

Deneysel Araştırma

Ratlarda Parsiyel Hepatik Rezeksiyon Sonrası Ghrelin'in Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisi

Ahmet BOZDAĞ^{a1}, Yavuz Selim İLHAN², İbrahim ÖZERCAN³, Süleyman AYDIN⁴

¹Harput Devlet Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

³Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

⁴Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Karaciğer, organizmanın en büyük organı olup, metabolik fonksiyonların düzenlenmesinde büyük rol oynar. Karaciğer rejenerasyonunun kontrol edilebilir yaygın bir işlem haline gelmesi modern cerrahideki en önemli aşamalardan birisidir. Ratlarda growth hormon uyarımı, karaciğerde kitlesel büyüme, hücre sayısında ve ekstraselüler doku miktarında artış sonucunda büyümeye ve vücut ağırlığında artışa neden olur. Ghrelin büyüme hormonunun salgılanması, enerji metabolizması ve iştah regülasyonu üzerine etkilidir. Bizim bu çalışmadaki amacımız parsiyel hepatektomi yapılan ratlarda Ghrelin'in karaciğer rejenerasyonu üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 30 adet Wistar Albino türü rat kullanıldı. Ratlara genel anestezi altında parsiyel hepatektomi yapıp, grup I'deki ratlara intraperitoneal serum fizyolojik, grup II'deki ratlara intraperitoneal ghrelin uygulandı. Gruplar 24 saat, 48 saat, 7 gün yaşatılan ve beşer rattan oluşan alt gruplara ayrıldı. Belirtilen süre sonunda ratlar eter anestezi sonrası dekapite edilip kan örnekleri alındı ve serum AST, ALT, ALP, GGT, ghrelin, growth hormon, PTZ düzeyleri ölçüldü. Sonra relaparotomi uygulanıp total hepatektomi yapıldı ve alınan karaciğerden doku ghrelin düzeyi ve Ki-67 ekspresyon oranı değerlendirildi.

Bulgular: Grup II'deki elde edilen morfolojik ve biyokimyasal parametreler grup I ile karşılaştırıldığında rölatif karaciğer ağırlığı, AST, ALT, ALP, GGT, albumin, PTZ, serum açile ve doku desaçile ghrelin düzeylerinde anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0,05$). Fakat rejenerasyonun proliferatif göstergesi olan Ki-67 boyanma yüzdesi ve growth hormon düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda karaciğer rejenerasyonunu gösteren indirekt bulgularda pozitif sonuç elde edilmişken direkt bulgularda anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Bu ghrelin'in antiproliferatif etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Ghrelin'in karaciğer rejenerasyonuna katkısı çalışmamızda tespit edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Parsiyel hepatektomi, Ghrelin, Karaciğer rejenerasyonu.

ABSTRACT

The Effect of Ghrelin on Hepatic Regeneration After Partial Hepatectomy in Rats

Objective: Liver is the largest solid organ in the body having major roles in metabolic functions. Control of the hepatic regeneration is an important step in modern surgery. Growth hormone has a positive effect on cellular and extracellular growth and volume of the liver. Ghrelin has effects on hormone release and energy metabolism and appetite regulation. The aim of this study is to evaluate the effects of ghrelin on hepatic regeneration.

Material and Method: Thirty Wistar Albino rats were used in this study. Partial hepatectomy was performed to rats, and serum saline was given intraperitoneally to Group I (n=15) rats, ghrelin to group II (n=15) rats. Group II was divided to subgroups containing 5 rats in each group according to postoperative time, 24 hours, 48 hours and 7 days respectively. Under general anesthesia rats were decapitated and serum samples were taken to detect AST, ALT, ALP, GGT, ghrelin, growth hormone and PTT. After relaparotomi livers were examined for ghrelin levels and Ki-67 expressions.

Results: When Group II was compared with Group I the morphological and biochemical parameters, relative liver weight, AST, ALT, ALP, GGT, albumin, PTT, acile and deacile tissue ghrelin levels were significantly different in Group II ($p<0,05$). But the Ki-67 and growth hormone levels were not significantly high in Group II ($p>0,05$).

Conclusion: We concluded that the indirect markers of hepatic regeneration with ghrelin were positively correlated but the direct signs of the regeneration were not significantly related. This effect was attributed to the antiproliferative effect of ghrelin. In this study we concluded that ghrelin was not effective on hepatic regeneration.

Key Words: Partial hepatectomy, Ghrelin, Liver regeneration.

Önceleri korkulan bir cerrahi girişim olan karaciğer rezeksiyonunun mortalitesi, gelişen teknoloji, karaciğer anatomisi ile fizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve

operasyonların bu bilgiler altında uygulanmasıyla mortalite oranı bugün %5'in altına düşmüştür (1). Majör karaciğer rezeksiyonlarından sonra kalan karaciğer

^a Yazışma Adresi: Dr. Ahmet BOZDAĞ, Harput Devlet Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Elazığ

Tel: 0 424 2471495

Geliş Tarihi/Received: 31.12.2013

e-mail: abozdag80@hotmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 08.01.2014

dokusunun fonksiyonel ve rejeneratif kapasitesi ameliyat sonrası mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde etkiler.

Ratlarda growth hormon uyarımı, karaciğerde kitlesel büyüme, hücre sayısında ve ekstraselüler doku miktarında artış sonucunda dokularda büyümeye ve vücut ağırlığında artışa neden olur (2-4).

Ghrelın, yakın zamanda keşfedilen ve büyük miktarda mideden salgılanan bir hormondur. Ghrelın büyüme hormonu salgılanması, insulın salgılanması ve glukoz metabolizması, mide motilitesi ve gastrik asit sekresyonu, enerji metabolizması ve iştah regülasyonu üzerine etkilidir. Büyüme hormonu salgılatıcılar olarak adlandırılan küçük sentetik moleküller, hipofiz bezinden büyüme hormonunun salgılanmasını uyarır. Sentetik büyüme hormonu salgılatıcılar, birçok peptidil ve nonpeptidil moleküllü içeren bir ailedir (5).

Karaciğer rejenerasyonu, enzimatik ve humoral mekanizmalar yoluyla gerçekleşmektedir. Bugüne kadar karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisi olduğu düşünülen birçok faktör araştırılmıştır (yaş, portal dolaşım, hormonlar, vitaminler, infeksiyon). Çalışılan bazı maddelerin karaciğer rejenerasyonu üzerine doğrudan hepatotrofik etkileri olduğu gibi bazılarının ise hepatotrofik faktörleri uyardığı öne sürülmektedir. Karaciğer rejenerasyonunun kontrol edilebilir yaygın bir işlem haline gelmesi, modern cerrahideki en önemli aşamalardan birisidir. Bu çalışmada ki amacımız yakın zaman da keşfedilen büyüme hormonu salgılatıcılardan ghrelın'ın parsiyel hepatektomi yapılan ratlarda karaciğer rejenerasyonu üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda vücut ağırlıkları 180–260 gr arasında değişen, Wistar Albino türü, 30 adet dişi rat kullanıldı. Her grupta randomize olarak seçilmiş 15 adet rat olmak üzere iki grup oluşturuldu. Bu gruplarda yine randomize seçilmiş beşer rattan oluşan üç alt gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol Grubu) : %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal serum fizyolojik (SF) uygulandı.

Grup Ia: %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal SF uygulandı ve 24 saat yaşatıldı.

Grup Ib: %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal SF uygulandı ve 48 saat yaşatıldı.

Grup Ic: %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal SF uygulandı ve 7 gün yaşatıldı.

Grup II (Tedavi Grubu): %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal ghrelın uygulandı.

Grup IIa: %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal ghrelın uygulandı ve 24 saat yaşatıldı.

Grup Iİb: %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal ghrelın uygulandı ve 48 saat yaşatıldı.

Grup Iİc: %70 hepatik rezeksiyon yapıldı, intraperitoneal ghrelın uygulandı ve 7 gün yaşatıldı.

Operasyon öncesinde ratlar 6 saat aç bırakıldı. Gün içinde değişen rejeneratif cevabın etkisine engel olmak için operasyonlar, günün ilk yarısında yapıldı. Tüm operasyonlar genel anestezi altında yapıldı. Operasyon öncesi tüm ratlar hassas tartı ile tartılıp ağırlıkları kaydedildi. Higgins ve arkadaşlarının tanımladıkları metoda uygun olarak orta ve sol lateral loblar vena kava'ya birleşim yerinden 4/0 ipek ile bağlanarak %70'lik karaciğer rezeksiyonu gerçekleştirildi (6). Çıkarılan karaciğer dokusu tartılarak kaydedildi. Grup I'deki ratlara 1 ml/kg dozunda intraperitoneal SF, Grup II deki ratlara ise 10 ng/kg dozunda intraperitoneal açile ghrelın (Sigma Chemical, St. Louis, MO) uygulandı. Daha sonra karın 3/0 ipeklerle devamlı olarak kapatıldı.

24, 48 saat ve 7 gün süre ile yaşatılan ratlar eter anestezisi sonrası dekapite edildi. Biyokimyasal tetkikler için ortalama 5 ml, PTZ için ise 0, 9 ml kan örnekleri alındı. Ratlar relaparatomize edildi. Tüm karaciğer dokusu çıkartılıp tartıldı. Yaklaşık 1 gr karaciğer dokusu, doku ghrelın düzeyi tayini için ayrı ependorf tüplere alındı. Ghrelın hormonu proteazlar tarafından hızlı bir şekilde yıkıldığından karaciğer dokusu, kaynayan suda 5 dakika ısıtılarak proteazlar inaktive edildi. Kalan karaciğer dokusu histopatolojik incelemeler için % 10'luk formolde saklandı.

Biyokimyasal ölçümler için alınan kan örneklerinden serum ghrelın düzeyini belirlemek amacı ile kullanılanlara bir proteaz inhibitörü olan aprotinininden mililitre başına 20 mikron ilave edildi. Geri kalan seruma herhangi bir müdahale yapılmadan ölçümler yapıldı. PTZ tayini için alınan örnekler 0, 1 ml sitrat ihtiva eden tüplere alındı.

Doku ghrelın düzeyini belirlemek için 0,1 gr karaciğer dokusu alınıp fosfat tamponunda homojenize edildikten sonra 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantında çalışıldı. Serum ve doku ghrelın düzeyleri, Olympus marka cihazda Linco marka kitler kullanılarak ölçüldü.

Histopatolojik inceleme için Ki-67 (Biogenex, AM297-5M, USA) kullanıma hazır tavşan monoklonal antikorunu ile streptavidin-biotin-peroksidaz tekniği ile immünohistokimyasal boyama prosedürü uygulandı. Ki-67 boyanma paterni değerlendirilirken Wintzer ve arkadaşlarının yöntemi esas alındı (7). Tek patoloğ tarafından değerlendirmeye alınan lamalar üzerinde 400 büyük büyütme alanında 150 ile 500 hücre sayıldı. Ki-67 nükleer boyanma gösteren hücrelerin sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı.

Morfolojik parametre olarak rölatif karaciğer ağırlığı hesaplandı. Relaparatomide çıkartılan karaciğer ağırlığından, parsiyel hepatektomi sonrası kalan karaciğer ağırlığı çıkartıldı ve bu değer tüm karaciğer ağırlığına oranı hesaplandı. Elde edilen değer 100 ile çarpılarak karaciğer rejenerasyon oranı bulundu. Tüm karaciğer ağırlığı rat ağırlığının % 3,4'ü kabul edildi. Sonuçlar % şeklinde ifade edildi.

İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (21.0 version) programıyla yapıldı. Kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen verilerin istatistiki karşılaştırılması Kruskal Wallis testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi. Anlamlı olan parametrelerde anlamlılığın hangi gruplar arasında olduğunu saptamak için gruplar kendi aralarında Mann Whitney U testi ile birebir karşılaştırıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda parsiyel hepatektomi sonrası serum fizyolojik ve ghrelin uygulanan ratlarda cerrahi işlem sonrasında ölen rat olmamıştır. Her iki grupta ki rölatif karaciğer ağırlığı, AST, ALT, ALP, GGT, PTZ, albumin, growth hormon, serum açile ve desaçile ghrelin, doku açile ve desaçile ghrelin düzeyi ile Ki-67

boyanma yüzdesi verilerinin; ortalama \pm standart sapma değerleri ve istatistiksel analizi Tablo 1'de gösterildi.

Morfolojik Sonuçlar:

Her iki grupta 24. saat, 48. saat ve 7. günde ölçülen rölatif karaciğer ağırlıklarının zaman içinde arttığı görüldü gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edildi. Kontrol grubu ile ghrelin grubu karşılaştırıldığında ise yine anlamlı farklılık gözlemlendi ($p < 0,05$, Tablo 1).

Kontrol grubunun 24. saatteki rölatif karaciğer ağırlığı, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında kontrol ve ghrelin grubunun 7. günde ki ağırlık artışı ile arasında anlamlı farklılık gözlemlendi ($p < 0,05$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki ağırlığı diğer gruplarla karşılaştırıldığında kontrol grubunun 7. günü ile ghrelin grubunun 24. saati arasında anlamlı farklılık vardı ($p < 0,05$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki ağırlığı diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 24. saati ile 48. saati arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki ağırlığı diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat ile 7. gün değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 2).

Tablo 1. Kontrol ve tedavi grubunda elde edilen veriler ve verilerin istatistiksel analizi (Kruskal Wallis testi).

Veriler	Grup Ia	Grup Ib	Grup Ic	Grup IIa	Grup IIb	Grup IIc	p*
Rölatif Ağırlık (%)	14,80 \pm 9,52	24,03 \pm 6,39	43,79 \pm 17,89	7,07 \pm 4,47	22,44 \pm 10,42	39 \pm 28	0,004
AST (U/L)	1272,4 \pm 293,3	937,2 \pm 540,1	433 \pm 92	1771,2 \pm 876,5	715,8 \pm 134,7	321,6 \pm 55,5	0,002
ALT (U/L)	465 \pm 224	454,2 \pm 444,9	147 \pm 51	869,6 \pm 614,9	159 \pm 87	88,8 \pm 19,3	0,002
ALP (U/L)	232 \pm 82	225,6 \pm 67,5	717 \pm 490	226 \pm 86,	79 \pm 69	478,6 \pm 131,5	0,001
GGT (U/L)	110,6 \pm 21,1	183,6 \pm 111,3	84,8 \pm 12,7	181 \pm 62	106,8 \pm 6,6	117,8 \pm 35,6	0,014
Albumin (mg/dL)	2,96 \pm 0,16	2,74 \pm 0,16	2,7 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	2,66 \pm 0,13	0,002
PTZ (sn)	11,6 \pm 0,9	11,3 \pm 0,6	9,68 \pm 0,64	10,55 \pm 1,52	12,84 \pm 2,06	11,27 \pm 1,39	0,013
Growth Hormon (ng/mL)	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,827
Serum Açile Ghrelin (fmol/mL)	6,3 \pm 6,1	0,5 \pm 0,2	22,49 \pm 24,87	38,54 \pm 35,51	307,11 \pm 166,79	214,82 \pm 274,49	0,006
SerumDesaçileGhrelin (fmol/mL)	9,7 \pm 7,9	84,5 \pm 141,5	86,57 \pm 84,43	187,83 \pm 95,58	17,64 \pm 13,37	151,36 \pm 215,57	0,282
Doku Açile Ghrelin (fmol/mL)	0,1 \pm 0	0,5 \pm 0,6	0,94 \pm 1,17	9,22 \pm 19,46	0,1 \pm 0	0,22 \pm 7,92	0,247
DokuDesaçile Ghrelin (fmol/mL)	3,9 \pm 1,4	9,7 \pm 2,3	6,5 \pm 2,3	12,38 \pm 3,57	6,5 \pm 2,3	6,52 \pm 3,26	0,008
Ki - 67 (%)	11,6 \pm 6,9	9,2 \pm 4,8	10,6 \pm 4,3	19 \pm 5	23 \pm 8	14,6 \pm 3,7	0,21

*: Verilerin istatistiksel analizi (Kruskal Wallis testi, $p < 0,05$ değerleri anlamlı)

Tablo 2. Grupların kendi aralarında ki istatistiksel analizi (Mann Whitney U testi, $p < 0,05$ değerleri anlamlı).

Veriler	Grup Ia-Ib	Grup Ia-Ic	Grup Ia-IIa	Grup Ia-IIb	Grup Ia-IIc	Grup Ib-Ic	Grup Ib-IIa	Grup Ib-IIb	Grup Ib-IIc	Grup Ic-IIa	Grup Ic-IIb	Grup Ic-IIc	Grup IIa-IIb	Grup IIa-IIc	Grup IIb-IIc
Rölatif Ağırlık	0,076	0,016	0,117	0,251	0,047	0,028	0,009	0,917	0,602	0,009	0,047	0,602	0,028	0,009	0,465
AST	0,175	0,009	0,251	0,009	0,009	0,076	0,175	0,602	0,009	0,009	0,028	0,076	0,009	0,009	0,009
ALT	0,465	0,009	0,175	0,028	0,009	0,347	0,175	0,251	0,016	0,016	0,917	0,047	0,016	0,009	0,117
ALP	0,917	0,016	0,917	0,028	0,016	0,016	0,754	0,028	0,016	0,016	0,009	0,602	0,016	0,028	0,009
GGT	0,251	0,047	0,028	0,602	0,917	0,028	0,465	0,175	0,347	0,009	0,021	0,076	0,009	0,117	0,602
Albumin	0,007	0,008	0,008	0,288	0,008	0,729	0,324	0,013	0,324	0,443	0,013	0,663	0,013	0,443	0,013
PTZ	0,602	0,009	0,117	0,465	0,465	0,009	0,117	0,117	0,465	0,142	0,009	0,028	0,076	0,251	0,251
Serum Açile Ghrelin	0,009	0,640	0,465	0,009	0,346	0,458	0,012	0,009	0,009	0,249	0,016	0,172	0,028	0,293	0,600
DokuDesaçile Ghrelin	0,009	0,065	0,009	0,065	0,155	0,058	0,154	0,058	0,116	0,029	1	1	0,029	0,033	1

Biyokimyasal Sonuçlar:

AST Sonuçları

Her iki grupta ölçülen AST değerleri, zamanla azalmakta olup gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık söz konusu idi. Ghrelin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise yine anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0,005$, Tablo 1).

Yapılan gruplar arası birebir karşılaştırmada ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri kontrol ve ghrelin grubunun 7. günü ile ghrelin grubunun 48. saatteki değeri arasında farklılık söz konusu idi ($p < 0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değerinin diğer gruplarla birebir karşılaştırılmasında ghrelin grubunun 7. günü ile arasında anlamlı farklılık vardı ($p < 0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 24. saati ile 48. saati arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki AST değeri diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saati ile 7. gün değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 48. saatteki AST değeri diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 7. gün değeri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalarda ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 2).

ALT Sonuçları

Her iki grupta ölçülen ALT değerleri zamanla azalmakta olup kontrol grubunda 48. saatteki minimal azalma dikkat çekici idi. Gruplar kendi içinde karşılaştırıldıklarında kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık yok iken ghrelin grubunda fark anlamlı idi. Ghrelin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise yine anlamlı farklılık gözlemlendi ($p < 0,005$, Tablo 1).

Yapılan gruplar arası birebir karşılaştırmalarda ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri kontrol ve ghrelin grubunun 7. günü ile ghrelin grubunun 48. saatteki değeri arasında farklılık söz konusu idi ($p < 0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değerinin diğer gruplarla birebir karşılaştırılmasında ghrelin grubunun 7. günü ile arasında anlamlı farklılık vardı ($p < 0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 24. saati ile 7. günü arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki AST değeri diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat ile 7. gün değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 2).

ALP Sonuçları

Kontrol grubunda ölçülen ALP değerleri zamanla yükselmekte iken ghrelin grubunun 48. saatteki değerinde düşüklük gözlemlendi. Gruplar kendi içinde

karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık söz konusu idi. Ghrelin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise yine anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0,005$, Tablo 1).

Yapılan gruplar arası birebir karşılaştırmalarda ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri kontrol ve ghrelin grubunun 7. günü ile ghrelin grubunun 48. saatteki değeri arasında farklılık söz konusu idi ($p < 0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değerinin diğer gruplarla birebir karşılaştırılmasında kontrol grubunun 7. günü ve ghrelin grubunun 48. saati ile 7. günü arasında anlamlı farklılık vardı ($p < 0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 24. saati ile 48. saati arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki ALP değeri, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat ile 7. gün değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 48. saatteki ALP değeri, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 7. gün değeri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 2).

GGT Sonuçları

Kontrol grubundan elde edilen verilere bakıldığında 48. saatteki yükseklik dikkat çekiciyken, ghrelin grubunda ise 48. saatte düşen değer 7. günde yükselmişti (Tablo 1). Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunda anlamlı farklılık varken ghrelin grubundaki her üç zaman dilimindeki değerler benzerdi. Kontrol ile ghrelin grubunun karşılaştırılmasında ise anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 1).

Mann Whitney U testi ile yapılan birebir gruplar arası değerlendirmede ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri aynı grubun 7. günü ile ghrelin grubunun 24. saati arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değeri ile 7. günü arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 24. saati ile 48. saati arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki GGT değeri, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat ile arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p < 0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Tablo 2).

Albumin Sonuçları

Her iki grupta ölçülen albumin değerleri her grup kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar vardı. Kontrol ve ghrelin grubundan elde edilen albumin değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,05$, Tablo 1).

Gruplar arası birebir karşılaştırmalarda ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri kontrol grubunun 48. saati ve 7. günü ile ghrelin grubunun 24. saat ve 7. günde ki değeri arasında farklılık söz konusu idi ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değerinin diğer gruplarla birebir karşılaştırılmasında ghrelin grubunun 48. saati ile arasında anlamlı farklılık vardı ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saati ile arasında anlamlı fark vardı ($p<0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki albumin değeri, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p<0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 48. saatteki albumin değeri, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 7. gün değeri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p<0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$, Tablo 2).

Growth Hormon Sonuçları

Kontrol ve tedavi grubunda elde edilen growth hormon sonuçları hem grup içi hem de gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$, Tablo 1).

Serum Açile Ghrelin Sonuçları

Her iki grupta da serum açile ghrelin düzeyi grup içi karşılaştırılmasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Fakat kontrol ve ghrelin grubunun karşılaştırılmasında anlamlı farklılık elde edildi ($p<0,05$, Tablo 2).

Gruplar birebir karşılaştırıldığında ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri kontrol grubunun 48. saati ile ghrelin grubunun 48. saatteki değeri arasında farklılık söz konusu idi ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değerinin diğer gruplarla birebir karşılaştırılmasında ghrelin grubunun her üç zaman dilimi ile arasında farklılık vardı ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saati ile arasında anlamlı fark vardı ($p<0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki albumin değeri diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p<0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$, Tablo 2).

Serum Desaçile Ghrelin Sonuçları

Kontrol ve tedavi grubundan elde edilen serum desaçile ghrelin sonuçları hem grup içi hem de gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış olup birbirine benzerdi ($p>0,05$, Tablo 2). Bu nedenle verilere Mann Whitney U testi uygulanmadı.

Doku Açile Ghrelin Sonuçları

Kontrol ve tedavi grubundan elde edilen doku açile ghrelin sonuçları hem grup içi hem de gruplar

arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış olup bir- birine benzerdi ($p>0,05$, Tablo 1). Bu nedenle verilere Mann Whitney U testi uygulanmadı.

Doku Desaçile Ghrelin Sonuçları

Her iki grupta ölçülen doku desaçile ghrelin değerleri zamanla azalmakta olup gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık söz konusu idi. Ghrelin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise yine anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,005$, Tablo 1).

Mann Whitney U testi ile yapılan birebir gruplar arası değerlendirmede ise kontrol grubunun 24. saatteki değeri, kontrol grubunun 48. saat ve ghrelin grubunun 24. saat değeri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 24. saati ile arasında anlamlı fark vardı ($p<0,05$, Tablo 2). Ghrelin grubunun 24. saatteki değeri, diğer gruplarla birebir karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saat ile 7. gün değerleri arasında anlamlı farklılık söz konusu idi ($p<0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$, Tablo 2).

Hematolojik Sonuçlar

Her iki grupta ölçülen PTZ sonuçları, her grup kendi içinde karşılaştırıldığında kontrol grubunda anlamlı farklılık var iken ghrelin grubunda anlamlı farklılık tespit edilmedi. Kontrol ve ghrelin grubunda elde edilen PTZ değerleri, karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$, Tablo 1).

Gruplar arası birebir karşılaştırmada ise kontrol grubunun 24. saatteki, değeri kontrol grubunun 7. günü ile arasında farklılık söz konusu idi ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 48. saatteki değerinin diğer gruplarla birebir karşılaştırılmasında kontrol grubunun 7. günü ile arasında farklılık vardı ($p<0,005$, Tablo 2). Kontrol grubunun 7. gündeki değeri, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ghrelin grubunun 48. saati ve 7. günü ile arasında anlamlı fark vardı ($p<0,05$, Tablo 2). Diğer birebir karşılaştırmalar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$, Tablo 2).

İmmünohistokimyasal Sonuçlar

Kontrol ve tedavi grubundan elde edilen Ki-67 boyanma yüzdeleri, hem grup içi hem de gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış olup bir- birine benzerdi ($p>0,05$, Tablo 1). Bu nedenle verilere Mann Whitney U testi uygulanmadı.

TARTIŞMA

Karaciğer, tüm sistemleri ilgilendiren önemli metabolik fonksiyonları olan bir organdır. Günümüzde gerek

malign hastalıklar, gerekse transplantasyon amacıyla (özellikle canlı vericili) karaciğer rezeksiyonları birçok merkezde artan sıklıkla uygulanan cerrahi işlemlerdendir. Karaciğer rejenerasyonu, bu uygulamalar için cesaret verici mükemmel bir fizyolojik süreçtir. Hepatik cerrahideki başarı preoperatif değerlendirme ile konulan doğru endikasyon, uygun teknikle yapılan cerrahi girişim ve postoperatif dönemde iyi bir bakım ve kalan karaciğer dokusunun rejenerasyon yeteneğine bağlıdır.

Deri, kemik iliği gibi rejenere olan organ veya dokulardaki rejenerasyon, kök hücre ve progenitörlere bağımlıdır. Karaciğer rejenerasyonu ise bunlardan farklı olarak ekstrasellüler matriks, çok sayıda hücre grubu ve büyüme faktörünün etkileşimi ile olmaktadır (8). Bugüne kadar karaciğer iyileşme ve rejenerasyonunu etkilemeye yönelik anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, oral emilmeyen antibiyotikler kullanılmıştır. Yine benzer çalışmalarda büyüme faktörleri, sitokinler, sitokin blokerleri, liposakkarid, liposakkarid bağlayıcılar, kalsiyum kanal blokerleri, kolestimin, dihidroepiandrosteron, siklosporin A, follistatin, lovastatin, prostoglandin E, insülin, glukagon ve benzerleri kullanılmıştır.

Karaciğer rejenerasyonunun kontrol edilebilir yaygın bir işlem haline gelmesi, modern cerrahideki en önemli aşamalardan birisidir. Karaciğeri normal olan hastaların % 70-80'lere varan hepatektomiye güvenle tolere edebildiği ve kalan karaciğerin 6-12 ay içerisinde neredeyse preoperatif boyutlara ulaştığı günümüzde iyi bilinmektedir. İnsan ve büyük deney hayvanlarında (köpekler ve maymunlar) yapılan hepatik rezeksiyon çalışmalarında rejeneratif yanıtın çıkartılan karaciğer dokusunun miktarı ile orantılı olduğu gösterilmiştir. Örneğin büyük köpeklerden küçük köpeklere transplante edilen karaciğerin boyutu yeni vücut ölçülerine uygun olana kadar azalmaktadır (8-11).

Hua-Sheng ve ark. (12) yaptığı parsiyel hepatektomi sonrası safra sekresyonu ve karaciğer rejenerasyonu arasındaki ilişkinin karşılaştırıldığı çalışmada ise rejenerasyon oranı hepatektomi sonrası kalan ağırlığa oranlanarak ifade edilmiştir. Bu yüzden rejenerasyon oranı düşük olarak saptanmıştır. Bizim çalışmada rejenerasyon oranı hepatektomi öncesi total karaciğer ağırlığına oranlanarak bulunmuştur. Çalışmamızda kontrol ve ghrelin grubunun her üç zaman diliminde de bir artış içinde olduğu gözlemlendi. Fakat ghrelin grubunda 24. saat ile 48. saat arasındaki artış dikkat çekici olarak daha fazla idi. İstatistiksel olarak kontrol grubuna göre ghrelin grubundaki artış anlamlı idi ($p<0,05$). Bu sonuç morfolojik olarak artış sağladığını göstermektedir.

Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Karaciğerde hücre yıkımını gösteren en güvenilir

parametrelerden birisi ALT düzeyidir. Karaciğer fonksiyonlarının takibinde kullanılan AST, ALT, ALP'ın sentezlendiği dokulardaki sellüler hasar durumunda serum düzeyleri artar (13).

Kan pıhtılaşmasında rol oynayan faktörler, albumin, globulin, protrombin ve fibrinojen karaciğer hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Karaciğer hasarının değerlendirilmesinde serum albumin düzeyi son derece önemlidir. Karaciğer albumin ve globulin yapan tek organdır. Albumin; kanda birçok maddenin taşınması, kanın osmotik basıncının sürdürülmesinde görev alır ve endojen aminoasit kaynağıdır. Serum albumini karaciğer hastalıklarında azalır. Albumin yarı ömrü 21 gün olup serum düzeyindeki azalmalar en az üç haftalık hasarı göstermektedir. Bu nedenle hepatektomi sonrası erken dönemde hücresel hasarın şiddeti hakkında bilgi vermemektedir (13).

Klinikte karaciğer hastalıklarında, pıhtılaşma faktörlerinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan test protrombin zamanıdır. Protrombin zamanı, parankimal hasar hakkında fikir vermesi nedeniyle preoperatif dönemde biyopsi ya da cerrahi kararı, postoperatif dönemde ise prognozu değerlendirmede önemli bir parametredir. Kasımay ve ark. (14) yaptığı bir çalışmada biliyer obstrüksiyon sonucu oluşan karaciğer hasarı ve pankreatik inflamasyonu ghrelinin azalttığını göstermişler. Çalışmamız da literatürle orantılı olarak AST, ALT, ALP, GGT, PTZ ve albumin düzeylerinde iki grupta da geçen zaman aralığı içinde anlamlı düşüş tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmada fark anlamlı olarak gözlemlendi ($p<0,05$). Böylece biyokimyasal olarak da geçen zaman içinde ghrelinin hepatosellüler hasarı ya da inflamasyonu azalttığı ve bu nedenle rejenerasyona katkı sağladığı gösterildi.

Kavak ve ark. (15) yaptığı çalışmada parsiyel karaciğer rezeksiyonu sonrasında GH kullanımının erken dönemde hepatik rejenerasyonu arttırdığını tespit etmişlerdir. Fetal hayattan sonraki dönemde karaciğer GH reseptörleri yönünden zenginleşir ve az miktarda IGF-I reseptörü içerir. Bundan dolayı GH'un direkt etkilerinin çoğu karaciğer üzerine olmaktadır. Ayrıca karaciğer dokusunda yüksek konsantrasyonda GH-reseptör mRNA varlığı tespit edilmiştir. GH'un hedef hücrelerin çekirdeğinde mRNA sentezini artırarak hücrede protein sentezini hızlandırdığı ve hedef organ ve dokular üzerinde büyüme etkisini gösterdiği bildirilmiştir.

Nikolic ve ark. (16) yaptıkları çalışmada karaciğer hastalıklarında GH düzeyinin arttığı IGF-I düzeyinin ise hepatik sentez azaldığından azaldığını belirtmiştir. Murata ve ark. (17) yaptığı çalışmada ise ghrelinin hepatoma hücrelerinde hücre proliferasyonunu aktive ettiği ve karaciğerde mitojenik süreçte yer aldığını öne sürmüşlerdir. Buna rağmen yapılan bazı çalışmalar tiroid, meme ve akciğer tümörlerinde ghrelinin tümöral dokuda hücre

proliferasyonunu inhibe ederek antineoplastik aktivite gösterdiğini bildirmiştir.

Çalışmamızda kontrol ve ghrelin grubunda GH düzeyinde anlamlı bir artış tespit edilmedi, ölçülen değerler benzerdi ($p>0,05$). Serum açile ghrelin düzeyinde tespit edilen anlamlı yüksekliğin ise verilen intraperitoneal ghrelinin emilimine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Ağırlık ölçümü dışında, karaciğer rejenerasyonunun değerlendirilmesinde yapılan bazı proliferasyon indeksi parametreleri kullanılmaktadır. Karaciğer rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması için DNA sentezi ve mitoz sayısı, karaciğer volümü, hücre proliferasyonu ve mitokondrial aktivite gibi birçok marker kullanılmıştır. Mitotik indeks, Ki-67, PCNA, AG-NOR ve p53 bu amaçla kullanılmaktadır (18).

Hasarsız karaciğerde normal şartlarda mitotik aktivite görülmezken, karaciğerin kitle kaybı olan veya toksik nedenlerle gelişen doku hasarlarında mitotik aktivite artar. Bu artış sıçanlarda ilk 24-48 saatte daha belirgindir ve 72. saatten sonra azalır. Laconi ve ark. (19) %70 hepatik rezeksiyon yaptıkları sıçanlarda mitotik hücre sayısının hepatektomi sonrası 24 ve 48. saatlerde 72 ve 144. saatlere oranla daha yüksek olduğunu gösterdiler.

KAYNAKLAR

1. Schwartz SI. Liver Ed: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Eds. Principles of Surgery. 7th Edition, McGraw-Hill Book Company, New York, USA, 1999; 1395-435.
2. Daughaday WH. Growth hormone, insulin-like growth factors and acromegaly. In: De Groot LJ. (Ed), Endocrinology. Third ed. Philadelphia: Saunders, 1995: 303-29.
3. Jorgensen PH, Andreassen TT. A dose-response study of the effects of biosynthetic growth hormone on formation and strength of granulation tissue. Endocrinology 1987; 121: 1637-41.
4. Goldspink DF, Goldberg AL. Influence of pituitary growth hormone on DNA synthesis in rat tissues. Am J Physiol 1975; 228: 302-08.
5. Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. Eur J Pharmacol 2002; 440: 235-54.
6. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver: Restoration of the liver on the white rat following partial surgical removal. Arch Pathol 1931; 12: 186-02.
7. Wintzer HO, Zipfel I, Mönning JS, Hellerich U, Kleist S. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. Cancer 1991; 67: 421-28.
8. Fausto N, JS Campbell, KJ Riehle. Liver regeneration. J Hepatology 2006; 43: 45-53.
9. Ramalho FS, Ramalho LN, Castro-E-Silva Júnior O, Zucoloto S, Corrêa FM. Angiotensin converting enzyme inhibition by lisinopril enhances liver regeneration in rats. Braz J Med Biol Res 2001; 34: 125-7.
10. Ramalho FS, Ramalho LN, Castro-E-Silva Júnior O, Zucoloto S, Corrêa FM. Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors on liver regeneration. Hepatogastroenterology 2002; 49: 1347-51.
11. Van Leeuwen PA, Boenmeeser MA, Houdijk AP, et al. Pretreatment with enteral cholestyramine prevents suppression on of the cellular immune system after, partial hepatectomy. Ann Surg 1995; 221: 282-90.
12. Hua-Sheng H, Rosenlof L, Jones S. Bile secretion and liver regeneration in partially hepatectomized rats. Ann Surg 1993; 218: 176-82.
13. Akcan A, Kucuk C, Ok E, et al. The effect of amrinone on liver regeneration in experimental hepatic resection model. J Surg Res 2006; 130: 66-72.
14. Kasımay O, Iseri SO, Barlas A, et al. Ghrelin ameliorates pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats. Hepatol Res 2006; 36: 11-9.
15. Kavak İ. Deneysel parsiyel hepatik rezeksiyon sonrası growth hormonun karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisi, Uzmanlık tezi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD, 1998.
16. Nikolic JA, Todorovic V, Bozic M, et al. Serum insulin-like growth factor (IGF)- II is more closely associated with liver dysfunction than is IGF-I in patients with cirrhosis. Clin Chim Acta 2000; 294: 169-77.
17. Murata M, Okimura Y, Iida K, et al. Ghrelin modulates the downstream of insulin signaling in hepatoma cells. J Biol Chem 2002; 277: 5667-74.
18. Taub R, Greenbaum LE, Peng Y. Transcriptional regulatory signals define cytokine-dependent and independent pathways in liver regeneration. Sem Liver Dis 1999; 19: 117-27.

19. Laconi S, Curreli F, Diana S, et al. Liver regeneration in response to partial hepatectomy in rats treated with retrorsine: a kinetic study. *J Hepatol* 1999; 31: 1069-74.
20. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13-20.