

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL HEPATİK REZEKSİYON
MODELİNDE SİLYBİUM MARIANUM 'UN KARACİĞER
REJENERASYON VE ANJİOGENEZİS ÜZERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MUZAFFER BORA OKAR**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÇAĞATAY ÇİFTER**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2011-01 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

ŞUBAT 2011

ÖNSÖZ

Genel Cerrahi ihtisasım süresince her konuda anlayış ve desteğini esirgemeyen başta tez danışmanım Prof. Dr. Çağatay ÇİFTER ve Doç. Dr. Osman KURUKAHVECİOĞLU olmak üzere, eğitimimde emeği geçen tüm hocalarıma, servisimizin tüm asistanlarına, hemşirelerine ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin aşamalarında yardımcı olan G.Ü.T.F. Patoloji A.D. Öğr. Gör. Yrd. Doç. Dr. İpek IŞIK GÖNÜL'e ve G.Ü.T.F. Biyokimya A.D. Öğr. Gör. Dr. Özlem GÜLBAHAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamımın her anında olduğu gibi, asistanlığım süresinde de desteğini ve anlayışını esirgemeyen eşime ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. M. Bora OKAR

KISALTMALAR:

A	: Arteria
AgNOR	: Argyrophilic nucleolar organiser region
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
CMC	: Karboksimetilsellüloz
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
GGT	: Gama glutamil transferaz
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
IL-6	: İnterlökin 6
KC%	: Karaciğer ağırlık yüzdesi
KCFT	: Karaciğer fonksiyon testi
LDH	: Laktat dehidrojenaz
LİG	: Ligamentum
LPO	: Lipoksijenaz
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
PCNA	: Prolifere olan hücre nükleer antijeni
PH	: Parsiyel hepatektomi
TNF	: Tümör nekroz faktör
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

İÇİNDEKİLER

Önsöz

Kısaltmalar

İçindekiler

1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Karaciğer Anatomisi	4
2.2. Karaciğer Embriyolojisi ve Histolojisi	8
2.3. Karaciğer Fonksiyonları	11
2.4. Karaciğer Rezeksiyonu	16
2.5. Karaciğer Rejenerasyonu	18
2.6. Hepatosellüler zedelenmenin değerlendirilmesi	27
2.7. Anjiyogenez	28
2.8. Silybium Marianum	31
2.8.1.Etki Mekanizması	31
2.8.2. Farmakokinetik	34
2.8.3. Yan Etkileri	34
2.8.4. İlaç Etkileşimleri	34
2.8.5. Doz ve Toksisite	35
2.8.6. Tedavide Kullanımı	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1.Biyokimyasal inceleme	39

3.2.Morfolojik ve İmmünohistokimyasal değerlendirme	39
3.3.İstatistik	41
4.BULGULAR	42
4.1. AST Düzeyleri	42
4.2. ALT Düzeyleri	43
4.3. GGT Düzeyleri	44
4.4. LDH Düzeyleri	45
4.5. VEGF Düzeyleri	46
4.6. Serum LPO Düzeyleri	47
4.7. Doku LPO Düzeyleri	47
4.8. HGF Düzeyleri	48
4.9. Karaciğer Ağırlık Oranları	49
4.10. PCNA ile işaretlenme oranı	50
4.11. AGNOR sayısı	52
4.12. VEGF antikor boyanma oranı	52
5.TARTIŞMA	52
6.SONUÇ	58
7.KAYNAKLAR	58
8.ÖZET	75
9.SUMMARY	76
10.ÖZGEÇMİŞ	78

1- GİRİŞ

Karaciğer, diğer organ sistemlerinin aktivitelerini de ilgilendiren çok önemli metabolik fonksiyonları üstlenmiş bir organdır. Karaciğerin bir bölümünün çıkarılması karaciğerin malign ve benign hastalıklarının tedavisinde önemli bir yöntemdir.

Majör bir cerrahi girişim olan karaciğer rezeksiyonları tümör, travma, kist, apse gibi çeşitli patolojiler ve transplantasyon amacıyla sıklıkla uygulanmaktadır. Majör karaciğer rezeksiyonlarından sonra kalan karaciğer dokusunun fonksiyonel ve rejeneratif kapasitesi ameliyat sonrası mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde etkiler.

Karaciğerin primer karsinomlarında ve metastatik karaciğer kanserlerinde tek küratif tedavi parsiyel hepatektomi veya karaciğer transplantasyonudur. Major rezeksiyon ve kısmi karaciğer transplantasyonları kalan karaciğer parankim fonksiyonu ile sınırlanmaktadır.

Rejenerasyon, harabiyete uğrayan doku veya organların kendilerini onararak yeniden normal hale dönüşü veya yenilenme olarak tarif edilmektedir. Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan karaciğer dokusunda rejenerasyonun ilk günden itibaren başladığı ve DNA sentezinin, hepatektomi sonrasında ilk 24 - 48 saatte maksimuma ulaştığı gösterilmiştir.

Günümüzde bilgisayarlı tomografi, anjiyografi ve sintigrafi gibi yöntemlerle yapılan çalışmalarda, karaciğerin rezeksiyon sonrası erişkinlerde 3 - 6 ayda, çocuklarda 3 aydan daha kısa sürede eski boyutuna ulaştığı gösterilmiştir. İnsan karaciğerinin % 80 - 85'e varan rezeksiyonlarını bile tolere edebildiği ve rejener

olabildiği bildirilmektedir. Rezeksiyon %10'dan az olsa bile rejenerasyon olmaktadır.

Ağır metabolik yüküne karşın, karaciğer hücre proliferasyonu açısından oldukça stabil bir organdır. Hepatositler stabil hücreler olup, normal zamanda hepatositlerin yalnızca %0,0012 ile %0,01'i mitoz yapmaktadır. Sağlıklı karaciğer dokusundaki bu zayıf hücre döngüsü toksik karaciğer hasarı ve hepatektomi sonrası hızla değişmektedir. Bu durumlar masif hepatosit proliferasyonu ile sonuçlanmaktadır.

Parsiyel hepatektomiden sonra, 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4 - 5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve rezidüel lobüllerin büyümesi şeklinde olur.

Karaciğerin 2/3 rezeksiyonundan iki hafta sonra fonksiyonel bir karaciğer kitlesi elde edilmektedir. Karaciğer kitlesi toplam vücut kitlesinin türe ve yaşa özgü olarak belli bir kısmına eriştiğinde hücre proliferasyonu sonlanmaktadır. Rejenerasyon yanıtı, toksik karaciğer hasarında tipik olarak karaciğerin asiner yapısındaki sağlam hepatositlerin proliferasyonu ile gerçekleşirken rezeksiyon halinde bu durum rezeke edilen lobların yenilenmesi, yerine kalan karaciğerin hipertrofisi şeklinde olmaktadır.

Karaciğerin bu muazzam kendini yenileme ve rejenerasyon yeteneği parsiyel hepatektomi sonrasında, küçük boyutlu transplantların büyümesinde, split

transplantların büyümesinde, canlıdan karaciğer transplantasyonunda alıcı ve verici karaciğerlerinin büyümesinde vazgeçilmez bir süreçtir.

Hepatosit hücre bölümlerinden kaynaklanan çeşitli hepatosit büyüme faktörlerin etkilerinin araştırılması ve rejenerasyonun farklı evrelerinde gen ekspresyonunun monitörize edilmesi, karaciğer rejenerasyonunu anlamamızda önemli ilerlemelere sebep olmuştur.

Anjiyogenez varolan kan damarlarından tomurcuklanarak yeni kan damarı oluşumudur. Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstrasellüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogenezde temel rol oynar. Bu süreç içerisinde kan damarları, büyüyen dokunun gelişim ihtiyaçlarını karşılamak veya yaralanan dokuların onarımını sağlamak için bu dokulara besin, büyüme faktörleri, hormonlar ve oksijen temin eder.

Hepatik rejenerasyonun altında yatan mekanizmalar anlaşılmaya başladıkça rezeksiyon sonrası karaciğer yetmezliğini önlemek için bir takım stratejiler geliştirilmektedir.

Silybum marianum papatyagiller (compositae) familyasına bağlı otsu bir bitkidir. Silimarin, *silybum marianum* bitkisinden elde edilmektedir. Silimarin 16. yüzyılın başından beri sarılık ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Karaciğer hastalıklarında en fazla kullanılan bitkisel tedavilerden biridir. Silimarinin “silibin”, “silidianin” ve “silikristin” adlı üç izomeri bulunur. En aktif olanının silibin olduğu düşünülmektedir.

Karaciğer tümörlerinde rezeksiyon sonrası kalan karaciğer dokusu hacim olarak yetersiz olduğunda, tümörün bulunduğu loblara giden vasküler dallar embolize edilir ve sağlam karaciğer segmentlerinin hipertrofiye uğraması beklenir. Yaklaşık 4 - 6 hafta sonra tekrar değerlendirilip yeterli karaciğer dokusu oluşmuşsa rezeksiyon yapılır. İşte bu bekleme döneminde hastalara Silybum marianum verilmesinin hepatik rejenerasyon ve anjiogenezi hızlandırıp hızlandırmayacağını araştırmak için bu çalışma planlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi:

Karaciğer, karında sağ üst kadranda yerleşmiştir ve sınırlarını üstte sağda midclavicular hat ile 4. Kostanın kesim noktası, solda midclavicular hat ile 6. kostanın kesim noktası; altta sağ midaksillar hat ile 10. Kostanın kesim noktasının 1,5 cm aşağısı oluşturur. Inferiorunda duodenum, transvers kolon, sağ böbrek, sağ sürrenal bez, medialde ise, özofagus ve mide ile komşudur. Karaciğer üst yüzeyi diafragma ile sınırlıdır. Vücudun deriden sonra en büyük organıdır. Karaciğer ağırlığı, 1300-1700 gr arasında değişmektedir ve yenidoğanda toplam vücut ağırlığının yaklaşık 1/20' si iken, yetişkinlerde bu oran 1/50' dir(1).

Porta hepatisteki ve diyafragmatik yüzdeki birer küçük alan dışında karaciğerin tamamı periton ile örtülüdür(1). Tüm karaciğer, ince bağ dokusundan oluşan Glisson kapsülü ile örtülüdür. Glisson kapsülü düzenli sıralanmış tip I,

daha az oranda tip III kollogen lifler, fibroblastlar ve küçük kan damarlarından oluşmuştur(1, 2).

Karaciğeri falsiform, teres hepatis ve koronar ligamentler ön karın duvarına ve diafragmaya bağlar. Hepatoduodenal ligament içinde koledok, hepatik arter ve vena porta bulunur. Karaciğeri örten Glisson kapsülü iki yaprağa ayrılarak diafragmaya yapışır, bu iki yaprak “anterior ve posterior koronar ligamentler” adını alır. Bu ligamentler sağda ve solda “triangüler” ligamentleri oluşturur, önde birleşerek “falsiform” ligamenti meydana getirirler. Falsiform ligament karaciğeri karın ön duvarına bağlar(1, 3). En alt kısmında oblitere sol umblikal venin oluşturduğu lig. teres hepatis yer alır. Falsiform ligamentin sağa ve sola doğru devamı olan sağ ve sol koroner ligamentler karaciğeri diyafragmaya bağlar. Lig. hepatogastricum da karaciğeri yerinde tutan ligamentlerden biridir(1).

Önde safra kesesinin sol yanından, arkada inferior vena kavanın sol yanına uzanan çizgiye portal fissür (cantlie çizgisi) adı verilir. Bu fissür karaciğeri sağ ve sol olmak üzere iki loba ayırır. Sol lob falsiform ligament ile medial ve lateral segmentlere ayrılırlar(1, 2). Portal pediküllerin dağılımı ve bunların hepatik venlerle olan ilişkisi, safra yolları ve arteryel anatomi göz önüne alınarak karaciger sekiz segmente ayrılmıştır. Buna göre sağ lobda segment 5, 6, 7, 8 ve sol lobda segment 2, 3, 4 vardır. Kaudat lob ayrı bir segment kabul edilip segment 1 olarak isimlendirilmektedir(2). Segmenter anatomi, segmenter veya birkaç segmentin birlikte çıkarıldığı rezeksiyonlarda, kalan segmentlerin biliyer ve vasküler devamlılığını sağlamada önem kazanır.

Vasküler Anatomi:

Karaciğere dakikada 1500 ml. kan gelir. Bu kanın % 75' ini portal ven, % 25' ini hepatik arter karşılar. Buna karşılık hepatik arter karaciğerin oksijen ihtiyacının % 50'sini karşılar(4, 5).

Hepatik Arter:

Arteria gastrica sinistra ve a. lienalis ile birlikte çöliak trunkustan çıkan a. Hepatica propria, a. hepatica communis' in dalıdır ve omentum minus içerisinde, koledokun solunda, vena portanın önünde seyrederek karaciğere girer(5). Hepatik arter öncelikle karaciğer pedikülü içinde sağ ve sol sonrasında da karaciğerin segmentlerine göre dallara ayrılarak interlobüler arterleri oluşturur. Bu arterlerden bazıları portal yapılara akarken, bazıları da portal alanlardan farklı uzaklıklarda sinüzoidler içinde direkt olarak sonlanan arteriyolları (giriş arteriyolları) oluşturur. Bu sayede sinüzoidler içinde arteriyel ve portal venöz kan karışır(1, 6).

Hepatik arterin varyasyonu çoktur. Sağ hepatik arter % 25 oranında superior mezenterik arterden çıkabilir ve portal venin sağ yanında seyreder. Sol hepatik arter % 25 oranında sol gastrik arterden çıkabilir. Sol medial segment arteri % 25 sıklıkta sağ hepatik arterden çıkabilir. Sağ hepatik arter safra yolunun önünde seyredebilir. A. hepatica propria tümüyle superior mezenterik arterden çıkabilir(7-9).

Hepatik Venler:

Karaciğerin venöz drenajı üç major hepatik venle sağlanır. Sol hepatik ven 2. ve 3. segmentlerin kanını alır, orta hepatik venle birleşmek üzere yukarı yönde

parankim içinde oldukça yüzeyel bir durumda seyrederek. Sağ lobun kanı ise; sağ hepatik ven ile inferior vena kavaya boşalır. İnsanların %50'sinde 3. ve 4. segmentten kan alıp sol hepatik vene getiren ve "umbilikal fissür veni" adı verilen bir ven daha vardır. Bu ven orta hepatik venin bağlandığı fakat 4. segmentin rezeke edilmediği durumlarda bu segmentin drenajını sağlar(1, 3, 10). Orta hepatik ven genellikle sol hepatik venle birleşip tek trunkus halinde inferior vena kavaya açılır. Ayrıca, %25 oranında sağ karaciğerden doğrudan inferior vena kavaya ulaşan hepatik venler vardır. İzole segment rezeksiyonlarında bu hepatik venlerin varlığı rezeksiyonu kolaylaştırır(8, 10). Segment 1 (Kaudat lob)' in venöz drenajı üç ana hepatik venden bağımsızdır ve doğrudan vena kava inferiora olmaktadır(11).

Kan, klasik hepatik lobülün periferinden merkezine doğru akar. Sonuç olarak oksijen, metabolitler ve ince barsaktan emilen diğer bütün toksik, non-toksik maddeler önce lobülün periferik hücrelerine, sonrada merkez hücrelerine ulaşır(5).

Portal Ven:

Splenik ven ve superior mezenterik ven pankreas boynu hizasında birleşirler. Inferior mezenterik ven bu venlere katılır ve portal ven oluşur. İçerisinde valv sisteminin olmadığı portal venin uzunluğu ortalama 7 cm, çapı 1,2 cm' dir. Portal ven; mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen venöz kanı karaciğere taşır. Hepatoduodenal ligamentin içinde, duodenum birinci

kısının arkasından geçer, porta hepatis'e ulaşır ve orada sağ ve sol olmak üzere iki dala ayrılır.

Portal ven, karaciğer hilusuna gelmeden sol gastrik veni (koronar ven) ve bazı küçük dalları alır. Sol portal ven dalı sağa göre daha uzun ve yataydır. Portal ven dalları karaciğer içinde segmentlere göre dağılım gösterir(5, 12, 13). Portal ven dallanarak portal triadlara portal venüller verir. Bazen interlobüler dallar olarak da isimlendirilen portal venüller lobülün periferinde seyreden dağıtıcı venleri oluştururlar. Dağıtıcı venlerden çıkan küçük giriş venülleri sinüzoidlere açılır. Sinüzoidler lobülün merkezinde santral veni oluşturmak üzere birleşirler. Santral ven, lobül boyunca ilerledikçe daha fazla sinüzoid alır ve çapı giderek artar. Sonunda lobülü terkeder ve daha büyük olan sublobüler ven ile birleşir. Sublobüler venler giderek birbirine yaklaşır ve kaynaşırlar. Böylece iki ya da daha fazla sayıdaki büyük hepatik venler oluşur. Bu venler de vena cava inferiora açılır(1, 6, 14).

2.2. Karaciğer Embriyolojisi ve Histolojisi:

Karaciğer, ön barsağın (foregut) endoderminden ve septum transversumun mesoderminden köken alır. Dört haftalık embriyoda ön barsağın, daha sonra duodenumun gelişeceği ventral bölgesinden bir divertikül meydana gelir. Divertikülün kaudal bölümü duktus sistikus ve safra kesesi şeklinde gelişir. Kranial bölümden ise karaciğer meydana gelir(15).

Barsaklar aracılığı ile dışarıdan alınan su, mineral ve her çeşit gıda maddesi karaciğer aracılığı ile vücudun doku ve hücreleri için kullanılabilir hale

evrilir. Bunlar karaciğerde depo edilip kana verilirken, endojen ve eksojen metabolik artıklar da safra veya böbrekler yolu ile vücuttan uzaklaştırılır. Canlı hastalık etkenlerine karşı da makrofajların filtrasyonu ve immünolojik savunma mekanizması işler. Hepatositlerin bir yüzü kan, bir yüzü de safra ile temas halinde olup tüm fonksiyonların aksamadan yürümesini sağlar. Bu yapının organel seviyesinden başlayan bir bozukluğu, fizyolojiyi aksatarak patolojik sendrom ve hastalık tablolarının ortaya çıkması ile sonuçlanmaktadır(5,6).

Karaciğer, ‘lobül’ veya ‘asinus’ denilen birimlerden oluşur. Köşelerinde portal alanların, merkezinde terminal hepatik venülün (santral ven) bulunduğu poligonal ünitelere karaciğer lobülü denmektedir. Bir portal alanda portal ven ve hepatik arter dalları ile interlobüler safra kanalı bulunur. Asinus ise bir portal alan ile komşu santral ven arasında kalan üçgen şeklinde bir birimdir. Karaciğer parankimini oluşturan hepatositler, biri diğerinin üzerinde olacak şekilde kordonlar yaparak bir portal mesafeden bir santral vene doğru uzanır. Bu kordonların (Remarck kordonları) arasındaki mesafe sinüzoid olarak adlandırılır, burada portal alanlardan santral vene kan akımı mevcuttur. Sinüzoidler fenestralı bir bazal membrana oturmuş endotelial hücreler ile çevrilidir. Endotel hücreleri ile hepatositler arasında ancak ultrastrüktürel düzeyde görülebilen disse mesafesi bulunur. Bu mesafede, fenestralı bazal membrandan süzülen plazma, özellikle tip I ve tip IV olmak üzere kollajenler, fibronektin ve proteoglikanlar bulunur. Disse mesafesindeki kollajen fibriller hepatositlere destek olan retikülün çatıyı oluşturur. Bu çatının korunması, karaciğerin rejenerasyonunun ve bütünlüğünün devamı için gereklidir. Eğer retiküler çatı bozulur ise hepatosit hasarının iyileşmesi fibroz ile

sonuçlanır. Karaciğer fibrozunun artışı aynı zamanda kan akımını ve karaciğer içi kan dolaşımını etkileyerek, onun yeniden düzenlenmesine ve vasküler çatının bozulmasına, sonuç olarak da siroza yol açmaktadır(16-18).

Hepatik asinüs modeli; kanın arteriyel ve portal venöz damarlar ile karaciğer parankimine ulaşp, kordonlar biçiminde dizilen hepatositlerce işlendikten sonra (vena hepatica'nın başlangıcı olarak düşünülebilecek) terminal hepatik venüllere (lobüler modele göre vena centralis olarak adlandırılırlar) dökülmesi temel alınarak oluşturulmuştur. Bu model, hepatositleri, bol oksijenli kandan yararlanma derecelerine göre üç alanda gruplar: En iyi kanlanan periportal kısım "alan 1", en az kanlanan perivenüler kısım "alan 3" olarak adlandırılır. İskemik olaylardan en çok 3'üncü alandaki hepatositlerin etkilenmeleri bu modelle kolayca açıklanabilmektedir. Safra akımı, kabaca, kan akımının tersi yolu izleyerek (alan 3'den alan 1'e doğru) karaciğer parankimini portal alanlardan terk eder(17, 19, 20).

Karaciğer parankimi belli işlevleri üstlenmiş kesin sınırlarla ayrılan bölümler içermez; her hepatosit karaciğere ait her işlevi yerine getirebilir. Ancak; alan 1'deki hepatositler daha çok glukoneogenez, yağ asidi oksidasyonu, aminoasit parçalanması, kolesterol üretimi ve safra asidi sekresyonu ile ilgili görevler üstlenirken; alan 3'teki hepatositler glikoliz, lipogenez, detoksifikasyon gibi işlevlere ağırlık verir.

Karaciğerdeki hücrelerin %65'ini, karaciğer hacminin %80-88'ini hepatositler oluşturur. Hepatositin bazolateral veya sinüzoidal yüzeyi perisinüzoidal aralığa (Disse aralığı) doğru uzanan mikrovilluslar içeren bir

yapıya sahiptir. Burada kan ile direkt temas sağlar. Bu hepatositin oldukça yüksek emilim ve sekresyon aktivitesi için gereklidir. Sinüzoidal hücreler denilince endotel hücreleri, perisinüzoidal hücreler, Kupffer hücreleri ve Pit hücreleri (karaciğer ile ilişkili lenfositler) anlaşılır. Perisinüzoidal hücreler disse aralığında, diğerleri ise sinüzoidlerde yer alır. Endotel hücreleri sinüzoidleri disse aralığından ayıran, aralarında geniş porları olan bazal membran ve intersellüler birleşmeler içermeyen hücrelerdir. Kupffer hücreleri partiküllerin, immun komplekslerin, lezyonlu eritrositlerin ve endotoksinlerin klirensi ile görevli mononükleer fagositer sistem makrofajlarıdır. Perisinüzoidal hücreler (hepatik stellate hücreler, yağ depolayan hücreler, İto hücreleri) disse aralığında yer alan, A vitamininden son derece zengin hücreler olup normal ve hasarlı karaciğerde ekstrasellüler matriksin başlıca kaynağıdır. Ayrıca hepatosit büyüme faktörü kaynağı olup, sinüzoidal kan akımı kontrolünde rol oynadıkları ileri sürülmektedir. Pit hücreleri doğal ve lenfokinle aktive edilmiş katil hücre aktivitesi gösterirler. En küçük safra sekresyon aygıtı kanalikülleridir. Safra kanalikülleri periportal alanlarda bulunan safra duktuslarına (Hering kanalı) açılırlar. Bunlar portal alanlarda bulunan interlobuler safra kanallarına, interlobuler safra kanalları ise septal safra kanallarına açılırlar. Bu dört yapıya intrahepatik safra yolları denilir(17,19, 20).

2.3. Karaciğer Fonksiyonları:

Organizmanın yaşamının devamı açısından karaciğer, gerekli maddelerin üretimi, depolanması, ve dağılımın yanında; zararlı olabilecek maddelerin yıkımı ve atılımını da sağlamaktadır. Karaciğerde çeşitli metabolik sistemler substrat ve

enerjilerini paylaşırlar; vücudun öteki bölgelerine taşınacak birçok madde sentez edilir, işlenir(21, 22).

Karbonhidrat metabolizması:

Karaciğer karbonhidrat metabolizmasında glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glukozu çevirme, glikoneogenez ve karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal maddenin oluşturulması gibi birçok önemli fonksiyonları yürütür(21, 23, 24). Kanda normal glukoz konsantrasyonunun devamı için karaciğer çok önemli bir organdır. Örneğin, karaciğer glukozun fazlasını kandan alıp glikojen olarak depo eder ve glukoz konsantrasyonu düşmeye başladığı zaman da tekrar kana verir (karaciğerin glukoz tamponlama fonksiyonu)(5). Glukoneogenez de, kanda glukozun normal düzeyde kalmasına yardımcı olur. Karaciğerdeki bu fonksiyonlar sinüzoidlerdeki glukoz konsantrasyonu ile bağlantılı olarak insülin, glukagon ve α -adrenerjik reseptör uyarılarının kontrolünde gerçekleşmektedir(21, 24).

Lipid metabolizması:

Karaciğer yağ asitleri ile nötral yağları hem sentez hem de katabolize eden bir organdır. Kolesterol sentezi ve esterleştirilmesi esas olarak karaciğerde oluşur. Karaciğerin lipid metabolizmasındaki temel fonksiyonları şöyle sıralanabilir: yağ asitlerinin büyük bir hızla beta oksidasyonu ve asetoasetik asit oluşumu, başta şilomikronlar olmak üzere LDL, HDL ve VLDL gibi lipoproteinlerin yapımı, büyük miktarlarda kolesterol ve fosfolipid sentezi, karbonhidrat ve proteinlerin yağlara dönüştürülmesidir(21).

Protein metabolizması:

Karaciğer hücresi, kendisi için gerekli proteinlerin sentezine ek olarak, çeşitli plazma proteinlerini de sentezler. Karaciğerin protein metabolizmasındaki görevleri; aminoasitlerin deaminasyonu, plazma proteinlerinin sentezi, vücut sıvılarından amonyağın temizlenerek üre oluşumu ve değişik aminoasitlerin sentez ve birbirine dönüşümüdür. Karaciğerin sentezlediği plazma proteinleri arasında ise bağlayıcı ve taşıyıcı proteinler (albumin, haptoglobulin, transferrin ve seruloplazmin), proteaz inhibitörleri (antitrombin-3, α -1 antitripsin), hemostaz elemanları (protrombin, fibrinojen vb.) ve doku inflamasyonunda rol oynayan immünglobülinler ve C-reaktif protein bulunmaktadır. Bu fonksiyonların sadece karaciğer tarafından yürütülmesi, başka organların bu fonksiyonları geçici veya kalıcı olarak yerine getirememesi, karaciğeri, protein metabolizması açısından alternatifsiz kılar(5, 21).

Detoksifikasyon fonksiyonu:

Karaciğer vücutta salgılanan bir çok hormonun yıkım ve atılımı (örneğin; östrojen, kortizol, aldesteron, tiroksin) fonksiyonunu da yürütür. Ayrıca kalsiyum başta olmak üzere, bazı elektrolitlerin başlıca atılım yeri de safra aracılığı ile karaciğerdir. Bunun yanında, özellikle sefalosporinler ve eritromisin gibi antibiyotikler dahil çeşitli ilaçlar da safra yoluyla karaciğerden atılır(21).

Karaciğer bu detoksifikasyon fonksiyonunu, oksidasyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle yapar(5).

Demir metabolizması:

Vücutta demir esas olarak hemoglobindeki hem molekülünde bulunur. Bu demir haricinde demirin büyük bir kısmı karaciğerde ferritin olarak depolanmaktadır. Ayrıca karaciğer hücrelerinde bulunan ve demir ile birleşebilen apoferritin adlı protein kan demirinin tampon işlevini yürütür(5, 21).

İmmunolojik fonksiyon:

Karaciğer, retikuloendotelial sistemdeki Kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin, boya maddelerinin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla kandan temizlendikleri büyük bir filtre görevi görür. Karaciğerdeki Kupffer hücreleri, retikuloendotelial sistem hücrelerinin % 60' ını oluşturur(5, 25).

Hematolojik fonksiyonlar:

Kan pıhtılaşmasında rol oynayan proteinlerin çoğu öncelikle karaciğerde sentez edilir. Bu arada fibrinojen, protrombin ve faktör V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII sentezi karaciğerde yapılır. Protrombin ile faktör VII, IX ve X yapımı için K vitamini gereklidir. Karaciğer kandaki plazminojen aktivatörlerini uzaklaştırarak kontrolsüz fibrinolizis olayına da engel olur.

Embriyolojik yaşamda hematopoetik sistemin temel hücreleri olan miyelositlerin, megakaryositlerin, eritrosit ve eritroblastların üretim yeri karaciğerdir. Normal şartlarda doğumdan sonra duran bu fonksiyon, kemik iliğinin görevini yapamadığı durumlarda tekrar aktif hale gelir(5, 7, 21).

Vitamin metabolizması:

A, D, E, K ve B12 vitaminlerinin ana deposu karaciğerdir(5, 25)

Safra üretimi ve salınımı:

Safra, başta bağlı bilirubin olmak üzere, safra boyaları, safra asitlerinin bağlı tuzları, fosfolipitler (temel olarak lesitin), kolesterol, az miktarda protein (özellikle albumin), inorganik elektrolitler, su ve birçok metabolitin karışımından meydana gelen karmaşık bir çözeltidir. Osmolalitesi 300 mOsm/kg' dır. Günde 500 - 1500 ml kadar safra salgılanır. Karaciğer safra asitlerini kolesterolden sentez eder ve safra kolesterolün vücuttan atıldığı başlıca yoldur. Safranın hemen tamamı, başlıca distal ileumda olmak üzere, ince barsaklarda geri emilir ve günde 6- 10 kez olmak üzere enterohepatik dolaşıma girer(5). Sülfonamid, penisilin, ampicilin vb. birçok ilaç ile östrojen, kortizol, aldesteron gibi hormonlar ile kalsiyumun atılımı safra ile olmaktadır(21, 25).

2.4. Karaciğer Rezeksiyonu:

Karaciğer rezeksiyonu anatomik ve non-anatomik olarak ikiye ayrılır. Vasküler anatomiye esas alan rezeksiyon tipleri anatomik rezeksiyon olarak adlandırılır. Bu tip rezeksiyonlarda anatomik fissürlere uyulur; fonksiyonel ve anatomik olarak tanımlanmış karaciğer bölümleri çıkarılır. Anatomik rezeksiyonların amacı fonksiyonel bölünmelere uyarak daha kansız ameliyat yapmak, diğer bölünmelerin kanlanmasını bozmamaktır.

Anatomik rezeksiyonlar sağ ve sol hepatektomiler, sektörektomiler, segmentektomiler, subsegmentektomilerdir(26). Nonanatomik rezeksiyonlar ise daha çok karaciğer periferinde yerleşmiş ve major vasküler yapılar ile ilişkisi olmayan lezyonlarda ya da parankim kaybından kaçınılan sirotik karaciğerlerde gelişmiş tümörlerin çıkarılmasında uygulanabilir. Lezyon, etrafındaki 1 cm'lik sağlam doku ile beraber çıkarılır(27).

Karaciğer rezeksiyonları karaciğerdeki lezyonların çıkarılmasında, çok çeşitli sebepler için gerekebilir. Tedavilerinde karaciğer rezeksiyonu kullanılabilen en sık durumlar Tablo 1'de gösterilmiştir(28).

Karaciğerin %50' si veya daha fazlası çıkarıldığında postoperatif dönemde hastanın yakın takibi gereklidir. Elektif hepatektominin mortalite oranı yaklaşık %5 civarındadır ve bu oran büyük ölçüde postoperatif komplikasyonlara bağlıdır(29). Postoperatif mortalite ve morbidite nedeni olan bu komplikasyonlar arasında karaciğer yetmezliği, biliyer fistül, subfrenik perihepatik abse, pnömoni, plevral effüzyon ve stres ülserleri sayılabilir(29-31).

- Benign karaciğer tümörleri
 - Hemanjiom
 - Adenom
 - Fibronodüler hiperplazi
 - Kistadenom
- Malign karaciğer tümörleri
 - Primer
 - Hepatosellüler karsinom
 - Kolanjiyosellüler karsinom
 - Metastatik (sekonder)
 - Kolorektal kanser
 - Nonkolorektal kanserler ve nöroendokrin tümörler
 - Karaciğeri direkt invazyonla tutan tümörler
 - Adrenal tümörler
 - Renal karsinom
 - Gastrik kanser
 - Kolon kanseri
 - Retroperitoneal ve inferior vena kaval sarkom
- Safra kesesi kanseri
- Hiler kolanjiokarsinom
- Benign durumlar
 - İntrahepatik biliyer striktürler / fistüller
 - İntrahepatik biliyer taşlar
 - Rekürren piyojenik kolanjit
 - Caroli Hastalığı
 - Karaciğer kistleri / polikistik karaciğer hastalığı
- Parazitik kistler
- Karaciğer Travması

Tablo 1: Tedavilerinde karaciğer rezeksiyonu kullanılabilen en sık durumlar

2.5. Karaciğer Rejenerasyonu:

Organizmada ölü hücrelerin yenilenmesi ve lokal zedelenmede onarım gücü, yaşam için kritik önem taşır. Onarım şu iki olaydan biri ile olur: 1-) Zedelenen hücre aynı tipte parankimal hücreler tarafından yenilenir ki bu durumda bazen ilk zedelenmeden iz dahi kalmaz (Rejenerasyon) 2-) Onarım için kalıcı nedbe dokusunun oluşması durumunda bağ dokusu zedelenen dokunun yerini alır (Fibroplazi)(27).

Rejeneratif kapasite açısından hücreler labil, stabil ve permanent olarak üç gruba ayrılırlar. Permanent hücreler doğumdan sonra üreyemeyen hücrelerdir. Labil hücreler yaşam boyu prolifer olmaya devam ederken; yüzeysel epitel hücreleri, lenfoid ve hematopoetik hücreler gibi stabil hücreler normalde bölünüp çoğalmayan ancak bu kapasiteye sahip olan hücrelerdir. Stabil hücreler genellikle düşük seviyede replikasyon gösterirler, ancak uyarı ile hızla çoğalabilirler. Karaciğer hücreleri bu grubun en iyi örneğidir(27).

İnsan dahil sağlıklı hayvanlarda parsiyel hepatektomi sonrası karaciğerde düşük perioperatif mortalite ile bir rejenerasyon gerçekleşecektir. Rölatif olarak sağlıklı hastalarda ya da canlı donörlerde karaciğer rezeksiyonu sonrası yapılan birçok çalışma tipik olarak %4'ten az perioperatif mortalite bildirmektedir(32,33). Aslında parsiyel hepatektomi sonrası gelişen olaylar zinciri tam bir rejenerasyon değildir. Kertenkelelerdeki kuyruk yenileme olayına benzer şekilde parsiyel hepatektomi sonrası rezeke edilen karaciğer lobu yeniden büyümeyecek, onun yerine geride kalan karaciğer dokusu vücut ağırlığına göre belli bir orana gelinceye kadar hipertrofiye olacaktır(34).

Karaciğer rejenerasyonunun gösterilmesi ve rejeneratif yanıtın çalışılması için in vivo model olarak parsiyel hepatektomi (PH) tercih edilmektedir. PH sonrası rejenerasyona yönelik çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan iki model organizma fare ve ratlardır. Bunun nedeni boylarının küçük olması, çiftleştirilmiş çapraz soyların elde edilebilmesi ve maliyetlerinin ve bakımlarının ucuz olmasıdır(35).

Rat karaciğerinin iki anterior, iki sağ ve iki de omental lobu vardır. Anterior lobların biri median lob olup karaciğerin %38'ini oluştururken diğeri sol anterior lobdur ve karaciğerin %30'unu oluşturur. Sağ loblar anterior ve posterior olarak toplamda karaciğerin %24'ünü oluştururlar. Omental loblar ise karaciğerin %8'ini oluşturur ve bazen tek bir kaudat lob şeklinde bulunabilir. Parsiyel hepatektomi modelleri ile karaciğer rejenerasyonu üzerine değerli ve kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Karaciğerin sol anterior ve median lobunun kolayca rezekt edilebilmesi nedeniyle bir model standardize edilerek yaklaşık %70 hepatektomi ile standart bir model oluşturulmuştur(36).

PH veya karaciğer hasarının hemen sonrasında hepatositler, hücre döngüsünün istirahat fazından (G0) çıkar ve G1 fazına girer, DNA sentezi ya da S fazına geçer ve sonunda mitoz oluşur. Parankim hücrelerinde (hepatositler ve safra kanalı epitel hücreleri) DNA sentezinin ilk tepe noktası, ratlarda ve farelerde rezeksiyon sonrası sırası ile 24. ve 40. saatlerde görülmektedir. Mitoz DNA sentezinden 6-8 saat sonra görülmekte ve rezeksiyondan 48 saat sonra maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Parankim dışı hücrelerde proliferasyonun ilk tepe noktası parankim hücrelerindeki 12 saat sonra görülmektedir(37). Büyük hayvan

modellerinde ise maksimum DNA sentezi daha geç olup köpeklerde 72-96. saatte ve primatlarda yaklaşık 7-10. gündedir(38,39). Hepatosit proliferasyonunun büyüklüğü, hasarın büyüklüğü ile doğru orantılıdır; örneğin küçük karaciğer hasarı lokal mitotik reaksiyon ile sonuçlanırken, %10'dan büyük karaciğer hasarı tüm karaciğerde proliferasyon ile sonuçlanacaktır(40). Üçte iki PH gibi %50'den büyük rezeksiyon durumunda daha az belirgin, ikinci bir mitoz dalgası gözlenmektedir. Rat ve farelerde mitozdaki bu ikinci tepe noktası 3-5. günde gözlemlenirken, büyük hayvanlarda bu ikinci mitoz dalgası çok daha geniş zamana yayılır ve günler içinde gerçekleşir. Küçük hayvanlarda, rejeneratif yanıtın karaciğeri rezeksiyon öncesindeki denkleme haline getirmesi 7-10 gün almaktadır(35). İnsanda ise rejenerasyon 3 gün içinde başlarken karaciğerin orijinal boyutuna ulaşması 6 ay kadar sürer(41,42).

Parsiyel hepatektomiye yanıtta rol oynayan faktörler Fausto'nun hazırlama modeline dayanan beş kategori kullanılarak sınıflandırılabilir(43).

1-) Hazırlayıcı Faktörler: Bu faktörler hepatositlerin büyüme faktörlerine yanıt vermesini ya da G0 fazından G1'e geçmesini sağlar. Bu grupta tümör nekroz faktör, interlekin 6 ve nitrik oksit bulunur (TNF/IL 6/NO).

2-) Büyüme Faktörleri: Bu faktörler hepatositlerin hücre döngüsü içerisinde progresyonuna olanak sağlar (G1 fazından S fazına geçme). Bu grupta hepatosit büyüme faktörü (HGF), tümör büyüme faktörü α (TGF- α) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) bulunur.

3-) Co-mitojenler: Bunlar mitojenlerin etkisine yardımcı olur. Bu grupta insülin ve epinefrin bulunur.

4-) Tonik büyüme inhibitörleri: Hepatosilerin büyüme yanıtını inhibe ederler. Bu grupta aktivin A ve tümör büyüme faktörü β (TGF- β) bulunur.

5-) Büyüme inhibitörlerinin supresörleri: Tonik büyüme inhibitörlerinin biyolojik etkisini baskırlar. Bu grupta latans ilişkili peptit (LAP) ve follistatin bulunur

TNF: Normal karaciğerde rejenerasyon için gereklidir. TNF reseptör 1 subünitesini barındırmayan farelerde parsiyel hepatektomi sonrası anormal ve gecikmiş rejenerasyon izlenmektedir(35). TNF uyarısının olmaması tek bir rekombinant IL-6 enjeksiyonu ile düzeltilebilmektedir; bu da TNF'nin yalnızca IL-6 salınımında rol oynadığını öngörür(35). TNF'nin hepatositleri büyüme faktörlerine duyarlı kılan hazırlayıcı bir faktör olduğu düşünülmektedir.

IL-6 ve diğer gp130 ligandları: IL-6 çeşitli savunma mekanizmalarında ve patolojik süreçlerde görev alan çok fonksiyonlu bir proinflamatuvar sitokindir(35). IL-6'nın hedef hücre tipine bağlı olarak büyümeyi uyaran, inhibe eden ve differensiyasyonu hızlandıran rolleri olduğu gösterilmiştir. IL-6, IL-6 reseptörünün α zincirine (IL 6 α reseptörü ayrıca gp80 olarak da bilinmektedir) bağlanarak gp 130 reseptörünün aktivasyonunu sağlar, bu aktivasyon da ikincil mesajcıların dimerizasyonunu indükler(44). Karaciğer rezeksiyonu sonrasında IL-6 hem karaciğerde hem de sindirim kanalında eksprese edilmektedir ve karaciğer

rejenerasyonu için gerekli bir mediatör olarak belirlenmiştir(35). IL-6 ve IL-6 reseptörünün α zincirin bir formu olan gp 80'i aşırı eksprese eden transjenik farelerde, hepatosit proliferasyonunda artış görülmüştür. Bu da gp 80'in, karaciğerin IL-6'ya verdiği büyüme yanıtını arttırdığını düşündürmektedir(45). IL-6'ya ek olarak gp 130'a bağlanıp onu aktive eden sitokin ailesinin tüm üyeleri (lösemi inhibe edici faktör, silier nötrofilik faktör, onkostatin M ve IL-11) hepatik akut faz yanıtını indükleyebilir ve böylece karaciğer büyümesinin regülasyonunda rol oynayabilirler. Ancak, IL-6 ailesinden sitokinlerin rejenerasyondaki rolüne ait güncel kanıtlar zayıftır(46,47).

HGF: HGF kültürlerdeki hepatositlerde DNA sentezini indükleme yeteneğine dayanarak izole edilmiştir(48). Fausto ve birtakım diğer araştırmacılar normal hepatositlerin in vivo şartlarda büyüme faktörlerine az duyarlı olduğunu ve bu faktörlere ancak hazırlık ve sonrasında da erken genlerinin ekspresyonu ile replikatif yeterlilik kazandıktan sonra yanıt verdiklerini kabul etmektedirler. Geçmişte yapılan çalışmalar PH sonrasında erken dönemde olan olaylara odaklanmıştır. Hepatosit plazma membranı üzerinde ürokinaz reseptörleri belirir ve 1-5 dakika içinde ürokinaz aktivitesinde artış olur. 30 dakika içinde hepatosit plazma membranı hiperpolarize olur(49). Safra kanaliküllerinde ilk 5 saat içerisinde belirgin morfolojik değişiklikler görülmesine rağmen safra üretiminde az miktarda bir düşüş saptanır. Birçok yeni gende PH sonrasındaki 30 dakika içinde olan bu indüksiyona erken genler(50) denilir ve bu indüklenme yeni protein sentezinden bağımsızdır. Bu hazırlık aşamaları nutrisyonel modifikasyon,

bakteriyel lipopolisakkaridler, TNF veya IL-6 gibi sitokinlerle indüklenmektedir (35).

EGF ve TGF- α : Büyük bir glikoprotein olan EGF hem in vivo hem de in vitro şartlarda çeşitli epidermal ve epitelyal dokuların, hücre kültürlerinde de bazı fibroblastların büyümesini uyarır(51). EGF ailesinden olan TGF- α ortak EGF reseptörünü paylaşmaktadır. TGF- α karaciğer rejenerasyonu için mutlak gerekli değildir. TGF- α barındırmayan farelerde de normal rejenerasyon gözlenmektedir. Bu da EGF'nin TGF- α eksikliğini kompanse ettiğini öngörmektedir(52).

İnsülin ve Glukagon: İnsülin ve glukagonun, özellikle birlikte verildiklerinde parsiyel hepatektomi sonrası rejenerasyonu hızlandırdıkları gösterilmiştir(53,54). Köpeklerde yapılan bir çalışmada Whipple prosedürü uygulanmış, ardından da işlem sonrası pankreatik drenajda rol oynamayan superior mesenterik ven selektif olarak sol hepatik loba ve geride kalan tüm pankreatik drenajı sağlayan splenik ven sağ hepatik loba boşalacak şekilde portal rekonstrüksiyon uygulanmıştır. İyileşme sonrasında bu hayvanlara her iki loba simetrik olacak şekilde parsiyel hepatektomi yapılmıştır. Pankreastan venöz kan akımının olduğu sağ lobda sola göre artmış mitoz hızı gözlenmiştir(55,56).

TGF- β : TGF- β , TGF- β süper ailesi olarak bilinen otuzdan fazla faktörden biridir(57). TGF- β in vitro ve in vivo şartlarda hepatositler üzerinde büyümeyi inhibe edici etkiye sahiptir(58, 59, 60, 61). Farelere in vivo olarak sürekli eksojen TGF- β verilmesi karaciğerin yaklaşık %50'sinin kaybedilmesine neden olacaktır. TGF- β normal ve hasarlı karaciğerde ito hücrelerinden salgılanmaktadır ve karaciğer biyomatriksinin sentezi ile de ilişkilidir. TGF- β , PH sonrasında lobülde

periportal alandan başlayarak perisantral alana doğru kademeli bir şekilde kaybolur. TGF- β 'nin bu kayboluşunu hepatositlerde oluşan bir mitoz dalgası izler. Bu olay hepatositlerin normal hücre siklusunu tamamlaması için ortamda TGF- β azalmasının gerekli olduğunu göstermektedir. PH'den kısa bir süre sonra TGF- β plazmada artmaya başlar. Bu artış HGF artışı ile birlikte olmaktadır. TGF- β muhtemelen α -2 makroglobuline bağlı ve inaktif olarak salınmaktadır. PH sonrası TGF- β infüzyonu hepatositlerin 24. saatteki DNA sentezi pikini baskılar ve bu baskılama DNA sentezinin normale döndüğü 72. saate kadar devam eder. Ancak rejenere olan karaciğerden 12-24. saatte elde edilen hücreler TGF- β 'nin bu mitozu baskılayıcı etkilerine dirençlidir. Aynı zamanda hepatositlerdeki TGF- β reseptörleri de azalmaktadır. TGF- β 'ya karşı olan bu direnç 96. saatte normale dönmektedir. Hepatositlerdeki mitoz 48-72. saatte sonlanmaktadır ve bu dönemde hepatositler hala TGF- β etkisine dirençlidir. Diğer taraftan hepatositler TGF- β 'ya rağmen mitozu gitmektedirler. Yapılan birçok çalışmada TGF- β 'nın hepatosit proliferasyonunu tek başına durdurmadığından şüphe edilse de bu noktada henüz bir başka faktör tespit edilememiştir(62).

Aktivin ve Follistatin: TGF- β süper ailesinin bir diğer üyesi olan aktivinin in vitro ve in vivo şartlarda güçlü büyüme inhibe edici etkileri bilinmektedir(63,64). Follistatin, aktivin izoformları için yüksek affiniteli bir liganddır ve reseptöre bağlanmalarını ve biyolojik aktivitelerini inhibe eder(65).

Kemokinler: Sitokinlerden kemokin ailesi çeşitli inflamatuvar süreçlerde görev aldığı bilinen otuz üyesi olan geniş bir gruptur(66). Birçok karaciğer zedelenmesi modelinde interferon ile indüklenen protein 10 (IP-10), γ -Interferon

ile indüklenen monokin(MIG) ve makrofaj inflamatuvar proteini 1- α (MIP1- α) dahil çeşitli kemokinlerin eksprese edildiği gözlenmiştir(67,68). Sitokinlerin toksik karaciğer hasarı sonrasında iyileşmeyi hızlandırdığı ve HGF ekspresyonunu hızlandırması ile direkt ya da dolaylı olarak hepatosit proliferasyonunda rol oynadıkları gösterilmiştir(67,69,70).

Wnt'ler : Wnt'ler hücrenin proliferasyonunu, migrasyonunu, polaritesini, ölümünü regüle edici görevleri olan protein yapıda büyüme faktörü ailesidir(71). Wnt uyarısında bozulmalar, hepatosellüler ve kolon kanseri dahil birçok malignitede tespit edilmiştir(62). Prolifere olan hepatositlerde yapılan ön çalışmalar Wnt uyarı yolunun hem hepatosellüler karsinom, hem de hepatosit proliferasyonu için önemli olduğunu düşündürmektedir(72,73).

Prostoglandinler: 1970'lerde yapılan deneyler prostoglandin E2 (PGE2), prostasiklin ve tromboksani içeren prostoglandinlerin, parsiyel hepatektomi sonrası büyüme regülasyonunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir(74,75). Araşidonik asit metabolizmasında rol alan COX-1 taşımayan yada COX-1/COX-2 inhibitörleriyle veya indosin ile tedavi edilmiş farelerle yapılan deneyler; parsiyel hepatektomi sonrası normal karaciğer rejenerasyonunda COX-2'lerin majör, COX-1'lerin ise minör rolü olduğunu göstermiştir(76). Siklooksijenaz inhibitörlerinin insanda rejenerasyonu bloke ettiği henüz gösterilmediyse de, bu veriler majör karaciğer rezeksiyonu sonrasında indometasin gibi nonsteroidal antiinflamatuvarların kullanımı konusunda dikkatli olunması gerekliliğini göstermektedir(35).

Steroid Hormonlar ve Tiroid Hormonu: Steroid hormonlar hem hepatositlerde büyümeyi hem de hepatositlerin yağ içeriğini regüle etmektedirler. Seks steroidlerinin geçici hepatosit proliferasyonunu indükledikleri ve yağ asidi metabolizmasını hızlandırdıkları bilinmektedir(77,78). Hepatositlerde östrojen reseptörü bulunmaktadır(79). Parsiyel hepatektomi sonrasında serum östradiol seviyesi belirgin olarak artmaktadır(80). Tamoksifenin parsiyel hepatektomi sonrası hemen verilmesi rejenerasyonu yavaşlatmakta ve kültürdeki hepatositlerin DNA sentezini inhibe etmektedir(81). Erkek sıçanlarda ve insanlarda parsiyel hepatektomi sonrası hepatositlerde androjen re-uptake'inin artışına bağlı olarak testosteron seviyesi yükselmektedir(35). Tiroid hormonu da invitro ve invivo hepatosit proliferasyonunu arttıran bir hormondur(82,83). Glukokortikoidler hepatosit proliferasyonunu inhibe ettikleri gibi yağ asidi metabolizmasında da rol alan birçok genin ekspresyonunu azaltmaktadırlar(84).

Nitrik Oksit (NO): Nitrik oksit sentetaz enzimi ile arjininden sentezlenir. Nitrik oksit sentetaz (NOS)'ın iki ayrı formu mevcuttur; iNOS ve cNOS. cNOS uyarı sonrasında çok hızlı NO sentezlenmesine yol açar ve kısa süreli etki eder. Buna karşılık iNOS daha geç ama uzun süreli NO sentezlenmesini sağlar. Hepatik endotel hücrelerde cNOS aktivasyonu kan damarlarındaki gerilim stresindeki değişiklikten sonra gerçekleşmektedir(85). Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan karaciğer parsiyel hepatektomi öncesindeki kadar kanlanmaktadır. Bu da gerilim stresinde belirgin bir artışa ve hepatik endotel hücrelerinde cNOS vasıtasıyla oluşan NO'de artışa neden olur. cNOS aktivitesindeki bu ilk artış ve NO salınımı hepatik parenkim hücrelerinin G1 fazına girmesi ve hepatik

rejenerasyonun başlamasında gerekli olayların ve uyarı mekanizmalarının tetiklenmesi için şarttır(86). NO hepatosit proliferasyonunda çok önemli bir role sahiptir. cNOS hepatektomi sonrası başlangıç stimulusundan sorumluyken; iNOS hücre döngüsüne girdikten sonra hücrelerin ölmesini engellemek için gereklidir(87).

2.6. Hepatosellüler zedelenmenin değerlendirilmesi:

Hepatosellüler zedelenmeyle ilişkili testler serum transaminazları veya aminotransferazları olarak adlandırılan, aspartat aminotransferaz (AST, serum glutamik-oksaloasetatik asit transferaz [SGOT]), alanin aminotransferaz (ALT, serum glutamik-piruvik transaminaz [SGPT]) ile laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleridir (88).

AST karaciğer dışında, iskelet ve kalp kaslarında, böbrekler, beyin, pankreas, akciğerler, lökositler ve eritrositlerde bulunurken ALT esas olarak karaciğerde bulunur. ALT sitozolde, AST ise hem sitozolde hem de mitokondride yer alır.

LDH pekçok normal ve malign dokuda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Enzimin beş izoenzimi (LDH 1-5) olup, elektroforetik olarak en yavaş olanı (LDH-5) karaciğerde bulunan izoenzimidir.

Transaminazlar normal hücre döngüsünü yansıtacak şekilde dolaşımda az miktarda bulunur, transaminazlardan zengin dokularda hasar oluştuğunda enzimin serum düzeyi yükselir. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer

zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Sadece fulminan seyirli hepatitlerde artık nekroze olacak yeterli miktarda hepatosit kalmadığında düzeyleri normal hatta düşük olabilir ki; bu kötü prognoz belirtisidir(88).

2.7. Anjiyogenez:

Vertebralı embriyoda kardiyovasküler sistem ilk fonksiyonel olan organdır ve kan damarlarının yapıtaşı olan endotelyal hücreler ile hemotopoetik hücreler gastrulasyon evresinden kısa süre sonra primitif mezoderminden gelişirler. Embriyogenez boyunca vasküler sistemin gelişiminde iki temel oluşum vardır: Vaskülogenez ve anjiyogenez. Vaskülogenez anjiyoblast olarak adlandırılan mezodermal öncülerden endotelyal hücrelerin de-novo farklılaşmasıyla oluşur(89,90). Anjiyogenez ise çok sayıda proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilen, varolan kan damarlarından tomurcuklanarak yeni kan damarı oluşumudur(89,91). Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstrasellüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogenezde temel rol oynar(91-93). Erişkin insanlardaki vasküler endotelyal hücreler tipik olarak düşük turnover hızında olmalarına rağmen, yaşamları boyunca yeni kan damarları oluşturacak çoğalma kapasitesine sahiptirler.

Bu süreç; embriyonik gelişim, normal doku büyümesi ve yara iyileşmesi, myokardiyal iskemi, oküler neovasküler hastalıklar, Von-Hippel-Lindau Hastalığı, Heretider Hemorajik Telenjektazi gibi genetik hastalıklar; romatoid

artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıklar ve kadınlarda üreme döngüsü (ovulasyon, menstruasyon ve plasenta gelişimi) içinde olduğu gibi malign neoplazmaların büyüme ve metastatik yayılımlarında da yer almaktadır(94-96). Yeni damar oluşumu aşağıda belirtilen olayları kapsayan çok basamaklı bir süreçtir:

1. Bazal membranın proteolitik enzimler tarafından yıkılması
2. Endotel hücre aktivasyonu, proliferasyonu ve göçü
3. Tubul oluşumu ve olgunlaşma, damar stabilizasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesi

Fizyolojik anjiyogenez kontrollü ve sınırlıdır. Embriyogenez, yara iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde görülen anjiyogenez bu gruptadır. Doku onarımı gibi fizyolojik bir olay karşısında başlar. Doku zedelenmesi veya başka bir anjiyogenik uyarı proteazları aktive ederek damar duvarındaki bazal membranın erimesine yol açar. Bu bölgeden kapiller tomurcuklanma meydana gelir ve endotel hücreleri migrasyonu başlar. Anjiyogenik uyarıya doğru yer değiştiren endotel hücreleri tüp şeklinde dizilerek lümen oluştururlar. Bazal membranın tekrar oluşması ile yeni bir damar oluşumu tamamlanmış olur.

Patolojik anjiyogenez ise kontrolsüz ve ilerleyicidir. İnflamatuvar hastalıklar, çeşitli kanserler, oküler neovasküler hastalıklarda görülen anjiyogenez bu gruptadır. Normalde anjiyogeneizde anjiyogenez aktivatörleri ile anjiyogenez inhibitörleri arasında denge vardır. Tümör anjiyogenezinde çevresel ve genetik faktörler çeşitli onkogenlerin aktivasyonuna ve bazı tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olur. Bunun sonucunda anjiyogenez aktivatörlerinin

üretimi artarken anjiyogenez inhibitörlerinin üretimi baskılanır ve tümör hücrelerinde denge anjiyogenez lehine bozularak yeni damar yapımı başlatılır.(Angiogenic Switch)(96,97). Periferik arter hastalıklarında ve gecikmiş yara iyileşmesinde ise yetersiz anjiyogenez söz konusudur(98).

Pro-anjiyogenik Faktörler	Anti-anjiyogenik Faktörler
Angiogenin	Angiostatin
Angiopoetin-1	Endostatin
Del-1	Vazostatin
Follistatin	Trombospondin-1
Leptin	Heparin
Proliferin	IFN α - β - γ
VEGF (Vasküler endotel büyüme faktör)	IL-12
IL-8 (İnterlökin-8)	CD 59 kompleman fragmanı
FGF (Asidik, bazik fibroblast büyüme faktörü)	Vaskülostatin
G-CSF (Granülosit koloni uyaran faktör)	Retinoidler
HGF (Hepatosit büyüme faktörü)	PF-4 (trombosit faktör -4)
TNF α (Tümör nekroz faktör- α)	TIMPs (doku metalloproteinazları)
PGF (Plasental büyüme faktörü)	hCG (insan koryonik gonadotropini)
PDGF (Trombosit kökenli büyüme faktörü)	PAI (plazminojen aktivatör inhibitörü)
TGF- β (Transforme edici faktör- β)	PRP (proliferin ilişkili peptid)

Tablo 2: Anjiyogenetik Faktörler

Bugün için anjiyogeneizde rol oynayan bir çok endojen düzenleyici molekül tespit edilmiştir. Bunlar içinde VEGF, FGF, anjiyogenin, proliferin, HGF, TNF α ve trombosit kökenli endotel büyüme faktörü gibi moleküllerin anjiyogenik aktiviteleri gösterilmiştir(99). Bu regülatör anjiyogenetik moleküller içinde hayvan modelleri ve klinik çalışmalarda en çok araştırılan moleküller VEGF ve b-FGF'dir(100). VEGF bu dengenin sağlanmasında önemli bir yeri vardır. Anjiyogeneizde en temel ve en önemli faktördür(101-104). Bu da, VEGF dolaşım düzeylerinin potansiyel bir objektif prognostik belirti olarak değerlendirilmesine yol açmıştır. Çeşitli gruplarda, daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu, büyük ölçüde, periferik kandaki beyaz hücrelerin katkısı sonucunda gerçekleşen trombosit aktivasyonu ile VEGF'nin serbest kalmasından kaynaklanır(105,106). Anjiyogeneiz ile ilişkisi saptanmış moleküller Tablo 2'de gösterilmiştir(90, 107, 108, 109).

2.8. Silybium Marianum:

Bir flavonoid olan silymarin son zamanlarda hepatoprotektif bir ajan olarak tanımlanmıştır. Silymarin, devedikeni (*Silybium marianum*) bitkisinin tohum ve meyvesinin ekstresinden elde edilir ve üç ayrı bileşik olan silibin, silidianin ve silikristinden oluşur(110).

2.8.1. Etki mekanizması

Silymarinin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir; fakat literatürde 4 farklı yol ile açıklanmıştır:

*Glutasyonun intraselüler miktarının regülatörü olarak,

*Hepatotoksik ajanların hepatositlere girmesini önleyen hücre membranı stabilizatörü ve permeabilite regülatörleri olarak,

*Karaciğerin rejenerasyonunu stimüle ederek RNA polimerazın hücre çekirdeğindeki aktivitesini uyarıcı olarak,

*Siroz oluşturan kollajen liflerin depozisyonundan sorumlu hepatositlerin miyofibroblastlara transformasyonun inhibitörü olarak.

Hepatoprotektif etkinin anahtar mekanizmasının serbest radikal süpürücüsü olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir(110).

Silymarinin farmakodinamik özellikleri:

Antioksidan özelliği: Genelde flavonoidlerin iyi bir antioksidan etkileri vardır. Hayvan çalışmalarında lipid peroksidasyonun silibinin ile inhibe edildiği gösterilmiştir(111,112).

Oksidatif stres modellerinde koruyucu etkisi: Oksidatif stres, pro-oksidan serbest radikallerin kontrolsüz çoğalması sonucu dokuda görülen yapısal veya fonksiyonel hasar olarak tanımlanır. Oksidatif stres genellikle indükleyicinin prooksidan etkisinin hücre savunma sisteminin anti-oksidan kapasitesini aştığı durumlarda gelişir. Oksidatif stres sonucunda indirgenmiş glutatyon (GSH) miktarı azalır. Yüksek doz etanol ve parasetamole maruz kalmış farelerde, silymarin ve silibinin, oluşmuş olan oksidatif stresi önlediği görülmüştür(113, 114, 115).

Karaciğerin rejenerasyonun stimülasyonu: Silimarin'in karaciğer rejenerasyonunu uyarma kapasitesini açıklayacak mekanizmalardan biri hasarlanmış karaciğer dokusundaki protein sentezi artışıdır. Silibinin, *invivo* ve

invitro hayvan çalışmalarında, ribozomların oluşumunu ve DNA sentezini önemli derecede artırmıştır. İlginç olarak silibinin uyardığı protein sentezindeki artışın sağılıklı kontrol gruplarında olmayıp sadece hasarlanmış karaciğer dokusunda olmasıdır(116,117).

Amanita phalloides (A. phalloides) zehirlenmesinde etkisi: Silymarin deneysel hayvan çalışmalarında, öldürücü dozda A. phalloides verilmesinden sonraki 10 dakika içinde silymarin verildiğinde toksinin etkilerini nötralize ettiğı saptanmıştır. Son zamanlarda α -amanitine bağılı karaciğer sitotoksitesinde TNF- α 'nın rolü araştırılmıştır ve silibinin TNF- α 'nın etkilerini önlediğı gösterilmiştir(118,119).

Anti-inflamatuvar ve anti-karsinojenik özellikleri: Nötrofil göçünün inhibisyonu, Kupffer hücrelerinin inhibisyonu, lökotrienlerin ve prostaglandinlerin sentezinin inhibisyonu silymarinin bazı anti-inflamatuvar etkilerindendir(120). Farelerde UVB ışını ile oluşmuş olan cilt kanserlerinin, silymarinin topikal kullanımıyla önlenebildiğı gösterilmiştir(121).

Antifibrotik etkisi: Karaciğer fibrinogenezinde stellate hepositlerin çok önemli rolü vardır. Etanol ve karbon tetraklorür gibi etkenler fibrinogenezi indüklediklerinden, stellate hücreler myofibroblaslara dönüşerek, karaciğerde kollajen birikimini sağırlar. Silibinin stellate hücrelerin proliferasyonunu azaltarak, fibrozu engellediğı bilinmektedir(122).

Sitokrom P450 inhibisyonu: Silibinin hepatik sitokrom P450 enzimlerini inhibe ettiğı kanıtlanmıştır(123).

2.8.2. Farmakokinetik

Silymarin suda çözülmez, genelde %70–80 oranında silymarin ekstresi içeren standart kapsüllerde üretilir. Oral yoldan alındığında yavaş bir şekilde emilir, 4–6 saatte maksimum plazma düzeylerine ulaşır ve ortalama 10 saat içinde vücuttan atılır. Genelde safra yoluyla ve daha az miktarda idrar yoluyla atılır. Silymarinin ortalama yarılanma ömrü 6–8 saattir(124). Karaciğerde sulfat ve glukuronik asit ile konjuge olarak plazma ve safraya geçer. Safra yoluyla atıldıktan sonra bağırsak florası etkisiyle hidrolize uğrar ve yeniden emilir. Silymarin oral yoldan alındığında, hayvan modellerinde emilim oranının %35 civarında olduğu gösterilmiştir(125).

2.8.3. Yan etkileri

Silymarin'nin yüksek dozlarda ciddi bir yan etkisi rapor edilmemiştir; ancak bazı vakalarda, tedavinin başlangıcında silymarin hafif gastrointestinal yakınmalara ve daha çok kramp şikayetlerine neden olmuştur. Daha nadir görülen yan etkileri, baş ağrısı, alerjik reaksiyonlar ve eklem ağrılarıdır(110).

2.8.4. İlaç etkileşimleri

Hayvan deneylerinde silymarinin sitokrom P450 sisteminin inhibitörü olduğu saptanmıştır. Buna bağlı olarak bu enzim sistemiyle metabolize olan ilaçlarla birlikte kullanıldığında, bu ilaçların kan düzeylerinde ve dolayısıyla etkilerinde de bir artış yapabilmektedir. Birçok ilaç bu durumdan etkilenebilir. Teorik olarak silymarin kan şekeri düzeyini düşürebilir. İnsulin veya oral antidiyabetik ilaç alan hastalar bu açıdan izlenmelidir(126).

2.8.5. Doz ve toksisite

Silymarin erişkinlerde günde üç kez 100–300 mg dozunda verilir. Akut toksisite çalışmalarında silymarinin çok iyi tolere edildiği gösterilmiştir. LD50 değerleri intravenöz injeksiyonda farelerde 400 mg/kg, tavşanlarda ve köpeklerde 140 mg/kg olarak saptanmıştır. Silymarin oral yoldan verildiğinde daha da yüksek dozlarda (10 g/kg) tolere edilmektedir. Akut zehirlenmelerde ölüm nedeni kardiyovasküler bozukluk olarak düşünülmektedir. Subakut ve kronik toksisite oranı çok düşüktür(110).

2.8.6. Tedavide kullanımı

Silymarinin klinik çalışmalarda, doğal etkenler içinde, alkol ve bazı kimyasallara bağlı karaciğer hasarı ve sirozunun önlenmesinde en güçlü ajanlardan biri olduğu gösterilmiştir.

Akut viral hepatit: Akut viral hepatiti olan hastaların tedavisinde silymarin kullanımı, çift-kör ve plasebo kontrollü bir çalışmada değerlendirilmiştir. Silymarin günde üç kez 140 mg dozunda, üç hafta boyunca verilmiştir. Plasebo ile karşılaştırıldığında, komplikasyonlarda ve hastanede yatış süresinde anlamlı bir azalma, iyileşme oranlarında ise artış saptanmıştır. AST seviyesi silymarin alan hastaların %82'sinde, kontrol grubu hastalarının ise %52'sinde normal düzeylere düşmüştür. Bilirubin düzeylerine bakıldığında, silymarin alan hastaların %40'ında, plasebo alanların da %11'inde normal düzeylere gerilediği görülmüştür(126).

İlaç veya toksinlerden kaynaklanan hepatit: A. phalloides, fenotiazin ve butirofenon zehirlenmelerine bağlı karaciğer hasarının onarımında silymarinin

etkili olduğu gösterilmiştir(126). *A. phalloides* ile zehirlenen erişkin hastalarda ölüm oranları %22–40 bulunurken; bu oran çocuklarda daha yüksek bulunmuştur. Silymarinin daha kısa süre içinde verilmesiyle, karaciğer hasarının daha iyi önlendiği saptanmıştır(126).

Kronik hepatit ve siroz: Plasebo kontrollü bir çalışmada, siroz yönünden pozitif biopsisi olan 170 hasta, 2–6 yıl takip edilmiş ve silymarin 140 mg dozunda günde üç kez verilmistir. Alkole-bağılı siroz hastalarında anlamlı bir iyileşme saptanırken özellikle portal hipertansiyonu olan non-alkolik siroz hastalarında ise silymarin etkisiz bulunmuştur(126).

Kronik hepatiti olan hastalar üzerinde yapılan iki farklı çalışmada, farklı sonuçlar elde edilmistir. Birinci çalışmada 8 haftanın sonunda, klinik ve laboratuvar iyileşme saptanırken, ikinci çalışmada 3–12 aylık silymarin tedavisi sonrası karaciğer fonksiyonlarında belirgin bir düzelme olmamıştır; ancak histolojik incelemelerde olumlu parankimal değişiklikler kaydedilmiştir(126).

Alkole bağlı karaciğer hastalığı: Orta şiddetli alkole bağlı karaciğer hastalığı olan hastalar üzerinde yapılmış olan randomize bir çalışmada, silymarin 4 hafta boyunca 420 mg/kg dozunda verildiğinde, ALT ve AST serum düzeylerinde önemli bir düşüş saptanmıştır(127). Farklı çalışmalarda çelişkili sonuçlarla, silymarinin alkole bağlı sirozda etkili olmadığı gösterilmiştir(127).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde Temmuz - Aralık 2010 tarihleri arasında yapılan bu çalışma Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığından 26/10/2009 tarih ve G.Ü. ET-09.078 numarası ile onay almıştır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2011-01 proje numarası ile desteklenmiştir. Bu çalışmada ağırlıkları 200-250 gram arasında olan 24 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Hayvanlar operasyondan 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alındı ve 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık oda koşullarında 21°C’de tutuldu. Standart rat yemi ile beslenen ratların ağırlıkları tartılarak kaydedildi ve ratlar randomize olarak her grupta 6 adet olmak üzere dört gruba ayrıldı.

Sham grubu (Grup 1) (n=6): Laparotomi yapılan grup

Kontrol grubu (Grup 2) (n=6): %70 Hepatik rezeksiyon yapılan grup

Silipide grubu (Grup 3) (n=6): %70 Hepatik rezeksiyon + Rezeksiyon sonrası 7 gün oral Silipide + %5 karboksimetilsellüloz (CMC) çözeltisi verilen grup

Karboksimetilsellüloz grubu (Grup 4) (n=6): %70 Hepatik rezeksiyon + Rezeksiyon sonrası 7 gün oral %5 CMC verilen grup

Silipide: Silibin – fosfotidilkolin kompleksi olan silipide, 20 mg/ml olacak şekilde %5 cmc çözeltisinde çözülerek, 200 mg/kg/gün oral olarak 7 gün verildi.

Operatif prosedür: Ratlara 50 mg/kg *ketamine hydrochloride* (Ketalar, Parke-Davis) ve 5 mg/kg *xylazine* (Ronpum, Bayer) intramusculer (i.m.)

uygulanarak anestezi sağlandı ve deney süresince ratlar spontan solunuma bırakıldı. Operasyon öncesinde tüm ratların ağırlıkları kaydedildi. Ratların karın traşları yapıldıktan sonra 3 cm uzunluğundaki orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Grup 1 deki ratlara sadece laparotomi uygulandı. Grup 2, 3 ve 4'teki ratlara standart yöntemlerle %70 hepatik rezeksiyon uygulandı.(36) Cerrahi sonrası 10 mL saline solüsyonu sıvı resüsitasyon için cilt altına uygulandı. Tüm ratlara operasyondan sonraki ilk gün sadece su, ikinci günden itibaren standart rat yemi verildi. Hiçbir rata ilave antibiyotik verilmedi.

Operasyon sonrasında Grup 1 ve Grup 2'deki ratlara 7 gün standart rat yemi verildi. Rezeksiyon sonrasında Grup 3'deki ratlara 7 gün standart rat yemi ve 200 mg/kg/gün %5'lik CMC'de çözölmüş silipide verildi, Grup 4 deki ratlara 7 gün standart rat yemi + 10 ml/kg %5'lik CMC verildi.

Ratlar rezeksiyon sonrası 7. gün sakrifiye edildi. Sakrifikasyon öncesinde tüm ratların ağırlıkları kaydedildi. Ratlara 50 mg/kg *ketamine hydrochloride* ve 5 mg/kg *xylasine* intramusculer (i.m.) uygulanarak anestezi sağlandı ve operasyon süresince spontan solunuma bırakıldı. Kalan karaciğer dokusu rezeke edilerek tartıldı ve vena kava inferiordan kan örnekleri alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı.

Rezeke edilen karaciğer dokusu ikiye bölünerek birinci parça Argyrophilic nucleolar organiser region (AgNOR) sayısı için imprint alındıktan sonra, PCNA ve VEGF çalışmaları için %10'luk formole konuldu, ikinci parça ise

dokuda LPO tayininde kullanılmak üzere soğuk serum fizyolojik ile yıkanıp alimünyum folyoya sarılarak -80°C de muhafaza edildi.

3.1. Biyokimyasal İnceleme:

Biyokimyasal değerlendirme Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında yapıldı. Çalışma günü oda ısısına getirilen serumlarda AST, ALT, LDH, GGT, Doku ve serum LPO, VEGF ve HGF düzeyleri çalışıldı.

Karaciğer fonksiyon testleri: AST, ALT, LDH, GGT düzeyleri hazır kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak analiz edildi.

Serum LPO düzeyleri: Kolorimetrik yöntemle çalışıldı. Lipid peroksidasyonunun önemli ürünlerinden biridir.

Serum VEGF düzeyleri: ELISA yöntemiyle çalışıldı. Anjiyogenezde en temel ve en önemli faktördür. VEGF'nin seçici olarak endotel hücrelerinde mitojenik etki ile damar gelişimini uyarmasının yanı sıra morfogenez ve kemotaksiste de önemli roller üstlendiği bilinmektedir.

Serum HGF düzeyleri: ELISA yöntemiyle çalışıldı. En çok karaciğer ito ve kupfer hücrelerinde olmak üzere birçok dokuda ve plazmada bulunan protein yapısında bir büyüme faktörüdür. Ratlarda hepatektomi sonrası bir saat içinde plazma HGF konsantrasyonu 20 katına çıkar.

Karaciğer Dokusu Lipoksijenaz düzeyi: Doku homojenatı hazırlandıktan sonra kolorimetrik yöntemle analiz edildi.

3.2. Morfolojik ve İmmünohistokimyasal değerlendirme:

Morfolojik rejenerasyon parametresi olarak karaciğer ağırlık yüzdesi (KC%) hesaplandı. KC%'yi hesaplamak için otopsideki karaciğer ağırlığının rat

ağırlığına oranı hesaplandı. Elde edilen değer 100 ile çarpılarak KC% bulundu. Sonuçlar % şeklinde ifade edildi(128).

İmmünohistokimyasal değerlendirme Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji laboratuvarında yapıldı. Rat karaciğerlerine ait kesitler %10' luk formaldehid tespiti sonrası konvansiyonel doku takibinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Belirlenen bloklardan hazırlanan 4 mikronluk kesitler, karaciğer dokularında neoanjiogenez varlığını ve proliferatif aktiviteyi immünohistokimyasal olarak belirlemek amacıyla VEGF ve PCNA antikorları ile boyandı. Bu amaçla alınan kesitler 56°C de etüvde 12 saat deparafinize edildikten sonra yarım saat ksilolde tutuldu. Dereceli alkollerden geçirilerek hidrasyonları sağlandı. Endojen peroksidaz blokajı için %3'lük hidrojen peroksit kullanıldı. Antijen retrieval işlemi 0.01M sodyum sitrat tamponu (pH.6,0) ile 20 dakika süre ile mikrodalga fırında yapıldı. Birincil (primer) antikor olarak PCNA (Mouse anti-PCNA monoklonal antikor, clone SPM350, AbboMax® , CA, USA) ve VEGF (VEGF, Ab7, clone VG1, Neomarkers®, CA, USA) kesitleri kapatacak şekilde uygulandı ve oda sıcaklığında 2 saat süre ile bekletildi. Bağlayıcı (Sekonder) antikor (Multi-species Ultra Streptavidin detection system-HRP; Signet®, Massachusetts, USA) ile oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyon yapıldı. Streptavidin-biotin kompleksi uygulandı ve DAB (diaminobenzidin) ile renk vererek görüntülenme sağlandı. Zemin boyama için Mayer hematoksilen kullanıldı. Işık mikroskopik olarak PCNA boyaması için nükleer boyanmalar değerlendirildi. Karaciğer dokularında, 10 büyük büyütme alanında yaklaşık olarak 1000 hücre sayılarak, boyanma oranı yüzde (%) şeklinde belirlendi.

Ayrıca, karaciğer dokularından dokuların lamblara dokundurulması (imprint) yöntemi ile hazırlanarak havada kurutulan sitolojik yayma preparatlarda AgNOR (Argyrophilic nucleolar organiser region) boyama işlemi Agnor değerlendirmesi için uluslararası komitenin belirlediği şekilde yapıldı. Yayma preparatlar öncelikle %95 lik etanolde fiske edildi ve Carnoy solüsyonunda (absolute etanol: Glacial acetic asid 3 hacim:1 hacim) 30 dakika süre ile bekletildi. Dereceli alkollerden geçirerek hidrasyon sağlandı ve distile suda yıkandı. Saf suda çözülerek hazırlanmış %0.66 lık jelatin solüsyonunun üzerine formik asid eklenerek solüsyon %0.33 lük konsantrasyona getirildi ve sonuç solüsyonu içerisinde gümüş nitrat çözülerek elde edilen solüsyon %33 lük konsantrasyona getirildi. Yaymalar bu solüsyon ile karanlıkta 37 derecede 12 dakika bekleterek boyandıktan sonra distile suda yıkandı, dehidrate edildi ve kapatılarak ışık mikroskopik olarak incelendi. İnceleme, imprint preparatında immersiyon tekniği ile X100 objektif kullanılarak 50 hücredeki AgNOR sayısı sayılarak incelendi.

3.3. İstatistik

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 1.15 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında gruplar arasındaki farklılığın incelenmesinde Kruskal Wallis testi, farklılığı oluşturan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4- BULGULAR

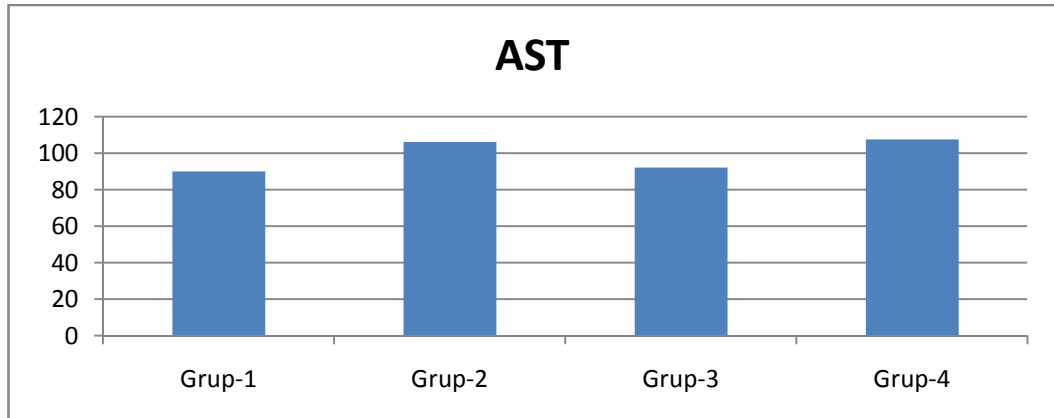
Bu çalışmada, çalışma sonrasında ratlardan elde edilen değerler; tablolar ve grafikler halinde aşağıda verilmiştir.

	GRUP-1	GRUP-2	GRUP-3	GRUP-4	P
AST(u/l)	89,83±5,15	106,00±8,69	92,00±5,10	107,33±8,80	0,002
ALT(u/l)	45,67±5,20	54,17±5,78	46,83±5,60	53,17±4,45	0,039
GGT(u/l)	3,83±1,33	8,67±4,50	4,83±3,25	7,33±4,13	0,152
LDH(u/l)	1021±199	1315±229	1164±96	1179±132	0,106
VEGF(pg/ml)	2,87±0,38	3,44±0,39	2,44±0,32	3,59±0,45	0,002
Serum LPO(nmol/ml)	17,74±1,56	16,47±2,30	18,02±3,47	15,23±2,82	0,231
Doku LPO(nmol/mg)	2,33±0,57	15,32±2,63	13,98±2,21	16,39±3,05	0,003
HGF(ng/ml)	22,36±2,85	21,11±3,77	18,92±2,73	18,38±4,14	0,151

Tablo 3: Gruplar arasındaki biyokimyasal parametrelerin Kruskal-Wallis Test ile karşılaştırılması:

4.1- AST Düzeyleri:

Bu çalışmada AST değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$).



Grafik 1: Gruplara göre AST değerleri

1. gruptaki AST değerleri, 2. Grupla karşılaştırdığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

1. gruptaki AST değerleri, 3. Grupla karşılaştırdığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

1. gruptaki AST değerleri, 4. Grupla karşılaştırdığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

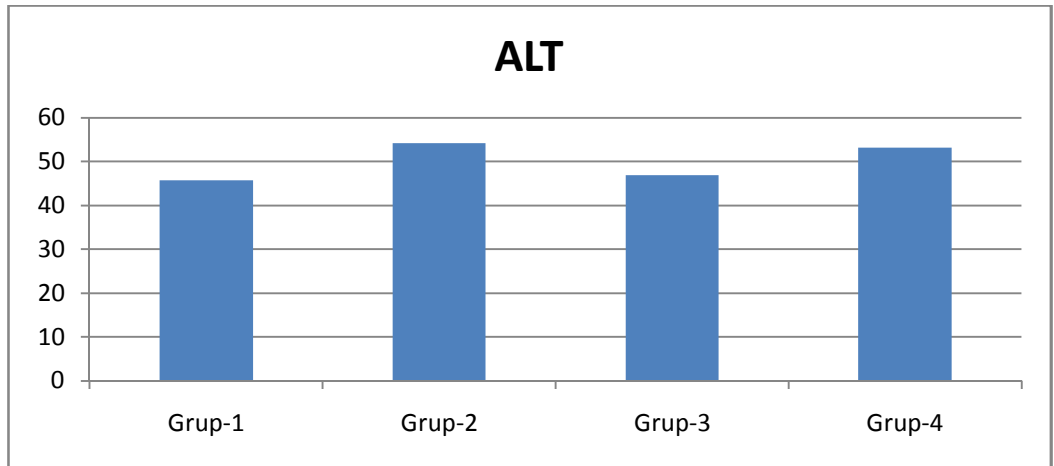
2. gruptaki AST değerleri, 3. Grupla karşılaştırdığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

2. gruptaki AST değerleri, 4. Grupla karşılaştırdığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

3. gruptaki AST değerleri, 4. Grupla karşılaştırdığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

4.2- ALT Düzeyleri:

Bu çalışmada ALT değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$).



Grafik 2: Gruplara göre ALT değerleri

1. gruptaki ALT değerleri, 2. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

1. gruptaki ALT değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

1. gruptaki ALT değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

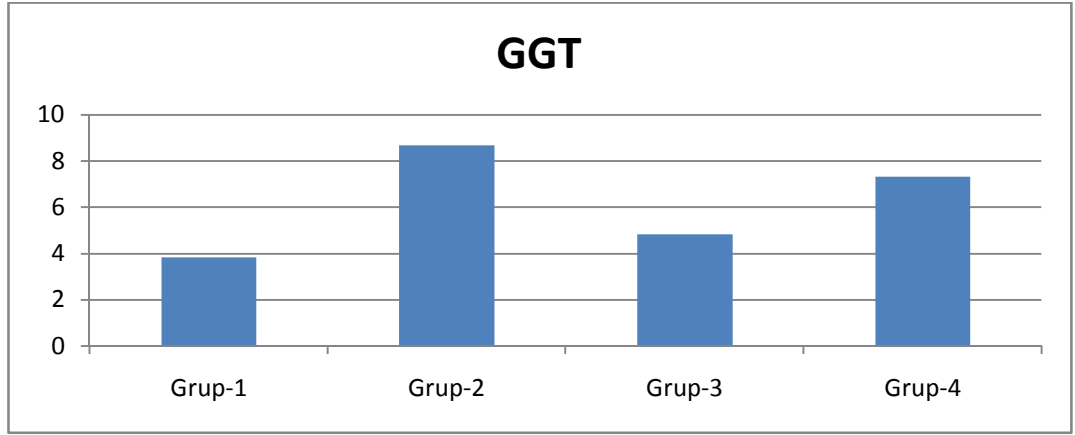
2. gruptaki ALT değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

2. gruptaki ALT değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

3. gruptaki ALT değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

4.3- GGT Düzeyleri:

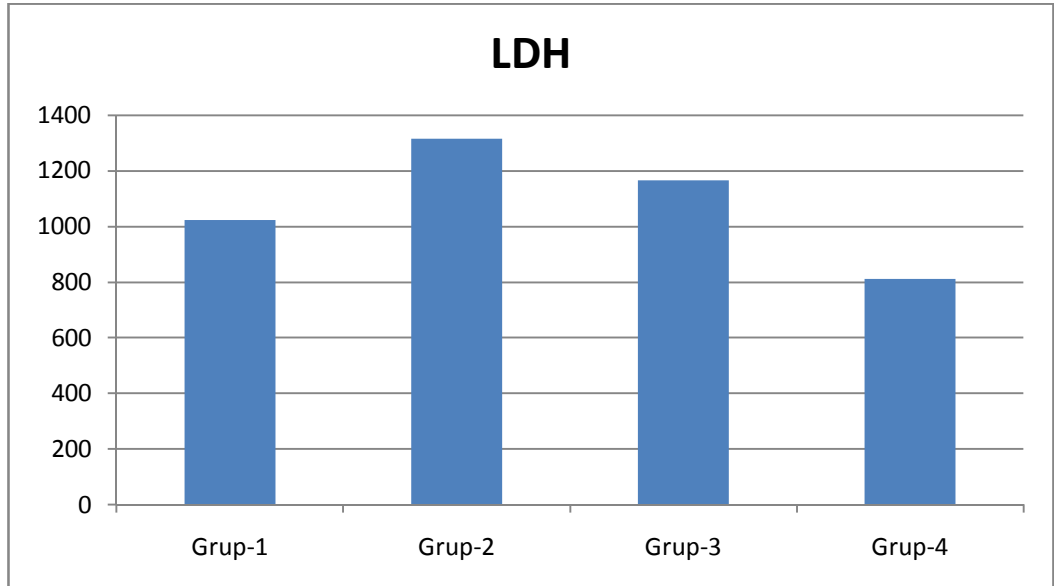
Bu alışmada GGT değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte Grup 1 ve 3 ‘ün GGT değerlerinin diğer iki gruba göre düşük oluşu dikkat çekmektedir.



Grafik 3: Gruplara göre GGT değerleri

4.4- LDH Düzeyleri:

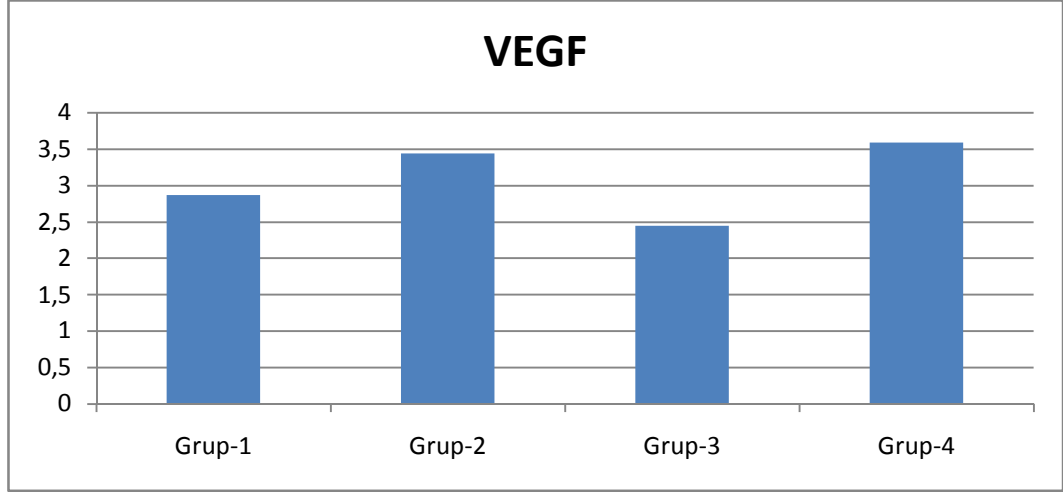
Bu çalışmada LDH değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).



Grafik 4 : Gruplara göre LDH değerleri

4.5- VEGF Düzeyleri:

Bu çalışmada VEGF değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$).



Grafik 5 : Gruplara göre VEGF değerleri

1. gruptaki VEGF değerleri, 2. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

1. gruptaki VEGF değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

1. gruptaki VEGF değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

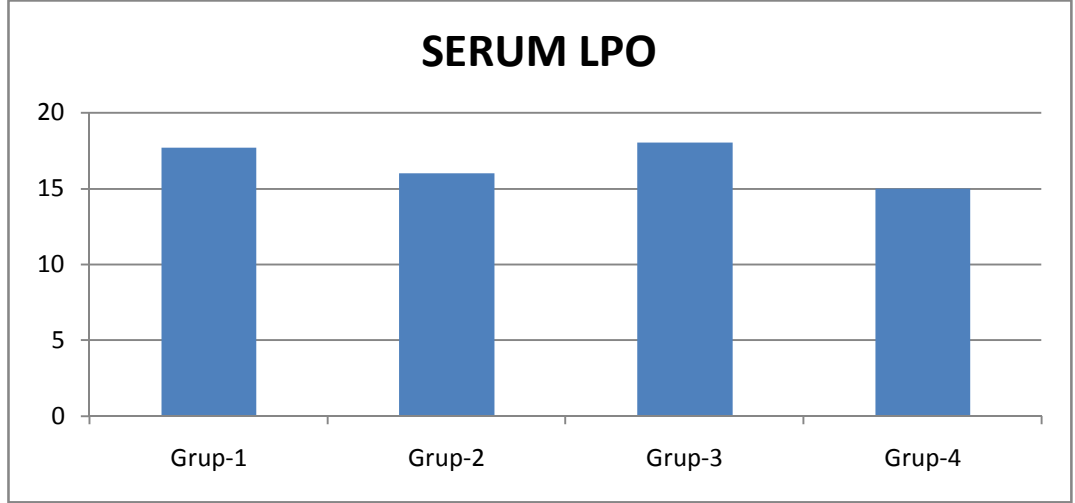
2. gruptaki VEGF değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

2. gruptaki VEGF değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

3. gruptaki VEGF değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

4.6- Serum LPO Düzeyleri:

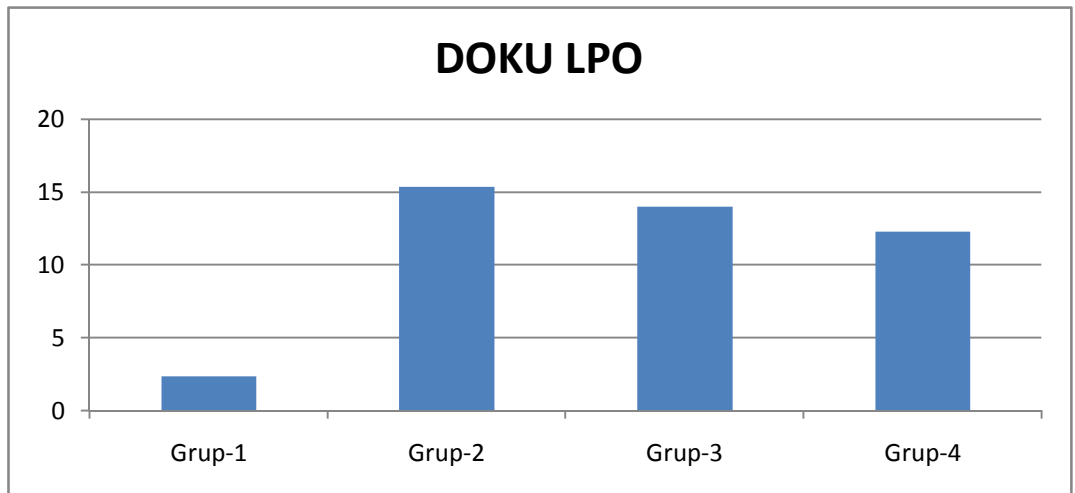
Bu çalışmada Serum LPO değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).



Grafik 6: Gruplara göre serum LPO değerleri

4.7- Doku LPO Düzeyleri:

Bu çalışmada Doku LPO değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$).



Grafik 7 : Gruplara göre doku LPO değerleri

1. gruptaki Doku LPO değerleri, 2. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

1. gruptaki Doku LPO değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

1. gruptaki Doku LPO değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

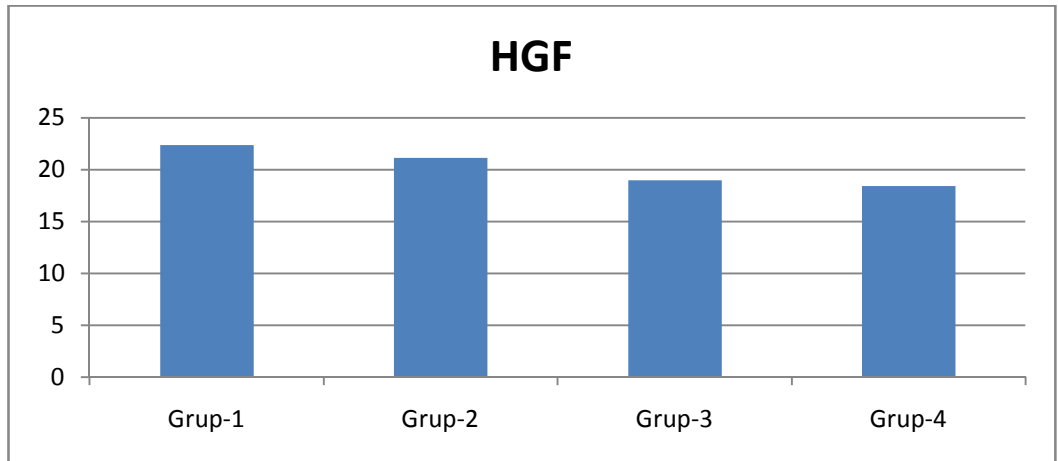
2. gruptaki Doku LPO değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

2. gruptaki Doku LPO değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

3. gruptaki Doku LPO değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

4.8- HGF Düzeyleri:

Bu alışmada HGF değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).



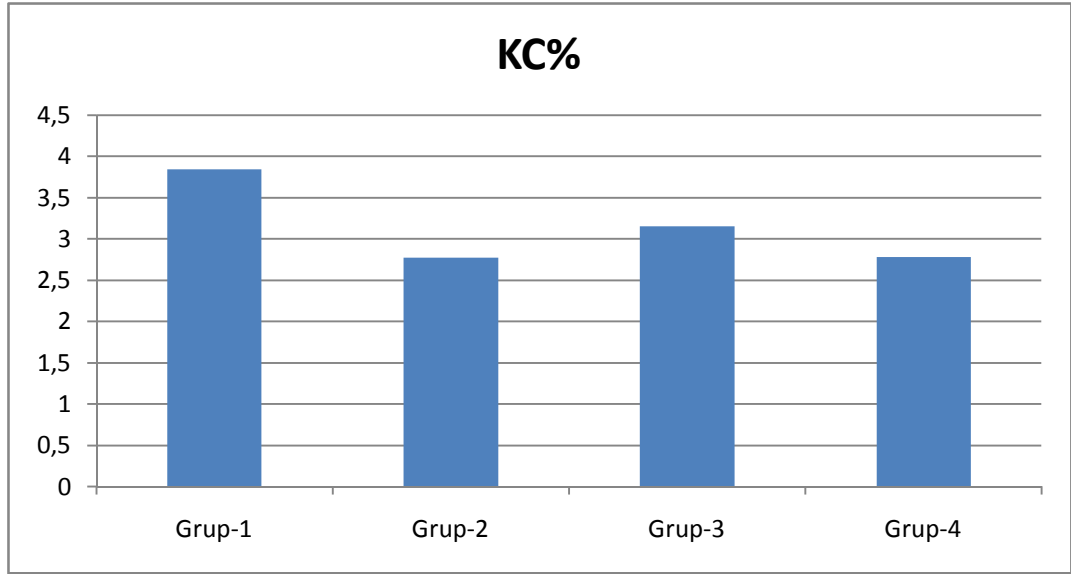
Grafik 8 : Gruplara göre HGF değerleri

4.9- Karaciğer Ağırlık Oranları:

Bu çalışmada karaciğer ağırlık oranlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$).

	GRUP-1	GRUP-2	GRUP-3	GRUP-4	P
KC%	3,84	2,77	3,15	2,788	0,001

Tablo 6: Gruplar arasındaki karaciğer ağırlık oranlarını Kruskal-Wallis Test ile karşılaştırılması



Grafik 9: Gruplara göre KC% değerleri

1. gruptaki KC% değerleri, 2. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p<0,05$).

1. gruptaki KC% değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir($p>0,05$).

1. gruptaki KC% değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p<0,05$).

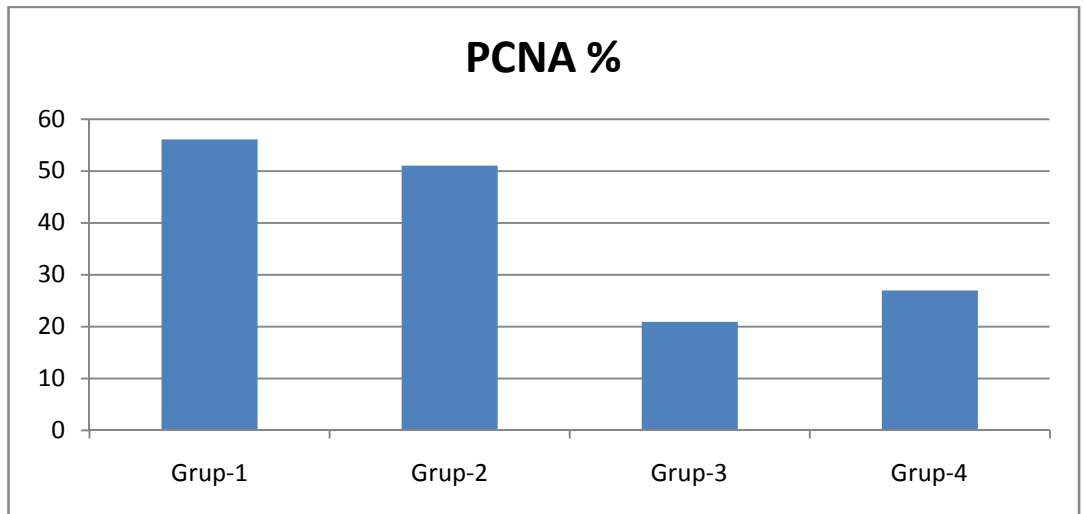
2. gruptaki KC% değerleri, 3. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p<0,05$).

2. gruptaki KC% değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir($p>0,05$).

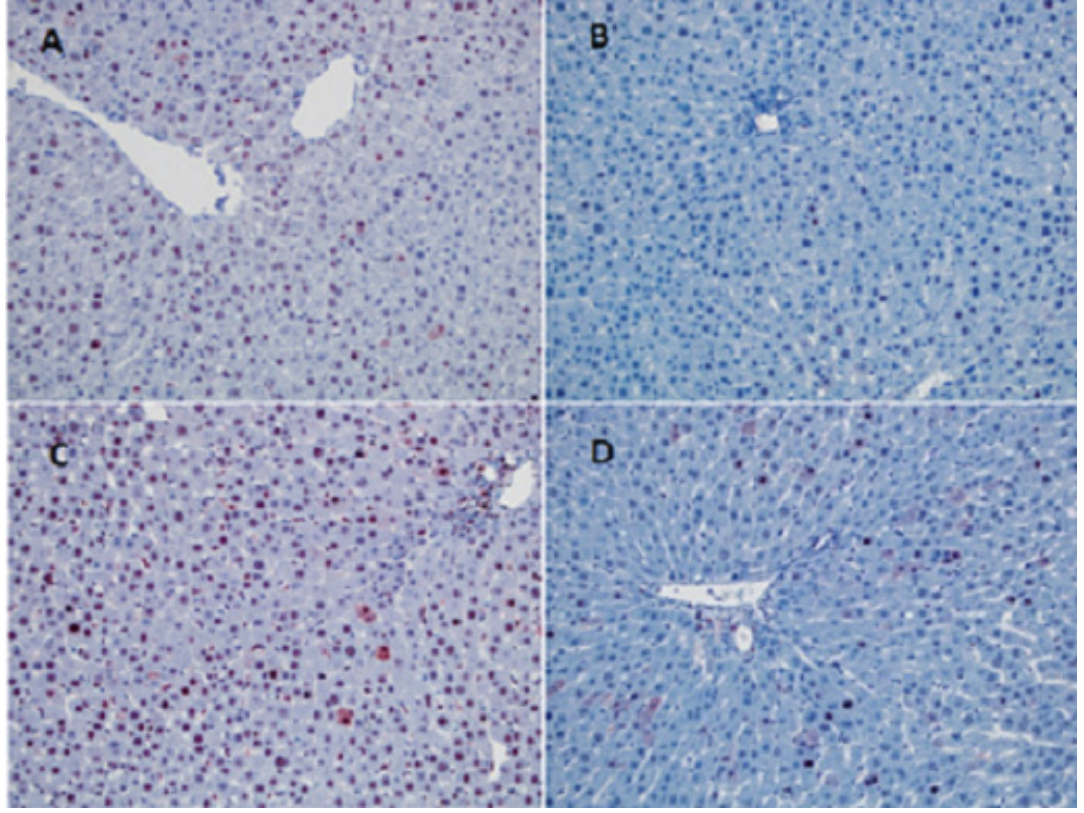
3. gruptaki KC% değerleri, 4. Grupla karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p<0,05$).

4.10- PCNA ile işaretlenme oranı:

Bu alışmada PCNA ile işaretlenme oranlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte Grup 1 ve Grup 2' n PCNA ile işaretlenme oranlarının yüksekliği dikkat çekicidir.



Grafik 10: Gruplara göre PCNA ile işaretlenme oranları



Resim 1: PCNA antikor ile boyanan yüksek proliferatif aktivite, Streptavidin biotin peroksidaz X200 inset resimler. **A:** Sham grubu **B:** Kontrol grubu **C:** Silipide grubu **D:**Karboksimetilsellüloz grubu

	GRUP-1	GRUP-2	GRUP-3	GRUP-4	P
PCNA	%56	%51	%21	%27	0,089

Tablo 7: Gruplar arasındaki PCNA ile işaretlenme oranlarının Kruskal-Wallis Test ile karşılaştırılması

4.11- AGNOR sayısı:

AgNOR boyalı, havada kurutulmuş sitolojik preparatların hepsi incelenmiş olmasına karşın, yaymaların kan elemanlarından ibaret olduğu izlenmiş olup, karaciğer parankim hücresi görülmediğinden değerlendirme yapılamamıştır.

4.12- VEGF antikor boyanma oranı:

VEGF monoklonal antikor ile boyanmış immünohistokimyasal kesitlerde, karaciğer dokularında neoanjiyogenez saptanmamıştır.

5- TARTIŞMA

Karaciğerin bir bölümünün çıkarılması karaciğerin malign ve benign hastalıklarının tedavisinde önemli bir yöntemdir. Majör karaciğer rezeksiyonlarından sonra kalan karaciğer dokusunun fonksiyonel ve rejeneratif kapasitesi ameliyat sonrası mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde etkiler(26,27).

Rejenerasyon, harabiyete uğrayan doku veya organların kendilerini onararak yeniden normal hale dönüşü veya yenilenme olarak tarif edilmektedir. Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan karaciğer dokusunda rejenerasyonun ilk günden itibaren başladığı ve DNA sentezinin, hepatektomi sonrasında ilk 24 - 48 saatte maksimuma ulaştığı gösterilmiştir. Ratlarda parsiyel hepatektomiden 7 - 10 gün sonra karaciğer normal boyutlarına ve fonksiyonlarına ulaşabilmektedir(37,38,39).

Karaciğer enzimlerinin hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir ve karaciğer zedelenmesinin devam ettiği durumlarda serum seviyeleri yüksek seyrederek(128)

Daha önce yapılan çalışmalarda da PH sonrası karaciğer rejenerasyonu sırasında karaciğer dokusundaki sellüler hasar durumunun değerlendirilmesinde AST, ALT, GGT, LDH ve diğer karaciğer enzimleri kullanılmıştır. Bu çalışmalarda PH sonrasında karaciğer enzimlerinin yükseldiği ve sonrasında KC rejenerasyonu ile birlikte bu değerlerin eski seviyelerine döndüğü gösterilmiştir(88,128).

Bu çalışmada tüm grupların AST, ALT, GGT ve LDH değerlerine bakıldığında Grup 1 ve Grup 3'ten elde edilen değerlerin diğer iki gruba göre daha düşük seyrettiği dikkat çekmektedir.

Tüm gruplardan elde edilen AST değerleri karşılaştırıldığında, silibin verilen gruptan (Grup 3) elde edilen AST değerlerinin, PH yapılan diğer gruplardan (Grup 2 ve 4) elde edilen değerlere göre düşük seviyelerde oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Grup 3 ile PH yapılmayan grup (Grup 1) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmaması, rejenerasyonun kısmen tamamlanması sonucu KCFT'nin normale dönme eğiliminde olduğunu gösteriyor.

Yine tüm gruplardan elde edilen ALT değerleri karşılaştırıldığında, silibin verilen gruptan (Grup 3) elde edilen ALT değerlerinin, PH yapılan diğer gruplardan (Grup 2 ve 4) elde edilen değerlere göre düşük seviyelerde oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Grup 3 ile PH yapılmayan grup (Grup 1) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tüm gruplardan elde edilen GGT ve LDH değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da Grup 1 ve 3 'ün GGT değerlerinin diğer iki gruba göre düşük oluşu dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada diğer çalışmalara benzer şekilde PH yapılmış olan gruplarda karaciğer enzim seviyeleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Silibin verilen grupta ise özellikle AST ve ALT değerlerinin diğer PH yapılan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olması ve PH yapılmayan grup ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması PH sonrası karaciğerde oluşan sellüler hasarı silibinin azalttığını göstermektedir.

Silibinin, karaciğerde çeşitli etkilerle oluşan hidroksil radikallerinin oluşmasını engelleyerek karaciğer mikrozomlarındaki peroksidasyonu inhibe eder ve bu şekilde antioksidan etki sağlar (110). PH sonrası karaciğerde oluşan sellüler hasarı silibinin bu hepatoprotektif etkisi ile azalttığı söylenebilir.

Tüm gruplardan elde edilen serum ve doku LPO değerleri karşılaştırıldığında serum LPO değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı, doku LPO değerleri arasındaki farklılığın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde bu farkın PH yapılmayan gruptan (Grup 1) kaynaklandığı ve bu gruptaki doku LPO aktivitesinin PH yapılan gruplara göre (Grup 2, 3, 4) daha az olduğu anlaşılmıştır.

Daha önce yapılmış olan çalışmalar, PH sonrasında LPO aktivitesinde artış olduğunu göstermekte (129). Bu çalışmada, diğer çalışmalarla benzer şekilde PH yapılan gruplarda doku LPO seviyelerinde yükseklik gösterilmiştir. Daha önce

yapılan bu çalışmalarda silibinin lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiş (110, 111, 112). Silibinin hem serbest radikal toplayıcı özelliği hem de glutatyon ve süperoksit dismutaz enzim sistemleri üzerine etkisi sebebiyle lipid peroksidasyonunu inhibe eder, ancak bu çalışmada silibinin bu etkisi gösterilememiştir. Bu farkın silibinin önceki çalışmalarda olduğu gibi PH öncesinde verilmeyip, PH sonrasında verilmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Tüm gruplardan elde edilen HGF değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. PH sonrası HGF artışının 12. saatte maksimuma ulaştığı, 7. gün de ise eski değerlerine döndüğü yapılmış olan çalışmalarda gösterilmiştir(128). Bu çalışma da yapılmış olan diğer çalışmalarla uyumluluk göstermekle birlikte HGF artışının maksimum olduğu 12. saatte ratlardan serum örneği alınıp bu pikin ve silibinin HGF piki üzerine etkisinin gösterilememesi bu çalışmanın zayıf tarafıdır.

Tüm gruplardan elde edilen KC% değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, silibinin verilmeyen gruplardan (Grup 2 ve 4) elde edilen KC% değerlerinin, silibinin verilen gruptan (Grup 3) ve PH yapılmayan gruptan (Grup 1) elde edilen değerlere göre düşük seviyelerde oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Grup 3 ile PH yapılmayan grup (Grup 1) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Grup 1, 2 ve 4'ten elde edilen değerlere bakıldığında PH sonrası 7. günde karaciğerin normal ağırlığının %72'sine ulaştığı görülmüştür. Bu sonuçlar daha

önceden yapılmış olan çalışmalarla uyumludur(128). Silibin verilen grupta ise karaciğerin 7. günde normal ağırlığının %82'sine ulaştığı görülmüştür. Bu sonuç, silibinin morfolojik olarak karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı görüşünü desteklemektedir.

Silibinin hasarlanmış karaciğer dokusunda ribozomların oluşumunu ve DNA sentezini arttırarak protein sentezine yol açtığı bilinmekte(110). Bu çalışmada silibinin bu etkisi ile PH sonrasında karaciğerin normal ağırlığına daha hızlı ulaşmasını sağladığı gösterilmiştir.

Tüm gruplardan elde edilen PCNA boyanma oranları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Anjiyogenez çok sayıda proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilen, varolan kan damarlarından tomurcuklanarak yeni kan damarı oluşumudur. Fizyolojik anjiyogenez doku onarımı gibi fizyolojik bir olay karşısında başlar. Doku zedelenmesi veya başka bir anjiyogenik uyarı proteazları aktive ederek damar duvarındaki bazal membranın erimesine yol açar. Bu bölgeden kapiller tomurcuklanma meydana gelir ve anjiyogenez süreci başlar(89,91). VEGF anjiyogenezde çok önemli bir role sahiptir. Daha önceden yapılmış olan çalışmalarda PH'den 48 - 72 saat sonra VEGF'nin maksimum düzeylere çıktığı ve bu dönemde de karaciğer sinüzoidal hücre proliferatif aktivitelerin de VEGF'ye bağlı olarak maksimum düzeylere ulaştığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar PH'nin VEGF artışına ve buna bağlı olarak anjiyogenez artışına yol açtığı, VEGF'nin de karaciğer rejenerasyonunu hızlandırdığını gösteriyor(130).

Daha önceden yapılmış olan başka çalışmalarda silibinin VEGF düzeyini azalttığı ve anti-anjiyogenik özellikte olduğu gösterilmiş(131).

Bu çalışmada VEGF monoklonal antikoru ile boyanmış immünohistokimyasal kesitlerde karaciğer dokularında neoanjiyogeneze saptanmamıştır.

Bu çalışmada tüm gruplardan elde edilen VEGF serum düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Silibin verilen grup (Grup 3) , PH yapılmış olan diğer gruplarla karşılaştırıldığında (Grup 2, 4); Grup 2 ve 4'den elde edilen VEGF değerlerindeki yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Bu sonuç PH'nin anjiyogeneze artışa yol açtığını göstermekte. VEGF artışının maksimum olduğu 48-72. saatlerde ratlardan serum örneği alınıp bu pikin ve silibinin VEGF piki üzerine etkisinin gösterilememesi de bu çalışmanın zayıf taraflarıdır.

Grup 1 ve grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmaması, diğer çalışmalara benzer olarak silibinin VEGF düzeyini düşürerek PH sonrası oluşması beklenen anjiyogenezi baskıladığı, yani anti-anjiyogenik özellikte olduğunu gösteriyor. Silibin bu etkisini vasküler endotelial growth reseptör-3 üzerine down-regulasyon, angiopoetin-2 üzerine up-regulasyon yaparak sağlamakta(131).

6- SONUÇ

Ratlarda deneysel hepatik rezeksiyon modelinde silybium marianumun karaciğer rejenerasyon ve anjiyogenezis üzerine etkilerini araştırmayı amaçlayan bu çalışmadan elde edilen veriler, incelenen kaynaklarla birlikte değerlendirildiğinde şu sonuçlara ulaşılmıştır.

*Silybium marianumun karaciğer rezeksiyonu sonrasında gelişen karaciğer hasarını azaltıcı etkisi vardır.

*Silybium marianumun karaciğer rejenerasyonunu arttırıcı etkisi vardır.

*Silybium marianumun anjiyogenezi baskılayıcı etkisi vardır.

Çalışmada saptanan bu sonuçlar değerlendirildiğinde, yapılacak ileri çalışmalarla, benign ya da malign nedenlerle yapılan karaciğer rezeksiyonları sonrasında veya kemo-embolizasyon sonrasındaki bekleme döneminde silybium marianumun karaciğer hasarını azaltmak, karaciğer rejenerasyonunu hızlandırmak amacıyla kullanılmasının fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

7- KAYNAKLAR

- 1- Kuran O. Sistemik Anatomi. Filiz Kitabevi, İstanbul 1983; ss 429-443.
- 2- Lafortune M, Madore F, Patriguin H. Segmental anatomy of the liver. Radiology 1991; 181: 443- 448.

- 3- Meyers WC, Jones RS. Anatomy. In Meyers WC, Jones RS (eds) Textbook of liver and biliary surgery. 18-38, JB Lippincott Company Philadelphia 1990.
- 4- Brunickardi FC. Liver. In : Brunickardi FC, Andersen DK, Billiar TR, (Eds). Schwartz's Principles of Surgery (8th Int. ed.). McGraw-Hill, Philadelphia 2005; pp 1139-1187.
- 5- Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM. Liver. In: Meyers WC, Chan RS (Eds). Sabiston Textbook of Surgery 16th. WB Saunders Company, Philadelphia 2001; pp 997-1059.
- 6- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology 9th. Lange, Connecticut 1998; pp 307-320.
- 7- Norton JA, Bollinger RR, Chang AE, et al. Liver. In: Hemming A, Gallinger S (Eds). Surgery, Basic Science and Clinical Evidence. Springer, San Francisco 2000; pp.585-616.
- 8- Skandalakis JE, Gray SW, Rowe JS. Anatomical complications in general surgery. McGraw-Hill Book Company, New York 1986; pp.103-24.
- 9- Huguet C, Addario-Chieco P, Gavelli A, et al. Technique of hepatic vascular exclusion for extensive liver resection. Am J Surg 1992; 163:602-605.
- 10- Bismuth H. Surgical anatomy of the liver. In Bengmark S, Blumgart LH (eds) Liver surgery. Churchill Livingstone, Edinburgh 1986; pp.1-7.

- 11- Launois B, Jamieson GG. Modern operative techniques in liver surgery. Churchill Livingstone Edinburgh 1993; pp.673-679.
- 12- Delattre JF, Avisse C, Flament JB. Anatomic basis of hepatic surgery. Surg Clin N Am 2000; 80: 345-362.
- 13- Dominioni L, Chiappa A, Cuffari S, Dionigi R. Vascular occlusions during resection of the liver. In: Dionigi R, Madariaga J (eds). New technologies for liver resections. Karger Landes Systems Basel 1997; pp. 68-94
- 14- Gerbe MA, Swan NT. Histology of the liver. Am J Surg Pathol 1987; 11:709- 722.
- 15- Jarnagin WR, Fong Y, Blumgart LH, Launois B. Hepatic resection. In: Schein M, Wise L(eds). Crucial controversies in surgery. Karger Landes Systems Basel 1997; pp. 201-216.
- 16- Bissell DM, Maher JJ. Hepatic fibrosis and cirrhosis. Zakim D, Boyer TD (Ed.) A Textbook of Liver Disease. Philadelphia: W.B.Saunders Company. 1996; 506
- 17- Tulunay Ö. Kronik viral hepatit patolojisi. Kılıçturgay K, Badur S (Ed.) Viral Hepatit 2001.İstanbul 2001; 317
- 18- Bissell DM, Roll J. Connective tissue metabolism and hepatic fibrosis. Zakim D, Boyer TD (Ed.) Hepatology: A Textbook of Liver Disease. Philadelphia: W.B. Saunders. 1990; 454

- 19- Sherlock S, Dooley J. Anatomy and Function. In: Sherlock S, Dooley J, eds. Diseases of the Liver and Biliary System 10th edition. Oxford: Blackwell Science Ltd, 1997:1-15
- 20- Ökten A. Karaciğerin Fonksiyonel Anatomisi. Ökten A, editörler. Gastroenterohepatoloji İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. 2001:311-314
- 21- Guyton AC. Liver. In: Guyton AC (Ed.). Textbook of medical physiology (7th ed.). WB Saunders, Philadelphia 1986; pp.1203-1208.
- 22- Gall EA, Mostofi FK (Eds). The liver. Huntington NY, R.E. Krieger Publishing Co. 1980; pp.136-144.
- 23- Kraus-Friedman N. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis. Physiol. Rev. 1984;64:170-171.
- 24- Keppens S, Vandekerckhove A, Moshage H, Yap SH, Aerts R, Wulf HD. Regulation of glycogen phosphorylase activity in isolated human hepatocytes. Hepatology 1993; 17: 610-614.
- 25- Ratych RE, Smith GW. Anatomy and Physiology of the Liver. In: Zuidema GD, Orringer MB, Ritchie WB, et al (Eds). Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract (4 th). WB Saunders, Philadelphia 1996; pp. 357-373.
- 26- Major and minor segmentectomies "reglees" in liver surgery. World J Surg. 1982 ;6(1):10-24

- 27- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Healing and Repair. In: Robbins Pathologic Basis of Disease (Cotran RS editors)., W.B Saunders Company, Philadelphia.1989: 71-74
- 28- Blumgart LH, Jarnagin W, Fong Y. Liver Resection for Bening Disease and for Liver and Biliary Tumors. In: Surgery of The Liver and Biliary Tract (Blumgart LH editors)., 3th Edition. W.B Sounders Company, New York. 2000: 1639-1715
- 29- Bismuth H, Houssin D, Castaing D. Major and minor segmentectomies reglees in liver surgery. World J Surg 1982;6:10-17.
- 30- Akgül H, Kaya S. Karaciğer. Çağdaş Cerrahi Tanı ve Tedavi. 2. Baskı. Ankara. Türkiye Klinikleri Yayınevi, 1985:533-537.
- 31- Nuzzo G, Giulianti F, Giovannini I, Tebala GD, Cosmo G. Hepatic resections in normothermic ischemia. Surgery 1996;120(5): 852-858.
- 32- Choti MA., Sizmann JV, Tiburi MF et al. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. Ann Surg 2002; 235: 759-766
- 33- Fong Y, Cohen AM, Fortner JG et al. Liver resection for colorectal metastases. J Clin Oncol 1997; 15: 938-946
- 34- Hruszkewycz AM. Evidence for mitochondrial DNA damage by lipid peroxydation. Biochem Biophys Res Common 1198;153:

- 35- Leonidas G Koniaris, MD, FACS, Iain H Mckillop, PhD, Seymour I Schwartz, MD, FACS, Teresa A Zimmers, PhD Liver Regeneration Am Coll Surg 2003; 634-659
- 36- Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver: Restoration of the liver on the white rat following partial surgical removal. Arch Pathol 1931 ; 12: 186-202.
- 37- Ponfick VA. Ueber Leberresection und Leberreaction. Verhandl Deutsch Gessellsch Chirurgica 1890: 19-28
- 38- Francavilla A. Porter KA. Benichou J,et al. Liver Regeneration in Dogs : Morphologic and Chemical Changes . J Surg Res 1978; 25:409-419
- 39- Gaglio PJ, Baskin G, Bohm R Jr, et al. Partial Hepatectomy and Laparoscopic guided Liver Biopsy in Rhesus Macaques (Macaca Mualatta). : Novel Approach for study of Liver Regeneration. Comp Med 2000; 50:363-368
- 40- Bucher NLR, Swaffield MN. The Rate of Incorporation of Labeled Thymidine into The Deoxyribonucleic Acid of Regeneration Rat Liver in Relation to The Amount of Liver Excised. Cancer Res 1964;24:1611-1625
- 41- Adler K.(1904). . Uber helle Zellen in der Menschlichen Leber. Beitr. Z. Path. Anat. V.z allg. Pathology (Jena). xxxV.27.
- 42- Milne LS. (1908-1909). . The Histology of Liver Tissue Regeneration . J.Path. Bact.13,127-147

- 43- Fausto N. Liver regeneration. J Hepatol 2000; 32: 19-31
- 44- Hirano T, Nakajima K, Hibi M. Signaling mechanisms through of gp130: A model of hte cytokine system. Cytokine Growth factor Rev. 1997; 8: 241-252
- 45- Maione D, Di Carlo E, Li W et al. Coexpression of IL-6 and soluble IL-6 R causes noduler regenerative hiperplasia and adenomas of the liver. EMBO J 1998; 17: 55885597
- 46- Kamiya A, Kojima N, Kinoshita T et al. Mauration of fetal hepatocytes in vitro by extracellular matrices and oncostatin M: Induction of tryptophan oxygenase.Hepatology 2002; 35: 1351-1359
- 47- Omori N, Evarts RP, Omori M et. al. . Expression of leukemia inhibitory factor and its receptor during liver regeneration in the adult rat. Lab Invest 1996; 75: 15-24
- 48- Shiota G, Wang TC, Nakamura T et al. Hepatocyte growth factor in transgenic mice: effects of hepatocyte growth, liver regeneration and gene expression. Hepatology 1994; 19: 962-972
- 49- W. M. Mars, T. H. Kim, D. B. Stolz, M. L. Liu, G. K. Michalopoulos, Cancer Res. 56, 2837, (1996).
- 50- R. Taub, FASEB J. 10, 413 (1996).
- 51- Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell 2000; 103: 211-225
- 52- Mann GB, Fowler KJ, Gabriel A, et al. Mice whit a null mutation of the TGF alpha gene have abnormal skin architecture , wavy

hair, and curly whiskers and often develop corneal inflammation . Cell 1993;73:249-261

53- Butcher NLR, Swaffield MN. Regulation of hepatic regeneration in rats by synergistic action of insulin and glucagon. Proc Natl Acad Sci USA 1975; 72: 1157-1160

54- Hwang TL, Chen MF, Chen TJ. Augmentation of liver regeneration with glucagon after partial hepatectomy in rats. J Formos Med Assoc. 1993; 92: 725-728

55- Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA et al. The effect of splanchnic viscera removal upon liver regeneration. Surg Gynecol Obstet 1978; 147: 193-207

56- Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA et al. The effect upon the liver of evisceration with or without hormone replacement. Surg Gynecol Obstet 1978; 146: 524-532

57- Mcpherron AC, Lee SC. The TGF- β superfamily. In: LeRoith D ed. Growth factors and cytokines in health disease. Greenwich, CT: JAI. Press 1996; 357-353

58- Russel WE, Coffey RJ Jr, Ouellette AJ et al. Type β transforming growth factor reversibly inhibits the early proliferative response to partial hepatectomy in the rat. Proc Natl. Acad. Sci USA 1988; 85: 5126-5130

- 59- Russel WE. TGF- β inhibits hepatocyte DNA synthesis indepently of EGF binding and EGF receptor autophosphorilation. J Cell Physiol 1988; 135: 253-261
- 60- Oberhammer F, Fritsch G, Pavelka M et al. Induction of apoptosis in cultured hepatocytes and in the regressing liver by TGF- β 1 occurs without acitvation of an endonuclease. Toxicol Lett. 1992;64-65 Spec no:701-704
- 61- Fausto N, Mead JE, Gruppuso PA et al. Effects of TGF- β 's in the liver: cell proliferation and fibrogenesis. Ciba found symp. 1991; 157-165-174
- 62- Michalopoulos GK, Liver regeneration J cell physiol. 2007;213(2)286-300
- 63- Yasuda H, Mine T, Shibata H. et al., Activin A: an autocrine inhibitor of initiation of DNA synthesis in rat hepatocytes. J Clin Invest 92 1993;1491–1496
- 64- Schwall RH, Robbins K, Jardieu P et al., Activin induces cell death in hepatocytes in vivo and in vitro. Hepatology 1993; 18: 347–356
- 65- Hilleir SG, Miro F. İnhibin, activin, and follistatin . Ann Ny Acad Sci 1993;687: 2938
- 66- Mahalingam S,. Foster PS, M. Lobigs et al., Interferon-inducible chemokines and immunity to poxvirus infections. Immunol Rev 2000; 177: 27–133

- 67- Koniaris L.G, Zimmers-Koniaris T., Hsiao E.C et al., Cytokine-responsive gene- 2/IFN-inducible protein-10 expression in multiple models of liver and bile duct injury suggests a role in tissue regeneration. *J Immunol* 2001; 167: 399–406
- 68- Hogaboam C.M., Bone-Larson C.L., Steinhauser M.L et al., Novel CXCR2 dependent liver regenerative qualities of ELR-containing CXC chemokines. *FASEB J* 1999; 13: 1565–1574.
- 69- Colletti L.M., Green M., Burdick M.D. et al., Proliferative effects of CXC chemokines in rat hepatocytes in vitro and in vivo. *Shock* 1998; 10: 248–257
- 70- Sgadari C., Angiolillo A.L., Cherney B.W et al., Interferon-inducible protein-10 identified as a mediator of tumor necrosis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13791–13796.
- 71- Miller JR. The Wnts. *Genome Biol* 2001;3:reviews 3001.1–3001.15
- 72- Orford K., Orford C.C and. Byers S.W, Exogenous expression of beta-catenin regulates contact inhibition, anchorage-independent growth, anoikis, and radiation- induced cell cycle arrest. *J Cell Biol* 1999; 146: 855–868
- 73- Taniguchi K, Roberts L.R., Aderca I.N. et al., Mutational spectrum of beta-catenin, AXIN1, and AXIN2 in hepatocellular carcinomas and hepatoblastomas. *Oncogene* 2002; 21: 4863–4871

- 74- MacManus J.P, Braceland B.M, A connection between the production of prostaglandins during liver regeneration and the DNA synthetic response. *Prostaglandins* 1976; 11: 609–620
- 75- Miura Y., Fukui N, Prostaglandins as possible triggers for liver regeneration after partial hepatectomy. A review. *Cell Mol Biol* 1979; 25: 179–184
- 76- Rudnick D.A., Perlmutter D.H, Muglia L.J. Prostaglandins are required for CREB activation and cellular proliferation during liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8
- 77- Repa J.J., Lund E.G., Horton J.D et al., Disruption of the sterol 27-hydroxylase gene in mice results in hepatomegaly and hypertriglyceridemia. Reversal by cholic acid feeding. *J Biol Chem* 2000; 275 :39685–39692885–8890
- 78- Kuebler J.F., Jarrar D., Toth B et al., Estradiol administration improves splanchnic perfusion following trauma-hemorrhage and sepsis. *Arch Surg* 2002;137: 74–79
- 79- Francavilla A., di Leo A., Eagon P.K et al., Regenerating rat liver: correlations between estrogen receptor localization and deoxyribonucleic acid synthesis. *Gastroenterology* 1984; 86: 552–557
- 80- Francavilla A., Gavalier J.S, Makowka L.et al., Estradiol and testosterone levels in patients undergoing partial hepatectomy. A possible signal for hepatic regeneration?. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 818–822

- 81- Francavilla A, Polimeno L., DiLeo A. et al., The effect of estrogen and tamoxifen on hepatocyte proliferation in vivo and in vitro. Hepatology 1989; 9: 614–620
- 82- National Center for infectious diseases. Viral Hepatitis C. Fact sheet. [WWW document] URL <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/c/fact.htm>. 2003
- 83- Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: Clinical characterization and risk factors underlying disease. Hepatology 1999; 29: 664-669
- 84- Poonawala P, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalance of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case control study. Hepatology 2000; 32: 689-692
- 85- Liver transplant waiting list. UNOS database 2000. [<http://www.ortn.org/>] URL.
- 86- European Liver Transplant Network. Primary Indication of Liver Transplantation in Cirrhosis in Europe. [WWW document] URL <http://elt.org/result8.htm>. 2002.
- 87- Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ Hepatic rejections Arch of Surg; 135: 1353-1358
- 88- Batman F, Aydın M, Sayek İ. Karaciğer Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi. Temel Cerrahi. 2004;1295-1301
- 89- Pinedo HM et al. Translational Research: The role of VEGF in tumor angiogenesis. The oncologist 2000;5:1-2

- 90- Rajkumar SV et al. Review of Angiogenesis and Anti-Angiogenic therapy in Hematologic Malignancies. J of Hematotherapy&Stem Cell Research 2002;11:33-47
- 91- Goodsell DS. The molecular perspective: VEGF and angiogenesis. Stem Cells. 2003; 21:118-119
- 92- Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. Clin Dermatol. 1994;12:157-169
- 93- Brooks PC. Role of integrins in angiogenesis. Eur J Cancer. 1996;32A:2423-2429
- 94- Tamanini C. De Ambrogi M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. Reprod Domest Anim 2004;39:206-216
- 95- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation And Atherosclerosis. Circ 2002; 105: 1135-1143.
- 96- Tımar J, Döme B, Fazekas K, et al. Angiogenesis-Dependent Disorders And Angiogenesis Therapy. Path Onco Resea 2001;2:85-94.
- 97- Bergers G and Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. Nat Rev Cancer 2003;3:401-410
- 98- Matsui K, Yoshioka T, Murakami Y, et al. Serum Concentrations Of Vascular Endothelial Growth Factor And Monocyte-Colony Stimulating Factor In Peripheral Arterial Disease. Circ J 2003; 67: 660-662.

- 99- Ribatti D, Vacca A; Presta M.. The Discovery Of Angiogenic Faktors: A Historical Review. Gen Pharma 2002; 35: 227-231
- 100- Grosman J, Grosman W. Angiogenesis. Rev In Card Med 2002, Vol 3: 138-144.
- 101- Thomas KA. Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. J Biol Chem 1996; 271: 603-6.
- 102- Veikkola T et al. VEGFs, receptors and angiogenesis. SeminCancer Biol 1999;9:211220
- 103- Neufeld G et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF) and its receptors. FASEB J 1999;13:9-22
- 104- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. Recent Prog Horm Res 2000;55:15-35
- 105- Webb NJ et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF) is released from platelets during clotting: Implications for measurement of circulating VEGF levels in clinical disease. Clin Sci 1998;94:395-404
- 106- Gunsilis E et al. Thrombocytes are the major source for soluble vascular endothelial growth factor in peripheral blood. Oncology 2000;58:169-174
- 107- Folkman J. Angiogenesis in Harrison's Principles of Internal Medicine Ed. Braunwald E, Fauci SA, Kasper LD, Hauser LS, Longo LD, Jameson JL. USA 2001;517-727
- 108- Rosen L. Antiangiogenic Strategies and Agents in Clinical Trials. The Oncologist 2000;5:20-27

- 109- Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int* 1999;56:794-814
- 110- Fraschini F., Demartini G., Esposti D, Pharmacology of Silymarin. *Clin Drug Invest* 22(1):51-65, 2002. © 2002 Adis International Limited
- 111- Mira L, Silva M, Manso CF. Scavenging of reactive oxygen species by silibinin dihemisuccinate. *Biochem Pharmacol* 1994; 48: 753-9
- 112- Bosisio E, Benelli C, Pirola O. Effect of the flavanolignans of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. *Pharmacol Res* 1992; 25: 147-54
- 113- Valenzuela A, Garrido A. Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. *Biol Res* 1994; 27: 105-12
- 114- Valenzuela A, Lagos C, Schmidt K, et al. Silymarin protection against hepatic lipid peroxidation induced by acute ethanol intoxication in the rat. *Biochem Pharmacol* 34: 1985: 12
- 115- Campos R, Garrido A, Guerra A. Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Med* 1989; 55: 417-9
- 116- Magliulo E, Carosi PG, Minoli L, et al. Studies on the regenerative capacity of the liver in rats subjected to partial hepatectomy and treated with silymarin. *Arzneimittelforschung* 1973; 23: 161-7

- 117- Sonnenbichler J, Zetl I. Biochemical effects of the flavonolignane silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat livers. In: Cody V, Middleton E, Harborne JB, editors. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationship. New York: Alan R Liss Inc., 1986: 319-31
- 118- Desplaces A, Choppin J, Vogel G, et al. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1975; 25: 89-96
- 119- Choppin J, Desplaces A. The effects of silybin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1978; 28: 636-41
- 120- De la Puerta R, Martinez E, Bravo L, et al. Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48: 968-70
- 121- Katiyar SK, Korman NJ, Mukhtar H, et al. Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 556-66
- 122- Fuchs EC, Weyhenmeyer R, Weiner OH. Effects of silibinin and of a synthetic analogue on isolated rat hepatic stellate cells and myofibroblasts. *Arzneimittelforschung* 1997; 47: 1383-7
- 123- Baer-Dubowska W, Szafer H, Krajczak V. Inhibition of murine hepatic cytochrome P450 activities by natural and synthetic phenolic compounds. *Xenobiotica* 1998; 28: 735-43

- 124- Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S, et al. Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993; 18: 289-97
- 125- Schandalik R, Gatti G, Perucca E. Pharmacokinetics of silybin in bile following administration of silipide and silymarin in cholecystectomy patients. *Arzneimittelforschung* 1992; 42: 964-8
- 126- Flora K, Hahn M, Rosen H. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 1998;93:139-43.
- 127- Salmi HA, Sarna S. Effect of silymarin on chemical, functional, and morphological alterations of the liver. *Scand J Gastroenterol* 1981; 17: 517-21
- 128- Sowa JP, Best J, Benko T. Extent of liver resection modulates the activation of transcription factors and the production of cytokines involved in liver regeneration. *World J Gastroenterol*, 2008 December 14;14(46): 7093-7100
- 129- Vetelainen R, van Vliet AK, van Gulik TM. Severe steatosis increase hepatocellular injury and impairs liver regeneration in a rat model of partial hepatectomy. *Ann Surg* 2007 Jan;245(1)44-50
- 130- Taniguchi E, Sakisaka S, Matsuo K. Expression and role of vascular endothelial growth factor in liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *The journal of histochemistry&cytochemistry*, 2001; Volume 49(1):121-129

131- Gazak R,Walterova D,Kren V. Silybin and silymarin-New and emerging application in medicine. Current medicinal chemistry, 2007;14,315-338

8- ÖZET

Ratlarda deneysel hepatik rezeksiyon modelinde silybium marianumun karaciğer rejenerasyon ve anjiyogenezis üzerine etkileri

Amaç: Ratlarda deneysel hepatik rezeksiyon modelinde silybium marianumun karaciğer rejenerasyon ve anjiyogenezis üzerine etkilerini araştırmak.

Materyal ve Metod: Bu deneysel çalışma Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM), Temmuz – Aralık 2010 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlığı 200 – 250 gram arasında değişen 24 adet erkek Wistar – Albino rat kullanıldı. Ratlar sham, kontrol, silipide ve karboksimetilsellüloz(cmc) grubu olmak üzere dört gruba eşit olarak paylaştırıldı. Sham grubuna sadece laparotomi, diğer gruplara ise parsiyel hepatektomi yapıldı. PH sonrası 7 gün boyunca silipide grubuna oral silipide çözeltisi, cmc grubuna ise %5’lik cmc çözeltisi verildi. 7. gün sonunda ratlar tartıldıktan sonra sakrifiye edildi. Vena kava inferiordan kan örnekleri alındıktan sonra kalan karaciğer dokusu rezeke edilip tartıldı. Alınan kan örneklerinden AST, ALT, GGT, LDH, VEGF, LPO ve HGF ölçümleri yapıldı. Morfolojik rejenerasyon parametresi olarak karaciğer ağırlık oranları kullanıldı.

Karaciğer doku homojenatından LPO ölçümü yapıldı. Histopatolojik değerlendirme; VEGF ve PCNA boyanma oranları ve AGNOR sayısı ile yapıldı.

Bulgular: AST, ALT, VEGF, doku LPO ve KC% değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.($p<0,05$)

Sonuç: Silybum marianumun karaciğer rejenerasyonunu arttırıcı, anjiyogenezi baskılayıcı etkisi vardır. Yapılacak ileri çalışmalarla karaciğer rezeksiyonlarında klinik kullanımı mümkün olabilir.

Anahtar kelimeler: Silybium Marianum, Silymarin, Karaciğer Rejenerasyonu, Anjiyogenezis, Karaciğer Rezeksiyonu

9- SUMMARY

Effect of silybium marianum on hepatic regeneration and angiogenesis in hepatic resection in rats.

Aim: To assess effect of silybium marianum on hepatic regeneration and angiogenesis in hepatic resection in rats.

Materials and Method: This experimental study has been performed in GUDAM between July and December 2010. 24 Wistar-Albino rats weighting 200 and 250 g were used in the study. Rats were divided into four groups as sham, control, silipide and carboximethylcellulose groups.

Only laparotomy was performed to the rats in sham group. Partial hepatectomy(PH) was performed to other groups. After PH silipide has been given to silipide group for 7 days, and 5% cmc has been given to cmc group.

On the 7. day after resection, the rats were sacrificed. Blood samples were collected from vena cava inferior and remaining liver tissues were resected and weighted. Serum AST, ALT, GGT, LDH, VEGF, LPO, HGF and tissue LPO were measured. Liver weight ratio was used as a morphological parameter for liver regeneration. VEGF, PCNA signed ratio and AGNOR were used for histopathologic assessment.

Results: There were statistically significant differences between all groups in AST, ALT, VEGF, tissue LPO and liver weight ratio($p<0,05$)

Conclusion:Silybium marianum increases hepatic regeneration and decrease angiogenesis. With further studies, clinical implementation should be considered.

Key words: Silybium Marianum, Silymarin, Hepatic Regeneration, Angiogenesis, Hepatic Resection

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Muzaffer Bora

Soyadı : OKAR

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara – 1977

Eğitim Durumu :

Uzmanlık : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel

Cerrahi AD (2005-Halen devam etmekte)

Tıp Fakültesi : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (1995-2002)

Ortaöğretim : Kdz. Ereğli Anadolu Lisesi (1989-1995)

İlköğretim : Kdz. Ereğli Cumhuriyet İlkokulu (1985-1989)

Yabancı Dili : İngilizce

Bilimsel Etkinlikler :

Okar B, Yüksel O, Akın M, Özdemir E, Dikmen K, Ferahköşe Z. Küratif Rezeksiyon Yapılan Mide Kanserlerinde Lokoregional Nüks ve Sistemik Metastazla İlişkili Faktörler 17.Ulusal Cerrahi Kongresi Ankara 2010 Serbest Bildiri

Andaç Ş, Erbaş G, Bedirli A,Okar MB, Eryurt B. Perfore Duodenal Divertikülit:US ve BT İle preoperatif tanı almış nadir bir olgu. Turkrad 2009 Olgu Sunumu