates: evaluation of ursodeoxycholic acid treatment. 1999;12:549-53
- 72- Al-Hathlol K, Al-Madani A, Al-Saif S, Abulaimoun B, Al-Tawil K, El-Demerdash A. Ursodeoxycholic acid therapy for intractable total parenteral nutrition-associated cholestasis in surgical very low birth weight infants. 2006;47:147-51.
- 73- Dinler G, Kocak N, Yuce A, Gurakan F, Ozen H. Ursodeoxycholic acid therapy in children with cholestatic liver disease. Turk J Pediatr 1999;41:91-8
- 74- Chen CY, Tsao PN, Chen HL, Chou HC, Hsieh WS, Chang MH. Ursodeoxycholic acid (UDKA) therapy in very-low-birth-weight infants with parenteral nutrition-associated cholestasis. 2004;145:317-21.
- 75- Sokol RJ, Winklhofer-Roob BM, Devereaux MW, McKim JM Jr. Generation of hydroperoxides in isolated rat hepatocytes and hepatic mitochondria exposed to hydrophobic bile acids. 1995;109:1249-56.
- 76- Orellana M, Rodrigo R, Thielemann L, Guajardo V. Bile duct ligation and oxidative stress in the rat: effects in liver and kidney. 2000;126:105-11.
- 77- Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2003 Nov;69(5):329-37.
Cyclooxygenase 2 (COX2)-prostanoid pathway and liver diseases. Hu KQ. Division of Gastroenterology and Hepatology and Chao Family Comprehensive Cancer Center, University of California Irvine Medical Center, Orange, CA 92868, USA. kqhu@uci.edu _Ke-Qin Hu
- 78- Flores MO, Ortiz MC, Hidalgo F, Rodriguez-Lopez AM, Eleno N, Atucha NM, Sanchez-Rodriguez A, Arevalo M, Garcia-Estan J, Lopez-Novoa JM: Elevated glomerular and blood mononuclear lymphocyte nitric oxide production in rats with

chronic bile duct ligation: role of inducible nitric oxide synthase activation. *Hepatology* 1997, 26:268-76.

79- Kullak-Ublick GA, Stieger B, Meier PJ. Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease. *Gastroenterology* 2004;126:322-342.

80- Liu Y, Binz J, Numerick MJ, Dennis S, Luo G, Desai B, MacKenzie KI, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA. Hepatoprotection by the farnesoid X receptor agonist GW4064 in rat models of intra- and extrahepatic cholestasis. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(11):1678-87. Epub 2003 Nov 17.

81- Yang H, Ramani K, Xia M, Ko KS, Li TW, Oh P, Li J, Lu SC. Dysregulation of glutathione synthesis during cholestasis in mice: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Hepatology*. 2009 Jun;49(6):1982-91.

82- He H, Mennone A, Boyer JL, Cai SY. Combination of retinoic acid and ursodeoxycholic acid attenuates liver injury in bile duct-ligated rats and human hepatic cells. *Hepatology*. 2011 Feb;53(2):548-57.

83- Kumar D, Tandon RK. Use of ursodeoxycholic acid in liver disease. *J. Gastro and Hepatol* 2001;16:3-14.

84- Heuman DM, Pandak WM, Hylemon PB, VVahlzevic ZR. Conjugates of ursodeoxycholate protect against cytotoxicity of more hydrophobic bile salts. *Hepatology* 1991;14:920-926.

85- Erlinger S. Hypercholeretic bile acids: a clue to mechanism? *Hepatology* 1990; 11:888-890.

86- Aldemir M, Geyik MF, Kökoğlu OF, Büyükbayram H, Hoşoğlu S, Yağmur Y. Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats. *ANZ J Surg*. 2003 Sep;73(9):722-6.

87- Calmus Y, Gane P, Riuger P, Poupon R. Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis; effect of ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 1990; 11:12-15.

88- Abdelmalek M, Ludvigg J, Lindor KD. Two cases from the spectrum of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol* 1995; 20:127-130.

- 89- Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, Gossard A, Gores GJ, Ludvigg J, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996; 23:1464-1467.
- 90- Barone M, Maiorano E, Ladisa R, Pece A, Berloco P, Strazzabosco M, Caruso ML, Valentini AM, Ierardi E, Di Leo A, Francavilla A. Ursodeoxycholate further increases bile-duct cell proliferative response induced by partial bile-duct ligation in rats. *Virchows Arch.* 2004 Jun;444(6):554-60.
- 91- Serviddio G, Pereda J, Pallardó FV, Carretero J, Borrás C, Cutrin J, et al. Ursodeoxycholic acid protects against secondary biliary cirrhosis in rats by preventing mitochondrial oxidative stress. *Hepatology* 2004;39:711–720.
- 92- Beuers U, Nathanson MH, Isales CM, Boyer JL. Tauroursodeoxycholic acid stimulates hepatocellular exocytosis and mobilizes extracellular Ca⁺⁺ mechanisms defective in cholestasis. *J Clin Invest.* 1993 Dec;92(6):2984-93.
- 93- Meng JP, Ceryak S, Aratsu Z, Jones L, Epstein L, Bouscarel B. Biphasic regulation by bile acids of dermal fibroblast proliferation through regulation of cAMP production and COX-2 expression level. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006 Sep;291(3):C546-54.
- 94- Zuo Y, Ma J, Gu Y, Yang H, Lin S. The renal protective effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor on obstructive nephropathy. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2002; 41: 825–8.
- 95- Yao M, Lam EC, Kelly CR, Zhou W, Wolfe MM. Cyclooxygenase-2 selective inhibition with NS-398 suppresses proliferation and invasiveness and delays liver metastasis in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2004; 90: 712–19.
- 96- Nam KT, Hahm KB, Oh SY *et al.* The selective cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide prevents *Helicobacter pylori*-associated gastric cancer development in a mouse model. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8105–13.
- 97- Kim SM, Park KC, Kim HG, Han SJ. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor meloxicam on liver fibrosis in rats with ligated common bile ducts. *Hepatol Res.* 2008 Aug;38(8):800-9.

10. RESİMLEMELER LİSTESİ

10.1. Resimler

Resim- 1 Ursodeoksikolikasit'in kimyasal yapısı gösterilmiştir.
Resim-2 Siklooksijenazın'ın kimyasal yapısı gösterilmiştir.
Resim-3 Ekstrahepatik safra yollarının çevre dokularından serbestlendikten sonraki görünümü.
Resim-4 Ekstrahepatik safra yollarının kesildikten sonraki görünümü.
Resim-5 Ekstrahepatik safra yolları kesildikten 21 gün sonra dilate olmuş proksimal safra yollarının ve Karaciğerin görünümü
Resim-6 Grup 1'de (Sham-Kontrol) karaciğerin normal histolojik görünümü (H&E, X200).
Resim-7 Grup 1'de (Sham-Kontrol) karaciğerin Masson's trichrome boyama ile normal histolojik görünümü (Masson's trichrome, X200).
Resim-8 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve herhangi bir ilaç verilmeyen Grup 2 sıçanların histopatolojik bulguları (H&E, X100).
Resim-9 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve herhangi bir ilaç verilmeyen Grup 2 sıçanların histopatolojik bulguları (Masson's trichrome, X200).
Resim-10 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve UDKA tedavisi verilen Grup 3 sıçanların histopatolojik bulguları. Grup 2 de izlenen bulgularla karşılaştırıldığında minimal düzeyde değişiklik gösteren portal ve periportal biliyer duktarda proliferasyon , inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları (H&E, X100).
Resim-11 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve UDKA alan Grup 3 sıçanların histopatolojik bulguları. Grup 2 ile karşılaştırıldığında miyofibroblastik proliferasyonda azalma belirlendi (Masson's trichrome, X100).
Resim-12 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve COX-2 inhibitor selekoksib tedavisi verilen Grup 4 sıçanların histopatolojik bulguları (H&E, X100).
Resim-13 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve COX-2 inhibitor selekoksib tedavisi verilen Grup 4 sıçanların histopatolojik bulguları. (Masson's trichrome, X200).
Resim-14 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve UDKA ve COX-2 inhibitor selekoksib tedavisi verilen Grup 5 sıçanların histopatolojik bulguları (H&E, X200).
Resim-15 EHSY obstrüksiyonu uygulanan ve UDKA ve COX-2 inhibitor selekoksib tedavisi verilen Grup 5 sıçanların histopatolojik bulguları (Masson's trichrome, X200).

10.2. Tablolar

Tablo-1 Biliyer atrezide etyoloji

Tablo-2 Biliyer atrezide tanı yöntemleri

Tablo-3 Gruplara ait EHSY bağlanmadan önce ve bağlandıktan sonraki kilo sonuçları

Tablo-4 Grupların obstrüksiyon öncesi ve sonrası ortalama kilo sonuçlarının karşılaştırılması

Tablo-5 Grup 1 sıçanların 21 günlük takip sonrası ölçülen biyokimyasal değerleri

Tablo-6 Grup 2 sıçanların 21 günlük takip sonrası ölçülen biyokimyasal değerleri

Tablo-7 Grup 3 sıçanların 21 günlük takip sonrası ölçülen biyokimyasal değerleri

Tablo-8 Grup 4 sıçanların 21 günlük takip sonrası ölçülen biyokimyasal değerleri

Tablo-9 Grup 5 sıçanların 21 günlük takip sonrası ölçülen biyokimyasal değerleri

Tablo-10 Sıçanların 21 günlük takip sonrası tüm gruplara ait biyokimyasal değerlerin ortalamaları (Mean±SD)

Tablo-11 Grup 1 sıçanların 21 günlük takip sonrası KC dokularının patolojik sonuçları.

Tablo-12 Grup 2 sıçanların 21 günlük takip sonrası KC dokularının patolojik sonuçları.

Tablo-13 Grup 3 sıçanların 21 günlük takip sonrası KC dokularının patolojik sonuçları.

Tablo-14 Grup 4 sıçanların 21 günlük takip sonrası KC dokularının patolojik sonuçları.

Tablo-15 Grup 5 sıçanların 21 günlük takip sonrası KC dokularının patolojik sonuçları.

Tablo-16 Sıçanların 21 günlük takip sonrası tüm gruplara ait patolojik değerlerin ortalamaları (Mean±SD)

11. ÖZGEÇMİŞ

30.09.1979 tarihinde Düzce'de doğdum. İlkokulu Fevziçakmak İlköğretim Okulu'nda, Orta okulu Fatih Orta okulu'nda, Lise öğrenimimi Düzce Lisesi'nde bitirdim. 1996 yılında girdiğim üniversite sınavında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım. Tıp Fakültesi eğitimini 1996-2001 tarihleri arasında tamamladım. 2002-2003 tarihinde askerlik görevimi tamamladım. 2003 yılında Düzce ilinde pratisyen hekim olarak göreve başladım. 2004 yılında Kartal Eğitim Aaştırma hastanesi Aile Hekimliğinde göreve başladım. 1,5 yıl çalışdıktan sonra 2006'da girdiğim TUS sınavında Düzce Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi AD.'nda ihtisas yapmaya hak kazandım. Evli ve 2 çocuk babasıyım.

12. EKLER

Etik kurul onay formu (Ek-1) örneği bu bölümde sunulmuştur.

Ek-1 Etik kurul onay formu Türkçe (Sayfa 90)

Ek-2 Etik kurul onay formu İngilizce (Sayfa 91)