

KARACİĞER REZEKSİYONU ESNASINDA SÜREKLİ İSKEMİ - REPERFÜZYON HASARI VE PROSTAGLANDİN E₂'NİN ROLÜ

CONTINUOUS ISCHAEMIA AND REPERFUSION INJURY DURING LIVER RESECTION AND THE ROLE OF PROSTAGLANDIN E₂

Dr. Ümit TOPALOĞLU* Dr. H. Mehmet ODABAŞI* Dr. Mithat GÜRAN* Dr. Ali ÖZCAN*** Dr. İlhan ONARAN**
Dr. Neşe KARADAĞ*** Dr. Önder PEKER*** Dr. Selçuk ÜNALMIŞER*

ÖZET: Majör karaciğer cerrahisinde özellikle karaciğer yaralanmaları ve karaciğer tümörlerinde per-operatif kan kaybı hem hastanın mortalitesi hem de morbiditesi açısından önemlidir (1-3). Kansız bir alan insanlarda Pringle manevrası ile sağlanır (3,4). Pringle manevrası potansiyel olarak tehlikeli hepatik parankim iskemisine neden olur (5). İskeminin zararlı etkileri iskemi sırasında oluşmakla birlikte, daha büyük hasarın reperfüzyon sonrasında geliştiği gösterilmiştir (6-8). Bu çalışmada karaciğer rezeksiyonu esnasında geride kalan karaciğer dokusunda iskemi reperfüzyon hasarı karaciğer fonksiyon testleri, serbest oksijen radikalleri ile birlikte histolojik olarak incelendi ve prostaglandin E₂'nin karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarını önlemekte yararlı olup olmadığı araştırıldı. Çalışma Haydarpaşa Numune Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma 300-350 gr ağırlığında Albino-Wistar cinsi 24 erkek sıçanda yapıldı. 30 dakikalık iskemiyi takiben % 70 hepatektomi gerçekleştirildi, karaciğer rezeksiyonunda sürekli iskemi ve reperfüzyon yapılarak PGE₂'nin etkisi araştırıldı. Karaciğer fonksiyon testlerinden ALT ve AST değerleri post-op 1. gün hızla yükseldi. İ/R + PGE₂ grubunda bu yükselme İ/R grubuna göre çok daha azdı. AST ve ALT 7. gün hızla normale döndü. Alkalen fosfataz yine İ/R grubunda daha fazla yükseldi, 7. gün maksimum değerine yükseldi, her iki grup arasındaki anlamlı fark kapandı ve 21. gün düşme eğilimine girdi. Serum bilirubin düzeyleri yükselmekle birlikte her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. γ-GT düzeyleri her iki grupta da yükselmiş, ancak İ/R grubunda düşme daha yavaş olmuştur. Yine LDH düzeyleri İ/R grubunda yüksek bulunmuş, tüm gruplarda 7. ve 21. günlerde düşme eğilimi göstermiştir. Sonuç olarak, karaciğer rezeksiyonu ile sürekli iskemi reperfüzyon modelinde PGE₂'nin iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkiliği olduğu, karaciğer fonksiyonlarının erken dönemde bozulup hızla düzeldiği, karaciğer kütlesinin 3 haftada eski düzeylerine yaklaştığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer rezeksiyonu, İskemi reperfüzyon, PGE₂

SUMMARY: In major liver surgery especially in liver trauma and liver tumor, per-operative blood loss is important in patient's mortality and morbidity. A bloodless field is achieved by Pringle maneuver. Pringle maneuver causes potentially dangerous hepatic parenchymal ischemia. Although harmful effect of ischemia occurs during ischemia, it has been shown that much more harm occurs during reperfusion. In this study, ischemia reperfusion injury was examined by liver function tests, free oxygen radicals and with histologic examination in rest of liver tissue during liver resection and also PGE₂ was investigated if it is useful to prevent the liver ischemia reperfusion injury or not. This study was carried out at Haydarpaşa Teaching Hospital Experimental Animal Laboratory. 24 Albino Wistar male rats weighing 300-350 grs. were used for the study. Following 30 minutes ischemic period 70 % hepatectomy was done and during liver resection the effect of PGE₂ was investigated by doing ischemia and reperfusion. The levels of ALT and AST were rapidly elevated on the first day of post operative period. In IR + PGE₂ group this elevation was remarkably less if compared to IR group. ALT and AST levels rapidly turned to normal levels on the seventh day of post operative period. Alkaline Phosphatase was also elevated in IR group more and reached to maximum level on the seventh day. The significant difference between groups was disappeared and on the twenty first days declined. Serum bilirubin levels were elevated but there was no significant difference between two groups. γ - GT levels were elevated in both groups but the decrease observed in IR group was slower. Also LDH levels were higher in IR group and inclined to decrease on 7 th and 21 st days. In conclusion, PGE₂ is assessed to be useful to prevent ischemia reperfusion injury in liver resection. Liver function tests are bad in early period but rapidly become normal. It is seen that liver masses come to normal in three weeks.

Key words Liver resection, Ischemia reperfusion, PGE₂

* Haydarpaşa Eğitim Hastanesi 4. Genel Cerrahi Kliniği

** GATA Haydarpaşa Hastanesi Biyokimya Kliniği

*** Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Kliniği

Yazışma Adresi: Dr. Ümit TOPALOĞLU

Kuyubaşı Sok. Karnapoğlu Ap. 28/29 81040 KADIKÖY/İST.

Majör karaciğer cerrahisinde özellikle karaciğer yaralanmaları ve karaciğer tümörlerinde per-operatif kan kaybı hem hastanın mortalitesi hem de morbiditesi açısından önemlidir (1-3). Kansız bir alan insanlarda Pringle manevrası yani portal ven ve hepatik arter oklüzyonu ile sağlanır

(3,4). Bu nedenle Pringle manevrası sıkça kullanılan bir manevradır ve karaciğerde meydana getirdiği fonksiyonel, kimyasal ve histolojik değişiklikler net olarak bilinmemektedir. Böyle bir işlem, potansiyel olarak tehlikeli hepatik parankim iskemisine neden olur (5). Karaciğerin anoksiye ve hem iskemik penyotta hem de reperfüzyon esnasında hücre hasarına oldukça hassas bir organ olduğuna inanılmaktadır. Ancak, karaciğer hücre ölümünün biyokimyasal mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (6).

Karaciğer iskemi ve reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. İskemiyle oluşan doku hasarının ortamda biriken bu toksik metabolitlerin ve hücresel enerji kaybı nedeniyle olduğu bilinmektedir. İskeminin zararlı etkileri iskemi sırasında oluşmakla birlikte, daha büyük hasarın reperfüzyon sonrasında geliştiği gösterilmiştir (6-8). Burada esas neden, iskemi-deki hasarın reperfüzyon ile daha da şiddetlenmesidir (9,10). Ancak iskemik dokularda kan akımının yeniden sağlanması, enerji temini ve hücrenin ölümden kurtulması için gereklidir (6,11).

İskemi-reperfüzyon hasarında şimdi dikkatler karaciğerin böyle bir iskemiyeye ne kadar dayanabileceği üzerinde yoğunlaşmıştır (12). Hayvanlarda iskemiyeye tolerans uzunluğu zamanı konusunda çalışmalar olmasına rağmen birkaçı rezeksiyon + iskemiyeye içermektedir. İskemi durumunda güvenli zaman aralığı 60 dakikadır (13,14). İnsanlarda daha uzun sağkalım zamanı bildirilmiştir ancak komplikasyonlar mevcuttur (15).

İskemi ve reperfüzyon hasarını önlemek veya en aza indirmek için pek çok ajan kullanılmıştır (6,9,16,17,18). Prostaglandin E₂ (PGE₂)'nin vazodilatatör ve sitoprotektif etkisi nedeniyle özellikle iskemi-reperfüzyon ve toksik maddelere karşı karaciğer hasarını önlemede oldukça etkin olduğu yolunda bir kaç yayın mevcuttur (18, 19,20). PGE₂'nin gastrik mukozada, karaciğerde, böbrekte ve pankreasta sitoprotektif etkisi yayınlanmıştır (20,21). Ancak karaciğer rezeksiyonu ile karaciğerin fonksiyonel kapasitesi değiştiği için, rezeksiyonlu karaciğerde iskemi reperfüzyonun etkisi açık değildir.

Bu çalışmanın amacı, karaciğer rezeksiyonu esnasında geride kalan karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarını karaciğer fonksiyon testleri, serbest oksijen radikalleri ile birlikte histolojik olarak incelemek ve PGE₂'nin karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede yararlı olup olmadığını saptamaktır.

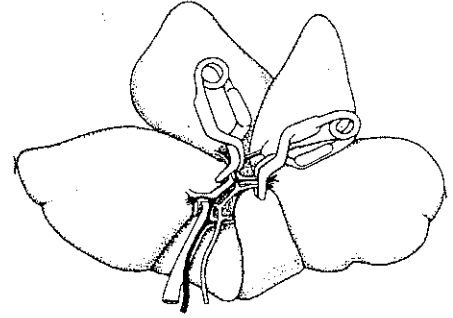
MATERYAL VE METOD

Çalışma Haydarpaşa Numune Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında, Haydarpaşa Numune Hastanesi Biyokimya ve Patoloji Laboratuvarları ile Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Hastanesi Biyokimya Laboratuvarının katkısı ile gerçekleştirildi. 300 - 350 gr ağırlığında Albino-Wistar cinsi 24 erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlara operasyon öncesi sınırsız su ve standart sıçan yiyeceği verildi. Operasyondan 12 saat önce Sıçanlara sadece su verildi, yiyecek verilmedi.

Model

Sıçanlara Ketamin (Ketalar, Parke-Davis-Eczacıbaşı, İstanbul) anestezisi (10 mg/kg) ile orta hat laparotomisi uygulandı. Karaciğer hilusunda sağ ve sol portal ven, hepatik arter, safra kanalı ortaya konuldu. Aynı zamanda sağ lob ve kaudat loba giden hepatik venler de ortaya çıkarıldı. Sol lob ve median loba giden portal ven, hepatik arter ve safra kanalı korundu. Sağ üst ve alt loblar ile kaudat lob mikrovasküler titanyum klempleri ile 30 dakika iskemiyeye maruz bırakıldı (Sekil 1) (22). Bu şekilde iskemi oluşturmanın nedeni sıçanların total portal ven klemplemesini tolere edememesidir (12).

30 dakikalık sürekli iskemiyeye takiben mikrovasküler klempler açıldı ve Emond' Un (23) tarif ettiği şekilde sol portal ven, hepatik arter ve safra kanalı bağlandıktan sonra hızla karaciğerin triangüler bağı kesildi ve sol ve median loblar çıkartılarak % 70 hepatektomi gerçekleştirildi (Sekil 2). Böylece tüm kalan karaciğer dokusu iskemiyeye uğramış oldu. Batın ve cilt 3/0 ipeklerle kapatıldı (Grup I). Bu işlemlerin aynısı Grup II' de yapıldı, ancak bu grupta iskemi oluşturmadan 5 dakika önce 2µg/kg ve reperfüzyondan 5 dakika önce 2µg/kg olmak üzere toplam 4µg/kg intraperitoneal PGE₂ (Sigma Chemical Company, P.O.BOX 14508 ST LOUIS, MO 63178 USA) verildi.



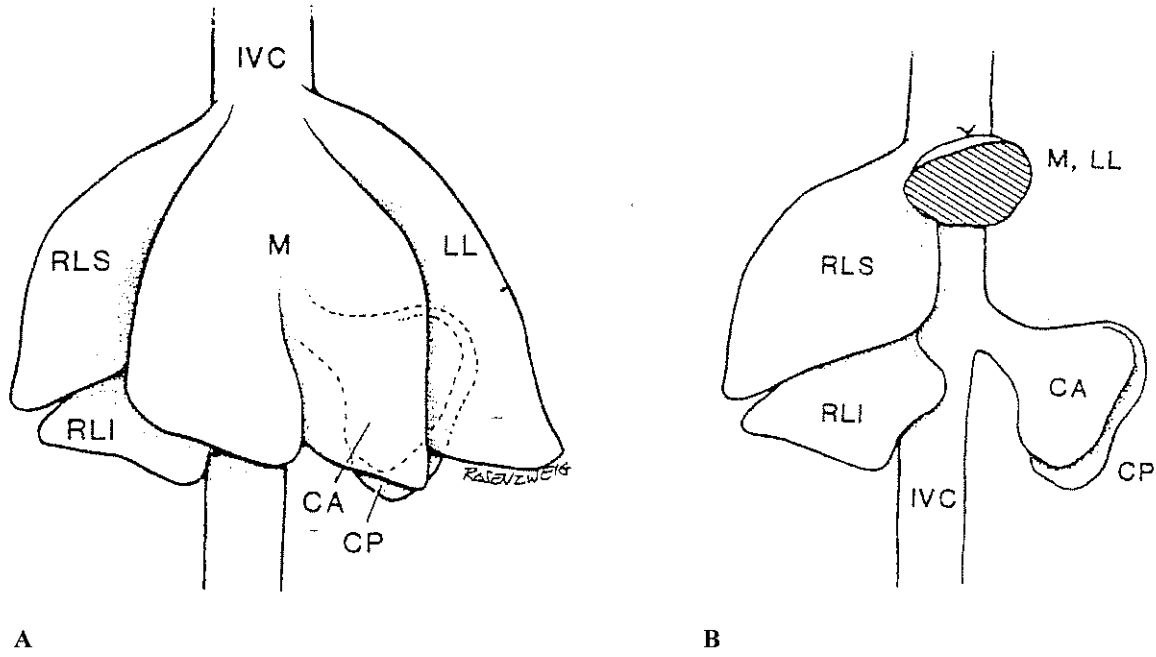
Şekil 1: Kaudat ve sağ hepatik loblara klemp uygulaması

Grup III'de (Kontrol grubu) Sıçanlara laparotomi yapılarak portal ven, hepatik arter ve safra kanalı eksplorasyonu yapıldı ve 4µg/kg PGE₂ intraperitoneal olarak verildi.

Grup IV' de (Sham grubu) ise sadece laparotomi ile portal ven, hepatik arter ve safra kanalı eksplorasyonu yapıldı (Tablo 1).

Tablo 1: Çalışma grupları ve sayıları

Gruplar	Sayı
Grup I İskemi-reperfüzyon (I/R)	7
Grup II İskemi-reperfüzyon + PGE ₂	7
Grup III Kontrol (Sadece PGE ₂)	5
Grup IV Sham (Rezeksiyonsuz ve PGE ₂ siz)	5



Şekil 2. Sıçanlarda % 70 hepatektomi tekniği. A. Sağlam sıçan karaciğeri B. % 70 hepatektomi. IVC: İtiferior vena kava; M: Median lob; LL: Sol lateral lob; RLI: Sağ lobun inferior kısmı; RLS: Sağ lobun superior kısmı; CA: Kaudat lobun anterior kısmı.; CP: Kaudat lobun posterior kısmı.

Prostaglandin E₂

PGE₂ ([5Z, 11 α , 13E, 15S]- 11,15-Dihydroxy-9-oxoprostanoic acid) 1mg. 100 cc. serum fizyolojik ile sulandırılarak sıçanlara verildi. Yapılan çalışmalarda 10 μ g/kg'ın üzerindeki dozların, doza bağlı mortaliteyi artırdığı, 2-10 μ g/kg arasındaki dozların diyare yaptığı belirtilmektedir (20). Bu nedenle sıçanlara 4 μ g/kg PGE₂ verildi ve sadece grup II'de bir sıçanda diyare gözlemlendi.

Sonuçların değerlendirilmesi

Post - operatif 1,7. ve 21. gün Serum Alanin Amino Transferaz (ALT), Serum Aspartat Aminotransferaz (AST), Alkalen Fosfataz (Alk.P), Total Bilirubin (T.Bil), Laktik Dehidrogenaz (LDH) ve Gama Glutamil Transpeptidaz (γ -GT) bakıldı. Sıçanlar 21. gün takip edildi ve post-operatif 21. gün sakrifiye edildi. Her rezeke edilen karaciğer ve 21. gün rejenere olmuş karaciğer remnantları tartıldı. Sıçanlar pre-operatif ve post-operatif 21. gün tartılarak kilo kaybı veya alımı olup olmadığı tespit edildi.

Histolojik inceleme için tüm deneklerin karaciğerleri post-operatif 21. günde rezeke edilerek tamponlu formalinde fikse edildi. Rutin doku takibi yapılarak parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak hemotoksilen-eozin ile boyandı. Preperatlar hidropik dejenerasyon, steatoz, enflamasyon ve nekroz parametreleri açısından değerlendirildi.

Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasar sonucu olmaktadır. Malonildialdehit, lipid peroksidasyonunun stabil son ürü-

nüdür ve lipid peroksidasyonunu değerlendirmede basit, sensitif ve güvenilir bir değerlendirme sağlar (9). Bu nedenle iskemi-reperfüzyon hasarını göstermek amacıyla tiobarbitürik asit testi ile post-operatif 1., 7. ve 21. gün alınan kan örneklerinde ve post-operatif 21. günde alınan karaciğer örneklerinde malonildialdehit düzeylerine bakıldı.

İstatistiksel analiz

Tüm bulguların değerlendirilmesinde t-test kullanılmıştır. $p < 0.05$ in altındaki değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Karaciğer fonksiyon testleri

Çalışmada elde edilen karaciğer fonksiyon testlerinin post-operatif sonuçları tablo 2'de gösterilmiştir.

Çalışmada post-op. 1.gün serum ALT düzeylerinin kontrol ve sham gruplarına göre hem I/R hem de I/R+PGE₂ grubunda belirgin şekilde arttığı görüldü ($p < 0.001$). I/R grubunda, I/R+PGE₂ grubuna göre serum ALT düzeyi belirgin şekilde yüksek bulundu ($p < 0.001$). Ancak post-op 7. ve 21.günlerde enzim düzeyleri tüm gruplarda normal düzeye indi.

Aynı şekilde serum AST düzeyleri post-op 1. gün kontrol ve sham grubuna göre I/R ve I/R+PGE₂ gruplarında belirgin şekilde arttı ($p < 0.001$), ancak yine I/R grubunda I/R+PGE₂ grubuna göre anlamlı şekilde serum AST yüksek bulundu

Tablo 2: Karaciğer fonksiyon testlerinin sonuçları. (İ/R. İskemi-reperfüzyon grubu)

		1.gün	7.gün	21.gün
ALT (IU/L)	İ/R	1129 ± 144	57 ± 15	57 ± 12
	İ/R + PGE ₂	646 ± 109	58 ± 9	65 ± 5
	Kontrol	62 ± 7	56 ± 10	51 ± 11
	Sham	61 ± 7	59 ± 9	58 ± 9
AST (U/L)	İ/R	929 ± 169	204 ± 32	144 ± 8
	İ/R + PGE ₂	595 ± 185	178 ± 44	102 ± 18
	Kontrol	44 ± 15	114 ± 16	104 ± 16
	Sham	120 ± 27	100 ± 17	98 ± 17
ALK. P (IU/L)	İ/R	854 ± 89	1043 ± 78	612 ± 186
	İ/R + PGE ₂	417 ± 68	1000 ± 189	523 ± 184
	Kontrol	352 ± 39	706 ± 111	501 ± 127
	Sham	549 ± 97	486 ± 125	399 ± 51
T.BİL. (mg/dl)	İ/R	0.5 ± 0.16	0.11 ± 0.07	0.11 ± 0.04
	İ/R + PGE ₂	0.56 ± 0.16	0.11 ± 0.07	0.11 ± 0.04
	Kontrol	0.06 ± 0.05	0.12 ± 0.04	0.14 ± 0.09
	Sham	0.14 ± 0.05	0.14 ± 0.09	0.02 ± 0.04
γ-GT (U/L)	İ/R	16 ± 5.2	13.7 ± 2.8	8.5 ± 2.5
	İ/R + PGE ₂	14.5 ± 2.6	7.3 ± 2.5	4.6 ± 2.7
	Kontrol	9.6 ± 4.3	5 ± 2.3	4.2 ± 2.1
	Sham	13.8 ± 4.2	2.2 ± 1.8	2.8 ± 0.4
LDH (IU/L)	İ/R	1449 ± 413	527 ± 183	530 ± 143
	İ/R + PGE ₂	881 ± 140	522 ± 230	668 ± 79
	Kontrol	572 ± 128	442 ± 200	392 ± 127
	Sham	723 ± 180	264 ± 56	257 ± 53

(p < 0.005). Kontrol grubunda, sham grubuna göre belirgin AST düşüklüğü gözlemlendi (p < 0.001). Aynı şekilde post-op 7. ve 21. günlerde serum AST düzeyleri hızla normale indi.

Serum alkalin fosfataz düzeylerine bakıldığında ise, post-op 1.gün İ/R grubunda diğer gruplara göre belirgin şekilde yüksek serum alkalin fosfataz düzeyi saptandı (p < 0.001). İ/R grubunda, İ/R+PGE₂ grubuna göre anlamlı şekilde alkalin fosfataz yüksekliği mevcuttu (p < 0.001). Ancak alkalin fosfataz düzeyi sham grubu dışında tüm gruplarda post-op 7. gün yükseldi ve İ/R ve İ/R+PGE₂ arasındaki anlamlı fark kapandı (p = 0.5). Post-op 21. gün ise enzim düzeyleri düşme eğilimine girdi.

Serum total bilirubin düzeyi hem İ/R hemde İ/R+PGE₂ gruplarında, kontrol ve sham gruplarına göre, anlamlı şekilde yüksek bulundu (p < 0.001). Ancak her iki grup

arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p = 0.5). Serum total bilirubin düzeyleri tüm gruplarda post-op 7. ve 21.gün hızla normale indi.

Serum gama-GT düzeyi post-op 1.gün tüm gruplarda yükseldi, ancak kontrol grubunda yükselme daha az oldu. Post-op 7.gün ve 21 .gün ise İ/R+PGE₂ grubunda enzim düzeyi hızla düşerken İ/R grubunda düşüş daha yavaştı, bu nedenle iki grup arasında anlamlı farklar gözlemlendi (p < 0.001).

Serum LDH düzeyi post-op 1. gün İ/R grubunda İ/R+PGE₂ grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (p < 0.001). Tüm gruplarda serum LDH düzeyi postop 7.ve 21. günlerde düşme eğilimi gösterdi.

Malonildialdehit düzeyleri

Çalışma sonunda elde edilen malonildialdehit düzeyleri

tablo 3'de gösterilmiştir. İ/R grubunda serum malonidialdehit düzeyi post-op 1. gün diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksekti ($p < 0.01$) ve bu yüksekliği post-op 7. ve 21. günlerde de devam etti. Post-op 21. gün alınan doku düzeyinde incelendiğinde de İ/R grubunda malonidialdehit düzeyinde belirgin yükseklik bulundu ($p < 0.05$).

Karaciğer ve sıçan ağırlıkları

Her iki grupta karaciğer ağırlığı birbirine benzerdi ve İ/R grubunda 7.06 ± 0.33 gr, İ/R + PGE₂ grubunda 6.84 ± 0.12 gr olarak saptandı.

Rejenere karaciğer ağırlıkları arasında her iki grup arasında belirgin fark saptanmadı. Rejenere karaciğer ağırlığı ortalama İ/R grubunda: 8.5 ± 0.65 gr, İ/R + PGE₂ grubunda: 8.26 ± 0.53 gr olarak bulundu.

Kilo alımı veya kaybı yönünden değerlendirildiğinde ortalama kilo alımı İ/R grubunda: 10.7 ± 11.3 gr, İ/R + PGE₂ grubunda: 16.4 ± 15.4 gr, kontrol grubunda: 35 ± 16.5 gr ve sham grubunda 52 ± 4.4 gr olarak saptandı. İ/R ve İ/R + PGE₂ arasında anlamlı fark olmamasına rağmen İ/R + PGE₂ grubunda kilo alımı biraz daha fazla idi. İ/R ve İ/R + PGE₂ grupları ile kontrol ve sham grupları karşılaştırıldığında, iskemi-reperfüzyon yapılan her iki grupta kilo alımı belirgin şekilde az idi.

Histolojik değerlendirme

Tüm gruplarda, daha çok reaktif olduğu düşünülen ve gruplar arasında randomize dağılım gösteren seyrek fokal nekrozlar, minimal hidropik dejenerasyon, hiperemi ve rejeneratif değişiklikler dışında herhangi bir histopatolojik bulgu saptanmadı.

TARTIŞMA

Majör karaciğer cerrahisi esnasında kan kaybı mortalite ve morbidite hızı açısından önemli olduğundan, karaciğerin vasküler izolasyonu ile kan kaybı en aza indirilmelidir. İskemi dokuya hasar veren bir durumdur, ancak mantığın aksine reperfüzyon faydalı görünmesine rağmen iskemik doku üzerinde hasar verici etkisi çok daha fazladır ve bu değişiklikler iskemi-reperfüzyon hasarı olarak bilinir. İskemi-reperfüzyon hasarının mekanizması komplekstir ve karaciğer hasarında oksijenden türeyen serbest radikal-

lerin bu değişikliklerin ana nedeni olduğu düşünülmektedir (6). Karaciğer iskemi reperfüzyonu olan birçok hayvan çalışmasında rezeksiyon yoktur. Çalışmamızda 30 dakikalık sürekli iskemiye takiben % 70 hepatektomi uyguladık. Hardy ve ark. (12) sıçanlara 30 dakika sürekli iskemiye takiben % 80 hepatektomi uygulamışlardır. Serum ALT değeri post-op 1 gün maksimum seviyesine ulaşmış ve post-op. 4. gün normal düzeylere inmiştir. Serum ALT değerlerindeki bu değişimler bizim çalışmamız ile uyumludur. Yine Alkalen Fosfataz değerleri post-op. 2. gün maksimum değerine ulaşmış ve post-op 3. günden itibaren düşme eğilimine girmiş ancak post-op. 23. gün normal değerlerine inmiştir. Bizim çalışmamızda ise post-op 1. gün Alkalen fosfataz yükselmiş, 7.gün maksimum düzeyine ulaşmış ve 21. gün düşme eğilimine girmiştir. Aynı çalışmada, serum bilirübin değerleri post-op. 1. gün maksimum değerlerine ulaşmış ve post-op 2. günden itibaren hızla normal değerlerine inmiştir. Bu sonuçlar da bizim çalışmamızla uyumludur.

Mackenzie (13) sürekli normotermik iskemi ile köpeklerde % 70 hepatektomi yapmış, sağ ve kaudat loblara 30 dakikalık iskemi uygulamıştır. Serum bilirübin düzeyleri minimal olarak artmış ve hızla normale dönmüştür. Yine ALT ve AST değerleri post-op 2. gün yükselmiş ve 1 hafta içinde hızla normale dönmüştür. Serum Alkalen fosfataz düzeyleri post-op 1. gün artmış, 7.-9. günler arası artmaya devam etmiş ve post-op 21.günde yüksek olarak devam etmiştir. Tüm bu sonuçlar

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumludur. Mackenzie bu sonuçlarla normotermik iskemi ile köpeklerde % 70 hepatektominin karaciğer fonksiyonlarını bozduğunu, ancak fonksiyonların hızla düzeldiğini ve karaciğer kütlelerini koruduğunu rapor etmiştir. Bu işlem 60 dakikada güvenlidir, ancak 75 dakikadan sonra yaşam hızı ancak % 60'dır. Yine Mackenzie'nin köpeklerde yaptığı bir başka çalışmada (14), % 70 hepatektomi öncesi 30 ve 60 dakikalık iskemi yapılmış ve benzer karaciğer fonksiyon sonuçları elde edilmiştir. Bu çalışmada, 6 hafta sonunda karaciğer kütlelerinin yeniden oluşmasının, uzamış iskemiden rejenerasyon kapasitesinin etkilenmediğini gösterdiği ve bunun nedeninin ise, rejeneratif hiperplazinin parsiyel hepatektomiden birkaç saat sonra başlaması olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda % 70 hepatektomi sonrası

Tablo 3: Serum ve doku malonidialdehit düzeyleri

	Serum ($\mu\text{mol/L}$)			Doku ($\mu\text{mol/gr doku}$)
	1. gün	7. Gün	21. gün	21. gün
İ/R	0.73 ± 0.09	0.65 ± 0.09	0.57 ± 0.05	54.2 ± 15.8
İ/R + PGE ₂	0.58 ± 0.09	0.54 ± 0.08	0.50 ± 0.09	40.8 ± 3.8
Kontrol	0.44 ± 0.03	0.46 ± 0.03	0.48 ± 0.02	27.9 ± 4.2
Sham	0.54 ± 0.04	0.45 ± 0.04	0.44 ± 0.04	32.9 ± 8.4

Mackenzie'nin yaptığı çalışmalara benzer şekilde post-operatif ilk günde karaciğer fonksiyonları bozulmuş, ancak hızla normale dönmüştür, yine karaciğer kütlelerinin 3 hafta sonunda eski ağırlığına ulaştığı ve iskemi reperfüzyondan etkilenmediği gözlenmiştir. Köpeklerde bu sürecin 6 hafta olması karaciğer kütlelerinin büyüklüğü ile açıklanabilir.

Mackenzie'nin köpeklerde yaptığı çalışmada 75 dakikadan sonraki mortalite % 60 olarak belirtmekte ise de, Hannoun ve ark. (15) insanlarda 1 saati aşan normotermik iskemi ile karaciğer rezeksiyonu çalışmalarında, 120 dakikalık sürekli iskeminin güvenli olduğunu, ancak 90 dakikalık sürekli iskeminin tercih edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Huguet (5) 26 hastada 1 saati aşan iskemi ile birlikte karaciğer rezeksiyonunu çalışmış, hastaları 14 gün izlemiş ve deneysel çalışmalardakine benzer karaciğer fonksiyon testleri sonuçları elde etmiştir. Delva da (4) 142 hastada yaptığı çalışmada erken devrede bozulan karaciğer fonksiyonlarının hızla düzeldiğini belirtmiştir.

Günümüze kadar yapılan tüm çalışmalar ve bizim çalışmamızda karaciğerin iskemi-reperfüzyonunda meydana gelen bu fonksiyonel değişiklikler post-op. ilk 48 saat içinde bozulmakta, ancak hızla normale dönmektedir. Ancak post-operatif ilk bir kaç gün hastanın mortalite ve morbiditesinde çok önemlidir, bu nedenle şimdi dikkat karaciğeri böyle bir hasardan nasıl koruyabileceğimiz yönündedir. Bu amaçla bir çok çalışma yapılmakta ve değişik ajanlar kullanılmaktadır (6,9,24). Bu ajanlardan biri de prostaglandin E₂'dir. Prostaglandin E₂'nin iskemi-reperfüzyon ve toksik maddelere karşı karaciğer hasarını önlemede oldukça etkili olduğu gösterilmiştir (18, 19,20). Ancak karaciğer rezeksiyonu ile birlikte karaciğer iskemi reperfüzyonundaki etkisi açık değildir. Çalışmamızda I/R grubuna göre, I/R+PGE₂ grubunda PGE₂'nin özellikle ilk bir hafta içinde karaciğer fonksiyonları gözönüne alındığında karaciğer fonksiyonlarını koruyabilmek açısından önemli avantaj sağladığı görülmüştür. Yine doku hasarının bir göstergesi olan lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malonildialdehit düzeylerine bakıldığında, I/R grubuna göre I/R+PGE₂ grubunda doku hasarı belirgin şekilde daha azdır. Sonuçta PGE₂'nin sitoprotektif etkisinin karaciğer rezeksiyonu esnasında sürekli iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili bir ajan olduğu söylenebilir. Ancak prostaglandinlerin bu sitoprotektif etkisinin mekanizması açık değildir ve sadece birtakım varsayımlar ileri sürülebilir (18,21).

Olthoff ve ark. (25), PGE₁'in hepatik allograftlarda karaciğer hasarını önlediğini göstermişler, ancak mekanizmayı net olarak açıklayamamışlardır. Muhtemelen prostaglandinler reperfüze karaciğerde mikrovasküler dilatasyon yoluyla kan akımını artırmakta ve platelet inhibisyonu yapmakta, böylece no-reflow fenomeni önlenmektedir. Yine PGE'lerin adenilat siklaz aktivitesini artırarak membranları stabilize ettiği ve böylece toksik maddelere maruz kalan endotelial veya mukozal hücreleri koruduğunu ileri sürmüşlerdir.

Manabe ve Steer (21) PGE₂'nin muhtemelen hücre membranı ve lizozomal membranı stabilize ederek diyetle bağlı (choline deficient-ethionine supplemented - CDE diyet) pankreatiti engellediğini göstermişlerdir. Bir başka muhtemel mekanizma ise, prostaglandinin lokal kan akımını artırması ve pankreatik dolaşımında vasküler rezistansı azaltması olabilir.

Stachura ve ark. (19) CCl₄ verilen ratlarda PGE₂'nin sitoprotektif olduğunu ileri sürmüşlerdir. CCl₄'e bağlı karaciğer nekrozunun, endoplazmik retikulum membranı içerisinde CCl₄'ün enzimatik aktivasyonu sonucu, CCl₃ serbest radikale dönmesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Bunu endoplazmik retikulum membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin, klorometilasyonu, satürasyonu, peroksidasyonu ve ilerleyici hasarı takip eder. Bu işlemler lipoperoksidasyon olarak tanımlanır ve bu membranın fizikokimyasal özelliklerinin değişimine, fonksiyonel ve yapısal bozulmasına neden olur. CCl₄ için endoplazmik retikulum hedef bölgedir. Ultrastrüktürel değerlendirmede endoplazmik retikulum'da proliferasyon ve balonlaşma saptanmıştır. PGE₂ ise bunu engeller. Aynı araştırmacılar PGE₂'nin D-Galaktozamin'e karşıda karaciğer nekrozunu engellediğini göstermişlerdir. Ancak burada mekanizma farklıdır ve hedef plazma membranıdır. Tüm karaciğer hücre nekrozu tipinde terminal özellikli hücre membran defekti olduğundan, PGE₂'nin sitoprotektif etkisi hücresel sitomembranların "stabilizasyonu" veya güçlendirilmesi ile mümkündür. Yine, Stachura ve ark. (19) POE₂'nin stabilize edici etkisini, in vitro hipotonik solüsyon ve etanol tarafından eritrosit membranlarının hasar görmesini engellemesi nedeniyle olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Colletti ve ark. (18) izole reperfüze tavşan karaciğerinde oksijen serbest radikallerinin meydana getirdiği hasarın üzerinde PGE₂'nin koruyucu etkisini göstermişlerdir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) verilen tavşanlarda LDH düzeyinde belirgin artış ve safra akımında azalma görülmüştür. Oysa H₂O₂ öncesi PGE₂ verilen ratlarda, LDH düzeyindeki yükselme tamamen engellenmiş ve safra akımında korunmuştur. Mekanizma burada da açık değildir.

Çalışmamızda post-op 21. gün yapılan histolojik değerlendirmede tüm gruplarda daha çok reaktif olduğu düşünülen ve gruplar arasında randomize dağılım gösteren seyrek fokal nekrozlar, minimal hidropik dejenerasyon, hiperemi ve rejeneratif değişiklikler dışında, herhangi bir histopatolojik bulgu saptanmadı. Navidad-Novalvos ve arkadaşlarının (26) yaptığı çalışmada 15, 30, 60 ve 120 dakikalık sürelerle yapılan iskemi-reperfüzyonu takiben 24 saat sonra yapılan histolojik incelemede 15 ve 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon grubunda belirgin histolojik değişiklikler saptanmamıştır ve mortalite % 0'dir. 60 dakikalık iskemi sonunda ise nekroz ve kanama saptanmıştır. 120 dakika iskemi-reperfüzyon yapılan ratların ise tamamı ölmüştür.

Hardy (12) 30 dakikalık iskemi-reperfüzyon sonrası % 80 hepatektomi ile 23 gün moniterize edilen sıçanların karaciğerlerinin histolojik incelenmesinde minimal histolojik

değişiklikler, sadece sitoplazmik vakuolizasyon saptamıştır. Tüm bu çalışmalar bizim çalışmamızdaki histolojik değişiklikler ile uyum içerisinde dir.

Sonuç olarak, karaciğer rezeksiyonu ile sürekli iskemi reperfüzyon modelinde karaciğer fonksiyonlarının erken dönemde bozulup hızla düzeldiği ve karaciğer kütle sinin 3 haftada eski düzeylerine yaklaştığı görüldü. PGE₂'nin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkin bir ajan olduğu söylenebilir, ancak hangi mekanizma ile hasarı önlediği tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle mekanizmanın ortaya çıkarılması için daha birçok araştırmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Huguet, C., Nordlinger, B., Bloch, P., Conard, J. Tolerance of the human liver to prolonged normothermic ischemia. A biological study of 20 patient submitted to extensive hepatectomy. *Arch Surg* 1978; 113; 1448-1451
- Nordlinger, B., Douvin, D., Javaudin, L. An experimental study of survival after two hours of normothermic hepatic ischemia. *Surg Gynecol Obstet* 1980; 150: 859-864
- Delva, B., Barberoussa, P., Nordlinger, B. Hemodynamic and biochemical monitoring during major liver resection with use of hepatic vascular exclusion. *Surgery* 1984; 95: 309-318
- Delva, B., Camus, Y., Nordlinger, B. Vascular occlusions for liver resections. Operative management and tolerance to hepatic ischemia: 142 cases. *Ann Surg* 1989; 209:211-218
- Huguet, C., Gavelli, A., Bona, S. Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour. *J Am Coll Surg* 1994; 178: 454-458
- Hasselgren P.O. Prevention and treatment of ischemia of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 1987, 164:187-196
- Reilly, P.M., Bulkley, G.B., Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *Br J Surg* 1990; 77:1324-1325
- Toledo-Pereyra, L.H., Suzuki, S. Neutrophils, cytokines, and adhesion molecules in hepatic ischemia and reperfusion injury. *J Am Coll Surg* 1994; 179: 758-762
- Stein, J.H., Mathys, M.J., Hinder, R.A., Lamprechts, H. Effect of verapamil on hepatic ischemia/reperfusion injury. *Am J Surg* 1993; 165: 96-100
- Frederiks, W.M., Kooij, A., Bosch, K.S. Role of xanthine oxidase in tissue damage of rat liver after ischemia. *Transplant Proc* 1995; 27: 2855-2856
- Karwinski, W., Husoy, A.M., Farstad, M., Soreide, O. Sixty minutes of normothermic ischemia in the rat liver: Correlation between adenine nucleotides and bile secretion. *J Surg Res* 1989; 46: 99-103
- Hardy, K.J., Tancheroen, S., Shulkes, A. Comparison of continuous versus intermittent ischemia-reperfusion during liver resection in an experimental model. *Br J Surg* 1995; 82: 833-836
- Mackenzie, R.J., Furnival, C.M., O'Keane, M.A., Blumgart, L.H. The effect of hepatic ischemia on liver mass after 70 percent partial hepatectomy in the dog. *Br J Surg* 1975; 62: 431-437
- Mackenzie, R.J., Furnival, C.M., Wood, C.B., O'Keane, M.A., Blumgart, L.H. The effects of prolonged hepatic ischemia before 70 percent partial hepatectomy in the dog. *Br J Surg* 1977; 64: 66-69
- Hannoun, L., Borie, D., Delva, E. Liver resection with normothermic ischemia exceeding 1 h. *Br J Surg* 1993; 80:1161-1165
- Nordström, G., Seeman, T., ve Hasselgren, P.O. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery*, 1985, 97: 679-684
- Chien, K.R., Abrams, J., Pfau, R.G., ve Farber, J.L. Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death. *A. J. Pathol.* 1977, 88:539-558.
- Colletti, L.M., Burtch, G.D., Campbell, D.A. Prostaglandin E₂ protects the isolated perfused rabbit liver from an oxygen radical induced injury. *Transplant Proc* 1990; 22: 2381-2383
- Stachura, J., Tarnawski, A., Ivey, K.J. Prostaglandin protection of carbon tetrachloride induced liver cell necrosis in the rat. *Gastroenterology* 1981; 81: 211-217
- Abecassis, M., Falk, J.A., Makowka, L. 16,16 dimethyl prostaglandin E₂ prevents development of fulminant hepatitis and blocks the induction of monocyte/macrophage procoagulant activity after murine hepatitis virus strain 3 infection. *J Clin Invest* 1987; 80: 881-889
- Manabe, T., Steer, M. Protective effects of PGE₂ on diet induced acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1980; 78: 777-781
- Nauta, R.J., Tsimoyiannis, E., Uribe, M. Oxygen-derived free radicals in hepatic ischemia and reperfusion injury in the rat. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 171:120-125
- Emond, J., Capron-Laudereu, M., Meriggi, F. Extent of hepatectomy in the rat. *Eur Surg Res* 1989; 21:251-259
- Nauta, R.J., Tsimoyiannis, E., Uribe, M. The role of calcium ions and calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion induced liver injury. *Ann Surg* 1991:137-142
- Olthoff, K.M., Wasef E., Seu, P. PGE1 reduces injury in hepatic allografts following preservation. *J Surg Res* 1991; 50: 595-601
- Navidad-Novalvos, R., Ratia, T., Martinez, P. Ischemia and reperfusion liver injury: Influence of duration of ischemia on viability(Absract). *Br. J. Surg.* 1992;79: 84.