



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

RATLARDA DENEYSEL KONTROLLÜ
NON-HEART-BEATING DONÖR (NHBD)
MODELİNDE GHRELİNİN KARACİĞER HASARINI
ÖNLEYİCİ ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat MERT

KAYSERİ - 2012



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

RATLARDA DENEYSEL KONTROLLÜ
NON-HEART-BEATING DONÖR (NHBD)
MODELİNDE GHRELİNİN KARACİĞER HASARINI
ÖNLEYİCİ ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat MERT

Danışman
Prof. Dr. A. Zeki YILMAZ

KAYSERİ - 2012

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR	iv
RESİM ve GRAFİK LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. KARACİĞER.....	4
2.1.1. Embriyoloji	4
2.1.2. Histoloji	4
2.2. KARACİĞERİN ANATOMİSİ	5
2.2.1. Yapısal Anatomi	5
2.2.2. Vasküler anatomi	6
2.3. KARACİĞERİN FİZYOLOJİSİ	7
2.4. KARACİĞERİN GÖREVLERİ	7
2.5. KARACİĞER NAKLİ	8
2.6. NON-HEART BEATING DONÖRLER.....	11
2.7. KARACİĞERDE İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI	16
2.9. GHRELİN: YAPISI VE ÖZELLİKLERİ	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. DENEYSEL MODEL	21
3.2. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	24
3.2.1. Karaciğer fonksiyon testleri.....	24
3.2.2. IL-6, TNF- α	24

3.2.3. Laktat	25
3.3. HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER	25
3.3.1. Prolifere olan hücre nükleer antijeni (PCNA) ile işaretlenme oranı.....	25
3.3.2. Bcl-2 ile işaretlenme oranı	26
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	26
4. BULGULAR	27
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR	27
4.1.1. AST sonuçları	27
4.1.2. ALT sonuçları	27
4.1.4. IL-6 sonuçları.....	28
4.1.5. TNF- α sonuçları.....	29
4.1.6. Laktat sonuçları	29
4.2. HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR	30
4.2.1. Prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) sonuçları.....	30
4.2.2. Bcl-2 sonuçları	30
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇLAR	56
7. KAYNAKLAR	59

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi eğitimim süresince engin bilgisinden ve tecrübesinden istifade ettiğim, mükemmelliyetçi kişiliği, çalışma ahlakı ve disiplini ile her zaman örnek aldığım, başta tez danışmanım Prof. Dr. Zeki YILMAZ olmak üzere tüm hocalarıma, asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize, değerli personelimize ve bu süre zarfında sonsuz fedakarlığını ve desteklerini esirgemeyen onunla onur duyduğum hayat arkadaşım Dr. Derya MERT'e ve yine bu süre zarfında, ara sıra olsa bile kucaklar dolusu sevgimden ve ilgimden mahrum kalabilme fedakarlığını ve sabrını gösteren biricik kızım Lizge'ye ve biricik oğlum Doruk'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
ATP	: Adenozin trifosfat
Bcl-2	: B cell lenfoma-2
PCNA	: Prolifere olan hücre nükleer antijeni
NHBD	: Non-heart beating donör
HBD	: Heart beating donör
PNF	: Primer nonfonksiyon
IRI	: İskemi-reperfüzyon hasarı
HTK	: Histidin triptofan ketoglutarat
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
GPX	: Gulutasyon peroksidaz
CAT	: Katalaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
MDA	: Malondialdehyde
NF-kappaβ	: Nükleer faktör kappa β
GHSR-1a	: Büyüme hormonu sekretoğ reseptör tip 1a
TNF-α	: Tümör nekroze edici faktör alfa
IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
mmol/L	: Milimol/litre
IU/L	: Uluslararası ünite/litre
pg/mL	: Pikogram / mililitre
WU	: Wisconsin Üniversitesi
PBS	: Tamponlanmış salin

RESİM ve GRAFİK LİSTESİ

Resim 1.	Karaciğerin Segmenter Anatomisi	6
Resim 2.	Laparotomi sonrası Portal ven kateterizasyonu	22
Resim 3.	Hepatektomi sonrası perfüzyon için portal ven ve vena kava kateterizasyonu.....	22
Resim 4.	Ghrelin(rat) intravenöz olarak uygulanması	23
Resim 5.	Kontrol grubunda PCNA ile hepatositlerdeki nükleer boyanma(x100).....	39
Resim 6.	Çalışma grubunda PCNA ile hepatositlerdeki nükleer boyanma(x100).....	39
Resim 7.	Kontrol grubunda bcl-2 ile sitoplazmik boyanma(x100).....	43
Resim 8.	Çalışma grubunda bcl-2 ile sitoplazmik boyanma(x100)	44
Grafik 1.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında AST değerlerinin karşılaştırılması	31
Grafik 2.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında ALT değerlerinin karşılaştırılması	31
Grafik 3.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında IL-6 değerlerinin karşılaştırılması	32
Grafik 4.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında TNF- α değerlerinin karşılaştırılması.....	32
Grafik 5.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında Laktat değerlerinin karşılaştırılması	33
Grafik 6.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Grafik 7.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma(Ghrelin) Gruplarında bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması	40
Grafik 8.	Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma(Ghrelin) Gruplarında bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması	40

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kontrol I (Kontrol 15) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri	33
Tablo 2.	Kontrol II (Kontrol 30) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri	34
Tablo 3.	Kontrol III (Kontrol 60) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri	34
Tablo 4.	Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri	34
Tablo 5.	Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri	35
Tablo 6.	Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri	35
Tablo 7.	15.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol I ve Çalışma I gruplarında AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Tablo 8.	30.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol II ve Çalışma II gruplarında AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Tablo 9.	60.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol III ve Çalışma III gruplarında AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Tablo 10.	15.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol I ve Çalışma I gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması	38
Tablo 11.	30.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol II ve Çalışma II gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması	38
Tablo 12.	60.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol III ve Çalışma III gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması	38
Tablo 13.	Kontrol I ve Çalışma I gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddeti değerleri	41
Tablo 14.	Kontrol I ve Çalışma I gruplarının bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması	41
Tablo 15.	Kontrol I ve Çalışma I gruplarındaki bcl-2 boyanma oranları değerleri.....	41
Tablo 16.	Kontrol I ve Çalışma I gruplarındaki bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması	42
Tablo 17.	Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddeti değerleri.....	42

Tablo 18.	Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması	42
Tablo 19.	Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma oranları değerleri ...	43
Tablo 20.	Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması	43
Tablo 21.	Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddeti değerleri .	44
Tablo 22.	Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması	45
Tablo 23.	Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma oranları değerleri	45
Tablo 24.	Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması	45

**RATLARDA, DENEYSEL KONTROLLÜ NON–HEART–BEATING DONÖR
(NHBD) MODELİNDE GHRELİNİN KARACİĞER HASARINI ÖNLEYİCİ
ETKİSİ
ÖZET**

Amaç: Bu çalışmada amaç, ratlarda deneysel kontrollü non–heart beating donör (NHBD) modelinde, kardiyak arrest öncesi, ghrelın kullanılarak sıcak iskemi süresini uzatmak, sıcak iskeminin oluşturduğu etkileri azaltmak ve iskemi-reperfüzyon hasarından karaciğeri koruyarak NHBD organlarının kullanılabilirliğini artırmak.

Materyal ve Metod: Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Ocak-Eylül 2011 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada 225-290 gram ağırlığında 48 Erkek Wistar-Albino rat (28-32 haftalık) kullanıldı. Ratlardan , Kontrol I-II-III (15,30,60 dakika sıcak iskemi süresi), Çalışma I-II-III (15,30,60 dakika sıcak iskemi süresi) grubu şeklinde herbiri 8 sıçan içeren toplam 6 grup oluşturuldu. Sıçanlara intraperitoneal ketamin-HCl (10 mg/kg) ve xylazin (3 mg/kg) ile anestezi altında servikal dislokasyon yapıldı. Bu işlemten önce sıçanlara 0,1 ml heparin subkütan olarak uygulandı. Kontrol grubunda , anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 15 dakika, 30 dakika, 60 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirildi, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler Wisconsin solüsyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı. Çalışma grubunda, ghrelın 12 nmol/kg intravenöz olarak verilerek, 30 dakika sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 15 dakika, 30 dakika, 60 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirilerek, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler Wisconsin solüsyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı. Kontrol ve çalışma grubundaki sıçanların perfüizatları biyokimyasal parametrelerden AST, ALT, IL-6, TNF- α ve Laktat çalışılmak üzere çalışma gününe kadar -80 derecede saklandı. İmmunohistokimyasal olarak karaciğerler PCNA ve bcl-2 pozitifliği yönünden değerlendirilmek üzere uygun koşullarda saklandı.

Bulgular: Aynı sıcak iskei sürelerine sahip Kontrol ve çalışma (ghrelin) grupları karşılaştırıldı. AST değerleri tüm sıcak iskei sürelerinde çalışma grubunda, kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı şekilde daha düşüktü (15. dakikada $P = 0.041$, 30. dakikada $P=0.047$, 60. dakikada $P=0.016$). 15 dakika sıcak iskei ALT değeri çalışma grubunda, kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı şekilde daha düşüktü ($P = 0.021$). 30 ve 60 dakika sıcak iskei ALT değerleri kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasada çalışma grubu kontrol grubuna göre daha düşük değerlere sahipti (30. dakika $P= 0.234$, 60. dakika $P = 0.610$). IL-6 değerleri 15. , 30. ve 60. dakika sıcak iskei kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasada çalışma grubu kontrol grubuna göre daha düşük değerlere sahipti (15. dakika $P=0.362$, 30. dakika $P=0.077$, 60. dakika $P=0.065$). TNF- α değerleri tüm sıcak iskei sürelerinde çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı şekilde daha düşüktü (15. dakikada $P= <0.001$, 30. dakikada $P=<0.001$, 60. dakikada $P=<0.008$). Laktat değerleri tüm sıcak iskei sürelerinde çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı şekilde daha düşüktü (15. dakikada $P = < 0.001$, 30. dakikada $P=<0.001$, 60. dakikada $P=<0.001$). PCNA işaretlenme oranları 15. , 30. dakika sıcak iskei süreleri karşılaştırıldıklarında, kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırası ile $P=0.503$, $P=0.265$). 60. dakika sıcak iskei süresinde PCNA işaretlenme oranı çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük değere sahipti ($P=<0.001$). Bcl-2 boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri açısından 15. , 30. ve 60. dakika sıcak iskei sürelerinde kontrol ve çalışma grupları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasada çalışma grubu kontrol grubuna göre daha düşük değerlere sahipti (Boyanma şiddetinde 15. dakikada $P=0.315$, 30. dakika $P=1.000$, 60. dakika $P=0.000$. Boyanma yüzdesinde 15. dakikada $P=0.184$, 30. dakika $P=0.619$, 60. dakika $P=0.076$).

Sonuç: Ghrelin, ratlarda deneysel kontrollü non-heart beating donör modelinde, uzamış sıcak iskeiye rağmen, iskei reperfüzyonun zararlı etkilerinden karaciğeri biyokimyasal ve morfolojik olarak koruyarak, greft disfonksiyonu ve primer greft nonfonksiyonunu (PNF) önlemektedir.

Anahtar Kelimeler: Non-heart-beating donör (NHBD), sıcak iskei (Sİ), primer greft nonfonksiyonu (PNF), ghrelin.

**PREVENTIVE EFFECT OF GHRELIN ON LIVER INJURY IN NON-HEART-
BEATING DONOR (NHBD) MODEL WITH EXPERIMENTAL CONTROL IN
RATS**

ABSTRACT

Objective: In the present study the aim was to prolong warm ischemia time; to mitigate the effects of warm ischemia; to protect liver from ischemia-reperfusion injury by using ghrelin before exposed to cardiac arrest in a non-heart beating donor (NHBD) model with experimental control in rats; thereby, to increase usability of these organs.

Material and method: This experimental study was performed at Hakan Çetinsaya Experimental and Clinical Research Center of Erciyes University, Medicine School between January 2011 and September 2011. Forty-eight male Wistar-Albino rats (28-32 week old, 225-290 g weight) were used in the present study. Rats were assigned into 6 group (n=8) including Control I-II-III (15, 30, 60 min warm ischemia time, respectively) and Study I-II-III (15, 30, 60 min warm ischemia time, respectively). Cervical dislocation was performed under ketamine (10 mg/kg) and xylazine (3 mg/kg) anesthesia following 0.1 ml SC heparin injection. In the control group, a laparotomy with midline incision was done after 15, 30 and 60 min warm ischemia period in the rats underwent cervical dislocation. A 3.5 Fr catheter was inserted to portal vein and hepatic artery ligation was done from proximal to its pedicle. Liver was flushed by giving 50 ml cold (+4 °C) Euro Collins solution from portal vein. Then, liver was removed by hepatectomy and liver perfusion was achieved by Wisconsin solution; followed by cold storage for 4 hours. In the study group, cervical dislocation was performed 30 minutes after 12 nmol/kg IV ghrelin administration. Then, a laparotomy with midline incision was done after 15, 30 and 60 min warm ischemia period in the rats underwent cervical dislocation. A 3.5 Fr catheter was inserted to portal vein and hepatic artery ligation was done from proximal to its pedicle. Liver was flushed by giving 50 ml cold (+4 °C) Euro Collins solution from portal vein. Then, liver was removed by hepatectomy and liver perfusion was achieved by Wisconsin solution; followed by cold storage for 4 hours. Perfusate of rats both in study and control groups were stored at -80 °C to evaluate AST, ALT, IL-6, TNF- α and lactate. Livers were stored in appropriate condition to assess PCNA and Bcl-2 by immunohistochemistry.

Findings: Control and study groups with same warm ischemia period were compared. When AST values were compared, it was statistically significant lower in study group than control group for all warm ischemia periods ($p=0.041$ for 15 min; $p=0.047$ for 30 min; $p=0.016$ for 60 min). When ALT values were compared, ALT value for 15 minute was statistically significant lower in study group than control group ($p=0.021$); however, ALT value for 30 and 60 min was lower in study group, but didn't reach statistically significance ($p=0.234$ for 15 min and $p=0.610$ for 60 min). When IL-6 values were compared, it was found that study group had lower values than control group, although difference for 15, 30 and 60 min didn't reach statistically significance ($p=0.362$ for 15 min; $p=0.77$ for 30 min; $p=0.065$ for 60 min). When TNF- α values were compared, it was significantly lower in study group than control group for all warm ischemia periods ($p<0.001$ for 15 min; $p<0.001$ for 30 min; $p<0.008$ for 60 min). When lactate values were compared it was significantly lower in study group than control group for all warm ischemia periods ($p<0.001$ for 15 min; $p<0.001$ for 30 min; $p<0.001$ for 60 min). When PCNA labeling percentage was compared, no significant difference was found between groups for 15, 30 min warm ischemia periods ($p=0.503$ for 15 min; $p=0.265$ for 30 min). PCNA labeling percentage was statistically significantly lower in study group than control group for 60 min. warm ischemia period ($p<0.001$). When Bcl-2 staining intensity and percentage were compared, study groups had lower values than control groups, although difference for 15, 30 and 60 min didn't reach statistically significance (Staining intensity: $p=0.315$ for 15 min; $p=1.00$ for 30 min; $p=0.000$ for 60 min; Staining percentage: $p=0.184$ for 15 min; $p=0.619$ for 30 min; $p=0.076$ for 60 min).

Conclusion: Ghrelin prevents graft dysfunction and primary graft non-function (PNF) by biochemically and morphologically protecting liver from harmful effects of ischemia-reperfusion in the setting of prolonged warm ischemia in non-heart beating donor (NHBD) model with experimental control in rats.

Keywords: Non-heart beating donor (NHBD), warm ischemia (WI), primary graft non-function (PNF), ghrelin.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son dönem karaciğer yetmezliği olan hastalarda fonksiyonunu yitirmiş organın yerine yeni bir karaciğer'in nakledilmesine karaciğer nakli denir. Son onlu yıllarda immunosupresyon, organ korunması, cerrahi teknikteki ilerlemeler ve transplantasyon sonrası komplikasyonların tanı ve tedavisindeki deneyimler karaciğer naklini günümüzdeki başarılı düzeyine ulaştırmış ve deneysel bir teknikten akut ve kronik karaciğer yetmezliğinin tedavisinde tek yöntem haline getirmiştir (1).

Günümüzde organ nakillerindeki en önemli sorunların başında donör organ yetersizliği gelmektedir. Her gün nakil bekliyen hasta sayısı giderek artmaktadır. Ancak, bu artışa paralel olarak mevcut organ kaynakları canlı donörler ve beyin ölümü gerçekleşmiş hastalardan temin edilen organlar ihtiyacı karşılamakta yetersiz kalmaktadır. Organ temin edilemediğinden hastalar bekleme listelerinde iken kaybedilmektedir. Dolayısıyla, Karaciğer nakillerinin sayısı temin edilen uygun verici greftlerinin sayısı ile sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle, verici havuzunu genişletme çabası ile, organ bağış kriterleri daha az sınırlayıcı hale gelmiştir. Yağlı karaciğer ve ileri yaştaki donör karaciğeri gibi marjinal donörler kullanılmaya başlanmıştır.

Son yıllarda ise, kardiyorespiratuar arrest olmuş NHBD' lerden alınan karaciğerlerin kullanımı önem kazanmış ve ilgi odağı haline gelmiştir. NHBD'lerin böbrek ve karaciğer transplantasyonunda kullanıma girmesiyle organ havuzu yaklaşık %20 oranında artırılmıştır (2). "Genişletilmiş kriterlerin" kullanımı ise, greft disfonksiyonu ve primer greft nonfonksiyonunun (PNF) temel nedeni olan iskemi-reperfüzyon hasarındaki (IRI) artışın başlıca nedeni olmuştur (3).

İn situ sıcak iskemiye maruz kalan NHBD' lerden alınan greftlerde PNF riski daha yüksektir. PNF riskindeki bu artış, böbrek naklinde standart girişim haline gelen

NHBD' nin karaciğer naklinde sınırlı kullanımını kısmen de olsa açıklar (4–6). Preklinik hayvan modelinde, 4 saatlik soğuk iskemiyi takiben yapılan NHBD-karaciğer nakli, 15 dakikalık sıcak iskemiyi tolere ettiği, 30 dakika ve üzerindeki sıcak iskemide kabul edilemez oranda yaklaşık %50 PNF'yi indüklediği gözlenmiştir (4). İskemi-reperfüzyon hasarı ve PNF'de önemli patogenetik rol oynayan faktörler şunlardır: Kupffer hücre aktivasyonu, pro-inflamatuvar sitokinlerin fazla üretimi, belirli antioksidanların azalması (alfa-tokoferol ve glutatyon), redoks-aktif demir salgılanmasının artışı (sitotoksik reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizler) ve serum fosfolipaz A2 aktivitesinde artış (7,8).

Karaciğer nakli son dönem karaciğer hastalığı olan hastaların tedavisi için 1-5 yıllık survi oranlarının % 70-80'lere çıkmasıyla iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fakat sadece karaciğer nakil adayları bu tedavinin yararlarını görmektedir (9). Erken NHBD greft surveyleri ile ilgili çalışmalar bir yıllık sağkalımın %73–91, beş yıllık sağkalımın %58–80 oranlarında olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar kadaverik heart beating donör transplantlarla karşılaştırılabilir düzeydedir (10).

Kadaverik heart beating donörün (HBD) ölümü, beyin sapı fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kesilmesine dayanmaktadır. NHBD'lerin ölümü ise dolaşım ve solunum fonksiyonlarının geri dönüşümsüz durmasına dayanmaktadır. Kadaverik HBD'lerde beyin ölümü gerçekleşmiştir, ancak kardiyorespiratuar sistem çalışmaktadır. Bu nedenle beyin ölümlü donörlerde organ iskemisi minimaldir çünkü dolaşımsal arrest, solüsyonların perfüzyonu ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir. Oysa NHBD'lerde organlar daha az idealdir. Çünkü perfüzyon öncesi uzamış dolaşımsal arrest nedeniyle organlar iskemiye maruz kalmaktadırlar (11).

NHBD'lerden sağlanan organlar için ana problem uzamış sıcak iskemi zamanıdır. Organ prezervasyonu ve organ nakillerinin iskemi–reperfüzyon hasarı ile doğrudan ilişkili olduğu kabul edilen bir görüştür. Soğuk ortamda organ hazırlanması (+4°C) metabolizmayı yavaşlatmakta ve iskeminin etkilerini sınırlandırmaktadır. ATP'nin azalması ve O₂ eksikliği anaerobik metabolizmayı aktifler. Laktat ve hipoksantin artmaya ve birikmeye başlar. Tüm bunlar sonucunda da intrasellüler asidoz gelişmektedir. Reperfüzyon, SOR eşliğinde hipoksantin ve ksantin ve ürata dönüşmesini sağlamaktadır. Bu yolak lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır. Fizyolojik olmayan bu sapmalar greft disfonksiyonunun en güçlü nedenlerinden birini oluşturmaktadır (12,13).

NHBD'ler sıcak iskemiye maruz kaldıkları için primer greft nonfonksiyonu daha sıklıkla gelişmektedir. İskemik karaciğerin canlılığını *invivo* değerlendirebilen kabul edilmiş uygun bir teknik olmaması nedeniyle NHBD greftlerinin kullanıldığı organ nakli yapılan geniş serili deneysel modeller hazırlanarak NHBD'lerdeki bu en temel sorun olan sıcak iskemi konusundaki sorular cevaplanmalıdır (14). Sıcak iskemi süresi ne kadar uzun ise transaminazlardaki yükselme de o kadar erken başlamaktadır. Eğer AST yüksekliği erken dönemde geliyorsa o greft surveyi ve fonksiyonu için kötü bir gelecek oluşacağı söylenebilir. Sıcak iskeminin kendisi karaciğer hasarına yol açmaktadır ki bu hasarı iskemi-reperfüzyon hasarı daha da artırmaktadır. Reperfüzyondan önce karaciğer spesmenlerinin incelendiği çalışmalarda sıcak iskeminin kendi başına etkisi koagülasyon, hepatosit nekrozu ve vakuolizasyon ile kanıtlanmıştır (15).

Ghrelin'in antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajan olduğu konusunda birçok kanıt vardır. Örneğin, ghrelinin sıçanların eritrosit, karaciğer ve beyinlerinde lipid peroksidasyonunu önlediği ve oksidatif strese karşı glutatyon seviyelerini ve antioksidan enzim aktivasyonunu artırdığı kanıtlanmıştır (16).

Zwirska-Koreazla ve arkadaşları ghrelinin preadiposit kültürlerinde glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini anlamlı olarak artırdığı ve malondialdehit (MDA) ve lipid peroksidasyonu son ürünlerinin konsantrasyonlarını azalttığını göstermiştir (17).

Ratlarda intestinal iskemi-reperfüzyon modelinde ghrelinin etkinliği araştırılmış ve ghrelin tedavisi almış, barsak I/R hasarı olan hayvanlarda serum TNF-alfa, IL-6 , serum laktat seviyesi ve MPO aktivitesinde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür (18).

Bu çalışmada amaç, kontrollü NHBD modelinde kardiorespiratuar arrest öncesi, ghrelin tedavisi ile sıcak iskemi süresini uzatmak ve sıcak iskeminin oluşturduğu etkileri azaltmak, iskemi-reperfüzyon hasarından karaciğeri koruyarak bu organların kullanılabilirliğinin artırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER

2.1.1. Embriyoloji

Karaciğer, ön barsağın (foregut) endoderminden ve septum transversumun mezoderminden köken alır. Dört haftalık embriyoda, ön barsağın daha sonra duodenumun gelişeceği ventral bölgesinde bir divertikül meydana gelir. Divertikülün kaudal bölümü duktus sistikus ve safra kesesi şeklinde gelişir. Kranial bölümden ise karaciğer meydana gelir (19).

2.1.2. Histoloji

Karaciğer, dolaşım sistemi ile sindirim sistemi arasında alış-veriş sağlayan bir geçiş bölgesidir. Vücuda sindirim sistemi ile giren sıvı, elektrolit ve gıda maddeleri karaciğer tarafından işlenerek hücreler ve dokuların kullanımına uygun hale getirilir. Bu maddelerin depolanıp gerektiğinde kana verilmesi yanında oluşan metabolitler ile açığa çıkan toksinlerin nötralizasyonu ve atılması aşamasında da kilit rol oynar. Bu görevleri yapabilmesi için sindirim sistemi ile dolaşım sisteminin birleşim noktasında bulunur (19).

Karaciğerin temel yapısını hepatositler oluşturur. Bu epitelial kökenli hücreler karaciğerin en küçük yapısal birimi olan lobülleri oluştururlar. Lobüller yaklaşık 0,7x 2 mm boyutlarında poligonal yapılardır. İnsanlarda, lobüller birbirleriyle yakın temasta oldukları için kesin sınırları ayırt etmek oldukça güçtür. Bazı bölgelerde, lobüller safra kanalları, lenfatikler, sinirler ve kan damarları içeren bağ dokusuyla sınırlanmıştır. Portal alanlar adı verilen bu bölgeler, lobüllerin köşelerinde bulunur ve portal triatlarla

çevrilidir. İnsan karaciğeri her lobülde 3-6 portal triad içerir. Portal triad venül, arteriol ve safra kanalı içerir. Ek olarak lenfatiklerde bu portal boşlukta yer alır (19).

Lobülün ortasında bir santral ven yer alır ve hepatositler bu venden portal boşluğa doğru bir kat hücreden oluşan ışınal bir dizilim gösterir. Bu hepatosit dizileri arasında kapiller ağ içeren sinüzoidler bulunur. Hepatositler ile kapiller endotel hücreleri arasında disse aralığı bulunur. Hepatositlerin mikrovillusları bu aralığa uzanırken, kapiller endotel yüzündeki porlar da bu aralığa açılır. Bu özel porlu yapı sayesinde hepatositler ile kapiller damarlar arasında makromolekül transferi gerçekleşebilmektedir. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan Kupffer hücreleri bulunur, bu hücreler endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde yerleşmiştir. Kupffer hücreleri tipik makrofajlardır. Ayrıca, disse aralığında A vitamini metabolizması ve depolanmasında etkinliği olan ito hücreleri bulunmaktadır (19).

2.2. KARACİĞERİN ANATOMİSİ

2.2.1. Yapısal Anatomi

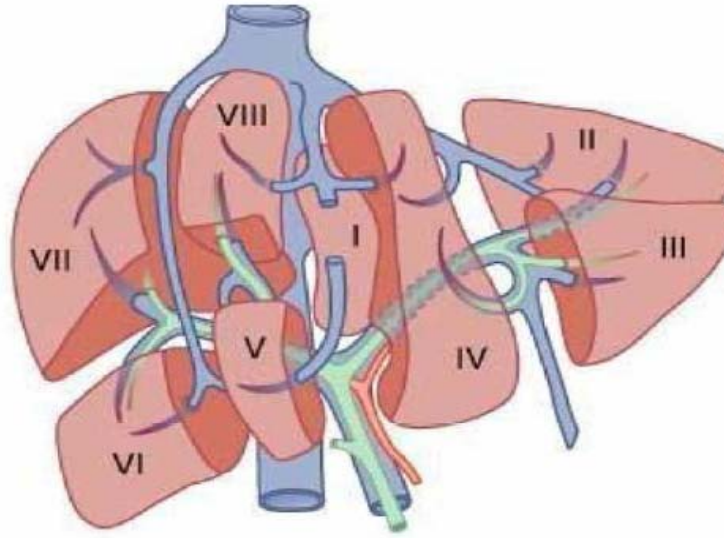
Karaciğer vücut ağırlığının yaklaşık 1/50'ini kapsamaktadır (20). Karında sağ üst kadranı doldurur. Karaciğer büyük bir bölümü göğüs kafesi ile korunmaktadır. Karaciğer peritonla kaplı bir organ olmakla beraber safra kesesi yatağı, porta hepatis ve arka yüzeyde V. cava inferior'un sağ komşuluğundaki diyafram ile temas halinde olan bölge (çıplak alan) peritonsuzdur. Bu periton güçlü bir bağ dokusu halindedir ve bu şekilde Glisson kapsülü olarak adlandırılan kapsülü oluşturur (21).

Peritonun karaciğer üzerinden yansıdıktan sonra oluşturduğu katlantılara ligaman denir. Periton diafragmatik ve visseral yüzeyden ilerler ve posteriorda diyafram ile komşu olan çıplak alana geldiğinde kendi üzerinde dönerek sırasıyla anterior ve posterior koroner ligamanları oluşturur. Bu iki yaprak şeklindeki ligaman sağda ve solda birleşerek sağ ve sol triangular ligamanları oluşturur. Anterior koroner ligaman karaciğer yüzeyi ile anterior karın duvarı arasında uzanan bir katlantı yapar ve falsiform ligamanı oluşturur. Falsiform ligaman karın ön duvarına, umblikusa ve diyaframa doğru uzanmaktadır. Bu ligamanın yaprakları arasında embriyojenik dönemde aktif olan umblikal venin kalıntısı olan yuvarlak ligamanı (ligamentum teres) oluşturur (21,22). Yukarıda tanımlanan koroner ligamanlar, triangular ligamanlar, falsiform ligaman ve ligamentum teres, karaciğeri diyafram ve karın ön duvarına asmaktadır. Karaciğer üzerinden devam eden periton portal hilusuda içine alacak şekilde duodenum ve mide küçük kurvaturuna doğru

uzanır. Bu iki yapıya sırasıyla hepatoduodenal ve hepatogastik ligaman denir. Bu iki ligamana birlikte küçük omentum (omentum minus) denir (22).

Karaciğerde gerçek sağ ve sol lob ayırımı V. cava inferior'un sağ kenarı ile safra kesesi yatağı arasındaki düzlem ile olur. Bu hat Cantlie çizgisi olarak bilinir (22). Bu tip bir ayırım sadece karaciğerin mobilizasyonu veya basit girişimlerde anlamlı olabilmekte, daha komplike yöntemlerde yararlı olamamaktadır (23).

Karaciğerin fonksiyonel anatomisinde her biri kendi portal pedikülüne (portal ven, hepatik arter ve safra yolu) sahip sekiz segment bulunmaktadır (21,24). (Resim 1). Sağ lobda segment 5, 6, 7, 8 ve sol lobda, segment 2, 3, 4 vardır. Segment 4, falsiform ligamentin sağında segment 2, 3 ise solunda yer alır (25,26).



Resim 1. Karaciğerin Segmenter Anatomisi

2.2.2. Vasküler anatomi

Karaciğere gelen kan arteriyel sistem kanı yanında, venöz kanı da içerir. Karaciğere dakikada 1500 ml. kan gelir. Bu miktarın %25'ini hepatik arter, %75'ini portal ven karşılar. Karaciğerin oksijen ihtiyacının %50'sini hepatik arter, %50'sini portal ven karşılar (22,20).

Arteria hepatica communis, A. hepatica propria'nın dalıdır. A. gastrica sinitra ve a. linealis ile birlikte çölyak trunkustan çıkar ve omentum minus içinde, koledoğun solunda ve vena portanın önünde seyrederek karaciğere girer (20). Karaciğer pedikülü içinde önce sağ ve sol olmak üzere iki dala, sonrada karaciğerin segmentlerine göre

defalarca dallara ayrılarak interlobüler arterleri oluşturur. Bazıları portal kanallara akarken, bazıları da portal aralıktan değişen uzaklıktaki sinüzoidler içinde direkt sonlanan arteriyolları oluşturur. Böylece sinüzoidler içinde arteriyal ve portal venöz kan karışır (21).

Portal ven üç büyük venin birleşmesiyle oluşur. Splenik ven ve superior mezenterik ven pankreas boynu hizasında birleşirler, inferior mezenterik ven de bu venlere katılır ve portal ven oluşur. Mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen venöz kanı karaciğere taşır. Portal ven dalları karaciğer içinde segmentlere göre dağılım gösterir. Portal ven defalarca dallanarak portal triadlara ulaşır (22,27).

Karaciğerin venöz drenajını üç major hepatik ven ile sağlar. Sağ lobun kanı sağ hepatik ven ile inferior vena kavaya boşalır. Sol hepatik ven 2. ve 3. segmentlerin kanını alır, orta hepatik venle birleşmek üzere yukarı yönde parankim içinde oldukça yüzeysel bir durumda seyreder. Orta hepatik ven genellikle sol hepatik venle birleşip tek trunkus halinde inferior vena kavaya açılır Segment 1 (kaudat lob)'in venöz drenajı ise doğrudan vena kava inferioradır ve üç ana hepatik venden bağımsızdır (28,29).

2.3. KARACİĞERİN FİZYOLOJİSİ

Karaciğer fizyolojik olarak birçok göreve sahiptir. Bunların başında kandan gelen besin maddelerinin alımı, depolanması ve dağılımı gelir. Ayrıca vücudun normal işlevleri için gerekli birçok endojen ve eksojen substratların sentezlenmesi, metabolizması ve atılımı ile vücuda zararlı toksinlerin temizlenmesi gibi fonksiyonlara da sahiptir (30).

2.4. KARACİĞERİN GÖREVLERİ

Karaciğer vücuttaki tüm sistemleri ilgilendiren önemli görevler üstlenmiştir.

Karaciğerin temel görevleri şu şekilde sıralanabilir.

- Vasküler rezervuar fonksiyonu: Genişleyebilen bir organ olduğundan hepatik venler ve sinüsler içinde normalde var olan 450 ml'lik kan rezervuarına duruma göre ekstra 500 – 1000 ml daha kan ekleyebilir (31).
- Filtre fonksiyonu: Portal sistemde bağırsaklardan gelen mikroorganizmalar hepatik sinüslerde bulunan makrofajlar (Kupffer hücreleri) aracılığı ile filtrelenmiş olur (31).

- Detoksifikasyon fonksiyonu: Dışarıdan alınan ilaçların, dışarıdan alınan veya endokrin sistemde üretilen hormonların fazlasının veya kalsiyum gibi minerallerin fazlasının detoksifikasyonunu veya safra ile atılımını sağlar (31).
- Karaciğerin karbonhidrat metabolizmasında glikojen depolama, glukoz yapımı, glukoneogenez ve karbonhidrat metabolizmasının kimyasal ürünlerinin organizmadan uzaklaştırılması gibi görevleri vardır. Yağ metabolizmasındaki görevleri yağ asitlerinin beta oksidasyonu ve asetoasetik asit oluşumu, lipo-proteinlerin çoğunun yapımı, kolesterol ve fosfolipid sentezi, karbonhidrat ve proteinlerin yağa çevrilmesidir (32,33).
- Karaciğerin aminoasitlerin deaminasyonu, plazma proteinlerinin sentezi, vücut sıvılarından amonyağın temizlenerek üre oluşumu ve değişik aminoasitlerin sentez ve birbirine dönüşümü gibi görevleri mevcuttur. Bu fonksiyonların sadece karaciğer tarafından yürütülmesi, başka organların bu fonksiyonları geçici veya kalıcı olarak yerine getirememesi, karaciğeri, protein metabolizması açısından alternatifsiz kılmaktadır (32).
- Vücutta demir esas olarak hemoglobindeki hem molekülünde bulunur. Bu demir haricinde demirin büyük bir kısmı karaciğerde ferritin olarak depolanmaktadır (35,32). Karaciğer retikuloendotelial sistemdeki kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin, boya maddelerinin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla kandan temizlendikleri büyük bir filtre rolünü oynar. A, D, E, K ve B12 vitaminlerinin ana deposu karaciğerdir (34).
- Pıhtılaşma proteinlerinden; fibrinojen, protrombin ve V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII. faktörlerin sentezi karaciğerde yapılır. Karaciğer safra asitlerini kolesterolden sentez eder ve safra, kolesterolün vücuttan atıldığı başlıca yoldur. Safranın hemen tamamı, başlıca distal ileumda olmak üzere, ince barsaklarda geri emilir ve günde altı-on kez olmak üzere enterohepatik dolaşıma girer (35,32).

2.5. KARACİĞER NAKLİ

Karaciğer nakli deneysel bir teknikten akut ve kronik karaciğer yetmezliğinin tedavisinde tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir (2). İmmüsupresif ilaçların artması ve çeşitlenmesi, doku korunması, enfeksiyon hastalıklarının azalması ve daha iyi postoperatif yönetime bağlı olarak ortotopik karaciğer nakli hasta ve allogreft survey

oranlarını geliştirmiştir. Böylece hem organ nakli endikasyonları hem de potansiyel alıcı sayısı artmıştır (38).

Organ nakilleri arasında karaciğer nakli önemli farklılıklar gösterir. Günümüze kadar nakil yapılan organlar arasında teknik açıdan en güç olanı şüphesiz ki karaciğer naklidir. Teknik zelliklerinin yanında karaciğer metabolizmasının oldukça kompleks olması nakil sonrasında önemli sorunlara yol açmaktadır. Böbrek hastalıklarında uygulanabilen diyaliz gibi bir yöntemin karaciğer için olmaması organ naklini daha da güçleştirmektedir. Tüm bu güçlüklere rağmen karaciğer nakli günümüzde başarı ile uygulanabilen altın standart tedavi modalitesidir. Karaciğer naklinin başarı ile yapılabilirliği şüphesiz immunspresyon ve cerrahi teknikteki gelişmelere bağlıdır (36).

Karaciğer nakli ilk olarak Welch tarafından 1955’de köpek modelinde yapılmıştır. İnsanda ilk karaciğer nakli 1963’de Starzl tarafından yapılmış, fakat başarısız olunmuştur. Ancak 1967 yılında yine aynı ekip tarafından başarılı sonuçlar alınmıştır. 1967’den 1980 yılına kadar Colaroda niversitesinde azatioprin, kortikosteroid ve antilenfosit globülin kullanılarak 170 karaciğer nakli yapılmış ve yıllık sağ kalım % 30 düzeyinde gerçekleşmiştir. Calne ve arkadaşları 1979 yılında modern immünosupresif tedavinin ilk ilacı olan siklosporini klinik kullanıma sokmuşlardır. Siklosporinin kullanıma girmesi karaciğer naklinde bir devrim yaratmış ve sağ kalım oranları iki katına çıkmıştır. Survey oranları ilk yıllarda %50’nin altındaydı ancak cerrahi teknik ve postopertatif hasta tedavi ve takibindeki gelişmelere paralel olarak survey oranları zamanla iyileşmiştir (36).

1990’lı yıllarda karaciğer donör havuzunu genişletme çabalarına ağrılık verildi ve NHBD’ler ilgi odağı haline geldi. Günümüzde de bu tip marjinal donörlerin havuza dahil edilmesi konusunda karşıt fikirlerin tartışması devam etmektedir. Bu donörlerin havuza dahil edilmesi ile bekleyen hasta listelerinin kalabalıklığı azalmaktadır ve hastalar nakil şanslarını durumları kötüleşmeden kullanabilmektedir. Organ nakli modalitesinde bu tür greftlerin kullanılması geleceğe dönük umut vaat etmektedir (20).

Ülkemizde de Haberal ve arkadaşları 1989 yılında karaciğer naklini başarıyla uygulamaya başlamışlardır. Karaciğer ektopik bir lokalizasyonda ikinci bir organ olarak heterotopik veya hasta karaciğer çıkarılarak onun yerine ortotopik olarak transplante edilebilir. Bugün daha sıklıkla kullanılan ve sonuçları daha iyi olan ortotopik karaciğer naklidir (36).

Karaciğer nakli, birçok akut ve kronik karaciğer hastalığı için endikedir. Siroz, yetişkinlerde organ nakli uygulamasının %80' den fazla nedenidir ve hepatit C ve alkolizm en sık siroz nedenleridir. Diğer endikasyonlar; kolestatik karaciğer bozuklukları (primer bilier siroz, sklerozan kolanjit, bilier atrezi), metabolik hastalıklar (Wilson hastalığı, nonalkolik steatohepatit), fulminan hepatik yetmezlik ve hepatosellüler karsinomdur. Çocuklarda karaciğer nakli için major endikasyonlar bilier atrezi ve metabolik karaciğer hastalıklarıdır (38).

Alkolik karaciğer hastalığı olanlar potansiyel olarak transplantasyondan en fazla fayda gören hasta grubudur. Metabolik defektlere bağlı karaciğer hastalıklarında da başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Doğuştan metabolizma bozukluklarında da altın standart tedavi modalitesi karaciğer transplantasyonudur (37).

Karaciğer naklinin önemli meselelerinden birisi organ naklinin uygun zamanlamasıdır. Fulminan hepatik yetmezlik terimi bozulmuş sentez fonksiyonunu ve ensefalopati ile birlikte şiddetli akut karaciğer hasarını işaret eder ve bu hastaların öncelikli normal bir karaciğere veya hastalığı iyi kompanze edilmesine ihtiyaçları vardır. Bu hastaların organ nakli merkezlerine erken refere edilmesi en iyi sağkalımın elde edilmesinde kritik karardır (40).

Akut fulminan hepatik yetmezlikli hastalar bekleme listesinde en öncelikli hastalardır. Sadece siroz varlığı organ nakli için yeterli değildir. Bununla birlikte sirozlu hastalardaki yüksek morbidite ve mortalite varlığı komplikasyonları ile ilişkilidir ve iyi kompanze edilen hastalar uzun yıllar stabil seyredebilir (41). Bununla birlikte dekompanzasyon işaretleri ortaya çıktığında (varis kanaması, asit vb.) 5 yıllık sağkalım % 50'ye düşmektedir ve hastalara karaciğer nakli önerilmektedir. Varis kanaması sirozda en dramatik ve hayatı tehdit eden durumdur, ayrıca hipoalbuminemi ve asit de uzun dönem sağ kalımı kısaltan nedenlerdir. Hepatorenal sendrom gelişimi kötü bir işarettir ve kısa sürede nakil ihtiyacını gösterir (38).

Kronik karaciğer hastalarında ideal karaciğer nakli zamanı, multiorgan hasarı gelişmeden önce 1-2 yıllık sağkalım şansının %50' den daha az olduğu zamandır. Bir kez multi organ hasarı geliştiğinde organ nakli sonrası sağkalım oranı sadece % 20-30' dur (39).

Yaşam beklentisini azaltan geri dönüşümsüz kardiyak ve pulmoner hastalıklar gibi ciddi sağlık problemleri ve cilt kanseri hariç maligniteleri olan hastalarda organ nakli

kontrendikedir. Madde bağımlılığı, uyumsuz kişilik, kontrol edilemeyen psikiyatrik hastalıklar psikososyal kontrendikasyonlar olarak sayılmaktadır. Hem portal hem de mezenterik venlerde geniş tromboz ve vücut kitle indeksinin 35'in üzerinde olması da teknik kontrendikasyonlar arasında sayılabilir (36).

2.6. NON–HEART BEATING DONÖRLER

Karaciğer nakli son dönem karaciğer hastalığı olan hastaların tedavisi için 1-5 yıllık survi oranlarının % 70-80'lere çıkmasıyla iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fakat sadece karaciğer nakil adayları bu tedavinin yararlarını görmektedir (9). Donör organ azlığı; bekleyen hasta listelerinin kalabalıklaşmasının ve organ nakli için beklerken ölen hasta sayısının artmasının ana nedenidir. Hastalar bekleme listesinde geçirdikleri zaman zarfında uygun grefte ulaşamadıkları için kaybedilmektedir. NHBD karaciğerleri donör havuzunu genişletmekte iyi bir potansiyeldir ancak yeni bir yaklaşım değildir. Beyin ölümü tanınmadan önce organ nakli için organlar sadece kardiyak arrest sonrası alınmaktaydı. Bu yöntem de bir bakıma NHBD anlamına gelmektedir. Ancak beyin ölümü kriterleri belirlendikten sonra greftler HBD'lerden sağlanma yoluna gidilmiştir. Ancak günümüzde organ havuzunun azlığı, ilgiyi tekrar aslında farkında olunmadan daha önce kullanılan NHBD'ler üzerine odaklamıştır (42).

Heart beating donörün (HBD) ölümü, beyin sapı fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kesilmesine dayanmaktadır. NHBD'lerin ölümü ise dolaşım ve solunum fonksiyonların geri dönüşümsüz durmasına dayandırılmaktadır. HBD'lerde ölüm nörolojik kriterlere dayanır. NHBD'lerde ise esas nokta kardiyak arrest olup olmadığıdır. En belirgin ana fark kardiyak arrest anına kadar NHBD'ler halen hayattadır ancak HBD'lerde beyin ölümü gerçekleşmiştir (43).

NHBD 4 kategori içinde incelenir. (Maastricht klasifikasyonu)

Kategori I: Eks Duhul hastalar

Kategori II: Başarısız Resüsitasyon

Kategori III: Kardiyak arrest gelişmesi beklenen hastalar

Kategori IV: Beyin ölümü gerçekleşmiş kardiyak arrest gelişen hastalar.

NHBD'ler iki grupta incelenir. Kategori I ve II, kontrolsüz NHBD diye adlandırılır. Kategori III ve IV, kontrollü NHBD diye adlandırılır (9).

Kontrollü NHBD’lerde iskemik hasar daha azdır ve organ nakli sonrası organ fonksiyonları daha iyidir (43). Karaciğerin sıcak iskemiye dayanma süresi günümüzde yaklaşık 20 dakika olarak kabul edilmektedir ve 20 dakikadan sonra hepatositlerde hasar başlamaktadır (13).

Canlı donörlerden sağlanan greftler, karaciğer nakli için bekleme listelerinin fazlalığı ve organ azlığı nedeniyle sıklıkla kullanılan bir yöntem halini almıştır ancak bu yöntem; verici için yüksek mortalite ve morbitide riskleri içermektedir. Canlı donör organ nakilleri erişkin dönem organ nakillerinin %5–10’nunu oluşturmaktadır (44, 45).

Canlı donörün avantajları; elektif operasyonu sağlaması, greftin en iyi şartlarda hazırlanabilmesi ve bekleme sürecindeki ölüm hızını azaltmasıdır. Bu yöntemde canlı donörün ameliyat esnasında ve sonrasında güvende olması primer amaç olmalıdır. Sonuç olarak bu yöntem donör havuzunu genişletmesine rağmen soru işaretleri ile doludur. Bu teknik temelde donör havuzunu genişletebilir ama tek başına da organ yetersizliğini çözememektedir. Son dönem karaciğer yetmezliğine sahip, bekleme listesinde zaman geçirmeye vakti olmayan hastalar için iyi bir yöntemdir ancak vericinin risklerinin farkında olunulmalıdır (46,47).

Canlı donasyon, alıcı için tabii ki altın standart tedavi şansıdır. Operasyon elektiftir ve bekleme listesinde geçirdiği zaman sona ermektedir. Alıcının şartları bozulmadan organ ihtiyacı karşılanmış olmaktadır. Alıcı listede yerini aldıktan sonra mortalite ve morbitide hızı yükselmeden grefte kavuşmaktadır (48).

Kategori I ve II, kontrolsüz NHBD’ler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu tür donörlerde organ donasyonu için zaman yoktur. Bu hastalar genellikle acil servislerdedir. Ölüm kesinleştikten sonra organ donasyonuna karar verilmektedir. Ailenin izni genelde kardiyak arrestten sonra alınmaktadır. Organ alınma yöntemi ölüm deklarasyonunun hemen sonrasında başladığı için genelde bu iki grup organlar uzamış sıcak iskemiye maruz kalmaktadır. Kategori III NHBD’ler en fonksiyonel greft sağlanan gruptur. Ailenin izni ve ekibin hazırlığı için geçen süre kısadır. Çünkü planlanan durum eğer mümkün olarsa aileye daha öncesinden haber verilmekte ve hazırlıklar başlamaktadır. Böylece bu gruptan elde edilen greftler çok daha kısa süre sıcak iskemiye maruz kalmaktadırlar. Kategori IV’deki donörler beyin ölümü gerçekleşmiş yoğun bakım şartlarında takip edilmekte olan ve ani kardiyak arrest gelişen hastalardan oluşmaktadır (12).

Sıcak iskeminin süresinin hangi noktada başladığı konusundaki tartışmalar halen devam etmektedir. 1995’de Hollanda’da Maastricht toplantısında sıcak iskemi süresi; “kardiyak arrest anından soğuk yıkamanın başladığı ana kadar geçen zamandır” olarak tanımlanmıştır. Literatürde karaciğer nakli için sıcak iskemiye bütün ayrıntıları ile tanımlayan ortak bir fikir birliği yoktur. Sıcak iskeminin başlama anını organın alınmaya başladığı an olarak kabul etmektedir (12).

NHBD’lerden sağlanan organlar için ana problem uzamış sıcak iskemi zamanıdır. Organ prezervasyonu ve organ nakillerinin iskemi–reperfüzyon injürisi ile doğrudan ilişkili olduğu kabul edilen bir görüştür. Soğuk ortamda organ hazırlanması (+4°C) metabolizmayı yavaşlatmakta ve iskeminin etkilerini sınırlandırmaktadır. ATP’nin azalması ve O₂ eksikliği anaerobik metabolizmayı aktifler. Laktat ve hipoksantin artmaya ve birikmeye başlar. Tüm bunlar sonucunda da intrasellüler asidoz gelişmektedir. Reperfüzyon, SOR eşliğinde hipoksantin ve ürata dönüşmesini sağlamaktadır. Bu yolak lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır. Fizyolojik olmayan bu sapmalar greft disfonksiyonunun en güçlü nedenlerinden birini oluşturmaktadır (12,13).

NHBD organlarında soğuk iskeminin etkileri sıcak iskemi sırasında oluşan injuriye eklenmektedir. Sıcak ve soğuk iskemi paterni arasında farklılıklar mevcuttur. Soğuk iskeminin başlaması injuri etkilerini sinozoidal–endotelial hücrelerde gösterirken, sıcak iskemi esas olarak hepatositleri zedelemektedir (12,45).

Kategori I NHBD’lerden organların organ nakilleri zordur. Çünkü kardiyak arrest nedeniyle organ canlılığı ile bağdaşmayan iskemi süresi gerçekleşmiştir. Ayrıca bu tür vakalarda detaylı araştırmalara ve sorgulamalara rağmen çoğu zaman ölüm sonrası geçirdikleri iskemik periodun ne kadar olduğuna dair verilere ulaşılamamaktadır (9).

Kategori II NHBD’lerde bu bilgi tam olarak bilinmektedir, çünkü hasta sağlık personeli ya da doktor gözetimindeyken kardiyak arrest geçirmektedir. Kardiyak arrest anı ve süresi belirlidir. Bu gruptaki organların ölüm sonrasında canlılık birkaç farklı yöntem ile sağlanmaya çalışılmaktadır. Tabii ki kardiyopulmoner destek mutlaklıdır. Ancak bu tip vakalarda resüsitasyon sırasında manuel olarak abdominal destek ile intravasküler volüm arttırılmaya çalışılmalıdır. Yani standart kardiyopulmoner resüsitasyona ek olarak abdomenin manuel olarak kompresyonu intravasküler basıncı belirgin anlamda arttırmakta ve organ canlılığın sağlanması ve devamı açısından önemli faydalar sağlamaktadır. Bir diğer yöntem kardiyopulmoner bypasstır. Hasta; aileden ve kanuni

izinler alınarak ölüm deklarasyonundan hemen sonra operasyon odasına alınmalıdır. Sağ femoral ven ve arter kanüle edilerek kardiyopulmoner bypass sistemine bağlanmalıdır ve bu şekilde organın canlılığı sürdürülmeye çalışılmalıdır. Kategori II NHBD'lerin sonuçları HBD'lere benzemektedir. Hasta surveyi açısından neredeyse aynıdır ancak greft surveyi açısından %20 daha kötü olarak gerçekleşmektedir. Bu oranın yüksek olması HBD'lere göre NHBD'lerde greftte daha fazla injuri olması ile açıklanabilir (9).

Kategori III hastaları yaşam desteği alan yoğun bakım ünitelerindeki hastalar oluşturmaktadır. Yaşam desteğini sonlandıracak olan takım ile organ donasyon takımı birbirinden bağımsız çalışan farklı kişilerden oluşmalıdır. Bu tür durumlarda alınan kararlar ortak olmamalıdır. Eğer tüm kararlar aynı yönde ve fikir birliği sağlandıysa ailenin de izni mümkün oluyorsa kardiyopulmoner destek kesilir ve hasta planlı NHBD halini alır (49).

Kategori IV NHBD'ler beyin ölümü gelişmiş ancak donasyon işlemleri başlamadan ani kardiyak arrest olan hastalardan oluşmaktadır. Bu vakaların işlemleri daha kompleksdir çünkü sıcak iskemi süreleri uzundur. Bu sorunlar da greft fonksiyonlarını önemli ölçüde etkilemektedir (49).

NHBD'ler sıcak iskekiye maruz kaldıkları için primer greft nonfonksiyonu daha sıklıkla gelişmektedir. İskemik karaciğerin canlılığını invivo değerlendirebilen kabul edilmiş uygun bir teknik olmaması nedeniyle NHBD greftlerinin kullanıldığı organ nakli yapılan geniş serili deneysel modeller hazırlanarak NHBD'lerdeki bu en temel sorun olan sıcak iskemi konusundaki sorular cevaplanmalıdır. Literatürde karaciğerin sıcak iskekiye toleransını araştıran çok az deneysel çalışma mevcuttur (14).

İn situ sıcak iskekiye maruz kalan NHBD'lerden alınan greftlerde PNF riski daha yüksektir. PNF riskindeki bu artış, böbrek naklinde standart girişim haline gelen NHBD' nin karaciğer naklinde sınırlı kullanımını kısmen de olsa açıklar. Preklinik hayvan modelinde, 4 saatlik soğuk iskekiye takiben yapılan NHBD-karaciğer nakli, 15 dakikalık sıcak iskekiye tolere ettiği, 30 dakika ve üzerindeki sıcak iskemide kabul edilemez oranda yaklaşık %50 PNF'yi indüklediği gözlenmiştir (4-6).

Sıcak iskemi süresi ne kadar uzun ise transaminazlardaki yükselme de o kadar erken başlamaktadır. Eğer AST yüksekliği erken dönemde geliyorsa o greft surveyi ve fonksiyonu için kötü bir gelecek oluşacağı söylenebilir. Sıcak iskeiminin kendisi

karaciğer hasarına yol açmaktadır ki bu hasarı iskemi–reperfüzyon injurisi daha da artırmaktadır. Reperfüzyondan önce karaciğer spesmenlerinin incelendiği çalışmalarda sıcak iskeminin kendi başına etkisi koagülasyon, hepatosit nekrozu ve vakuolizasyon ile kanıtlanmıştır (15).

Sıcak iskemi süresi limitasyonunda fikir birliği için bir çok çalışma literatürde devam etmektedir. Yi Ma ve arkadaşlarının çalışmasında bu süre 30 dakika olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada sıcak iskemi süresi arttıkça histolojik değişiklikler artmıştır. Yine bu çalışmada NHBD’lerde reperfüzyon sırasındaki injurinin sıcak iskemi süresi ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada sonuç olarak sadece sıcak iskemiye maruz kalan greftlerde iskemi süresi 60 dakikanın altında ise hasar geri dönüşümlü olarak tanımlanmaktadır. Ancak hasarın reperfüzyon sırasında da arttığı bildirilmektedir. Bu yüzden sıcak iskemi süresi 30 dakika olarak sağlanabilirse reperfüzyon sağlandıktan sonra bile hasar geri dönüşümlü olarak gerçekleşmektedir. Bu çalışmanın sonucunda özellikle sıçan karaciğer greftleri için sıcak iskemi süresinin 30 dakika olarak sağlanması gerektiği vurgulanmaktadır (14).

Çalışmalar göstermektedir ki NHBD’lerin kullanıma girmesi ile donör organ sayısı yaklaşık %20–25 oranında artmaktadır. Organ hazırlanmasındaki, pre–postoperatif bakımdaki, immüsupresyondaki ve cerrahi teknikteki gelişmeler sayesinde bu tür greftlerin fonksiyon ve surveyleri optimize edilebilmektedir. Bu sayede NHBD’ler günümüzde organ nakli modalitesi için umut vaad eder hale gelmiştir. Ayrıca NHBD’lerin donasyonunun temel prensipler göz önüne alındığında daha etik olması nedeniyle de ilgi her geçen gün artmaya devam etmektedir (50).

NHBD karaciğerleri için seçilen yıkama solüsyonu çoğu merkezde histidin triptofan ketoglutarat (HTK)’tır. Bu solüsyon kolloidal maddeleri içermemesi nedeniyle viskozitesi düşüktür ve maliyeti diğer solüsyonlardan belirgin ölçüde azdır. Optimal prezervasyon için NHBD karaciğerlerinin efektif yıkanması major öneme sahiptir. Karaciğer içerisindeki kan artıklarının ve doku debrislerinin temizlenmesi greft fonksiyonu ve surveyi açısından anahtar rol oynamaktadır. HTK, NHBD karaciğer greftleri için çoğu merkezde en yaygın olarak kullanılan yıkama solüsyonudur (51).

Na-K pompalarının çalışması ve dolayısıyla tüm hücrel kompartmanlarda elektrolit dengesinin korunması için ATP mutlak gereklidir. ATP’nin azalması bu pompaların çalışmasını bozmakta ve hücrel ödeme neden olmaktadır.

Na-K pompalarının efektif çalışmaması elektrolit gradient kaybının oluşmasına neden olur ve membran bütünlüğü sağlanamaz hale gelir. Membran disfonksiyonu da kalsiyumun hücre içine girmesine neden olur. Asidik hücre içi ortamla karşılaşan kalsiyum hücre içinde çökeltiler oluşturmaya başlar ve sonuç olarak kalsiyum hücre içinde çöker (54).

SOR ürünleri, nitrik oksit ve proinflatuar sitokinlerin salınması ile Kupffer hücreleri de aktive olmaktadır. Bu süreçte; adezyon moleküllerinin de salınması lökositlerin olay yerine toplanmasına neden olmaktadır. Tüm bu olaylarla eş zamanlı kompleman sisteminin aktivasyonu da hücrel ödeme ve lökosit birikimini artırmakta ve tetiklemektedir (52,53,12). Wisconsin Üniversitesi (WU) solüsyonu ile soğuk yıkama bu etkileri engellemek ve organ nakli başarısını artırmak için tasarlanmıştır (12).

2.7. KARACİĞERDE İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

Karaciğer naklinin seyrinde, IRI hücrel hasara neden olan ve greft disfonksiyonuna (%10-30'unda) veya PNF (%5'inde) yol açan bir dizi karmaşık olay dizisini temsil eder. Buna ek olarak IRI doğal immüniteyi aktifleştirir ve sırası ile adaptif immün yanıtı güçlendirir ve red reaksiyonunu teşvik eder (55-57). Dolayısı ile karaciğer nakli sonrası sonuçların iyileştirilmesi için IRI' nın zayıflatılması zorunludur ve bu olay daha az fonksiyonel rezerve sahip ve IRI'na daha duyarlı "genişletilmiş kriterlere" uygun greftlerde daha önemlidir. IRI' nın düzeltilmesi için çok sayıda teropatik yaklaşım geliştirilmiştir (58,59). Daha yeni saklama çözeltilerinin geliştirilmesi, vericilerin ve alıcıların farmakolojik tedavisi, iskemik ön koşullar, gen tedavisi ve makine ile perfüzyon sağlayarak koruma bu yöntemler arasında sayılabilir. Farmasötik stratejiler genellikle tek bir ajana odaklanmıştır. İskemik ön hazırlığının sonuçları hala tartışmalıdır (60-64).

NHBD-karaciğer nakil modelinde artan sürelerde sıcak iskekiye maruz kalan karaciğerlerin nakil sonrası PNF, alıcı ölümü ve toksik safra oluşumu açısından daha yüksek riske sahip olduğu gösterilmiştir (4,7). PNF gelişen greftlerde, majör hepatoselüler hasar, Kupffer hücre aktivasyonu (soğuk saklama öncesi halihazırda bulunur) ve inflamatuvar sitokinler TNF-alfa ve IL-6 nın fazla üretimi (reperfüzyon sonrası) gözlenmiştir. Bu duruma bazı antioksidan mekanizmaların yetersizliği (özellikle alfa-tokoferol ve glutatyon) ve redoks-aktif demir (toksik oksijen radikallerinin üretimini katalizlediği bilinen) serbestleşmesi eşlik eder.

Karaciğer iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı klinikte sık karşılaşılan ciddi problemlerden birisidir. Özellikle günümüzde artan karaciğer nakilleri bu konunun önemini artırmaktadır. Kan akımı kesilen dokularda ardışık bazı kimyasal reaksiyonlar gelişir. Bu reaksiyonlar sonucu hücresel disfonksiyon, hücresel ve interstisyel ödem, sonuçta hücresel kaos ve ölüm meydana gelir. Hücrelerin canlılığının ve fonksiyonunun devam edebilmesi için gerekli olan temel yakıtın eldesinde oksijen, merkezi bir role sahiptir. Aerobik metabolizmalar normal hücre fonksiyonu için gerekli olan enerjiyi yüksek enerjili fosfat bağları şeklinde depo ederler. Oksijen yokluğunda anaerobik metabolizma devreye girer ve lokal olarak ilgili dokuda laktik asit konsantrasyonu artar bu hasarda önemli bir yer tutar (65).

Sonuçta ortaya çıkan asidoz, hücrelerdeki normal enzim kinetiklerini değiştirir ve daha az miktarlarda yüksek enerjili bağlar oluşturur. Homeostazın korunması için gerekli enerji sağlanamaz (66). İskemi ile artan ATP ihtiyacı, glikolizi indükler. Glikolizde merkezi role sahip olan heksokinaz aktivitesinin ölçülmesi ile ATP üretimi hakkında bilgi sahibi olunabilir (67). İskemi ile aktive olan anaerobik glikoliz sonucunda laktat üretimi artar. Bu reaksiyonlar zincirinin son basamağı olan pirüvatın laktata dönüştüğü ve laktat dehidrogenaz enziminin (LDH) kontrol ettiği reaksiyon iskemi hasarı sonrası önemli bir parametredir (68).

Reperfüzyon hasarından sorumlu olduğu bilinen birçok spesifik mekanizma varken, özellikle karaciğerde reperfüzyon hasarı tam olarak aydınlatılamamıştır.

Karaciğerdeki iskemi-reperfüzyon hasarı değişik mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Hasara neden olan faktörler; serbest oksijen radikalleri, lökosit migrasyonu ve aktivasyonu, sinüzoidal endotelial hücre hasarı, mikrosirkülasyondaki düzensizlikler, hücre adezyon moleküllerinin artması ve koagülasyon sisteminin aktivasyonu olarak özetlenebilir (69,70).

İskemiye sekonder aktif transmembran transport yetmezliği, buna bağlı endotelial ve Kupffer hücre şişmesi ve intrasellüler ödem ortaya çıkar. Vazokonstriksiyon, sinüzoidal lümeni daraltarak lökosit akışkanlığını azaltır, hepatik mikrosirkülasyondaki sinüzoidal akıma engel olur ve hipoksi süresi uzar (71).

İskemi-reperfüzyon sırasında Kupffer hücreleri ve nötrofiller aktive olur. Bu hücrelerden inflamatuvar sitokinler, proteazlar, TNF, lökotrienler gibi toksik mediatörler

ortaya çıkar. Ayrıca aktive olmuş Kupffer hücrelerinin prostaglandin ve tromboksanları da salgıladığı bilinmektedir (72,73).

Karmaşıklığa rağmen reperfüzyon hasarının, hepatik rezeksiyon ve organ nakli yapılan deneysel çalışmalarda farmakolojik olarak baskılanması başarılmıştır (74).

Normal koşullarda insan karaciğeri 3 gün içinde rejenerasyona başlar ve 6 ay içinde önceki boyutuna ulaşır. Sıçanlarda yapılan parsiyel hepatektomi sonrası rejenerasyon süreci saatler içinde başlar ve 7–10 gün içinde tamamlanır (75,76).

PCNA, 36 kilodalton ağırlığında, asidik nükleer proteindir ve hücre çoğalması ve DNA onarımı sırasında salınır. PCNA, DNA polimeraz gama için gerekli bir protein olup hücre proliferasyonunun başlamasında son derece önemli rol oynamaktadır. PCNA boyanan hücreler normal karaciğer dokusunda oldukça az sayıda iken, rejenere olan karaciğer dokusunda artar (77). Bu proteinin ekspresyonu, hücre siklusunda S fazını temsil etmekte ve immünohistokimyasal olarak bu proteinin saptanması dokudaki proliferasyon olan hücre fraksiyonunu göstermesi nedeniyle önemli bir proliferasyon ve canlılık markeri olarak ortaya çıkmaktadır (78).

Apoptozis karaciğer greftlerinde akut rejeksiyon sırasında görülen hepatosit hücre ölüm yoludur. Hepatositlerin apoptozisindeki yönetici moleküllerden başlıcaları; Fas ligand/fas, TGF beta-1/ TGF beta-1 reseptörü, TNF- α /TNF- α reseptörü ve bcl-2'dir (79).

Apoptozis kontrol ve düzenlenme aşamasında ölüm reseptörleri, adaptör moleküller, caspase kaskadı, mitokondri ve bcl-2 ailesinin dahil olduğu ölüm sinyalleri ile bağlantıyı sağlayan çeşitli proteinler vardır (80).

Bcl-2 karaciğerdeki esas anti-apoptotik gen olup sadece bilier hücrelerde üretilmektedir. Bcl-2'nin karaciğer rejenerasyonunda erken dönemde hepatositleri apoptozdan koruduğu ve hepatosit canlılığının devamında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (81). Bcl-2 hücre yaşamını apoptozisi bloke ederek uzatmaktadır.

İskemiye maruz kalan hücrelerin seçtikleri ölüm yolu olan apoptozisin baskılanması da karaciğer greftlerinde canlılığın devamı için önemlidir (82).

Apoptozis nedeniyle kaybedilen hücre sayısı ile rejeksiyonun şiddeti belirlenmektedir. Apoptozis sıklıkla iskemi ile indüklenen ölüm şekli olarak da tanımlanmaktadır.

Apopitozis hücrenin maruz kaldığı akut iskemiye verilen geçici bir cevaptır. Atrofi ve hiperplazi ise kronik cevaplar olarak görülmektedir (83).

2.8. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)

Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı karaciğer nakli, karaciğer cerrahi ve şok sonrası, hepatik yetmezlik gibi bir çok klinik durumlarda ortaya çıkan ortak ve önemli bir problemdir. İskemik dokunun reperfüzyonu ile serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar ki bunların karaciğerin değişik hücreleri üzerinde yıkıcı etkileri vardır. Dokuları bunlardan korumak için hücresel oksidan enzimlerin aktivasyonu veya antioksidanların efektif olduğu bildirilmiştir (84–85).

Süperoksit Dismutaz'ın (SOD) iskemi reperfüzyon hasarı sırasında apoptozisi tetiklediği ve başlıca üretildiği SOR'un major bir toplayıcısı olduğu bilinmektedir. Lipid peroksidasyonunun düşük bir ürünü olan malondialdehyde (MDA) nükleik asitin aminosu ile reaksiyona girerek sitotoksite oluşturabilir (86).

MDA seviyelerinin ve SOD aktivitesinin lipid peroksidasyon seviyesindeki değişiklikleri ortaya koyan iyi bir indikatör olduğu ve bundan dolayı doku hasarının ciddiyetini gösteren bir parametre olduğu rapor edilmiştir (87).

SOR süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren iskemi reperfüzyon hasarında potansiyel öneme sahiptir. Süperoksit intrasellüler olarak mitokondri tarafından üretilir ve süperoksit dismutazla hidrojen peroksite çevrilir. SOR Kupffer hücreleri ve nötrofiller tarafından intrasellüler oksidatif stres sonucu meydana getirilir (88,89).

2.9. GHRELİN: YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Oreksijenik (iştah artıran) bir hormon olan ghrelin, ağırlıklı olarak mideden üretilen 28 amino asitli bir peptiddir. İlk olarak 1992 yılında GHSR-1a (büyüme hormonu sekretogog reseptör tip 1a) için endojen bir ligand olarak tanımlanmıştır.

Hipotalamus, incebarsaklar, pankreas, böbrek, karaciğer, akciğer, hipofiz, over, testis gibi çok sayıda doku ve hücre tipinde saptanmıştır (90). Ghrelin geninin en önemli aktif ürünü, ghrelin olarak adlandırılan seri 3 pozisyonunda oktanil grup içeren (C8:0) açile 28 aminoasitli yapıdır (91).

Ghrelin'in antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajan olduğu birçok çalışma ile kanıtlanmıştır.

Ghrelin'in sıçanların eritrosit, karaciğer ve beyinlerinde lipid peroksidasyonunu önlediği ve oksidatif strese karşı glutatyon seviyelerini ve antioksidan enzim aktivasyonunu artırdığı kanıtlanmıştır (92).

Zwirska-Koreazla ve arkadaşları ghrelinin preadipozit kültürlerinde glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini anlamlı olarak artırdığı ve malondialdehit (MDA) ve lipid peroksidasyonu son ürünlerinin konsantrasyonlarını azalttığını göstermiştir (93). İşeri ve arkadaşları ghrelinin sıçanlarda alendronatla indüklenmiş gastrik doku hasarında GPx aktivitesini artırdığını ve MDA düzeylerini azalttığını göstermişlerdir (94).

Ghrelinin hipertansif sıçanlarda vasküler NADPH oksidaz inhibisyonu üzerinden vasküler süperoksit üretimini ve oksidatif stresi inhibe ettiği ve fagositik lökositlerde SOD mRNA düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (95).

Ratlarda intestinal iskemi-reperfüzyon modelinde ghrelinin etkinliği araştırılmış ve ghrelin tedavisi almış, barsak I/R hasarı olan hayvanlarda serum TNF-alfa, IL-6 , serum laktat seviyesi ve MPO aktivitesinde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

H₂O₂ ile muamele edilen akciğer alveolar epitel hücrelerinde (A549), ghrelin NF-kappaB üzerinden H₂O₂ tarafından indüklenen IL-8 oluşumunu zayıflattığı ve güçlü bir antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (96).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Ocak-Eylül 2011 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındı (Etik Kurul Karar Tarihi: 11.08.2010 Karar No: 10/60).

3.1. DENEYSEL MODEL

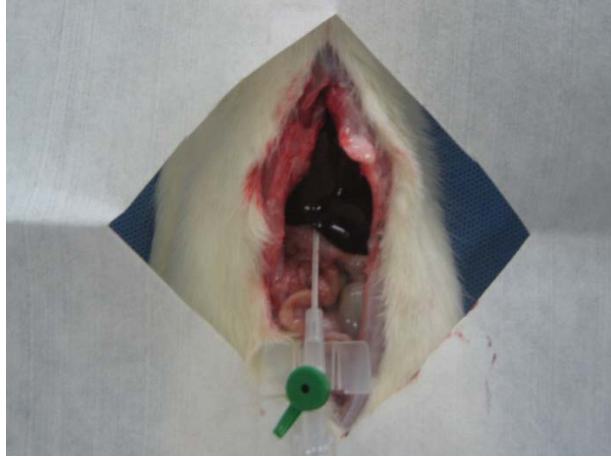
Çalışmada 225-290 gram ağırlığında 48 Erkek Wistar-Albino rat (28-32 haftalık) kullanıldı. Ratlardan , Kontrol I-II-III (15, 30, 60 dakika sıcak iskemi süresi), Çalışma I-II-III (15, 30, 60 dakika sıcak iskemi süresi) grubu şeklinde herbiri 8 sıçan içeren toplam 6 grup oluşturuldu. Sıçanlara intraperitoneal ketamin-HCl (10 mg/kg) ve xylazin (3 mg/kg) ile anestezi altında servikal dislokasyon yapıldı. Bu işlemten önce sıçanlara 0,1 ml heparin subkütan olarak uygulandı.

Kontrol grubunda , anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 15 , 30 , 60 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirildi, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler Wisconsin solüsyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı.

Çalışma grubunda, ghrelin 12 nmol/kg intravenöz olarak verilerek, 30 dakika sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 15 , 30 , 60 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirilerek, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro

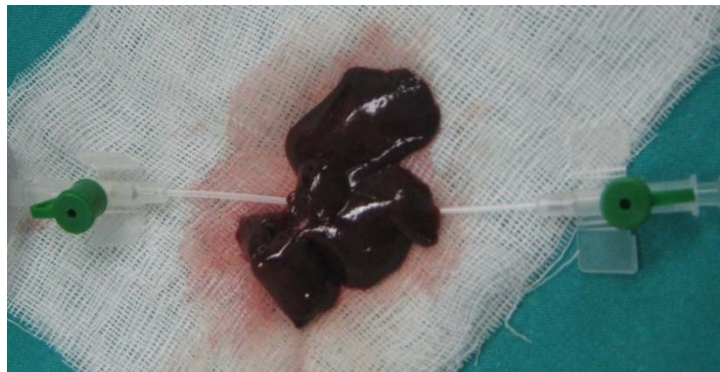
collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler Wisconsin solusyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı.

Kontrol ve çalışma grubundaki sıçanların perfüzeatları biyokimyasal parametrelerden AST, ALT, IL-6, TNF- α ve Laktat çalışılmak üzere çalışma gününe kadar -80 derecede saklandı. İmmunohistokimyasal olarak karaciğerler PCNA ve bcl-2 pozitifliği yönünden değerlendirilmek üzere uygun koşullarda saklandı.



Resim 2. Laparotomi sonrası Portal ven kateterizasyonu

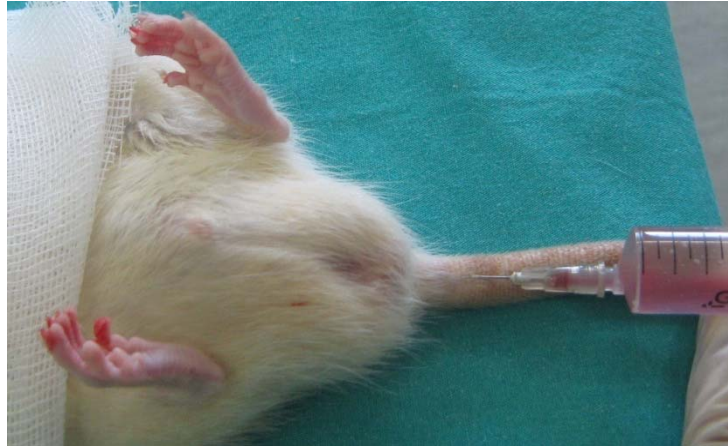
Kontrol I grubu (Kontrol 15) (n=8): Bu grupta, anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 15 dakika sıcak iskemi süresi beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğerler manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirildi, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğerler portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek invivo yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler, portal ven ve vena kava kateterize edilerek Wisconsin solusyonu ile perfüze edilip sora 4 saat soğukta saklama yapıldı ve karaciğerler formaldehit içerisinde alınarak patolojik inceleme için hazırlandı.



Resim 3. Hepatektomi sonrası perfüzyon için portal ven ve vena kava kateterizasyonu

Kontrol II grubu (Kontrol 30) (n=8): Bu grupta, anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 30 dakika sıcak iskemi süresi beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğerler manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirildi, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğerler portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek invivo yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler, portal ven ve vena kava kateterize edilerek Wisconsin solusyonu ile perfüze edilip sora 4 saat soğukta saklama yapıldı ve karaciğerler formaldehit içerisinde alınarak patolojik inceleme için hazırlandı.

Kontrol III grubu (Kontrol 60) (n=8): Bu grupta, anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 60 dakika sıcak iskemi süresi beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğerler manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirildi, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğerler portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek invivo yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler, portal ven ve vena kava kateterize edilerek Wisconsin solusyonu ile perfüze edilip sora 4 saat soğukta saklama yapıldı ve karaciğerler formaldehit içerisinde alınarak patolojik inceleme için hazırlandı.



Resim 4. Ghrelin (rat) intravenöz olarak uygulanması

Çalışma I grubu (Ghrelin15) (n=8): Bu grupta, ghrelin (Ghrelin (rat), cat.no: 1465, Tocris bioscience, USA) 12 nmol/kg intravenöz olarak verilerek, 30 dakika bekleme süresinden sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 15 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirilerek, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler

Wisconsin solusyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı ve karaciğerler formaldehit içerisinde alınarak patolojik inceleme için hazırlandı.

Çalışma II grubu (Ghrelin 30) (n=8): Bu grupta, ghrelin (Ghrelin (rat), cat. no: 1465, Tocris bioscience, USA) 12 nmol/kg intravenöz olarak verilerek, 30 dakika bekleme süresinden sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 30 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirilerek, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler Wisconsin solusyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı ve karaciğerler formaldehit içerisinde alınarak patolojik inceleme için hazırlandı.

Çalışma III grubu (Ghrelin 60) (n=8): Bu grupta, ghrelin (Ghrelin (rat), cat.no: 1465, Tocris bioscience, USA) 12 nmol/kg intravenöz olarak verilerek, 30 dakika bekleme süresinden sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılan ratlara 60 dakika sıcak iskemi süreleri beklendikten sonra orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer manipule edilerek portal vene 3,5 french kateter yerleştirilerek, hepatik arter pedikülün proksimalinden bağlandı. Karaciğere portal venden 50 ml soğuk (+4 derece) euro collins solüsyonu verilerek yıkandı. Daha sonra hepatektomi yapılarak karaciğerler Wisconsin solusyonu ile perfüze edildikten sonra 4 saat soğukta saklama yapıldı ve karaciğerler formaldehit içerisinde alınarak patolojik inceleme için hazırlandı.

Kontrol ve çalışma grubundaki sıçanların perfüzetleri daha sonra AST, ALT, IL-6, TNF- α ve Laktat çalışılmak için çalışma gününe kadar -80 C°'de saklandı.

3.2. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

3.2.1. Karaciğer fonksiyon testleri

Alınan perfüzet örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80 C°'de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda AST, ALT düzeyleri Siemens ADVIA 1800 Chemistry System cihazında ölçüldü ve IU/L olarak birimlendirildi.

3.2.2. IL-6, TNF- α

Alınan perfüzet örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80 C°'de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda IL-6 düzeyi elisa kiti ile (BOSTER Immunoleader ELISA Kit, catalog

no:EK0412) pg/mL, TNF- α düzeyi elisa kiti ile (İnvitrogen ELISA Kit, catalog no:KRC3011) pg/mL olarak birimlendirildi.

3.2.3. Laktat

Alınan perfüzet örnekleri 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80 C°’de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda laktat düzeyi Laktat Colorimetric Assay Kit (Abcam, ab65331) ile mmol/L olarak birimlendirildi.

3.3. HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER

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

%10’luk formol içinde saklanan karaciğer dokusuna parafin emdirildikten sonra spesmenlerden 5 mm kalınlığındaki kesitler, yapıştırıcı madde olarak poli-L-lizin ile kaplanmış lamalar üzerine alındı. PCNA boyanacak preparatlar 60 °C’lik etüvde bir saat bekletildikten sonra ksilol ve derecesi giderek azalan alkolden geçirilerek distile suda yıkandı. Kesitler sitrat buffer (pH:6,0) ile 20 dakika kaynatıldı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için bütün preparatlara 15 dakika süreyle %3’lük H₂O₂ uygulandı. On dakika tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda yıkandı. Primer antikor olarak sıçan monoklonal antikor olan PCNA (Ab-1 (PC10) 7ml kullanıma hazır 70 test RB-9055-R7 Thermo Scientific/LabVision) hazır kiti kullanıldı. Primer antikor uygulandıktan sonra 30 dakika bekletildi. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı.

İmmünohistokimyasal boyamaya şu şekilde devam edildi: 10 dakika fosfatla tamponlanmış salin solüsyonu (PBS) ile yıkandı, 10 dakika biotinlenmiş sekonder antikor uygulandı, 10 dakika streptavidin peroksidaz konjugatı uygulandı, 10 dakika PBS ile yıkandı, 15 dakika DAB kromojen uygulandı, 5 dakika PBS ile yıkandı, 5 dakika deiyonize su ile yıkandı, 1 dakika Mayer’in hematoksileni ile zıt boya yapıldı, 2 dakika distile suda yıkandı, derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek, ksilolde bekletildi, kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Otuz büyük büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı ve her 500 hücreye oranı şeklinde tanımlandı.

3.3.2. Bcl-2 ile işaretlenme oranı

%10'luk formol içinde saklanan karaciğer dokusuna parafin emdirildikten sonra spesmenlerden 5 mm kalınlığındaki kesitler, yapıştırıcı madde olarak poli-L-lizin ile kaplanmış lamalar üzerine alındı. Bcl-2 boyanacak preparatlar 60 °C'lik etüvde bir saat bekletildikten sonra ksilol ve derecesi giderek azalan alkolden geçirilerek distile suda yıkandı. Kesitler sitrat buffer (pH:6,0) ile 20 dakika kaynatıldı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için bütün preparatlara 15 dakika süreyle %3'lük H₂O₂ uygulandı. 10 dakika tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda yıkandı. Primer antikor olarak sıçan monoklonal antikor olan Bcl-2 α (Ab-1 100/D5 7 ml Kullanıma hazır 70 test MS-123-R7 Thermo Scientific/Labvision) kiti kullanıldı. Primer antikor uygulandıktan sonra 30 dakika bekletildi. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı.

İmmünohistokimyasal boyamaya PCNA'da olduğu gibi devam edildi. Otuz büyük büyütme sahasındaki bcl-2 ile boyanmış hücreler boyanma şiddetine ve boyanma yüzdelere göre semikantitatif değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak PCNA ve bcl-2 için normal tonsil dokusu kullanıldı. Kesitlerin kurumaması için işlemlerin tümü oda ısısında ve nemli bir ortamda gerçekleştirildi.

Hazırlanan kesitler ışık mikroskobunda değerlendirildi. Kesitlerin değerlendirilmesi, randomize olarak ve uzman bir patoloğun preparatın hangi gruba ait olduğu bilinmeden yapıldı.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler olarak yüzde (%), ortalama $\pm$ standart sapma (ort $\pm$ ss), medyan (%25-%75 persentil) verildi. Sayısal değişkenlerin normalliğine Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Normal dağılan grupların karşılaştırılmasında bağımsız örnek t testi, normal dağılmayan grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney u testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testinin exact yönteminden yararlanıldı. P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.1.1. AST sonuçları

Kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi.

Perfüzatlardan AST çalışıldı. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda AST'nin mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 606.500 $\pm$ 292.034 IU/L, Kontrol II (Kontrol 30) grubunda AST'nin mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 639.375 $\pm$ 205.871 IU/L, Kontrol III (Kontrol 60) grubunda AST'nin mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 901.250 $\pm$ 351.520 IU/L, Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda AST'nin mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 327.625 $\pm$ 193.074 IU/L, Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda AST'nin mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 394.250 $\pm$ 242.252 IU/L, Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda grubunda AST'nin mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 485.500 $\pm$ 250.860 IU/L olarak tespit edildi. Ve aynı sıcak iskemi sürelerine sahip olan Kontrol ve çalışma (ghrelin) gruplarının AST değerleri karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 1), (Tablo 7) (P = 0.041). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 1), (Tablo 8) (P = 0.047). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik1), (Tablo 9) (P = 0.016).

4.1.2. ALT sonuçları

Kontrol ve çalışma grubundaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi. Perfüzatlardan ALT

çalışıldı. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda ALT'nin mean (ort±s.sapma) değeri 298,125±88,611 IU/L, Kontrol II (Kontrol 30) grubunda ALT 'nın median (%25-%75) değeri 176,000 (133,500-399,000) IU/L, kontrol III (Kontrol 60) grubunda ALT'nin mean (ort±s.sapma) değeri 320,875±155,562 IU/L, Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda ALT'nin mean (ort±s.sapma) değeri 196,375±65,892 IU/L, Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda ALT'nin median (%25-%75) değeri 128,500 (80,000-241,500) IU/L, Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda ALT'nin mean (ort±s.sapma) değeri 286,000±107,742 IU/L olarak tespit edildi ve aynı sıcak iske mi sürelerine sahip olan kontrol ve çalışma (ghrelin) gruplarının ALT değerleri karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 2), (Tablo 7), (P = 0.021). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 2), (Tablo 8), (P = 0.234). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 2), (Tablo 9), (P = 0.610).

4.1.4. IL-6 sonuçları

Kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi.

Perfüzatlardan IL-6 çalışıldı. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda IL-6'nın mean (ort±s.sapma) değeri 869,000±571,185 pg/mL, Kontrol II (Kontrol 30) grubunda IL-6 'nın mean (ort±s.sapma) değeri 888,500±484,481 pg/mL, Kontrol III (Kontrol 60) grubunda IL-6'nın median (%25-%75) değeri 536,000 (476,000-890,000) pg/mL, Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda IL-6'nın mean (ort±s.sapma) değeri 663,500±233,556 pg/mL, Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda IL-6'nın mean (ort±s.sapma) değeri 554,000±101,328 pg/mL, Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda IL-6'nın median (%25-%75) değeri 798,000 (648,000-838,000) pg/mL olarak tespit edildi. Ve aynı sıcak iske mi sürelerine sahip olan Kontrol ve çalışma (ghrelin) gruplarının IL-6 değerleri karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 3), (Tablo 7), (P = 0.362). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 3), (Tablo 8), (P = 0.077). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 3), (Tablo 9), (P = 0.065).

4.1.5. TNF- α sonuçları

Kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi.

Perfüzatlardan TNF- α çalışıldı. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda TNF- α 'nın mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 50.192 $\pm$ 5.586pg/mL, Kontrol II (Kontrol 30) grubunda TNF- α 'nın median (%25-%75) değeri 49.360 (48.090-52.185) pg/mL, Kontrol III (Kontrol 60) grubunda TNF- α 'nın mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 62.784 $\pm$ 18.755 pg/mL, Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda TNF- α 'nın mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 39.002 $\pm$ 2.305 pg/mL , Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda TNF- α 'nın median (%25-%75) değeri 39.820 (39.275-42.000) pg/mL, Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda TNF- α 'nın mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 41.727 $\pm$ 4.908 pg/mL olarak tespit edildi. Ve aynı sıcak iskemi sürelerine sahip olan Kontrol ve çalışma (ghrelin) gruplarının TNF- α değerleri karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 4), (Tablo 7), (P = <0.001). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 4), (Tablo 8), (P = <0.001). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 4), (Tablo 9), (P= 0.008).

4.1.6. Laktat sonuçları

Kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülatuar bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi.

Perfüzatlardan Laktat çalışıldı. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda laktat'ın mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 6,360 $\pm$ 0,385 mmol/L, Kontrol II (Kontrol 30) grubunda laktat'ın median (%25-%75) değeri 7,345 (7,080–7,695) mmol/L, kontrol III (Kontrol 60) grubunda laktat'ın median (%25-%75) değeri 9,995 (9,955–10,465) mmol/L, Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda laktat'ın mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 3,664 $\pm$ 0,450 mmol/L, Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda laktat'ın median (%25-%75) değeri 5,000 (4,985–5,190) mmol/L, Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda laktat'ın median (%25-%75) değeri 6,945 (6,885-7,005) mmol/L olarak tespit edildi. Ve aynı sıcak iskemi sürelerine sahip olan Kontrol ve çalışma (ghrelin) gruplarının laktat değerleri karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 5), (Tablo 7), (P = <0.001). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve

Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 5), (Tablo 8), ($P = <0.001$). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 5), (Tablo 9), ($P = <0.001$).

4.2. HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR

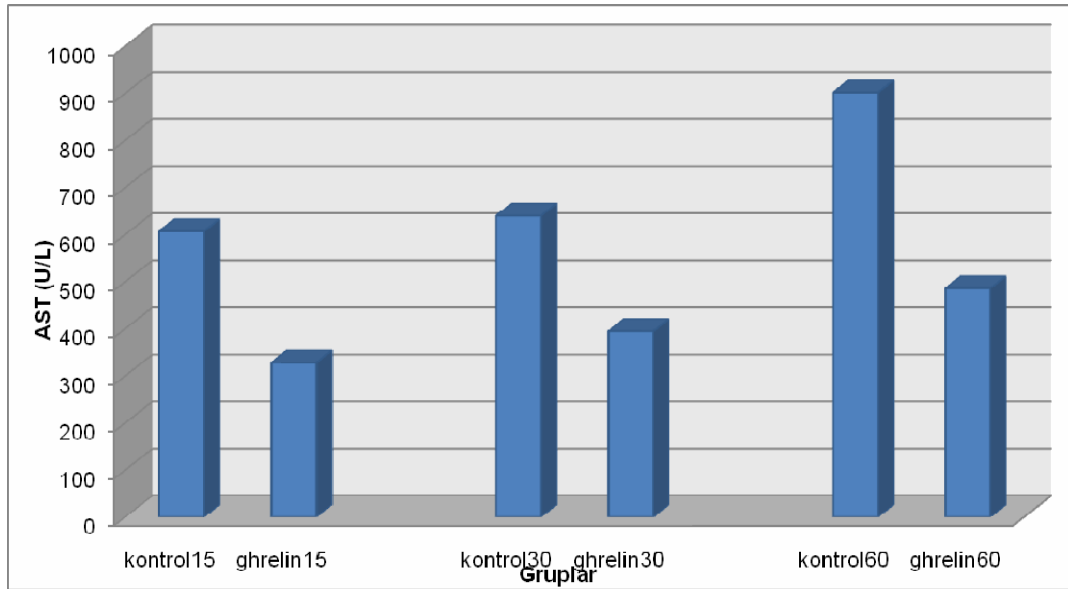
4.2.1. Prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) sonuçları

Kontrol ve çalışma gruplarında otuz büyük büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı ve her 500 hücreye oranı şeklinde tanımlandı. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 54,875 $\pm$ 19,394, Kontrol II (Kontrol 30) grubunda mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 45,250 $\pm$ 15,173, kontrol III (Kontrol 60) grubunda mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 57,375 $\pm$ 9,117, Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 60,000 $\pm$ 8,229, Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 52,375 $\pm$ 8,450, Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda mean (ort $\pm$ s.sapma) değeri 27,125 $\pm$ 12,369 olarak tespit edildi. Ve aynı sıcak iskemii sürelerine sahip olan Kontrol ve çalışma (ghrelin) grupları karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 6), (Tablo 10), ($P = 0,503$). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 6), (Tablo 11), ($P = 0,265$). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Grafik 6), (Tablo 12), ($P = <0.001$).

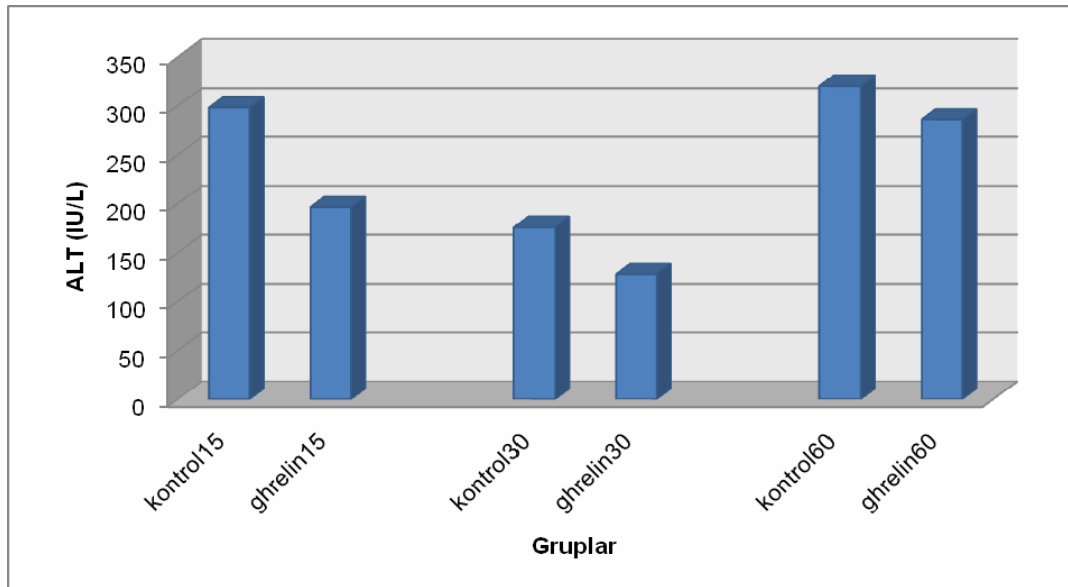
4.2.2. Bcl-2 sonuçları

Bcl-2 ile yapılan boyama sonucunda preparatlar, boyanma şiddeti (boyanma yok: 0, zayıf: 1, şiddetli: 2 olarak skorlandı) ve boyanma yüzdesi (%1: 0, %33: 1, %66: 2, %99: 3 olarak skorlandı) kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Ve aynı sıcak iskemii sürelerine sahip olan Kontrol ve çalışma (ghrelin) grupları karşılaştırıldığında, Kontrol I (Kontrol 15) grubu ve Çalışma I (Ghrelin 15) grubu arasında boyanma yüzdesinde ve boyanma şiddetinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 7,8), (Tablo 13–16), (boyanma şiddetinde $P = 0,315$, boyanma yüzdesinde $P=0,184$). Kontrol II (Kontrol 30) grubu ve Çalışma II (Ghrelin 30) grubu arasında boyanma şiddetinde ve boyanma yüzdesinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 7,8), (Tablo 17–20), (boyanma şiddetinde $P = 1.000$, boyanma yüzdesinde $P=0,619$). Kontrol III (Kontrol 60) grubu ve Çalışma III (Ghrelin 60) grubu arasında boyanma şiddeti açısından fark

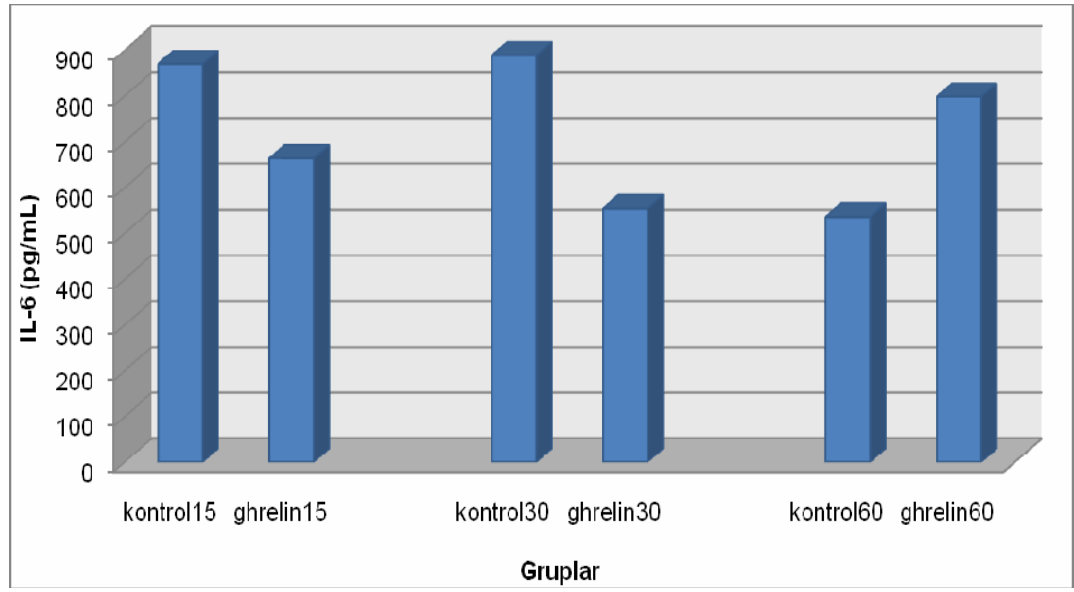
istatistiksel olarak anlamlı iken boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Grafik 7,8), (Tablo 21–24), (boyanma şiddetinde $P = 0.000$, boyanma yüzdesinde $P=0,076$).



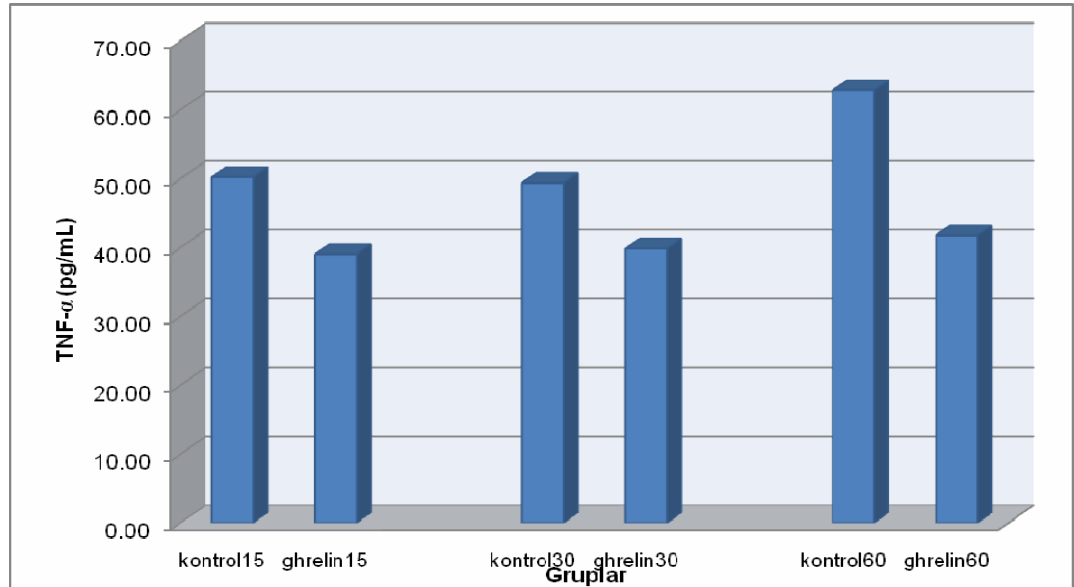
Grafik 1. Aynı sıcak iskemii sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında AST değerlerinin karşılaştırılması



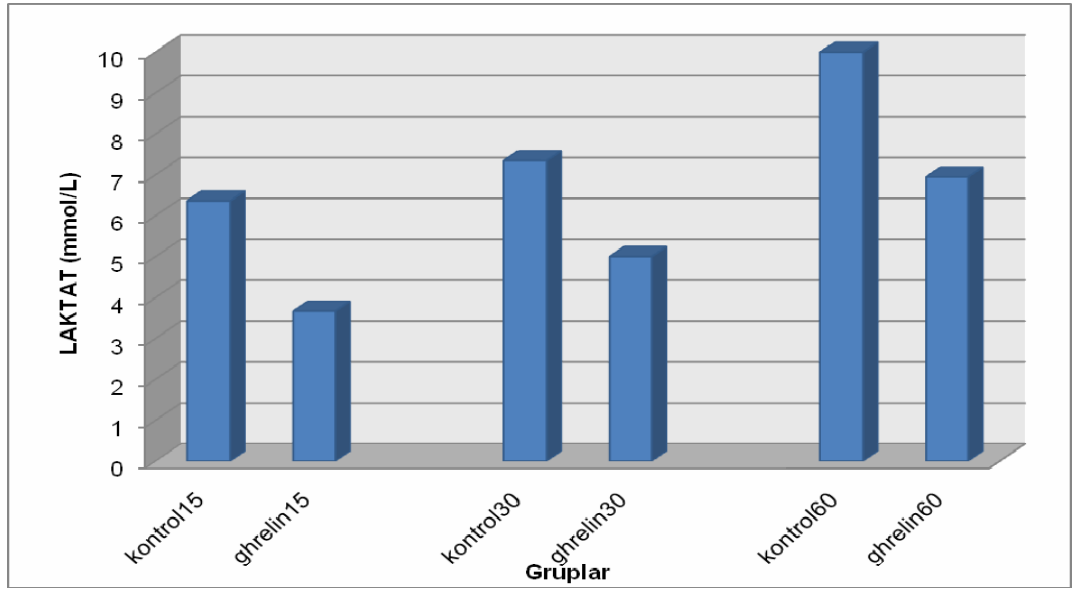
Grafik 2. Aynı sıcak iskemii sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında ALT değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 3. Aynı sıcak iskemii sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında IL-6 değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 4. Aynı sıcak iskemii sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında TNF- α değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 5. Aynı sıcak iskemik sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında Laktat değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 1. Kontrol I (Kontrol 15) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri

		Statistics ^a				
		tnfalfa	IL6	AST	ALT	LAKTAT
N	Valid	8	8	8	8	8
	Missing	0	0	0	0	0
Mean		50,1932	869,0000	606,5000	298,1250	6,3600
Median		52,1818	534,0000	577,5000	291,0000	6,2400
Std. Deviation		5,58638	571,18523	292,03424	88,61060	,38497
Minimum		40,00	424,00	308,00	185,00	5,99
Maximum		55,45	1912,00	1240,00	457,00	6,98
Percentiles	25	45,7500	497,0000	362,5000	215,0000	6,0475
	50	52,1818	534,0000	577,5000	291,0000	6,2400
	75	54,8636	1420,0000	678,2500	351,7500	6,7750

a. grup = k15

Tablo 2. Kontrol II (Kontrol 30) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri

		Statistics ^a				
		tnfalfa	IL6	AST	ALT	LAKTAT
N	Valid	8	8	8	8	8
	Missing	0	0	0	0	0
Mean		50,3182	888,5000	639,3750	326,7500	7,4000
Median		49,3636	638,0000	584,0000	176,0000	7,3450
Std. Deviation		4,00678	484,48117	205,87093	331,90780	,34447
Minimum		45,45	496,00	447,00	113,00	7,08
Maximum		57,82	1812,00	1087,00	1084,00	7,88
Percentiles	25	47,7727	522,0000	492,7500	128,2500	7,0800
	50	49,3636	638,0000	584,0000	176,0000	7,3450
	75	53,4545	1243,0000	722,5000	450,5000	7,7125

a. grup = k30

Tablo 3. Kontrol III (Kontrol 60) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri

		Statistics ^a				
		tnfalfa	IL6	AST	ALT	LAKTAT
N	Valid	8	8	8	8	8
	Missing	0	0	0	0	0
Mean		62,7841	676,5000	901,2500	320,8750	10,2075
Median		55,4091	536,0000	920,5000	334,0000	9,9950
Std. Deviation		18,75456	321,57781	351,51986	155,56206	,42365
Minimum		46,18	396,00	260,00	112,00	9,87
Maximum		104,73	1212,00	1321,00	603,00	10,96
Percentiles	25	50,4091	466,0000	669,2500	185,7500	9,9425
	50	55,4091	536,0000	920,5000	334,0000	9,9950
	75	68,8182	1025,0000	1238,7500	400,7500	10,6325

a. grup = k60

Tablo 4. Çalışma I (Ghrelin 15) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri

		Statistics ^a				
		tnfalfa	IL6	AST	ALT	LAKTAT
N	Valid	8	8	8	8	8
	Missing	0	0	0	0	0
Mean		39,0000	663,5000	327,6250	196,3750	3,6638
Median		39,2727	598,0000	317,0000	201,0000	3,9700
Std. Deviation		2,30599	233,55574	193,07433	65,89155	,45033
Minimum		34,55	396,00	108,00	110,00	3,04
Maximum		42,55	1124,00	689,00	290,00	4,01
Percentiles	25	38,0000	504,0000	154,5000	133,0000	3,1375
	50	39,2727	598,0000	317,0000	201,0000	3,9700
	75	40,0000	826,0000	456,0000	252,2500	3,9975

a. grup = g15

Tablo 5. Çalışma II (Ghrelin 30) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri

Statistics ^a		tnfalfa	IL6	AST	ALT	LAKTAT
N	Valid	8	8	8	8	8
	Missing	0	0	0	0	0
Mean		40,5455	554,0000	394,2500	187,7500	5,0863
Median		39,8182	552,0000	339,5000	128,5000	5,0000
Std. Deviation		1,79202	101,32832	242,25238	159,85328	,18936
Minimum		38,55	416,00	123,00	71,00	4,93
Maximum		43,64	672,00	876,00	531,00	5,41
Percentiles	25	39,0909	472,0000	223,7500	79,0000	4,9825
	50	39,8182	552,0000	339,5000	128,5000	5,0000
	75	42,0909	656,0000	552,2500	274,2500	5,2800

a. grup = g30

Tablo 6. Çalışma III (Ghrelin 60) grubunda AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerleri

Statistics ^a		tnfalfa	IL6	AST	ALT	LAKTAT
N	Valid	8	8	8	8	8
	Missing	0	0	0	0	0
Mean		41,7273	806,0000	485,5000	286,0000	6,9225
Median		41,4545	798,0000	548,5000	277,5000	6,9450
Std. Deviation		4,90861	204,83303	250,85966	107,74175	,11029
Minimum		36,00	620,00	132,00	102,00	6,69
Maximum		51,27	1260,00	814,00	454,00	7,02
Percentiles	25	37,4545	646,0000	221,5000	215,0000	6,8825
	50	41,4545	798,0000	548,5000	277,5000	6,9450
	75	44,5455	843,0000	702,7500	365,2500	7,0075

a. grup = g60

Tablo 7. 15.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol I ve Çalışma I gruplarında AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerlerinin karşılaştırılması.

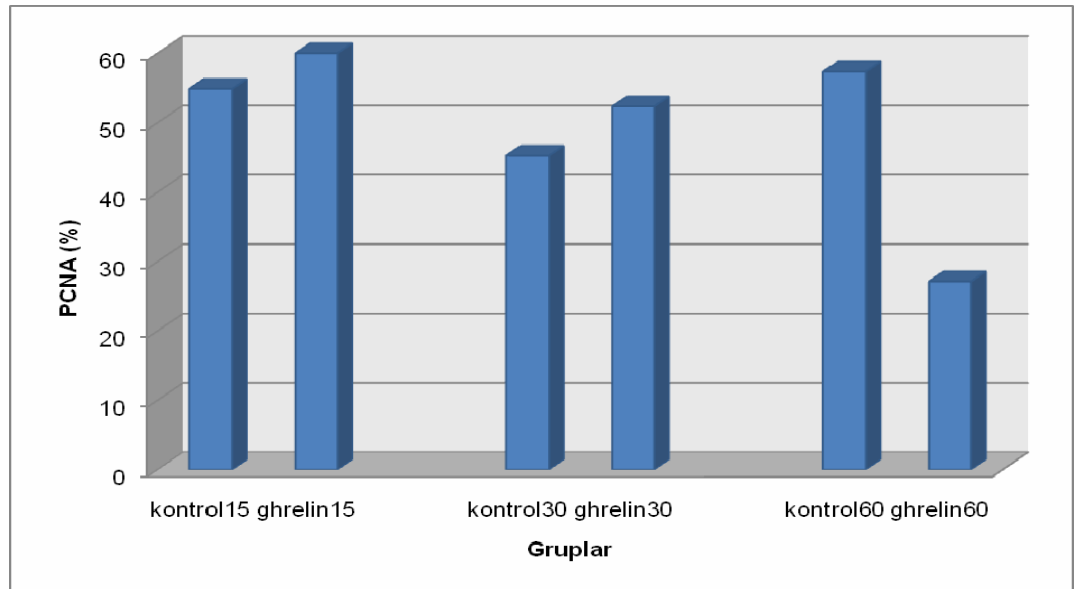
	GRUPLAR			
	KONTROL I(Kontrol15) mean(ort $\pm$ s.sapma)	ÇALIŞMA I(Ghrelin15) mean(ort $\pm$ s.sapma)	t	P
AST	606.500 $\pm$ 292.034	327.625 $\pm$ 193.074	2.253	0.041
ALT	298,125 $\pm$ 88,611	196,375 $\pm$ 65,892	2.606	0,021
TNF- α	50.192 $\pm$ 5.586	39.002 $\pm$ 2.305	5.237	<0.001
IL-6	869,000 $\pm$ 571,185	663,500 $\pm$ 233,556	0,942	0,362
LAKTAT	6,360 $\pm$ 0,385	3,664 $\pm$ 0,450	12,872	<0.001

Tablo 8. 30.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol II ve Çalışma II gruplarında AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerlerinin karşılaştırılması.

	GRUPLAR			
	KONTROL II(Kontrol 30) mean(ort $\pm$ s.sapma) medyan (%25-%75)	ÇALIŞMA II(Ghrelin 30) mean (ort $\pm$ s.sapma) medyan (%25-%75)	t / u	P
AST	639.375 $\pm$ 205.871	394.250 $\pm$ 242.252	2.181	0,047
ALT	176,000(133,500-399,000)	128,500(80,000-241,000)	20,000	0,234
TNF- α	49.360 (48.090-52.185)	39.820 (39.275-42.000)	0,000	<0.001
IL-6	888,500 $\pm$ 484,481	554,000 $\pm$ 101,328	1,911	0,077
LAKTAT	7,345 (7,080-7,695)	5,000 (4,985-5,190)	0,000	<0.001

Tablo 9. 60.dakika sıcak iske mi süresinde Kontrol III ve Çalışma III gruplarında AST, ALT, TNF- α , IL-6, Laktat değerlerinin karşılaştırılması.

	GRUPLAR		t / u	P
	KONTROL III(Kontrol 60) mean(ort $\pm$ s.sapma) medyan (%25-%75)	ÇALIŞMA III(Ghrelin 60) mean (ort $\pm$ s.sapma) medyan (%25-%75)		
AST	901.250 $\pm$ 351.520	485.500 $\pm$ 250.860	2.723	0.016
ALT	320,875 $\pm$ 155,562	286,000 $\pm$ 107,742	0,521	0,610
TNF- α	62.784 $\pm$ 18.755	41.727 $\pm$ 4.908	3.072	0,008
IL-6	536,000(476,000-890,000)	798,000(648,000-838,000)	49,500	0,065
LAKTAT	9,995 (9,955-10,465)	6,945 (6,885-7,005)	0,000	<0.001



Grafik 6. Aynı sıcak iske mi sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma (Ghrelin) Gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 10. 15.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol I ve Çalışma I gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması

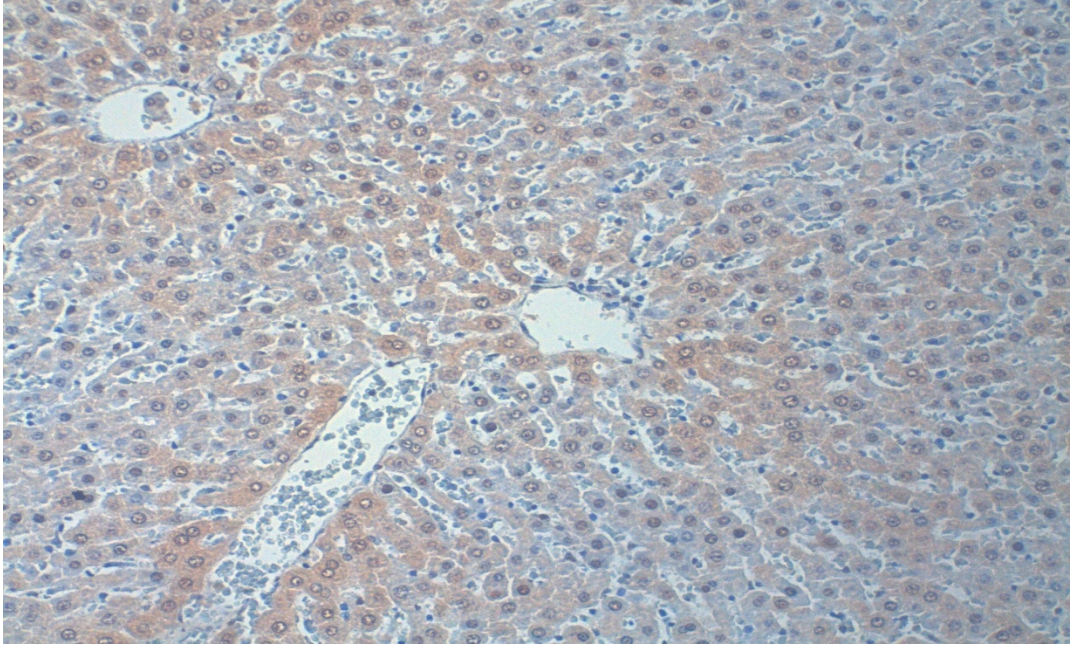
	GRUPLAR			
	KONTROL I(Kontrol 15) mean(ortal±s.sapma)	ÇALIŞMA I(Ghrelin 15) mean(ortal±s.sapma)	t	P
PCNA	54,875±19,394	60,000±8,229	-0,688	0,503

Tablo 11. 30.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol II ve Çalışma II gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması

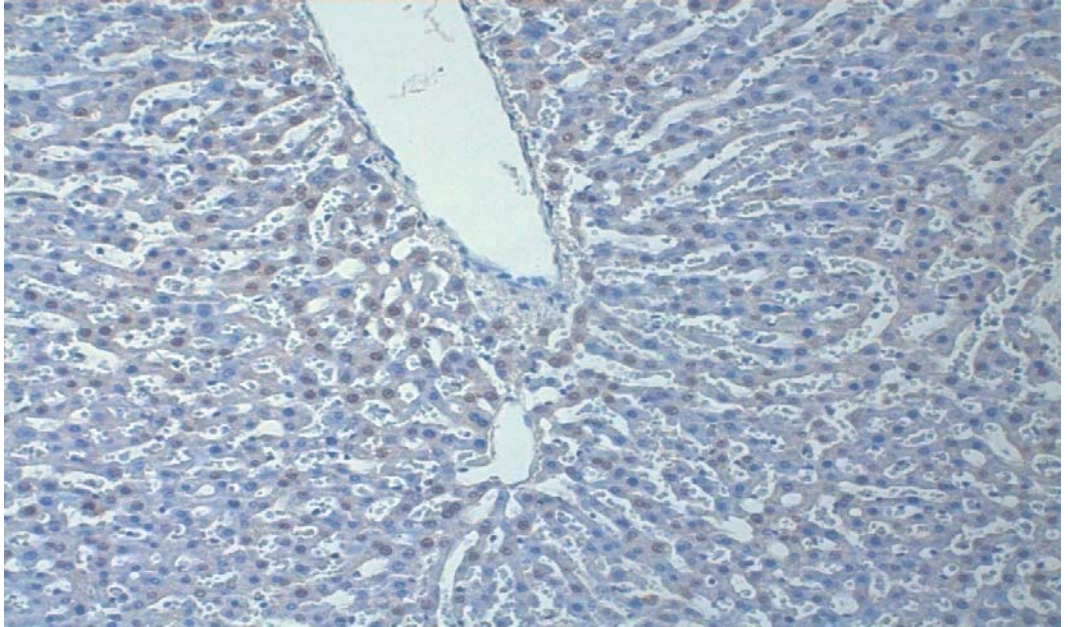
	GRUPLAR			
	KONTROL II(Kontrol 30) mean(ortal±s.sapma)	ÇALIŞMA II(Ghrelin 30) mean(ortal±s.sapma)	t	P
PCNA	45,250±15,173	52,375±8,450	-1,160	0,265

Tablo 12. 60.dakika sıcak iskemi süresinde Kontrol III ve Çalışma III gruplarında PCNA değerlerinin karşılaştırılması

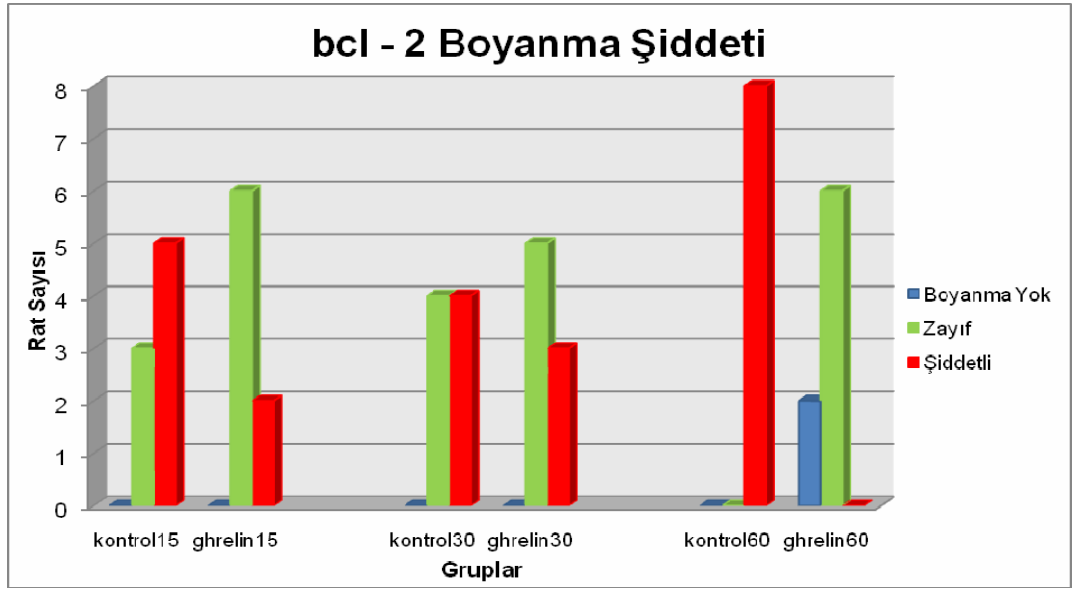
	GRUPLAR			
	KONTROL III(Kontrol60) mean(ortal±s.sapma)	ÇALIŞMA III(Ghrelin60) mean(ortal±s.sapma)	t	P
PCNA	57,375±9,117	27,125±12,369	5,568	<0.001



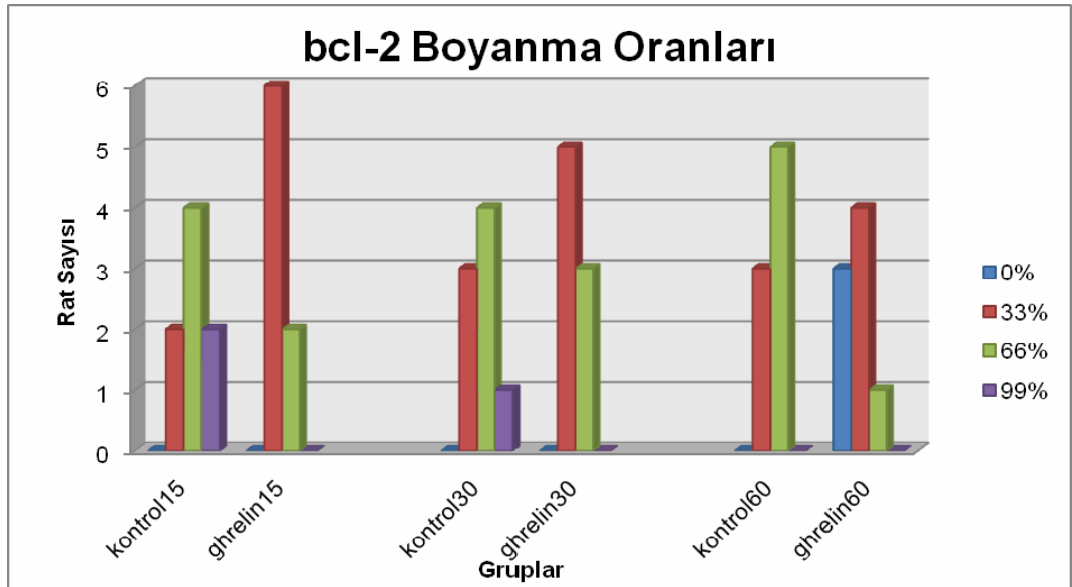
Resim 5. Kontrol grubunda PCNA ile hepatositlerdeki nükleer boyanma(x100)



Resim 6. Çalışma grubunda PCNA ile hepatositlerdeki nükleer boyanma(x100)



Grafik 7. Aynı sıcak iskemii sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma(Ghrelin) Gruplarında bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması



Grafik 8. Aynı sıcak iskemii sürelerine sahip Kontrol ve Çalışma(Ghrelin) Gruplarında bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması

Tablo 13. Kontrol I ve Çalışma I gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddeti değerleri**Crosstab**

			grup1		Total
			kontrol15	ghrelin15	
Bcl2siddet	ZAYIF	Count	3	6	9
		% within Bcl2siddet	33.3%	66.7%	100.0%
		% within grup1	37.5%	75.0%	56.3%
	SIDDETLI	Count	5	2	7
		% within Bcl2siddet	71.4%	28.6%	100.0%
		% within grup1	62.5%	25.0%	43.8%
Total	Count	8	8	16	
	% within Bcl2siddet	50.0%	50.0%	100.0%	
	% within grup1	100.0%	100.0%	100.0%	

Tablo 14. Kontrol I ve Çalışma I gruplarının bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması

	GRUPLAR			
Boyanma şiddeti	Kontrol I(Kontrol 15) n (8)	Çalışma I(Ghrelin 15) n (8)	χ^2	p
YOK	0 (0)	0 (0)	2,286	0.315
ZAYIF	3 (37.5)	6 (75)		
ŞİDDETLİ	5 (62.5)	2 (25)		

Tablo 15. Kontrol I ve Çalışma I gruplarındaki bcl-2 boyanma oranları değerleri**Crosstab**

			grup1		Total
			kontrol15	ghrelin15	
Bcl2yüzde	YUZDE 33	Count	2	6	8
		% within Bcl2yüzde	25.0%	75.0%	100.0%
		% within grup1	25.0%	75.0%	50.0%
	YUZDE 66	Count	4	2	6
		% within Bcl2yüzde	66.7%	33.3%	100.0%
		% within grup1	50.0%	25.0%	37.5%
	YUZDE 99	Count	2	0	2
		% within Bcl2yüzde	100.0%	.0%	100.0%
		% within grup1	25.0%	.0%	12.5%
Total	Count	8	8	16	
	% within Bcl2yüzde	50.0%	50.0%	100.0%	
	% within grup1	100.0%	100.0%	100.0%	

Tablo 16. Kontrol I ve Çalışma I gruplarındaki bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması

	GRUPLAR			
Boyanma Yüzdesi	Kontrol I(Kontrol 15) n (%)	Çalışma I(Ghrelin 15) n (%)	χ^2	p
%0	0 (0)	0(0)	4.667	0.184
%33	2 (25.0)	6 (75.0)		
%66	4(50.0)	2 (25.0)		
%99	2 (25.0)	0 (0)		

Tablo 17. Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddeti değerleri

Crosstab

			grup1		Total
			kontrol30	ghrelin30	
Bcl2siddet	ZAYIF	Count	4	5	9
		% within Bcl2siddet	44.4%	55.6%	100.0%
		% within grup1	50.0%	62.5%	56.3%
	SIDDETLI	Count	4	3	7
		% within Bcl2siddet	57.1%	42.9%	100.0%
		% within grup1	50.0%	37.5%	43.8%
Total	Count	8	8	16	
	% within Bcl2siddet	50.0%	50.0%	100.0%	
	% within grup1	100.0%	100.0%	100.0%	

Tablo 18. Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması

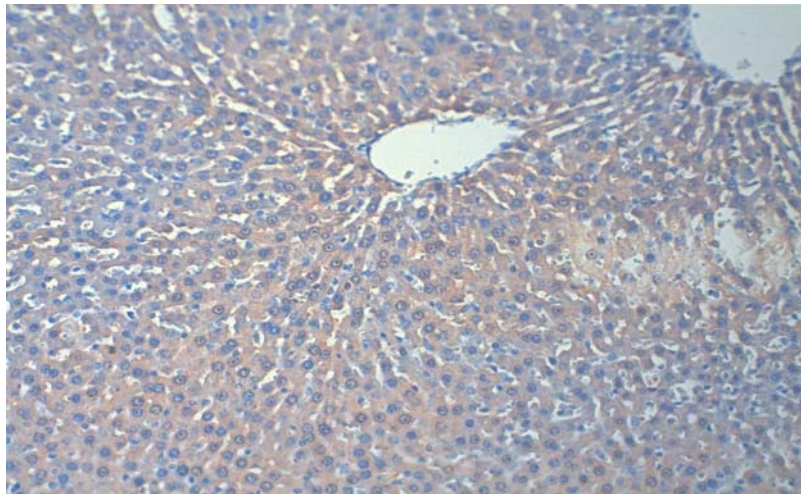
	GRUPLAR			
Boyanma şiddeti	Kontrol II(Kontrol 30) n (8)	Çalışma II(Ghrelin 30) n (8)	χ^2	p
YOK	0 (0)	0 (0)	0.614	1.000
ZAYIF	4 (50)	5 (62.5)		
ŞİDDETLİ	4 (50)	3 (37.5)		

Tablo 19. Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma oranları değerleri

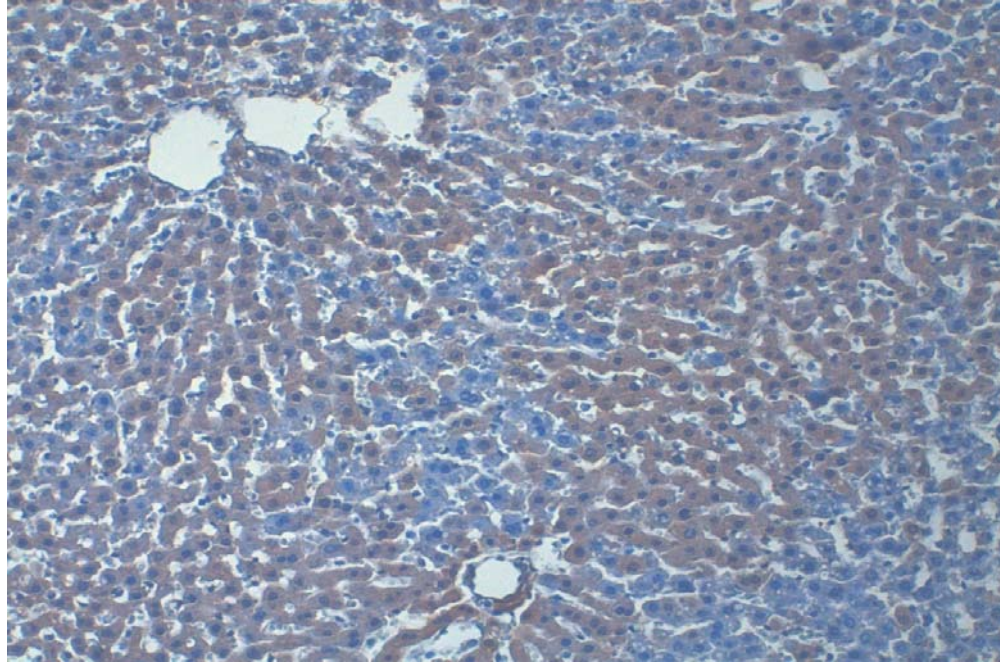
Crosstab					
			grup1		Total
			kontrol30	ghrelin30	
Bcl2yüzde	YUZDE 33	Count	3	5	8
		% within Bcl2yüzde	37.5%	62.5%	100.0%
		% within grup1	37.5%	62.5%	50.0%
	YUZDE 66	Count	4	3	7
		% within Bcl2yüzde	57.1%	42.9%	100.0%
		% within grup1	50.0%	37.5%	43.8%
	YUZDE 99	Count	1	0	1
		% within Bcl2yüzde	100.0%	.0%	100.0%
		% within grup1	12.5%	.0%	6.3%
Total	Count	8	8	16	
	% within Bcl2yüzde	50.0%	50.0%	100.0%	
	% within grup1	100.0%	100.0%	100.0%	

Tablo 20. Kontrol II ve Çalışma II gruplarındaki bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması

	GRUPLAR			
Boyanma Yüzdesi	Kontrol II(Kontrol 30) n (%)	Çalışma II(Ghrelin 30) n (%)	χ^2	p
%0	0 (0)	0 (0)	1.643	0.619
%33	3 (37.5)	5 (62.5)		
%66	4(50.0)	3 (37.5)		
%99	1 (12.5)	0 (0)		



Resim 7. Kontrol grubunda bcl-2 ile sitoplazmik boyanma(x100)



Resim 8.Çalışma grubunda bcl-2 ile sitoplazmik boyanma(x100)

Tablo 21. Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddeti değerleri

Crosstab

			grup1		Total
			kontrol60	ghrelin60	
Bcl2siddet	BOYANMA YOK	Count	0	2	2
		% within Bcl2siddet	.0%	100.0%	100.0%
		% within grup1	.0%	25.0%	12.5%
	ZAYIF	Count	0	6	6
		% within Bcl2siddet	.0%	100.0%	100.0%
		% within grup1	.0%	75.0%	37.5%
	SIDDETLI	Count	8	0	8
		% within Bcl2siddet	100.0%	.0%	100.0%
		% within grup1	100.0%	.0%	50.0%
Total	Count	8	8	16	
	% within Bcl2siddet	50.0%	50.0%	100.0%	
	% within grup1	100.0%	100.0%	100.0%	

Tablo 22. Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma şiddetlerinin karşılaştırılması

	GRUPLAR			
Boyanma şiddeti	Kontrol III(Kontrol 60) n (8)	ÇalışmaIII(Ghrelin60) n (8)	χ^2	p
YOK	0 (0)	2 (25)	16.000	0.000
ZAYIF	0 (0)	6 (75.0)		
ŞİDDETLİ	8 (100.0)	0 (0)		

Tablo 23. Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma oranları değerleri

Crosstab

			grup1		Total
			kontrol60	ghrelin60	
Bcl2yüzde	YUZDE 1 DEN AZ	Count	0	3	3
		% within Bcl2yüzde	.0%	100.0%	100.0%
		% within grup1	.0%	37.5%	18.8%
	YUZDE 33	Count	3	4	7
		% within Bcl2yüzde	42.9%	57.1%	100.0%
		% within grup1	37.5%	50.0%	43.8%
	YUZDE 66	Count	5	1	6
		% within Bcl2yüzde	83.3%	16.7%	100.0%
		% within grup1	62.5%	12.5%	37.5%
	Total	Count	8	8	16
		% within Bcl2yüzde	50.0%	50.0%	100.0%
		% within grup1	100.0%	100.0%	100.0%

Tablo 24. Kontrol III ve Çalışma III gruplarındaki bcl-2 boyanma oranlarının karşılaştırılması

	GRUPLAR			
Boyanma Yüzdesi	Kontrol III(Kontrol60) n (%)	Çalışma III(Ghrelin60) n (%)	χ^2	p
%0	0 (0)	3 (37.5)	5.810	0.076
%33	3 (37.5)	4 (50)		
%66	5 (62.5)	1 (12.5)		
%99	0 (0)	0 (0)		

5. TARTIŞMA

Organ nakilleri arasında karaciğer nakli önemli farklılıklar gösterir. Günümüze kadar nakil yapılan organlar arasında teknik açıdan en güç olanı şüphesiz ki karaciğer naklidir. Teknik özelliklerinin yanında karaciğer metabolizmasının oldukça kompleks olması nakil sonrasında önemli sorunlara yol açmaktadır. Böbrek hastalıklarında uygulanabilen diyaliz gibi bir yöntemin karaciğer için olmaması organ naklini daha da güçleştirmektedir. Tüm bu güçlüklerle rağmen karaciğer nakli günümüzde başarı ile uygulanabilen altın standart tedavi modalitesidir. Karaciğer naklinin başarı ile yapılabilirliği şüphesiz immünsüpresyon ve cerrahi teknikteki gelişmelere bağlıdır (36).

Karaciğer nakli deneysel bir teknikten akut ve kronik karaciğer yetmezliğinin tedavisinde tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Karaciğer nakillerinin sayısı uygun verici greftlerinin sayısı ile sınırlıdır. Verici havuzunu genişletme çabası ile, organ bağış kriterleri daha az sınırlayıcı hale gelmiştir ve yağlı karaciğer, ileri yaştaki donör karaciğeri ve NHBD’lerden alınan karaciğerler gibi “genişletilmiş kriterlere” göre nakiller giderek artan sayıda kullanılmaya başlanmıştır. “Genişletilmiş kriterlerin” kullanımı, greft disfonksiyonu ve PNF’un temel nedeni olan iskemi-reperfüzyon hasarında (IRI) artış ile birliktedir (3).

Karaciğer naklinin seyrinde, IRI hücresel hasara neden olan ve greft disfonksiyonuna (%10-30’unda) veya PNF’a (%5’inde) yol açan bir dizi karmaşık olay dizisini temsil eder (55). Buna ek olarak IRI doğal immüniteyi aktifleştirir ve sırası ile adaptif immün yanıtı güçlendirir ve red reaksiyonunu teşvik eder (56,57). Dolayısı ile karaciğer nakli sonrası sonuçların iyileştirilmesi için IRI’nın zayıflatılması zorunludur . Bu olay daha

az fonksiyonel rezerve sahip ve IRI'na daha duyarlı “genişletilmiş kriterlere” uygun greftlerde daha önemlidir (58).

Günümüzde organ nakillerindeki en önemli sorunlardan biri donör organ sayısının yetersizliğidir. Başlıca organ kaynakları canlı donörler ve beyin ölümü gerçekleşmiş hastalardır. Ancak bu organlar da şu an için yetersiz kalmaktadır. Son yıllarda donör havuzunu genişletmeye yönelik olarak kardiyorespiratuar arrest olmuş non-heart beating donörler (NHBD) önem kazanmış ve ilgi odağı haline gelmiştir. NHBD'lerin böbrek ve karaciğer transplantasyonunda kullanıma girmesiyle organ havuzu yaklaşık %20 oranında artırılmıştır (2).

İn situ sıcak iskemiye maruz kalan NHBD'lerden alınan greftlerde PNF riski daha yüksektir. PNF riskindeki bu artış, böbrek naklinde standart girişim haline gelen NHBD'nin karaciğer naklinde sınırlı kullanımını kısmen de olsa açıklar (4–6). Preklinik hayvan modelinde, 4 saatlik soğuk iskemiye takiben yapılan NHBD-karaciğer nakli, 15 dakikalık sıcak iskemiye tolere ettiği, 30 dakika ve üzerindeki sıcak iskemide kabul edilemez oranda yaklaşık %50 PNF'yi indüklediği gözlenmiştir (4).

Karaciğer naklinde, 1-5 yıllık survi oranlarının % 70-80'lere çıkmasıyla son dönem karaciğer hastaları için tek tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fakat sadece karaciğer nakil adayları bu tedavinin yararlarını görmektedir (9). Erken NHBD greft surveyleri ile ilgili çalışmalar bir yıllık sağkalımın %73–91, beş yıllık sağkalımın %58–80 oranlarında olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar kadaverik heart beating donör transplant sonuçlarıyla karşılaştırılabilir düzeydedir (10).

Kadaverik heart beating donörün (HBD) ölümü, beyin sapı fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kesilmesine dayanmaktadır. NHBD'lerin ölümü ise dolaşım ve solunum fonksiyonlarının geri dönüşümsüz durmasına dayanmaktadır. Kadaverik HBD'lerde beyin ölümü gerçekleşmiştir, ancak kardiyorespiratuar sistem çalışmaktadır. Bu nedenle beyin ölümlü donörlerde organ iskemisi minimaldir çünkü dolaşımsal arrest, solüsyonların perfüzyonu ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir. Oysa NHBD'lerde organlar daha az idealdir. Çünkü perfüzyon öncesi uzamış dolaşımsal arrest nedeniyle organlar iskemiye maruz kalmaktadırlar (11).

NHBD'ler sıcak iskemiye maruz kaldıkları için primer greft nonfonksiyonu daha sıklıkla gelişmektedir. İskemik karaciğerin canlılığını invivo değerlendirebilen kabul edilmiş uygun bir teknik olmaması nedeniyle NHBD greftlerinin kullanıldığı organ

nakli yapılan geniş serili deneysel modeller hazırlanarak NHBD'lerdeki bu en temel sorun olan sıcak iskemi konusundaki sorular cevaplanmalıdır (14). Sıcak iskemi süresi ne kadar uzun ise transaminazlardaki yükselme de o kadar erken başlamaktadır. Eğer AST yüksekliği erken dönemde geliyorsa o greft surveyi ve fonksiyonu için kötü bir gelecek oluşacağı söylenebilir. Sıcak iskeminin kendisi karaciğer hasarına yol açmaktadır ki bu hasarı iskemi–reperfüzyon injurisi daha da artırmaktadır. Reperfüzyondan önce karaciğer spesmenlerinin incelendiği çalışmalarda sıcak iskeminin kendi başına etkisi koagülasyon, hepatosit nekrozu ve vakuolizasyon ile kanıtlanmıştır (15).

NHBD-karaciğer nakil modelinde artan sürelerde sıcak iskemiye maruz kalan karaciğerlerin nakil sonrası PNF, alıcı ölümü ve toksik safra oluşumu açısından daha yüksek riske sahip olduğu gösterilmiştir (4,7). PNF gelişen greftlerde, majör hepatoselüler hasar, Kupffer hücre aktivasyonu (soğuk saklama öncesi halihazırda bulunur) ve inflamatuvar sitokinler TNF-alfa ve IL-6'nın fazla üretimi (reperfüzyon sonrası) gözlenmiştir. Bu duruma bazı antioksidan mekanizmaların yetersizliği (özellikle alfa-tokferol ve glutatyon) ve redoks-aktif demir (toksik oksijen radikallerinin üretimini katalizlediği bilinen) serbestleşmesi eşlik eder.

Karaciğerin 15–20 dakikaya kadar olan klasik normotermik iskemiye iyi tolere ettiği bilinmesine rağmen, iskemi süresinin artmasının cerrahi sonuçları ne oranda etkilediği hala tartışma konusudur. Günümüzde elektif şartlarda yapılan karaciğer rezeksiyonlarında portal triadın klempaj süresinin 90 dakikaya kadar uzatılabileceği savunulmaktadır. İskemi ve reperfüzyonun karaciğer üzerindeki etkileri iskeminin devamlılığı ile ilişkilidir. Karaciğerde 30–60 dakikalık iskemi geri dönüşümlü hasara neden olurken, 90–120 dakikalık iskemi geri dönüşümsüz hasara neden olur (97).

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

çalışmalarında karaciğer için kabul edilebilir sıcak iskemi süresinin 15–45 dakika arasında olduğunu bildirmişlerdir (4).

Sıcak iskemi süresi limitasyonunda fikir birliği için bir çok çalışma literatürde devam etmektedir. Yi Ma ve arkadaşlarının çalışmasında bu süre 30 dakika olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada sıcak iskemi süresi arttıkça histolojik değişiklikler artmıştır. Yine bu çalışmada NHBD’lerde reperfüzyon sırasındaki injurinin sıcak iskemi süresi ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada sonuç olarak sadece sıcak iskemiye maruz kalan greftlerde iskemi süresi 60 dakikanın altında ise hasar geri dönüşümlü olarak tanımlanmaktadır. Ancak hasarın reperfüzyon sırasında da arttığı bildirilmektedir. Bu yüzden sıcak iskemi süresi 30 dakika olarak sağlanabilirse reperfüzyon sağlandıktan sonra bile hasar geri dönüşümlü olarak gerçekleşmektedir. Bu çalışmanın sonucunda özellikle sıçan karaciğer greftleri için sıcak iskemi süresinin 30 dakika olarak sağlanması gerektiği vurgulanmaktadır (14).

Valero ve arkadaşları karaciğer greftleri için tolere edilebilir sıcak iskemi süresini 20 dakika olarak bildirmişlerdir (50). Takada ve arkadaşları yaptıkları çalışmada da karaciğer greftleri için sıcak iskeminin 60 dakika ya kadar uzatılabileceğini gösterilmiştir (98).

Literatür bilgisi göz önüne alınarak bizim çalışmamızda, kontrol grubunda kardiyak arrest sonrası 15, 30, 60 dakikalık sıcak iskemi süreleri beklenildikten sonra cerrahi işleme başlandı. Çalışma grubunda ise, ghrelin verildikten 30 dakika sonra kardiyak arrest oluşturularak 15, 30, 60 dakikalık sıcak iskemi süreleri beklenildikten sonra cerrahi işlemler gerçekleştirildi.

Ghrelin GHS-R1a’ya doğal olarak bağlanan peptid yapıda bir hormondur. Dolaşımda bulunan ghrelin’in 2/3’ü midenin oksintik mukozasında bulunan X/A benzeri hücrelerce, kalan kısmının büyük miktarı ise ince bağırsaklardaki X/A benzeri hücrelerce üretilir (99,100). GHS reseptörleri merkezi sinir sistemi ve çevre dokularda bulunmakta ve ghrelin GH salınımını buralardan sağlamaktadır (101).

GHSR mRNA’nın birçok lenfoid organda, monositler, T ve B hücreler gibi farklı lökosit alt gruplarında eksprese olması ghrelinin immün etkileşimlerde ve oluşumda rol oynayabileceğini göstermektedir (102,104). Ghrelin’in pankreatobiliyer inflamasyonu ve pankreatobiliyer tıkanıklığa bağlı yakın organ hasarını nötrofil aktivasyonunu baskılayarak düzelttiği gösterilmiştir (103).

Ghrelin ve GHS-R insan T hücrelerinde ve monositlerde bulunduğu, ghrelin'in IL1- β , IL-6 ve TNF- α gibi LPS leptine bağlı oluşan proinflamatuvar anorektik sitokinleri baskıladığı gösterilmiştir (102,105,106). Başka bir çalışmada, ghrelin'in iskemi/reperfüzyona bağlı oluşan gastrik lezyonların gastrik kan akımını artırarak ve NF-kappa B ve plasma TNF- α düzeylerini azaltarak iyileşmesini hızlandığı gösterilmiştir (107).

Yakın zamanda İşeri ÖS ve arkadaşları ratlarda safra yolu ligasyonu ile oluşturulan kronik karaciğer hasarında ghrelin'in antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiğini ve daha da önemlisi karaciğerde histopatolojik düzeyde olumlu etkisini göstermişlerdir (108).

Granado M., Martin AI ve arkadaşları 2007 yılında İspanyada yaptıkları çalışmada , bir ghrelin reseptör agonisti olan GH-releasing peptide-2'nin (GHRP-2) antiinflamatuvar etkisi olduğunu göstermişler, deneysel olarak sıçanlara eş zamanlı intraperitoneal LPS (Lipopolisakkarid) ve GHRP-2 uygulayarak karaciğer hasarının göstergelerinden AST, ALT, proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-6 serum düzeyleri ölçülmüş ve GHRP-2 uygulanan grupta ölçüm değerlerinin anlamlı şekilde düşüş sergilediğini göstermişlerdir (109). Ghrelin uygulanması septik şokta mortaliteyi azaltır ve metabolik bozuklukları düzeltir ve karaciğer pankreas dokusunu oksidatif strese karşı korur (110).

Wu R, Dong W, Ji Y ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada ghrelinin intestinal iskemi-reperfüzyon sonrası lokal ve uzak organ hasarını zayıflattığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada sıçanlarda süperior mezenterik artere klips yerleştirilerek barsak iskemisi indüklenmiş ve klipsin çıkarılmasından sonra 30 dakika süreyle ghrelin (12 nmol/kg) intravenöz yoldan uygulanarak serum TNF- α , IL-6, Laktat düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü gözlemlemişlerdir. Bu çalışma sonuçları ghrelin uygulamasının proinflamatuvar sitokin serbestleşmesini inhibe ettiğini, nötrofil infiltrasyonunu azalttığını, intestinal bariyer disfonksiyonunu iyileştirdiğini, organ hasarını azalttığını ve sağkalımı artırdığını göstermiştir.

Monbaliu D, Vekemans K ve arkadaşları, domuzlarda yaptıkları deneysel bir çalışmada, kalp atışı olmayan vericilerden (NHBD) alınan domuz karaciğer greftlerinin canlılığını güçlendirmek için iskemi reperfüzyon hasarını hedefleyen çok faktörlü biyolojik modülasyon yaklaşımı tasarlamışlar. 45 dakika sıcak iskemiye maruz kalan domuz karaciğerleri 4 saat soğukta saklanmış ve alıcılara nakledilmiş. Modülasyon grubunda,

verici karaciğeri soğuk depolama öncesi sıcak ringer laktat, (soğukla indüklenen vazokonstriksiyondan kaçınmak üzere), streptokinaz (durgunluk nedeni ile oluşan trombüsleri ekarte etmek üzere) ve epoprostenol (vazodilatatör, platelet agregasyon inhibitörü) ile yıkanmıştır. Alıcılara ise, intravenöz olarak glisin (Kupper hücre stabilizatörü), alfa1-asit glikoprotein (anti-inflamatuvar protein), MAPKinaz inhibitörü (pro-inflamatuvar sitokin oluşumunun inhibitörü), alfa-tokoferol ve glutasyon (antioksidanlar) ve apotransferrin (demir şelatörü) uygulanmıştır. PNF, sağ kalım, laktat, transaminaz, TNF-alfa, redoks-aktif demir ve safra tuzu-fosfolipid oranı izlenmiştir. Kontrol ve modülasyon grubu karşılaştırıldığında modülasyon grubunda PNF gözlenmemiş, sağkalım kontrol grubunda %22 iken modülasyon grubunda %83 bulunmuş, AST, Laktat, TNF- α , redoks-aktif demir ve safra tuzu-fosfolipid oranı modülasyon grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (111).

Çetin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Deneysel Non-Heart Beating Donor Modelinde Edaravon'un karaciğer hasarını önleyici etkileri araştırılmış ve AST, ALT, TNF- α , IL-6 düzeylerinin edaravon verilen çalışma grubunda anlamlı bir şekilde düşme olduğunu tespit ederek NHBD'lerde hepatositlerin iskemiye dayanıklılığını artırdığını göstermişlerdir (112).

AST ve ALT, akut hepatosellüler hasarın en iyi serum göstergeleridir. Sitoplazmik ve mitokondrial bir enzim olan AST, karaciğer dışında kalp, iskelet kası, böbrek, beyin gibi bir çok dokuda bulunurken, sitoplazmik bir enzim olan ALT başlıca karaciğerde bulunur ve AST'ye göre daha özgündür. Bu enzimler parankim hasarının olduğu dönemden itibaren yükselmeye başlar. Enzimlerin serum değerlerindeki yükselme hepatosellüler hasarın boyutlarını yansıtır. İskemi-reperfüzyon hasarının belirlenmesinde en sık kullanılan laboratuvar parametreleridirler (113).

Sıcak iskemi süresi ne kadar uzun ise transaminazlardaki yükselme de o kadar erken başlamaktadır. Eğer AST yüksekliği erken dönemde geliyorsa o greft surveyi ve fonsksiyonu için kötü bir gelecek oluşacağı söylenebilir. Sıcak iskeminin kendisi karaciğer hasarına yol açmaktadır ki bu hasarı iskemi-reperfüzyon injurisi daha da artırmaktadır (15).

Bizim çalışmamızda 15., 30., 60. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma grupları oluşturuldu. Hepatektomi sonrası perfüze edilen kontrol ve çalışma grubu karaciğerlerin perfüzeatları uygun koşullarda saklandı ve daha sonra AST ve ALT

değerleri ölçüldü. Perfüzyon sırasında düşük viskoziteye sahip yıkama solüsyonu kullanıldı. Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma gruplarının AST değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi. Çalışma grubundaki değerler kontrol grubuna göre belirgin olarak daha düşüktü. Yine aynı sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma gruplarının ALT değerleri karşılaştırıldığında, 15. dakika sıcak iskemi süresinde çalışma ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi. 30. ve 60.dakika sıcak iskemi süresinde kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasada ALT değerleri kontrol grubuna göre ghrelin grubunda daha düşük değerlere sahipti. AST ve ALT değerlerinin düşük bulunması, ghrelinin inflamasyonun bir çok basamağını bloke etmesi nedeniyle karaciğerde hücre hasarının daha az gerçekleştiğinin kanıtı olarak söylenebilir. Bu görüş ile yola çıkıldığında AST ve ALT değerlerinin düşük olduğu ghrelin grubunda karaciğer hücre viabilitesinin daha iyi olduğu ve PNF'ü önleme, greft surveyi açısından daha iyi sonuçlar verebileceği öngörülebilir.

Bilinmektedir ki karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında reperfüzyonun başlaması ile hepatik lipid peroksidasyonu artmakta ve böylece reperfüzyon esnasında karaciğer oksidatif strese bağlı zarar görmektedir. Bu da plazmaya kaçan karaciğer enzimleri ile ortaya konmaktadır. Oksidatif strese bağlı hepatik iskemi reperfüzyon hasarında inflamatuvar mediatörler Kupffer hücreleri tarafından üretilir. Aktive olan Kupffer hücrelerinin oksijen bağımlı serbest radikallerinin ve sitokinlerin üretimini artırdığı rapor edilmiştir (114–118). PNF greftlerde, majör hepatoselüler hasar, Kupffer hücre aktivasyonu (soğuk saklama öncesi halihazırda bulunur) ve inflamatuvar sitokinler TNF- α ve IL-6'nın fazla üretimi (reperfüzyon sonrası) gözlenmiştir. TNF- α hepatik iskemi reperfüzyon hasarında hepatositlerdeki apoptozisi tetikleyen önemli sitokinlerden birisidir (119).

Bizim çalışmamızda da 15., 30., 60. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma grupları karşılaştırıldığında TNF- α düzeyleri ghrelin grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Yine 15., 30., 60. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma gruplarında IL-6 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasada ghrelin grubunda kontrol grubuna göre daha düşük değerler tespit edilmiştir. Buda ghrelinin hepatoselüler hasar, Kupffer hücre aktivasyonu ve inflamatuvar sitokinler TNF-alfa ve IL-6'nın fazla üretimini

engelleyerek iskemi reperfüzyon hasarında karaciğeri reperfüzyonun zararlı etkilerinden koruduğunu, PNF’u önleme açısından daha iyi sonuçlar verebileceğini desteklemektedir.

Kan akımı kesilen dokularda birbiri ardı sıra bazı kimyasal reaksiyonlar gelişir. Bu reaksiyonlar sonucu hücresel disfonksiyon, hücresel ve interstisyel ödem, sonuçta hücresel kaos ve ölüm meydana gelir. Hücrelerin canlılığının ve fonksiyonunun devam edebilmesi için gerekli olan temel yakıtın elde edilmesinde oksijen, merkezi bir role sahiptir. Aerobik metabolizmalar normal hücre fonksiyonu için gerekli olan enerjiyi yüksek enerjili fosfat bağları şeklinde depo ederler. Oksijen yokluğunda anaerobik metabolizma devreye girer ve lokal olarak ilgili dokuda laktik asit konsantrasyonu artar bu hasarda önemli bir yer tutar (65). Sonuçta ortaya çıkan asidoz, hücrelerdeki normal enzim kinetiklerini değiştirir ve daha az miktarlarda yüksek enerjili bağlar oluşturur. Homeostazın korunması için gerekli enerji sağlanamaz (66). İskemi ile artan ATP ihtiyacı, glikolizi indükler. Glikolizde merkezi role sahip olan hekzokinaz aktivitesinin ölçülmesi ile ATP üretimi hakkında bilgi sahibi olunabilir (67). İskemi ile aktive olan anaerobik glikoliz sonucunda laktat üretimi artar. Bu reaksiyonlar zincirinin son basamağı olan pirüvatın laktata dönüştüğü ve laktat dehidrogenaz enziminin (LDH) kontrol ettiği reaksiyon iskemi hasarı sonrası önemli bir parametredir (68).

NHBD’lerden sağlanan organlar için ana problem uzamış sıcak iskemi zamanıdır. Organ prezervasyonu ve organ nakillerinin iskemi–reperfüzyon injürisi ile doğrudan ilişkili olduğu kabul edilen bir görüştür. Soğuk ortamda organ hazırlanması (+4°C) metabolizmayı yavaşlatmakta ve iskeminin etkilerini sınırlandırmaktadır. ATP’nin azalması ve O₂ eksikliği anaerobik metabolizmayı aktifler. Laktat ve hipoksantin artmaya ve birikmeye başlar. Tüm bunlar sonucunda da intrasellüler asidoz gelişmektedir. Reperfüzyon, SOR eşliğinde hipoksantin ve ksantin ve ürata dönüşmesini sağlamaktadır. Bu yolak lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır. Fizyolojik olmayan bu sapmalar greft disfonksiyonunun en güçlü nedenlerinden birini oluşturmaktadır (12,13).

Bizim çalışmamızda da 15., 30., 60. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma grupları karşılaştırıldığında Laktat düzeyleri ghrelin grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Buda ghrelinin yukarda belirtildiği gibi greftteki iskemik hasarı minumuma indirebileceği ve greft disfonksiyonunun en

güçlü nedenlerinden biri olan lipid peroksidasyonunu önleyebileceği öngörüsünü desteklemektedir.

Normal karaciğerde PCNA antikoru ile immünohistokimyasal inceleme sonrası önemsenmeyecek kadar az sayıda hücrede boyanma saptanırken, rejenere olan karaciğerde son derece yüksek sayıda hücrede pozitif boyanma saptanmaktadır (78).

Yamano ve arkadaşları portal ven ligasyonu sonrası rejenerasyonu uyardıkları çalışmada portal ven ligasyonu yapılmamış olan ve rejenerasyon oluşan lobda, artmış PCNA aktivitesini göstermişlerdir (120).

Bcl-2 hücre yaşamını apoptozisi bloke ederek uzatmaktadır. İskemiye maruz kalan hücrelerin seçtikleri ölüm yolu olan apoptozisin baskılanması da karaciğer greftlerinde canlılığın devamı için önemlidir (79).

Yamamoto ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, sıçan karaciğerlerinin rejeksiyon sırasında apoptozise rezistans gösterdiklerini ve hepatositlerin canlılıklarını korumaya çalıştıklarını göstermişlerdir. Herhangi bir nedenle iskemiye maruz kalan hücrenin apoptozisten korunmak için bcl-2 eksprese ettiğini yayınlamışlardır (122).

Akalın ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Deneysel Non-Heart Beating Donor Modelinde Rantes'in Met-rantes ile blokajının inflamasyonun birçok basamağını bloke ederek karaciğer hücre hasarının daha az oluştuğunu göstermişlerdir (121).

Çetin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Deneysel Non-Heart Beating Donor Modelinde Edaravon'un karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkilerini ve karaciğeri iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğunu göstermiştir (112).

Gapany ve arkadaşları çalışmalarında karaciğer allogreft rejeksiyonlarında safra kanalı hücrelerinin apoptozisinin bcl-2'nin seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hepatositlerin ve bilier hücrelerin apoptozisi greft rejeksiyonunda kilit noktada yer almaktadır. Apoptozis nedeniyle kaybedilen hücre sayısı ile rejeksiyonun şiddeti belirlenmektedir (123).

Bizim çalışmamızda 15., 30. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma grupları PCNA açısından karşılaştırıldığında ghrelin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. 60 dakika sıcak iskemi süresine sahip olan kontrol ve çalışma grupları PCNA açısından karşılaştırıldığında ghrelin grubunun kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir şekilde düşük işaretlenme oranına

sahipti. Bu bulgu ghrelinin 60 dakikalık sıcak iskemi süresinde karaciğer dokusunu daha fazla koruduğu ve sağlam karaciğer dokusunun daha fazla olmasına bağlı olarak bu proteinin daha az eksprese edildiği, karaciğer dokusundaki proliferlere olması gereken hücre fraksiyonunun daha az olduğunu göstermiştir. Ghrelinin karaciğer dokusunu korumuş olması, rejenerasyonun düşük derecede gerçekleştiğini düşündürmüştür.

15., 30., 60. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma grupları bcl-2 ile hem boyanma şiddeti hem de boyanma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında ghrelin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ama ghrelin grubunun kontrol grubuna göre boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri açısından daha düşük değerlere sahip olduğu görüldü. Bu durumda, ghrelinin hepatositleri iskeminin zararlı etkilerinden korumaya yardımcı olabileceği ve greft disfonksiyonu, greft surveyi açısından daha iyi sonuçlar verebileceği öngörülebilir.

Çalışmalar göstermektedir ki NHBD'lerin kullanıma girmesi ile donör organ sayısı yaklaşık %20–25 oranında artmaktadır. Organ hazırlanmasındaki, pre ve postoperatif bakımdaki ve immüsupresyondaki çeşitlilik ve etkinlik ve cerrahi teknikteki gelişmeler sayesinde bu tür greftlerin fonksiyon ve surveyleri optimize edilebilmektedir. Bu sayede NHBD'ler günümüzde transplantasyon modalitesi için umut vaat eder hale gelmiştir. Bu nedenle; oldukça büyük bir donör havuzu sağlayacak olan NHBD'lerin transplantasyon için kullanıma girmesi greft sıkıntısını önemli ölçüde giderecektir.

Bizim çalışmamızda ghrelin verilen çalışma grubunda biyokimyasal ve morfolojik olarak, uzamış sıcak iskemiye rağmen iskemi reperfüzyonun zararlı etkilerinden karaciğeri koruduğunu, greft disfonksiyonu ve PNF'u önleme açısından ghrelinin önemli yararlar sağlayabileceği öngörülebilir.

6. SONUÇLAR

Ocak-Eylül 2011 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yapılan, deneysel kontrollü non-heart beating donör modelinde ghrelinin karaciğer hücre canlılığına etkisinin ve bu greftlerin kullanılabilirliğinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şeklide sıralanabilir:

1. Bu çalışmada biyokimyasal olarak karaciğer hasarının önemli göstergelerinden olan AST ve ALT düzeyleri araştırılmıştır. Aynı sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma gruplarının AST değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi. Çalışma grubundaki değerler kontrol grubuna göre belirgin olarak daha düşüktü. Yine aynı sıcak ıskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma gruplarının ALT değerleri karşılaştırıldığında, 15. dakika sıcak iskemi süresinde çalışma ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi. 30. ve 60. dakika sıcak iskemi süresinde kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasada ALT değerleri kontrol grubuna göre ghrelin grubunda daha düşük değerlere sahipti. Bu biyokimyasal sonuçlar non-heart beating donörlerdeki en temel sorun olan sıcak iskemi süresinin hepatositler üzerindeki yıkıcı etkisinin ghrelin ile yapıldığı çalışma gruplarında daha az gerçekleştiğini ve ghrelinin PNF gelişimini engelleyebileceği ve hepatosit canlılığının devamlılığında koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

2. Bu çalışmada biyokimyasal olarak proinflatuar sitokinler olan IL-6 ve TNF- α düzeyleri araştırıldı. Proinflatuar sitokinlerden IL-6 düzeyleri kontrol ve çalışma gruplarının karaciğer perfüzyon sıvılarından çalışılan bu değerler ghrelin grubunda daha düşüktü ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. TNF- α düzeylerinde kontrol ve çalışma gurupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu biyokimyasal sonuçlar non-heart beating donörlerdeki sıcak iskemi sürecinde ortaya çıkan proinflatuar sitokinlerin seviyelerinin ghrelin verilmesi ile azaldığı ve ghrelinin hücre canlılığının devamlılığında koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.
3. Bu çalışmada biyokimyasal olarak laktat düzeyleri araştırılmıştır. Kontrol ve çalışma gruplarının karaciğer perfüzyon sıvılarından çalışılan laktat değerleri ghrelin verilen grupta daha düşüktü ve bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. Ghrelinin laktat değerlerini düşürmesi greftteki iskemik hasarı minumuma indirebileceği, lipid peroksidasyonunu engellediği ve dolayısı ile greft disfonksiyonununda engelleyebileceğinin bir göstergesi olabilir.
4. S fazındaki hücrede ekspere edilen PCNA, hücrenin proliflere olduğunun bir kanıtıdır. Proliferasyon sürecini yaşayan hücrelerden salınan PCNA bir anlamda hücrenin canlılığının korunmaya çalışıldığının göstergesidir. Normal karaciğerde PCNA antikorları ile önemsenmeyecek kadar az sayıda hücrede boyanma saptanırken, rejenere olan karaciğerde son derece yüksek sayıda hücrede pozitif boyanma saptanır. Bizim çalışmamızda 15. ve 30. dakika sıcak iskemi süresinde kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi, ama 60. dakika sıcak iskemi süresinde istatistiki olarak anlamlı bir şekilde ghrelin grubunda kontrol grubuna göre daha düşük işaretleme oranı tespit edildi. Ghrelin grubunda karaciger rejenerasyonunun daha az gelişmesi karaciğer dokusunun daha fazla korunduğunun bir göstergesi olabilir.
5. Bcl-2, çeşitli nedenlerle iskemiye maruz kalan hücrelerde apoptozisten korunma amaçlı salgılanan bir proteindir. Bcl-2 salgılayan hücrenin iskemiye maruz kaldığı söylenebilir. 15., 30., 60. dakika sıcak iskemi sürelerine sahip kontrol ve çalışma grupları bcl-2 ile hem boyanma şiddeti hemde boyanma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında ghrelin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ama ghrelin grubunda

kontrol grubuna göre boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri açısından daha düşük değerlere sahip olduğu görüldü. Hücrede iskemi etkisi ile apoptosizden korunmak için eksprese edilen bcl-2'nin ghrelin verilen çalışma grubunda daha az boyanması, ghrelin'in hepatositleri iskeminin kötü etkilerinden koruduğunu göstermektedir.

Tüm bu sonuçlar, sıcak iskemi zamanının en temel sorun olduğu NHBD'lerde ghrelinin, hepatositlerin iskemiye dayanıklılığını arttırdığını göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Tinti F., Mitterhofer AP., Muiesan P. Liver transplantation: role of immunosuppression, renal dysfunction and cardiovascular risk factors. *Minerva Chir.* 2012 Feb; 67 (1): 1-13.
2. Kimber RM, Metcalfe MS, White SA, Nicholson ML. Use of non-heart-beating donors in renal transplantation. *Postgrad Med J.* 2001; 77: 681–685.
3. Briceno J, Marchal T, Padillo J, et al. Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation.* 2002; 74: 522–526.
4. Monbaliu D, Crabbe T, Roskams T, et al. Livers from non-heart-beating donors tolerate short periods of warm ischemia. *Transplantation.* 2005; 79: 1226–1230.
5. Abt PL, Desai NM, Crawford MD, et al. Survival following liver transplantation from non-heart-beating donors. *Ann Surg.* 2004; 239: 87–92.
6. Moers C, Leuvenink HG, Ploeg RJ. Non-heart-beating organ donation: overview and future perspectives. *Transpl Int.* 2007; 20: 567–575.
7. Monbaliu D, van Pelt J, De Vos R, et al. Primary graft nonfunction and Kupffer cell activation after liver transplantation from non-heart-beating donors in pigs. *Liver Transpl.* 2007; 13: 239 –247.
8. Monbaliu DR, Dubuisson CN, Zeegers MM, et al. Increased serum phospholipase A2 activity after non-heart-beating donor liver transplantation and association with ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 2009; 151: 125–131.
9. Otero A, Gomez-Gutierrez M, Suarez F, et al. Liver transplantation from Maastricht category 2 non-heart-beating donors: a source to increase the donor pool. *Transplant Proc.* 2004; 36: 747–750.

10. Kimber RM, Metcalfe MS, White SA, Nicholson ML. Use of non-heart-beating donors in renal transplantation. *Postgrad Med J*. 2001; 77: 681–685.
11. Reich DJ, Munoz SJ, Rothstein KD et al. Controlled non heart-beating donor liver transplantation: a successful single center experience, with topic update. *Transplantation*. 2000; 70: 1159–1166.
12. Reddy S, Zilvetti M, Brockmann J, McLaren A, Friend P. Liver transplantation from non-heart-beating donors: current status and future prospects. *Liver Transpl*. 2004; 10: 1223–1232.
13. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look. *Exp Mol Pathol*. 2003; 74: 86–93.
14. Ma Y, Wang GD, Wu LW, Hu RD. Dynamical changing patterns of histological structure and ultrastructure of liver graft undergoing warm ischemia injury from non-heart-beating donor in rats. *World J Gastroenterol*. 2006; 12:4902–4905.
15. Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP. Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc*. 1995; 27: 2893–2894.
16. Dose dependent effects of ghrelin on pentylenetetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 2008, 29, 448-455.
17. Zwirska-Korczala K, Adamczyk-Sowa M, Sowa P, Pilc K, Suchanek R, Pierzchała K, Namysłowski G, Misiolek M, Sodowski K, Kato I, Kuwahara A, Zabielski R. Role of leptin, ghrelin, angiotensin II and orexins in 3T3 L1 preadipocyte cells proliferation and oxidative metabolism. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 53–64.
18. Wu R, Dong W, Ji Y, Zhou M, et al. (2008) Orexigenic Hormone Ghrelin Attenuates Local and Remote Organ Injury after Intestinal Ischemia-Reperfusion. *PLoS ONE* 3(4): e2026. doi: 10.1371/journal.pone.0002026.
19. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology* (10th ed). Lange, Connecticut 2002, pp.307–320.
20. Sielaff TD, Curley SA. Liver. In: Bruchinardi FC, Anderson DK, Billiar TR (eds), *Schwartz's Principles of Surgery* (8th ed) McGraw–Hill, Philadelphia 2004, pp.1139-1186.

21. D'Angelica M, Fong Y. The Liver. In: Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, et al. (Eds) Sabiston Textbook of Surgery. 17. edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004; 1513-1569.
22. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ, Çeviri: Seven R, Yatlı T, Erbil Y, Değerli Ü. Cerrahi Anatomi ve Teknik. Karaciğer. 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2000: ss, 531-572.
23. Blumgart LH, Hann LE. Surgical and radiologic anatomy of the liver and biliary tract. In: Blumgart LH, Fong Y (Ed). Surgery of Liver and Biliary Tract. London: WB Saunders. 2000: pp, 3-34.
24. Gupta SC, Gupta CD, Arora AK. Subsegmentation of the human liver. J Anat 1977; 124: 413-423.
25. Lafortune M, Madore F, Patriguin H. Segmental anatomy of the liver. Radiology 1991; 181: 443-448.
26. Fasel JH, Selle D, Evertsz CJ. Segmental anatomy of the liver; poor correlation with CT. Radiology 1988; 206: 151-157.
27. Dominioni L, Chiappa A, Cuffari S, Dionigi R. Vascular occlusions during resection of the liver. In: Dionigi R, Madariaga J (eds). New technologies for liver resections. Karger Landes Systems Basel 1997; pp. 68-94.
28. Bismuth H. Surgical anatomy of the liver. In: Bengmark S, Blumgart LH (eds), Liver surgery Churchill Livingstone, Edinburgh 1986, pp.1-7.
29. Meyers WC, Jones RS. Anatomy. In: Meyers WC, Jones RS (eds), Textbook of liver and biliary surgery JB Lippincott Company, Philadelphia 1990, pp.18-38.
30. Emre A. Karaciğerin cerrahi anatomisi. Kalaycı G (ed). Genel Cerrahi. Nobel Tıp Kitabevi 2002;sf.1083-1089.
31. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. The liver as an organ. 9. edition. Philadelphia:WB Saunders company, 1996: 883-888.
32. Guyton AC. Liver. In: Guyton AC, Hall JC (eds), Textbook of medical physiology (11th ed) WB Saunders Company, Philadelphia 2005, pp. 896-912.

33. Keppens S, Vandekerckhove A, Moshage H, Yap HS, Aerts R, De Wulf H. Regulation of glycogen phosphorylase activity in isolated human hepatocytes. *Hepatology* 1993; 17: 610–614.
34. Ratych RE, Smith GW. Anatomy and Physiology of the Liver. In: Zuidema GD, Orringer MB, Ritchie WB (eds), *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract* (4th ed) WB Saunders, Philadelphia 1996, pp. 357–373.
35. Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM. Liver. In: Meyers WC, Chan RS (eds), *Sabiston Textbook of Surgery* (17th ed) WB Saunders Company, Philadelphia 2004, pp. 997–1059.
36. Sayek İ., Abbasoğlu O, Kaynaroğlu V, Kalayoğlu M, Temel Cerrahi, Karaciğer Transplantasyonu, Güneş Kitabevi, 3. Baskı, 2004, sf.774–780.
37. Schwartz SI. Liver. In: Timothy S, Steven AC (eds), *Schwartz's Principles of Surgery* (8th ed) McGraw–Hill, Philadelphia 2004, pp. 1139–1187.
38. Lopez P, Martin P, Update on Liver Trasplantation: Indications, Organ Allocation and Long-Term Care. *The Mount Sinai J. Med.* 2006; 73: 1056–1066.
39. Marino IR, Morelli F, Doria C, et al. Preoperative assessment of risk in liver transplantation: a multivariate analysis in 2376 cases of the UW era. *Transplant Proc* 1997; 28 (1-2): 454–455.
40. O'Grady JG, Alexander GJ, Haylar M, et al. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 97: 439–445.
41. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112: 463–472.
42. Lopez–Navidad A, Caballero F. Extended criteria for organ acceptance. Strategies for achieving organ safety and for increasing organ pool. *Clin Transplant.* 2003; 17: 308–324
43. Nicholson ML. Renal transplantation from non-heart-beating donors: one response to the organ shorgate. *Transplant Rev* 1995; 9: 168–176.
44. Bernal W, Wendon J. Liver transplantation in adults with acute liver failure. *J Hepatol.* 2004; 40: 192–197.

45. Russo MW, Brown RS. Adult living donor liver transplantation. *Am J Transplant*. 2004; 4: 458–465.
46. Broelsch CE, Frilling A, Testa G, Malago M. Living donor liver transplantation in adults. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 15: 3-6.
47. Schemmer P, Mehrabi A, Friess H et al. Living related liver transplantation: the ultimate technique to expand the donor pool? *Transplantation*. 2005; 80: 5138-5141.
48. Williams RS, Alisa AA, Karani JB, et al. Adult-to-adult living donor liver transplant: UK experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 15: 7-14.
49. Doig CJ, Rucker G. Retrieving organs from non-heart-beating organ donors: a review of medical and ethical issues *Can J Anaesth*. 2003; 50: 1069–1076.
50. Valero R, Garcia-Valdecasas, Juan C, et al. L-arginine reduces liver and biliary tract damage after liver transplantation from non heart beating donor pigs. *Transplantation*. 2000; 70: 730–737.
51. Bessems M, Doorschodt BM, Albers PS, et al. Wash-out of the non-heart-beating donor liver: a comparison between ringer lactate, HTK, and polysol. *Transplant Proc*. 2005; 37: 395–398.
52. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki S, et al. Involvement of platelet-activating factor in cytokine production and neutrophil activation after hepatic ischemia reperfusion. *Hepatology* 1996; 23: 1656-1663.
53. Le Moine O, Louis H, Stordeur P, et al. Role of reactive oxygen intermediates in interleukin 10 release after cold liver ischemia and reperfusion in mice. *Gastroenterology* 1997; 113: 1701-1706.
54. Monbaliu D, Crabbe T, Roskams T et al. Livers from non-heart-beating donors tolerate short periods of warm ischemia. *Transplantation* 2005; 79: 1226- 1230.
55. Graft failure: etiology, recognition and treatment. In: Busuttil RW, Klintmalm G, eds. *Transplantation of the Liver*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2005: 915–928.
56. Pirenne J, Gunson B, Khaleef H, et al. Influence of ischemia-reperfusion injury on rejection after liver transplantation. *Transplant Proc*. 1997; 29: 366–367.

57. Kim IK, Bedi DS, Denecke C, et al. Impact of innate and adaptive immunity on rejection and tolerance. *Transplantation*. 2008; 86: 889–894.
58. Selzner N, Rudiger H, Graf R, et al. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology*. 2003; 125: 917–936.
59. Casillas-Ramirez A, Mosbah IB, Ramalho F, et al. Past and future approaches to ischemia-reperfusion lesion associated with liver transplantation. *Life Sci*. 2006; 79: 1881–1894.
60. Karam G, Compagnon P, Hourmant M, et al. A single solution for multiple organ procurement and preservation. *Transpl Int*. 2005; 18: 657– 663.
61. Kotsch K, Ulrich F, Reutzel-Selke A, et al. Methylprednisolone therapy in deceased donors reduces inflammation in the donor liver and improves outcome after liver transplantation: a prospective randomized controlled trial. *Ann Surg*. 2008; 248: 1042–1050.
62. Gurusamy KS, Kumar Y, Sharma D, et al. Ischaemic preconditioning for liver transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008: CD006315.
63. Akalin E, Bromberg JS. Gene therapy and solid-organ transplantation. *Kidney Int*. 2002; 61: sf: 56–60.
64. Dutkowski P, de Rougemont O, Clavien PA. Machine perfusion for ‘marginal’ liver grafts. *Am J Transplant*. 2008; 8: 917–924.
65. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81: 637-647.
66. Rhodes RS, DePalma RG. Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock. *Surg Gynecol Obstet* 1980; 150: 347-352.
67. Magnani M, Stocchi V, Dacha M, et al. Regulatory properties of rabbit red blood cell hexokinase at conditions close to physiological. *Biochimica et Biophys Acta* 1984; 804: 145-153.
68. Nieminen AL, Gores GJ, Wray BE, et al. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Cell Calcium* 1988; 9: 237-246.
69. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 1983; 94: 428–432.

70. Usami M, Furuchi K, Shiroywa H, Saitoh Y. Effect of repeated portal triad cross clamping during partial hepatectomy on hepatic regeneration in normal and cirrhotic rats. *J Surg Res* 1994; 57: 541–543.
71. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, et. al. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant for liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J. Pathol* 1994; 145: 1421–1423.
72. Bremer C, Bradford BU, Hunt KJ, et al. Role of Kupffer cell in the pathogenesis of hepatic reperfusion injury. *Am J Physiol* 1994; 267: 630–636.
73. Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, et al. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996; 23: 506-514.
74. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia–reperfusion injury. *Am J Surg* 2001; 181: 160–166.
75. Huguet C, Gavelli A, Chieco A, et al. Liver ischemia for hepatic resection: Where is the limit. *Surgery* 1992; 111: 251–259.
76. Court FG, Wemyss–Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* 2002; 89: 1089–1095.
77. Nakamura T, Tomita Y, Hirai R, et al. Inhibitory effect of transforming growth factor-B on DNA synthesis of adult rat hepatocytes in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 133: 1042–1050.
78. Tanno M, Taguchi T. Proliferating cell nuclear antigen in normal and regenerating rat livers. *Exp Mol Pathol* 1999; 67: 192–200.
79. Hiroyasu S, Shiraishi M, Koji T, et al. Analysis of the Fas system and Bcl–2 in rat liver allograft rejection. *J Surg Res.* 1999; 15: 204–211.
80. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Cellular pathology I: cell injury and cell death. In: Kumar V, Fausto N, Abbas A (eds), *Robbins Pathologic Basis of Disease* (7th ed) WB Saunders Company, Philadelphia 2004, pp.1–41
81. Tzung SP, Fausto N, Hockenbery DM. Expression of Bcl–XL family during liver regeneration and identification of Bcl–XL as a delayed early response gene. *Am J Pathol* 1997; 150: 1985–1995.

82. Bergese SD, Klenotic SM, Wakely ME, et al. Apoptosis in murine cardiac grafts. *Transplantation*. 1997; 63: 320–325.
83. Kanzler S, Galle PR. Apoptosis and liver. *Cancer Biology* 2000; 10: 173–184.
84. Thurman RG, Marzi I, Seitz G, et al. Hepatic reperfusion injury following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1988; 46: 502-506.
85. Werns SW, Lucchesi BR. Free radicals and ischemic tissue injury. *Trends Pharmacol. Sci.* 1990; 11: 161-166
86. Anderson RE, Maude MB, Neilsen JC. Effect of lipid peroxidation on rhodopsin regeneration. *Exp Eye Res* 1985; 4: 65-71.
87. Xie Z, Wu X, Gong Y, et al. Intraperitoneal injection of Ginkgo biloba extract enhances antioxidation ability of retina and protects photoreceptors after light-induced retinal damage in rats. *Curr Eye Res* 2007; 32: 471–479.
88. Bizler M, Jaechke, H. Volmarr AM, et al. Prevention on Kupffer cell-induced oxidant injury in rat liver by atrial natriuretic peptide. *Am J Physiol* 1999; 276: 1137-1144.
89. Jaesche H, Ho YS, Fisher MA, et al. Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress. *Hepatology* 1999; 29: 443-450.
90. Ghrelin tissue distribution: comparison between gene and protein expression. *J Endocrinol Invest* 2006, 29: 115-121.
91. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 21995–22000.
92. Dose dependent effects of ghrelin on pentylenetetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 2008, 29: 448–455.
93. Role of leptin, ghrelin, anjiotensin II, and orexis in 3T3 L1 preadipocyte cells proliferation and oxidative metabolism. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 53-64.

94. Ghrelin against alendronate-induced gastric damage in rats. *J Endocrinol* 2005; 187: 399-400.
95. Kawczynska-Drozdz A, Olszanecki R, Jawien J, Brzozowski T, Pawlik WW, Korbut R, Guzik TJ. Ghrelin inhibits vascular superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2006;19; 764-767.
96. Ghrelin inhibits interleukin-8 production induced by hydrogen peroxide in A549 cells via NF- κ B pathway. *International Immunopharmacology* 9 (2009) 120-126.
97. Foschi D, Castoldi L, Lesma A, et al. Effect of ischemia and reperfusion on liver regeneration in rats. *Eur J Surg* 1993; 159: 393–398.
98. Takada Y, Taniguchi H, Fukunaga K, et al. Hepatic allograft procurement from non–heart–beating donors: limits of warm ischemia in porcine liver transplantation. *Transplantation*. 1997; 63: 369–373.
99. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazo M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656–660.
100. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255–4426.
101. Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008; 29: 1255-1270.
102. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collins GD, Sakthivel SK, Palaniappan R, Lillard Jr JW, Taub DD. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 57-66.
103. Kasimay O, Işeri SO, Barlas A, Bangir D, Yegen C, Arbak S, Yegen BC. Ghrelin ameliorates pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats. *Hepatol Res* 2006; 36: 11-19.

104. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2991.
105. Chang L, Zhao J, Yang J, Zhang Z, Du J, Tang C. Therapeutic effects of ghrelin on endotoxic shock in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 473: 171-176.
106. Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Norlén P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; 120: 23-32.
107. Konturek PC, Brzozowski T, Walter B, Burnat G, Hess T, Hahn EG, Konturek SJ. Ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury involves an activation of sensory afferent nerves and hyperemia mediated by nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 2006; 536 (1-2): 171-178.
108. Işeri SO, Sener G, Saglam B, Ercan F, Gedik N, Yeğen BC. Ghrelin alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. *Regul Pept* 2008; 146: 73-79.
109. Granado M, Martí'n AI, Lo'pez-Menduiña M, Lo'pez-Caldero'n A, Villanu'a MA. GH-releasing peptide-2 administration prevents liver inflammatory response in endotoxemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294: E131–E141, 2008. First published November 6, 2007; doi: 10.1152/ajpendo.00308.2007.
110. Chang L, Du JB, Gao LR, Pang YZ, Tang CS. Effect of ghrelin on septic shock in rats. *Acta Pharmacol Sin* 24: 45–49, 2003.
111. Diethard Monbaliu, Katrien Vekemans, Harm Hoekstra, et al. Multifactorial Biological Modulation of Warm Ischemia Reperfusion Injury in Liver Transplantation From Non-Heart-Beating Donors Eliminates Primary Nonfunction and Reduces Bile Salt Toxicity. *Ann Surg* 2009; 250: 808–817.
112. Çetin M. Deneysel Kontrollü Non-Heart Beating Donor Modelinde Edavaronun Karaciğer Hasarına Etkisi, Erciyes Üni. Tıp Fak. Genel Cerrahi A.D. Tıpta Uzmanlık Tezi 2008; sf.49,50.

113. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, et al. Vascular occlusions for liver resections. *Ann Surg* 1989; 209: 211–218.
114. Shiratori Y, Kiriyaama H, Fukushi Y, et al. Modulation of ischemia reperfusion-induced hepatic injury by Kupffer cell. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 1265.
115. Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* 1991; 260: G355–62.
116. Li W, Chan AC, Lau YJ, et al. Superoxide and nitric oxide production by Kupffer cells in rats with obstructive jaundice: Effect of internal and external drainage. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19: 160–165.
117. Peralta C, Prats N, Xaus C, et al. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999; 30: 1481–1489.
118. Valatas V, Kolios G, Manousou P, et al. Tumor necrosis factor alpha act on cultured human vascular endothelial cells to increase the adhesion of pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2000; 21: 392–397.
119. Rudiger HA, Clavien PA. Tumor necrosis factor alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology* 2002; 122: 202–210.
120. Yamano T, Hirai R, Hato S, Uemura T, Shimizu N. Delayed liver regeneration with negative regulation of hepatocyte growth factor and positive regulation of transforming growth factor-beta 1 RNA after portal branch ligation in biliary obstructed rats. *Surgery* 2002; 131: 163–171.
121. Akalın B. Deneysel Kontrollü Non-Heart Beating Donor Modelinde Met-Rantesin Karaciğer Hasarına Önleyici Etkisi, Erciyes Üni. Tıp Fak. Genel Cerrahi A.D. Tıpta Uzmanlık Tezi 2007; sf.46.
122. Yamamoto H, Ohdan H, Shintaku S, et al. Expression of Bcl-2/Bax mRNA in grafted liver during acute rejection after rat liver transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30: 2950–2951.

123. Gapany C, Zhao M, Zimmermann A. The apoptosis protector, bcl-2 protein, is downregulated in bile duct epithelial cells of human liver allografts. *Hepatology*. 1997; 26: 535–542.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Murat Mert'e ait "Ratlarda Deneysel Kontrollü Non-Heart-Beating Donör (NHBD) Modelinde Ghrelinin Karaciğer Hasarını Önleyici Etkisi" adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 27/04/2012

İmza: Zeki Yılmaz

Başkan Prof. Dr. A. Zeki YILMAZ

İmza

Üye Prof. Dr. Erdoğan SÖZÜER

İmza

Üye Prof. Dr. Engin OK

İmza

Üye Doç. Dr. Hızır AKYILDIZ

İmza

Üye Doç. Dr. Kemal DENİZ

İmza