



T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

PROSTOGLANDİN E-1 KULLANIMININ WİSCONSİN
ÜNİVERSİTESİ SOLÜSYONU VE HİSTİDİN-TRİPTOFAN-
KETOGLUTARAT PREZERVASYON SOLUSYONLARI İLE
PERFÜZE KARACİĞERDE PREZERVASYON HASARI ÜZERİNE
ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR. İBRAHİM ALİOSMANOĞLU

ANKARA-2008



T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

PROSTOGLANDİN E-1 KULLANIMININ WİSCONSİN
ÜNİVERSİTESİ SOLÜSYONU VE HİSTİDİN-TRİPTOFAN-
KETOGLUTARAT PREZERVASYON SOLUSYONLARI İLE
PERFÜZE KARACİĞERDE PREZERVASYON HASARI ÜZERİNE
ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR. İBRAHİM ALİOSMANOĞLU

TEZ DANIŞMANLARI

YRD.DOÇ.DR. ŞİNASI SEVMİŞ
PROF. DR. HAMDİ KARAKAYALI

ANKARA-2008

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini büyük bir özveriyle aktaran ve yol gösteren başta sayın Prof. Dr. Mehmet HABERAL olmak üzere uzmanlık eğitimim süresince emeği geçen tüm hocalarıma saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmamın planlama ve yazım aşamasında yaptıkları çok değerli katkıları nedeni ile Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Hamdi Karakayalı ve Yrd.Doç. Dr. Şinasi Sevmiş, sonuçların değerlendirilmesinde yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalından sayın Dr. Ayşegül Haberal, Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Atilla Dağdeviren, Patoloji Anabilim Dalı araştırma görevlisi sayın Dr. Alper Koçbıyık ve Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Hale Tufan'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Prostoglandin E-1 (PGE-1), karaciğer transplantasyonu sonrası vazodilatasyon, lizozomal membran stabilizasyonu, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve splanknik alanda kan akımını artırarak karaciğer fonksiyonlarını düzelttiği yönünde bir çok çalışma olmakla beraber bu etkiler tam olarak ispatlanamamıştır.

Bu çalışmada, bir antioksidan olan PGE-1 ilavesinin, HTK ve UW solüsyonlarının antioksidan ve sitoprotektif özellikleri üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı

Çalışmada; her biri 6 rattan oluşan 5 grup kullanıldı. Grup-1'deki ratlara RL, grup-2'dekilere HTK, grup-3'tekilere HTK+PGE-1, grup-4'tekilere UW ve grup 5'tekilere UW+PGE-1 verildi. Ratlara laparotomi yapıldıktan sonra portal ven kanülize edilerek portal pedikülün distali bağlandı. Karaciğer portal ven yolu ile +4° C'deki solüsyonlarla hepatik venden berrak sıvı gelene kadar perfüze edildi. Perfüzyondan 30 dakika önce 20 mcg/kg PGE-1 intraperitoneal olarak verildi. Karaciğer hepatektomi yapıldıktan sonra içinde RL, UW ve HTK bulunan torbalara konuldu. Torbalar içi buz dolu saklama kaplarına yerleştirildi. Perfüzyon sonrası 0., 6. ve 12. saatlerde ışık ve elektron mikroskopunda incelenmek üzere karaciğer dokusu ve biyokimyasal inceleme için prezervasyon sıvısından örnekler alındı.

Biyokimyasal inceleme sonucu RL verilen grupta AST ve ALT değerleri en yüksek PGE-1 verilen gruplar da (HTK+PGE-1, UW+PGE-1) ise en düşük olarak saptandı. Işık mikroskobu ile yapılan incelemede RL grubunda 0. saatten sonra karaciğer yapısının bozulduğu, diğer 4 grupta temel yapının korunduğu ve PGE-1 verilen gruplarda 12. saat sonunda hücresel değişikliklerinin diğer gruplara göre daha az olduğu görüldü. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemede ise RL grubunda hücre yapısının negatif yönde etkilendiği diğer 4 grup arasında ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Sonuç olarak PGE-1'in prezervasyon öncesi kullanımı ile soğuk iskemi ortamında karaciğer fonksiyonlarını koruduğu, patolojik hasarı azalttığı ve meydana gelen değişiklikleri geciktirdiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer transplantasyonu, UW, HTK, PGE-1, Prezervasyon hasarı

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İÇİNDEKİLER	v,vi
TABLolar LİSTESİ	vii
GRAFİKLER LİSTESİ	viii
RESİMLER VE ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	1,2
2.1 Organ prezervasyon Prensipleri	1,2
2.2 Prezervasyon Hasarı Mekanizması	2
2.2.1 Preprezervasyon Hasarı	2
2.2.1.1 Karaciğerde Önceden var Olan Hastalık	2
2.2.1.2 Beyin Ölümüyle Alakalı Hasar	2
2.2.1.3 Organ Harvestingi Sırasındaki Hasar	2
2.2.2 Soğuk Prezervasyon Hasarı	3
2.2.2.1 Soğğun Klasik Etkileri	3
2.2.2.2 Sinüzoidal Endotelyal Hücre Hasarı	3,4
2.2.3 Sıcak İskemi Hasarı	4
2.2.4 Reperfüzyon Hasarı	4,5
2.2.4.1 Trombositler	5
2.2.4.2 Lökositler	5
2.2.4.3 Endotelyal Hücre Apoptozisi	5
2.2.4.4 Efektör Moleküller	6
2.2.4.5 Sitokinler	6
2.2.4.6 Proteazlar	6
2.3 Karaciğer Prezervasyon Solusyonları	6
2.3.1 Eurocolins Solusyonu	6,7
2.3.2 University Of Wisconsin Solusyonu	7
2.3.3 Histidin-Triptofan-Ketoglutarat Solusyonu	7,8
2.4 Prezervasyon Solusyonlarının Kullanımı	9
2.5 Yeni Prezervasyon Stratejileri	9
2.5.1 Karaciğeri Önceden Hazırlamak	9
2.5.2 Organ Çıkartıldıktan Sonra Prezervasyon İçin Kullanılan Yöntemler	9,10
2.6 Koruma Süreleri	11
2.7 Prostaglandin E 1	11,12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1 Araştırma Yeri ve Ortamı	12
3.2 Araştırma Tipi	12
3.3 Anestezi	13
3.4 Cerrahi Teknik	13
3.5 Deney Şekli	14
3.6 Araştırma Grupları	14
3.7 Araştırma Parametreleri	15
3.7.1 Biyokimyasal Analiz	15

3.7.2 Patolojik inceleme	15
3.7.3 Histolojik İnceleme.....	15
3.8 İstatistiksel Analiz	16
4. BULGULAR	17
4.1 Biyokimyasal İnceleme Bulguları	17
4.2 Patoloji Değerlendirme Sonuçları	23
4.3 Histolojik Bulguları Değerlendirmesi	29
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇLAR.....	42
7. KAYNAKLAR.....	43

TABLULAR DİZİNİ

	<i>Sayfa</i>
Tablo-1: Klinikte kullanılan prezervasyon solüsyonlarının içerikleri.....	8
Tablo-2: DPS yönteminin, SHS yöntemine avantajları ve dezavantajları.....	10
Tablo-3: Organ koruma süreleri.....	11
Tablo-4: AST (U/L)düzeyleri	17
Tablo-5: ALT (U/L)düzeyleri	18
Tablo-6: Tüm gruplarda saatlere göre meydana gelen patolojik değişiklikler	23

GRAFİKLER DİZİNİ

	<i>Sayfa</i>
Grafik- 1: Grup içi zamana göre AST değeri karşılaştırılması	18
Grafik -2: Grup içi zamana göre ALT değeri karşılaştırılması	19
Grafik-3: RL, HTK, UW grupları arası AST değerleri karşılaştırılması.....	19
Grafik-4: RL, HTK, UW grupları arası ALT değerleri karşılaştırılması.....	20
Grafik-5: HTK ve HTK+PGE1 arası AST değeri karşılaştırılması.....	20
Grafik-6: HTK ve HTK+PGE1 arası ALT değeri karşılaştırılması	21
Grafik-7: UW ve UW+PGE1 grupları arası AST değeri karşılaştırılması	21
Grafik-8: UW ve UW+PGE1 grupları arası ALT değeri karşılaştırılması.....	22
Grafik-9: HTK+PGE1 ve UW+PGE1 grupları arası AST değeri karşılaştırılması.....	22
Grafik-10: HTK+PGE1 ve UW+PGE1 grupları arası ALT değeri karşılaştırılması	23
Grafik-11: RL, HTK ve UW gruplarının karşılaştırılması	24
Grafik-12: HTK ve HTK+PGE-1 gruplarının karşılaştırılması	27
Grafik-13: UW ve UW+PGE-1 gruplarının karşılaştırılması	28
Grafik-14: HTK+PGE1 ve UW+PGE1 gruplarının karşılaştırılması.....	29

RESİMLER DİZİNİ

	<i>Sayfa</i>
Resim-1: Normal karaciğer	25
Resim-2: konjesyon ve sinüzoidal dilatasyon	25
Resim-3: perisantral hidropik dejenerasyon.....	26
Resim-4: Balonlaşma	26
Resim-5: Normal sıçan karaciğeri ince yapısı	30
Resim-6: Ringer laktat grubu elektron mikroskopisi.....	31
Resim-7: Ringer laktat grubu elektron mikroskopisi.....	32
Resim-8: HTK solüsyonu grubu elektron mikroskopisi	33
Resim-9: UW solüsyonu grubu elektron mikroskopisi.....	34
Resim-10: HTK + PGE1 grubu elektron mikroskopisi	35
Resim-11: HTK + PGE1 grubu elektron mikroskopisi	36
Resim-12: UW+PGE1 grubu elektron mikroskopisi.....	37

KISALTMALAR

ATP: Adenozin trifosfat

Na: Sodyum

K: Potasyum

PGE1: prostaglandin E1

UW: Universty of Wisconsin

HTK: Histidin-Triptofan-Ketoglutarat

KCFT: Karaciğer fonksiyon testi

Ca: Kalsiyum

ADP: Adenosin difosfat

AMP: Adenosin monofosfat

SEC: Sinüzoidal endotelyal hücre

MMP: Matriks metalloproteinazlar

TNF- α : Tümör nekroz faktör- α

TGF: Transforming growth faktör

ICAM-1: İntrasellüler adezyon molekül

NADPH: Nikotinamid-adenosin dinükleotid fosfat

IL: İnterlökin

PNF: Primer non-fonksiyon

AST: Aspartat aminotransferaz

ALT: Alanin aminotransferaz

1. GİRİŞ

Organ prezervasyonu (korunması) transplante edilecek organın, alınma kararı verildikten alıcıya takılıp fonksiyonu başlayıncaya kadar olan süreyi kapsar. Amaç vericiden alınan organın transplante edilinceye kadar fonksiyonlarının ve hücre bütünlüğünün korunmasını sağlamaktır (1). Organ prezervasyonu kadavra kaynaklı organlarda beyin ölümü tanısının konulması, canlı donör kaynaklı organlarda ise donörün ameliyat anında başlar ve alıcıda vasküler anastomozlar tamamlanıp organın fonksiyon görmeye başladığı ana kadar devam eder (2).

Organ prezervasyonunda temel amaç hipoterminin sağlanması, hücre şişmesinin önlenmesi ve serbest radikallere bağlı gelişen organ hasarının minimale indirilmesidir. İskemi ile birlikte mitokondri, hücre çekirdeği, endoplazmik retikulum, lizozom ve hücre zarı gibi organellerde yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklerin geri dönüşünün olup olmadığına saptanması oldukça güç olmakla birlikte, mitokondri ve hücre zarındaki zedelenmelerin genellikle geri dönüşümsüz olduğu bildirilmektedir. Transplante karaciğerin primer nonfonksiyonu (PNF) için en önemli faktörlerin başında, prezervasyon hasarı gelmektedir ve bu durumda retransplantasyon yapılmadığı zaman ölüm kaçınılmazdır (2, 3).

Histidin-triptofan-ketoglutarat (HTK), Wisconsin Üniversitesi solüsyonu (UW), Eurocolins v.b gibi solüsyonlar prezervasyon için kullanılmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda olduğu gibi, gelecekte yapılacak çalışmaların ortak hedefi de organları daha uzun süre minimal hasar ile korumak olacaktır. Literatürde, bir antioksidan olan prostoglandin-E1 (PGE-1)'in karaciğer rejenerasyonu üzerine pozitif etkilerinin olduğu gösterilmiş olmakla birlikte, prezervasyon hasarı üzerine sitoprotektif etkilerini gösteren çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, bir antioksidan olan PGE-1 ilavesinin, HTK ve UW solüsyonlarının antioksidan ve sitoprotektif özellikleri üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Organ Prezervasyon Prensipleri:

Genelde organ prezervasyonu prensipleri tüm organlar için uygulanabilirse de başarılı bir prezervasyon için her organın farklı gereksinimleri vardır. Organ kanlanmasının kesilmesi, yani iskemi ile bozulmaya başlayan hücrede metabolizmanın yavaşlatılması gerekir. Hücre metabolizmasının yavaşlatılmasında temel faktör hipotermidir. Organ ısısındaki her 10°C'lik düşüş ile metabolizmanın 1,5–2,5 kat düştüğü ve dolayısıyla 37°C' den 0°C'ye kadar yaklaşık on kat kadar yavaşladığı gösterilmiştir (4). Hipotermi aynı zamanda mikroorganizmaların çoğalmasını da yavaşlatmaktadır. Bu yararlı etkilerinin yanında, adenozin trifosfat (ATP) pompa aktivitesinin bozulmasına da neden olmaktadır. Bunun sonucunda, sodyum (Na) hücre içine geçerken, potasyum (K) hücre dışına çıkar ve hücre içinde onkotik basınç artar, hücre içine su çekilir, hücre şişer ve hücre ölümü meydana gelir (1, 4).

İskemi sırasında ATP, hipoksantine dönüşür. Hipoksantinin, reperfüzyon sırasında ksantine dönüşümü esnasında ise serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar. Serbest oksijen radikalleri (SOR) hücre membranındaki lipidler ve hyalüronik asitlerde değişikliklere yol açarak hücre ölümüne neden olur (5). Organ prezervasyonunun diğer amacı, reperfüzyon sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerine bağlı gelişen hücre ölümünün önlenmesidir.

2.2. Prezervasyon Hasarı Mekanizması:

2.2.1-Preprezervasyon Hasarı:

Preprezervasyon hasarı, organda daha önce mevcut olan hasar, yani prezervasyon solüsyon infüzyonu yapılmadan önce gelişmiş olan hasarlardır. Bu hasarın üç adet potansiyel kaynağı vardır.

2.2.1.1 Karaciğerde Önceden Var Olan Hastalık: En çok görülen nedenleri obesiteye bağlı steatoz, alkol veya ilaç kullanımına bağlı hepatitin yol açtığı hasarlardır. Steatoz, hepatositlerde ve sinüzoidal hücrelerde soğuk prezervasyon hasarını artırır. İlaç veya çok miktarda alkol kullanımı ölüm nedeni olabilir. Bu nedenlerle potansiyel toksik karaciğer hasarı göz önünde bulundurulmalıdır. Potansiyel donörleri değerlendirirken, hikâye, fizik muayene, ilaç toksisite testleri, karaciğer fonksiyon testleri (KCFT) ve karaciğer biyopsisi, daha önceden var olabilecek, olası bir karaciğer hasarını elimine etmek için kullanılır (3,6).

2.2.1.2 Beyin Ölümünün Etkileri: Beyin ölümüne neden olan travma, genellikle hipotansiyon ve hipoksiye neden olur. Bu durum karaciğerin sıcak iskemisine yol açar. Malnutrisyon da, hepatik hasara neden olabilen faktörler arasındadır. Özellikle uzun süre yoğun bakım ünitelerinde yatmış olan potansiyel donörler, hepatik glukojenasyon ve diğer negatif nutrisyonel etkilere maruz kalmış olabilirler. Glikojen depoları tükenen karaciğer dokusunun ise sıcak iskemiyeye olan toleransı azalır (7).

2.2.1.3 Organ Çıkarılması (procurement) Sırasında Gelişen Hasar: Ameliyat süresince gelişen hasarın en önemli nedeni hipotansiyondur. Nadir olarak, hasar teknik nedenlere bağlı da olabilir. Organları kabul edilen donörlerin üçte birinde, organ çıkarılması sırasında alınan karaciğer biyopsilerinde, sinüzoidal endotelial hücrelere yapışmış trombositlerin neden olduğu preprezervasyon hasarı görülür. Bu tip hasarın derecesiyle, implantasyon sonrası gelişen organ disfonksiyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (7,8).

2.2.2. Soğuk Prezervasyon Hasarı:

Soğuk prezervasyon, organ korunması için standart metoddur. Karaciğerde metabolik aktiviteyi azaltabilmek için solüsyonun ısısı 0–4°C arasında tutulur, böylece organın enerji ihtiyacı azalmış olur. Sıcaklıktaki her 10°C'lik azalma ile metabolik aktivite %50 azalır. Sıcaklığın enzimatik aktiviteye etkisi ise değişkendir. Örneğin, Na-K ATP-az ve Ca-ATP-az enzimleri 20 °C'nin altında tamamen inhibe olurlarken, bazı proteazlar 1°C'de bile fonksiyonlarını sürdürebilirler (9).

2.2.2.1 Soğuk Klasik Etkileri: Metabolik ihtiyacı azaltmak için organ soğutulur. Metabolizma yavaşlar ancak durdurulamaz ve ATP yıkılmaya devam eder. Anaerobik glikolizde ATP üretimi olsa da, ATP kullanımı üretimini aşar ve sonuçta ATP tükenir. Normalde ATP, ADP ve AMP'den oluşur ama bunu yapabilecek yeterli enerji olmadığı için, ADP ve AMP hücreyi terk ederek adenozeine yıkılır. Bu yıkılma evrelerinde ksantin ve hipoksantin üretilir. Ksantin oksidaz enzimi, hipoksik soğuk prezervasyonda aktive olur. Ksantin ve hipoksantin, ksantin oksidaz varlığında oksijenle birleşir ve oksijen serbest radikallerinin oluşmasına neden olurlar, bu serbest radikaller ise hücre membranına toksiktir (10).

20°C'nin altındaki sıcaklık NA-K ATP-az pompasının fonksiyon kaybına neden olur. Bu enerji bağımlı pompa, 3 adet Na molekülünü hücre içinden dışarıya çıkarırken, 2 adet K molekülünü ise hücre içine alır. Sonuç, hücre içinde yüksek, ekstrasellüler sıvıda ise düşük

K konsantrasyonu oluşmasıdır, Na için ise tersi bir durum söz konusudur. Pompa elektrokimyasal bir gradient oluşturur ve hücre içi, hücre dışına göre negatif hale geçer. Pompanın diğer etkisi de, hücre içine geçmeyen moleküllerin osmotik etkisini dengelemektir. Pompanın kaybıyla, hücre membranı boyunca NA-K dengesi bozulur ve gradient kaybolur. Hücre zarından geçmeyen intrasellüler moleküller istenmeyen bir osmotik etki oluşturarak hücrenin şişmesine neden olurlar. Prezervasyon solüsyonlarının içeriği, bu istenmeyen etkileri engellemek üzere düzenlenmeye çalışılmıştır (10).

2.2.2.2 Sinüzoidal Endotelyal Hücre Hasarı: Soğukun klasik etkileri, bazı organların soğuk iskemiyi neden daha iyi tolere ettiğini açıklamak için yeterli değildir. Birbirinden bağımsız yapılan laboratuvar çalışmalarında karaciğerin hepatosit dışında kalan hücrelerinin, prezervasyon ve perfüzyon hasarına duyarlı olduğu gösterilmiştir (11). Yapılan bir çalışmada, spesifik olarak sinüzoidal endotelyal hücreler incelenmiş ve prezervasyon sonrası klinik olarak belirgin dönemlerinde olan karaciğer hasarının, temelde sinüzoidal endotelyal hücre (SEC) hasarına bağlı olduğuna dair ikna edici kanıtlar elde edilmiştir (11). Yapılan çalışmalarda, SEC hücrelerinde gelişen hasarın önemli nedenlerinden birinin proteazlar olduğu da gösterilmiştir. Bu etkiyi gösteren proteazlar arasında, kalsiyum bağımlı intrasellüler bir enzim olan kalpain ve matriks metalloproteinazları (MMP-2 ve MMP-9) sayılabilir (12,13). Soğuk, Ca-ATP az'ı da inhibe ederek intrasellüler kalsiyum seviyesini ve buna bağlı kalpain aktivitesini artırır. Bu da sonuçta, aktin stres fiberlerinin parçalanmasına neden olur. Aktin stres fiberlerinin parçalanması ise SEC'den MMP salgılanması ile sonlanır. MMP sekresyonu ve aktin parçalanması, hücre yüzeyini aktive ederler ve bunun kanıtı da artmış Von Willebrand faktör (vWF) ekspresyonu ve SEC hücre yüzeylerine trombosit adezyonunun artmasıdır (11,14). Aktin stres fiberlerinin parçalanması, reperfüzyon sonrası artmış beyaz küre adezyonu için gereklidir. Soğukun neden olduğu SEC hasarı, zaman içinde dolaşımdaki normal trombosit ve lökositler için reseptör eksprese eden ve koagülasyonu başlatabilen hücrelerin oluşmasına neden olur. Organın reperfüzyonu ile xenogreftlerde görülen hiperakut vasküler rejeksiyon fenomenine benzer bir tablo oluşur. MMP sekresyonunun, SEC aktivasyon mekanizmasında ve soğuk prezervasyon hasarında ana rol üstlendiği görülmüştür (15-17). Bu nedenlerle, prezervasyon için kullanılan UW ve HTK solüsyonlarında laktobiyonat ve histidin gibi güçlü birer MMP inhibitörü kullanılmıştır.

2.2.3. Sıcak İskemi Hasarı:

Donör karaciğerinin ameliyat sahasına getirilmesi ile başlayan ve anastomozların yapıldığı dönemde, organ tedrici olarak ısınır ve yeterince perfüze olamaz, yaklaşık 40 dakika sonra karaciğerin merkez sıcaklığı 2°C'den 20°C'ye kadar çıkar. Beraberinde enzim aktivitesi ve metabolik hız artar, geriye kalan glikojen depoları da hızlı bir şekilde tüketilir. Bu sıcaklıklar SEC'ten daha çok hepatositlere zararlıdır. Sıcak iskeminin çok uzun sürmesi, (120 dakikadan uzun) tek başına organ yetmezliğine (PNF) neden olabilir (18).

2.2.4. Reperfüzyon Hasarı:

Herhangi bir tip iskemi sonrası reperfüzyon, karaciğer hasarına neden olur. Hasar, normalde inaktif halde olan lökosit ve trombositlerin aktive olarak endotelyuma yapışmasına ve enflamatuvar mediatörlerin yayılımına bağlıdır. Metabolik olayların yavaş ilerlediği soğuk depolama periyodunun tersine, reperfüzyon periyodundaki olaylar saniyeler ve dakikalar içinde gelişir. Soğuk prezervasyonun uzadığı durumlarda, hiperakut rejeksiyona benzer şekilde yaygın trombosit ve beyaz küre adezyonu ve intravasküler tromboz meydana gelir (19).

Alıcıya bağlı faktörlerde reperfüzyon periyodunun sonucunu etkiler. Örneğin alıcı hipotansifse, greft reperfüzyonu sırasında diğer organların yanı sıra greftte de sıkıntı yaşanma riski artar. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna bağlı olarak alıcı kanında aktive trombosit, lökosit ve artmış enflamatuvar mediatörlerin varlığında hasarı artıran faktörlerdir. Deneysel çalışmalarda, portal venin uzun süre klemplenmesine bağlı olarak barsaklardan endotoksin salınımı olduğu, bunun sonucunda kupffer hücrelerinin aktive olarak tümör nekroz faktör- α (TNF- α) salgıladığı ve sistemik şok benzeri bir tablo olduğu gösterilmiştir (17).

2.2.4.1. Trombositler: Endotelial duvarın aktivasyonu, trombosit adezyon ve aktivasyonuna neden olur. Mekanizma büyük ihtimalle sinüzoidal hücrelerde artmış vWF ekspresyonuna bağlıdır. Aktive olmayan trombositler vWF'e yapışarak endotel hücrelere fikse olur ve aktive hale geçerler (20). Trombositler, TGF, kalpainler ve diğer toksik metabolitlerin kaynağıdır. Trombositlerce nitrik oksit üretimi, SOR ve reoksijene olmuş iskemik karaciğerde peroksinitrit oluşmasına neden olur. Buda endotel hücrelerinin apoptozisini başlatır (21-23).

2.2.4.2. Lökositler: Reperfüzyon sonrası lökositler hızlı bir şekilde sinüzoidlere yapışır ve hasara neden olur. Adezyon, artmış intrasellüler adezyon molekül-1 (ICAM-1)'e bağlı olarak gelişir. Lökositler hücre membranında, nikotinamid-adenosin dinükleotid fosfat (NADPH) bağımlı oksidaz sistemi ile reaktif oksijen radikali salgılar. Reperfüzyon başladığında ise, aktive olan kupffer hücrelerinden TNF- α ve interlökin-1 (IL-1) salınır, buna bağlı olarak lökositlerde CD11-b ekspresyonunu artırır ve sinüzoidlerde lökositlerin toplanmasını sağlar. Yapılan çalışmalarda, lökositlerin ve trombositlerin sinerjistik olarak SEC apoptozisini indüklediği ve SEC hasarını artırdığı gösterilmiştir (24-26).

2.2.4.3. Endotelyal Hücre Apoptozisi: SEC ölümünün mekanizmasının nekroz mu yoksa apoptozis mi olduğu hala tartışmalıdır. Geçmişte reperfüzyon sonrası endotel hücre ölümünün koagülasyon nekrozuna bağlı geliştiği kabul edilirken, günümüzde apoptozis aracılıklı hücre ölümü daha yaygın olarak kabul edilmektedir. Hepatik prezervasyon ve perfüzyon hasarında apoptozisin önemi, prezervasyon solüsyonuna antiapoptotik ajanların eklenmesi ile sağlanan protektif etkiler ile anlaşılmıştır (24,27).

2.2.4.4. Efektör Moleküller: Reperfüzyon hasarının mekanizması oldukça kompleks olup birçok sellüler ve çözünebilir efektörler içerir. Bunlardan bazıları reaktif oksijen türleri, TNF- α , artmış sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonu ve kalpain'dir. Reperfüzyon hasarında SOR oluşumunun ana kaynağı kupffer hücreleridir. Deneysel çalışmalar, SOR'un soğukta prezerve edilmiş fare karaciğerinin reperfüzyonundan sonra endotelyal hücrelerden TNF- α ve IL-10 sekresyonunu artırdığını göstermiştir. Bu sitokinler hasarın önemli mediatörleridir (28).

2.2.4.5. Sitokinler: Diğer hasar oluşturan mediatörler ile kıyaslandığında sitokinlerin oluşturduğu etki daha önemlidir. Sitokinler, karaciğer hücreleri tarafından, en çok kupffer ve SEC'lerden üretilir. Birçok molekül tanımlanmış olmakla birlikte, TNF- α , IL-1 ve IL-6 önemli olan moleküllerdir. Colletti ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, uzamış iskemik dönemlerin sitokinlerin aşırı salınımına neden olduğu gösterilmiş ve TNF- α 'nın hepatosit ve SEC apoptozisini başlattığı görülmüştür. Kupffer hücrelerinden TNF- α salınımının engellenmesi ile soğuk ve sıcak iskemi modellerinde reperfüzyon hasarının azaldığı gösterilmiştir (29).

2.2.4.6. Proteazlar: Kalpein ve kaspaz gibi birçok sistin proteazlarının, prezervasyon ve perfüzyon hasarına mediatörlük yaptığı gösterilmiştir. Kalpeinler, sitoskeletal ve membran proteinlerinin proteolizine katılan sitoplazmik non-lizozomal kalsiyum bağımlı sistin proteazlarıdır. Kalpein aktivitesi soğuk iskemide ve reperfüzyon sonrası belirgin bir şekilde hızla artar. Soğuk ve sıcak iskemik hasarda kalpein inhibisyonunun koruyucu etkisi gösterilmiştir. Kalpein inhibisyonu, hem endotel hücrelerde hemde hepatositlerde doku hasarını azaltır ve sonunda greft fonksiyonu belirgin olarak korunur. Birçok soğuk ve sıcak iskemi modelinde, hepatik iskemi ve reperfüzyon sırasında kaspaz inhibisyonunun koruyucu etkisi gösterilmiştir (30).

2.3. Karaciğer Prezervasyon Solüsyonları

2.3.1. Eurocolins Solüsyonu:

Karaciğer prezervasyonu için ilk kullanılan solüsyondur. Siklosporinin bulunmasından sonra karaciğer transplantasyonu klinik olarak yapılmaya başlanıldığı dönemde, Eurocolins solüsyonu böbrek transplantasyonlarında kullanılıyordu. Bu solüsyon, karaciğer prezervasyonu için ideal olmamakla birlikte kullanılabilir (31, 32). İzotonik olan bu solüsyonun K konsantrasyonu yüksektir. Soğukta, hem hücre içi hem de dışında K yüksek bulunur. Bunun sonucunda, perfüzyonda Na'un hücre dışına çıkması için enerjiye ihtiyacı ortadan kalkmakta ve hücre korunmaktadır. Ayrıca, içinde hücre membranından geçmeyen glukoz vardır. Glukoz, nefronlarda şişmeyi engelleyen etkili bir faktördür ancak hepatositler üzerinde etkili değildir. Laktat birikimine bağlı gelişebilecek intrasellüler asidozu engellemek için solüsyona fosfat tampon olarak eklenir. Eurocolins solüsyonu, 6 saatin altındaki prezervasyon dönemi için oldukça etkili bir solüsyondur. Ancak eğer prezervasyon dönemi 6 saati aşarsa sonuçlar belirgin bir şekilde kötüleşir. Prezervasyon döneminin 12 saatten uzun olması durumunda ise PNF'a neden olması neredeyse kaçınılmazdır (33, 34).

Eurocolins, UW ile kıyaslandığında düşük viskoziteye sahip bir yıkama solüsyonudur. Karaciğer ve safra kanallarındaki kanı daha etkili bir şekilde temizler ve prezervasyon dönemi boyunca UW solüsyonunun daha az kullanılmasını sağlar. Bu durum, ekonomik yönden önemli avantaj sağlar. Klinik çalışmalar her iki solüsyonun beraber kullanımı ile organ prezervasyonun negatif etkilenmediğini, aksine safra kanallarını korumada daha avantaj sağladığı gösterilmiştir (33, 34).

2.3.2. UW Solüsyonu:

F. Belzer ve J. Southard'ın çalışmasıyla klinik kullanıma giren UW solüsyonu, günümüzde özellikle kadavra kaynaklı organ prezervasyonunda daha fazla olmak üzere, en sık kullanılan solüsyondür. Bu solüsyon, organ paylaşımını uzak mesafeler arasında bile mümkün kılmış, karaciğer transplantasyonunu acil bir prosedürden daha elektif bir prosedür haline getirmiştir (32).

UW solüsyonu, Eurocolins solüsyonuna benzer şekilde izotoniktir, yüksek oranda potasyum içerir ve tamponlayıcı ajanı fosfattır. Farklı olarak, glukozun yerine rafinoz kullanılmış ve sodyum laktobiyonat eklenmiştir. Onkotik basıncı ayarlayıp, hücresel şişmeyi engellemek için hidroksietil nişasta, ATP sentezi için adenosin, hücre membran stabilizatörü olarak deksametazon, serbest oksijen radikallerini yakalamak ve ksantin oksidaz inhibitörü olarak Allupurinol ve Glutasyon içerir (34,37). İçindeki laktobiyonat hücre şişmesini engelleyen önemli bir maddedir. Laktobiyonatin ve glutasyonun güçlü birer MMP inhibitörü olduğu da gösterilmiştir (35, 36).

2.3.3. HTK Solüsyonu:

HTK solüsyonu, ilk olarak kardiyoplejik bir ajan olarak klinik kullanıma girmiş, sonraları prezervasyon solüsyonu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. İçinde asidozu engelleyen histidin, membran hasarını önleyen triptofan ve enerji metabolizması için substrat olarak kullanılan keto-glutarat bulunur. Karaciğer prezervasyonunda, UW kadar etkin olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (38–40).

Şu an klinikte en sık kullanılan bu prezervasyon solusyonlarının içerikleri Tablo-1'de özetlenmiştir.

Tablo-1: Klinikte kullanılan prezervasyon solüsyonlarının içerikleri

İÇERİK	UW	HTK	ET- KYOTO	UW- PEG	EU- COLL	FONKSİYONLARI
Adenosin(mmol/L)	5			5		ATP prekürsörü + radikal temizleyici +vazodilatatör
Allopurinol(mmol/L)	1			1		Ksantin oksidaz inhibitörü + radikal temizleyici
Deksametazon (mg/L)	8					Stabilizatör
Glukoz (gr/L)					195	
Glutatyon (mmol/L)	3			3		Antioksidan + radikal temizleyici
Hidroksietil starch(gr/L)	50		30			İnterstisyel ödemi azaltır + kolloid
Histidin (mmol/L)		180				Antioksidan
İnsülin-iu/lt	100					
K –toplam-(mmol/L)	125	10	44	30	115	
Ketogluterat		1				Membranoprotektif etki
KH2PO4(mmol/L)	25		25		60	Tamponat – PH düzenler
K-Laktobiyonat	100			100		Hücrel şişmeyi önler
Mannitol (mmol/L)		30				Antiödem + antioksidan
MgSO4(mmol/L)	5	4				Membran stabilizatörü
Na(mmol/L)	30	15	100	125	10	
Osmolarite(mosm/L)	320-335	310	370		320-340	
PH	7,2-7,4	7,2		7,2-7,4	7,3	
Polietilen glikol(mmol/L)				0,03		
Raffinase (mmol/L)	30					Hücre şişmesini önler
Triptofan (mmol/L)		2				Membranoprotektif etki
Bikarbonat (mmol/L)					10	Tampon
Glukonat(mmol/L)			100			Geçirgen olmayan anyon
Penisilin(İU/L)	40					

2.4. Prezervasyon Solüsyonlarının Kullanımı

Organ prezervasyon tekniklerinin temelinde organı kansız hale getirmek ve hipotermi ön plandadır. Kadavradan kaynaklı organlarda ameliyat sırasında, canlı donör organlarda organın çıkarılması ile bu işlemler başlar. Karaciğer, primer olarak UW solüsyonu ile korunur, UW ile 24 saate kadar güvenli prezervasyon sağlanır. Son zamanlarda HTK'nında UW kadar etkin olduğu gösterilmiştir. Ancak, prezervasyonda sağlanan gelişmelere rağmen greft disfonksiyon oranı %5 ile %20 civarındadır (41).

PNF'nin yüksek olmasının nedeni yetersiz soğuk depolama ve mükemmel solüsyonun henüz bulunmamış olmasıdır. Bu nedenle, soğuk prezervasyon sırasında organ korunmasını arttırmak için yeni stratejiler bulmak kaçınılmaz bir ihtiyaçtır.

2.5. Yeni Prezervasyon Stratejileri

2.5.1. Karaciğeri Önceden Hazırlamak:

Hayvan modellerinde iskemik hasara karşı etkili olduğu gösterilen birçok protektif stratejinin çok azı kliniğe adapte edilebilmiştir. Karaciğeri uzun iskemi süresine adapte etmek için kısa süreli iskemi ve ardından kısa süreli reperfüzyon, karaciğeri iskemiye karşı koruyan oldukça etkili ve basit bir yöntemdir. Araştırmalar bu yöntemin, normotermik iskemik karaciğerde reperfüzyon hasarını engellediğini ve yaşamla bağdaşmayan hasarı, ölümcül olmayan hasara çevirdiğini göstermiştir (42, 43). Bu yöntem, kaspaz yolunu inhibe ederek SEC ve hepatositlerin apoptozisini engeller. Endotelial yuvarlanma, ayrılma ve matriks MMP aktivitesini azaltır. Ek olarak reperfüzyon sonrası SEC apoptozisini tama yakın engeller (44–46).

2.5.2. Organ Çıkartıldıktan Sonra Prezervasyon İçin En Sık Kullanılan İki Temel Yöntem

1- Sitatik Hipotermik Saklama:

Organlar çıkartıldıktan sonra soğuk prezervasyon solusyonları ile perfüze edilir ve solüsyon ile birlikte steril torbalara paketlenildikten sonra buz kalıpları arasına yerleştirilerek 0 ile + 4°C derece arasında saklanır.

2- Devamlı Perfüzyon İle Saklama (Makine Perfüzyonu):

Makine perfüzyon sistemleri, organda biyoyıkımı durduran ve devamlı doku prezervasyonunu sağlayan bir yöntemdir. Greftte gerekli esansiyel substratları (glukoz, aminoasit, nükleotid, oksijen gibi) sürekli sağlar (47–49). İskemik hasar yollarının kontrolü için ATP harcanmasının minimuma indirgenmesi önemlidir. ATP kaybının önlenmesi için

karaciğerin oksijene edilmiş bir solüsyonla perfüze edilmesi gerekmektedir. Oksijenize, kansız perfüzyon karaciğer fonksiyonlarını korur ve ATP kaybının azalmasını sağlar. St. Peter ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 24 saatlik soğuk prezervasyon sonrası sıcak oksijenize makine perfüzyonunun karaciğer fonksiyonlarını iyileştirdiğini göstermişlerdir. Aksine normal soğuk depolama (UW veya HTK solüsyonları) ile 24 saatin sonunda karaciğer canlılığını büyük ölçüde kaybeder (50–52).

Organların devamlı perfüzyonu içinde ideal perfüzyon sıvısı hala tanımlanamamıştır. Perfüzyon sıvıları organa oksijen taşıyıcı ile oksijen ulaştırmalıdır. Basit oksijene tampon solüsyonları yeterli oksijen temini için yüksek akıma ihtiyaç duyarlar ve bu solüsyonlar kırmızı kan hücrelerinin oksijen taşıyıcısı olduğu zamanlarda görülmeyen dejeneratif değişiklikler yaratırlar (53–55).

Vücut dışı perfüzyon sistemlerinin klinikte rutin kullanılması için bu komplike makinaların pratik hale getirilmesi gerekir. Günümüzde devamlı perfüzyon prezervasyonu sadece böbrek transplantasyonunda ve birkaç merkezde kullanılmaktadır. Makine perfüzyonunun greft kalitesini arttırdığı ve daha uzun prezervasyon sağladığı bilinmesine rağmen, bugün standart uygulanan yöntem asellüler perfüzyon sıvıları ile organın perfüzyonu, 0–4°C derecede saklanması ve en kısa sürede transplantasyonun gerçekleştirilmesidir. Bu şartlarda elde edilen klinik sonuçlar kabul edilebilir sınırlar içindedir (52).

Devamlı perfüzyon yönteminin statik hipotermik saklama yöntemine göre avantajları ve dezavantajları

Tablo–2: Devamlı prezervasyon ile saklanan (DPS) yöntemin, Statik hipotermik saklama (SHS) yöntemine avantajları ve dezavantajları

	SHS	DPS
Besleyici Faktörler (O ₂ , vs)	Yok	Var
Metabolitlerin Uzaklaştırılması	Yok	Var
Kanın Uzaklaştırılması	Yetersiz	Yeterli
Hücre Hasarının Saptanabilmesi	Mümkün Değil	Mümkün
Greft Disfonksiyonu	Fazla	Az
Prezervasyon Süresi	Az	Fazla
Diğer Merkezlere Nakil	Kolay	Zor
Deneyimli Personel	Gerektirmez	Gerektirir
Cihaz arızası olasılığı	Yok	Var
Ücret	Ucuz	Pahalı

2.6. Koruma Süreleri:

Organların organizmadan çıkarılması ile birlikte gelişen hücre hasarı ve sonucunda hücre ölümünü önlemek için organların organizmadaki ortamına benzer yapay bir ortam hazırlamak ideal korumanın temelidir. Fakat bu ortamın aynısını oluşturmak için yeni bir organizma yaratmak gerekir ki, bu da mümkün değildir. Bu nedenle, şu ana kadar yaratılan benzer ortamlarda hücre hasarı ve belli bir süre sonra da hücre ölümü gerçekleşmesi önlenememektedir (55). Hücre hasarı ve ölümünün maksimum süreleri her organ için farklılık göstermektedir (Tablo-3).

Organ	Süre
Kalp-Akciğer	6 saat
İnce Barsak	6 saat
Karaciğer	24 saat
Pankreas	48 saat
Böbrek	72 saat
Kornea	1 hafta

2.7. Prostaglandin-E1

Prostaglandin-E-1 (PGE-1; Alprostadil, Minprog®, Pharmacia&Upjohn, Erlangen, Germany) PGE-2'ye oranla kimyasal olarak daha stabildir ve klinik kullanımı daha kolay olduğu için klinikte daha geniş kullanılmaktadır. PGE-1'in hücre koruyucu (sitoprotektif) etkisi vardır, damar düz kaslarına etki ederek vazodilatasyon yapar, hasarlı organda oksijen tüketimini ve süperoksit anyon üretimini azaltır (56).

Soğuk prezervasyon yapılmış greftlerde, sinüzoidal endotelyuma trombosit adezyonu olur ve bu durum greftte hasar yaratır. Yapışan trombositlerin sayısı soğuk prezervasyon süresine, hasarın yayılımı ise trombosit sayısına bağlıdır. Yapışan trombositler, tromboza ve enflamasyona neden olan maddeler salgılar. Tromboz ise sinüzoidal obstrüksiyon yaparak reperfüzyon esnasındaki akımı engeller (56).

Prostaglandinlerin-E ve I serileri adenilat siklaz enziminin potent reseptör aracılı sitümülatörleridir, cAMP üretirler ve buna bağlı olarak trombosit fonksiyonlarını inhibe ederler. PGE-1 aynı zamanda lökositlerin endotelyuma yapışmasını önleyerek iskemi reperfüzyon hasarını da azaltır. Bu etki ICAM-1 üzerinden gerçekleşmektedir (57).

PNF tedavisinde, iki prostaglandinin yararlı etkileri gösterilmiştir. PGE-1 ve PGI-2 (prostasiklin) benzer şekilde vazodilatasyon, lizozomal membran stabilizasyonu, trombosit agregasyonun inhibisyonu ve splanknik alandaki kan akımını artırarak, transplantasyon sonrası hepatik fonksiyonu düzelttiği düşünülmektedir. Ama bunların karaciğer transplantasyonu sonrası kullanımının etkileri üzerine çelişkili sonuçlar vardır (57, 58). Birçok çalışmada PNF oranlarının PGE-1 kullanımı ile azaldığı söylenmesine karşılık, Henley ve arkadaşlarının yaptığı prospektif randomize plasebo kontrollü bir çalışmada, 160 karaciğer transplantlı hastada proflaktik PGE-1 kullanılmış ve plasebo grupla, PGE-1 grupları arasında, PNF insidansı ya da sonuçları açısından bir fark saptanmamıştır. İlginç olarak PGE-1'in immünolojik, hemodinamik, hematolojik pozitif etkilerinin olduğu ve hastanede kalış süresini de kısalttığı gösterilmiştir (58).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Yeri Ve Ortamı

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Çalışmada randomize olarak seçilen ratlardan oluşan 5 grup oluşturuldu. Toplam 30 adet matür (10–12 aylık) ve erkek wistar albino rat kullanıldı. Ortalama 250–300 gr ağırlığında olan her bir rat, yer alacağı gruba göre işaretlendi ve çalışmaya başlamadan bir hafta önce üretim merkezinden araştırma merkezine getirilerek sıcaklığı sabit (22 °C), 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamında tutularak ve standart rat yemi verilerek deneye hazırlandı. Deneyde kullanılacak ratlar 12 saat önce aç bırakılarak sadece su içmelerine izin verildi.

Biçimlendirilmiş: İki Yana
Yasla

3.2. Araştırma Tipi

Deneysel çalışma protokolü Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Kurulu tarafından etik ve bilimsel yönden onaylandıktan sonra “National Institute of Health Guide For the Care and Use of Laboratory Animals” kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deneyde kullanılan ratlar Başkent Üniversitesi Araştırma Merkezine bağlı Deneysel Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilmiştir.

Biçimlendirilmiş: İki Yana
Yasla, Sekmeler: 18 nk, Sola

3.3. Anestezi:

Bütün hayvanların anestezisi, 60 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar® Eczacıbaşı Warner-Lambert ilaç sanayi, Levent, İstanbul) ve 10 mg/kg xylazine hidrokloritin (Rompun® Bayer, Şişli, İstanbul) aseptik şartlarda intraperitoneal verilmesi ile sağlandı.

3.4. Cerrahi Teknik

Anestezi alan ratların, insizyon sahası traşlandı. Povidon iyot ile cilt antisepsisi sağlandıktan sonra, ameliyat düzeneğine kol ve bacakları tesbit edildi. Düzenek aspirasyon riskini önlemek amacıyla, 30° eğimle tutuldu ve steril örtü insizyon alanı açıkta kalacak şekilde kapatıldı. Orta hat insizyonu tercih edildi. Laparotomi sonrası ince barsaklar karın dışına alındı, portal pedikül tanımlandı .

3.5. Deney Şekli

Portal ven kanülize edilip portal pedikül distali bağlandıktan sonra +4°C'deki RL, UW, HTK solüsyonları ile, hepatik venden berrak sıvı gelene kadar karaciğer perfüze edildi ve ardından hepatektomi yapıldı. Hepatektomi sonrası ratlar yüksek doz anesteziklerle sakrifiye edildi. PGE-1 gruplarındaki ratlara hepatektomi yapılmadan 30 dakika önce 20 mcg/kg intraperitoneal PGE-1 verildi. Hepatektomi yapıldıktan sonra karaciğer, içinde RL, UW ve HTK bulunan torbalara konuldu, torbalar içi buz dolu saklama kaplarına yerleştirildi. Perfüze edilen karaciğerlerden histopatolojik inceleme için 0. 6. ve 12. saatlerde örnekler alındı. Biyokimyasal inceleme için yine 0. 6. ve 12. saatlerde prezervasyon sıvısından 3'er cc'lik örnekler biyokimya tüpüne alındı.

3.6. Araştırma Grupları

Bu deneysel çalışma, her biri randomize seçilen 6 rattan oluşan 5 grup üzerinde yapıldı.

Grup-1 (n=6) : RL (kontrol grubu)

Grup-2 (n=6) : HTK

Grup-3 (n=6) :HTK ve PGE-1

Grup-4 (n=6) :UW

Grup-5 (n=6) : UW ve PGE-1

3.7. Araştırma Parametreleri:

3.7.1. Biyokimyasal Analiz:

Prezervasyon sıvısından alınan örnekler -70°C sıvı nitrojende dondurularak saklandı. Bu örneklerden Aspartat amino transferaz (AST) ve Alanin amino transferaz (ALT) Başkent Üniversitesi Biyokimya bölümünce değerlendirildi. Tüm biyokimyasal analizler çift çalışma şeklinde gerçekleştirildi.

3.7.2. Patolojik İnceleme:

Karaciğerlerden alınan doku örnekleri, incelemenin yapılacağı güne kadar %10'luk formol içinde her bir rat için ayrı saklama kabında bekletildi. İnceleme yapılacağı zaman doku örnekleri doku takip kasetlerine alınarak parafin blok haline getirildi. Her parafin

bloktan üç mikron kalınlığında kesitler alındı, kesitler etüvde 56°C’de bir gece bekletilerek deparafinize edildi.

Histopatolojik hasar değerlendirmesi 4 bağımsız parametre ile H&E boyalı kesitlerde yapıldı. Bunlardan ilki balonlaşma; 0-yok, 1-hafif, 2-orta ve 3-şiddetli olarak değerlendirildi. Yağlanma ise % bulunma ifadesine göre değerlendirildi (%0–30, %31–60, %61–100). Perisantral hidropik değişiklik ve sinüzoidal dilatasyon; yok, fokal ya da diffüz olarak değerlendirildi.

3.7.3. Histolojik İnceleme:

İncelemeler, her gruba ait ikişer örnekte yapılmıştır. Tüm dokular fosfat tamponlu %2,5 glutraldehit içerisinde 2–3 saat fikse edildi, %1 lik osmium tetraoksit ile defiksasyonu takiben derecelendirilmiş alkol banyosunda dehidrate edildi. Örnekler propilen oksit içerisinde geçirildi, araldit CY 212, 2-dodesenil süksinik anhidrat, bezildimetil amin ve dibutilpatalat içine gömüldü. Yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile renklendirildi ve ışık mikroskobu altında sahalara seçildi. Ardından ince kesitler alınarak uranil asetat ve kurşun sitrat ile kaplanarak LEO 906E transmisyon elektron mikroskopisinde incelendi.

3.8. İstatistiksel Analiz:

Araştırma bulgularının istatistiksel analizleri SPSS 11.0 paket programı ile yapıldı. İstatistiksel analizde histopatolojik değerlendirmede gruplar arası farklılıkları incelemeye chi-square ve fisher’s exact test kullanıldı, $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Biyokimyasal değerlendirmelerde, grup içi karşılaştırmalar student’s t-testi ile yapıldı. Gruplar arası önce normallik varsayımı, sonra one-way anova testi, grupların karşılaştırılmasında Least Significant Difference ve Student Newman Keuls testi yapıldı.

4. SONUÇLAR

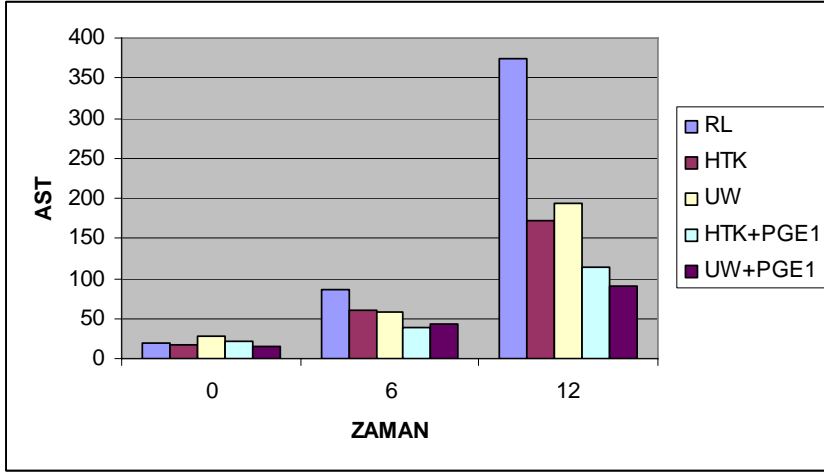
4.1. Biyokimyasal İnceleme Bulguları:

Biyokimyasal olarak, gruplar arası karaciğer fonksiyon testleri ve grup içi zamana göre AST ve ALT değerlerinin karşılaştırmaları yapıldı. Tüm grupların KCFT değerleri bakılan saatlere göre Tablo 4 ve 5'te gösterildi.

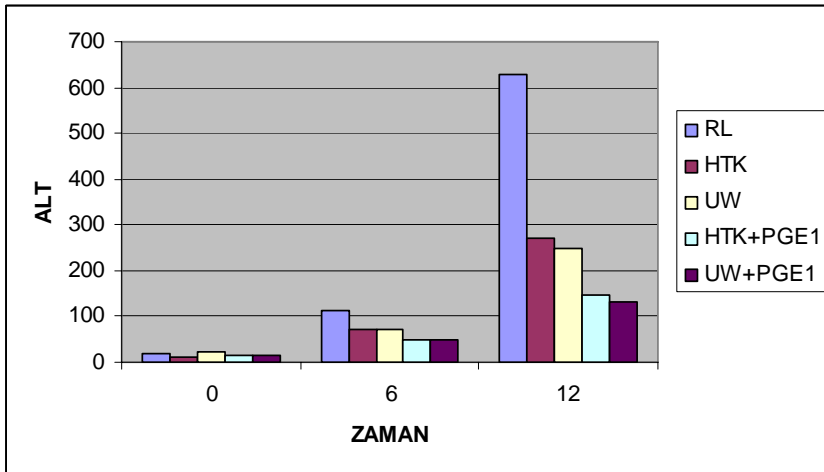
Zaman	Rat No	RL	HTK	HTK+PGE1	UW	UW+PGE1
0. saat	1	41	18	24	29	12
	2	7	10	31	36	10
	3	14	16	49	36	18
	4	12	15	8	26	11
	5	29	36	13	17	27
	6	10	12	10	23	17
6. saat	1	66	53	42	45	30
	2	70	59	33	59	45
	3	114	63	43	60	48
	4	84	49	33	65	50
	5	91	62	32	60	48
	6	88	75	44	57	40
12. saat	1	512	159	101	256	97
	2	335	125	99	105	69
	3	255	166	142	387	100
	4	314	199	103	162	83
	5	367	197	113	140	107
	6	456	184	129	105	90

Zaman	Rat No	RL	HTK	HTK+PGE1	UW	UW+PGE1
0. saat	1	16	13	14	26	9
	2	7	12	11	30	8
	3	26	21	13	23	23
	4	30	5	6	13	14
	5	21	16	17	28	20
	6	13	10	19	13	24
6. saat	1	87	60	53	53	49
	2	79	43	43	80	51
	3	168	100	76	68	75
	4	82	72	39	69	38
	5	165	88	40	90	33
	6	96	70	37	63	44
12. saat	1	760	306	459	459	144
	2	562	251	210	210	101
	3	465	355	137	137	133
	4	715	256	223	223	129
	5	621	215	230	230	187
	6	659	242	242	242	87

Grup içi saatler arasında yapılan karşılaştırmada, AST ve ALT değerlerinin HTK+PGE-1 grubu ve UW+PGE-1 grubunda en az, RL grubunda ise en fazla yükseldiği saptandı ($p<0,05$). Her beş grupta da 12. saatte alınan biyokimya örneklerinde KCFT değerleri en yüksek seviyede idi. Bulgular grafik 1 ve 2’de özetlenmiştir.



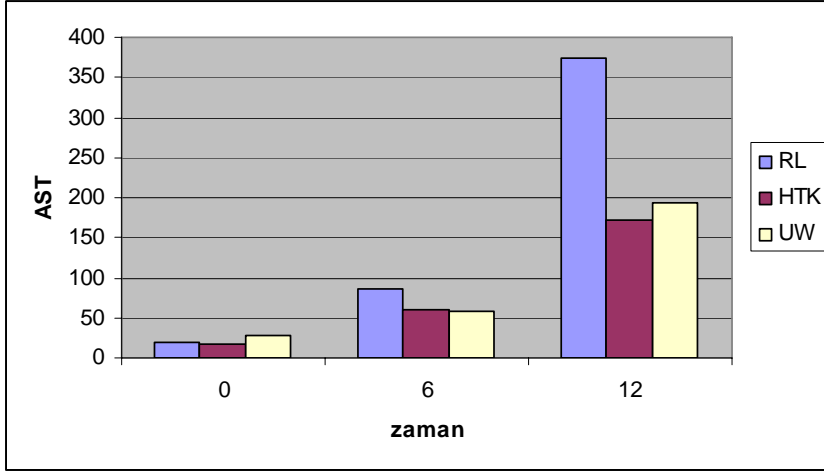
Grafik- 1: Grup içi zamana göre AST değeri karşılaştırılması



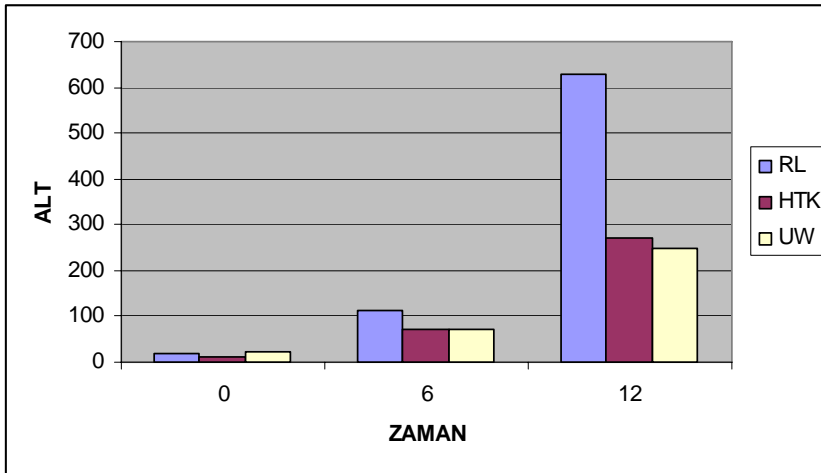
Grafik -2: Grup içi zamana göre ALT değeri karşılaştırılması

Gruplar arasında AST ve ALT değerleri açısından yapılan karşılaştırmada RL grubuna göre diğer 4 grupta enzimlerin yükselme oranları belirgin olarak daha düşüktü ($p<0,05$). HTK grubu ve UW grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). HTK+PGE-1 grubu ve UW+PGE-1 arasında da istatistiksel olarak belirgin bir

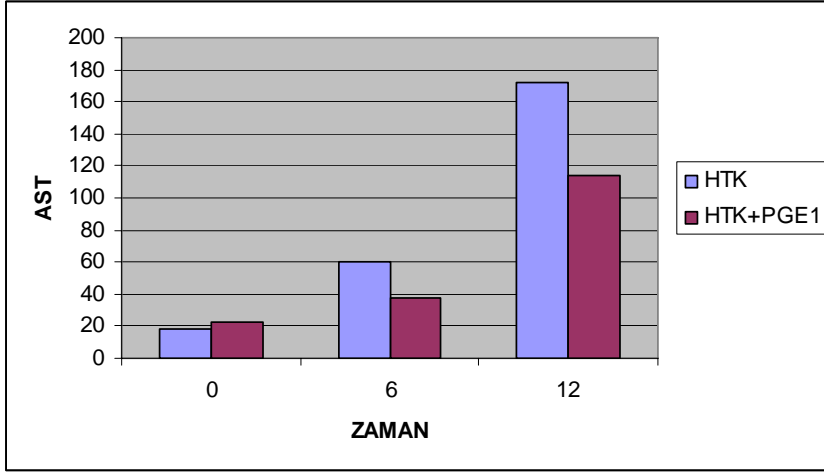
fark saptanmadı ($p>0,05$). PGE-1 verilen gruplarda (grup 3 ve 5), verilmeyen gruplara (grup 1, 2 ve 4) göre, AST ve ALT düzeyleri belirgin düşük bulundu ($p<0,05$). Bulgular grafik 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10'da özetlenmiştir.



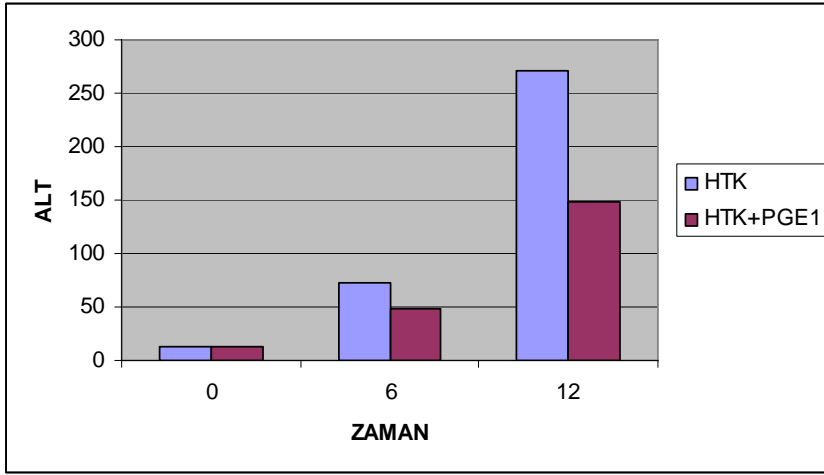
Grafik-3: RL, HTK, UW grupları arası AST değerleri karşılaştırılması



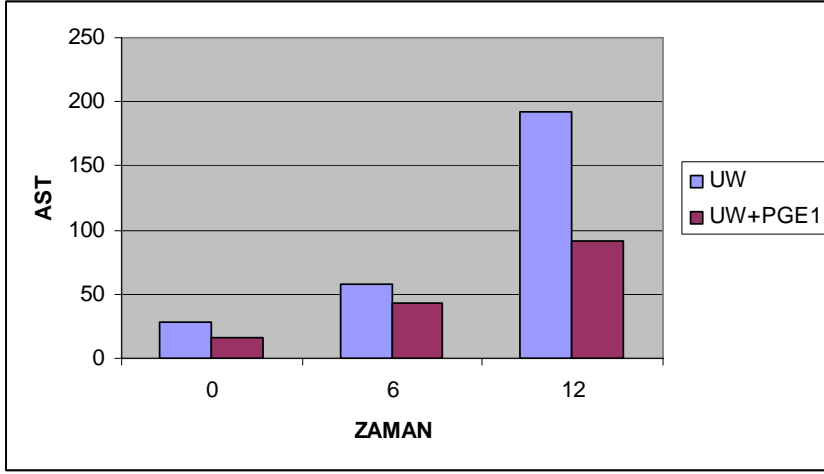
Grafik-4: RL, HTK, UW grupları arası ALT değerleri karşılaştırılması



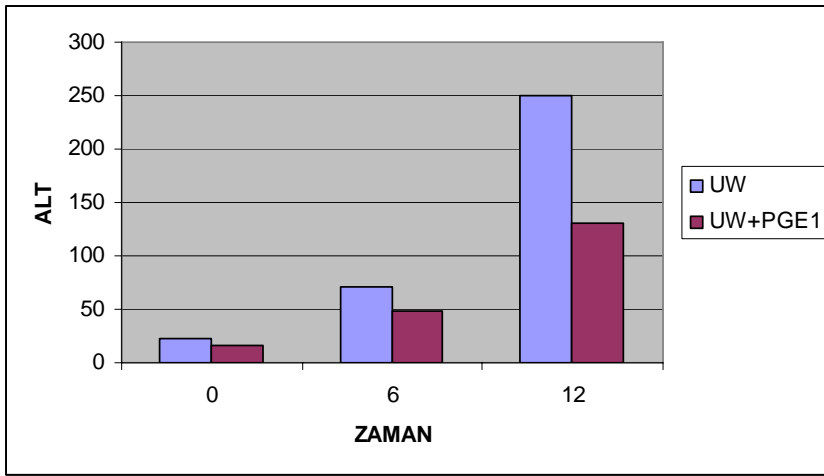
Grafik-5: HTK ve HTK+PGE-1 arası AST değeri karşılaştırılması



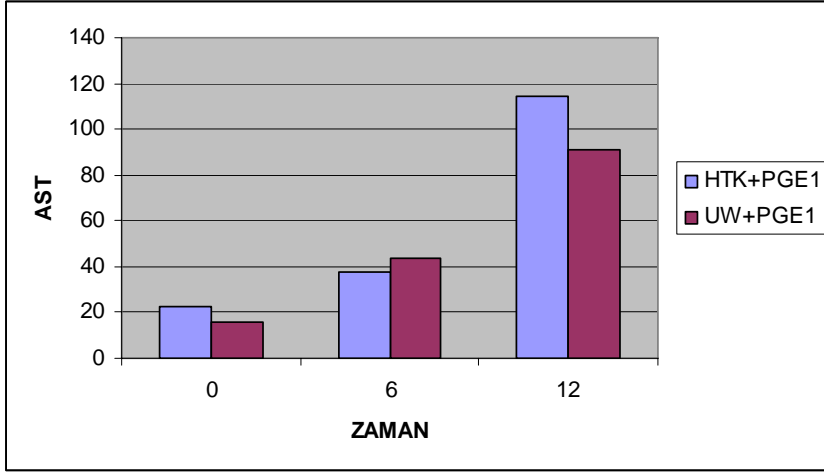
Grafik-6: HTK ve HTK+PGE-1 arası ALT değeri karşılaştırılması



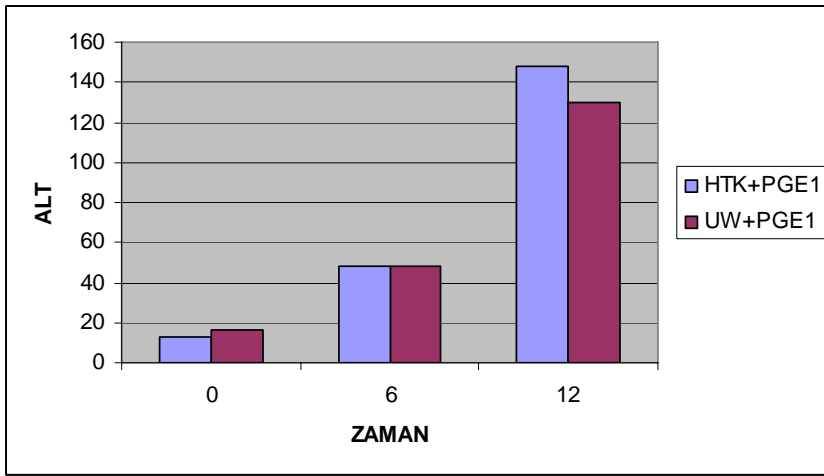
Grafik-7: UW ve UW+PGE-1 grupları arası AST değeri karşılaştırılması



Grafik-8: UW ve UW+PGE-1 grupları arası ALT değeri karşılaştırılması



Grafik-9: HTK+PGE-1 ve UW+PGE-1 grupları arası AST değeri karşılaştırılması



Grafik-10: HTK+PGE-1 ve UW+PGE-1 grupları arası ALT değeri karşılaştırılması

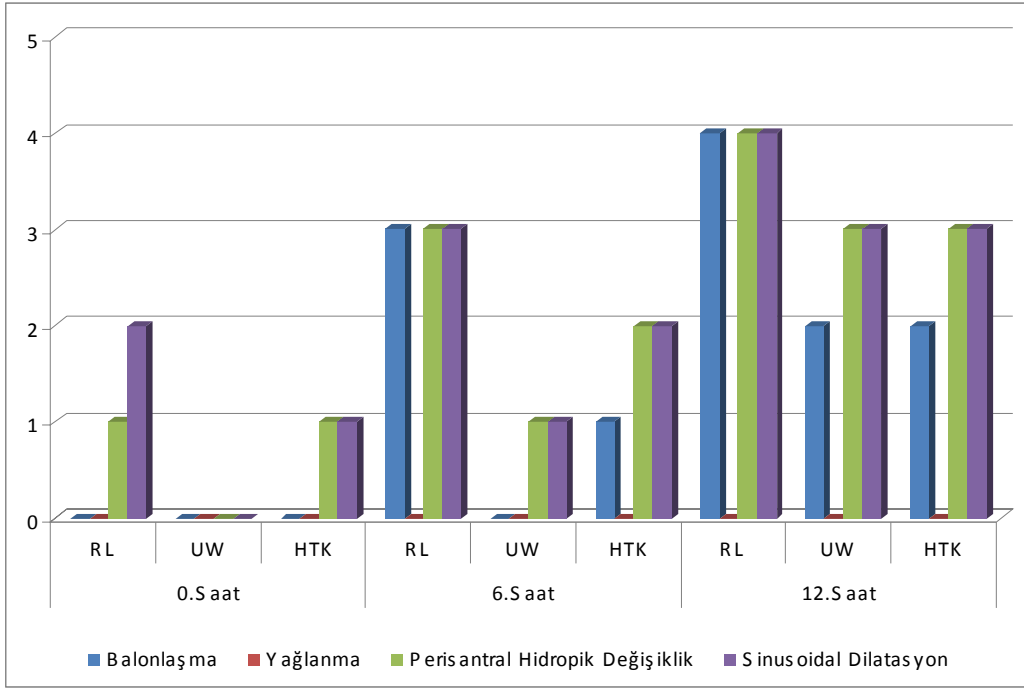
4.2. Patoloji Değerlendirme Sonuçları:

Patolojik incelemede grup içi saatlere göre ve gruplar arası alınan biyopsi materyallerinde balonlaşma, yağlanma, perisantral hidropik değişiklik ve sinüzoidal dilatasyonlar değerlendirildi. Elde edilen bulgular Tablo-6'da özetlendi.

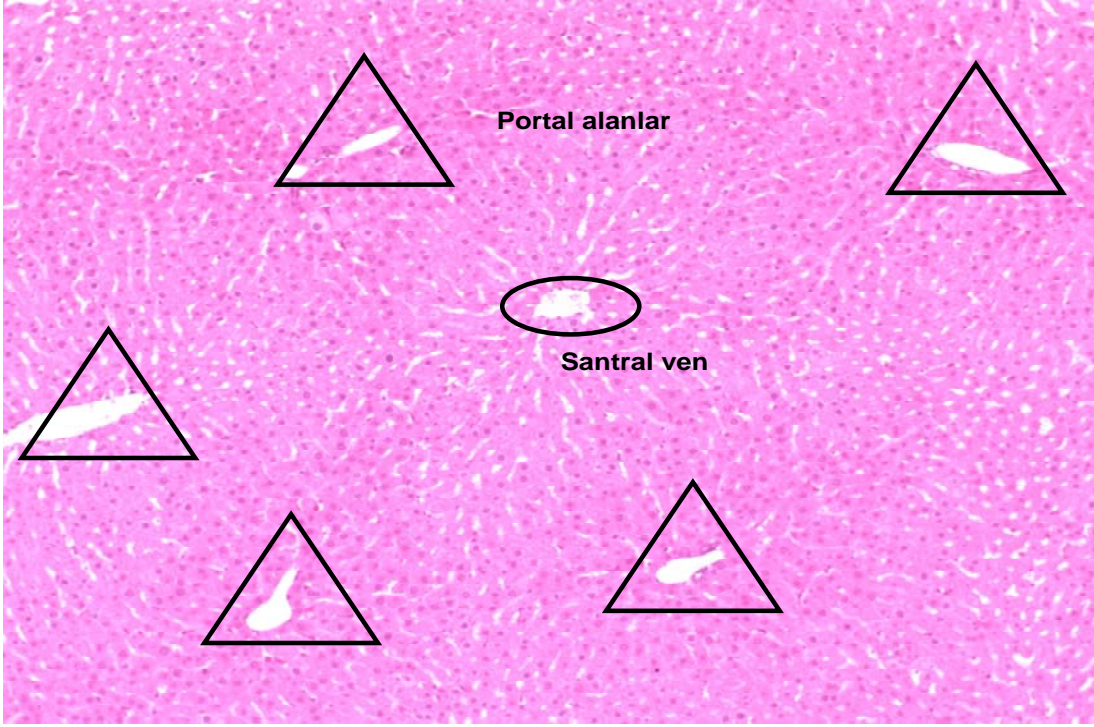
Tablo-6: Tüm gruplarda saatlere göre meydana gelen patolojik değişiklikler					
Gruplar	Zaman (saat)	Balonlaşma (+)	Yağlanma (+)	Perisantral hidropik değişiklik (+)	Sinüzoidal dilatasyon (+)
RL (n=6)	0	0	0	1	2
	6	3	0	3	3
	12	4	0	4	4
HTK (n=6)	0	0	0	1	1
	6	1	0	2	2
	12	2	0	3	3
UW (n=6)	0	0	0	0	0
	6	0	0	1	1
	12	2	0	3	3
HTK+PGE-1 (n=6)	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	1
	12	2	0	2	2
UW+PGE-1 (n=6)	0	0	0	0	0
	6	0	0	1	1
	12	0	0	2	2

Önemli derecede yağlanma grupların hiçbirinde saptanmadı.

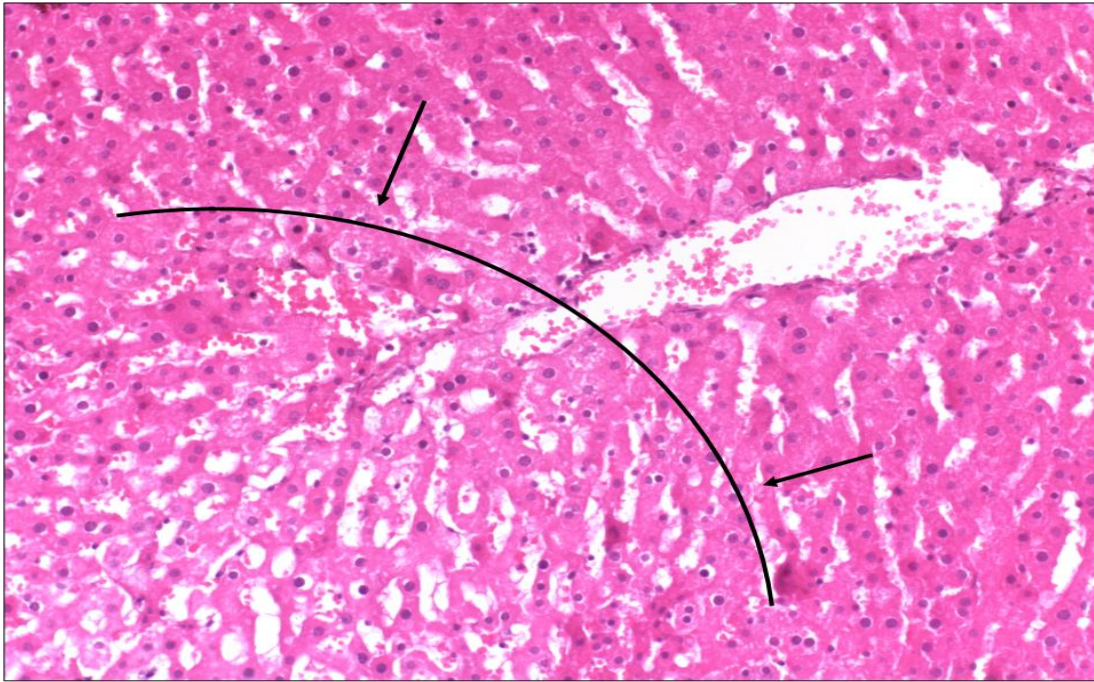
Hücrelerde meydana gelen hasar açısından, PGE-1 verilmeyen gruplar (grup 1, 2 ve 4) arası karşılaştırma yapıldığında yağlanma dışındaki tüm parametreler RL grubunda en yüksek olarak saptandı ve elde edilen bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi. UW ve HTK gruplarında elde edilen bulgular ise benzerdi (grafik 11).



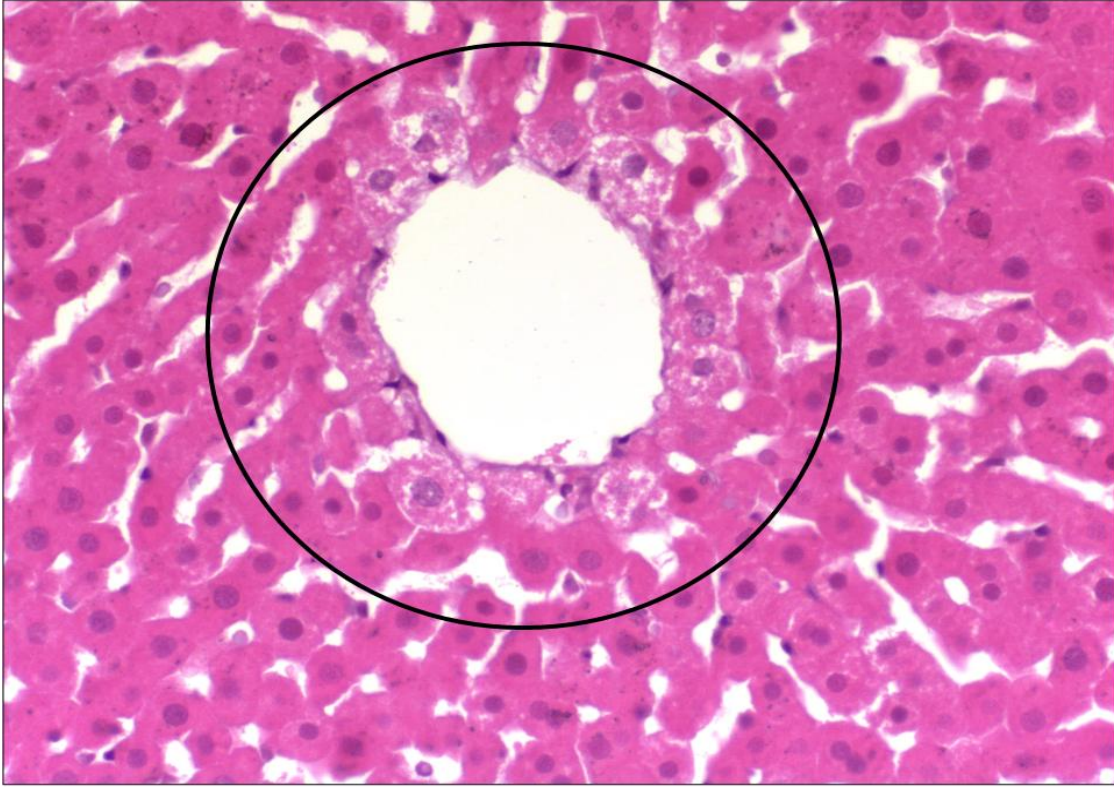
Grafik-11: RL, HTK ve UW gruplarının karşılaştırılması



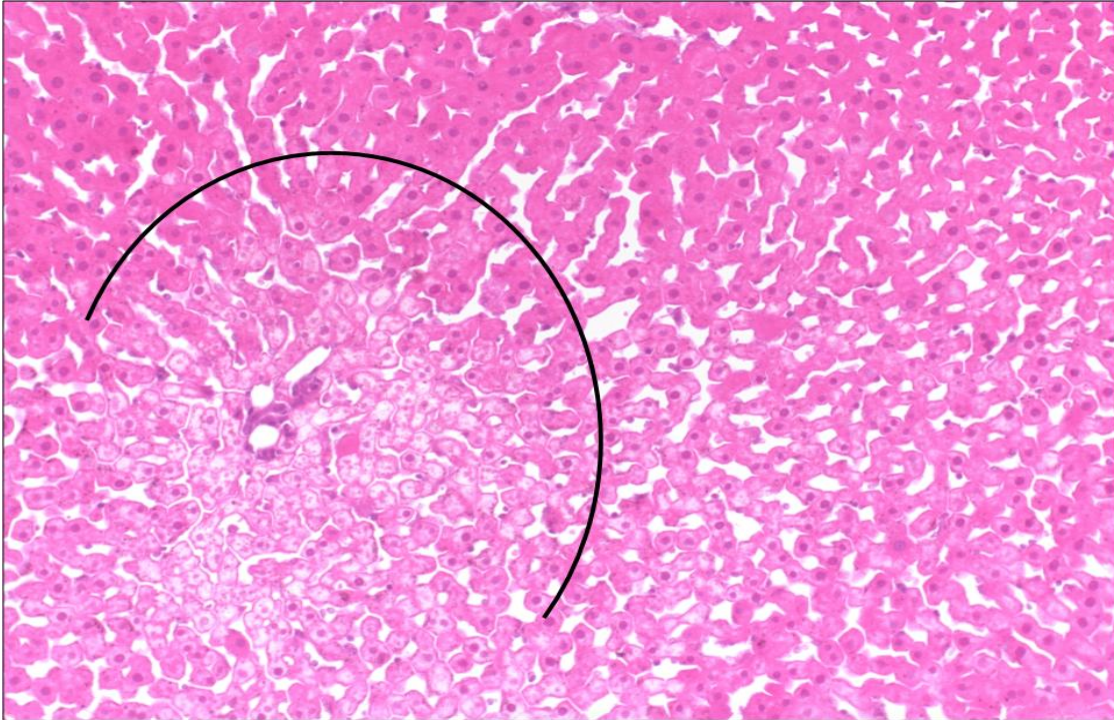
Resim-1: Hematoksilen&eozin boyamasında (x40) karaciğer dokusunda normal lobül görünümü (üçgen çizgi; portal alanlar, oval çizgi; santral ven)



Resim-2: Konjesyon ve sinüzoidal dilatasyon (H&E, x100)

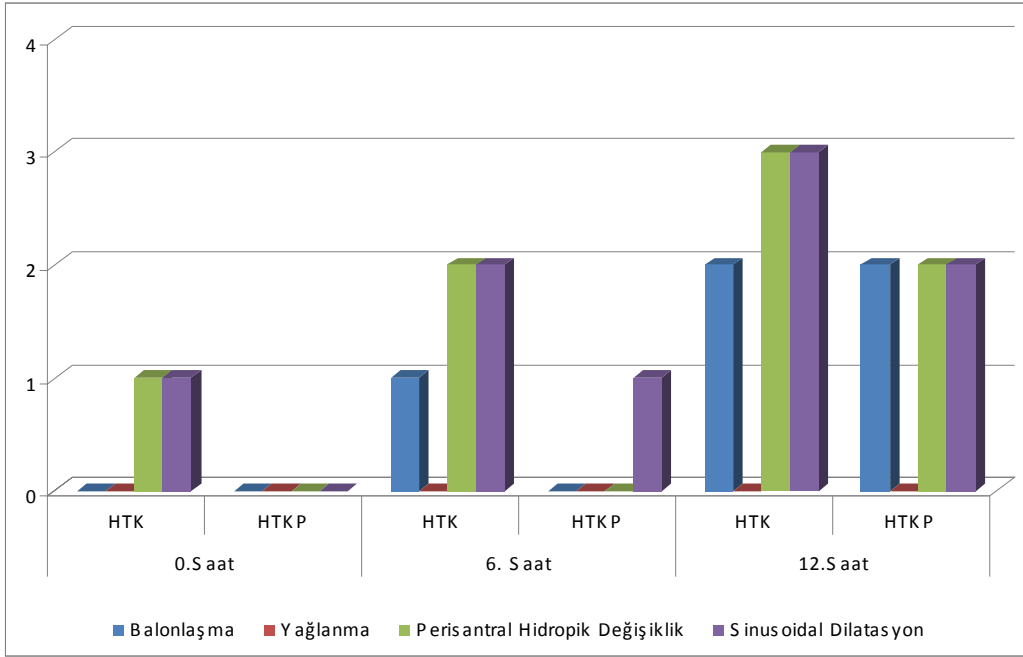


Resim-3: Perisantral hidropik dejenerasyon (H&E, x200)



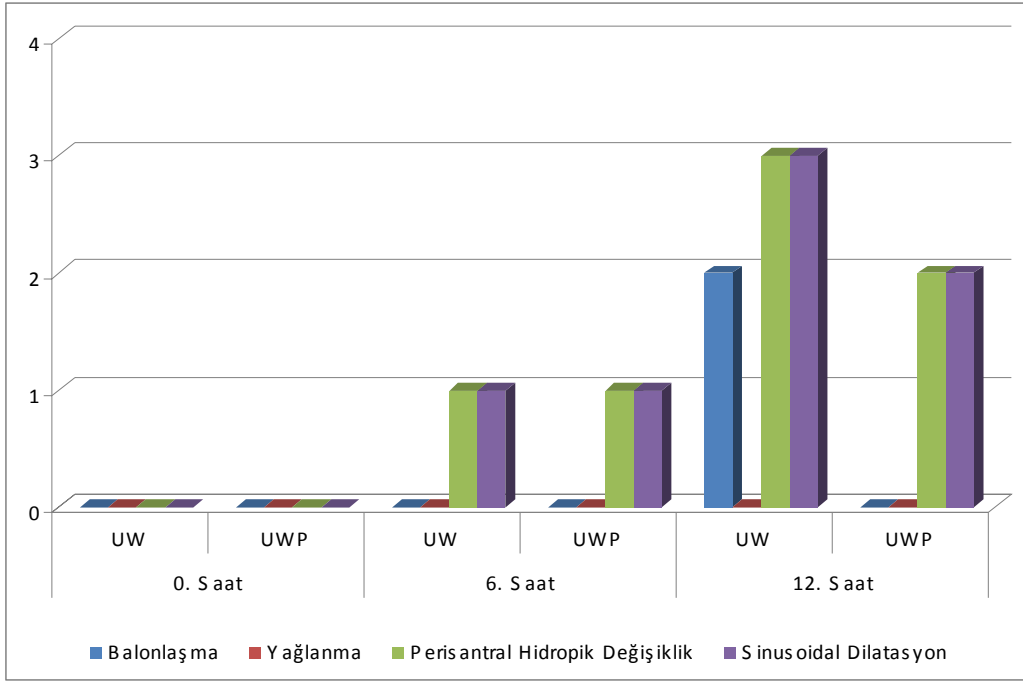
Resim-4: Periportal alanda belirgin balonlaşma (H&E, x100)

HTK ve HTK+PGE-1 grupları karşılaştırıldığında, PGE-1 verilen grupta perisantral hidropik dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon ve balonlaşmanın belirgin olarak azaldığı görüldü ($p<0.05$). Bu fark özellikle 0. ve 6. saatlerde daha belirgindi ($p<0.05$) (grafik 12).



Grafik-12: HTK ve HTK+PGE-1 gruplarının karşılaştırılması

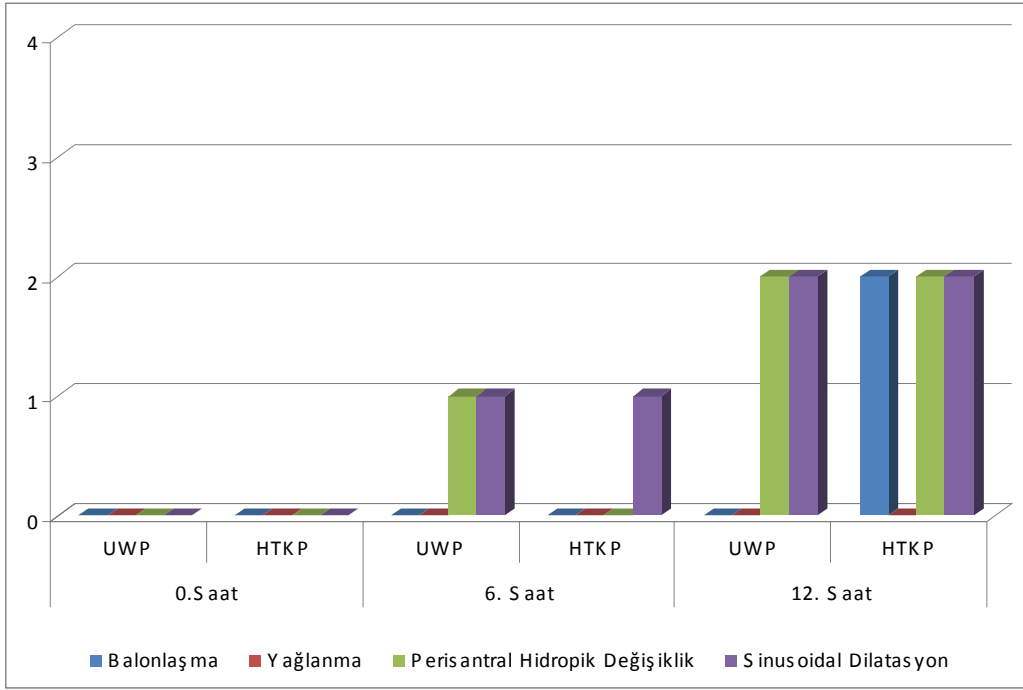
UW ve UW+PGE-1 grupları arasında karşılaştırma yapıldığında PGE-1 verilen grupta görülen balonlaşma 12. saatte belirgin olarak daha azdı ($p<0.05$). Perisantral hidropik değişiklik ve sinüzoidal dilatasyon, PGE-1 verilen grupta daha az olmasına rağmen aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). 0. ve 6 saatte elde edilen bulgular her iki grupta benzerdi ($p>0.05$)(grafik 13).



Grafik-13: UW ve UW+PGE-1 gruplarının karşılaştırılması

UW+PGE-1 ve HTK+PGE-1 grupları arasında karşılaştırma yapıldığında, 12. saatte HTK+PGE-1 grubunda balonlaşma ($p<0.05$), 6. saatte UW+PGE-1 grubunda perisantral hidropik dejenerasyon daha fazla idi ($p>0.05$). Diğer bulgular açısından gruplar arası fark saptanmadı (grafik 14).

Biçimlendirilmiş: İki Yana Yasla

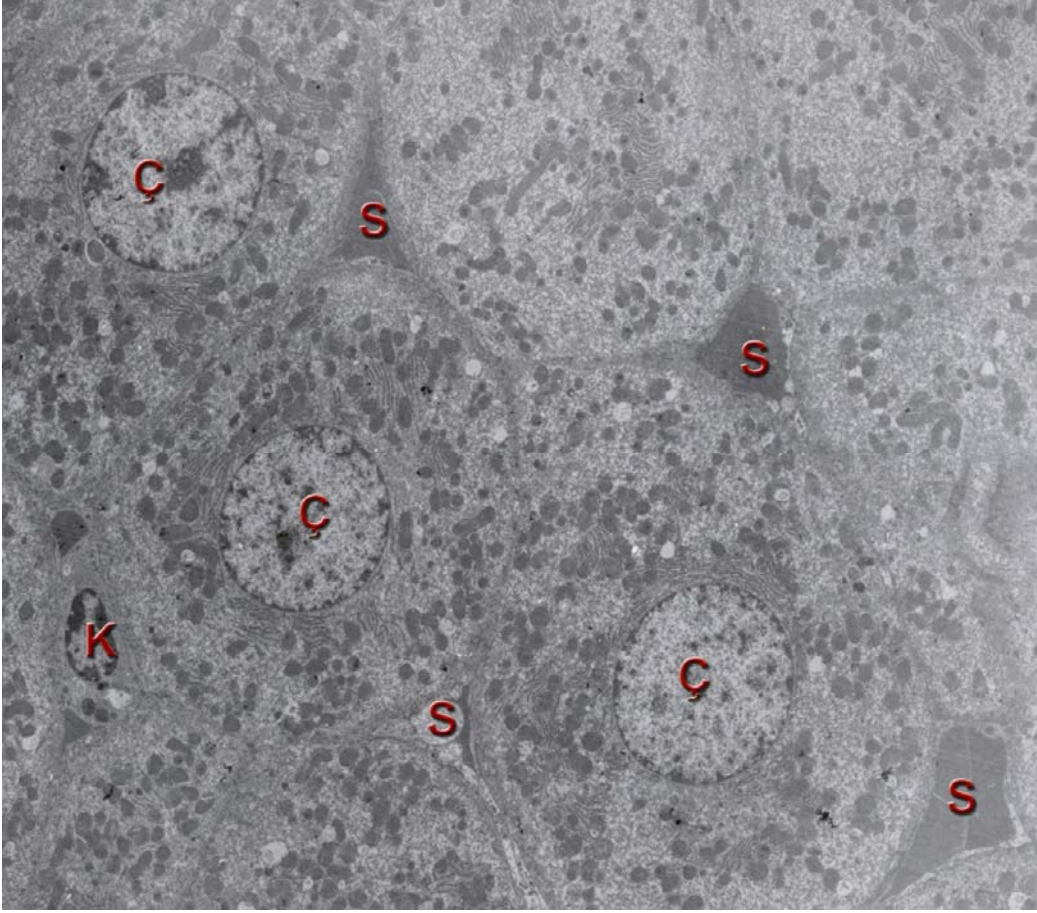


Grafik-14: HTK+PGE-1 ve UW+PGE-1 gruplarının karşılaştırılması

4.3. Histolojik Bulguların Değerlendirilmesi

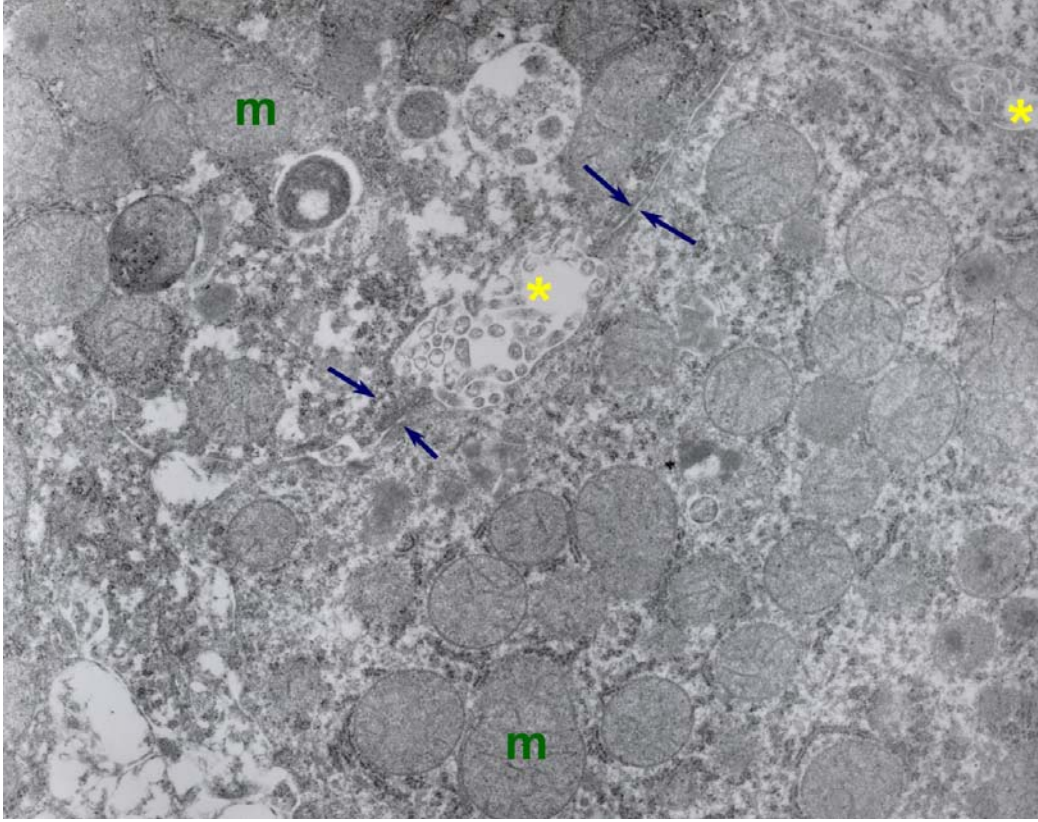
İnce yapı düzeyindeki incelemelerde RL grubuna göre diğer dört grupta genel olarak hepatositlerin çekirdek ve zar yapılarının daha iyi korunduğu, normal organel dağılımı gösterdikleri izlenmiştir. Zar yapılarının korunması, safra kapillerlerinin intakt yapısıyla kendini göstermektedir. Genel olarak tüm gruplarda bazı hepatositlerin ince yapı düzeyinde izlenen lipid damlacıkları buldukları ancak bunun tüm deney gruplarında izlenmiş olması nedeniyle dış etkenlere bağlı olarak oluştuğu düşünülmüştür. Deney grupları arasında ince yapı düzeyinde ilaçlı gruplarla, HTK ve UW grupları karşılaştırıldığında ilaçlı gruplarda hücre yapısının biraz daha iyi korunduğu görülmesine karşılık aralarında dikkate değer bir fark saptanmamıştır.

Normal Ratlarda Karaciğerin İnce Yapısı:

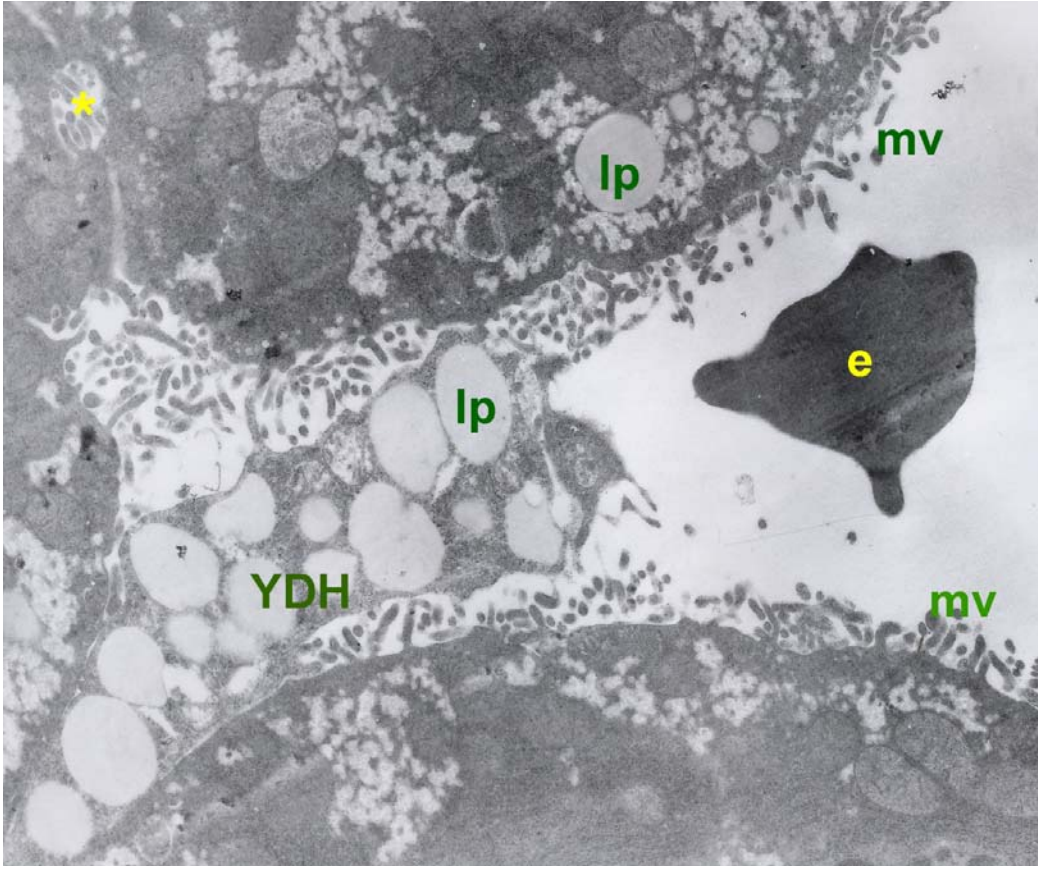


Resim-5: Küçük büyültmedeki bu elektron mikrografta, hepatosit kordonları ve aralarındaki sinuzoidlerin (S) enine kesitleri izlenmektedir. Sinuzoidlerin birinin duvarında bir Kupffer hücresi (K) çekirdeği seçilmektedir. Hepatositlerin çekirdekleri (Ç) ökromatinden zengin görünümlüdür. Buna paralel olarak sitoplazmalarında yaygın granüllü endoplazma retikulumu içeren alanlar ve komşuluğunda çok sayıda mitokondriyonun bulunduğu izlenmektedir. Sinüzoidlerin lümeninde staza bağlı olarak eritrositler bulunmaktadır. Sağ üst köşede çekirdeğin bulunmadığı iki hepatosit kesitinde düz yüzlü endoplazma retikulumu sisternalarının da yaygın olarak bulunduğu seçilmektedir. Hücrelerin hemen hemen tümünde 3-5 peroksizomun bulunduğu izlenmektedir. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X1670- gerçek büyütme yaklaşık 6000.

A- Ringer Laktat Grubu (grup-1):

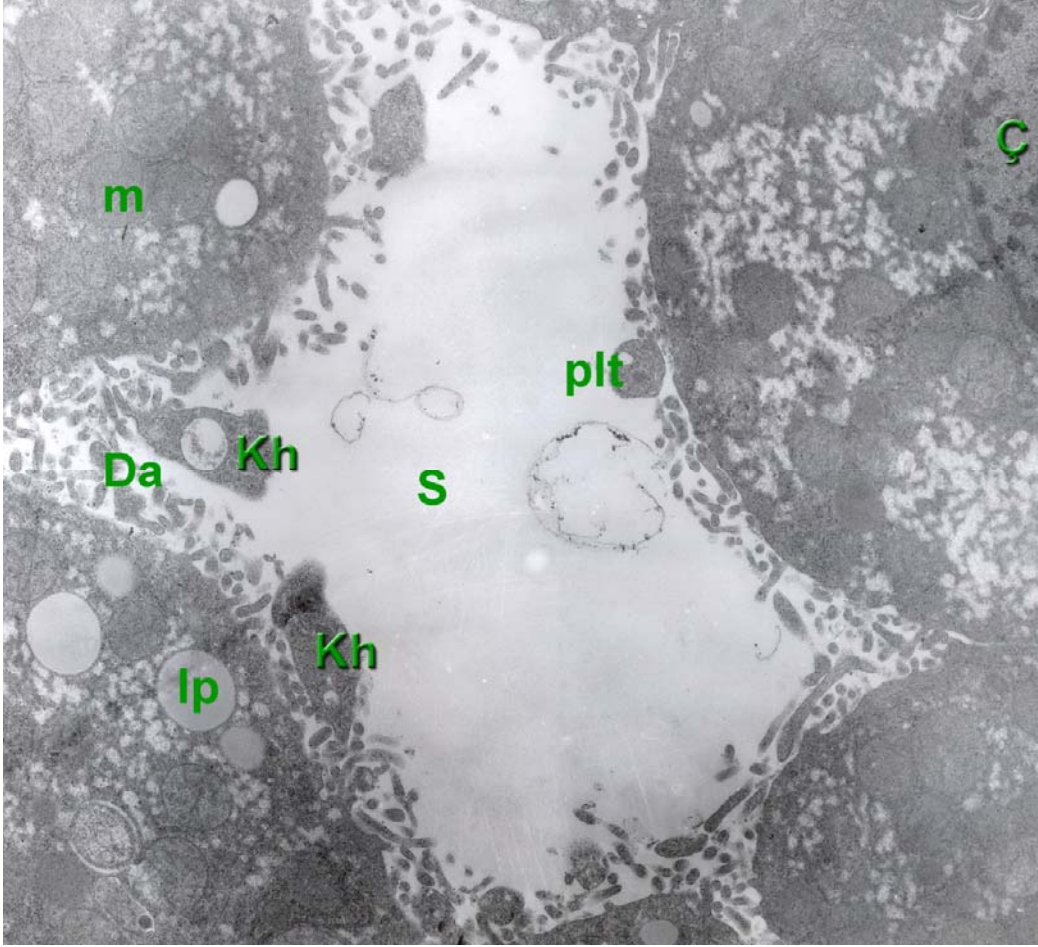


Resim-6: RL deney grubuna ait kesitte hepatositlerin komşu olduğu bir alanın büyük büyültmede bir elektron mikrografıdır. Bir safra kapillerine (yıldız) komşu iki hepatositin sitoplazmalarının mitokondriyondan (m) çok zengin olduğu izlenmektedir. Mitokondriyonlar iç yapıları ve kristalleri ile normal görünümündedirler. Mitokondriyonların arasında Granüllü ve düz yüzlü endoplazma retikulumu sisternaları dağınık olarak izlenmektedir. Safra kapillerini sınırlayan komşu hücre zarları (oklar) hücreler arası bağlantı birimleri yer almaktadır. Sağdaki hepatositin sitoplazmasında komşu üç peroksizom birlikte görülmektedir. Soldaki hepatositin sitoplazmasında ise safra kapillerine komşu sitoplazmik bölgede organel hasarı mevcuttur. Aynı alanda birkaç sekonder lizozom (otofagozom?) ve bir multiveziküler cisim izlenmektedir. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X7750- gerçek büyütme yaklaşık 27.500.



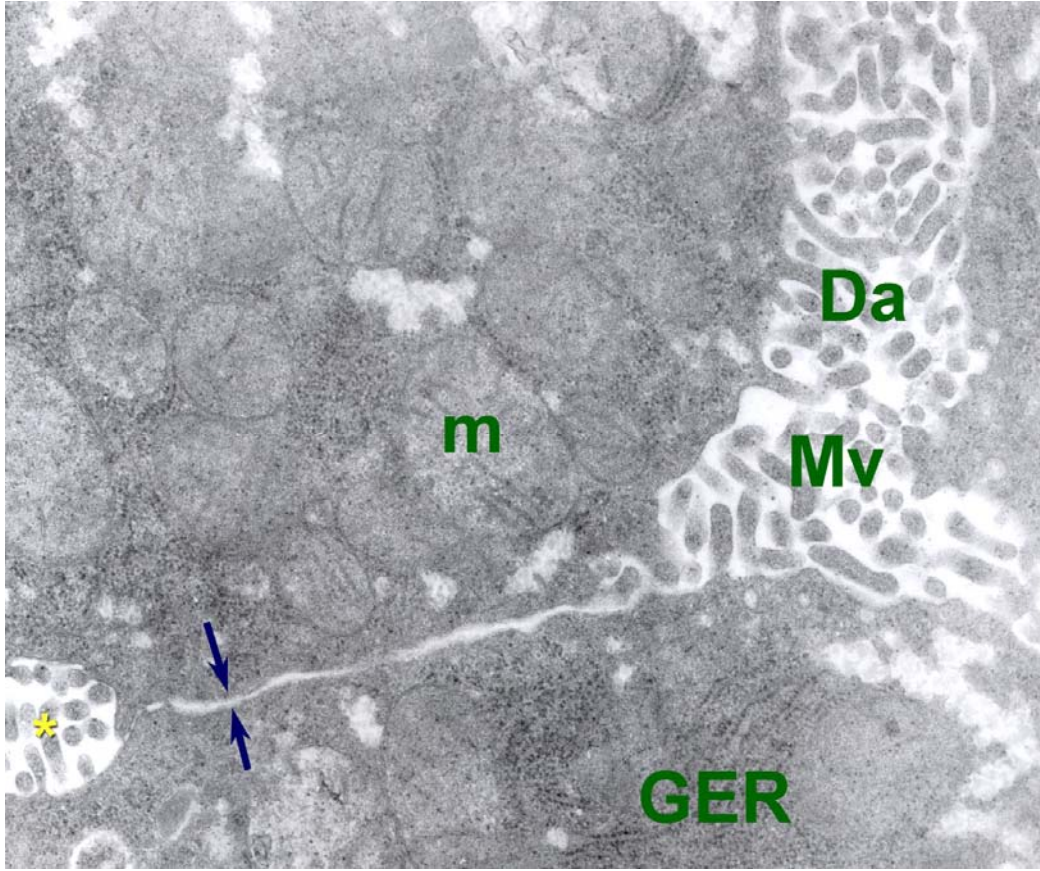
Resim-7: Yine RL grubuna ait diğer bir kesitte sinuzoide komşu alanda hepositler ve perisinozidal alanda bir yağ depo hücresi (YDH) görölmektedir. Sinuzoid lümeninde deforme (atipik krenasyon gösteren) bir eritrosit (e) bulunmaktadır. Hepositlerin sinuzoide bakan yüzlerinde çok sayıda düzensiz mikrovillus izlenmektedir ancak sinüzoid endoteli yağ deposuna komşu bölge dışında çoğu alanda izlenmemektedir. Sol üst köşede komşu hepositler arasında bir safra kapilleri (*) kesiti görölmektedir. Bu alanda komşu hepositlerin zarları yapısal bütünlüğünü korumuş ve safra kapillerini sıkı baplantılarla sınırlamış olarak izlenmektedir. Hepatositlerin GER ve mitokondriyondan yoğun bölümleri normal görünmekle birlikte ara kompartmanlardaki düzyüzlü endoplazma retikulumu sisternaları daha dilate olarak görölmektedir. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X6000- gerçek büyütme yaklaşık 21.500.

B- HTK Solüsyonu Grubu (grup-2):



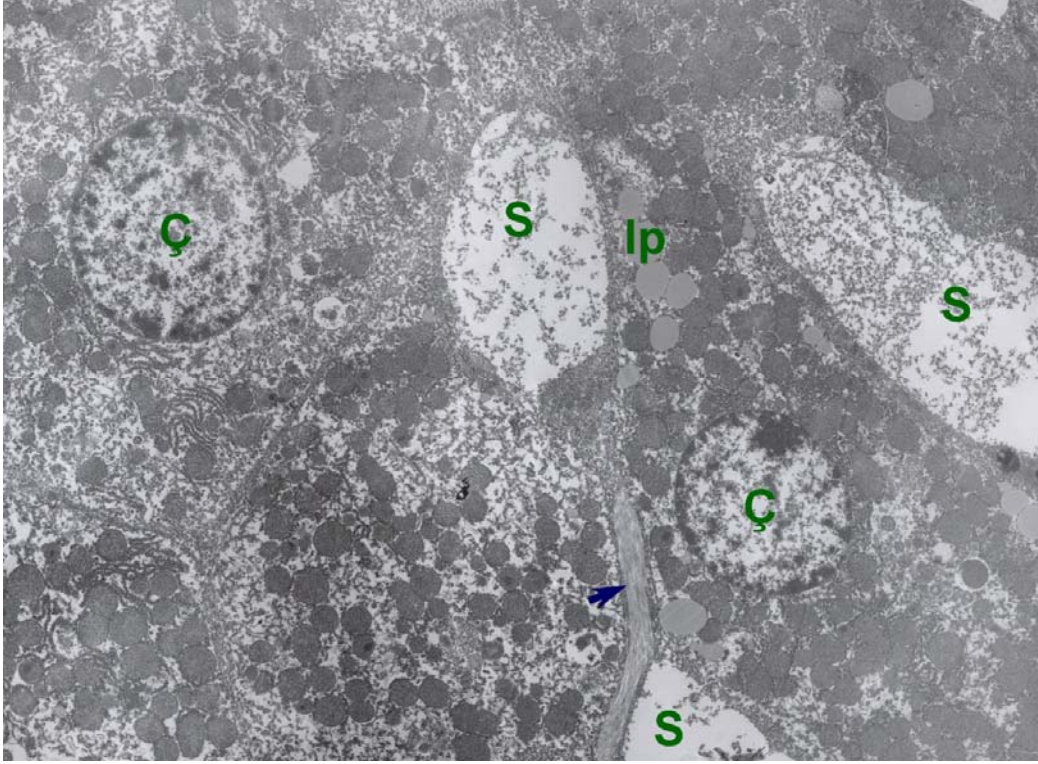
Resim-8: HTK grubuna ait kesitte merkezde bir sinüzoid (S) ve çevreleyen hepatositler izlenmektedir. Sinüzoid endoteli yer yer izlenmekte, duvara komşu Kupffer hücrelerine (Kh) ait sitoplazma bölümleri görülmektedir. Disse aralığında (da) düzensiz mikrovillus kesitleri yoğun olarak bulunmaktadır. Hepatositlerin bu sitoplazmik kompartmanında normal organellere ek olarak lipid damlacıkları (lp) görülmektedir. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X6000- gerçek büyütme yaklaşık 21.500.

C- UW Solusyonu Grubu (grup-4):

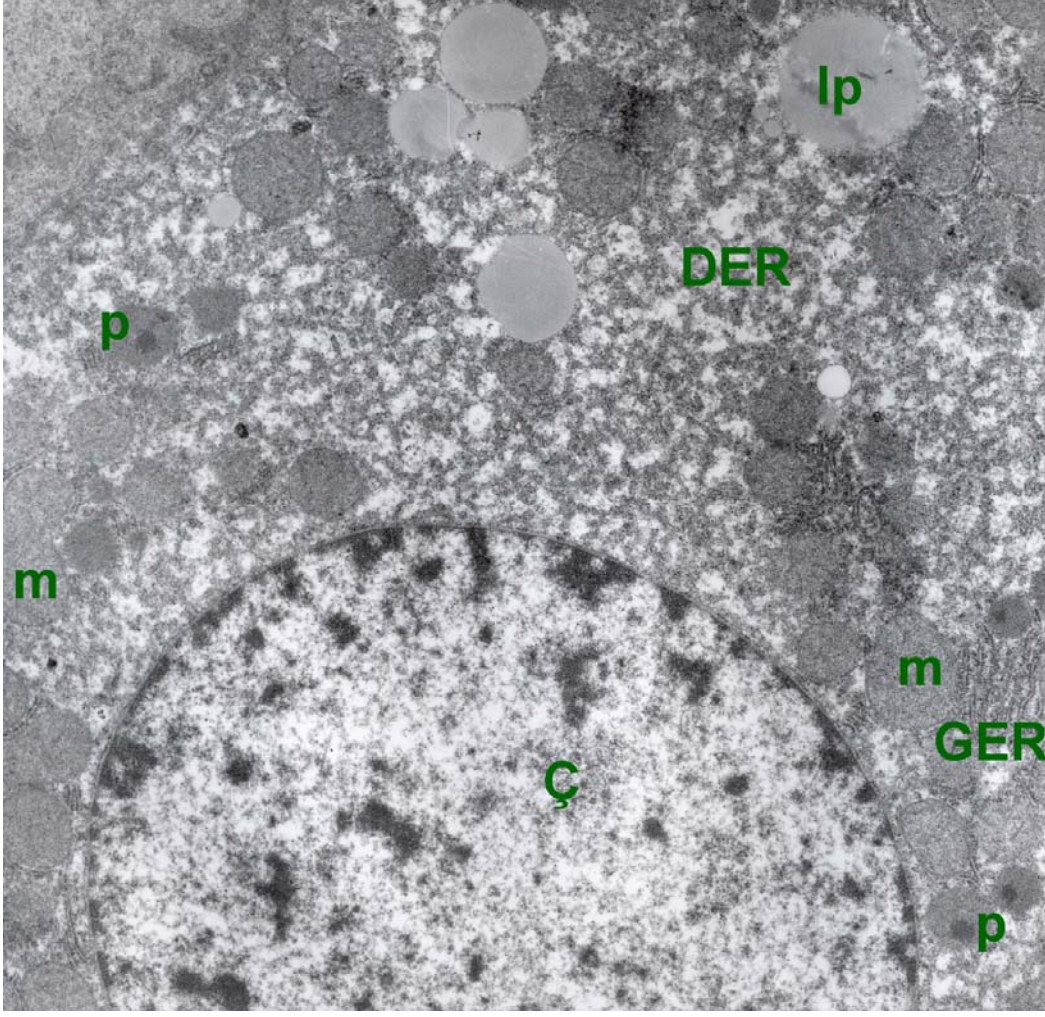


Resim-9: UW grubuna ait kesitte hepatositlerin Disse aralığına (Da) komşu bölümlerinin büyük büyütmedeki elektron mikrografında mikrovilluslar izlenmektedir. Sağ üst köşede endotel hücresi sitoplazması vardır. Hepatositlerin yan yüz zarları (oklar) normal görünümde olup, bir safra kapillerini (yıldız) sıkı bağlantı birimi sınırlamıştır. Sitoplazmada çok sayıda normal görünümde mitokondriyon (m) ve granüllü endoplazma retikulumu (GER) sisternası bulunmaktadır. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X12930- gerçek büyütme yaklaşık 45.000.

D- HTK + PGE1 Grubu (grup-3):

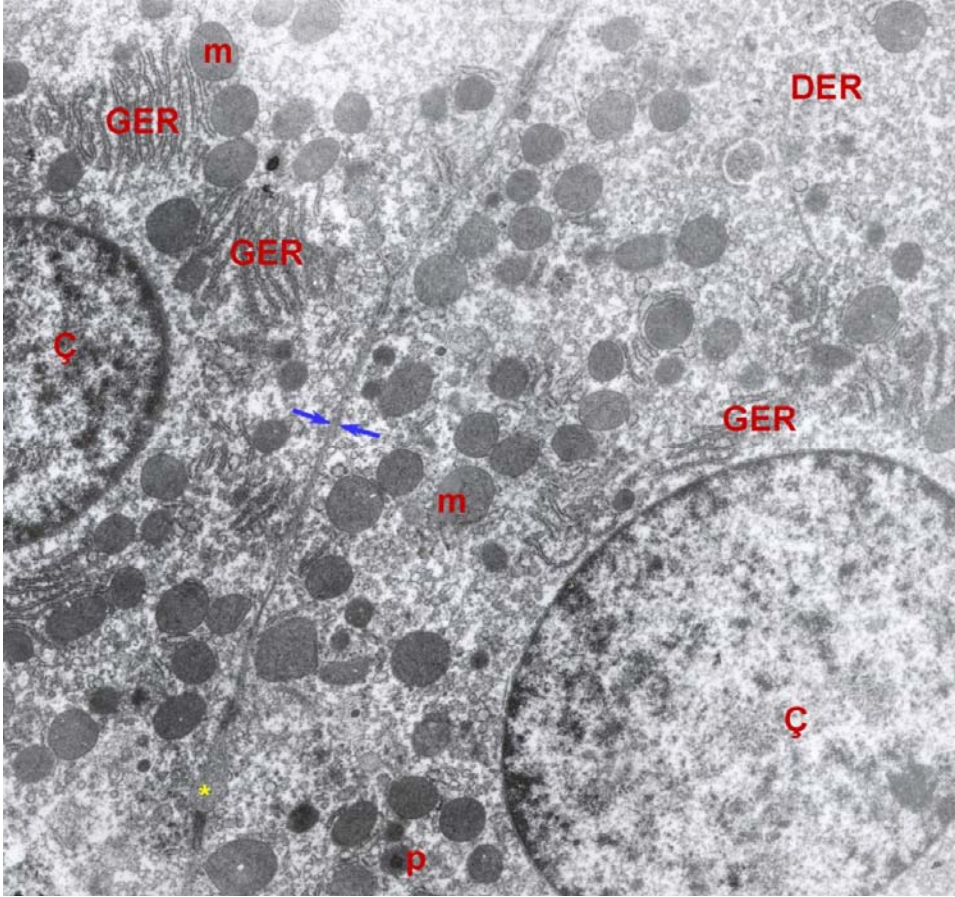


Resim-10: HTK+ PGE1 grubuna ait kesitte sinüzoidler (S) ve hepatositler izlenmektedir. Normal görünümlü çekirdekler (Ç) sahip hepatositlerin organelden de oldukça zengin oldukları izlenmektedir. Bazı hepatositlerin sinüzoide komşu sitoplazmik kompartmanlarında lipid damlacıklarının (Ip) varlığı dikkati çekmektedir. Disse aralığının bir bölümünde ise ince bir kollajen demeti (ok) izlenmektedir. Genel görünümleri hepatositlerin sağlıklı oldukları izlenimini vermektedir. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X2156- gerçek büyütme yaklaşık 7.600.



Resim-11: HTK+ PGE1 grubuna ait bir hepatositin büyük büyütmede incelenen kesitinde çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organeller izlenmektedir. Normal görünümlü çekirdeği çevreleyen bölgede mitokondriyonlar (m), granüllü endoplazma retikulumu (GER), peroksizomlar (p) ve ara bölgede düz yüzlü endoplazma retikulumu izlenmektedir. Sitoplazma da bunların yanında lipid damlacıklarının (lp) varlığı da belirlenmektedir. Hücre genel olarak sağlıklı bir görünümündedir. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X6000- gerçek büyütme yaklaşık 21.500.

E- UW+PGE1 Grubu (grup-5):



Resim-12: UW+PGE-1 grubuna ait örnekte komşu iki hepatosit görölmektedir. Her iki hepatositin çekirdek ve sitoplazmik organelleri benzer nitelikte olup normal görünümlüdür. Karşılıklı hücre zarları (oklar) yakın yerleşimli olup, sıkı bağlantılarla sınırlanmış bir safra kapilleri (yıldız) kesiti izlenmektedir. Soldaki hücrenin perinükleer bölgesinde GER profillerinin daha yoğun olduğu seçilmektedir. Ç: çekirdek; GER: granulö endoplazma retikulumu; DER: düz yüzölü endoplazma retikulumu; m: mitokondriyon; p: peroksizom. Uranil asetat-kurşun sitrat, orijinal büyütme X4646- gerçek büyütme yaklaşık 16.000.

5. TARTIŞMA

Karaciğer transplantasyonu, son dönem karaciğer yetmezliği ve akut karaciğer yetmezliğinin küratif tek tedavisidir. Organ kaynaklarının azlığı, son zamanlarda artan oranda canlı donör ve marjinal donör kullanımına sebep olmaktadır. Artan cerrahi teknik, yoğun bakım imkanları, immunsupresif tedavilerdeki gelişmelere rağmen, özellikle marjinal donör kullanımına bağlı olarak günümüzde halen belli oranda karaciğer transplantasyonu PNF'a bağlı olarak başarısızlıkla sonuçlanmaktadır (59,60). PNF, karaciğer transplantasyonu sonrası ölümcül bir komplikasyondur ve genel olarak kabul edilmiş net bir tanımı yoktur. Karaciğer transplantasyonu sonrası serum KCFT yüksekliği, safra üretiminin azalması ve ciddi koagülopati görülmesi PNF için tanımlayıcı kabul edilir ve retransplantasyon yapılmayan olguların tamamında ölüm kaçınılmazdır (61–63).

Karaciğer transplantasyonu sonrası PNF gelişiminde birçok faktör sorumludur. Bunlar içinde kötü cerrahi teknik, prezervasyon hasarı, donör organın kalitesinin zayıflığı ve sıcak iskemiyi periyodunda gelişen hasarlar en önemli faktörlerdendir. Artan sıcaklık, enzim sistemini aktive eder ve metabolik aktiviteyi artırır. Artmış enerji ihtiyacı sıcak iskemiyi sırasında anerobik metabolik reaktivasyonu tetikler, bu da hücre hasarına neden olur. Anastomozlar sırasında greftin sıcaklığı artar. Sıcaklığın etkilerini azaltmak için, çoğu cerrah soğuk gazlı bezlerle karaciğeri sarar ama sadece yüzeysel soğutmayla sıcak artışının etkilerini azaltmak mümkün değildir (64–66).

Soğuk prezervasyon yapılmış karaciğerlerde sinüzoidal endotelyuma trombosit adezyonu olur ve bu da greftte hasara neden olur. Soğuk iskemiyi süresi prezervasyon hasarında en önemli faktör gibi görülmesine rağmen, iskeminin kısa ancak yapışan trombosit sayısının fazla sayıda olduğu greftlerde hasarın ciddi düzeyde olduğu gösterilmiştir (67, 68). Trombositler, soğuk prezervasyona bağlı gelişen endotelial hasarlı bölgelere ve matriks proteinlere yapışır. Yapışan trombositler, tromboza ve enflamasyona neden olan maddeler salgılar. Bu maddeler nötrofil lökosit migrasyonu ve aktivasyonuna da neden olurlar. Meydana gelen tromboz, sinüzoidal tıkanıklık yaparak reperfüzyon esnasında akımı engeller (69–71) Prostaglandinlerin E ve I serileri adenilat siklaz enzim sisteminin etkili aktivatörleri olup, cAMP üretimini artırır, bu da trombositlerin aktivasyon ve agregasyonlarını inhibe eder (72–74).

Son zamanlarda prostaglandinlerin iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı yönünde çalışmalar ve tartışmalar devam etmektedir. PGE-1, araziidonik asitin biyolojik olarak aktif türevidir ve sitoprotektif ve rejeneratif etkileri vardır. Bununla birlikte hücre aracılı lenfotoksiste inhibisyonu, interlökin ve TNF salınımının süpresyonu gibi

immünmodülatör özellikleri de tanımlanmıştır. Karaciğer perfüzyonunu, vazodilatör etkisiyle artırır. Vazokonstriksiyon, hipoksik iskemi-reperfüzyon, artmış tromboksanın neden olduğu trombosit agregasyonu durumlarında dışarıdan verilen PGE-1'in aktive lökositlerden salınan proteaz salınımı ve SOR'de azalma yaparak, sinüzoidal endotel hücreleri koruduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Aynı zamanda böbrek perfüzyonunu artırarak, böbrek yetmezliğine karşı da koruyuculuğu gösterilmiştir (75-77).

Serum PGE-1 düzeyi sistemik uygulamadan 30 dakika sonra normalin 3-4 katına çıkmaktadır. Reperfüzyon sonrası, RL ile yıkamadan sonra düzeyler normal seviyeye gelmektedir. Bu bize ekzojen PGE-1'in organ çıkarımı ve prezervasyon esnasında aktive olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, PGE-1 perfüzyondan 30 dakika önce verildi.

Organ çıkarımı ve hipotermik prezervasyonun neden olduğu problemlerden biri de soğuk yıkama solüsyonu nedeniyle oluşan vazokonstriksiyondur. Trombosit agregasyonu ve non-fizyolojik Ca salınımı sonucu hipoksi ve hücre zedelenmesi meydana gelir. Bununla birlikte reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri, sonrasında gelişen trombogenezin sebebidir (78,79). Ekzojen PGE-1, hücre içi cAMP'yi yükseltir ve intrasellüler Ca regülasyon sistemine dahil olarak hücre zedelenmesini engeller. PGE-1, şimdilik bilinmeyen bir mekanizma ile, intrasellüler Ca miktarını azaltarak hücre membranını stabilize eder. PGE-1, aynı zamanda hepatositlerde ATP seviyesini yükseltir ve bu mekanizmalar PGE-1'in sitoprotektif özelliklerini açıklamaktadır (79).

Takahashi ve arkadaşlarının köpeklerde yaptığı bir çalışmada, karaciğer transplantasyonu sonrası dışarıdan verilen PGE-1'in KCFT'lerinde anlamlı düzeyde iyileşme sağladığı gösterilmiştir (80). Başka bir çalışmada ise, PGE-1 verilen hastalarda akut rejeksiyon oranları daha düşük saptanmıştır (81). Çalışmamızda, PGE-1 verilen gruplarda (grup 3 ve 5), AST ve ALT değerlerinin, PGE-1 verilmeyen gruplara (grup 1, 2 ve 4) göre belirgin derecede daha az yükseldiği ve bu farkın tüm prezervasyon süresi boyunca devam ettiği saptandı. Bu bulgu, PGE-1'in sitoprotektif etkilerini desteklemektedir. HTK ve UW ile perfüze edilen gruplar (grup 2 ve 4) karşılaştırıldığında, AST ve ALT düzeyleri arasında fark saptanmadı. Bu bulguda, her iki solüsyonun karaciğer prezervasyonunda aynı etkinliğe sahip olduğu görüşünü desteklemektedir. PGE-1 verilen ve HTK solüsyonu ile perfüze edilen grupla, PGE-1 verilip UW solüsyonu ile perfüze edilen grup arasında yapılan karşılaştırmada ise AST ve ALT düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Bu bulgu, PGE-1 ile bu solüsyonlar arasında ters reaksiyon olmadığını ve PGE-1'in her iki solüsyonla beraber güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. AST ve ALT düzeylerinde yükselme, RL grubunda, diğer gruplara göre

fazla idi, bu da RL'in prezervasyon için uygun bir sıvı olmadığını bir kez daha göstermektedir.

Komberg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; reperfüzyondan 15 dakika önce PGE-1 verilen grupta, 2 saat sonra alınan karaciğer biyopsisinde elektron mikroskopisi ile yapılan değerlendirmede, herhangi bir patolojik bulgu yokken, verilmeyen grupta hepatik mitokondrilerde şişme, parsiyel hepatosit dejenerasyonu, hücre nekrozu ve periportal ödem saptamışlardır (82). Çalışmamızda, RL verilen grupta elektron mikroskopik değerlendirmede parsiyel hepatosit hasarı ve endoplazmik retikulum sisternalarında dilatasyonlar mevcutken, mitokondriyalarda, hücre çekirdek yapılarında ve plazma membran yapılarında bir değişiklik saptanmadı. PGE-1 verilen gruplarda (grup 3 ve 5), hücre yapılarının normale yakın olduğu görüldü. UW ve HTK verilen gruplarda da (grup 2 ve 4), PGE-1 verilen gruplara benzer bulgular saptandı. Grupların tamamında birbirlerine yakın ölçüde hepatositlerde yağlanma görüldü ancak bunun nedeni tam olarak açıklanamadı.

K.Takahashi ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada, ışık mikroskopik incelemede kontrol grubuyla, PGE-1 verilen grup arasında sünizoidal endotelial değişiklik açısından bir fark saptanmamıştır (80). Çalışmamızda, histopatolojik değerlendirmede ışık mikroskopunda perfüzyondan 0., 6. ve 12. saatte alınan örneklerde genel olarak hepatositlerde balonlaşma, perisantral hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon en fazla RL grubunda görülürken, en az PGE-1 verilen gruplarda (grup 3 ve 5) görüldü. Prezervasyon süresi arttıkça hasarın arttığı ancak PGE-1 verilen gruplarda (grup 3 ve 5) bu hasarın daha az olduğu saptandı. UW ve HTK kullanılan gruplarda (grup 2 ve 4), RL kullanılan gruba göre elde edilen histopatolojik bulguların iyi olması, bu solüsyonların etkili prezervasyon sağladığını göstermektedir. PGE-1 verilen gruplarda (grup 3 ve 5), elde edilen histopatolojik bulguların sadece UW ve HTK kullanılan gruplara (grup 2 ve 4) göre daha iyi olması ise PGE-1'in prezervasyon sonrası hem hücrelerde gelişen hasarı azalttığını, hemde ortaya çıkan değişiklikleri geciktirdiğini göstermektedir.

Yapılan birkaç prospektif çalışmada ise, PGE-1'in klinik uygulamasının greft fonksiyonunda ve ameliyat sonrası PNF insidansında yararı gösterilememiştir (83). Henley ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ameliyat sonrası 21 gün boyunca PGE-1 infüzyonu verilen hastaların, hastanede ve yoğun bakımda kalış sürelerinin kıaldığı ancak PNF insidansı ve aminotransferaz salınımı üzerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir (84). Klein ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, PGE-1 uygulamasının greft fonksiyonunda olumlu etkileri gösterilememiş ve PNF insidansı açısından kontrol grubu ile PGE-1 verilen grup

arasında fark bulunmamış, ancak PGE-1 verilen grupta böbrek fonksiyonları daha iyi korunmuş ve yoğun bakımda kalış sürelerinin de daha kısa olduğu bulunmuştur (85). Neuman ve arkadaşları, PGE-1'in greft perfüzyonunu arttırdığını, ancak bunun ameliyat sonrası karaciğer fonksiyonlarında pozitif etkisinin görülmediğini bildirmişlerdir (86).

Sonuç olarak, donör karaciğer ihtiyacı her geçen gün artmakta, kadavra organ bekleme listelerinde bekleyen hasta sayılarının ihtiyacı karşılanamamakta ve hastalar bekleme sürecinde hayatlarını kaybetmektedirler. Böyle bir tabloda, çıkan organların korunmasının önemi ortadadır. Bu alanda yapılan çalışmaların ana amacı, transplantasyonun yapılacağı ana kadar geçen sürede, çıkarılan organda soğuk iskemik hasarı en aza indirebilmek ve daha uzun süre muhafaza edebilmek için ideal prezervasyon solüsyonu ve tekniğini bulmaktır. Çalışmamızda, klinikte kullanılan prezervasyon solüsyonları öncesi, sitoprotektif bir ajan olan PGE-1 kullanarak, bu solüsyonların etkinliğinin artırılması amaçlanmış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

SONUÇLAR

1. Biyokimyasal incelemede KCFT değerleri en yüksek RL verilen grupta rastlandı. , Işık ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, balonlaşma, perisantral hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon yine en fazla RL grubunda saptandı.
2. HTK ve UW solusyonları ile perfüzyon yapılan gruplar arasında KCFT değerleri arasında, ışık mikroskobu ve elektron mikrosobu ile yapılan incelemede meydana gelen düresel değişiklikler de iki grup arasında fark saptanmadı.
3. PGE-1 verilen gruplar arasında KCFT değerleri arasında, ışık mikroskobu ve elektron mikrosobu ile yapılan incelemede meydana gelen hüresel değişikliklerde fark saptanmadı.
4. Tüm gruplar karşılaştırıldığında PGE-1 verilen gruplarda KCFT değerleri daha düşük seyretti. Elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu ile yapılan incelemede hücrelerde meydana gelen hasarın daha geç ortaya çıktığı ve hücrelerde daha az hasar meydana geldiği görüldü.

6. KAYNAKLAR:

1. Haberal M, Emirođlu R, Karacığer Transplantasyonu, Temel ve Sistematiđ Cerrahi (Gulay H), 1. basım, Bölüm III.4, İzmir, Güven Kitapevi, Cilt 1, sayfa 711- 738, 2005
2. Sözbilen M, Tokat Y, Organ Prezervasyonu, Temel ve Sistematiđ Cerrahi (Gulay H), 1. basım, Bölüm III.4, İzmir, Güven Kitapevi, Cilt 1, sayfa 631-645, 2005
3. Markin RS, Wisecarver JL, Radio SJ, et al: Frozen section evaluation of donor livers before transplantation. Transplantation 56:1403–1409, 1993
4. Pienaar BH, Lindell SL, Gulik TV, et all. 72 hour preservation of the canine liver by machine perfusion. Transplantation 49(2):258–260, 1990
5. Herlt M, Howard TK, Lowell JA, et al. Changes in liver core temperature during preservation and rewarming in human and porcine liver allografts. Liver Transpl Surg 2.111–117, 1996.
6. Briceno J, Marchal T, Padillo J, et al. Influence of marginal donors on liver preservation injury. Transplantation 74.522–526, 2002.
7. Compagnon p, Wang H, Lindell SL, et al. Brain death does not affect hepatic allograft function and survival after ortotopic transplantation in a canine model. Transplantation 73,1218–1227, 2002
8. Cywes R, Mullen JB, Stratis MA, et al. Prediction of the outcome of transplantation in man by platelet adherence in donor liver allografts. Evidence of the importance of prepreservation injury. Transplantation 56.316–323, 1993
9. Upadhyga GA, Topp SA, Hotchkiss RS, et al. Effect of cold preservation on intracellular calcium concentration and calpain activity in rat sinusoidal endothelial cells. Hepatology 37.313–323, 2003.
10. Arnault I, Bao YM, Dimicoli JL, et al. combined effect of fasting and alanine on liver function recovery after cold ischemia. Transplant Int 15.89–95, 2002.
11. Upadhyga GA, Strasberg SM. Glutathione, lactobionate, and histidine: Cryptic inhibitors of matrix metalloproteinases contained in University of Wisconsin and histidine-tryptophan/ketoglutarate liver preservation solution. Hepatology 31.115–1122, 2000.
12. Aguilar HI, Steers JL, Wiesner RH, et al. Enhanced liver calpain protease activity is a risk factor for dysfunction of human liver allografts. Transplantation 63.612–614, 1997

Silinmiş: ¶



13. Upadhyia AG, Harvey RP, Howard TK, et al. Evidence of a role for matrix metalloproteinases in cold preservation injury of the liver in humans and in the rat. *Hepatology* 26:922–928, 1997
14. Topp SA Upadhyia GA, Strasberg SM. Leukocyte adhesion to cold – preserved rat sinusoidal endothelial cells (SEC): Role of actin disassembly and ICAM-1. *Liver transpl* 9:1286-1294, 2003.
15. Imamura H, Sutto F, Brault A, et al. Role of kupffer cells in cold ischemia/reperfusion injury of rat liver. *Gastroenterology*. 109:189–197, 1995
16. Urata K, Imamura h, Brault A, et al. Effects of extended cold preservation and transplantation on the rat liver microcirculation. *Hepatology* 25:664–671, 1997.
17. Urata K, Brault A, Huet PM. Effects of portal vein clamping time on rat liver microcirculation following extended cold preservation and transplantation. *Transpl Int* 12:408–414, 1999.
18. Kiuchi T, Oldhafer KJ, Schlitt HJ, et al. Background and prognostic implication of perireperfusion tissue injuries in human liver transplants: A panel histochemical study. *Transplantation* 66:737–747, 1998.
19. Urata K, Brault A, Rocheleau B, et al. Role of Kupffer cells in the survival after rat liver transplantation with long portal vein clamping times. *Transpl Int* 13:420–427, 2000.
20. Sindram D, Porte RJ, Hoffman MR, et al. Platelets induce sinusoidal endothelial cell apoptosis upon reperfusion of the cold ischemic rat liver. *Gastroenterology* 118:183–191, 2000.
21. Cywes R, Packham MA, Tietze L, et al. Role of platelets in hepatic allograft preservation injury in the rat. *Hepatology* 18:635–647, 1993.
22. Schoenwaelder SM, Yuan Y, Cooray P, et al. Calpain cleavage of focal adhesion proteins regulates the cytoskeletal attachment of integrin α and the cellular retraction of fibrin clots. *J Biol Chem* 272:1694–1702, 1997.
23. Gow AJ, Thom SR, Ischiropoulos H. Nitric oxide and peroxynitrite-mediated pulmonary cell death. *Am J Physiol* 274:L112-L118, 1998.
24. Takei Y, Marzi I, Gao WS, et al. Leukocyte adhesion and cell death following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 51:959–965, 1991.
25. Jaeschke H, Smith CW. Mechanism of neutrophil-induced parenchymal cell injury. *J Leukoc Biol* 61:647–653, 1997.

26. Bajt ML, Farhood A, Jaeschke H. Effects of CXC chemokines on neutrophil activation and sequestration in hepatic vasculature. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 281:G1188-G1195, 2001.
27. Clavien PA, Rudiger HA, Selzner M. Mechanism of hepatocyte death after ischemia: Apoptosis versus necrosis. *Hepatology* 33,1555–1557, 2001.
28. Le Moine O, Louis H, Demols A et al. Cold liver ischemia-reperfusion injury critically depends on liver T cell and is improved by donor pretreatment with interleukin 10 in mice. *Hepatology* 31,1266–1274, 2000.
29. Vajdova K, Smrekova R, Kukan M, et al. Endotoxin –induced aggravation of preservation-reperfusion injury of rat liver and its modulation. *J Hepatol* 32.112–120, 2000.
30. Sindram D, Kohli V, Madden JF, Clavien PA: Calpain inhibition prevents sinusoidal endothelial cell apoptosis in the cold ischemic rat liver. *Transplantation* 68.136–140, 1999.
31. Adam R, Astarcioglu I, Raccuia JS, et al. Beneficial effects of eurocollins as aortic flush for the procurement of human livers. *Transplantation* 61.705–709, 1996
32. Meine M.H, Zanotelli L, Neumann G, et al. Randomized Clinical Assay for Hepatic Grafts Preservation With University of Wisconsin or Histidine-Tryptophan-ketoglutarate solutions in liver transplantation. *Transplantation Proceedings*, 38, 1872–1875, 2006.
33. Cofer JB, Klintmalm GB, Morris CV, et al. A prospective randomized trial between Eurocollins and University of Wisconsin solution as the initial flush in hepatic allograft procurement. *Transplantation* 53.995–998, 1992.
34. Pirene J, Van Gelder F, Coosemans W, et al. Type of donor aortic preservation solution and not cold ischemia time is a major determinant of biliary strictures after liver transplantation. *Liver transpl* 7:540–545, 2001.
35. Richard S. Mangus, Josef Tector A, et al. Comparison of Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate Solution (HTK) and University of Wisconsin Solution (UW) in Adult Liver Transplantation. *Liver transplantation* 12.226–230, 2006
36. Avolio A, Agnes S, Nure E, et al. Comparative Evaluation of Two Perfusion Solutions for Liver Preservation and Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 38, 1066–1067: 2006.

37. Rentsch M, Post S, Palma P, et al. Anti-ICAM-1 blockade reduces postsinusoidal WBC adherence following cold ischemia and reperfusion, but does not improve early graft function in rat liver transplantation. *J Hepatol* 32:821–828, 2000.
38. Moray G, Sevmis S, Karakayali F, et al. Comparison of Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate Solution (HTK) and University of Wisconsin Solution (UW) in Living-donor Liver Transplantation. *Transplant Proc.* Dec;38(10):3572–5, 2006.
39. Tolba RH, Akbar S, Muller A, et al. Experimental liver preservation with Celsior: A novel alternative to University of Wisconsin and histidine-tryptophan- α -ketoglutarate solution. *Eur Surg Res* 32:142–147, 2000.
40. Falasca L, Tisone G, Palmieri G, et al. Protective role of tauroursodeoxycholate during harvesting and cold storage of human liver: A pilot study in transplant recipients. *Transplantation* 71:1268–1276, 2001.
41. Selzner n, Rudiger HA, Graf R, et al. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 125:917–936, 2003.
42. Clavian PA, Yadav S, Sindram D, et al. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 232:155–162, 2000.
43. Sindram D, Rudiger HA, Upadhyya AG, et al. Ischemic preconditioning protects against cold ischemic injury through an oxidative stress-dependent mechanism. *J Hepatol* 36:78-84, 2002.
44. Perelta 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* 30:1481–1489, 1999.
45. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, et al. Ischemic preconditioning protects the Mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 30:1223–1231, 1999.
46. Rudiger HA, Selzner N, Selzner M, et al. Sublethal oxidative stress protects against ischemic injury in the Mouse liver: A new mechanism of ischemic preconditioning. *Hepatology* 34:421A, 2001.
47. Bessems M, Doorschodt BM, Dinant S, et al. Machine perfusion Preservation of the Pig Liver Using a New preservation solution, Polysol. *Transplantation Proceedings*, 38, 1238–1242, 2006.
48. Pedotti P, Cardillo M, Rigotti P, et al. A comparative prospective study of two available solutions for kidney and liver preservation. *Transplantation* 77,1540, 2004

49. Lauschke H, Olschewski P, Tolba R, et al. Oxygenated Machine perfusion mitigates surface antigen expression and improves preservation of predamaged donor livers. *Cryobiology* 46.53, 2003
50. Butlr AJ, Rees MA, Wight DG, et al. Successful extracorporeal porcine liver perfusion for 72 hr. *Transplantation* 73,1212–1218, 2002.
51. St Peter SD, Imber CJ, Lopez I, et al. Extended preservation of non-heart –beating donor livers with normothermic machine perfusion. *Br J Surg* 89.609–616, 2002.
52. Neuhaus R, Blumhart G. Applications of an improved model for experimental studies of the liver. *Int J Artif Organs* 16.729–739, 1993.
53. Starnes HF, Tewari A, Flokas K, et al. Effectiveness of a purified human hemoglobin as a blood substitute in the perfused rat liver. *Gastroenterology* 101:1345–1353,1991.
54. Motoyoma S, Minamiya Y, Saito S, et al. Hydrogen peroxide derived from hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell apoptosis in perfused hypoxic rat liver. *Gastroenterology* 114:153–163, 1998
55. Pries JM, Stables AB, Hanson RF. The effect of hepatic blood flow on taurocholate extraction by the isolated perfused rat liver. *J lab Clin Med* 97:412–417, 1981.
56. Robert C, Marian A, Ross C, et al. Liver transplantation and surgery. *Ann Surg.* vol, No 1, pp 23–36,1996
57. Gow AJ, Thom SR, Ischiropoulos H. Nitric oxide and peroxynitrite mediated pulmonary cell death. *Am J Physiol* 274:L112-L118, 1998.
58. Bigelow DJ, Thomas DD. Rotational dynamics of lipid and the Ca-ATP ase in sarcoplasmic reticulum. The moleküler basis of activation by diethyl ether. *J Biol Chem* 262:13449–13456, 1997
59. Greig PD, Wool GM, Sinclai SB, et al. Treatment of primary liver graft non-functioning with prostaglandin E1. *Transplantation* 48:447, 1989.
60. Ploeg RJ, Alessandro AM, Knechtle SJ, et al. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation a multivariate analysis. *Transplantation* 55:807, 1993.
61. McKeown CMB, Edwards V, Philips MJ, et al. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 46:178, 1988.
62. Flowers M, Sherker a, Sinclair SB, et al. Prostaglandin E in the treaymant of recurrent hepatitis B infection after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 58:183, 1994

63. Quiroga J, Prieto J: Liver cytoprotection by prostaglandins. *Pharmac Ther.* 58:67,1993.
64. Sawaya DE, Brown M, Minardi A, et al. The role of ischemic preconditioning in the recruitment of Rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion. *J Surg Res* 85:163–170, 1999.
65. Nilson b, Friman S, Wallin M, et al. The liver protective effect of ischemic preconditioning may be mediated by adenosine. *Transplant Int* 13 (Suppl 1): 558-561, 2000.
66. Ricciardi R, Schaffer BK, Kim RD, et al: Protective effects of ischemic preconditioning on the cold-preserved liver are tyrosine kinase dependent. *Transplantation* 72:406–412, 2001
67. Cywes R, Mullen JBM, Stratis MA, et al. Prediction of the outcome of transplantation in man by platelet adherence in donor liver allografts. *Transplantation* 56:316–323, 1993.
68. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanak Y, et al. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: Effects of reperfusion. *Hepatology* 13:83–95, 1991
69. Bazzoni g, Dejana E, Del Maschio A. Platelet-dependent modulation of neutrophil function. *Pharmacol Res* 26:269–272, 1992
70. Bazzoni G, Dejana E, Del Maschio A. Platelet-neutrophil interactions: Possible relevance of the pathogenesis of thrombosis and inflammation. *Haematologia* 76:491–499, 1991.
71. Koo A, Komatsu H, Tao G, et al. Contribution of no-reflow Phenomenon to hepatic injury after ischemia-reperfusion. Evidence for a role for superoxide anion. *Hepatology* 15:507–514, 1992.
72. Page CP. Platelets as inflammatory cells. *Immunopharmacology* 1989;17:51–57.
73. Tremoli E, Colli S, Poletti R. Mode of action of PGI₂ and of its stable derivative loprost on platelets and leukocytes. *Tromb Res (Suppl XI)*:33–42, 1990
74. Lim SP, Andrews FJ, Christophi C, et al. Misoprostol hepatoprotection against ischemia-reperfusion-induced liver injury in the rat. *Dig Dis Sci* 37,1275–1281, 1992
75. Hossain MA, Hamamoto J, Wakabayashi H, et al. Experimental study of the effect of intraportal prostoglandin E1 on hepatic blood floww during reperfusion after ischaemia and hepatectomy. *Br J Surg* 86:776, 1999

76. Hamazaki K, Kuroda T, Kajikawa S, et al. Prostaglandin E1 reduces thromboxan A2 in hepatic ischemia –reperfusion. *Hepatology* 47:807, 2000
77. Tasaka H, Suehiro T, Wakiyama S, et al. The mechanism of hepatic graft protection against reperfusion injury by prostaglandin E1. *Surg today* 29(6):526–532, 1999
78. Nauta RJ, Tsimoyiannis E, Uribe M, et al. Oxygen-derived free radicals in hepatic ischemia and reperfusion injury in the rat. *Surg Gynecol Obstet* 171:120–125, 1990.
79. McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J med* 312:159–163, 1985.
80. Takahashi K, Yamamoto N, Egawa H, et al. Effect of prostaglandin E1 on preservation injury of canine liver grafts preserved in UW solution. *Transpl Int.* 6:245–250, 1993.
81. Howard TK, Klintmalm GBG, Cofer JB, et al. The influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient. *Transplantation* 49:103–107, 1990.
82. Kornberg A, Schotte U, Kupper B, et al. Impact of Selective Prostaglandin E1 Treatment on Graft Perfusion and Function after Liver Transplantation. *Hepato-gastroenterology* 51:526–531, 2004
83. Richard S. Mangus, Josef Tector A, et al. Comparison of Histidine-Tryptophan-Ketoglutarat Solution (HTK) and University of Wisconsin Solution (UW) in Adult Liver Transplantation. *Liver transplantation* 12:226–230, 2006
84. Henley KS, Lucey M, Normolle DP, et al. A double-blind randomized placebo-controlled trial of prostaglandin E1 in liver transplantation. *Hepatology* 1993;21:366
85. Klein AS, Cofer JB, Pruett TL, et al. Prostaglandin E1 administration following orthotopic liver transplantation: A randomized prospective multicenter trial. *Gastroenterology* 111:710, 1996
86. Neumann UP, Kaisers U, Langrehr JM, et al. Treatment with PGE1 in patients after liver transplantation. *Transplant Proc* 30:1869, 1998