



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

**RATLARDA MAJOR HEPATEKTOMİ SONRASI
“POST-HEPATEKTOMİ KARACİĞER
YETMEZLİĞİ”NDE SPLENEKTOMİ, PRP VE
CGF’NİN KARACİĞER REJENERASYONU VE
FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yunus Emre SAÇIN

Antalya, 2024



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

RATLARDA MAJOR HEPATEKTOMİ SONRASI “POST-HEPATEKTOMİ KARACİĞER YETMEZLİĞİ”NDE SPLENEKTOMİ, PRP VE CGF’NİN KARACİĞER REJENERASYONU VE FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yunus Emre SAÇIN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Abdullah KISAOĞLU

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2024

Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2023-6427)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Çizelgeler Dizini	ix
Şekiller Dizini	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi	3
2.1.1. Parankimal Anatomi	3
2.1.2. Vasküler Anatomi	5
2.1.3. Safra Kesesi ve Safra Yolları Anatomisi	7
2.2. Karaciğerin Hücresel Anatomisi	9
2.3. Posthepatektomi Karaciğer Yetmezliği	12
2.3.1. Tanım	12
2.3.2. Patofizyoloji	13
2.3.3. Risk Faktörleri	14
2.3.4. Sınıflama	14
2.4. Posthepatektomi Karaciğer Yetmezliğinden Korunma Yolları	15
2.4.1. Portal Ven Embolizasyonu (PVE)	15
2.4.2. Portal Ven Ligasyonu ve Aşamalı Hepatektomi (ALLPS)	16
2.4.3. İskemik Önkoşullama (Ischemic preconditioning)	16
2.4.4. Splenik Arter Embolizasyonu (SAE)	17
2.4.5. Splenik Arter Ligasyonu	17
2.4.6. Splenektomi	18
2.5. Karaciğer Rejenerasyonu	19
2.5.1. Tanım	19
2.5.2. Patofizyoloji	19
2.5.3. Plateletler ve Karaciğer Rejenerasyonu	23
2.5.4. Plateletten Zengin Plazma (PRP) ve Karaciğer Rejenerasyonu	26
2.6. Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)	28

3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Deney Hayvanları	30
3.2. Deney Protokolü	30
3.3. PRP ve CGF Elde Edilmesi	31
3.4. Anestezi	31
3.5. Cerrahi Prosedür	32
3.6. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması	33
3.7. Hematoksilen & Eosin Boyama ve Histopatolojik İnceleme	34
3.8. İmmünohistokimyasal İnceleme	35
3.9. Kan Örneklerinin Çalışılması	36
3.10. Analiz ve İstatistiksel Değerlendirme	36
4. BULGULAR	38
4.1. Deney Hayvanı ve Karaciğer Ağırlıkları	38
4.2. Hematoksilen & Eosin ile Histopatolojik Değerlendirme	40
4.3. Ki-67 ile İmmünohistokimyasal Değerlendirme	43
4.4. STAT3 ile İmmünohistokimyasal Değerlendirme	46
4.5. pSTAT3 ile İmmünohistokimyasal Değerlendirme	48
4.6. Biyokimyasal Değerlendirme	49
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
6. ÖZET	61
7. ABSTRACT	63
8. KAYNAKLAR	65
9. EKLER	83
Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Onayı	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AKHADYEK	Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu
AKT	Protein Kinaz B
ALLPS	Portal Ven Ligasyonu ve Aşamalı Hepatektomi
ALT	Alanin Aminotransferaz
A-PRF	İleri Plateletten Zengin Fibrin
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BMK	Bağıl Merkezkaç Kuvveti
BUN	Kan Üre Nitrojeni
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CC	Santimetreküp
CCl₄	Karbon Tetra Klorür
CGF	Konsantre Büyümü Faktörü
CHD	Ortak Hepatik Kanal
CVKN	Canlı Vericili Karaciğer Nakli
DAB	P-Diaminobenzidin Tetrahidroklorid
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EBF	Epidermal Büyüme Faktörü
ECM	Ekstrasellüler Matrix
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FTS	Fosfat Tamponlu Salin
G	Merkezkaç Kuvveti
GPCR	G-Protein Bağlı Reseptör
Gr	Gram
H&E	Hematoksilen&Eosin
HATY	Hepatik Arteriyel Tampon Yanıtı
HBF	Hepatik Büyüme Faktörü
HCC	Hepatosellüler Karsinom
HGF	Hepatosit Büyüme Faktörü
HIF-1α	Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa

HIF-1β	Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Beta
HSCs	Hepatik Yıldızsı Hücreler
HYH	Hepatik Yıldızsı Hücre
IFN	İnterferon
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGG	Immunoglobulin G
IL	İnterlökin
IL-6	İnterlökin 6
INR	Uluslararası Normalleştirilmiş Oran
ISGLS	Uluslararası Karaciğer Cerrahisi Çalışma Grubu
IVC	İnferior Vena Cava
İÖK	İskemik Önkoşullama
İRH	İskemi Reperfüzyon Hasarı
JAK	Janus Kinaz
K	Kontrol
KKH	Kalan Karaciğer Hacmi
KSEH	Karaciğer Sinüzoidal Endotel Hücreleri
LHA	Sol Hepatik Arter
LHD	Sol Hepatik Kanal
LPCs	Karaciğer Progenitor Hücreleri
LPS	Lipopolisakkarit
LPV	Sol Portal Ven
LSECs	Karaciğer Sinüzoidal Endotel Hücreleri
mTORC1	Rapamisinin Memelilerde Mekanistik Hedefi Kompleks 1
NAFLD	Alkol Dışı Yağlı Karaciğer Hastalığı
NGS	Normal Goat Serum
NO	Nitrik Oksit
OHK	Ortak Hepatik Kanal
PCNA	Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni
PDGF	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PFA	Paraformaldehit

PHKY	Post Hepatektomi Karaciğer Yetmezliği
PHx	Kısmi Hepatektomi
PHx+SPx	Kısmi Hepatektomi+Splenektomi
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
PİMP	Patojen İlişkili Moleküler Paternler
PLTx	Kısmi Karaciğer Nakli
PO	Postoperatif
PO5	Postoperatif 5. Gün
PPP	Plateletten Fakir Plazma
PRF	Plateletten Zengin Fibrin
PRGF	Büyüme Faktörleri Açısından Zengin Plazma
PRP	Plateletten Zengin Plazma
pSTAT3	Fosforile STAT3
PVE	Portal Ven Embolizasyonu
PVP	Portal Ven Basıncı
RAHD	Sağ Anterior Hepatik Kanal
RAPV	Sağ Anterior Portal Ven
RHA	Sağ Hepatik Arter
RNA	Ribonükleik Asit
RPHD	Sağ Posterior Hepatik Kanal
RPPV	Sağ Posterior Portal Ven
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
S	Sham
SAE	Splenik Arter Embolizasyonu
SAL	Splenik Arter Ligasyonu
SEM	Ortalamanın Standart Hatası
SF	Serum Fizyolojik
SFSS	Small For Size Sendromu
SPx	Splenektomi
STAT3	Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
SVC	Süperior Vena Cava
TBR	Toll Benzeri Reseptör

TGF	Transformasyon Büyüme Faktörü
TGF-α	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Alfa
TGF-β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
VEBF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEBF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
μm	Mikrometre



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. ISGLS tarafından PHKY üzerinde uzlaşılan tanım ve şiddet derecelendirmesi	14
4.1. Ki-67 ekspresyonu için istatistiksel değerler	44
4.2. STAT3 ekspresyonu için istatistiksel değerler	47
4.3. Biyokimyasal analizlerin ortalama±standart sapma değerleri	49
4.4. ALT için istatistiksel veriler	49
4.5. AST için istatistiksel veriler	50
4.6. Direkt bilirubin için istatistiksel değerler	51
4.7. Total bilirubin için istatistiksel değerler	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Karaciğerin anatomik yapısı ve sektörel isimlendirmeler	3
2.2. a) Kaudat lobun (I), IVC, portal ven, orta hepatik ven ve segment II/III/VII arasındaki ilişkisi. b) Portal ven (ok) ve IVC (v) arasında yer alan kaudat lobu (yıldız işareti) gösteren bir BT taraması	4
2.3. Michel sınıflandırması ile hepatik arterlerin varyasyonları ve görülme sıklıklarının şematik olarak ifadesi	6
2.4. Nakamura (Tip A'dan E'ye) ve Cheng (Tip I'den IV'e) tarafından önerilen sınıflandırmalara göre portal venin varyasyonları	7
2.5. Safra yolu anatomisi varyasyonlarının sınıflandırılması ve bulunma sıklıkları	8
2.6. Karaciğer lobülü ve karaciğer sinüzoidlerinin yapıları	10
2.7. Hepatik lobül illüstrasyonu	11
2.8. PHx ve PLTx sonrası karaciğer rejenerasyonu ile ilişkili faktörler	21
2.9. Kısmi hepatektomi ve kısmi karaciğer nakli sonrası karaciğer rejenerasyonu ile ilişkili moleküler yollar	22
3.1. Hepatektomi aşamaları	32
3.2. Abdominal aortadan kan örneklerinin alınması	33
4.1. Deney hayvanları ve karaciğerlere ait ağırlık verileri: a) Tüm hayvanların deneyler öncesi ağırlık değerleri; b) Postoperatif 5. gündeki ağırlıklar (K grubu için preop ağırlık değeriyle aynı) değerleri; c) %70 hepatektomi yapılan ratlarda rezeke edilen karaciğerlerin ağırlığı; d) K ve S gruplarındaki total hepatektomi ağırlıkları; e) Postoperatif 5. gündeki kalan karaciğerlerin ağırlığı	39
4.2. Hematoksilen & Eosin ile değerlendirme	42

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3. Ki-67 ekspresyonunun değerlendirilmesi	43
4.4. Ki-67 boyanan alanların yüzdesel olarak ifadesi	45
4.5. STAT3 ekspresyonunun değerlendirilmesi	46
4.6. STAT3 boyanan alanların yüzdesel olarak ifadesi	47
4.7. pSTAT3 ekspresyonunun değerlendirilmesi	48
4.8. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi	52



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer; makro besin metabolizması, kan hacminin düzenlenmesi, immün sistem desteği, büyüme sinyal yollarının endokrin kontrolü, lipid ve kolesterol homeostazisi, birçok mevcut ilaç da dahil olmak üzere ksenobiyotik bileşiklerin parçalanması, bilirubin üretimi ve salgılanması, albümin, bağlayıcı globülinler, protein C, protein S ve faktör VIII'in yanı sıra iç ve dış yollardaki tüm pıhtılaşma faktörlerinin üretimi gibi çok sayıda fizyolojik süreç için kritik bir merkezdir (1, 2).

Karaciğer kendini yenileme konusunda mükemmel bir organdır; kimyasal maruziyeti, enfektif süreçler ve kısmi hepatektomi (PHx) gibi fonksiyonel parankim azalmasına neden olan durumlarda bu yeteneği sayesinde organizmanın hayatta kalmasını sağlar. Bununla birlikte genişletilmiş karaciğer rezeksiyonları (3/5 rezeksiyon, major rezeksiyon) sonrası veya karaciğer donörlerinde bazen posthepatektomi karaciğer yetmezliği gelişebilir.

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği (PHKY), rezeksiyon sonrası morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerindendir (3). PHKY'den korunmak için mevcut kılavuzlar, kalan karaciğer hacminin (KKH) orijinal karaciğer hacmine oranının sağlıklı karaciğerlerde %20'den daha yüksek olmasını önermektedir. Kemoterapiye maruziyet, yağlanma derecesi veya fibrotik değişikliklerin varlığında ise rezeksiyon sonrası KKH oranının %40 ve üzeri olması tavsiye edilir (4). Karaciğer rezeksiyonu sonrası portal ven akışı değişmediği için birim karaciğer dokusunu perfüze eden portal kan akımı ve basıncı, rezeksiyon miktarı ile orantılı olarak artar (5). Bu durum, her ne kadar karaciğer rejenerasyonu için tetikleyici faktör olsa da istenmeyen düzeyde artış olduğunda PHKY için bağımsız bir risk faktörüdür (6).

Posthepatektomi karaciğer yetmezliğini önlemek amacıyla, görece artmış portal ven akışını azaltmak için splenik arter ligasyonu (SAL), splenektomi (SPx) ve cerrahi portosistemik şantlar gibi çeşitli cerrahi teknikler bildirilmiştir (portal modülasyon) (7). Bununla birlikte geçmiş yıllarda plateletlerin karaciğer rejenerasyonu üzerinde çok önemli etkileri olduğu gösterilmiştir (8, 9). Dahası preoperatif düşük platelet sayısına sahip hastalarda hepatektomi sonrası karaciğer fonksiyonlarının geri kazanılmasında gecikme olduğu bildirilmiştir (10).

Plateletlerin bu etkilerinde, granüllerinde sahip oldukları zengin büyüme faktörlerinin rolü olduğu düşünülmektedir (11).

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği, rezeksiyon sonrası ölümün ana nedeni olmaya devam ettiğinden, karaciğer rejenerasyonunu teşvik edecek yaklaşımların belirlenmesi kritik öneme sahiptir. Bu yaklaşımlar, PHKY gelişen veya gelişmesi muhtemel hastalarda yeterli düzeyde fonksiyon yapamayan karaciğer dokusunun rejenerasyonunu (hipertrofi ve hiperplazi) tetiklemeli ve ameliyat sonrası ölüm oranlarını azaltmalıdır.

Bu çalışmada %70 hepatektomi uygulanan ratlarda splenektomi, plateletten zengin plazma (PRP) ve konsantre büyüme faktörünün (CGF) karaciğer rejenerasyonu ve fonksiyonları üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Karaciğer rejenerasyonu ve fonksiyonları histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal belirteçler ile değerlendirilmiştir. CGF'nin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisinin olup olmadığı konusunda herhangi bir çalışma literatürde şu ana kadar bulunmamaktadır.

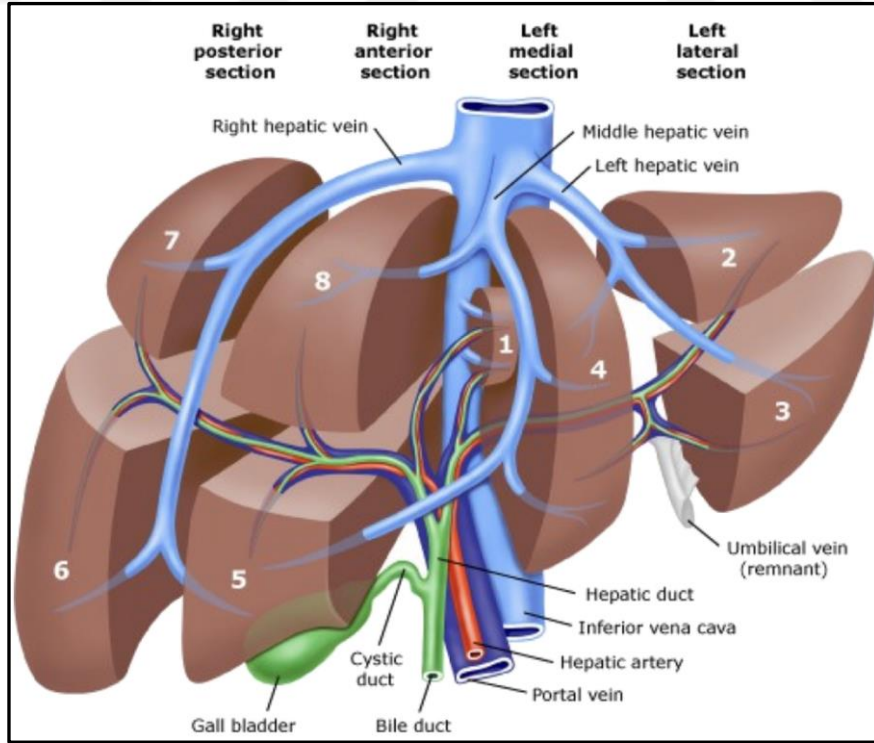
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi

2.1.1. Parankimal Anatomi

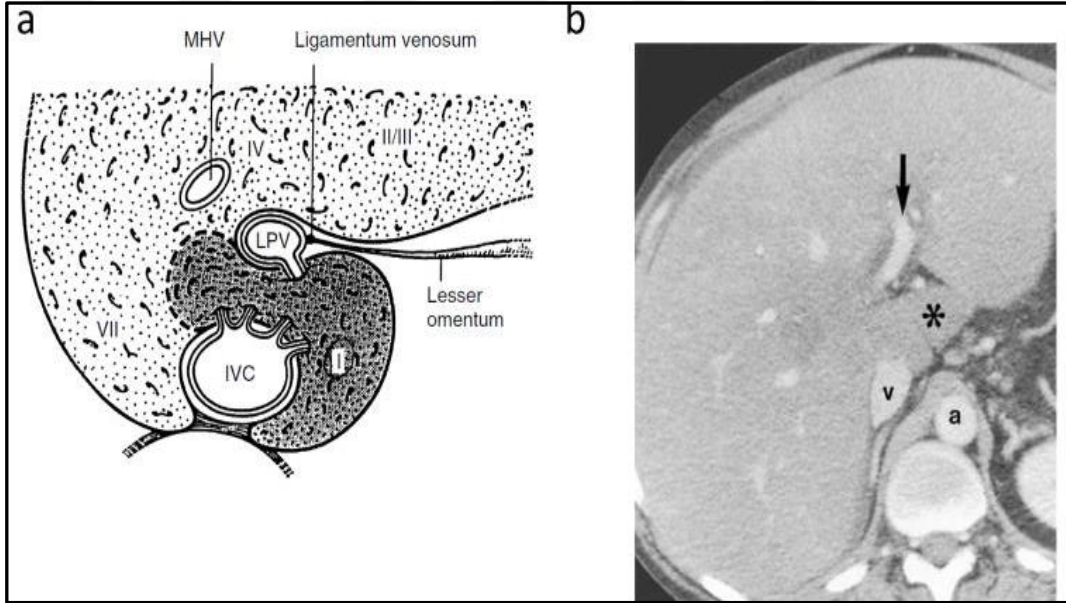
Tarihsel olarak karaciğer, daha küçük sol ve daha büyük sağ olmak üzere iki loba ayrılmıştır. Geçmişte bu loblar ayrım falciform ligamentin sağ ve solu olacak şekilde kabul görmüştü. Günümüzde ise Couinaud'un segmentlerini sıklıkla kullanılmaktadır.

Couinaud'a göre karaciğer, üç ana hepatik ven tarafından her bir lobülü hepatik arter, portal ven ve safra kanalı içerecek şekilde 4 sektöre ayrılır. Sağ ve sol karaciğer orta hepatik veni içine alacak şekilde ana portal çizgi üzerinden ayrılmaktadır. Her iki lob, sonrasında hepatik venler aracılığıyla sektörlere ayrılır. Sektör, kabaca iki hepatik ven veya bir hepatik ven ve karaciğerin kenarı ile sınırlanan bir bölgedir. Karaciğer segmenti, bağımsız vasküler giriş, çıkış ve safra drenajı olan bir parankim bölgesidir. Sektörler, portal venin dalları tarafından sekiz segmente ayrılmıştır (12).



Şekil 2.1. Karaciğerin anatomik yapısı ve sektörel isimlendirmeler (Mourya'dan) (13)

Sağ portal pedikül, sağ lobu ön ve arka sektörler olmak üzere ikiye ayırır. Daha sonra bu sektörler segmentlere ayrılır. Sağ anterior sektör altta segment 5, üstte segment 8'den oluşurken, sağ posterior sektör altta segment 6, üstte segment 7'den oluşur. Sol hepatic venin medialinde kalan sol lateral sektör, üstte segment 2 ve altta segment 3'ten oluşur. Orta ve sol hepatic venler arasında, sol medial sektör olarak adlandırılan segment 4a ve segment 4b bulunur. Segment 1 (kaudat lob), karaciğerin inferior vena cava (IVC) ile ana portal pedikül arasında kalan, retrohepatik IVC'yi çaprazlayan kısmıdır. Kaudat lob karaciğerin IVC'ye doğrudan drene olan tek bölümüdür (14).



Şekil 2.2. a) Kaudat lobun (I), IVC, portal ven, orta hepatic ven ve segment II/III/VII arasındaki ilişkisi. **b)** Portal ven (ok) ve IVC (v) arasında yer alan kaudat lobu (yıldız işareti) gösteren bir BT taraması. **a;** Aorta (Lowe'dan) (14)

2.1.2. Vasküler Anatomi

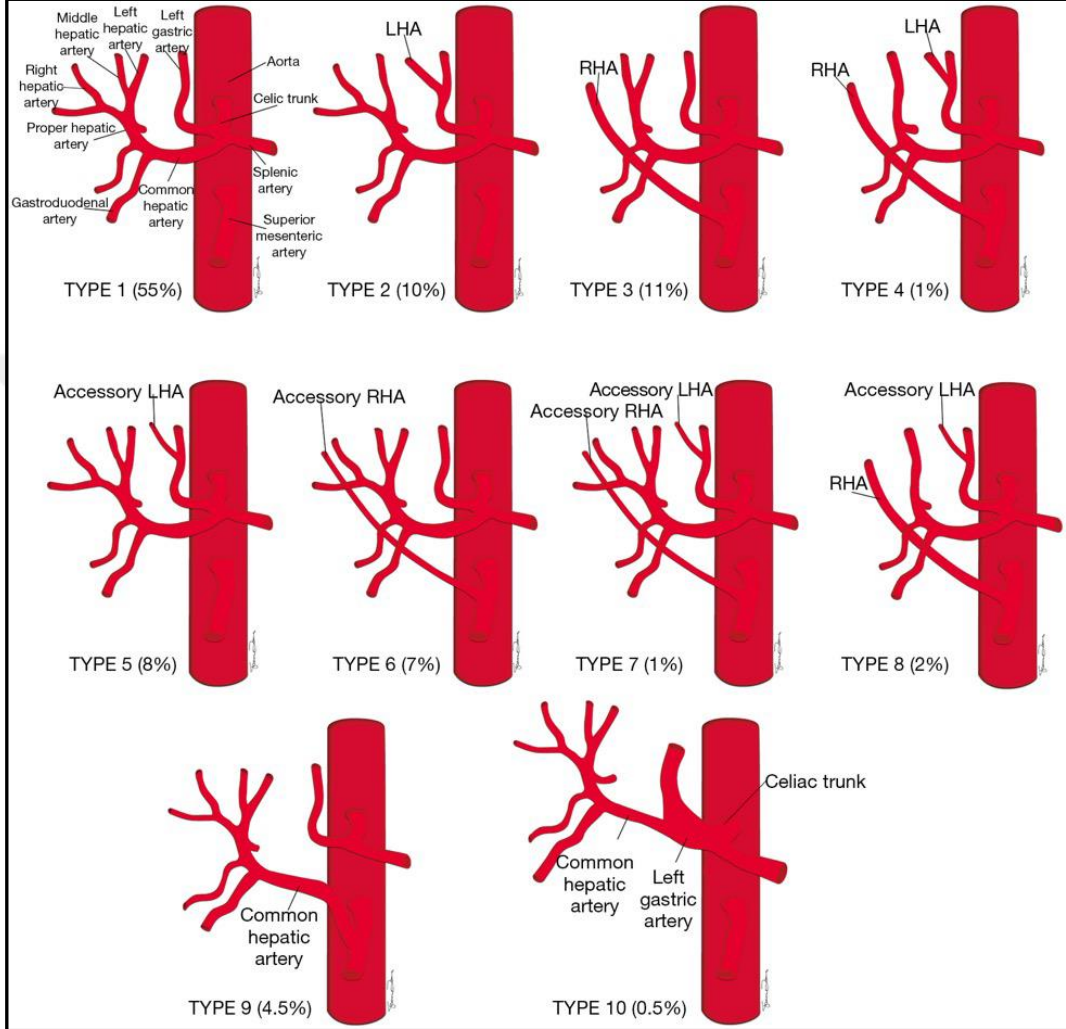
Karaciğer en karışık dolaşıma sahip organlardan biridir. Çift vasküler beslenmesi olan karaciğere kanın yaklaşık %70-80'i dalak, mide, barsaklar ve pankreas üzerinden kısmi deoksijene olarak portal ven üzerinden gelir (15,16). Hepatik arter, iyi oksijenlenmiş kan ile kalan %25'i oluşturur. Toplam hepatic kan akışı 800 ila 1200 mL/dk arasında değişir ve bu, 100 g karaciğer ıslak ağırlığı başına yaklaşık 100 mL/dk'ya eşittir (17). Karaciğer kütlesi toplam vücut ağırlığının yaklaşık %2,5'ini oluştur ve kalp debisinin yaklaşık %25'ini alır (18).

Karaciğerden ana drenaj yolu olarak 3 ana hepatic ven (sağ, sol, orta) bulunur. Bununla birlikte sağ lob posteriorunda direkt olarak IVC ile ilişkili sayısı değişken venler bulunabilir (kısa hepatic ven, küçük hepatic ven, minör hepatic ven). Sağ hepatic ven doğrudan suprahepatik vena cava'ya drene olurken, orta ve sol hepatic ven girişten önce kısa ortak bir ven oluşturmak üzere birleşir (19).

Hepatic arter anatomisi, hepatic ven anatomisinin aksine sıklıkla daha değişkendir. Çoğu büyük anatomik incelemede tarif edildiği gibi normal çölyak arter anatomisi vakaların sadece %60'ında bulunur. Aksesuar hepatic arter, normal hepatic arterden de beslenme sağlayan bir karaciğer bölümünü besleyen arter anlamına gelmekteyken, "replace hepatic arter" orijini normal hepatic arter olmayan bir arterin karaciğerin belirli bir bölümünü yalnızca kendisi besleyen arter anlamına gelmektedir.

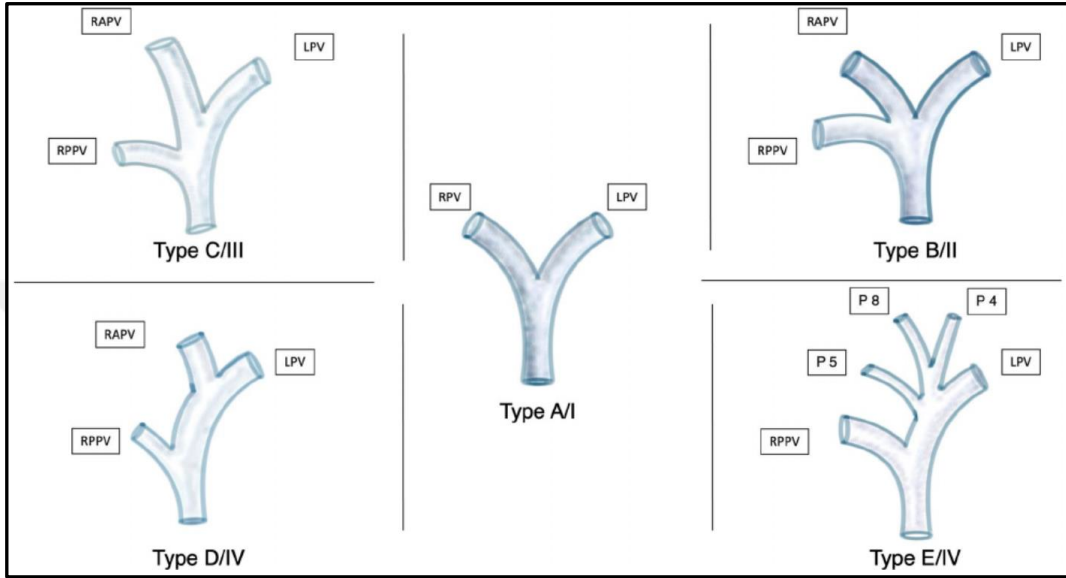
Common hepatic arter, çölyak trunkustan çıktıktan sonra yukarı döner ve koledoka komşu şekilde karaciğer hilusuna ilerler. Sağ gastrik dalını verdikten sonra proper hepatic arter olarak seyrine devam eder ve sonrasında sağ ve sol hepatic arter dallarını verir. Proper hepatic arter, ana safra kanalı ve portal ven ile birlikte hepatoduodenal ligaman boyunca seyrederken peritoneal bir kılıfla sarılır. Olguların %80'inde sağ hepatic arter, parankime girmeden ana hepatic kanalın arkasından geçer. Hepatic parankime ulaştığında, sağ hepatic arter sağ anterior (Segment V ve VIII) ve sağ posterior sektörel dallara (Segment VI ve VII) ayrılır. Sol hepatic arter, Segment II ve III'ü beslemeye devam etmeden önce, segment IV'e küçük bir dal (genellikle orta hepatic arter olarak adlandırılır) verdiği umbilikal fissüre doğru dikey olarak ilerler. Sol hepatic arterin ek küçük dalları kaudat lobu

besler, ancak bu dallar sağ hepatik arterden de çıkabilir. Hepatik arter dallarının seyrini sektörel ve segmental safra kanalları ve portal venler takip eder.



Şekil 2.3. Michel sınıflandırması ile hepatik arterlerin varyasyonları ve görülme sıklıklarının şematik olarak ifadesi. **LHA**; sol hepatik arter, **RHA**; sağ hepatik arter (Dichko'dan) (20)

Portal ven, superior mezenterik ven ile splenik venin birleşmesiyle oluşur. Ek olarak, sol gastrik ven ve inferior mezenterik ven tipik olarak splenik vene drene olur, ancak nadir durumlarda bu damarlar doğrudan portal vene girebilir. Karaciğer parankimine girmeden önce sağ ve sol olmak üzere iki dal verir (2, 21).

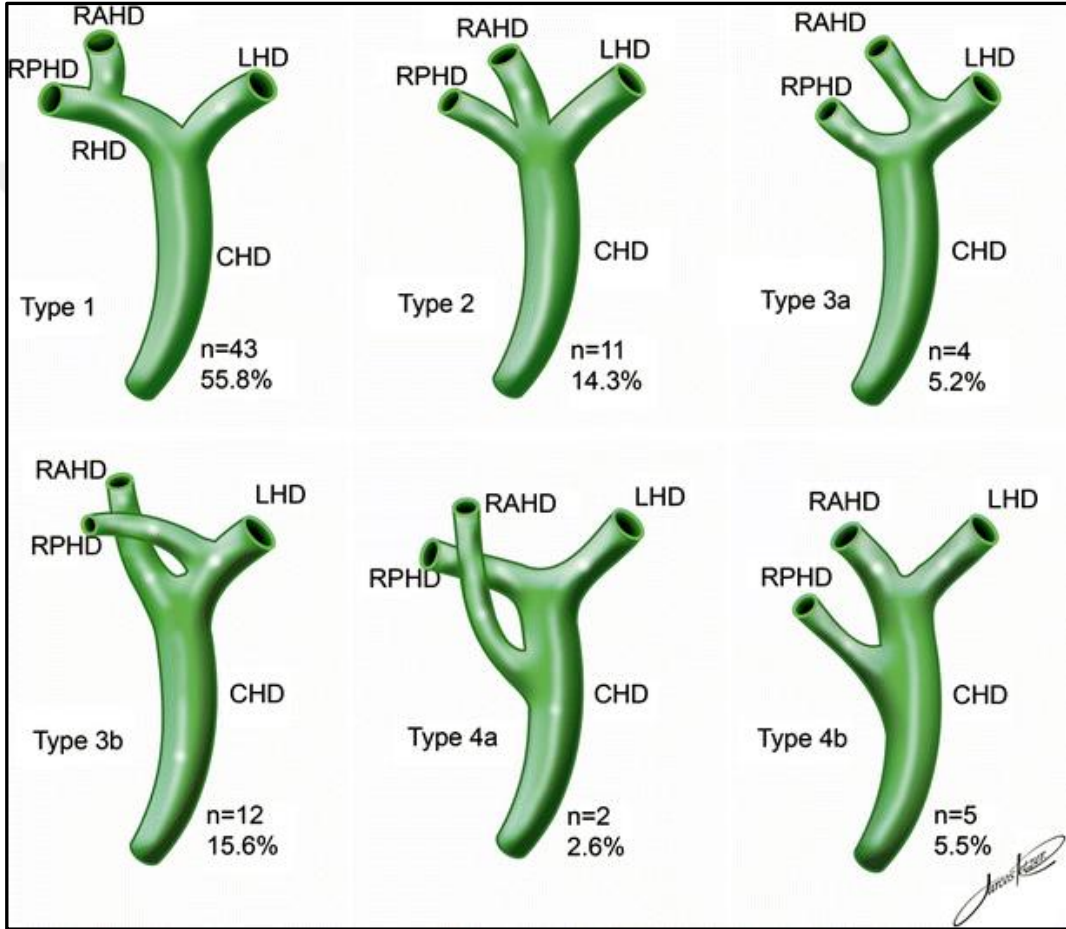


Şekil 2.4. Nakamura (Tip A'dan E'ye) ve Cheng (Tip I'den IV'e) tarafından önerilen sınıflandırmalara göre portal venin varyasyonları. Tip A/I, normal anatomi (yaygın varyant); Tip B/II, ana portal venin sol portal ven (LPV), sağ anterior portal ven (RAPV) ve sağ posterior portal ven (RPPV) olarak trifurkasyonu (üç dallanma); Tip C/III, RPPV ana portal venden ayrı olarak çıkar ve ardından ekstraparenkimal olarak RAPV ve LPV olarak dallanır; Tip D/IV, RPPV ana portal venden ayrı olarak çıkar ve ardından RAPV ve LPV intraparenkimal olarak dallanır; Tip E/IV, segment 4, 5 ve 8 için ayrı portal ven dalları bulunur (Radulova-Mauersberger'den) (22)

2.1.3. Safra Kesesi ve Safra Yolları Anatomisi

Klasik safra yolları anatomisinde, sağ ve sol hepatik kanallar karaciğerden çıkar ve karaciğer hilusuna yakın bir yerde birleşerek ortak hepatik kanalı (OHK) oluşturur (23). Sağ hepatik kanal, sağ karaciğer lobunun safra drenajını sağlar ve sağ posterior kanal ile sağ anterior kanal olmak üzere iki ana daldan oluşur. Sağ anterior kanal segment V ve VIII'in, sağ posterior kanal ise segment VI ve VII'nin drenajından sorumludur. Sol hepatik kanal ise segment II, III ve IV'ü drene eden birkaç segmental dal tarafından oluşturulur (24). Bu klasik safra ağacı tanımı nüfusun yaklaşık %56'sında görülür (25, 26).

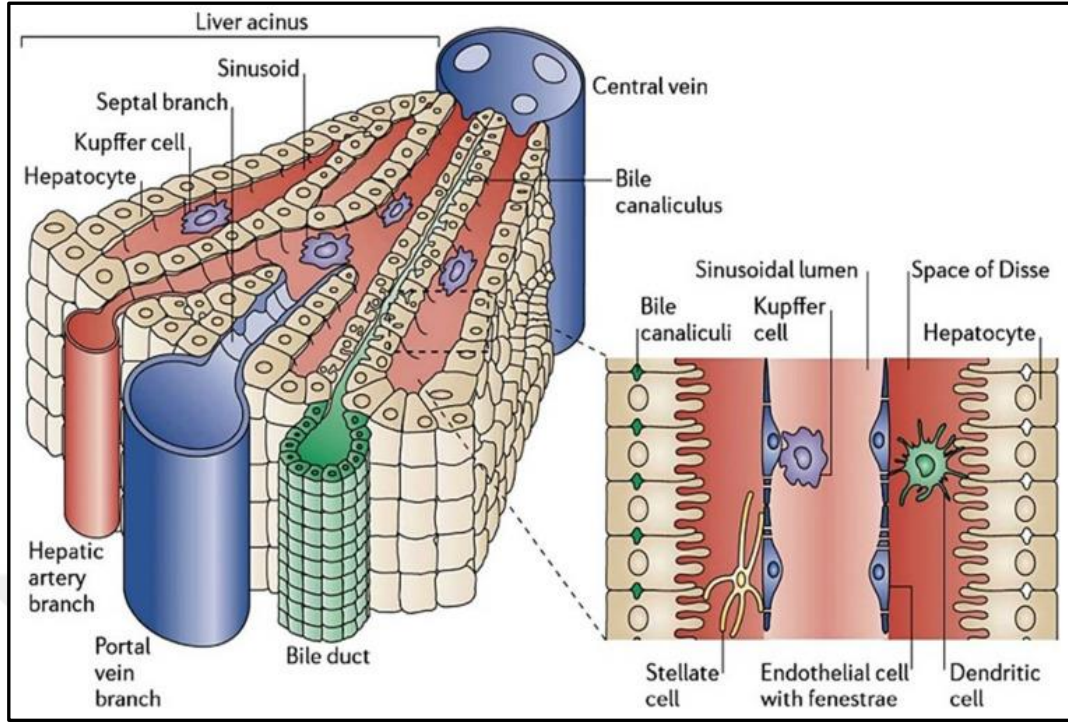
Safra kesesinin temel işlevi, safra depolamak ve yoğunlaştırmaktır. Safra kesesi, karaciğerin alt yüzeyinde, segment IV ve V arasında bulunmaktadır. Safra kesesinin boynu, sistik kanala açılır ve bu kanal, sağ ve sol ana hepatik kanalların birleşme yerinin distalinde çeşitli varyasyonlarla OHK ile birleşir ve böylece koledoku oluşturur. Koledokun uzunluğu 7 ila 11 cm arasında değişir ve duodenum ikinci kırtasına tek başına ya da pankreas kanalı ile birleşerek drene olur (23, 27).



Şekil 2.5. Safra yolu anatomisi varyasyonlarının sınıflandırılması ve bulunma sıklıkları (Nakamura ve ark. ve Varotti ve ark.). **CHD**, ortak hepatik kanal; **LHD**, sol hepatik kanal; **RAHD**, sağ anterior hepatik kanal; **RPHD**, sağ posterior hepatik kanal (Chaib'den) (28)

2.2. Karaciğerin Hücresel Anatomisi

Karaciğer; hepatositler, biliyer epitel hücreleri (kolanjiyositler), Ito (yıldız hücreleri), Kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri (KSEH) dahil olmak üzere farklı embriyolojik kökenli birkaç hücre tipinden oluşur. Bu hücre tiplerinin her biri, karaciğer fonksiyonunu iş birliği içinde düzenleyen benzersiz fonksiyonlara sahiptir. Hepatositler, karaciğerin birincil hücre popülasyonudur. Karaciğer hacminin çoğunu oluştururlar ve karaciğere atfedilen işlevlerin çoğunu yerine getirirler. Kolanjiyositler, karaciğerin en çok sayıdaki ikinci hücre popülasyonudur ve safra kanallarının lümenini kaplayan hücreler olarak bir epitel işlevine sahiptir. Ito hücreleri (hepatik yıldız hücreler), sessiz veya aktif durumda var olabilen dinamik bir hücre popülasyonudur. Sessiz durumda A vitaminini lipid damlacıklarında depolamaktadırlar. Karaciğer hasarı, hepatik yıldız hücrelerinin (HYH) aktivasyonuna yol açar ve HYH'ler aşamalı olarak A vitamini depolarını kaybederler. HYH ayrıca hasarlı karaciğerde kollajenin birikmesinden ve organizasyonundan da sorumludur. Bu süreç ise, son dönem karaciğer hastalığına ilerleyebilen kritik bir patoloji olan sirozun gelişmesine katkıda bulunur. Kupffer hücreleri, karaciğerin yerleşik makrofaj popülasyonudur. Bu hücreler, portal dolaşım yoluyla gelen birçok patojenik uyarıyı tanır ve karaciğer iyileşmesinde pro- veya anti-inflamatuvar roller sergileyebilir. Son olarak KSEH, benzersiz özelliklere sahip özel bir hücre popülasyonudur. Bu hücreler sinüzoidal lümende fenestreli alanları oluşturur. Bu yapı belirli bariyer fonksiyonlarını korurken, plazma ve karaciğerin hücre tipleri arasında belirli boyut sınırları içinde proteinlerin ve partiküllerin değişimi için kritik öneme sahiptir (2).



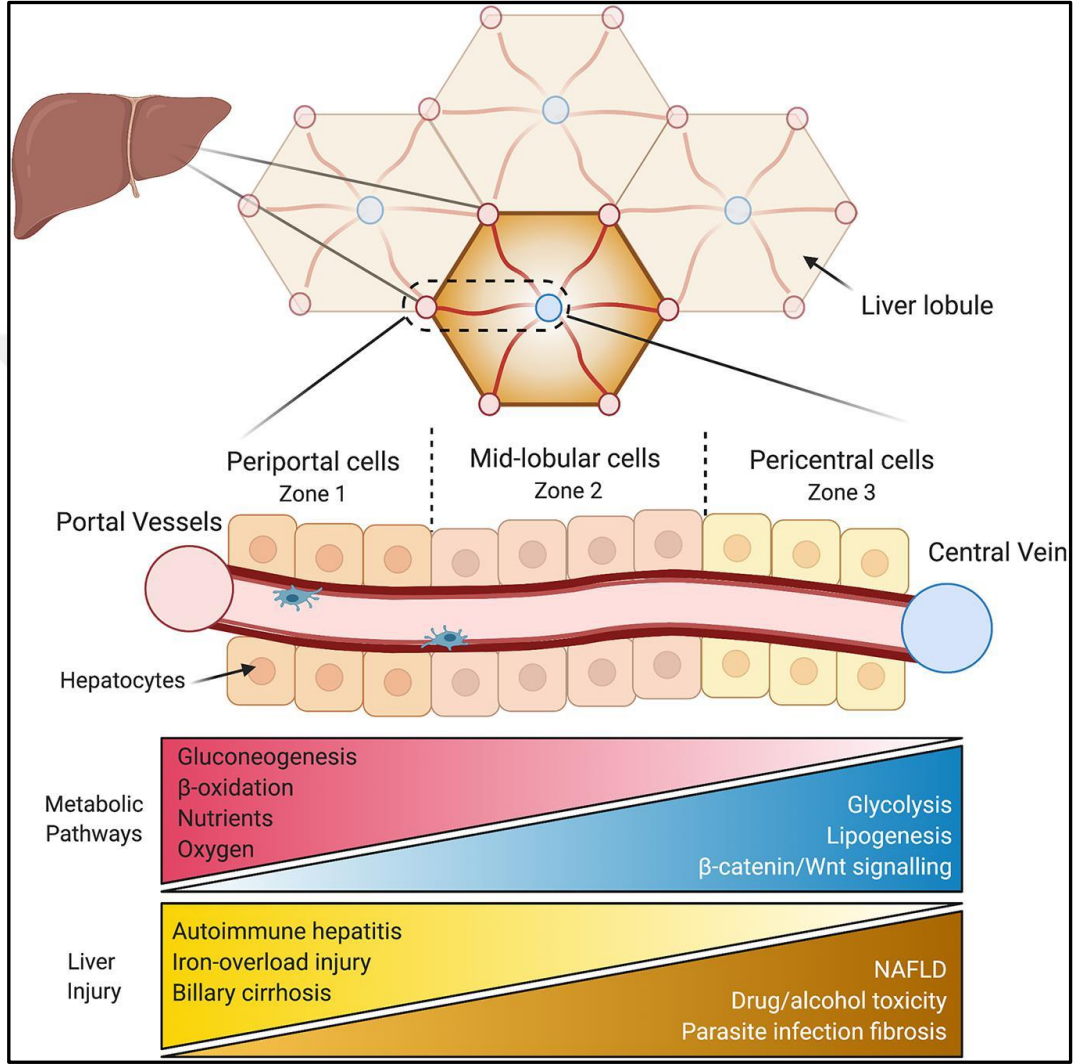
Şekil 2.6. Karaciğer lobülü ve karaciğer sinüzoidlerinin yapıları. Hepatositler, sinüzoidlerle birlikte karaciğer plakasını oluşturmak üzere radyal olarak hizalanır. Portal venler ve hepatik arter dalları, sinüzoidlerde sonlanır, kanı sinüzoidlere ve asinüs boyunca santral vene doğru boşaltır. Sinüzoidler, endotel hücreleri ile döşenmiş fenestrelili KSEH ile kaplıdır ve endotel boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri bulunur. Karaciğer plakası ile sinüzoidler arasında, hücre dışı matriks bileşenlerini ve HYH içeren Disse aralığı bulunur (Panwar'dan) (29)

Karaciğerin fonksiyonel birimi lobüldür. Her lobül altıgendir ve altıgenin her köşesinde bir portal triad (portal ven, hepatik arter, safra kanalı) bulunur. Lobülün temeli, fizyolojik olarak farklı apikal ve bazolateral membranlara sahip olan hepatositlerden oluşur. Fonksiyon ve perfüzyona göre hepatositler 3 bölgeye ayrılır.

Zon I, hepatositlerin periportal bölgesi olarak kabul edilir ve oksijenli kan ve besinlere yakınlıkları nedeniyle en iyi perfüze edilen ve ilk yenilenen bölgedir. Yüksek perfüzyonu nedeniyle zon I; beta oksidasyon, glukoneogenez, safra oluşumu, kolesterol oluşumu ve amino asit katabolizması gibi oksidatif metabolizmalarda büyük rol oynar.

Zon II, hepatositlerin perisantral bölgesi olarak tanımlanır ve zon I ve III arasında bulunur.

Zon III, portal triaddan uzaklığı nedeniyle en düşük perfüzyona sahiptir. Detoksifikasyon, ilaçların biyotransformasyonu, ketogenez, glikoliz, lipogenez, glikojen sentezi ve glutamin oluşumunda en büyük rolü oynar.



Şekil 2.7. Hepatik lobül illüstrasyonu. Karaciğer, lobül adı verilen altıgen birimlerden oluşur. Oksijen ve besin açısından zengin kan, lobülün köşelerindeki hepatik damarlardan (kırmızı) orta kısımda yer alan santral vene (mavi) doğru akar. Lobülün çevresinde periportal hepatositler (zon 1) bulunur, bunları orta lobül hücreleri takip eder ve son olarak perisentral hepatositler santral veni (zon 3) çevreler. Periportal-perisentral eksen boyunca değişken mikroçevre, kademeli gen ekspresyonuna ve belirli metabolik süreçlerin periportal ve perisentral bölgelerde ayrışmasına yol açar. Bazı karaciğer hasarları da bu bölgelere bağlıdır; bazıları periportal (sarı) bölgelerde, bazıları ise lobülün perisentral bölgelerinde (kahverengi) ortaya çıkar veya bu bölgelerle sınırlıdır. NAFLD, alkol dışı yağlı karaciğer hastalığı (Cunningham'dan) (30)

Safra akışı, komşu hepatositlerin apikal zarları tarafından oluşturulan safra kanalikülleri tarafından daha da kolaylaştırılır. Hepatositlerin 3 boyutlu düzenlemeleri sayesinde kanalcıklar, akışın yüzey alanını artırmaya yardımcı olan kafes benzeri bir ağ modeli oluşturur.

Sinüzoidal lümen ile çevresindeki hepatositlerin bazolateral membranı arasındaki boşluğa Disse boşluğu denir. Bu boşlukta kılcal damarla iletişim kuran hepatositlerin bazolateral membranından uzanan mikrovilluslar bulunur ve bunlar hepatositin kendi kan kaynağına ulaşmasını sağlar. Ayrıca Disse alanı, hepatositler ve lobül için iskelet sağlamaya yardımcı olan çeşitli kollajenler, proteoglikanlar ve diğer proteinlerden oluşan hücre dışı matriksi barındırır. Disse alanı ayrıca HYH ve Kupffer hücrelerini de içerir.

2.3. Posthepatektomi Karaciğer Yetmezliği

2.3.1. Tanım

Karaciğer, tekrarlanan rezeksiyonların yapılmasına bile izin veren bir rejeneratif kapasiteye sahiptir. Bununla birlikte bu kapasitenin bozulduğu veya küçük remnant karaciğer kalacak şekilde kapsamlı rezeksiyonların yapıldığı bazı durumlarda PHKY gelişebilir. PHKY; hiperbilirubinemi, koagülopati, portal hipertansiyon ve asitin klinik belirtileriyle birlikte postoperatif (PO) karaciğer fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanmaktadır.

2010 yılında yayınlanan bir konsensusta; karaciğer rezeksiyonu sonrası kalması gereken minimum karaciğer hacminin normal bir karaciğer için yaklaşık %20 olması gerektiği bildirilmiştir (31). Kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda kılavuzlar daha az nettir. Mevcut veriler, hafif steatoz, kolestaz ve erken siroz (Child-Pugh A) olan hastalar için güvenli KKH sınırının %30-35 aralığında ve şiddetli steatoz ve kolestaz için %40 olmasını önermektedir. Ancak, daha ileri siroz (Child-Pugh B veya C) ve portal hipertansiyonu olan hastalarda, küçük rezeksiyonlar bile PHKY'ne neden olabilir (32).

Son yıllarda cerrahi tekniklerin, anesteziyolojinin ve postoperatif yoğun bakımın gelişmesiyle beraber hepatektomilerde mortalite ve morbiditede düşüş izlenmekle beraber, PHKY, vakaların %10'unda görülebilen en önemli mortalite ve morbidite nedenidir (33-35).

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği ile benzer şekilde anılan small-for-size sendromu (SFSS) terimi ilk olarak karaciğer transplantasyonunda, belirli bir alıcı için çok küçük olan bir donör karaciğerinin transplantasyonundan kaynaklanan akut karaciğer yetmezliğini (hiperbilirubinemi, koagülopati, ensefalopati ve dirençli asit) belirtmek için kullanılmıştır (36).

2.3.2. Patofizyoloji

Karaciğer, hepatektomi veya nakil sonrası işlevlerini ve rejenerasyon kapasitesini sürdürebilmesi için yeterli miktarda parankimal hepatik hücre içermelidir. Hepatik parankim, venöz konjesyondan korunarak rezeksiyon sonrası meydana gelen hemodinamik değişikliklere karşı direnebilmelidir. Parankim hücrelerinin aşırı azalması, enfeksiyon ve rejenerasyonu tehlikeye atabilecek farklı nedenler gibi faktörlerin olmaması gerekir (37).

Parankimal hacimdeki azalma; karaciğerde hiperperfüzyona neden olarak sinüzoidlerin genişlemesine, hemorajik infiltrasyona, shear stresine, sentrilobüler nekroza, uzun süreli kolestaza, sentetik fonksiyonun bozulmasına ve hücre proliferasyonunun inhibisyonuna neden olur (38).

Tüm bunlarla birlikte portal hiperperfüzyon, hepatik arteriyel tampon yanıtına (HATY) yol açar. Bu benzersiz mekanizma hepatik arterin, portal ven akışındaki değişikliklere yanıt olarak kompensatuar akış değişiklikleri oluşturmasını ifade eder. HATY, karaciğere giren portal ven akımına ve bu akımın özellikle Mall aralığındaki etkilerine bağlıdır (39). Bu durumu açıklayan çeşitli mekanizmalar olmakla birlikte, en sık üzerinde durulanlardan birisi adenosin yıkılmasıdır. Artmış portal akım ile birlikte Mall aralığındaki adenosinin uzaklaştırılma hızının arttığı ve azalmış adenosinle birlikte hepatik arterde vazokonstriksiyon, takiben hepatik arter akımında azalma olduğu düşünülmektedir (40-42). Bu fonksiyonel dearteriyalizasyona bağlı potansiyel iskemik kolanjit ve parankimal enfarktüsler bildirilmiştir.

2.3.3. Risk Faktörleri

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği için hasta bağımlı risk faktörleri arasında erkek cinsiyet, ileri yaş, enfeksiyon varlığı, malnütrisyon ve yüksek vücut kitle endeksi, düşük platelet sayısı, böbrek fonksiyon bozukluğu ve kardiyopulmoner fonksiyon yetersizliği; karaciğer bağımlı risk faktörleri açısından steatoz, neoadjuvan kemoterapi öyküsü, kolestaz ve portal hipertansiyon; cerrahi ile ilişkili risk faktörleri açısından KKH düşüklüğü, yüksek kan kaybı, uzun süreli iskemi ve ileri vasküler rezeksiyonlar öne sürülmektedir (43).

2.3.4. Sınıflama

Posthepatektomi karaciğer yetmezliğinin tanımı için ilk girişim “50-50” kriteri kullanılarak Balzan ve Belghiti tarafından yapılmıştır. Ameliyat sonrası 5. günde protrombin indeksi <50 (Uluslararası normalleştirilmiş oran >1.7) ve serum bilirubin >50 mmol/L (2,9 mg/dl) kriterleri karşılandığında mortalite %59’u bulmaktadır (karşılanmadığında %1,2) (34, 44).

2010 yılında, Rahbari ve Uluslararası Karaciğer Cerrahisi Çalışma Grubunun (ISGLS) diğer üyeleri, PHKY tanımını ve derecelerini tanıttı. Bu kriterler PO 5. gün veya sonrasında biyokimyasal ve klinik değişikliklere neden olacak etkenlerin dışlanması şartıyla.; karaciğerin sentez, detoksifikasyon ve eksretuar işlevlerinde bozulma ile tanımlanmaktadır (45).

Çizelge 2.1. ISGLS tarafından PHKY üzerinde uzlaşılan tanım ve şiddet derecelendirmesi (Ocak’dan) (46)

Group	Clinical description	Diagnosis	Symptoms	Mortality
A	Impaired liver function	-Urine Output >0.5 mL/kg/h -BUN <150 mg/dL -Oxygen saturation $>90\%$ -INR <1.5	None	%0
B	Deviation from the expected postoperative course, no need for invasive support	-Urine Output ≤ 0.5 mL/kg/h -BUN <150 mg/dL - Despite the oxygen supply oxygen saturation $<90\%$ -INR ≥ 1.5 , <2.0	-Acid -Weight gain -Mild respiratory failure -Confusion -Encephalopathy	%12
C	Multiple organ failure requiring invasive support	-Urine output ≤ 0.5 mL/kg/h -BUN ≥ 150 mg/dL - Despite high fractionated oxygen support oxygen saturation $\leq 85\%$ -INR ≥ 2.0	- Kidney failure - Hemodynamic instability - Respiratory failure - Massive ascites -Encephalopathy	%54

BUN: Kan üre nitrojeni, **INR:** Uluslararası normalleştirilmiş oran

Uluslararası Karaciğer Cerrahisi Çalışma Grubunun kriterleri, kolay uygulanabilir ve karşılaştırılabilir olduğundan raporlama ve yönetim kararı için uygulanması önerilmektedir. Ancak 50-50 kriteri de yaygın olarak kullanılmaktadır (47).

2.4. Posthepatektomi Karaciğer Yetmezliğinden Korunma Yolları

Posthepatektomi karaciğer yetmezliğini önleme stratejilerinin çoğu, portosplenik dolaşımı modüle ederek KKH'yi artırmayı amaçlar.

2.4.1. Portal Ven Embolizasyonu (PVE)

Portal ven embolizasyonu, ilk olarak 1980'lerin başında Kinoshita ve daha sonra Makuuchi ve ark. tarafından tanımlanmıştır (48). Başlangıçta hilar kolanjiyokarsinom gibi tümör sebepli rezeksiyonlarda kısıtlı KKH'yi rezeksiyona elverişli hale getirebilecek bir teknik olarak ortaya çıkmıştır, ancak endikasyonlar hızla genişledi ve PVE günümüzde farklı endikasyonlar için de hepatektomi öncesinde KKH'yi arttırmada etkili bir teknik olarak kullanılmaktadır (32).

Portal ven embolizasyonu, lokal anestezi altında gerçekleştirilen bir girişimsel radyoloji tekniğidir ve rezeke edilecek karaciğer lobunun portal ven akışının durdurulması mantığına dayanır. Embolizan olarak; jelatin köpük, vasküler tıkaçlar, polivinil alkol, absolu alkol, n-butil-siyanoakrilat gibi birçok madde kullanılabilir (49). Embolizasyon sonrası karaciğerdeki periportal enflamasyon ile portal venöz kanın KKH'ye yönlendirilmesinin büyüme için önemli uyaranlar olduğu düşünülmektedir (32).

Mevcut kılavuzlar, altta yatan sirozu olan ve beklenen KKH'si $\leq 40\%$ olan veya amaçlanan KKH'si $\leq 20\%$ olan normal karaciğer fonksiyonu olan hastalar için PVE önermektedir (50).

Capussotti ve ark. PVE'den 4-6 hafta sonra hastaların 80% 'inden fazlasında $30-40\%$ lık bir KKH hipertrofisi bildirmişler ve hastaları işleminden 6 hafta sonra hepatektomiye uygun hale getirdiklerini bildirmişlerdir (51). Ancak bu faydalı işlemin istenmeyen sonuçları olarak; enfeksiyon, hedef dışı embolizasyon, hemoraji/hematom, portal ve/veya mezenterik venöz tromboz, portal hipertansiyon ve biloma görülebilmektedir (52).

2.4.2. Portal Ven Ligasyonu ve Aşamalı Hepatektomi (ALLPS)

Bu ameliyat ilk olarak 2012'de Schnitzbauer ve ark. tarafından kolanjiyokarsinom sebebiyle ameliyat edilen bir hastada tanımlanmıştır (53). PVE gibi karaciğerin primer veya metastatik tümörlerinde kullanılabilmektedir. İşlemin ilk aşaması, sağ portal venin rezeksiyon yapılmadan parankimal transeksiyonla bağlanmasını içerir. Geleneksel hepatektominin aksine, karaciğerin hastalıklı kısmı yerinde bırakılır ve sadece sağ hepatik arter tarafından perfüze olmaya devam eder. İşlemin ikinci kısmı 7-15 gün sonra gerçekleştirilir; kalan vasküler ve biliyer pediküllerin bağlanarak karaciğerin hastalıklı kısmı rezeke edilir. Bu, KKH'de önemli bir artış sağlar. Schnitzbauer ve ark., tarafından yapılan 25 hastalık seride, 9 gün içinde segment II ve III'te %74'e varan bir büyüme bildirildi. Bu değer, açıklanan diğer yöntemlerden çok daha üstündü (53). ALLPS, diğer geleneksel portal ven ligasyon yöntemlerine göre, zamandan tasarruf sağlayarak tümörün ilerleme riskini azaltması ve sağ portal vende trombus varlığında dahi uygulanabilirliği ile üstünlük kurmaktadır (5). Yapılan bir çalışmaya göre, PVE ile kıyaslandığında KKH'de %17 daha fazla hacim artışı meydana getirmektedir (54). Bununla birlikte prosedür eşlik eden operatif morbidite (%16-64) ve perioperatif mortalite (%12-23) nedeniyle yüksek bir teknik uzmanlık gerektirir.

2.4.3. İskemik Önkoşullama (Ischemic preconditioning)

İskemi reperfüzyon hasarı (İRH), karaciğer cerrahisinde önemli bir konu olmaya devam etmektedir. İRH, iskemik bir periyodun ardından reperfüzyon ve reoksijenasyonun hücrel hasara neden olduğu patofizyolojik bir fenomendir. İskemik önkoşullama (İÖK), İRH'nın büyüklüğünü azaltmak için hedef organın iskemik koşullara hazırlanması konseptine dayanan bir yöntemdir.

İskemik önkoşullama, direkt veya uzaktan olarak yapılabilir. Direkt uygulama planlandığında iskemik bırakılacak organ üzerinde yapılırken, uzaktan uygulamada başka bir organ veya bölge üzerinden iskemi-reperfüzyon döngüleriyle yapılır (55).

İskemik önkoşullamanın koruyucu etkilerinden sorumlu potansiyel mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte İÖK stratejileri ile ilgili olarak; sitokin salınımını baskıladığı, hepatoprotektif adenoazin ve nitrik oksit

üretimini arttırdığı ve adenosin trifosfat (ATP) tükenme oranını yavaşlatarak ATP kullanılabilirliğini arttırdığı, böylece hücrel ATP üretimi ve karaciğer rejenerasyonu sürecinin yukarı regülasyonunu sağladığı ve karaciğerin apoptotik yanıtını azalttığı düşünülmektedir (56, 57).

Hepatektomilerde yapılan bir metaanalizde İÖK'nın; PHKY, mortalite, morbidite, ameliyat süresi, hastanede kalış süresi, protrombin zamanı, bilirubin konsantrasyonu, aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktivitelerinde herhangi bir fark tespit edilmemiştir (58).

2.4.4. Splenik Arter Embolizasyonu (SAE)

Posthepatektomi karaciğer yetmezliğinin ve SFSS'in, görece artan portal akım sonrasında, HATY ile hepatik arterde vazokonstriksiyona yol açması ve bunun sonucunda sinüzoidal shear stres ve sekonder iskemik hasarlara neden olmasının bulunmasıyla, akıllara portal akımın çeşitli tekniklerle azaltılabileceği gelmiştir (59). Buradan yola çıkarak, splenik arterden ve dolayısıyla splenik venden portal vene dönecek kan akımının bir şekilde azaltılmasıyla HATY'de iyileşme beklenmektedir.

Bu bağlamda genellikle daha düşük komplikasyon oranları nedeniyle cerrahi dışı tedaviler sıklıkla tercih edilmektedir (60). Minimal invaziv tedaviler içinde splenik arter embolizasyonu en başarılı yöntem olarak görülmektedir (61). Bununla birlikte yine de çoklu organ yetmezliği, splenektomi gerekliliği, sepsis ve ölüm de dahil olmak üzere çeşitli komplikasyonlarla karşılaşmaktadır.

2.4.5. Splenik Arter Ligasyonu

Splenik arter akımını engelleyerek portal ven akımını azaltmaya yönelik yapılan bir diğer yöntem SAL'dur. Splenektomiye göre daha az invaziv olması sebebiyle SAL yoluyla portal akım modülasyonu yıllar içerisinde denenmiştir (62, 63). Yapılan bir çalışmada SAL'dan sonra portal akışta ortalama %14'lük bir azalma rapor edilmiştir (64). Ayrıca bir fare modelinde %85 hepatektomi ile birlikte SAL grubu, hepatektomi uygulanan ancak SAL uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında ilk 48 saat boyunca oksidasyon belirteçlerinde göreceli bir azalmaya neden olduğu görülmüştür (65).

Ayrıca tekniğin splenektomi ile karşılaştırıldığında bazı avantajlara sahip olduğu da görülmektedir. Bunun nedeni olarak arterin çıkış noktasına yakın ligasyonunun, periçölyak zengin kollateral sistem ve süperior mezenterik arter yoluyla splanknik dolaşıma devam eden kan akışını engellediği düşünülmektedir (66).

Fakat bu işlem sepsis, dalak apsesi ve dalak rüptürü gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilir (67).

2.4.6. Splenektomi

Splenektomi, portal akım modülasyonunda bazı merkezler tarafından özellikle canlı vericili karaciğer nakillerinde (CVKN) splenomegali ile birliktelik gösteren portal hipertansiyon, büyük portosistemik şant, riskli özofago-mide varisleri, portal reperfüzyon sonrası portal basıncın 20 mmHg'nin üzerinde olması, şiddetli hipersplenizm, ABO kan grubuyla uyumsuz donör ve splenik arter anevrizması durumlarında tercih edilebilmektedir (68).

Ratlar üzerinde oluşturulan bir deney modelinde, splenektominin karaciğer nakli üzerinde portal basıncı azaltırken hepatik mikrosirkülasyonu iyileştirerek, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu/biriktirilmesini ve proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu önleyerek, hepatik Hemoksijenaz-1 ekspresyonunu artırıp plazma Endotelin-1 seviyelerini düşürerek sitoprotektif etkiler gösterip karaciğer hasarını hafiflettiği ve rejenerasyonunu iyileştirdiği gözlemlenmiştir (69). Ayrıca Arakawa ve ark. tarafından ratlar üzerinde %90 PHx ve %90 PHx+SPx uygulanan bir çalışmada, splenektominin PO 48. ve 72. saatlerde karaciğer rejenerasyonunu istatistiksel anlamli olarak arttırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada splenektomi yapılan grupta PO 48. saatteki sağ kalımın ve karaciğer fonksiyon testlerinin anlamli olarak daha iyi olduğu raporlanmıştır (70). Bununla birlikte splenektomi; septik komplikasyonlar, pankreatik fistül, kanama gibi hayatı tehdit eden komplikasyonlarla ilişkilendirilmektedir (68, 71).

2.5. Karaciğer Rejenerasyonu

2.5.1. Tanım

Karaciğer rejenerasyonu, karaciğerin normal boyutunu ve fonksiyonunu yeniden sağlamak için çeşitli hepatik hücrelerin çoğalması, göçü ve farklılaşması sürecini içerir ve bu süreçler karaciğere olağanüstü bir rejenerasyon kapasitesi sağlar. Böylece vücutta sürdürdüğü hayata haiz metabolik süreçlere rağmen geniş rezeksiyonlar yapılabilmesine olanak tanır. Kemirgenlerde %70 PHx veya %30 kısmi karaciğer naklinde (PLTx), kalan veya nakledilen karaciğerler 7-10 gün içinde %100 boyutuna dönebilir (72, 73) İnsanlarda ise karaciğer kütlesi sağ veya sol hepatektomiye takiben, daha uzun süreler bildirilmekle beraber, yaklaşık 3 ayda orijinal boyutuna ulaşır (72).

Karaciğerin rejenerasyonu aslında, kalan karaciğer dokusunun organizmanın metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için büyüdüğü hiperplazi olarak tanımlanabilir. Anatmik gerçek rejenerasyonun aksine, genişleyen karaciğer orijinal anatmik yapısını geri kazanmaz. Yani, hepatektomi veya bazı kimyasal karaciğer hasarı durumunda, karaciğer kütlesinin yerini progenitör hücrelerin aktivasyonu olmadan mevcut hepatositlerin replikasyonu alır (74).

2.5.2. Patofizyoloji

Viral veya kimyasallara bağlı karaciğer hasarı sonrası oluşan rejenerasyon ile hepatektomi veya nakil sonrası oluşan karaciğer rejenerasyonu arasında, doku iskemisi/hipoksisi, trombosit aktivasyonu ve portal venöz akış veya basınçta hemodinamik değişiklikler açısından farklılıklar mevcuttur (75). Bu değişikliklerin bazıları viral veya ilaca bağlı karaciğer hasarından sonra da karaciğer rejenerasyonu sırasında ortaya çıkmakla beraber, PHx veya PLTx'den sonra daha ani ve şiddetlidir. Dolayısıyla portal venöz akıştaki değişiklikler karaciğer rejenerasyonunun ana tetikleyicileri veya itici güçleri olabilir (72).

Hepatektomi veya PLTx sonrası rejenerasyonunun en önemli tetikleyicilerinden birinin sinüzoidal *shear stress* olduğu bilinmektedir (76). Azalan karaciğer hacmi sonrası birim karaciğer başına portal venöz akım artışı kaçınılmazdır. Bu hemodinamik değişiklik karaciğer sinüzoidlerinin mikro yapısını etkiler. Hepatektomiye takip eden 6 saat içinde sinüzoidal çapta artış,

fenestrasyonda genişleme, elek-plaka görünümünün kaybolması, hücreler arası boşluklarda ve Disse aralığında genişleme gözlenir ve yapıların normal durumuna dönmesi yaklaşık 10 gün sürer (77).

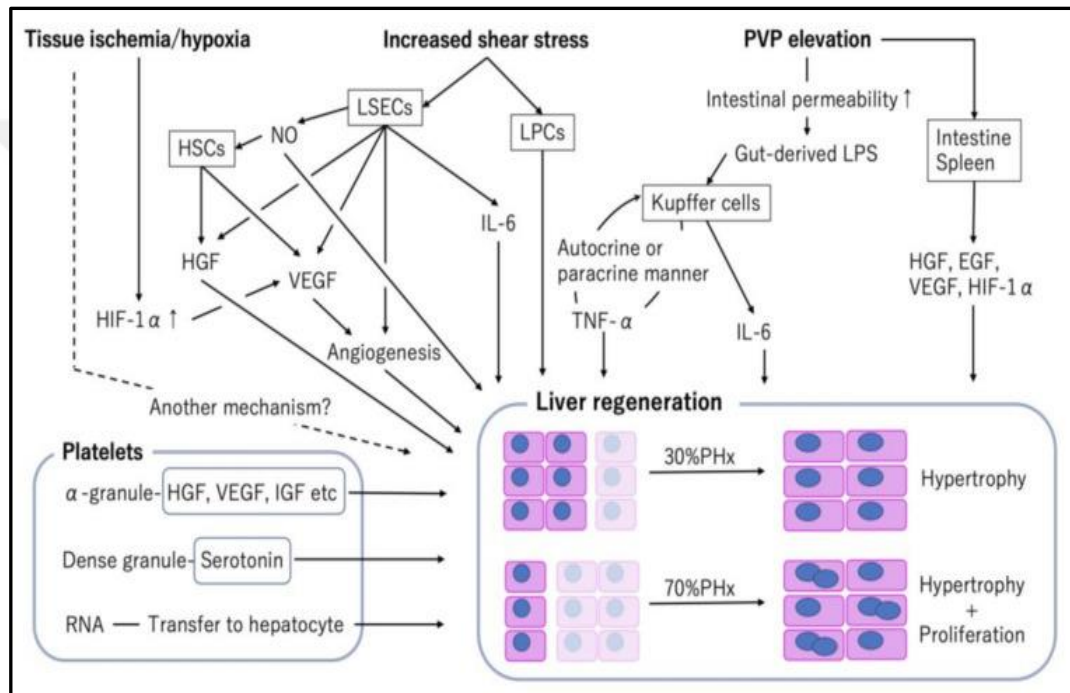
Artan *shear stress*'e cevaben KSEH'ler, nitrik oksit (NO) salgılar. NO, hepatositlerin hepatik büyüme faktörüne (HBF) duyarlılığını arttırır (78). Bununla birlikte NO'nun HYH'leri uyarak, HBF ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF) salınımını teşvik ettiği rapor edilmiştir (79, 80). *Shear stress*'in aynı zamanda KSEH'lerden, hepatotropik faktör olarak da bilinen interlökin 6 (IL-6) salınımını arttırdığı bilinmektedir (81). Ayrıca KSEH üzerinde artan *shear stress*, ekstrasellüler matriksi bozan ve yeniden şekillendiren proteazların ekspresyonunu ve salgılanmasını indükler, böylece ekstrasellüler matriks sertliğini ve hücre-matriks etkileşimlerinin mekaniğini değiştirir (82).

Rejenerasyon için başka bir tetikleyici olarak genellikle bağırsak bakterilerinin parçalanmasıyla salınan lipopolisakkaritler (LPS) örnek gösterilebilir (37). LPS, gram negatif bakterilerin dış membranında bulunur ve patojen ilişkili moleküler paternlerin (PİMP) bir üyesidir. Patern tanıma reseptörleri tarafından tanınır ve doğuştan gelen bağışıklığı ortaya çıkarırlar (83). Hepatektomi sonrası artan portal venöz basınç ve vasküler *shear stress*, barsak permabilitesinde artışa neden olur ve bu durum LPS de dahil olmak üzere bağırsak kaynaklı PİMP'lerin artmasına yol açar (72). LPS'lerin Kupffer hücrelerindeki Toll benzeri reseptörler (TBR) tarafından tanınmasının ardından, Kupffer hücreleri bu aşamada önemli ölçüde iki anahtar sitokin üretir: tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve IL-6 (84). Meydana gelen IL-6 artışı, Janus kinaza (JAK) etki ederek ve sinyal transdüktörü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3) fosforilasyonunu indükleyerek proliferasyonun başlamasını sağlar (85).

Yukarıda bahsedilen faktörlere ek olarak büyüme yoluna katkıda bulunan başka sinyal molekülleri de vardır. Bunlar; epidermal büyüme faktörü reseptörü, fibroblast büyüme faktörü, trombosit türevli büyüme faktörü, insülin, safra asitleri ve norepinefrinden oluşurlar (86).

Ayrıca hipoksinin anjiyogenezin en güçlü indükleyicilerinden biri olduğu ve hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa'nın (HIF-1 α), memeli gelişimi sırasında hipoksik adaptasyonda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (87). Karaciğer

hipoksisi; Pringle manevrası sonrası, nakillerde iskemi sürecinde veya HATY sonucu oluşabilir. HIF-1 α , normoksik koşullar altında baskılıdır. Doku iskemi geçirdiğinde, HIF-1 α aktive olur ve hipoksi ile indüklenen faktör-1 beta (HIF-1 β) ile bir kompleks oluşturur, ardından VEBF, eritropoietin ve glikolitik enzimler gibi genlerin ekspresyonunu artırarak hipoksik koşullara adaptasyona izin verir (88, 89). Bu nedenle HIF-1 α , sinüzoidal endotelial rekonstrüksiyonla ilişkili olabilir ve karaciğer rejenerasyonunu destekler (90).



Şekil 2.8. PHx ve PLTx sonrası karaciğer rejenerasyonu ile ilişkili faktörler. Rejenerasyonun şekli karaciğer rezeksiyonunun miktarından etkilenmektedir. EGF, epidermal büyüme faktörü; HGF, hepatosit büyüme faktörü; HIF-1 α , hipoksi ile indüklenebilir faktör 1-alfa; HSCs, hepatik yıldız hücreleri; IGF, insüline benzer büyüme faktörü; IL, interlökin; LSECs, karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri; LPCs, karaciğer progenitor hücreleri; LPS, lipopolisakkarit; NO, nitrik oksit; PVP, portal ven basıncı; TNF, tümör nekroz faktörü; VEGF, vasküler endotelial büyüme faktörü (Yagi'den) (72)

Karaciğer rejenerasyon süreci temel olarak 3 aşamada incelenebilir; başlama, proliferasyon ve sonlanma. Bu karmaşık süreçte çok sayıda sinyal yolları, reseptörler ve bunların ligandları rol oynar. Dahası, bazen ortak bir rotayı paylaşan bu yollar arasında karmaşık bir haberleşme vardır; bu nedenle hangi yolun hücre

çok önemli bir transkripsiyon faktörüdür (92, 93). Bu yol öncelikle IL-6 ve reseptörü tarafından aktive edilir.

Başka bir sinyal yolu Ras/Raf/RAF/MEK/ERK, hepatosit çoğalmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve bu yoldaki değişikliklerin hepatoselüler karsinomun (HCC) gelişmesinde rol oynadığı da rapor edilmiştir (94). Karaciğer rejenerasyonunda esas olarak hücre döngüsünün başlangıç aşamasını düzenler ve HBF bu yolun ana ligandıdır. Raf ve ERK'nın diğer sinyal yollarıyla da etkileşime girdiği bilinmektedir (72).

Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/protein kinaz B (AKT) hücre döngüsünde, büyümesinde ve çoğalmasında önemli rol oynayan bir yolaktır (95). PI3K reseptör ligandları arasında TNF- α , IL-6, HBF, epidermal büyüme faktörü (EBF) ve TGF- α bulunur (96). PI3K reseptörü büyüme faktörleri veya sitokinler tarafından aktive edildiğinde, PI3K fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat üretimini katalize eder, pleckstrin homoloji alanlarına sahip bir sinyal proteinleri alt kümesini plazma zarına toplar ve sonuçta bunların fosforilasyonuna yol açar (97, 98). Bu proteinler arasında fosfoinositide bağımlı kinaz 1 ve protein kinaz B olarak da bilinen AKT bulunur (99). AKT'nin fosforilasyonu, hücre büyümesini ve hayatta kalmasını sağlayan bir dizi hedefin fosforilasyonuna yol açar (96).

2.5.3. Plateletler ve Karaciğer Rejenerasyonu

Hemostatik görevlerinin yanı sıra plateletlerin karaciğer rejenerasyonunda rol alabileceği ilk olarak 1982'de bildirilmiştir (100). Plateletlerin (trombositler) hepatektomi sonrası hızlıca karaciğer sinüzoidlerine ve Disse aralığına göç ettikleri tespit edilmiş ve platelet sayısının başarılı rejenerasyonla doğrudan ilişkili olduğu rapor edilmiştir (9, 101, 102).

Plateletler en küçük kan bileşenleridir ve alfa granüller, yoğun granüller ve lizozomal granüller olmak üzere 3 çeşit granül içerirler (103). Bu granüllerde, adezyon ve koagülasyon faktörleri, kemokinler, immünglobulinler, aminler ve proteaz inhibitörlerinin yanında anjiyopoietin 1-2, fibroblast büyüme faktörü, EBF interlökin-2,3,4,5,6,7,8 ve β , HBF, IGF-1, VEBF ve TGF- α gibi çeşitli büyüme faktörleri bulunur (104, 105). Plateletlerin ana görevi damarların açıkta kalan endoteline hızlı bir şekilde yapışarak ve bunu, yaralı damar duvarlarını kapatıp

platelet tıkaçlarının oluşumuyla hemostazı sağlamaktır (105). Bu süreçte platelet aktivasyonu, granüler maddelerin ekzositozuna, yeni sentezlenen medyatörlerin salınmasına ve membrana bağlı transselüler sinyal moleküllerinin deşarjına yol açar.

Plateletlerin karaciğer rejenerasyonunu uyardığı potansiyel mekanizmalardan bağımsız olarak, plateletlerin rezidü/greft karaciğere göç etmesi muhtemelen platelet ilişkili karaciğer rejenerasyonunda kritik bir ilk adımdır. Ayrıca plateletlerin aktif olarak Disse boşluklarına göç ettiği de rapor edilmiştir. Sinüzoidal endotel hücreleri fenestrelidir ve fenestrenin çapı plateletlerin çapından daha küçüktür. Hepatektomiye yanıt olarak bu fenestreler hemen büyür ve plateletler aktif olarak fenestre yoluyla Disse boşluklarına yer değiştirir ve böylece hepatositlerle doğrudan temasa geçer (9, 106, 107). Plateletlerin hepatositlerle doğrudan temasının rolünü belirlemek için, plateletlerin ve hepatositlerin geçirgen bir zarla ayrıldığı ortak kültürlenme odasını kullanarak plateletlerin hepatosit proliferasyonu üzerinde doğrudan bir etkisinin olup olmadığını araştıran bir çalışmada, plateletler ve hepatositler ayrıldığında plateletlerin proliferatif etkisinin olmadığı izlenmiştir. Bu sonuç, hepatosit çoğalmasının uyarılması için plateletler ve hepatositler arasındaki doğrudan temasın gerekli olabileceğini göstermektedir (108).

Plateletlerin karaciğer rejenerasyonunu uyurabileceği başka bir mekanizma da platelet ribonükleik asidinin (RNA) hepatositlere aktarılmasıdır (109). Bu kapsamda karaciğer rejenerasyonunda plateletlerin sadece direkt temasla değil aynı zamanda hepatositler tarafından internalize edilerek de görev aldığını gösteren kanıtlar mevcuttur (110). Plateletler çekirdek içermese de dolaşımda bulunan çok sayıda RNA içerirler. Kirschbaum ve ark. plateletlerden hepatositlere RNA transferinin kısmen in vitro hepatosit proliferasyonunu yönlendirdiğini göstermiştir (110).

Plateletlerin bahsedilen etkilerine ek olarak, HBF, VEBF ve IL-6 gibi güçlü hepatosit büyüme faktörlerini serbest bırakmak için KSEH'ni uyardığı gösterilmiştir (111). Ayrıca, platelet bağımlı karaciğer rejenerasyonunda Kupffer hücrelerinin bir rolü olduğunu öne süren kanıtlar vardır; ancak trombositoz, Kupffer

hücresi tükenmesinden sonra bile karaciğer rejenerasyonunu da destekler (112, 113).

Mehrabi ve ark. tarafından yapılan, toplam 5260 karaciğer rezeksiyonu hastası içeren bir meta-analizde, ameliyat öncesi trombosit sayısı $<150 \times 10^3/\mu\text{l}$ olan hastalarda, PHKY ve mortalite insidansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu hastalar için PHKY ve mortalite için sırasıyla 4.65 ve 6.35'lik bir olasılık oranı ifade edilmiştir (114). Karaciğerde fibrotik değişiklikleri olan hastalarda trombositopeni genellikle karaciğer fibrozisi ve portal hipertansiyona bağlı olarak gelişen splenik sekestrasyon nedeniyle oluşur ve bu hastalarda hepatektomi sonrası küçük kalan karaciğerde portal hipertansiyonun kötüleşmesi muhtemeldir. Bu durumun trombositopeniyi derinleştirmesi beklenen bir sonuçtur.

Canlı vericili karaciğer nakli için donör sağ hepatektomi yapılan bir çalışmada, hepatektomi sonrasında erken dönemde platelet sayısında önemli bir azalma olduğu ve PHKY gelişen donörlerin anlamlı derecede daha düşük ameliyat öncesi platelet değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, KKH oranına ek olarak ameliyat öncesi platelet değerlerinin, canlı vericili sağ lob donörlerinde PHKY riskini tahmin etmek için makul bir belirteç olarak rapor edilmiştir (115).

Bilindiği üzere CVKN'lerinde, kısmi karaciğer greftlerinin alıcının fonksiyonel gereksinimlerini karşılayabilmesi için hızlı bir şekilde yenilenmesi gerekir; aksi takdirde karaciğer yetmezliği meydana gelir. Kore'de CVKN alıcılarında yapılan bir çalışmada; platelet transfüzyonun greft rejenerasyonuna katkıda bulunan tek bağımsız anestezi faktörü olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada 1 ila 6 ünite arası platelet konsantrisi transfüzyonu yapılması ile hiç yapılmaması arasında, greft rejenerasyonunda %6,5'lik bir artış ($p= 0.012$), 6 üniteden fazla platelet konsantrisi transfüzyonu yapılması ile hiç yapılmaması arasında ise greft rejenerasyonunda %18,4'lük bir artış ($p< 0.001$) görülmüştür. Ayrıca, intraoperatif platelet transfüzyonu yapılmayan alıcıların alt grup analizinde, reperfüzyon aşamasında ölçülen ortalama platelet sayısının greft rejenerasyonu ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur ($p= 0.033$) (116).

2.5.4. Plateletten Zengin Plazma (PRP) ve Karaciğer Rejenerasyonu

Farklı santrifüjleme parametrelerine göre trombosit konsantreleri, plateletten zengin plazma (PRP), büyüme faktörleri açısından zengin plazma (PRGF), plateletten zengin fibrin (PRF), ileri plateletten zengin fibrin (A-PRF) ve konsantre büyüme faktörleri olarak sınıflandırılır (CGF'ler) (117).

Plateletten zengin plazma, otolog periferik kanın, başlangıç değerinin üzerinde platelet konsantrasyonuna sahip işlenmiş sıvı fraksiyonudur (118). PRP konsepti ilk olarak 1970'lerde hematologlar tarafından trombositopeni hastalarını tedavi etmek için bir transfüzyon ürünü olarak kullanılarak tanımlandı (119). Daha sonrasında PRP, açık kalp ameliyatları, ortopedik cerrahi ve diş hekimliği alanında birçok işlemde kullanılmıştır (120).

Saf PRP'de, aktifleştirilmiş plateletler 8 güne kadar büyüme faktörlerini serbest bırakır (121). Fakat daha yüksek miktarlarda platelet kaynaklı büyümü faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β) ve VEBF on beşinci ve altmışıncı dakikalarda salınır (122). Bu nedenle, hazırlanan PRP'nin en büyük etkinliğinin hazırlık sırasında veya hemen sonrasında olduğuna inanılmaktadır.

Plateletten zengin plazma hazırlanmasını tarifleyen çeşitli protokoller vardır, ancak büyük çoğunluğu belirli zaman ve merkezkaç kuvveti (g) parametreleriyle iki santrifüj gerektirir (123). İlk santrifüjden sonra en yoğun parçacıklar olan eritrositler plazmadan ayrılır ve süspansiyonun alt tabakasında kalmaktadır. Eritrositlerin hemen üzerinde bir lökosit tabakası oluşur ve *buffy coat* olarak adlandırılır. Öte yandan plateletler, karışımın üst katmanlarında yüksek konsantrasyonlarda *buffy coat*'un hemen üzerinde bulunurlar. Plazma (*buffy coat*'lu veya *buffy coat*'suz) toplanır ve ardından platelet konsantrasyonunu artırmak amacıyla ikinci ve son santrifüjleme için alınır (124). İkinci santrifüj sonrası süpernatantın üst 2/3'ü plateletten fakir plazma (PPP), kalan katman PRP olarak elde edilir (125).

Plateletlerin içerdiği büyüme faktörleri ve sitokinlerin daha erken ortaya çıkması için PRP'nin aktive edilmesi gerektiği öne sürülmektedir (126). PRP'nin aktivasyonu için trombin, kalsiyum klorür/glukonat veya mekanik travma kullanılabilir (125, 127). Kollajen, PRP'nin doğal bir aktivatörüdür, dolayısıyla PRP yumuşak dokuda kullanıldığında eksojen olarak aktive edilmesine gerek

yoktur (128). Bununla birlikte PRP'nin aktive edilmesinin gerekli olmadığına dair görüşler de mevcuttur (129, 130). PRP'nin aynı hacimdeki tam kana göre 9 kata kadar daha fazla büyüme faktörü içerdiğine dair kanıtlar bildirilmiştir (131).

Ratlarda %70 PHx ile beraber portal ven yoluyla salın veya PRP uygulanmasının karaciğer rejenerasyonu üzerinde etkisini araştıran bir çalışmada; PRP grubunda karaciğer/vücut ağırlığı oranı ve Ki-67 ekspresyonu anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bazı rejenerasyon yollarında daha erken ve uzun aktivasyon süreleri gözlenmiştir. Portal infüzyonun çok fazla paleteti sinüzoidlerde biriktirmesine rağmen, serum karaciğer fonksiyon testleri ile histolojik bulgulara karaciğere zarar vermediği izlenmiştir (11). Ratlar üzerinde tiyoasetamid ile karaciğer hasarı modeli oluşturulan bir çalışmada; intraperitoneal PRP uygulanmasının, karaciğer fonksiyonunda belirgin iyileşme gösterdiği ve makrofaj inflamatuvar protein-1 α ile peroksinitrit seviyelerini azalttığı, bu sırada kinon oksidoredüktaz-1 enzim aktivitesi ve siklik adenzin monofosfat (cAMP) seviyelerinde anlamlı bir artış gözlemlendiği raporlanmıştır. Histopatolojik sonuçlarda, bazı inflamatuvar hücresel infiltratlar dışında karaciğer yapısında iyileşme görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışma, PRP'nin tiyoasetamid kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruma sağlayabilme yeteneğine sahip olduğunu ve redoks durumunu, karaciğerin histopatolojik yapısını iyileştirerek ve tiyoasetamidin neden olduğu inflamatuvar ve fibrotik yanıtı bozarak gerçekleştirdiğini ileri sürmektedir (132).

Ortopedistler tarafından yapılan bir çalışmada, PRP'nin dejeneratif *rotator cuff* yırtığı durumunda insan supraspinatus tendonunun mikroskopik özelliklerini olumlu yönde etkileyebileceği öne sürülmüştür. Subakromiyal boşluğa PRP enjeksiyonu, altı hafta sonra tendon dokusunun daha sağlıklı bir görünüme sahip olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu, daha iyi kollajen lifleri yönelimi, artan tenosit sayısı ve azalan inflamatuvar hücreler gibi etkilere atfedilmiştir. Sonuç olarak bu organize tendon yapısının, sağlam bir tendona benzemekte olduğu ve bu yöntemin başarılı bir onarım için kabul edilebilir ve iyi fonksiyonel sonuç vaat ettiği öne sürülmüştür (133).

Japonya'da yapılan multisentrik bir çalışmada, 4 haftadan fazla uygulanan standart tedaviye yanıt vermeyen diyabetik ayak ülserlerinde PRP uygulamasının

etkileri incelenmiş olup; 47 hastanın 38'inde %50'den fazla iyileşme görülmüştür. Değerlendirmede, yara alanı ve hacminde sırasıyla %72,8 ve %92,7 oranında azalma gözlemlenmiştir. Nihai değerlendirmede 27 hastada (%57,4) tam yara kapanması sağlandığı bildirilmiştir (134).

Akut ve kronik anal fissür hastalarında topikal tedavi veya topikal tedaviye ek olarak PRP uygulanan bir çalışmada; kontrollerde PRP grubundaki ortalama ağrı skoru ($p < 0.001$) ve kanama oranı ($p < 0.001$) daha düşük bulunmuştur. Ayrıca muayene ile değerlendirilen iyileşme oranı 6. ayda PRP grubunda %96 iken kontrol grubunda %66 ($p < 0.001$) görülmüştür. Akut anal fissürde gruplar arasında iyileşme oranında anlamlı bir fark bulunmazken, kronik anal fissürde PRP grubu anlamlı derecede üstün bulunmuştur (135).

2.6. Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)

Bilindiği üzere PRP, trombosit konsantrelerinin ilk neslidir. PRF, ikinci nesil trombosit konsantresidir ve herhangi bir katkı maddesi olmadan sabit santrifüj kuvvetiyle üretilir. PRF, yumuşak/kemik dokusu iyileşmesini teşvik etmektedir ve plastik ve rekonstrüktif cerrahinin yanı sıra diş hekimliğinde de büyük ölçüde uygulanmaktadır. CGF ise en son nesil trombosit ürünleri olarak tanımlanır (136).

Şu ana kadar literatürde karaciğer rejenerasyonu üzerine deneysel veya klinik çalışma bulunmayan CGF, ilk olarak 2016 yılında Sacco tarafından tanımlanmıştır (137). CGF'nin farklı santrifüjleme hızları, PRF'den çok daha büyük, daha yoğun ve büyüme faktörleri açısından daha zengin bir fibrin matrisinin izolasyonuna izin verir (138). CGF ve PRF benzer mekanik özelliklere ve büyüme faktörleri içeriğine sahiptir ve ikisinin de PRP'den daha iyi olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (139, 140).

Ratlar üzerinde oluşturulan mandibular sinir hasarı modelinde deksametazon ve CGF'nin rejenerasyon üzerindeki etkilerini belirlemek ve karşılaştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, histolojik incelemede gözlemlenen dejeneratif aksonların ve ödemli alanların sayısı CGF gruplarında anlamlı derecede düşük izlenmiştir. Ayrıca immünohistopatolojik ve histolojik yaralanma şiddeti skoru verilerinin analizi sonuçlarına göre CGF gruplarında deksametazon gruplarına göre daha büyük bir rejenerasyon görülmüştür (141).

Unilateral temporomandibular eklem osteoartritinin tedavisinde artrosentez ile birlikte sıvı fazda CGF enjeksiyonunun klinik etkisini gözlemlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, tedaviden 6 ay sonra CGF grubunun ağız açıklığı, kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek ($p < 0.05$) ve çene fonksiyon kısıtlılığı derecesi anlamlı derecede daha düşük ($p < 0.05$) bulunmuştur (142). Endodontik mikrocerrahi sonrasında erken kemik iyileşmesi üzerinde yapılan randomize kontrollü klinik çalışmada, 3 aylık takipte CGF grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazla ($p < 0.05$) kemik iyileşmesi gösterilmiştir (143).

CGF, tam kanın belirli açısı ve hızlarda belirli sürelerle ek bir antikoagülan madde kullanılmadan santrifüj edilmesiyle elde edilir (144). Günümüzde sahip oldukları modlar ve yazılımlarla bu işlemi yapabilen santrifüj cihazları CGF eldesi için kullanılabilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deney Birimi'nden alınan 8-12 haftalık ve 200-300 gram (gr) ağırlığında 70 adet Wistar rat ile çalışıldı. Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (AKHADYEK) 03.10.2022 tarih ve 93 sayılı onay alınarak (Ek-1) ve Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-6427 kodu ile desteklenen projeye gerçekleştirilmiştir. Ratlar nem ve sıcaklık kontrollü bir odada, 12 saatlik bir ışık-karanlık döngüsünde tutuldu ve *ad libitum* yiyecek ve su verildi.

3.2. Deney Protokolü

Deney hayvanları rastgele seçilerek 7 gruba ayrıldı. Bir gruptaki ratlar sadece PRP ve CGF elde edilmesinde kullanıldı. Diğer 6 grup aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

- Grup 1:** Herhangi bir cerrahi uygulanmayan kontrol (K) grubu,
- Grup 2:** Sadece laparotomi yapılan sham (S) grubu,
- Grup 3:** %70 hepatektomi uygulanan hepatektomi grubu (PHx),
- Grup 4:** %70 hepatektomi+splenektomi (PHx+SPx) uygulanan grup,
- Grup 5:** %70 hepatektomi+PRP (PRP grubu) uygulanan PRP tedavi grubu,
- Grup 6:** %70 hepatektomi+CGF (CGF grubu) uygulanan CGF tedavi grubu.

Beklenmedik ölümler ve PRP/CGF eldesindeki teknik sorunlar sebebiyle gruplar arasındaki hayvan dağılımları yeniden düzenlenerek CGF grubunda n=8, diğer 5 grupta (K, S, PHx, PHx+SPx ve PRP) n=6 dağılımı elde edildi. Deney gruplarındaki hayvanlar PO 5. günde anestezi altında kan ve karaciğer doku örnekleri alınarak sakrifiye edildi. Çıkarılan karaciğer dokuları hemen %4 paraformaldehit (PFA) fiksatifine yerleştirilerek doku takip prosedürüne başlandı. Kan örneklerinden ivedilikle serum eldesi yapılarak kullanılacağı ana kadar -20°C'de saklandı.

3.3. PRP ve CGF Elde Edilmesi

Plateletten zengin plazma ve CGF eldesi için ayrılan 10 adet sıçanın ortalama 5-10 santimetreküp (cc) arasında tam kanı, anestezi altında abdominal aorta üzerinden alındı. Alınan kanlar Vacusera (Disera, İzmir, Türkiye) sodyum heparinli tüplere aktarıldı. Takiben kanlar, Medifuge MF200 (Silfradent, Forli-Cesena, İtalya) otomatik santrifüj cihazı ile PRP ve CGF modlarında santrifüj edildi.

PRP eldesi için ilk olarak, plazma süpernatantından eritrositleri ve lökositleri ayırmak için 15 dakikalık 160 bağıl merkezkaç kuvvetinde (BMK) orta dereceli bir santrifüjleme uygulandı. Bu ilk santrifüj sonrası tüpte en üstte plazma, ortada “ara tabaka” olarak adlandırılan platelet ve lökositten zengin katman, en altta da eritrositlerin bulunduğu katman elde edildi. Kalın uçlu bir enjektör yardımıyla üstteki 2 tabaka antikoagülansız başka bir tüpe aktarıldı ve trombositleri tüpün dibinde beyaz bir kütle oluşturacak şekilde dibe itmek için 15 dakika 850 BMK ikinci bir santrifüj uygulandı. İkinci santrifüj sonucunda altta plateletten zengin bir çökelti ve üste PPP elde edildi. PPP’nin üst 2/3 kısmı atılıp kalan alt 1/3 PPP ve platelet çökeltisi kabaca karıştırılıp homojenize edildi. Takiben PRP’yi aktive etmek için %10 kalsiyum glukonat tüplere eklendi (127).

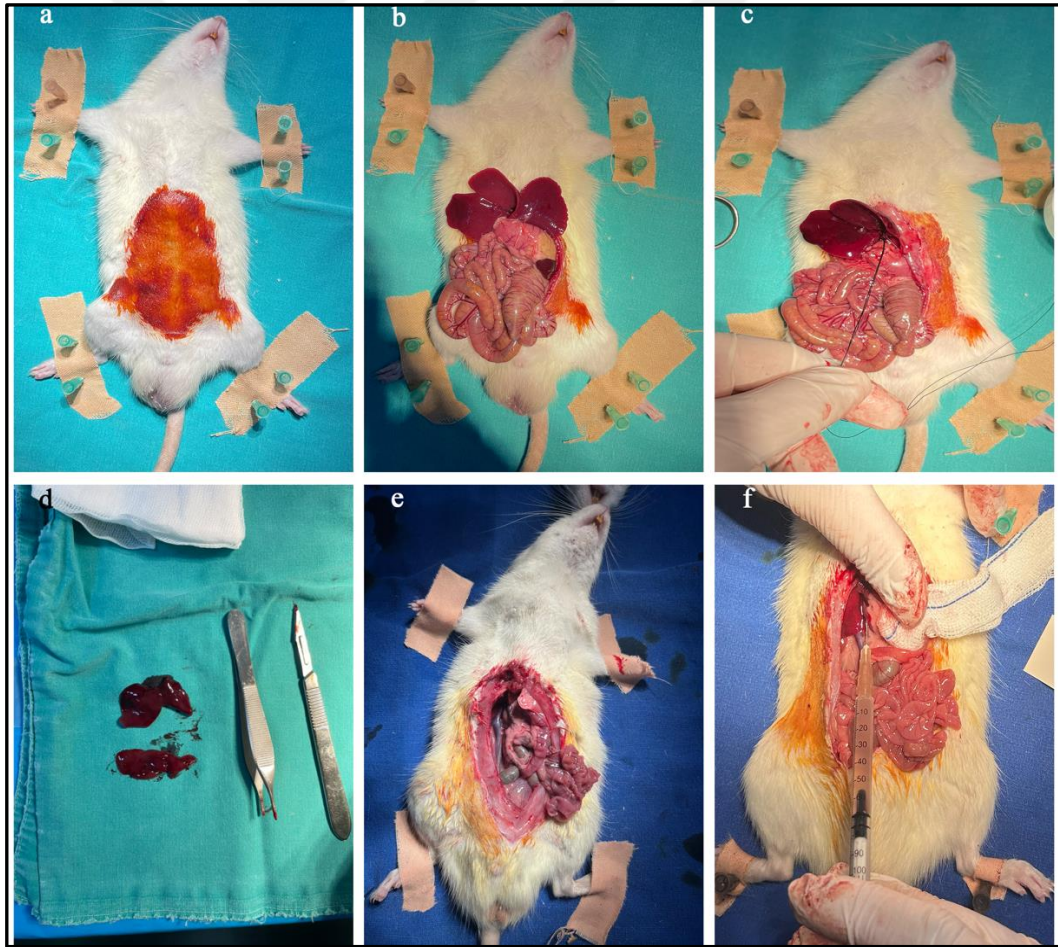
CGF modunda cihaz tarafından; ilk 30 saniye hızlanma, 2 dakika 2700 rpm, 4 dakika 2400 rpm, 4 dakika 2700 rpm, 3 dakika 3000 rpm ve son 36 saniyede yavaşlama yapacak şekilde özel bir mod uygulandı. Sodyum heparinli tüplerin kullanılmasıyla birlikte küm katmaların sıvı formda kalması sağlandı. Santrifüj sonrası sırasıyla serum, fibrinden zengin plateletten fakir katman, fibrin ve plateletten zengin katman, lökosit katmanı ve mononükleer hücreler ve eritrositler içeren fraksiyon elde edildi (145). 3. katmandaki plazma tüpten ayrıştırıldı.

3.4. Anestezi

Çalışmada bütün sıçanlara anestezi için 50-60 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı Warner-Lambert İlaç Sanayi, Levent, İstanbul) ve 10-15 mg/kg xylazine hidrokloritin (Rompun, Bayer, Şişli, İstanbul) intraperitoneal yol ile verildi.

3.5. Cerrahi Prosedür

Ameliyat öncesinde tüm ratların başlangıç ağırlıkları hassas terazi ile ölçülüp kaydedildi. Anesteziyi takiben aseptik koşullarda orta hat insizyonu ile laparotomi yapıp, üst abdominal kavite ve karaciğer ortaya koyuldu. Hepatektomi (%70), Higgins ve Anderson'un tanımladığı gibi, medyan loblar ve sol lateral lob pediküllerinden klemplenip 4-0 ipek süturlerle bağlanarak tamamlandı (146). Rezeke edilen karaciğerler tartıldı. PHx+SPx grubunda hepatektomi sonrasında dalak, hilus seviyesinden klemplenip 4-0 ipekle bağlanıp rezeke edildi. PRP ve CGF uygulanacak gruplarda hepatektomiyi takiben 1 cc hacmindeki sırasıyla PRP ve CGF portal ven üzerinden insülin iğnesiyle yaklaşık 1 dakikada infüze edildi. Cerrahi prosedürleri takiben batın 4-0 ipek süturlerle kapatıldı. Deney hayvanlarının ameliyatlardan 6 saat sonrasında *ad libitum* beslenmelerine izin verildi.



Şekil 3.1. Hepatektomi aşamaları. **a)** Orta hat insizyonuna hazırlık; **b)** Laparotomi sonrası görünüm; **c)** Sol lateral lobun ligasyonu; **d)** Hepatektomi spesmenleri; **e)** Rezeksiyon sonrası görüntü; **f)** PRP veya CGF uygulanması

3.6. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması

Ratlar, cerrahi prosedürlerden sonra PO 5. günde tartıldıktan sonra anestezi altında tekrardan ameliyata alındı. Eski orta hat insizyonundan batına girildi ve insizyon toraks boşluğuna kadar uzatıldı. İliak bifurkasyon hizasından abdominal aortadan, enjektör yardımıyla kanülide edilip her rattan 5-10 cc arası kan alındı. Alınan kanlar pıhtılaşma aktivatörü ve seperatörü özelliğine sahip jel içeren sarı kapaklı biyokimya tüplerine aktarıldı.



Şekil 3.2. Abdominal aortadan kan örneklerinin alınması

Kan örneklerinin alımını takiben, superior vena cava (SVC) kesildi. Kalp ortaya konup sol ventrikülden yerleştirilen branül ile aorta kanülide edildi. Yaklaşık 20 cc %0,9'luk sodyum klorür içeren serum fizyolojik (SF) ile perfüzyon sağlandı. Takiben aynı hacimde %4 PFA solüsyonu ile perfüzyon işlemi gerçekleştirilerek dokular tespit edildi. Total karaciğerler (K ve S grubu) ve kalan karaciğerler (diğer gruplar) rezeke edilip tartıldı. Alınan karaciğer dokuları histolojik inceleme ve immünohistokimyasal inceleme için %4 PFA solüsyonu içerisinde daldırıldı. 1 saat sonra küçük parçalara trimlenerek doku kasetleri içerisinde alındı ve PFA içerisinde tutulmaya devam edildi. 1 gün PFA'da diffüzyon ile fikse edilen dokular sonrasında 1 gece akar su altında bekletilip oda ısısında %70 ethanol solüsyonuna alındı ve sonrasında 1'er gün artan ethanol serilerinden geçirilerek dokunun tüm

hücrelerinden yavaş yavaş suyun çıkarılarak yerine etanolün difüzyon ile geçmesi sağlandı. Sonrasında 3 ayrı ksilol ile 2'şer dakika şeffaflaştırılarak etanol ve ksilol solüsyonlarının yer değiştirilmesi sağlandı ve 60 derecede eritilmiş parafin solüsyonuna hızlıca alındı. 3 ayrı erimiş temiz parafin solüsyonlarında 1'er saat tutulan dokular en sonunda parafin içerisinde lokasyonları organize edilerek oda ısısına alındı ve katı formda bloklandı. Parafin takipleri yapılan karaciğer dokusunun gömülü olduğu parafin bloklardan 5 mikrometrelik (μm) kesitler pozitif şarjlı lamlara alınarak histolojik ve immünohistokimyasal inceleme için slayt saklama kaplarında oda ısısında saklandı.

3.7. Hematoksilen & Eosin Boyama ve Histopatolojik İnceleme

5 μm kalınlığındaki slaytlara alınmış olan parafin kesitler boyama öncesi 1 gece boyunca 37°C'de etüvde tutuldu. Deparafinizasyon için parafin kesitler oda ısısında 2 defa 10'ar dakika ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinin her birinde 5'er dakika (%100, %90, %80, %70) bekletildi. Takiben distile su ile 5 dakika muamele edildi. Hematoksilen'de 1.5 dk bekletilerek mor renkli çekirdek boyanması gerçekleştirildi ve boyanın fazlası çeşme suyu ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra eozin'de 1-2 saniye bekletilerek hücre sitoplazmasının pembe rengi sağlandı ve boyanın fazlası çeşme suyu ile yıkandı. Boyanma aralarında her bir slaytın boyanması ışık mikroskobu ile kontrol edildi. Takiben %70 etanolden başlayarak derecesi giderek artan etanol serilerinin her birinden (%70, %80, %90) hızlıca geçirildi ve %100 etanol içerisinde 5 dakika bekletildi. Sonrasında 2 defa 10'ar dakika ksilolden geçirildi ve boyanan slaytlar Entellan (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılarak lamel ile kapatmaları yapıldı. Hematoksilen&Eosin (H&E) ile boyanan slaytların daha sonra histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Değerlendirme sırasında ZEN 2.5 lite (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Münih, Almanya) yazılımı (blue edition-version 2.5.75.0) ve bir Zeiss Primo Star ışık mikroskobu (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Almanya) kullanılarak slaytların fotomikrografisi çekildi. Fotoğraflar için tercih edilen objektif lens büyütmesi 40X/0.65 (Zeiss, Plan-ACHROMAT) ve 10X/0.25 idi. Görüntüler %90 yoğunlukta ve 9,5 milisaniye pozlamayla elde edildi.

3.8. İmmünohistokimyasal İnceleme

Karaciğer kesitlerinde rejenerasyonu göstermek için Ki-67, STAT ve fosforile STAT3 (pSTAT3) protein immunlokalizasyonlarına bakıldı. Bunun için Superfrost plus lamlara alınan 5 µm kalınlığındaki parafin kesitler 4 saat boyunca 56°C'de etüvde tutuldu. Deparafinizasyon için parafin kesitler 2 defa 10'ar dakika ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinin her birinde 5'er dakika (%100, %90, %80, %70) bekletildi. Takiben distile su ile 5 dakika muamele edildi. Dokudaki antijenik maskelenmenin ortadan kaldırılması için kesitler, STAT3 antikoru için 200 ml sitrat tamponu (pH:6.0; 1000 ml distile suda 3,57 gr sodyum sitrat (10 mM)) içine ve Ki-67 ile pSTAT3 antikoları için pH:9'da önceden ısıtılmış Tris-EDTA tamponu içerisine alındı ve mikrodalga fırında (750 watt) 5 dakika tutuldu. Ardından aynı solüsyonların içerisinde slaytlara 25 dakika buhar kaynatması yapıldı. Bu işlemten sonra her antikor için boyama yapılan slaytlar sodyum sitrat ve Tris-EDTA tamponları içerisinde 20 dakika boyunca oda ısısında bekletildiler. 20 dakikanın sonunda distile su içerisine alındılar. Dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildikten sonra 3 defa 5'er dakika fosfat tamponlu salin'den (FTS) geçirildi. Bir sonraki basamakta dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini doyumak için kesitler 10 dakika boyunca BLOXALL (Vector, SP-6000, Vector Labs, Newark, CA, Amerika) ile muamele edildi. Kesitler 3 defa 5'er dakika FTS'de yıkandıktan sonra dokulardaki özgül olmayan antikor bağlanmasını önlemek amacıyla oda sıcaklığında sekonder antikorun elde edildiği hayvan türünün serumundan oluşan bloklama solüsyonu olan %5 *normal goat serum* (NGS) (Vector, S-1000, Vector Labs, Newark, CA, Amerika) ile 30 dakika muamele edildi. Hemen sonrasında, serum kesitler üzerinden uzaklaştırılacak ve dokular *Rabbit anti Ki-67* (Thermo Fischer Scientific, PA5-19462, Waltham, Massachusetts, Amerika), *Rabbit anti STAT* (Cell Signalling, 9139, Danvers, Massachusetts, ABD) ve *Rabbit anti Phospho-STAT* (Cell Signalling, 9145, Danvers, Massachusetts, ABD) ile +4°C'de gece boyu inkübe edildiler. İzotip kontrol olarak primer antikor ile aynı türden rabbit immünoglobülin G (IgG) (Vector, I-1000, Vector Labs, Newark, CA, Amerika) uygulandı. Kesitler primer antikorlar ile inkübasyondan sonra, 3 defa 5'er dakika FTS ile yıkandı. Daha sonra kesitler, Phospho-stat ve Ki67 antikoları için biyotinle işaretlenmiş *Goat anti*

rabbit sekonder antikoru (Vector, BA-1000) ile 30 dakika ve avidin kompleks (VECTASTAIN Elite ABC Reagent, Vector, PK-6100) ile 30 dakika inkübe edildiler. STAT3 antikoru için *Signal Stain (R) Boost IHC detection reagent HRP, Mouse* (Cell Signalling, 8125S) 30 dakika uygulandı. Her iki uygulama sonrasında da FTS ile tüm gruplara 3 defa 5'er dakika yıkama yapıldı. Sekonder antikor ile birleştirilmiş peroksidaz enzimi için substrat olan P-diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB) kromojeni (SK-4100) ile dokular 4 dakika muamele edildi. Enzim substrat etkileşimi sonucunda oluşan ürün renk olarak mikroskopta gözlemlendi. Mayer'in hematoksileni (Vector H-3404, Vector Labs) ile 5-6 saniye zıt boyama yapılarak akar musluk suyunda yıkandı. Daha sonra kesitler distile suya alınıp derecesi giderek artan alkol serilerinden hızlıca (%70, %80, %90) geçirildi ve %100 alkolde 5 dakika bekletildikten sonra 2 defa 10'ar dakika ksilolden geçirilip slaytlar Entellan ile kapatıldı. Fotomikrograflar, Zeiss Primo Star ışık mikroskopunda (Zeiss) ZEN 2.5 lite yazılımıyla çekildi. %90 yoğunluk ve 9,5 milisaniye pozlamada elde edilen görüntüler için tercih edilen objektif lens büyütmesi 40X/0,65 (Zeiss) idi.

3.9. Kan Örneklerinin Çalışılması

Alınan kan örnekleri 2500 rpm ve 10 dakikada santrifüj edildi. Santrifüj edilen kanlardan toplanan serum örnekleri mikropipetler ile 0.5 cc çekilerek biyokimyasal incelemenin yapılacağı cihaza uygun tüplere aktarıldı. Biyokimyasal değerlendirme için DRI-CHEM NX500i (Fujifilm, Tokyo, Japonya) otomatik kuru kimya analizörü ve DRI-CHEM SLIDES (Fujifilm, Tokyo, Japonya) kolorimetrik ölçüm slaytları kullanıldı. Alınan örneklerde ALT, AST, total ve direkt bilirubin çalışıldı.

3.10. Analiz ve İstatistiksel Değerlendirme

Boyanma yoğunluklarını *ImageJ Fiji* görüntü analiz programıyla sayısal verilere dönüştürüldükten sonra *GraphPad Prism 10* (GraphPad, sürüm 10; Boston, MA, Amerika) veri analiz yazılımına aktarıldı. İki gruptan gelen verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek için Kolmogorov-Smirnov Testi

kullanıldı. Gruplar arasındaki ortalamalar arasındaki farklar normal dağılım gösteren veriler için ağırlık parametreleri, biyokimyasal parametreler, Ki67 ve STAT3 immünohistokimyasal veriler için One Way ANOVA testi kullanıldı. Ardından ikili karşılaştırmalar için Ki67’de *post hoc* Holm-Sidak testi ve ağırlık parametreleri, biyokimyasal parametreler, STAT3 ekspresyon analizi için *post hoc* Tukey testi kullanıldı. $p<0,05$ olan veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar Ortalama $\pm$ Ortalamanın Standart Hatası (SEM) olarak sunuldu.

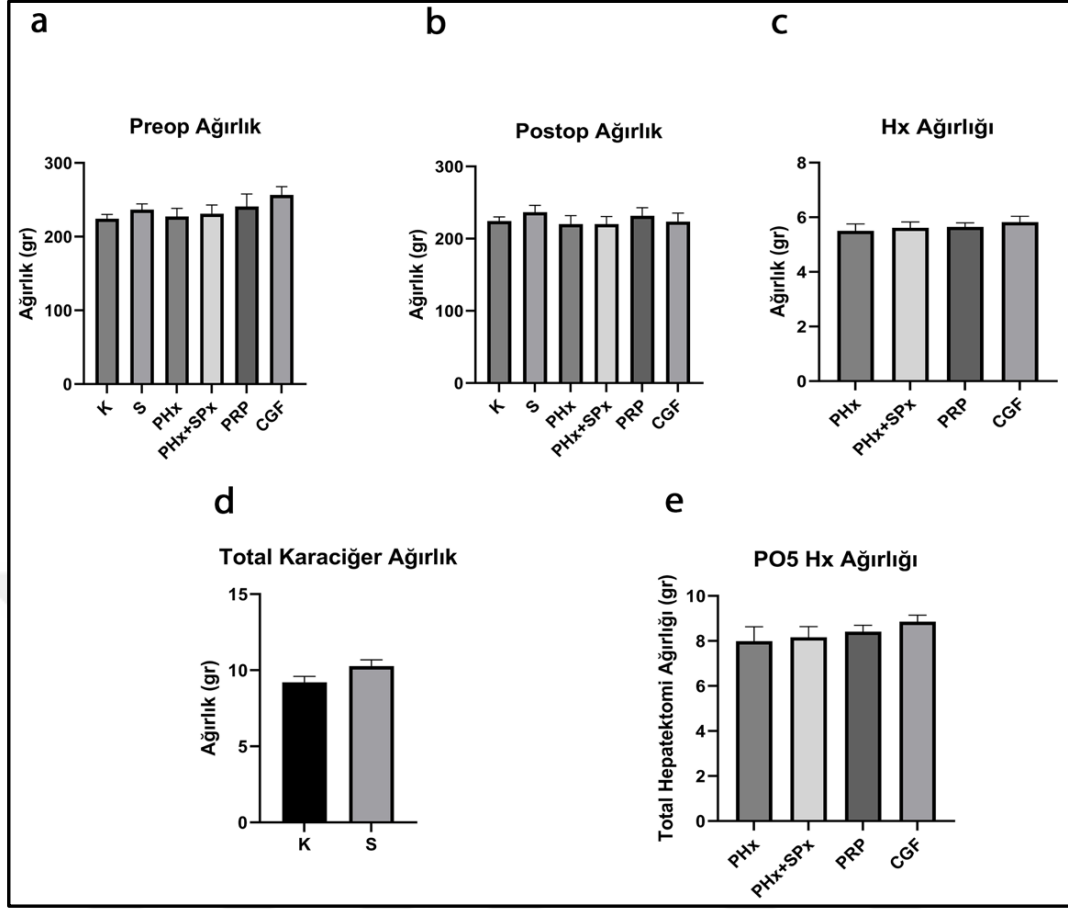


4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanı ve Karaciğer Ağırlıkları

Çalışmada yer alan deney hayvanları 200 gr ile 300 gr arasındaydı. Preoperatif değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ağırlık farkı ($p=0.35$) izlenmedi. Deney protokolü sonrası postoperatif 5. günde (PO5) ratların ağırlıkları 160-275 gr arası değişmekteydi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ağırlık farkı ($p=0.71$) bulunmamaktaydı.

Kontrol grubunda total karaciğer ağırlıkları 7.4 gr – 10.2 gr (ortalama 9.2 gr) ve S grubunda total karaciğer ağırlıkları 9.2 gr – 11.9 gr (ortalama 10.2 gr) arasında değişmekteydi. Hepatektomi uygulanan deney gruplarında ise rezeke edilen karaciğer ağırlıkları 4.5 gr ve 6.8 gr arasındaydı. Rezeke edilen karaciğer ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlılık ($p=0.68$) bulunmamaktaydı. Hepatektomi uygulanan gruplarda (PHx, PHx+SPx, PRP ve CGF) PO5’de tamamı rezeke edilen karaciğerlerin ağırlıkları 5.6 gr ve 10.3 gr arasında olup aralarında istatistiksel anlamlılık ($p=0.44$) izlenmedi.



Şekil 4.1. Deney hayvanları ve karaciğerlere ait ağırlık verileri: **a)** Tüm hayvanların deneyler öncesi ağırlık değerleri; **b)** Postoperatif 5. gündeki ağırlıklar (K grubu için preop ağırlık değeriyle aynı) değerleri; **c)** %70 hepatektomi yapılan ratlarda rezeke edilen karaciğerlerin ağırlığı; **d)** K ve S gruplarındaki total hepatektomi ağırlıkları; **e)** Postoperatif 5. gündeki kalan karaciğerlerin ağırlığı. Gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamaktadır.

4.2. Hematoksilen & Eosin ile Histopatolojik Değerlendirme

Deney modelinde, karaciğer, çeşitli morfolojik ve hücresel değişiklikler açısından değerlendirildi. K ve S gruplarında hepatositler olması gerektiği gibi poligonal (çokgen) şekilli ve hücre boyutları nispeten homojen görünümdeydi. Hepatositlerin ortalarında yer alan büyük, yuvarlak veya oval çekirdekleri açıkça belirgin nükleusları mevcuttu. Sitoplazmaları eozinofilik (pembe) renkte ve granüler bir görünüme sahipti. Bazı bölgelerde glikojen veya yağ vakuollerinin neden olduğu hafif boşluklanmalar izlendi. Safra pigmentleri ve safra tıkaçlarına rastlanmadı.

Hepatektomi grubunda, karaciğer dokusunda çift nükleuslu hücreler yoğun olarak izlendi ve bu, kalan hücrelerin çoğalarak ve rejenerasyon ile kendini yenilediğinin bir işaretiydi. Mitoz bölünme figürleri görüntülerde tespit edildi. Rejenerasyon sürecine bağlı hepatositlerde büyüklük ve şekil değişiklikleri mevcuttu. Hücreler K ve S grubuna göre daha büyük ve düzensiz şekillerdeydi. Hepatositlerde yer yer şişme, vakuolizasyon ve bağ dokusu birikim alanları gözlemlendi. Portal alanlarda ve lobüler bölgelerde mononükleer hücre infiltrasyonu, özellikle makrofajlar ve lenfositlerin varlığı mevcuttu. Mikrosirkülasyonun bozulduğunun göstergesi olarak sinüzoidlerde sinüzoidal genişlemeler izlendi. Perisinüzoidal fibrozis ve skar dokusu oluşumu yaygın olmasa da mevcuttu. Endotel hücre incilmesi ve kapillerizasyon gibi mikrovasküler değişiklikler yer yer izlendi. Hepatositlerde nükleer atipiler ve karyomegali (nükleus büyümesi) gibi değişiklikler görüldü. Safra akışının devamlılığını sağlamak için yanıt olarak safra kanallarında proliferasyon izlendi.

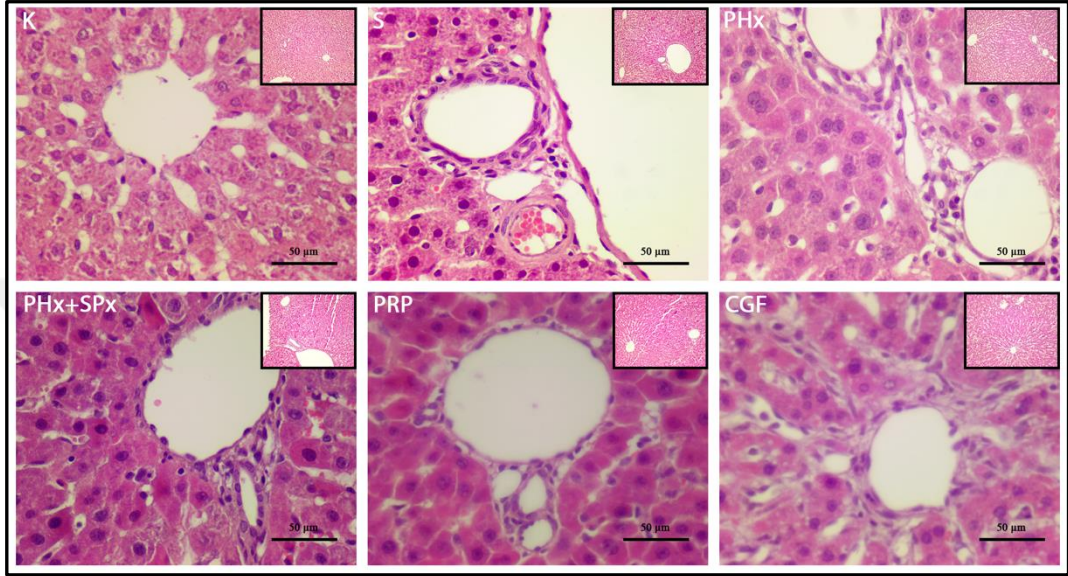
Hepatektomi+Splenektomi grubunda karaciğerlerin histopatolojik incelemesinde, artan mitoz figürler ve çift çekirdekli hepatositlerin varlığı izlendi. Hücreler kısmen homojen bir büyüklük ve şekil almıştı. Hepatositlerin sitoplazmasında vakuolizasyon yer yer mevcuttu. Sitoplazma daha homojen ve yer yer eozinofilik renkteydi. Ayrıca diğer gruplara göre artmış lenfoid hücrelerin varlığı dikkat çekti. Bu duruma splenektominin neden olduğu düşünülmüştür. Kupffer hücreleri de sayıca fazlaydı. Yer yer karaciğer sinüzoidlerinde genişleme görüldü. Bu durumun, artan kan akışı ve makrofaj aktivitesine bağlı olabileceği öngörüldü. Sinüzoidler düzenli bir yapıya sahipti. Bazı bölgelerde küçük fibrotik

alanlar mevcuttu. Fibrozis, karaciğerin artan iş yüküne bağlı olarak portal alanlarda veya periportal bölgelerde daha sık görüldü. Hücre sitoplazmalarında büyük yağ vakuollerinin oluşmasıyla karakterize yağ birikimi (steatoz) görülmedi.

Hepatektomi+PRP grubunda, hepatositlerin proliferasyonunun ve mitoz figürlerinin arttığı görüldü. Çift çekirdekli hepatositlerin sayısında artış, hücrelerin rejeneratif yanıtının bir göstergesi olarak dikkat çekti. Hepatositlerin büyüklüğünde ve şeklinde homojenlik mevcuttu. Hücreler daha düzenli ve sağlıklı bir morfolojiye sahipti. Hücrelerin boyutlarında belirgin bir artış izlendi bu da artan hücre aktivitesinin bir göstergesi olarak değerlendirildi. Ayrıca PHx grubuna göre hepatektomiye bağlı izlenen hücresel hasar göstergelerinden hepatositlerde şişme ve vakuolizasyon, perisinüzoidal fibrozis ve skar dokusunda göreceli iyileşme olduğu görüldü. Sağlıklı hücre fonksiyonunun göstergesi olarak sitoplazma daha homojen ve eozinofilik renkteydi. Mononükleer hücre sayısında ve kapillerizasyonda azalma da eşlik etmekteydi. Lifsel içerik artmış ve daha sıkı bir hücre mimarisi izlendi. Bunlarla birlikte apoptotik, nekrotik hücre sayısı daha azalmış olarak değerlendirildi. Ayrıca fibrozis izlenmedi ve sinüzoidler daha düzenli bir yapıya sahipti.

Hepatektomi+CGF grubunun histopatolojik değerlendirmesinde, hepatosit proliferasyonu artışına işaret eden mitotik figürler ve hücrelerin rejeneratif yanıtını gösteren çift çekirdekli hepatositlerin artışı, PHx grubuna göre fazla, PRP grubuna göre ise daha az oranda izlendi. Hücreler diğer tüm gruplara göre daha düzenli ve sağlıklı bir görünüme sahipti. Hepatositler homojen boyut ve şekilde olması beklenmesine rağmen homojenite göstermedi. Hepatositlerin sitoplazmasında vakuolizasyonun azaldığı, sitoplazmalarının daha homojen ve eozinofilik renkte olduğu dikkat çekti. Ayrıca sinüzoidal genişleme de dikkat çekmekteydi. Diğer gruplardan daha belirgin olarak hepatositlerde ve immün hücrelerde proliferasyon artışı izlendi ve genel olarak hücre boyutları sağlıklı karaciğer hücrelerinde olması gereken boyutlara yakın olarak değerlendirildi. Özellikle Kupffer hücre sayısında artış çok belirgindi. Ayrıca gözlenen alanlarda yeni vasküler oluşumların artışı dikkat çekiciydi ve bu vaskülerler diğer tüm gruplardakilere kıyasla daha genişti. Bununla birlikte vaskülerlerin morfolojisi düzgündü. Görülen bu neovaskülerizasyon özellikle portal triad alanlarında daha fazla idi. PRP grubu ile

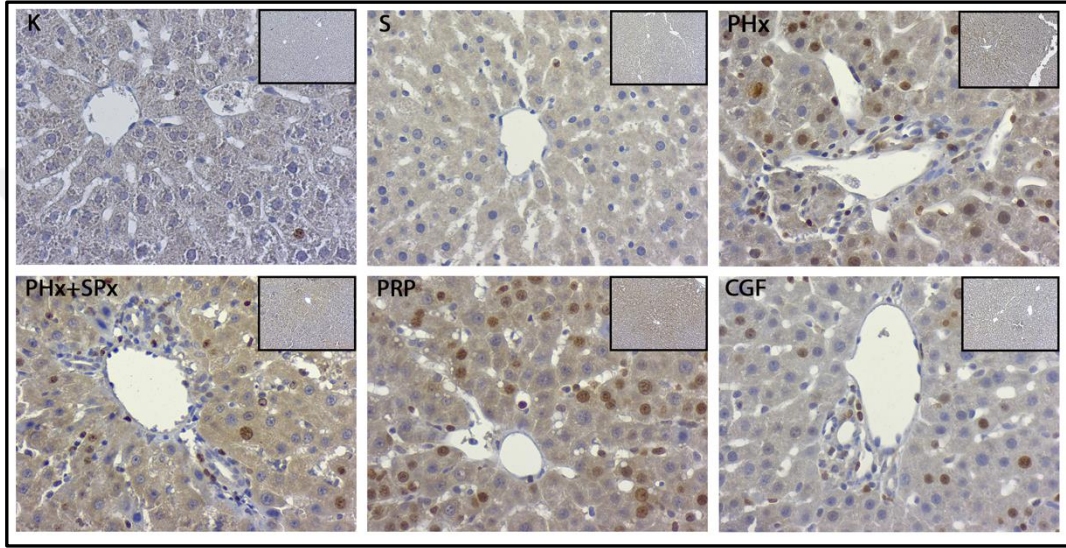
kıyaslandığında, PRP grubunda hepatositlerde ve nükleuslarında büyüme daha belirgindi ve hücresel içerik artmıştı. Ayrıca belirgin immün hücre artışı yoktu. Bununla birlikte CGF grubunda neovaskülerizasyon daha baskındı ve vasküler çapları belirgin daha büyüktü ve sinüzoidlerde de genişleme mevcuttu.



Şekil 4.2. Hematoksilen & Eosin ile değerlendirme

4.3. Ki-67 ile İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal boyanmalarımız neticesinde proliferasyon işaretleyicisi olan Ki-67 sonuçlarımız tüm gruplarda nükleer boyanma gösterdi. Boyanma sonuçları kendi içerisinde hem gözlemsel olarak hem istatistiksel olarak belirgin değişimler içeriyordu. K ve S gruplarında ağılıkta lenfoid hücrelerde yer yer az miktarda hepatositlerde Ki67 ekspresyonu izlendi.



Şekil 4.3. Ki-67 ekspresyonunun değerlendirilmesi

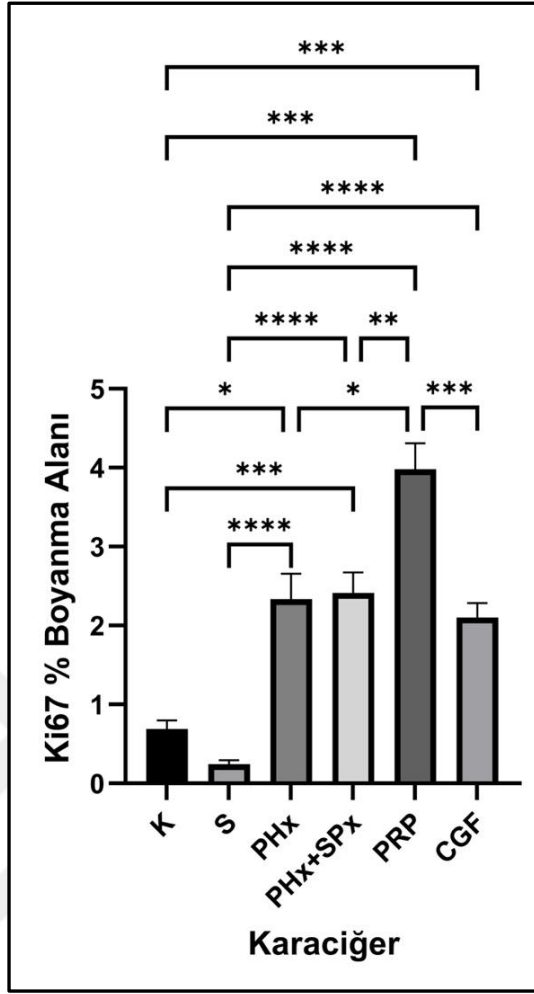
Hepatektomi grubun da Ki-67 büyük oranda Kupffer hücrelerinde az miktarda da hepatositlerde boyandı. Boyanan hepatositlerin daha çok farklı damar alanlarına komşu oldukları dikkat çekti. PHx grubunda Ki-67 ekspresyonu, K grubuna göre ($p=0,0115$) ve S grubuna göre ($p<0,0001$) fazlayken, PRP uygulanan gruba ($p=0,0133$) göre anlamlı olarak daha azdı. PHx+SPx grubunda artan lenfoid hücrelerin belirgin bir kısmında ve az miktarda hepatositte ekspresyon izlendi. Kupffer hücrelerinde ise ekspresyona rastlanmadı. PRP grubunda belirgin olarak hepatositlerde Ki-67 ekspresyonunda artış dikkat çekti. Özellikle santral venin çevresindeki ışınal diziliimli hepatositlerde belirgin ekspresyon izlendi. Perivasküler bölgede ağırlıklı izlenen lenfoid hücrelerde ve sünizoidlerde bulunan Kupffer hücrelerinde de artmış Ki-67 ekspresyonu mevcuttu. Gruplar arasında en

yüksek Ki-67 ekspresyonu PRP grubunda izlendi. CGF grubunda ise hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde ve bazı lenfoid hücrelerde ekspresyon izlendi.

CGF ve PHx+SPx grupları Ki-67 proliferasyon belirteci açısından PHx grubuna göre bir değişim göstermedi. PHx+ SPx grubunda Ki-67 ekspresyonu K grubuna göre ($p=0,0001$) ve S grubuna göre ($p<0,0001$) fazlayken, PRP grubuna göre daha azdı ($p=0,002$). CGF grubunda ekspresyon, K ($p<0,0003$) ve S ($p<0,0001$) grubuna göre anlamlı olarak fazlayken, PRP grubuna göre daha azdı ($p=0,0002$).

Çizelge 4.1. Ki-67 ekspresyonu için istatistiksel değerler

Holm-Šidák's multiple comparisons test	Mean Diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
K vs. S	0,4447	Yes	**	0,0022
K vs. PHx	-1,647	Yes	*	0,0115
K vs. PHx+SPx	-1,726	Yes	***	0,0001
K vs. PRP	-3,293	Yes	***	0,0001
K vs. CGF	-1,415	Yes	***	0,0003
S vs. PHx	-2,092	Yes	****	<0,0001
S vs. PHx+SPx	-2,171	Yes	****	<0,0001
S vs. PRP	-3,738	Yes	****	<0,0001
S vs. CGF	-1,860	Yes	****	<0,0001
PHx vs. PHx+SPx	-0,07883	No	ns	0,8630
PHx vs. PRP	-1,646	Yes	*	0,0133
PHx vs. CGF	0,2322	No	ns	0,7969
PHx+SPx vs. PRP	-1,567	Yes	**	0,0023
PHx+SPx vs. CGF	0,3111	No	ns	0,7743
PRP vs. CGF	1,878	Yes	***	0,0002

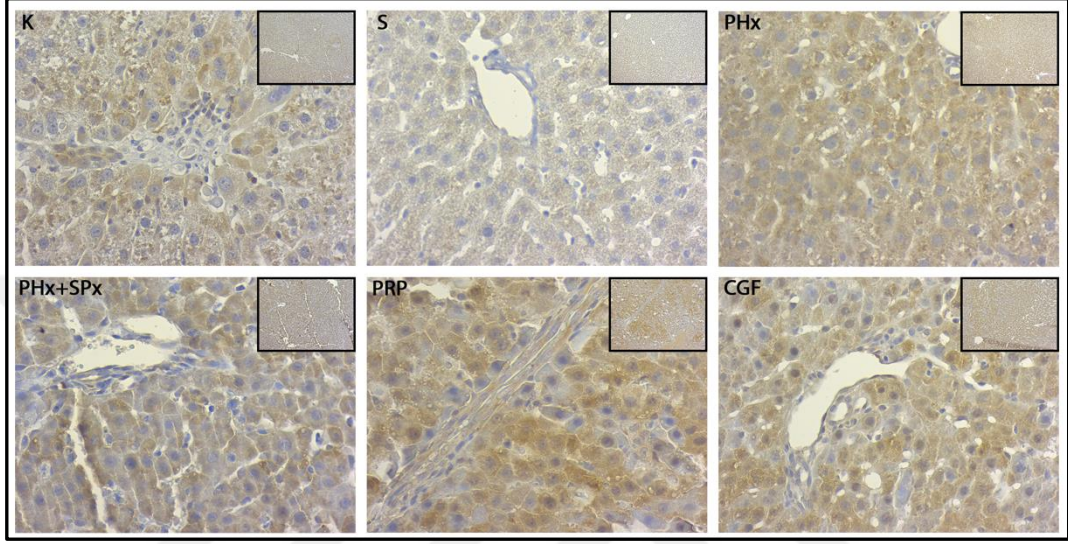


Şekil 4.4. Grafik, Ki-67 boyanan alanları yüzdesel olarak ifade etmektedir.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ anlamına gelmektedir.

4.4. STAT3 ile İmmünohistokimyasal Değerlendirme

STAT3 immünohistokimyasal boyanmalar sonucunda STAT3 boyanması tüm gruplarda ağırlıklı olarak hepatositler ve safra kanalı epitelinde sitoplazmik olarak izlendi.

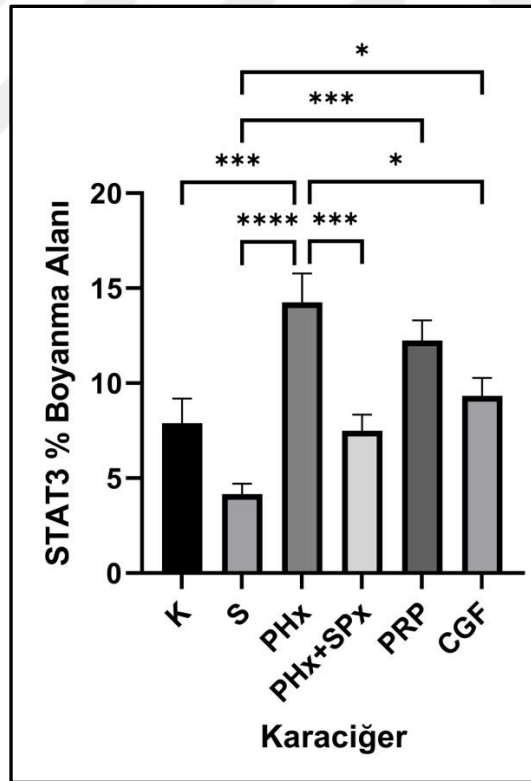


Şekil 4.5. STAT3 ekspresyonunun değerlendirilmesi

Analizlerimiz sonucunda en yüksek STAT3 ekspresyonu PHx grubunda bulundu. PHx grubunda STAT3 ekspresyonu, K ($p=0,0006$), S ($p<0,0001$), PHx+SPx ($P<0,0004$) ve CGF ($P<0,04$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi. CGF ($p=0,04$) ve PRP ($p=0,0001$) grupları, S grubuna göre ekspresyonda anlamlı olarak artış gösterdiler.

Çizelge 4.2. STAT3 ekspresyonu için istatistiksel değerler

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
K vs. S	3,726	-0,8528 to 8,305	No	ns	0,1804
K vs. PHx	-6,373	-10,73 to -2,019	Yes	***	0,0006
K vs. PHx+SPx	0,4034	-3,951 to 4,758	No	ns	0,9998
K vs. PRP	-4,348	-9,070 to 0,3752	No	ns	0,0899
K vs. CGF	-1,442	-6,165 to 3,281	No	ns	0,9498
S vs. PHx	-10,10	-14,80 to -5,400	Yes	****	<0,0001
S vs. PHx+SPx	-3,323	-8,022 to 1,376	No	ns	0,3224
S vs. PRP	-8,074	-13,12 to -3,031	Yes	***	0,0001
S vs. CGF	-5,168	-10,21 to -0,1253	Yes	*	0,0411
PHx vs. PHx+SPx	6,776	2,296 to 11,26	Yes	***	0,0004
PHx vs. PRP	2,025	-2,814 to 6,865	No	ns	0,8306
PHx vs. CGF	4,931	0,09183 to 9,771	Yes	*	0,0431
PHx+SPx vs. PRP	-4,751	-9,590 to 0,08833	No	ns	0,0575
PHx+SPx vs. CGF	-1,845	-6,685 to 2,994	No	ns	0,8791
PRP vs. CGF	2,906	-2,268 to 8,079	No	ns	0,5832

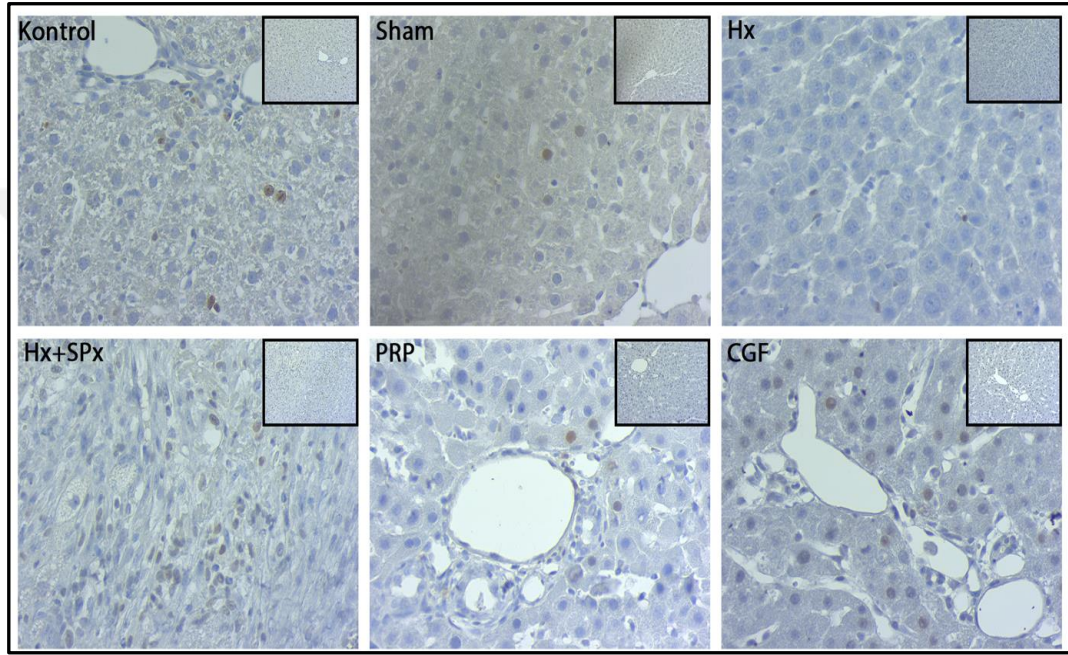


Şekil 4.6. Grafik, STAT3 boyanan alanları yüzdesel olarak ifade etmektedir

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001 anlamına gelmektedir.

4.5. pSTAT3 ile İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Karaciğerde metabolik süreçlerin, hücre büyümesinin ve farklılaşmasının düzenlenmesi için kritik olabileceğini öngördüğümüz pSTAT3 immunlokalizasyonunun K, S, PRP ve CGF gruplarında daha belirgin hepatositlerde izlenirken PHx grubunda Kupffer hücrelerinde PHx+SPx grubunda ise immün hücrelerde lokalize olduğu dikkat çekti.



Şekil 4.7. pSTAT3 ekspresyonunun değerlendirilmesi

4.6. Biyokimyasal Değerlendirme

Tüm gruplarda biyokimyasal parametre olarak ALT, AST, total ve direkt bilirubin çalışıldı.

Çizelge 4.3. Biyokimyasal analizlerin ortalama±standart sapma değerleri

GRUPLAR	ALT	AST	D.BİL	T.BİL
K	41±5.83	80±9.04	0.11±0.03	0.4±0.17
S	40.8±9.8	82.6±25.14	0.11±0.03	0.41±0.13
PHx	75±13.8	140±8.7	0.53±0.19	1.6±0.34
PHx+SPx	74±17.9	141.3±24.29	0.48±0.1	1.8±0.5
PRP	55.7±12.24	114.2±37.42	0.1±0	0.43±0.2
CGF	60.7±14.9	110.6±22.69	0.11±0.03	0.43±0.1

ALT değerleri, PHx ve CGF gruplarında K ve grubuna göre istatistiksel yüksek izlendi. Ayrıca PHx, PHx+SPx ve CGF grupları S grubuna göre anlamlı derecede yükseklik gösterdi.

Çizelge 4.4. ALT için istatistiksel veriler

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
K vs. S	0,1667	-24,52 to 24,86	No	ns	>0,9999
K vs. PHx	-34,00	-58,38 to -9,618	Yes	*	0,0129
K vs. PHx+SPx	-33,00	-74,75 to 8,754	No	ns	0,1156
K vs. PRP	-14,67	-44,54 to 15,21	No	ns	0,4096
K vs. CGF	-19,75	-39,32 to -0,1757	Yes	*	0,0483
S vs. PHx	-34,17	-65,73 to -2,599	Yes	*	0,0368
S vs. PHx+SPx	-33,17	-61,60 to -4,733	Yes	*	0,0272
S vs. PRP	-14,83	-45,50 to 15,84	No	ns	0,4218
S vs. CGF	-19,92	-35,71 to -4,127	Yes	*	0,0197
PHx vs. PHx+SPx	1,000	-41,04 to 43,04	No	ns	>0,9999
PHx vs. PRP	19,33	-14,05 to 52,72	No	ns	0,2839
PHx vs. CGF	14,25	-8,741 to 37,24	No	ns	0,2386
PHx+SPx vs. PRP	18,33	-21,15 to 57,81	No	ns	0,4552
PHx+SPx vs. CGF	13,25	-25,55 to 52,05	No	ns	0,7011
PRP vs. CGF	-5,083	-32,08 to 21,91	No	ns	0,9549

AST değerlendirmesinde en yüksek değerler PHx ve PHx+SPx gruplarında izlendi. Bu değerler PHx grubu için K ve S gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksekti. PHx+SPx grubunda izlenen değer ise K grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek izlendi. PRP ve CGF gruplarının değerleri K ve S gruplarına yüksek, PHx ve PHx+SPx gruplarına göre düşük olmakla beraber değerler anlamlı fark göstermedi.

Çizelge 4.5. AST için istatistiksel veriler

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
K vs. S	-2,667	-64,29 to 58,95	No	ns	>0,9999
K vs. PHx	-60,00	-88,85 to -31,15	Yes	**	0,0021
K vs. PHx+SPx	-61,33	-105,7 to -16,95	Yes	*	0,0134
K vs. PRP	-34,17	-97,71 to 29,38	No	ns	0,3380
K vs. CGF	-30,63	-78,97 to 17,72	No	ns	0,2250
S vs. PHx	-57,33	-110,8 to -3,840	Yes	*	0,0382
S vs. PHx+SPx	-58,67	-125,7 to 8,365	No	ns	0,0816
S vs. PRP	-31,50	-112,4 to 49,36	No	ns	0,6004
S vs. CGF	-27,96	-65,43 to 9,517	No	ns	0,1392
PHx vs. PHx+SPx	-1,333	-52,07 to 49,40	No	ns	>0,9999
PHx vs. PRP	25,83	-59,02 to 110,7	No	ns	0,7773
PHx vs. CGF	29,38	-9,262 to 68,01	No	ns	0,1311
PHx+SPx vs. PRP	27,17	-28,53 to 82,87	No	ns	0,4149
PHx+SPx vs. CGF	30,71	-22,04 to 83,46	No	ns	0,2802
PRP vs. CGF	3,542	-76,29 to 83,37	No	ns	>0,9999

Direkt Bilirubin değerleri incelendiğinde, en yüksek değerler PHx ve PHx+SPx grubunda izlendi. Bu iki grubun değerler, diğer gruplara göre (K, S, PRP, CGF) anlamlıydı. PRP ve CGF ile K ve S grupları karşılaştırıldığında anlamlı farklılık izlenmedi.

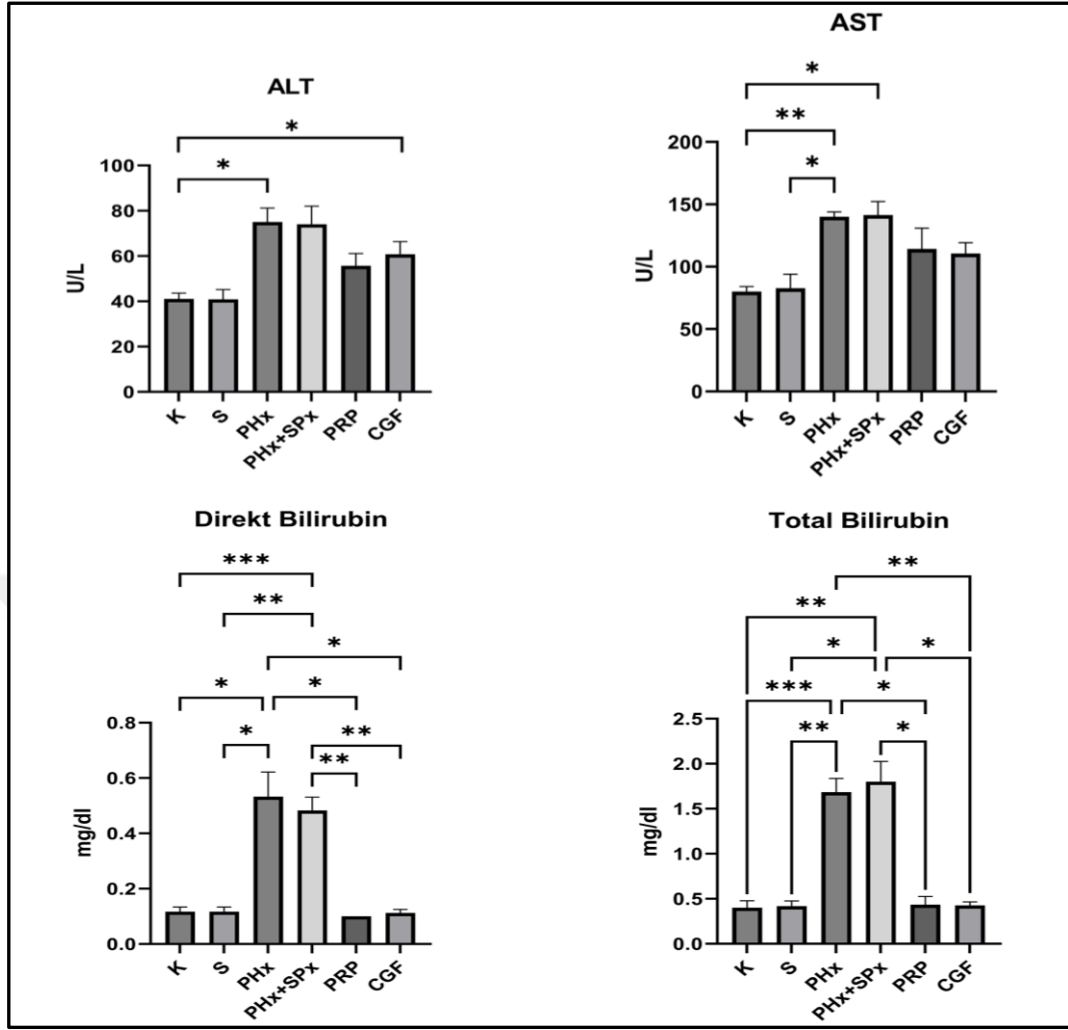
Çizelge 4.6. Direkt bilirubin için istatistiksel değerler

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
K vs. S	0,000	-0,1101 to 0,1101	No	ns	>0,9999
K vs. PHx	-0,4167	-0,8048 to -0,02854	Yes	*	0,0380
K vs. PHx+SPx	-0,3667	-0,5089 to -0,2245	Yes	***	0,0008
K vs. PRP	0,01667	-0,05443 to 0,08777	No	ns	0,9001
K vs. CGF	0,004167	-0,09913 to 0,1075	No	ns	>0,9999
S vs. PHx	-0,4167	-0,8201 to -0,01322	Yes	*	0,0442
S vs. PHx+SPx	-0,3667	-0,6046 to -0,1287	Yes	**	0,0083
S vs. PRP	0,01667	-0,05443 to 0,08777	No	ns	0,9001
S vs. CGF	0,004167	-0,09913 to 0,1075	No	ns	>0,9999
PHx vs. PHx+SPx	0,05000	-0,3584 to 0,4584	No	ns	0,9926
PHx vs. PRP	0,4333	0,05712 to 0,8096	Yes	*	0,0287
PHx vs. CGF	0,4208	0,08822 to 0,7534	Yes	*	0,0195
PHx+SPx vs. PRP	0,3833	0,1797 to 0,5869	Yes	**	0,0034
PHx+SPx vs. CGF	0,3708	0,1734 to 0,5683	Yes	**	0,0034
PRP vs. CGF	-0,01250	-0,07942 to 0,05442	No	ns	0,9563

Total Bilirubin için en yüksek değerler PHx ve PHx+SPx gruplarında izlendi. Bu değerler, diğer bütün gruplara göre anlamlı derecede yüksekti. PRP ve CGF gruplarında ise K ve S gruplarına göre anlamlılık saptanmadı.

Çizelge 4.7. Total bilirubin için istatistiksel değerler

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
K vs. S	-0,01667	-0,4491 to 0,4158	No	ns	>0,9999
K vs. PHx	-1,283	-1,743 to -0,8237	Yes	***	0,0005
K vs. PHx+SPx	-1,400	-2,202 to -0,5981	Yes	**	0,0047
K vs. PRP	-0,03333	-0,6629 to 0,5962	No	ns	0,9999
K vs. CGF	-0,02500	-0,4459 to 0,3959	No	ns	0,9998
S vs. PHx	-1,267	-1,960 to -0,5730	Yes	**	0,0039
S vs. PHx+SPx	-1,383	-2,413 to -0,3535	Yes	*	0,0151
S vs. PRP	-0,01667	-0,4491 to 0,4158	No	ns	>0,9999
S vs. CGF	-0,008333	-0,4261 to 0,4094	No	ns	>0,9999
PHx vs. PHx+SPx	-0,1167	-0,5894 to 0,3560	No	ns	0,8814
PHx vs. PRP	1,250	0,2360 to 2,264	Yes	*	0,0217
PHx vs. CGF	1,258	0,4820 to 2,035	Yes	**	0,0066
PHx+SPx vs. PRP	1,367	0,09800 to 2,635	Yes	*	0,0375
PHx+SPx vs. CGF	1,375	0,3208 to 2,429	Yes	*	0,0171
PRP vs. CGF	0,008333	-0,3337 to 0,3504	No	ns	>0,9999



Şekil 4.8. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, **** $p<0.0001$ anlamına gelmektedir)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği, karaciğer rezeksiyonu sonrası ciddi bir komplikasyondur ve ameliyat sonrası mortalitenin en büyük nedenidir (147). Tanım olarak ise, PO 5. gün veya sonrasında artmış INR ve eşlik eden hiperbilirubinemi ile birlikte, karaciğerin sentez, ekstraksiyon ve detoksifikasyon fonksiyonlarını sürdürme yeteneğinde postoperatif olarak edinilmiş bir bozulma olarak ifade edilmektedir (45). Artan mortaliteye ek olarak, Evre A PHKY bile daha fazla komplikasyon anlamına gelir ve Evre B/C PHKY gelişen hastaların neredeyse %80'inde büyük komplikasyonlar ortaya çıkar (148). Tedavisi ise genellikle konservatiftir. Bununla birlikte, ilerleyici PHKY'de karaciğer nakli tek hayat kurtarıcı seçenek olabilir (43).

Rezeksiyon sonrası kalan karaciğerin veya transplante edilen kısmi karaciğerin sağlıklı bir şekilde rejenerasyonu için hepatositlerin ve parankimal olmayan hücrelerin yeterli sayıda ve fonksiyonda bulunması gerekir. Kalan karaciğerin veya transplante edilen kısmi karaciğerin kan giriş ve çıkışının da sağlıklı olması rejenerasyon için bir diğer önemli faktördür. Ayrıca, rezeksiyon veya nakil sonrası devam eden parankimal hasarı sürdüren faktörler, özellikle PHKY/SFSS, İRH gibi faktörler olmamalıdır (149).

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği ve karaciğer nakillerinden sonra gelişebilen SFSS, temelde benzer patofizyolojik süreçlerin sonucunda meydana gelirler. Bu iki antiteyi açıklamada portal hiperperfüzyon teorisi öne çıkmaktadır. Parankimal hacimdeki azalma ve göreceli artmış portal akım sonucu azalmış hepatik arter akımı, sinüzoidal genişleme, “shear stress”, hemorajik infiltrasyon, sentrilobüler nekroz, uzamış kolestaz, bozulmuş sentetik fonksiyon ve hücre proliferasyonunun inhibisyonu döngüsüne yol açar (38, 150). Bizim sonuçlarımızda PHx uygulanan gruplarda, PHx uygulanmayanlara göre (K ve S grupları) STAT3 ekspresyonu bazılarında anlamlı, bazılarında ise anlamlı düzeyde olmasa da artmıştır. Aynı zamanda, Ki-67 ekspresyonu da PHx gruplarında artmıştır. Burada proliferasyonun artışı, PHx gruplarında hücre stresin veya hasarın bir işareti olabilir.

Posthepatektomi karaciğer yetmezliğinin en önemli tedavisi korunmaktır. Bunun için başlangıçta preoperatif KKH hesaplaması hayati önem taşımaktadır. Buna ek olarak yıllar içerisinde portal akımı modüle etmek için çeşitli cerrahi teknikler geliştirilmiştir. Bu cerrahi teknikler zaman zaman faydalı olsa da olası komplikasyonlarla hasta/donör sağlığı açısından bazı sorunlar teşkil etmektedir. Ayrıca PHKY bir kez geliştiği zaman hastanın veya özellikle CVKN'lerinde donörün hayatı riske girmektedir. Mortalite gelişmese de uzamış hastane yatışları hastaları komplikasyonlara açık hale getirmektedir. Ayrıca bu durum maliyetleri de yükseltmektedir. Yıllar içerisinde çeşitli tedavi modaliteleri geliştirilmiş olmasına rağmen, karaciğer nakli dışındaki tedaviler destek tedavisi olmanın ötesine geçememektedir.

Zaman içerisinde plateletlerin karaciğer rejenerasyonu üzerinde olumlu etkileri keşfedilmiştir. Liang ve ark. tarafından ratlarda yapılan %30 greft ile karaciğer nakli modelinde, trombopoietin ile tetiklenen trombositoz altında SFSS'nun hafiflediği gösterilmiş ve bu durum serum aminotransferazları, bilirubin ve asit seviyelerinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Aynı çalışmada serumda hepatosit rejenerasyonu ile ilişkili sitokinlerin, özellikle IGF-1, HBF, IL-6 ve TNF- α 'nın seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca, Ki-67, proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA) indeksi, mitotik indeks ve karaciğer/vücut ağırlığı oranı trombosit yüksekliği altında daha fazla olduğu rapor edilmiştir (151). Watanabe ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ratlarda karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan karaciğer fibrozis modelinde plateletlerin karaciğer etkileri incelenmiştir. Trombopoetin veya splenektomi ile trombositoz sağlanan ratlarda karaciğer rejenerasyonunu anlamlı ölçüde arttığı görülmüştür (152). Deneysel çalışmaların yanında bazı klinik çalışmalar da mevcuttur. Kısaoğlu ve ark. tarafından 139 CVKN donörünün geriye dönük incelemesiyle yapılan çalışmada, KKH ve ameliyat öncesi trombosit sayısı, PHKY için bağımsız risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (115). Son olarak, CVKN alıcılarına intraoperatif platelet transfüzyonunun karaciğer rejenerasyonuna etkisini araştıran bir çalışmada, platelet transfüzyonunun greft rejenerasyonuna katkıda bulunan tek bağımsız anestezi faktörü olduğu gösterilmiştir (116).

Deney hayvanlarında major hepatektomi veya karaciğer nakli modellerinde splenektominin karaciğer rejenerasyonu ve fonksiyonlarında olumlu etkisinin olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (70, 71, 153). Ayrıca, CVKN'lerinde HATY [(splenik arter çalma sendromu) şeklinde de ifade edilebilir (154)] sebebiyle splenektomi, SAL ve SAE yapılan hastalarda portal akımın azalıp, hepatik arteriyel akımın artmasıyla fayda sağlanabileceğini öne süren çalışmalar da mevcuttur (155, 156). Bununla birlikte çalışmamızda PHx+SPx grubunda splenektominin; histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal parametrelerde PHx grubuna göre bir üstünlüğü bulunmadı. Dikkat çeken öge olarak, PHx+SPx grubunda diğer gruplara göre daha fazla immün hücre infiltrasyonu mevcuttu. Bu etkinin, splenektominin kandaki immün hücre miktarını da arttırdığından, doğal bir sonuç olduğunu düşünmekteyiz. Literatüre bakıldığında Eipel ve ark. tarafından yapılan çalışmada %85 PHx ve %85 PHx+SPx yapılan deney gruplarında splenektomi yapılan grup lehine Ki-67 ekspresyonunda, hepatik parsiyel oksijen basıncında ve rejenere olan karaciğer ağırlığında anlamlı artış mevcuttu. Bununla birlikte yapılan çalışmada, hepatektomi sonrası birim karaciğere gelen portal kan akımının, %70 PHx grubunda kontrol grubuna göre 2.3 katına çıktığı ve %90 PHx yapıldığında 4 katına çıktığı belirtilmiştir (157). Sonuçlardaki farkın, bizim deney gruplarımıza göre portal akımdaki 2 kata yakın artışa bağlı olabileceği yani splenektominin faydasının rezeke edilen karaciğer miktarıyla direkt ilişkili olduğu düşünülmüştür. Kore'de yapılan bir çalışma altta yatan farklı bir mekanizmayla da olsa bu görüşümüzü desteklemektedir (158). Bu çalışmada, ratlarda %70 PHx, %70 PHx+SPx, %90 PHx ve %90 PHx+SPx yapılmış olup; %70 PHx ve %70 PHx+SPx yapılan gruplar arasında karaciğer rejenerasyonunda anlamlı fark görülmezken, %90 PHx ve %90 PHx+SPx yapılan gruplar arasında splenektomi yapılan grup lehine karaciğer rejenerasyonunda anlamlı artış görülmüştür. Ayrıca bizim çalışmamızda olduğu gibi biyokimyasal parametre olarak ALT, AST, direkt bilirubin ve total bilirubin çalışılmış olup, splenektominin faydası gösterilememiştir. Bununla birlikte Liu ve ark. tarafından yapılan çalışmada; %70 PHx ve %70 PHx+SPx yapılan gruplarda Ki-67 ekspresyonun splenektomi yapılan grupta PO 48. saatte pik yaptığı, yalnız hepatektomi yapılan grupta ise 72. saatte pik yaptığı gösterilmiştir (159). Bu durum rejenerasyonda toplamda artış olmasa da

splenektomi lehine hızlanma olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda PHx+SPx grubunda pSTAT'ın immün hücrelerde lokalize olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, bu grupta STAT3 aktivitesinin, özellikle immün hücrelerde proliferatif bir yanıtı tetiklediğini göstermektedir. Hepatositlerdeki Ki-67 ekspresyonu, diğer gruplara kıyasla daha düşük olsa da STAT3 yolunun aktif olduğunu ve bu hücrelerin proliferasyonunu desteklediğini göstermektedir.

PRP grubunda hem histopatolojik değerlendirmede hem de Ki-67 ekspresyonunda özellikle K ve S gruplarına göre, fakat daha önemlisi PHx ve PHx+SPx gruplarına göre karaciğer rejenerasyonunda iyileşme gözlemlendi. Tüm gruplar arasında en yüksek Ki-67 ekspresyonu PRP grubunda izlendi ve bu, PO 5. günde en yüksek nükleer proliferasyonun PRP grubunda olduğunu göstermektedir. Ayrıca PHx ve PHx+SPx gruplarına göre PRP grubunda biyokimyasal parametrelerde iyileşme mevcuttu. Bu iyileşme ALT ve AST için istatistiksel anlamlı olmasa da bilirubin değerleri için anlamlıydı. PHKY tanı kriterleri arasında hiperbilirubinemi de bulunduğu için bu veri önemlidir. Bu veriler ışığında PRP uygulamasının karaciğer rejenerasyonu ve fonksiyonları üzerinde anlamlı ve olumlu etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Bu düşüncemiz, literatüre bakıldığında PRP'nin karaciğer rejenerasyonu ve fibrozisten korunma etkilerini inceleyen bazı çalışmalarla uyumludur (11, 132, 160). Literatürde CGF'nin karaciğer rejenerasyonu üzerinde etkilerini inceleyen bir çalışma olmadığından, PRP'ye göre CGF grubunda neden Ki-67 ekspresyonunda anlamlı düşüklük olduğunun net bir cevabını vermek zordur. Bilindiği üzere PRP daha yüksek platelet konsantrasyonu, CGF ise plateletlerin daha farklı santrifüj tekniğiyle parçalanması sonucu daha yüksek büyüme faktörü konsantrasyonu içermektedir. Bunlarla birlikte altta yatan sebebi açıklayabilecek bazı çalışmalar mevcuttur. Murata ve ark.'nın farelerde hepatektomi yaptıkları bir çalışmada, elektron mikroskopu altında yapılan incelemede, plateletlerin sinüzoidal alandan Disse boşluğuna geçtiği ve hepatositlerle doğrudan temas halinde olduğu gözlemlendi (9). Bu doğrudan temasın anlamını netleştirmek için Matsuo ve ark. plateletler ve hepatositlerin geçirgen bir zar ile ayrıldığı kültürleme odası sistemlerini kullanarak, plateletler ve hepatositler arasındaki doğrudan temasın, HBF, IGF-1 ve VEBF'nin plateletlerden salınımını tetiklediği ve bunun da hepatosit proliferasyonuna yol açtığını ortaya

çıkarttı (108). Ayrıca aynı çalışmada plateletlerden salgılanan büyüme faktörleri (çözünür fraksiyon) ve membran fraksiyonu ayrıştırılıp ayrı ayrı kültürlendiğinde, çözünür fraksiyonun eklendiği hepatositlerde proliferasyon gerçekleştiği, membran fraksiyonunun eklendiği hepatositlerde rejenerasyonun gerçekleşmediği izlenmiştir. Kısaca, rejenerasyonu büyüme faktörlerinin tetiklediği ama bu faktörlerin salınımının plateletlerin hepatositlerle direkt teması sayesinde gerçekleştiği sonucu ortaya çıkmıştır. Çalışmamızda CGF grubunda büyüme faktörlerinin daha yüksek konsantrasyonda direkt olarak verilmesine rağmen Ki-67 ekspresyonunun düşük kalmasının sebebi olarak, plateletlerin karaciğerde başka hücre (Örn. Kupffer ve KSEH)(104) veya matriks elemanlarıyla da direkt etkileşime girip farklı yollar üzerinden rejenerasyonu tetikleyebileceğini düşündürmektedir.

CGF grubunda, proliferasyonu işaret eden görünüm PHx ve PHx+SPx grubuna göre daha fazla, PRP grubuna göre daha azdı. Ayrıca Ki-67 ekspresyonu da diğer deney gruplarına göre daha düşüktü. Bununla birlikte hücrelerin daha sağlıklı morfolojide olduğu, karaciğerin 3 boyutlu hücresel yapısının daha düzenli olduğu ve hepatositlerin boyut homojenite göstermesi beklenirken, hepatosit boyutlarında heterojenite olduğu izlenmişti. Ayrıca Ki-67 ekspresyonu da diğer deney gruplarına göre daha düşüktü. Şu ana kadar, literatürde CGF'nin karaciğer rejenerasyonu üzerinde etkisini inceleyen çalışma olmasa da bu bulgular, hücrelerin CGF ile birlikte rejeneratif yanıtının daha hızlı olabileceğini ve hücresel rejenerasyonun PO 5. günde diğer gruplara göre daha fazla miktarda tamamlanmış olabileceğini düşündürdü. Portal akım modülasyonunu inceleyen bir çalışmada, gruplar arasında Ki-67 ekspresyonunun farklı zaman aralıklarında pik yaptığı bilgisi bu görüşü desteklemektedir (159). Küçük boyutlu hücrelerin yeni oluşan hücreler olabileceği, daha büyük boyutlu olanların ise daha yaşlı ve CGF ile ilişkili hücresel aktivasyona bağlı boyut artışından kaynaklandığı öngörüldü. Yeni vasküler oluşumun diğer gruplara göre baskın olması ise direkt olarak VEBF etkisine dayandırıldı. Biyokimyasal parametrelerin de PRP grubuyla benzerlik göstermesi, yani özellikle bilirubin değerlerinde anlamlı düşüklük olması; proliferasyon belirteci olarak Ki-67 ekspresyonuna yansımada da karaciğerdeki hücrelerin morfolojisi ve 3 boyutlu yapının belirgin daha düzgün olması CGF tedavisi lehine

umut vermektedir. Histopatolojik ve biyokimyasal incelemelerin ışığında CGF'nin en azından PRP'ye göre daha az etkin olmadığı söylenebilir. Ancak bu durumu aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Hepatektomi sonrası erken ve geç dönemlerin dahil edildiği farklı zaman dilimlerini kapsayan çalışmaların konuya daha fazla ışık tutacağına inanmaktayız.

Sinyal transdüktörü ve transkripsiyon aktivatörü 3 sonuçlarında en yüksek ekspresyon PHx grubunda, 2. yüksek ekspresyon PRP grubunda ve 3. yüksek ekspresyon CGF grubunda ortaya çıkmıştı. Bu sonucu anlayabilmek için STAT3'ün fonksiyonlarını idrak edebilmek gerekir. STAT3, JAK ve STAT yoluna ait sitoplazmik bir sinyal transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır ve karaciğer hasarı sürecinde kritik bir öneme sahiptir (92). Li ve ark. tarafından farelerde hepatektomi yapılan çalışmada, STAT3 defektli farelerde hepatektomiden 40 saat sonra hepatosit DNA sentezinin, kontrol grubunun yaklaşık üçte birine düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada STAT3 defektli karaciğerlerde hücre döngüsünün G1 fazı siklinlerinin aktivasyonunda kısmi bozulma da rapor edilmiştir (161). Bununla birlikte, Moh ve ark. tarafından yapılan çalışmada hepatosit proliferasyonunun yalnızca STAT3'e bağlı olmadığını ve hepatositlerde STAT3 eksikliği/blokajı için telafi edici mekanizmaların olabileceğini (Örn. STAT1) ima etmişlerdir (162). Bu görüşü destekleyen başka bir çalışma Haga ve ark. tarafından yapılmış olup; bu çalışmada karaciğer spesifik STAT3 defektli farelerde karaciğer rejenerasyonunun, PI3K/AKT yolu üzerinden hepatoselüler hipertrofi yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir (85).

Öte yandan, son yıllarda STAT3'ün karaciğerde yaşlanma ve fibrozisle ilgili rolü olduğunu belirten çalışmaların ortaya çıkmasıyla, STAT3'ün karaciğerdeki rolü tartışmalı hale gelmiştir. STAT3'ün HYH'leri aktive ederek karaciğer fibrozisinde rol oynadığını bildiren çalışmalar mevcuttur (163, 164). Karaciğer hasarı oluştuğunda, sessiz durumdaki HYH'ler aktive olur ve ardından büyük miktarda ekstraselüler matriks (ECM) bileşenleri salgılayan miyofibroblastlara dönüşür. Bu süreç, ECM'nin aşırı birikmesine yol açar, bu da fibrozisle iyileşmeye neden olabilir (165). Ayrıca şiddetli akut karaciğer hasarı durumunda hepatosit yaşlanması [daha fazla çoğalmayı engelleyen kararlı bir hücre döngüsü duraklaması biçimidir (166)] güçlü bir şekilde indüklenir (167, 168). Pang

ve ark. yaptıkları çalışmada STAT3'ün hepatosit yaşlanmasını indüklediği ve karaciğer fibrozisinde hücre yaşlanması için bir biyomarker olarak STAT3'ün kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (169).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın STAT3 sonuçları en yüksek ekspresyon PHx grubunda, 2. yüksek ekspresyon PRP grubunda ve 3. yüksek ekspresyon CGF grubunda yorumlanırken, Ki-67 ekspresyon değerleri (PRP grubu anlamlı derece yüksek ekspresyona sahip) de göz önüne alındığında; karaciğer hasarı veya rejenerasyonu süreçlerinde tek bir yolağın aksine, iç içe geçmiş çok sayıda karmaşık yolağın olduğu ve/veya henüz keşfedilmemiş moleküler düzeydeki ilişkilerin mevcut olabileceği akla gelmektedir. Ayrıca, STAT3'ün karaciğer rejenerasyonu ve hepatosit yaşlanmasıyla ilgili zıt yönlü etkileri de dikkate alındığında; CGF grubundaki düşük ekspresyona, CGF ile birlikte verilen yüksek konsantrasyondaki büyüme faktörlerinin STAT3'ün indüklediği hepatosit yaşlanmasını azaltarak rejenerasyon üzerinde olumlu etkide bulunmuş olabileceği sonucu çıkartılabilir. Ek olarak, PHx+SPx grubunda diğer gruplara nazaran artmış immün hücre infiltrasyonu, rejenerasyona/fibroze giden karmaşık yolaklardaki bazı aşamaların atlanmasına sebep olup STAT3 ekspresyonunu azaltmış olabilir. Sonuç olarak, STAT3 karaciğer rejenerasyonunu tetikliyor gibi görünse de aksi yönde de birçok literatür bilgisi mevcuttur. Bizim çalışmamızda da Ki-67 temelli inceleme sonucunda PRP ve CGF grubunda proliferasyon daha yüksek görünmekteyken STAT3 temelli incelediğimizde aynı sonuçları görememekteyiz. Bu konuyu aydınlatmak için STAT3 özelinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde CGF'nin karaciğer rejenerasyonu ve fonksiyonları üzerine etkilerini inceleyen başka bir çalışma bulunmaması bizim çalışmamızı özel kılmaktadır. Sonuçlara döndüğümüzde, literatürle uyumlu olarak PRP'nin karaciğer rejenerasyonunu arttırdığını göstermeyi başardık. Bununla birlikte istatistiksel sonuçlarımıza yansımada da hücre morfolojisindeki sağlıklı yapı ve karaciğerin karmaşık 3 boyutlu yapısındaki düzenliliği ve biyokimyasal testlerin sonuçlarında ve sadece gözlemlerimize dayanan bir veri olmakla beraber, CGF grubundaki mortalite sonuçlarının diğer gruplara göre neredeyse %40 daha düşük olması sebebiyle CGF uygulamasının PRP uygulamasından geride olmadığı hatta

belki de daha iyi olabileceği sonucuna vardık. Henüz karaciğer rejenerasyonu istenen klinik hadiselerde kullanıma girmemiş PRP ve CGF tedavisinin, özellikle üretiminin kolay ve teoride otolog olması sebebiyle düşük yan etki profiliyle birlikte; CVKN’lerde sağlıklı bireyler olan donörlerde veya benign sebepli genişletilmiş rezeksiyonlar yapılan hastalarda ve ayrıca tümör hastalarında hepatektomide mortalitenin bir numaralı sebebi olan PHKY’den korunmada veya tedavisinde umut olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte CGF’nin karaciğer rejenerasyonu üzerindeki etkilerinin daha net anlaşılabilmesi için farklı postoperatif zaman aralıklarında, farklı biyobelirteçler de kullanarak yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. ÖZET

Ratlarda Major Hepatektomi Sonrası “Post-Hepatektomi Karaciğer Yetmezliği”nde Splenektomi, PRP ve CGF’nin Karaciğer Rejenerasyonu ve Fonksiyonları Üzerine Etkisi

Posthepatektomi karaciğer yetmezliği (PHKY), rezeksiyon sonrası morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerindendir. Postoperatif 5. gün veya sonrasında artmış INR ve hiperbilirubinemi ile birlikte, karaciğerin sentez, ekstraksiyon ve detoksifikasyon fonksiyonlarında bozulma ile ortaya çıkar. Son yıllarda plateletlerin karaciğer rejenerasyonunu olumlu etkilediğine dair kanıtlar ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada PHKY modeli oluşturulan ratlarda splenektomi (SPx), plateletten zengin plazma (PRP) ve konsantre büyüme faktörünün (CGF) karaciğer rejenerasyonu ve fonksiyonları üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

Deney modelinde ratlar rastgele seçilerek toplamda 7 gruba ayrıldı. Bir gruptaki hayvanlar PRP ve CGF elde etmek için sakrefiye edildi. Bir grup kontrol grubu ve bir grup sham grubu olup, kalan 4 grupta PHKY modeli oluşturmak için ise %70 hepatektomi (PHx) uygulandı. Bu 4 grup; PHx, PHx+SPx, PRP ve CGF grubundan oluşmaktadır. PRP ve CGF gruplarında %70 PHx sonrası PRP ve CGF portal ven yoluyla verilmiştir. Karaciğer rejenerasyonu histopatolojik ve immünohistokimyasal (Ki-67, STAT3 ve pSTAT3) olarak değerlendirilmiştir. Karaciğer fonksiyonları ise ALT, AST, total ve direkt bilirubin değerleri çalışılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamız sonucunda; PHx ve PHx+SPx gruplarında biyokimyasal belirteçlerde diğer gruplara göre anlamlı yükseklikler olduğu, PRP’nin Ki-67 ekspresyonunu anlamlı olarak arttırdığı, CGF’nin hücre morfolojisinde ve biyokimyasal belirteçlerde düzelme sağladığı ve mortaliteyi düşürdüğü, PHx uygulamasının STAT3’ü belirgin arttırdığı ve SPx uygulamasının çalışmamız özelinde histopatolojik, immünohistokimyasal veya biyokimyasal parametrelerde anlamlı iyileşme sağlamadığı gözlemlenmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde; PRP uygulamasının rejenerasyonu arttırdığı ve karaciğer fonksiyonlarında iyileşme sağladığı, CGF uygulamasının histopatolojik iyileşme sağladığı ve karaciğer fonksiyonlarını olumlu etkileyip mortaliteyi düşürerek PHKY tedavisinde rolü olabileceği, STAT3'ün karaciğer rejenerasyonu haricinde karaciğer fibrozisi ve hepatosit yaşlanmasında görev aldığından, tek başına rejenerasyonu değerlendirmede rolünün tartışmalı olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte posthepatektomi karaciğer yetmezliğinde PRP ve CGF'nin rolünü net olarak değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Hepatektomi, Rejenerasyon, PRP, CGF

7. ABSTRACT

The Effects of Splenectomy, PRP, and CGF on Liver Regeneration and Functions in Rats with Post-Hepatectomy Liver Failure Following Major Hepatectomy

Post-hepatectomy liver failure (PHLF) is one of the most significant causes of morbidity and mortality following resection. It manifests with impaired liver synthesis, extraction, and detoxification functions, accompanied by increased INR and hyperbilirubinemia on or after the 5th postoperative day. Recent evidence suggests that platelets positively influence liver regeneration. This study aims to compare the effects of splenectomy (SPx), platelet-rich plasma (PRP), and concentrated growth factor (CGF) on liver regeneration and functions in rats with a PHLF model.

In the experimental model, rats were randomly divided into seven groups. One group of animals was sacrificed to obtain PRP and CGF. One group served as the control group, and another as the sham group, while the remaining four groups underwent 70% hepatectomy (PHx) to create the PHLF model. These four groups consisted of PHx, PHx+SPx, PRP, and CGF groups. In the PRP and CGF groups, PRP and CGF were administered via the portal vein following 70% PHx. Liver regeneration was evaluated histopathological and immunohistochemically (Ki-67, STAT3, and pSTAT3). Liver functions were assessed by measuring ALT, AST, total, and direct bilirubin levels.

Our results indicated that the PHx and PHx+SPx groups had significantly higher biochemical markers compared to the other groups. PRP significantly increased Ki-67 expression, CGF improved cell morphology and biochemical markers, and reduced mortality. PHx significantly increased STAT3, while SPx did not provide significant improvements in histopathological, immunohistochemical, or biochemical parameters in our study.

In conclusion, PRP application enhanced regeneration and improved liver functions, CGF application provided histopathological improvement and positively

affected liver functions, reducing mortality, suggesting a potential role in the treatment of PHLF. The role of STAT3 in liver fibrosis and hepatocyte aging, beyond liver regeneration, suggests its role in regeneration assessment is debatable. Further studies are needed to clearly evaluate the roles of PRP and CGF in post-hepatectomy liver failure.

Key Words: Liver, Hepatectomy, Regeneration, PRP, CGF



8. KAYNAKLAR

1. Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, Tuma F. Physiology, Liver. StatPearls [Internet]. 2023 May 1 [cited 2024 May 22]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/>
2. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol* 2017; 27(21): R1147-51. doi: 10.1016/j.cub.2017.09.019
3. Morita T, Togo S, Kubota T, Kamimukai N, Nishizuka I, Kobayashi T, et al. Mechanism of postoperative liver failure after excessive hepatectomy investigated using a cDNA microarray. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9(3): 352–9. doi: 10.1007/s005340200039
4. Asencio JM, García Sabrido JL, Olmedilla L. How to expand the safe limits in hepatic resections? *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2014; 21(6): 399–404. doi: 10.1002/jhbp.97
5. Ray S, Mehta NN, Golhar A, Nundy S. Post hepatectomy liver failure - A comprehensive review of current concepts and controversies. *Ann Med Surg (Lond)* 2018; 34: 4–10. doi: 10.1016/j.amsu.2018.08.012
6. Allard MA, Adam R, Bucur PO, Termos S, Cunha AS, Bismuth H, et al. Posthepatectomy portal vein pressure predicts liver failure and mortality after major liver resection on noncirrhotic liver. *Ann Surg* 2013; 258(5): 822–30. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182a64b38
7. Darnis B, Mohkam K, Schmitt Z, Ledochowski S, Vial JP, Duperret S, et al. Subtotal hepatectomy in swine for studying small-for-size syndrome and portal inflow modulation: is it reliable? *HPB (Oxford)* 2015; 17(10): 881–8. doi: 10.1111/hpb.12434
8. Myronovych A, Murata S, Chiba M, Matsuo R, Ikeda O, Watanabe M, et al. Role of platelets on liver regeneration after 90% hepatectomy in mice. *J Hepatol* 2008; 49(3): 363–72. doi: 10.1016/j.jhep.2008.04.019
9. Murata S, Ohkohchi N, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Hoshi R. Platelets promote liver regeneration in early period after hepatectomy in mice. *World J Surg* 2007; 31(4): 808–16. doi: 10.1007/s00268-006-0772-3
10. Alkozai EM, Nijsten MW, De Jong KP, De Boer MT, Peeters PMJG, Slooff MJ, et al. Immediate postoperative low platelet count is associated with

- delayed liver function recovery after partial liver resection. *Ann Surg* 2010; 251(2): 300–6. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181b76557
11. Matsuo R, Nakano Y, Ohkohchi N. Platelet administration via the portal vein promotes liver regeneration in rats after 70% hepatectomy. *Ann Surg* 2011; 253(4): 759–63. doi: 10.1097/SLA.0b013e318211caf8
 12. Sharma M, Somani P, Rameshbabu CS, Sunkara T, Rai P. Stepwise evaluation of liver sectors and liver segments by endoscopic ultrasound. *World J Gastrointest Endosc* 2018; 10(11): 326--39. doi: 10.4253/wjge.v10.i11.326
 13. Mourya GK, Bhatia D, Handique A. Empirical greedy machine-based automatic liver segmentation in CT images. *IET Image Processing* 2020; 14(14): 3333-40. <https://doi.org/10.1049/iet-ipr.2019.0690>
 14. Lowe MC, D'Angelica MI. Anatomy of Hepatic Resectional Surgery. *Surg Clin North Am* 2016; 96(2): 183-95. doi: 10.1016/j.suc.2015.11.003
 15. Vollmar B, Menger MD. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol Rev* 2009; 89(4): 1269–339. doi: 10.1152/physrev.00027.2008
 16. Rappaport A. Hepatic blood flow: morphologic aspects and physiologic regulation. *Int Rev Physiol* 1980; 21: 1-63. PMID: 6993392
 17. Greenway CV, Stark RD. Hepatic vascular bed. *Physiol Rev* 1971; 51(1): 23–65. doi: 10.1152/physrev.1971.51.1.23
 18. Eipel C, Abshagen K, Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: The hepatic arterial buffer response revisited. *World J Gastroenterol (WJG)* 2010; 16(48): 6046-57. doi: 10.3748/wjg.v16.i48.6046
 19. Bristow R, Eskander RN. Radical Upper Abdominal Surgery: Liver, Diaphragm, and Spleen. *Principles of Gynecologic Oncology Surgery* 2018; 12: 158–71.
 20. Dichko N (Author). Living donor liver transplantation: radiologist's role in preoperative planning. *ECR* 2021. doi: 10.26044/ecr2021/C-12681 [cited 2024 Aug 25]; Available from: <https://epos.myesr.org/poster/esr/ecr2021/C-12681>

21. Chamberlain RS. Essential Functional Hepatic and Biliary Anatomy for the Surgeon. *Hepatic Surgery* [Internet]. 2013 Feb 13. doi: 10.5772/53849 [cited 2024 May 19]; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/42361>
22. Radulova-Mauersberger O, Weitz J, Riediger C. Vascular surgery in liver resection. *Langenbecks Arch Surg* 2021; 406(7): 2217–48. doi: 10.1007/s00423-021-02310-w
23. Keplinger KM, Bloomston M. Anatomy and embryology of the biliary tract. *Surg Clin North Am* 2014; 94(2): 203–17. doi: 10.1016/j.suc.2014.01.001
24. Adatepe M, Adibelli ZH, Esen OS, Imamoglu C, Yildirim M, Erkan N, et al. Anatomic Variations of Biliary Ducts: Magnetic Resonance Cholangiopancreatography Findings of 1041 Consecutive Patients Bile Ducts and MRCP. *Eur Surg* 2016; 48: 296–303.
25. Abou-Khalil JE, Bertens KA. Embryology, Anatomy, and Imaging of the Biliary Tree. *Surg Clin North Am* 2019; 99(2): 163–74. doi: 10.1016/j.suc.2018.12.005
26. Mortelé KJ, Ros PR. Anatomic variants of the biliary tree: MR cholangiographic findings and clinical applications. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177(2): 389–94. doi: 10.2214/ajr.177.2.1770389
27. Aguiar JA, Riaz A, Thornburg B. Percutaneous Biliary Interventions: Inside and Outside the Box: Biliary Anatomy. *Semin Intervent Radiol* 2021; 38(3): 251–4. doi: 10.1055/s-0041-1731085
28. Chaib E, Kanas AF, Galvão FHF, D’Albuquerque LAC. Bile duct confluence: Anatomic variations and its classification. *Surgical and Radiologic Anatomy* 2014; 36(2): 105–9. doi: 10.1007/s00276-013-1157-6
29. Panwar A, Das P, Tan LP. 3D Hepatic Organoid-Based Advancements in LIVER Tissue Engineering. *Bioengineering (Basel)* 2021; 8(11): 185. doi: 10.3390/bioengineering8110185
30. Cunningham RP, Porat-Shliom N. Liver Zonation – Revisiting Old Questions With New Technologies. *Front Physiol* 2021; 12: 732929. doi: 10.3389/fphys.2021.732929
31. Chan A, Kow A, Hibi T, Di Benedetto F, Serrablo A. Liver resection in Cirrhotic liver: Are there any limits? *Int J Surg* 2020; 82S: 109–14. doi: 10.1016/j.ijssu.2020.06.050

32. Khan AS, Garcia-Aroz S, Ansari MA, Atiq SM, Senter-Zapata M, Fowler K, et al. Assessment and optimization of liver volume before major hepatic resection: Current guidelines and a narrative review. *Int J Surg* 2018; 52: 74–81. doi: 10.1016/j.ijssu.2018.01.042
33. Ren Z, Xu Y, Zhu S. Indocyanine green retention test avoiding liver failure after hepatectomy for hepatolithiasis. *Hepatogastroenterology* 2012; 59(115): 782–4. doi: 10.5754/hge11453
34. Paugam-Burtz C, Janny S, Delefosse D, Dahmani S, Dondero F, Mantz J, et al. Prospective validation of the ‘fifty-fifty’ criteria as an early and accurate predictor of death after liver resection in intensive care unit patients. *Ann Surg* 2009; 249(1): 124–8. doi: 10.1097/SLA.0b013e31819279cd
35. Jaeck D, Bachellier P, Oussoultzoglou E, Weber JC, Wolf P. Surgical resection of hepatocellular carcinoma. Post-operative outcome and long-term results in Europe: an overview. *Liver Transpl* 2004; 10(2 Suppl 1): S58-63. doi: 10.1002/lt.20041
36. Ikegami T, Shimada M, Imura S, Arakawa Y, Nii A, Morine Y, et al. Current concept of small-for-size grafts in living donor liver transplantation. *Srg Today* 2008; 38(11): 971–82. doi: 10.1007/s00595-008-3771-1
37. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43(2 Suppl 1): S45-53. doi: 10.1002/hep.20969
38. Demetris AJ, Kelly DM, Egtesad B, Fontes P, Wallis Marsh J, Tom K, et al. Pathophysiologic observations and histopathologic recognition of the portal hyperperfusion or small-for-size syndrome. *Am J Surg Pathol* 2006; 30(8): 986–93. doi: 10.1097/00000478-200608000-00009
39. Hiraki Y, Uchida K, Nishida S, Levi DM, Selvaggi G, Tekin A, et al. A Case Report of Severe Hepatic Artery Vasospasm Induced by Hepatic Arterial Buffer Response After Liver Transplantation. *Transplant Proc* 2016; 48(9): 3167–70. doi: 10.1016/j.transproceed.2016.05.015
40. Sanada Y, Mizuta K, Urahashi T, Ihara Y, Wakiya T, Okada N, et al. Hepatic arterial buffer response after pediatric living donor liver transplantation: report of a case. *Transplant Proc* 2011; 43(10): 4019–24. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.094
41. Bolognesi M, Sacerdoti D, Bombonato G, Merkel C, Sartori G, Merenda R, et al. Change in portal flow after liver transplantation: Effect on hepatic

- arterial resistance indices and role of spleen size. *Hepatology* 2002; 35(3): 601–8. doi: 10.1053/jhep.2002.31352
42. Lauth WW. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol* 1985; 249(5 Pt 1): G549-56. doi: 10.1152/ajpgi.1985.249.5.G549
 43. Sparrelid E, Olthof PB, Dasari BVM, Erdmann JJ, Santol J, Starlinger P, et al. Current evidence on posthepatectomy liver failure: comprehensive review. *BJS Open* 2022; 6(6): zrac142. doi: 10.1093/bjsopen/zrac142
 44. Du Z-G, Wei Y-G, Chen K-F, Li B. An accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy: A single institution's experience with 478 consecutive cases. *World J Gastroenterol (WJG)* 2014; 20(1): 274-81. doi: 10.3748/wjg.v20.i1.274
 45. Rahbari NN, Garden OJ, Padbury R, Brooke-Smith M, Crawford M, Adam R, et al. Posthepatectomy liver failure: a definition and grading by the International Study Group of Liver Surgery (ISGLS). *Surgery* 2011; 149(5): 713–24. doi: 10.1016/j.surg.2010.10.001
 46. Ocak İ, Topaloğlu S, Acarli K. Posthepatectomy liver failure. *Turk J Med Sci* 2020; 50(6): 1491-503. doi: 10.3906/sag-2006-31
 47. Yadav K, Shrikhande S, Goel M. Post Hepatectomy Liver Failure: Concept of Management. *J Gastrointest Cancer* 2014; 45(4): 405–13. doi: 10.1007/s12029-014-9646-3
 48. Hemming AW, Reed AI, Howard RJ, Fujita S, Hochwald SN, Caridi JG, et al. Preoperative portal vein embolization for extended hepatectomy. *Ann Surg* 2003; 237(5): 686–93. doi: 10.1097/01.SLA.0000065265.16728.C0
 49. Luz JHM, Gomes FV, Coimbra E, Costa NV, Bilhim T. Preoperative Portal Vein Embolization in Hepatic Surgery: A Review about the Embolic Materials and Their Effects on Liver Regeneration and Outcome. *Radiol Res Pract* 2020; 2020: 9295852. doi: 10.1155/2020/9295852
 50. May BJ, Madoff DC. Portal Vein Embolization: Rationale, Technique, and Current Application. *Semin Intervent Radiol* 2012; 29(2): 81-9. doi: 10.1055/s-0032-1312568
 51. Capussotti L, Muratore A, Baracchi F, Lelong B, Ferrero A, Regge D, et al. Portal vein ligation as an efficient method of increasing the future liver

- remnant volume in the surgical treatment of colorectal metastases. *Arch Surg* 2008; 143(10): 978–82; discussion 982. doi: 10.1001/archsurg.143.10.978
52. van Lienden KP, van den Esschert JW, de Graaf W, Bipat S, Lameris JS, van Gulik TM, et al. Portal Vein Embolization Before Liver Resection: A Systematic Review. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2013; 36(1): 25-34. doi: 10.1007/s00270-012-0440-y
 53. Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, Nadalin S, Baumgart J, Farkas SA, et al. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings. *Ann Surg* 2012; 255(3): 405–14. doi: 10.1097/SLA.0b013e31824856f5
 54. Pandanaboyana S, Bell R, Hidalgo E, Toogood G, Prasad KR, Bartlett A, et al. A systematic review and meta-analysis of portal vein ligation versus portal vein embolization for elective liver resection. *Surgery* 2015; 157(4): 690–8. doi: 10.1016/j.surg.2014.12.009
 55. Schmidt MR, Smerup M, Konstantinov IE, Shimizu M, Li J, Cheung M, et al. Intermittent peripheral tissue ischemia during coronary ischemia reduces myocardial infarction through a KATP-dependent mechanism: first demonstration of remote ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292(4): H1883-90. doi: 10.1152/ajpheart.00617.2006
 56. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 1999; 30(5): 1223–31. doi: 10.1002/hep.510300513
 57. Gomez D, Homer-Vanniasinkam S, Graham AM, Prasad KR. Role of ischaemic preconditioning in liver regeneration following major liver resection and transplantation. *World J Gastroenterol (WJG)* 2007; 13(5): 657-70. doi: 10.3748/wjg.v13.i5.657
 58. O'Neill S, Leuschner S, McNally SJ, Garden OJ, Wigmore SJ, Harrison EM. Meta-analysis of ischaemic preconditioning for liver resections. *Br J Surg* 2013; 100(13): 1689–700. doi: 10.1002/bjs.9277
 59. Yoshizumi T, Mori M. Portal flow modulation in living donor liver transplantation: review with a focus on splenectomy. *Surg Today* 2020; 50(1): 21-9. doi: 10.1007/s00595-019-01881-y

60. Pinto S, Reddy SN, Horrow MM, Ortiz J. Splenic Artery Syndrome after orthotopic liver transplantation: a review. *Int J Surg* 2014; 12(11): 1228–34. doi: 10.1016/j.ijssu.2014.09.012
61. Uflacker R, Selby JB, Chavin K, Rogers J, Baliga P. Transcatheter splenic artery occlusion for treatment of splenic artery steal syndrome after orthotopic liver transplantation. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2002; 25(4): 300–6. doi: 10.1007/s00270-002-2614-5
62. Lo C-M, Liu C-L, Fan S-T. Portal hyperperfusion injury as the cause of primary nonfunction in a small-for-size liver graft-successful treatment with splenic artery ligation. *Liver Transplantation* 2003; 9(6): 626–8. doi: 10.1053/jlts.2003.50081
63. Umeda Y, Yagi T, Sadamori H, Matsukawa H, Matsuda H, Shinoura S, et al. Effects of prophylactic splenic artery modulation on portal overperfusion and liver regeneration in small-for-size graft. *Transplantation* 2008; 86(5): 673–80. doi: 10.1097/TP.0b013e318181e02d
64. Su C-M, Chou T-C, Yang T-H, Lin Y-J. Graft Inflow Modulation in Living-Donor Liver Transplantation: Hepatic Hemodynamic Changes in Splenic Artery Ligation and Splenectomy. *Ann Transplant* 2022; 27: e936609. doi: 10.12659/AOT.936609
65. Masuda Y, Yoshizawa K, Ohno Y, Mita A, Shimizu A, Soejima Y. Small-for-size syndrome in liver transplantation: Definition, pathophysiology and management. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2020; 19(4): 334–41. doi: 10.1016/j.hbpd.2020.06.015
66. Theodoraki K, Vezakis A, Massaras D, Louta A, Arkadopoulos N, Smyrniotis V. Splenic Artery Ligation: An Ontable Bail-Out Strategy for Small-for-Size Remnants after Major Hepatectomy: A Retrospective Study. *J Pers Med* 2022; 12(10): 1687. doi: 10.3390/jpm12101687
67. Ahmad D, Hinds A, Lopez K, Arif M, Matteson M, Bechtold M. An Unusual Complication of Splenic Artery Coil Embolization. *Am J Gastroenterol (AJG)* Ann Meeting Abstract Suppl 2013; 108: S328.
68. Yoshizumi T, Itoh S, Shimokawa M, Inokuchi S, Harada N, Takeishi K, et al. Simultaneous splenectomy improves outcomes after adult living donor liver transplantation. *J Hepatol* 2021; 74(2): 372–9. doi: 10.1016/j.jhep.2020.08.017

69. Kuriyama N, Isaji S, Kishiwada M, Ohsawa I, Hamada T, Mizuno S, et al. Dual cytoprotective effects of splenectomy for small-for-size liver transplantation in rats. *Liver Transpl* 2012; 18(11): 1361–70. doi: 10.1002/lt.23519
70. Arakawa Y, Shimada M, Uchiyama H, Ikegami T, Yoshizumi T, Imura S, et al. Beneficial effects of splenectomy on massive hepatectomy model in rats. *Hepatol Res* 2009; 39(4): 391–7. doi: 10.1111/j.1872-034X.2008.00469.x
71. Yoichi T, Takayashiki T, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Kato A, et al. Protective effects of simultaneous splenectomy on small-for-size liver graft injury in rat liver transplantation. *Transpl Int* 2014; 27(1): 106–13. doi: 10.1111/tri.12223
72. Yagi S, Hirata M, Miyachi Y, Uemoto S. Liver Regeneration after Hepatectomy and Partial Liver Transplantation. *Int J Mol Sci* 2020; 21(21): 8414. doi: 10.3390/ijms21218414
73. Andersen KJ, Knudsen AR, Kannerup AS, Sasanuma H, Nyengaard JR, Hamilton-Dutoit S, et al. The natural history of liver regeneration in rats: Description of an animal model for liver regeneration studies. *Int J Surg* 2013; 11(9): 903–8. doi: 10.1016/j.ijssu.2013.07.009
74. Mao SA, Glorioso JM, Nyberg SL. Liver Regeneration. *Transl Res* 2014; 163(4): 352–62. doi: 10.1016/j.trsl.2014.01.005
75. Bhushan B, Apte U. Liver Regeneration after Acetaminophen Hepatotoxicity: Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Am J Pathol* 2019; 189(4): 719–29. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.12.006
76. Sato Y, Tsukada K, Hatakeyama K. Role of shear stress and immune responses in liver regeneration after a partial hepatectomy. *Surg Today* 1999; 29(1): 1–9. doi: 10.1007/BF02482962
77. Morsiani E, Aleotti A, Ricci D. Haemodynamic and ultrastructural observations on the rat liver after two-thirds partial hepatectomy. *J Anat* 1998; 192 (Pt 4) (Pt 4): 507–15. doi: 10.1046/j.1469-7580.1998.19240507.x
78. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol* 2017; 66(1): 212–27. doi: 10.1016/j.jhep.2016.07.009

79. Ronco MT, Alvarez MDL, Monti JA, Carrillo MC, Pisani GB, Lugano MC, et al. Role of nitric oxide increase on induced programmed cell death during early stages of rat liver regeneration. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2004; 1690(1): 70–6. doi: 10.1016/j.bbadis.2004.05.004
80. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *J Hepatol* 2012; 57(3): 692–4. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.016
81. Kawai M, Naruse K, Komatsu S, Kobayashi S, Nagino M, Nimura Y, et al. Mechanical stress-dependent secretion of interleukin 6 by endothelial cells after portal vein embolization: Clinical and experimental studies. *J Hepatol* 2002; 37(2): 240–6. doi: 10.1016/s0168-8278(02)00171-x
82. Song Z, Gupta K, Ng IC, Xing J, Yang YA, Yu H. Mechanosensing in liver regeneration. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 71: 153–67. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.041
83. Gauthier AE, Rotjan RD, Kagan JC. Lipopolysaccharide detection by the innate immune system may be an uncommon defence strategy used in nature. *Open Biol* 2022; 12(10): 220146. doi: 10.1098/rsob.220146
84. Di-Iacovo N, Pieroni S, Piobbico D, Castelli M, Scopetti D, Ferracchiato S, et al. Liver Regeneration and Immunity: A Tale to Tell. *Int J Mol Sci* 2023; 24(2): 1176. doi: 10.3390/ijms24021176
85. Haga S, Ogawa W, Inoue H, Terui K, Ogino T, Igarashi R, et al. Compensatory recovery of liver mass by Akt-mediated hepatocellular hypertrophy in liver-specific STAT3-deficient mice. *J Hepatol* 2005; 43(5): 799–807. doi: 10.1016/j.jhep.2005.03.027
86. Böhm F, Köhler UA, Speicher T, Werner S. Regulation of liver regeneration by growth factors and cytokines. *EMBO Mol Med* 2010; 2(8): 294–305. doi: 10.1002/emmm.201000085
87. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev* 1998; 12(2): 149–62. doi: 10.1101/gad.12.2.149
88. Nath B, Szabo G. Hypoxia and hypoxia inducible factors: diverse roles in liver diseases. *Hepatology* 2012; 55(2): 622–33. doi: 10.1002/hep.25497

89. Schödel J, Oikonomopoulos S, Ragoussis J, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Mole DR. High-resolution genome-wide mapping of HIF-binding sites by ChIP-seq. *Blood* 2011; 117(23): e207-17. doi: 10.1182/blood-2010-10-314427
90. Maeno H, Ono T, Dhar K, Sato T, Yamanoi A, Nagasue N. Expression of hypoxia inducible factor-1alpha during liver regeneration induced by partial hepatectomy in rats. *Liver Int* 2005; 25(5): 1002–9. doi: 10.1111/j.1478-3231.2005.01144.x
91. Heim MH, Gamboni G, Beglinger C, Gyr K. Specific activation of AP-1 but not Stat3 in regenerating liver in mice. *Eur J Clin Invest* 1997; 27(11): 948–55. doi: 10.1046/j.1365-2362.1997.2100770.x
92. Gao B, Wang H, Lafdil F, Feng D. STAT proteins - key regulators of anti-viral responses, inflammation, and tumorigenesis in the liver. *J Hepatol* 2012; 57(2): 430–41. doi: 10.1016/j.jhep.2012.01.029
93. Blindenbacher A, Wang X, Langer I, Savino R, Terracciano L, Heim MH. Interleukin 6 is important for survival after partial hepatectomy in mice. *Hepatology* 2003; 38(3): 674–82. doi: 10.1053/jhep.2003.50378
94. Hernández-Bule ML, Martínez MA, Trillo MÁ, Martínez L, Toledano-Macías E, Úbeda A. Response of human cancer cells to simultaneous treatment with sorafenib and radiofrequency current. *Oncol Lett* 2021; 22(5): 807. doi: 10.3892/ol.2021.13068
95. Shi X, Wang J, Lei Y, Cong C, Tan D, Zhou X. Research progress on the PI3K/AKT signaling pathway in gynecological cancer (Review). *Mol Med Rep* 2019; 19(6): 4529–35. doi: 10.3892/mmr.2019.10121
96. Jackson LN, Larson SD, Silva SR, Rychahou PG, Chen LA, Qiu S, et al. PI3K/Akt activation is critical for early hepatic regeneration after partial hepatectomy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294(6): G1401-10. doi: 10.1152/ajpgi.00062.2008
97. Sheng H, Shao J, Townsend CM, Evers BM. Phosphatidylinositol 3-kinase mediates proliferative signals in intestinal epithelial cells. *Gut* 2003; 52(10): 1472–8. doi: 10.1136/gut.52.10.1472
98. Watanabe H, Saito H, Rychahou PG, Uchida T, Evers BM. Aging is associated with decreased pancreatic acinar cell regeneration and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt activation. *Gastroenterology* 2005; 128(5): 1391–404. doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.016

99. Vanhaesebroeck B, Jones GE, Allen WE, Zicha D, Hooshmand-Rad R, Sawyer C, et al. Distinct PI(3)Ks mediate mitogenic signaling and cell migration in macrophages. *Nat Cell Biol* 1999; 1(1): 69–71. doi: 10.1038/9045
100. Strain AJ, McGowan JA, Bucher NLR. Stimulation of DNA synthesis in primary cultures of adult rat hepatocytes by rat platelet-associated substance(s). *In Vitro* 1982; 18(2): 108–16. doi: 10.1007/BF02796402
101. Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, et al. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science* 2006; 312(5770): 104–7. doi: 10.1126/science.1123842
102. Kirschbaum M, Jenne CN, Veldhuis ZJ, Sjollem KA, Lenting PJ, Giepmans BNG, et al. Transient von Willebrand factor-mediated platelet influx stimulates liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Liver Int* 2017; 37(11): 1731–7. doi: 10.1111/liv.13386
103. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev* 2017; 36(2): 195–8. doi: 10.1007/s10555-017-9677-x
104. Takahashi K, Liang C, Oda T, Ohkohchi N. Platelet and liver regeneration after liver surgery. *Surg Today* 2020; 50(9): 974–83. doi: 10.1007/s00595-019-01890-x
105. Repsold L, Joubert AM. Platelet Function, Role in Thrombosis, Inflammation, and Consequences in Chronic Myeloproliferative Disorders. *Cells* 2021; 10(11): 3034. doi: 10.3390/cells10113034
106. Braet F, Shleper M, Paizi M, Brodsky S, Kopeiko N, Resnick N, et al. Liver sinusoidal endothelial cell modulation upon resection and shear stress in vitro. *Comp Hepatol* 2004; 3(1): 7. doi: 10.1186/1476-5926-3-7
107. Wack KE, Ross MA, Zegarra V, Sysko LR, Watkins SC, Stolz DB. Sinusoidal ultrastructure evaluated during the revascularization of regenerating rat liver. *Hepatology* 2001; 33(2): 363–78. doi: 10.1053/jhep.2001.21998
108. Matsuo R, Ohkohchi N, Murata S, Ikeda O, Nakano Y, Watanabe M, et al. Platelets Strongly Induce Hepatocyte Proliferation with IGF-1 and HGF In Vitro. *J Surg Res* 2008; 145(2): 279–86. doi: 10.1016/j.jss.2007.02.035

109. Lisman T, Porte RJ. Mechanisms of platelet-mediated liver regeneration. *Blood* 2016; 128(5): 625–9. doi: 10.1182/blood-2016-04-692665
110. Kirschbaum M, Karimian G, Adelmeijer J, Giepmans BNG, Porte RJ, Lisman T. Horizontal RNA transfer mediates platelet-induced hepatocyte proliferation. *Blood* 2015; 126(6): 798–806. doi: 10.1182/blood-2014-09-600312
111. Kawasaki T, Murata S, Takahashi K, Nozaki R, Ohshiro Y, Ikeda N, et al. Activation of human liver sinusoidal endothelial cell by human platelets induces hepatocyte proliferation. *J Hepatol* 2010; 53(4): 648–54. doi: 10.1016/j.jhep.2010.04.021
112. Murata S, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Watanabe M, Hisakura K, et al. Platelets promote liver regeneration under conditions of Kupffer cell depletion after hepatectomy in mice. *World J Surg* 2008; 32(6): 1088–96. doi: 10.1007/s00268-008-9493-0
113. Takahashi K, Kozuma Y, Suzuki H, Tamura T, Maruyama T, Fukunaga K, et al. Human platelets promote liver regeneration with Kupffer cells in SCID mice. *J Surg Res* 2013; 180(1): 62–72. doi: 10.1016/j.jss.2012.11.030
114. Mehrabi A, Golriz M, Khajeh E, Ghamarnejad O, Probst P, Fonouni H, et al. Meta-analysis of the prognostic role of perioperative platelet count in posthepatectomy liver failure and mortality. *Br J Surg* 2018; 105(10): 1254–61. doi: 10.1002/bjs.10906
115. Kisaoglu A, Doğru V, Yilmaz VT, Demiryilmaz I, Avanaz A, Sarikaya SM, et al. Safety and Threshold Analysis of Preoperative Platelets in Right Lobe Living Donors for Liver Transplantation. *J Gastrointest Surg* 2022; 26(1): 77–85. doi: 10.1007/s11605-021-05047-5
116. Han S, Park H-W, Song JH, Gwak MS, Lee WJ, Kim G, et al. Association Between Intraoperative Platelet Transfusion and Early Graft Regeneration in Living Donor Liver Transplantation. *Ann Surg* 2016; 264(6): 1065–72. doi: 10.1097/SLA.0000000000001526
117. Chen J, Jiang H. A Comprehensive Review of Concentrated Growth Factors and Their Novel Applications in Facial Reconstructive and Regenerative Medicine. *Aesthetic Plast Surg* 2020; 44(3): 1047–57. doi: 10.1007/s00266-020-01620-6

118. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10(4): 225–8. doi: 10.1097/00008505-200110000-00002
119. Alves R, Grimalt R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disord* 2018; 4(1): 18–24. doi: 10.1159/000477353
120. Arora G, Arora S. Platelet-rich plasma—Where do we stand today? A critical narrative review and analysis. *Dermatol Ther* 2021; 34(1): e14343. doi: 10.1111/dth.14343
121. Sharda A, Flaumenhaft R. The life cycle of platelet granules. *F1000Res* 2018; 7: 236. doi: 10.12688/f1000research.13283.1
122. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol* 2014; 40(6): 679–89. doi: 10.1563/aaid-joi-D-14-00138
123. Lana JFSD, Purita J, Paulus C, Huber SC, Rodrigues BL, Rodrigues AA, et al. Contributions for Classification of Platelet Rich Plasma – Proposal of a New Classification: MARSPILL. *Regen Med* 2017; 12(5): 565–74. doi: 10.2217/rme-2017-0042
124. Boswell SG, Cole BJ, Sundman EA, Karas V, Fortier LA. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. *Arthroscopy* 2012; 28(3): 429–39. doi: 10.1016/j.arthro.2011.10.018
125. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *J Cutan Aesthet Surg* 2014; 7(4): 189-97. doi: 10.4103/0974-2077.150734
126. Cavallo C, Roffi A, Grigolo B, Mariani E, Pratelli L, Merli G, et al. Platelet-Rich Plasma: The Choice of Activation Method Affects the Release of Bioactive Molecules. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 6591717. doi: 10.1155/2016/6591717
127. Chloride and Calcium Gluconate in Activated PRP. *Thai J of Otolaryngol Head and Neck Surgery* 2020; 21(1). [cited 2024 Jun 4]. Available from: <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/rcotJ/article/view/246547>

128. Marlovits S, Mousavi M, Gäbler C, Erdös J, Vécsei V. A new simplified technique for producing platelet-rich plasma: a short technical note. *Eur Spine J* 2004; 13 Suppl 1 (Suppl 1): S102-6. doi: 10.1007/s00586-004-0715-3
129. da Silva LQ, Huber SC, Montalvão SADL, Bassora FDS, De Paula EV, Annichino-Bizzacchi J. Platelet Activation Is Not Crucial for Platelet-Rich Plasma (PRP), When Used as Autologous Therapeutic Product, and Could be Lyophilized without Any Growth Factor Loss. *Blood* 2016; 128(22): 2639. <https://doi.org/10.1182/blood.V128.22.2639.2639>
130. Smith OJ, Talaat S, Tomouk T, Jell G, Mosahebi A. An Evaluation of the Effect of Activation Methods on the Release of Growth Factors from Platelet-Rich Plasma. *Plast Reconstr Surg* 2022; 149(2):404–11. doi: 10.1097/PRS.00000000000008772
131. Lee JW, Hyun Kwon O, Kim TK, Cho YK, Choi KY, Chung HY, et al. Platelet-Rich Plasma: Quantitative Assessment of Growth Factor Levels and Comparative Analysis of Activated and Inactivated Groups. *Arch Plast Surg* 2013; 40(5): 530-5. doi: 10.5999/aps.2013.40.5.530
132. Shoeib HM, Keshk WA, Foda AM, Abo El Noeman SAEDE. A study on the regenerative effect of platelet-rich plasma on experimentally induced hepatic damage in albino rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2018; 96(6): 630–6. doi: 10.1139/cjpp-2017-0738
133. Pitsilos C, Karachrysafi S, Fragou A, Gigis I, Papadopoulos P, Chalidis B. The Biological Effect of Platelet-Rich Plasma on Rotator Cuff Tears: A Prospective Randomized In Vivo Study. *Int J Mol Sci* 2024; 25(14): 7957. doi: 10.3390/ijms25147957
134. Ohura N, Kimura C, Ando H, Yuzuriha S, Furukawa M, Higashita R, et al. Efficacy of autologous platelet-rich plasma gel in patients with hard-to-heal diabetic foot ulcers: a multicentre study in Japan. *J Wound Care* 2024; 33(7): 484-94. doi: 10.12968/jowc.2023.0088
135. Ebrahimibagha H, Zeinalpour A. Platelet-rich plasma improves acute and chronic anal fissure, a randomized control trial. *Wound Repair Regen* 2023; 31(5): 655–62. doi: 10.1111/wrr.13103
136. Chen J, Wan Y, Lin Y, Jiang H. Considerations for Clinical Use of Concentrated Growth Factor in Maxillofacial Regenerative Medicine. *J Craniofac Surg* 2021; 32(4): 1316–21. doi: 10.1097/SCS.00000000000007182

137. Chen L, Cheng J, Cai Y, Zhang J, Yin X, Luan Q. Efficacy of concentrated growth factor (CGF) in the surgical treatment of oral diseases: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health* 2023; 23(1): 712. doi: 10.1186/s12903-023-03357-5
138. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech* 2011; 74(8): 772–7. doi: 10.1002/jemt.20968
139. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int J Implant Dent* 2016; 2(1): 19. doi: 10.1186/s40729-016-0052-4
140. Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, Okudera H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *Int J Implant Dent* 2017; 3(1): 17. doi: 10.1186/s40729-017-0081-7
141. Kalyoncu A, Balaban E, Mercantepe T, Tümkaya L. Dexamethasone and concentrated growth factors on peripheral nerve injury: A clinic-relevant animal study. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2024; 28; 101850. doi: 10.1016/j.jormas.2024.101850
142. Li H, Han W, Wu X, Feng J, Li G, Meng J. Preliminary study of arthrocentesis combined with liquid phase concentrated growth factor injection in the treatment of unilateral temporomandibular joint osteoarthritis. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2024; 56(2): 338-344. doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2024.02.022
143. You J-S, Jung G-W, Oh J-S, Moon S-Y, Lee W-P, Jo H-H. Volumetric evaluation of effects of platelet-rich fibrin and concentrated growth factor on early bone healing after endodontic microsurgery: a randomized controlled trial. *BMC Oral Health* 2023; 23(1): 821. doi: 10.1186/s12903-023-03530-w
144. Dai Y, Han X-H, Hu L-H, Wu H-W, Huang S-Y, Lü Y-P. Efficacy of concentrated growth factors combined with mineralized collagen on quality

- of life and bone reconstruction of guided bone regeneration. *Regen Biomater* 2020; 7(3): 313–20. doi: 10.1093/rb/rbaa007
145. Amato B, Farina MA, Campisi S, Ciliberti M, Di Donna V, Florio A, et al. CGF Treatment of Leg Ulcers: a Randomized Controlled Trial. *Open Med (Wars)* 2019; 14(1): 959-67. doi: 10.1515/med-2019-0113
 146. Anderson RM, Higgins GM, (Athor's). Experimental pathology of the liver, Restoration of the liver of the white rat following surgical removal. *Arch Pathol (Chic)* 1931; 12: 186–202. Available from: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571698599297650304>
 147. Gilg S, Sandström P, Rizell M, Lindell G, Ardnor B, Strömberg C, et al. The impact of post-hepatectomy liver failure on mortality: a population-based study. *Scand J Gastroenterol* 2018; 53(10–11): 1335–9. doi: 10.1080/00365521.2018.1501604
 148. Baumgartner R, Gilg S, Björnsson B, Hasselgren K, Ghorbani P, Sauter C, et al. Impact of post-hepatectomy liver failure on morbidity and short- and long-term survival after major hepatectomy. *BJS Open* 2022; 6(4): zrac097. doi: 10.1093/bjsopen/zrac097
 149. Med Sci TJ, Ocak İ, Topaloğlu S, Acarli K. Article 1 1-1-2020 Part of the Medical Sciences Commons Recommended Citation Recommended Citation OCAK. *Turk J Med Sci* 2020; 50(6): Available from: <https://journals.tubitak.gov.tr/medicalhttps://doi.org/10.3906/sag-2006-31>Availableat:<https://journals.tubitak.gov.tr/medical/vol50/iss6/1>
 150. Clavien P-A, Oberkofler CE, Raptis DA, Lehmann K, Rickenbacher A, El-Badry AM. What is critical for liver surgery and partial liver transplantation: size or quality? *Hepatology* 2010; 52(2): 715–29. doi: 10.1002/hep.23713
 151. Liang C, Takahashi K, Furuya K, Oda T, Ohkohchi N. Platelets Stimulate Liver Regeneration in a Rat Model of Partial Liver Transplantation. *Liver Transpl* 2021; 27(5): 719–34. doi: 10.1002/lt.25962
 152. Watanabe M, Murata S, Hashimoto I, Nakano Y, Ikeda O, Aoyagi Y, et al. Platelets contribute to the reduction of liver fibrosis in mice. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(1): 78–89. doi: 10.1111/j.1440-1746.2008.05497.x
 153. Di Domenico S, Santori G, Traverso N, Balbis E, Furfaro A, Grillo F, et al. Early effects of portal flow modulation after extended liver resection in rat. *Dig Liver Dis* 2011; 43(10): 814–22. doi: 10.1016/j.dld.2011.05.018

154. Quintini C, Hirose K, Hashimoto K, Diago T, Aucejo F, Egtesad B, et al. 'Splenic artery steal syndrome': Is a misnomer: The cause is portal hyperperfusion, not arterial siphon. *Liver Transpl* 2008; 14(3): 374–9. doi: 10.1002/lt.21386
155. Avanaz A, Avanaz E, Kisaoglu A, Yilmaz VT, Demiryilmaz I, Aydinli B. Diagnosis and treatment of splenic artery steal syndrome after liver transplantation. *Surg Pract* 2022; 26(4): 273–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1744-1633.12542>
156. Akamatsu N, Sugawara Y, Satou S, Mitsui T, Ninomiya R, Komagome M, et al. Hemodynamic Changes in the Hepatic Circulation After the Modulation of the Splenic Circulation in an In Vivo Human Experimental Model. *Liver Transpl* 2014; 20(1): 116–21. doi: 10.1002/lt.23763
157. Eipel C, Abshagen K, Ritter J, Cantré D, Menger MD, Vollmar B. Splenectomy improves survival by increasing arterial blood supply in a rat model of reduced-size liver. *Transpl Int* 2010; 23(10): 998–1007. doi: 10.1111/j.1432-2277.2010.01079.x
158. Kim J, Kim CJ, Ko IG, Joo SH, Ahn HJ. Splenectomy affects the balance between hepatic growth factor and transforming growth factor- β and its effect on liver regeneration is dependent on the amount of liver resection in rats. *J Korean Surg Soc* 2012; 82(4): 238-45. doi: 10.4174/jkss.2012.82.4.238
159. Liu G, Xie C, Fang Y, Qian K, Liu Q, Liu G, et al. Splenectomy after partial hepatectomy accelerates liver regeneration in mice by promoting tight junction formation via polarity protein Par 3-aPKC. *Life Sci* 2018; 192: 91–8. doi: 10.1016/j.lfs.2017.11.032
160. Bayoumi AMA, Ismail MAM, Mahmoud SS, Soliman ASA, Mousa AMA, Yousof HASA. The potential curative and hepatoprotective effects of platelet rich plasma on liver fibrosis in *Schistosoma mansoni* experimentally infected mice. *J Parasit Dis* 2023; 47(2): 349-62. doi: 10.1007/s12639-023-01576-9
161. Li W, Liang X, Kellendonk C, Poli V, Tab R. STAT3 Contributes to the Mitogenic Response of Hepatocytes during Liver Regeneration. *J Biol Chem* 2002; 277(32): 28411–7. doi: 10.1074/jbc.M202807200
162. Moh A, Iwamoto Y, Chai G-X, Shao-Min Zhang S, Kano A, Yang DD, et al. Role of STAT3 in liver regeneration: survival, DNA synthesis, inflammatory

- reaction and liver mass recovery. *Lab Invest* 2007; 87(10): 1018–28. doi: 10.1038/labinvest.3700630
163. Meng F, Wang K, Aoyama T, Grivennikov SI, Paik Y, Scholten D, et al. Interleukin-17 signaling in inflammatory cells, Kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2012; 143(3): 765-76.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2012.05.049
 164. Xiang DM, Sun W, Ning B-F, Zhou T-F, Li X-F, Zhong W, et al. The HLF/IL-6/STAT3 feedforward circuit drives hepatic stellate cell activation to promote liver fibrosis. *Gut* 2018; 67(9): 1704–15. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313392
 165. Zhao J, Qi Y-F, Yu Y-R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2021; 21: 100224. doi: 10.1016/j.aohep.2020.06.010
 166. Collado M, Blasco MA, Serrano M. Cellular Senescence in Cancer and Aging. *Cell* 2007; 130(2): 223–33. doi: 10.1016/j.cell.2007.07.003
 167. Bird TG, Müller M, Boulter L, Vincent DF, Ridgway RA, Lopez-Guadamillas E, et al. TGF β inhibition restores a regenerative response in acute liver injury by suppressing paracrine senescence. *Sci Transl Med* 2018; 10(454): ean1230. doi: 10.1126/scitranslmed.aan1230
 168. Wang C, Chen W-J, Wu Y-F, You P, Zheng S-Y, Liu C-C, et al. The extent of liver injury determines hepatocyte fate toward senescence or cancer. *Cell Death Dis* 2018; 9(5): 575. doi: 10.1038/s41419-018-0622-x
 169. Pang X, Gao S, Liu T, Xu FX, Fan C, Zhang JF, et al. Identification of STAT3 as a biomarker for cellular senescence in liver fibrosis: A bioinformatics and experimental validation study. *Genomics* 2024; 116(2): 110800. doi: 10.1016/j.ygeno.2024.110800