

T1388



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

+  
**HEPATEKTOMİ (%70) YAPILAN RATLARDA  
MYCOPHENOLATE MOFETİL VE TACROLİMUS'UN  
KARACİĞER REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

**Dr. Sabri TEKİN**

T1388 /A-1

**Tez Danışmanı : Doç.Dr.Güner ÖĞÜNÇ**

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir"

**Antalya, 2002**

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	1-3
GENEL BİLGİLER	4-14
MATERYAL VE METOD	15-17
BULGULAR	18-28
TARTIŞMA	29-33
SONUÇLAR	34-35
KAYNAKLAR	36-43

## GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer transplantasyonu, fonksiyonlarını ileri derecede yitirmiş olan bir karaciğerin, sağlıklı bir karaciğer ile değiştirilmesidir. Bu ameliyatın endikasyonu son dönem karaciğer yetmezliği olup, karaciğer fonksiyonlarının yetersiz olması, kas kitle kaybı, bitkinlik, ensefalopati, portal hipertansiyon bulguları, kanın pıhtılaşma bozukluğu ve sarılık ile karakterizedir. Son dönem karaciğer yetmezliğine neden olabilen hastalıklar genel olarak iki ana başlık altında toplanabilirler; virüslere bağlı olanlar (Hepatit B ve C) ve/veya alkol ve safra yolları hastalıkları (Primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjit) (1,2).

Son yıllarda organ nakli alanında çok önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Organ bekleyen son dönem karaciğer yetmezlikli olgu sayısının hızla artmasına karşın, donör sayısı ihtiyacın oldukça gerisinde kalmaktadır. Bu durum giderek organ yetmezliği ve temini arasındaki açığın büyük boyutlara ulaşmasına yol açmaktadır. ABD’de UNOS (United Network for Organ Sharing) verilerine göre, 1994 yılında karaciğer transplantasyonu bekleme listesindeki hasta sayısı 4059, transplantasyon yapılan hasta sayısı ise 3653’e ulaşmıştır, yani hastaların büyük bir çoğunluğu transplantasyon şansı bulmuştur. Ancak 3 yıl sonra, 1997’de bekleme listesindeki hasta sayısı 9637, transplantasyon sayısı 4165 olmuştur. Bu açığın, kesin istatistiksel veriler bulunmamakla birlikte, ülkemizde çok daha ileri boyutlarda olduğu bir gerçektir.

Listedeki hastaların organ bekleme süreleri artmakta ve giderek sadece yoğun bakımlarda veya hastanede organ bekleyen ileri evre hastalara organ transplantasyonu yapılabilmektedir. Hastaların organ bekleme süreleri uzadıkça, morbidite ve mortalite oranlarında yükselme meydana gelmektedir. Bu yüzden, ileri yaşta olan ya da hemodinamik instabilitesi olan marginal donörden organ teminine yönelik yeni kavramlar geliştirilmiştir. Ancak, optimal donör ile marginal donörden organ temininde, hasta ve organın 5 yıllık yaşam oranı arasında yaklaşık %20’lik fark bulunmaktadır yani marginal donörden temin edilen organın sonuçları daha kötü olmaktadır (1,2,3)

Canlıdan organ nakli fikri 1950 yılında, böbrek transplantasyonu ile başlamıştır. Halen ABD’de böbrek transplantasyonlarının %30’u canlıdan yapılmaktadır. İlk canlı donörden başarılı karaciğer transplantasyonu ise, 1988 yılında Hamburg’da Christoph Broelsch tarafından yapılmıştır (2,3).

Canlıdan karaciğer transplantasyonu süreci, Japonya ve Chicago'da aynı anda başlatılmıştır. Günümüzde ABD'de 18 merkezde, pediatrik yaş grubundaki hastalara canlıdan karaciğer nakli yapılmaktadır. 1999 ile 2000 yılları arasında Japonya'da 794, ABD'de 181, Avrupa'da 123 ve diğer merkezlerde 47 tane canlı donörden karaciğer transplantasyonu yapılmıştır. Bu yaklaşım sayesinde bekleme zamanı kısaltmakta, immünolojik uyum artmakta ve soğuk iskemi zamanının azalmasına bağlı olarak iskemi-reperfüzyon hasarı azalmış olmaktadır. Uzun dönem sonuçları da kadavra donörlü karaciğer transplantasyonlarına oranla daha iyi olmaktadır. ABD'de 1 yıllık hasta ve greft yaşama oranı canlı donörde sırasıyla %88,4 ve %75,6; diğer organlarda %82,6 ve %70,9; split karaciğerde %82,1 ve %60,3; hacmi küçültülen karaciğerde %74,4 ve %61,1 olarak rapor edilmiştir (2,3,4,5)

Pediatrik hastalarda başarılı sonuçların alınmasından sonra, yetişkin hastalarda da canlı donörden karaciğer transplantasyonunda artış olmuştur.

Günümüzde ülkemizde ve dünyada, anatomik ya da nonanatomik karaciğer rezeksiyonları, kadavra veya canlı akraba vericili karaciğer transplantasyonları başarıyla gerçekleştirilmektedir. İmmünobiyojoloji ve immünofarmakolojide son gelişmeler, immünespresif ilaçların etkilerinin çok iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Vücut immün sistemi kendinden olmayan (yabancı) proteinleri tanıma yeteneğine sahiptir. Genetik olarak özdeş olmayan iki birey arasında yapılan organ transplantasyonunda, nakledilen organ, rejeksiyon olarak adlandırılan süreç sonunda harabiyete uğrayabilir. Bu süreci önlemek ya da zararlarını en aza indirmek amacıyla, geçen 4 yıl içerisinde bir çok yeni ilaç kullanıma girmiş ve bir o kadarı da deney aşamasındadır. 1980'li yıllarda, cyclosporin (CsA) ve monoklonal antikor OKT3 (muromonab-CD3), solid organ transplantasyonunda büyük bir gelişme sağlamış ve 1 yıllık greft yaşam oranı elde edilmiştir. Buna rağmen, akut allogreft rejeksiyon sıklığı devam etmiş, bunun sonucunda 1 yılda greft kaybı ve daha sonra kronik rejeksiyona bağlı greft kaybı önemli bir sorun olarak devam etmiştir. Ayrıca CsA, azathioprin (AZA) ve kortikosteroidlerin nefrotoksisite, diabetes mellitus ve lenfoproliferatif hastalıklara neden olma gibi yan etkileri mevcuttur. İdeal immünespresif ilaç arayışları hep devam etmiştir. Bu amaçla, son yıllarda solid organ transplantasyonunda takrolimus (FK506) ve daha sonra mycophenolate mofetil (MMF;RS-61443) klinik kullanıma girmiştir (6,7,10,11,13,21)

Memeli karaciğerinde rejenerasyon kapasitesi, antik çağlardan beri bilinmektedir. Bununla birlikte karaciğer hücre büyümesi ve rejenerasyonu ile ilgili en kapsamlı

veriler, geçen yüzyıllarda parsiyel hepatektomi modelinden sonra, karaciğerin hücre proliferasyonunun eski boyutuna vardığında durmasıyla elde edilmiştir. Çok yakın geçmişte yapılan hayvan deneyleri sayesinde, parsiyel hepatektomi modelleri ve karaciğer yanıtı ile ilgili çok değişik sonuçlar elde edilmiştir (1,6,8,9,40)

Rejenerasyon olayı ile ilgili evrimde; karaciğer hücre büyümesinin, büyümeyi stimüle edici ve inhibe edici faktörleri içeren çok basamaklı bir süreç olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen birçok bulgu, rejenerasyonu başlatan ve sürdüren faktörler olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda tümör supresör genlerin tanımlanması ve doku immün sistem mekanizmasının karaciğer proliferasyonu ile ilişkisinin saptanması, bu alanda yeni umutların oluşmasına neden olmuştur (1,4,11,16,17)

Bütün karaciğer hücrelerinin replikasyon yeteneğinde olmalarına karşın ,normal koşullarda sadece birkaç hepatosit proliferasyona uğrar (Proliferasyon indexi: ratlarda %0,3 ve köpeklerde %0,16 olarak hesaplanmıştır) Proliferasyon yeteneği, karaciğerin fonksiyonel kitlesinin, cerrahi rezeksiyon, viral ve kimyasal etkenlerle azalması durumunda dramatik olarak değişir ve karaciğer kitle kaybı ve hasarı derecesine paralel olarak büyük bir patlama yapar (1,5,7,9,10,16,18).

Bu deneysel çalışmada, oldukça yeni klinik uygulama alanı bulmuş olan, gerek hasta, gerekse organ sağkalım oranında çok önemli ilerlemelere neden olan immünsupresif ilaçlardan mycophenolate mofetil (MMF-RS-61443;Cell-Cept) ve tacrolimusun (FK506; Prograf), tek başlarına ve kombine kullanımlarının karaciğer rejenerasyon kapasitesine etkisini değerlendirmeyi amaçladık

## GENEL BİLGİLER

Karaciğer transplantasyonunun, son dönem karaciğer yetmezliği olan hastalarda etkili bir tedavi seçeneği haline gelmesi ve bu seçeneğin büyük bir başarı oranı ile uygulanmasıyla birlikte, karaciğer nakli bekleme listesindeki hasta sayısında büyük artışlar meydana gelmiştir. Buna karşın, donör ve karaciğer transplantasyonu sayısında çok az artma sağlanmıştır. Potansiyel karaciğer alıcısı ile kadavradan alınan organ arasındaki bu eşitsizlik, kaçınılmaz olarak karaciğer transplantasyonu bekleme listesindeki hastaların çok büyük bir kısmının yaşamlarını yitirmesine neden olmuştur. 1997 yılında, ABD'de karaciğer transplantasyonu bekleme listesinde bulunan hastalardan 1130'u ölmüş ve bu sayı bir yıl sonra %20 artarak, 1998'de 1319'a ulaşmıştır (3,4,5). Ülkemizdeki oransal rakamların çok daha olumsuz olduğu düşünülmektedir.

Karaciğer transplantasyonu bekleme listesindeki hastalarda, ölüm riskinin artması nedeni ile, tam-organ karaciğer transplantasyonuna karşı alternatif tedavi arayışlarına gidilmiştir. Klinikte karşılaşılan diğer bir sorun da, özellikle pediatrik hastalarda greft-vücut oranıdır. Günümüzde kadavradan tam karaciğer transplantasyonuna alternatif olarak, parsiyel karaciğer transplantasyonu uygulanmaktadır. Bu teknikler karaciğer boyutunun küçültülmesi (reduced-size), karaciğerin bölünerek iki alıcıya nakledilmesi (split-liver) ve canlı donörden karaciğer transplantasyonu (living-related) olarak tanımlanmıştır (2,3,4).

Canlı donörden karaciğer transplantasyonunun yaygın olarak kullanılmasından önce ABD'de, karaciğer transplantasyonu bekleme listesinde bulunan çok küçük çocukların %50'sinin, transplantasyon şansı bulamadıklarından öldüğü bildirilmektedir. UNOS (United Network for Organ Sharing) verilerine göre, ölen bu hastalar için gerekli olan ortalama karaciğer ağırlığı 300 gr. civarındadır. Halen bekleme listesinde bulunan pediatrik hasta sayısı, karaciğer nakli yapılanların ortalama 4 katı kadardır (2,3,4,1835,36).

Bütün dünyada, özellikle Asya ülkelerinde kültürel yapının beyin ölümünü, dolayısı ile kadavra donörden organ teminini reddetmesi nedeniyle, canlı donörlü karaciğer transplantasyonuna doğru bir yönelme olmuştur. Canlı donörden karaciğer

transplantasyonunun bazı avantajları vardır; en uygun bekleme zamanında elektif ameliyat şansı vardır; karaciğer sağlıklı bir donörden, uygun koşullarda alındığından daha güvenlidir; organ akraba bir donörden alındıysa, immünolojik benzerlik nedeniyle uzun dönem sonuçları daha iyi olmaktadır. Hastaların büyük çoğunluğu için sol lateral segment yeterli olacağından, donör güvenliği açısından canlı böbrek donörüne yakın bir mortalite ve morbidite riski oluşturduğu bildirilmektedir (%0,2) (2,3).

## İMMÜNSUPRESİF İLAÇLAR

İlk başarılı böbrek nakli 1954 yılında tek yumurta ikizleri arasında, immünsupresyon ihtiyacı olmaksızın yapıldı. O tarihten bu yana allojenik solid organ transplantasyonu alanında çok hızlı ilerlemeler sağlandı. Her yıl artan transplantasyon sayısına paralel olarak başarılı sonuçlarda artış; endikasyonlarında genişleme sağlandı.

İnsanda karaciğer transplantasyonu, ABD'de 1960'ların sonunda Dr. Thomas Starzl tarafından başlatılmıştır. İlginç olanı, bu ilk hastaların çoğu ,son dönem karaciğer yetmezliği olan pediatrik hastalardır. Ne yazık ki bu erken serilerde, karaciğer transplantasyonundan sonra 1 yıllık yaşam oranı, pediatrik ve yetişkin hastalarda sadece %19 olmuştur. Bu yaşam oranı, cerrahi teknikteki ilerlemeler ve yeni immünsupresif ilaçlara rağmen 1970'li yıllara kadar değişmedi. Ancak o yıllarda, CsA'nın klinik kullanıma girmesi ile her iki hasta grubunda, 1 yıllık sağ kalım oranı anlamlı derecede arttı (2,3,7,11,12,38,41,43,48,49,57,61)

İmmünobiyojoloji ve immünofarmakolojide son gelişmeler, immünsupresif ilaçların etkilerinin çok iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Vücut immün sistemi, kendinden olmayan (yabancı) proteinleri tanıma yeteneğine sahiptir. Genetik olarak özdeş olmayan iki birey arasında yapılan organ transplantasyonunda, nakledilen organ rejeksiyon olarak adlandırılan süreç sonunda harabiyete uğrayabilir. Bu süreci önlemek ya da zararlarını en aza indirmek amacıyla, geçen 4 yıl içerisinde bir çok yeni ilaç kullanıma girmiş ve bir o kadarı da deney aşamasındadır. 1980'li yıllarda CsA ve monoklonal antikör OKT3 (muromonab-CD3), solid organ transplantasyonunda büyük bir gelişme sağlamış ve 1 yıllık greft yaşam oranı elde edilmiştir. Buna rağmen, akut allogreft rejeksiyon sıklığı devam etmiş, bunun sonucunda 1 yılda greft kaybı ve daha sonra kronik rejeksiyona bağlı greft kaybı önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmıştır. Ayrıca CsA, AZA ve

kortikosteroidlerin nefrotoksisite, diabetes mellitus ve lenfoproliferatif hastalıklara neden olma gibi yan etkileri mevcuttur (11) İdeal immüno-supresif ilaç arayışları hep devam etmiştir. Bu amaçla, son yıllarda solid organ transplantasyonunda takrolimus (FK506) ve daha sonra mycophenolate mofetil (MMF;RS-61443) klinik kullanıma girmiştir (11,14,19,20,33 48). Değişik gruplar tarafından immüno-supresif tedavinin induksiyon ve devamında çok farklı ilaç kombinasyonları kullanılmaktadır. Transplantasyonda kullanılan başlıca ilaçlar ve etki mekanizmaları;

- Anti-inflamatuvar: Kortikosteroidler
- Hücre bölünmesinin non-spesifik inhibisyonu: Siklofosfamid, azathioprin
- Lenfositlerde de novo purin sentezinin selektif inhibisyonu: Mycophenolate mofetil, mizoribine
- Pirimidin sentezinin inhibisyonu: Brequinar
- İnterlökin (IL)-2 gen transkripsiyonunun inhibisyonu: Siklosporin ve tacrolimus
- Effektör hücrelerde IL-2 etkisinin inhibisyonu: Sirolimus
- Monoklonal antikorlarla (Mab) spesifik bölgelere etki:
  - 1-Murin anti-cd3 Mab:Baziliximab
  - 2-Anti IL-2 reseptör monoklonal antikorları:
    - a.Kimerik IL-2R Mab:Baziliximab
    - b İnsan IL-2R Mab:Daclizumab
  - 3-Anti-T hücre reseptör Mab:T10B9 1A-31
- İnsan lenfositlerine karşı poliklonal antikorlar (antithymosit globulin): Antitimosit globulin (ATGAM)
- Ko-stimülatör yol blokajı:(B7 ve cd28'in ko-stimülasyon blokajı): Sítotoksik T lenfosit antikor (CTLA4Ig), anti-cd40Mab
- Molekül adezyonunun blokajı: LFA-1 (leukocyte function-associated antigen 1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), VCAM, VLA-4'dür.

İdeal bir immüno-supresyonda ilaç, rejeksiyonu önlemeli, enfeksiyöz komplikasyonlara yol açmamalı, yan etkileri minimum olmalı ve aşırı immüno-supresyon yapmamalıdır (11,48).

Siklosporin (CsA); *Tolypocladium inflatum* isimli mantardan üretilen bir siklik oligopeptid olup molekül ağırlığı 1202 dir. Siklosporin, 1979 yılında Calne ve ark. tarafından klinik kullanıma sokulmuştur. Siklosporinin, solid organ transplantasyonunda



immunsupressif ajan olarak klinik kullanıma girmesi ile karaciğer transplantasyonu yapılan hastalarda, hasta ve greft sağkalımında dramatik gelişme sağlamıştır. CsA, Starzl ve ark tarafından karaciğer transplantasyonunda kullanılması sonucu, AZA ve steroidle %30-35 olan 1-yıllık hasta sağkalımı %70'e çıkarılabilmektedir. Ancak CsA nefrotoksisite, nörotoksisite, posttransplant diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi ve hirsutizm gibi önemli yan etkileri mevcuttur. Bu yan etkileri çoğu zaman ilacın tolerabilitesini sınırlamıştır. Diğer taraftan, yüksek CsA düzeylerine rağmen, steroide dirençli akut ve/veya kronik rejeksiyon oluşabilmektedir. Bu koşullarda greft sağkalımını artırıcı yeni bir alternatif immunsupressif ilaç ihtiyacı doğmuştur (2,3,4,5,8,9,11,32,45,52)

### **Takrolimus**

Tacrolimus (FK506) Japonya'da yetişen *Streptomyces tsukubaensis* isimli bir mantardan, 1984 yılında elde edilmiş olup, molekül ağırlığı 822 olan polisiklik makrolid bir ilaçtır. FK506, 1989 yılında Pittsburg'da, karaciğer rejeksiyon tedavisinde deneysel olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1997 yılında klinik kullanıma girmiştir. FK506 immunsupressif etkisini, CsA ya benzer şekilde gösterir. IL-2, IL-3 ve IFN- $\gamma$  yı, CsA'dan 10 ile 100 kat daha güçlü olarak inhibe eder. Tacrolimus, FK506 bağlayıcı proteine (FKBP) bağlanır ve oluşan kompleks, T hücre aktivasyonundan sonra IL-2 indüksiyonunda önemli rol oynayan kalsinörin serin treonin fosfataz aktivitesini inhibe eder. Ancak FK506 immunsupresyonunun da birtakım yan etkileri mevcuttur. Bu yan etkiler organlara göre sıralanacak olursa:

- Böbrek: Böbrek fonksiyonlarında azalma; yüksek potasyum ve kreatinin düzeyi, düşük bikarbonat düzeyi
- Nörolojik: Baş ağrısı, konsantrasyon güçlüğü, uyuma güçlüğü, tremor, aşırı uyarılma, uyuşukluk ve karıncalanma, felç
- İmmünolojik: Viral enfeksiyon komplikasyonu ve lenfoproliferatif hastalık riskinde artma
- Gastrointestinal: Bulantı, kusma, iştah azalması ve diyare.
- Endokrin: Kan şekerinde yükselme
- Kardiyak: Aritmi, kardiyomiyopati

Bu yan etkilerin birçoğu doza bağımlı olup (11), yüksek kan düzeylerinde görülmektedir. FK506'nın terapötik doz aralığı dar olup, kan düzeyinin yakından takibi gerekmektedir. İlaç, yemeklerle alındığından emilimi azalabileceğinden, yemekten 1

saat önce ya da 2 saat sonra alınmalıdır. Tacrolimus karaciğerde sitokrom P450 sistemi ile metabolize olmakta ve safra ile atılmaktadır(15). Emilimi safra tuzlarından bağımsız olup, bu durum karaciğer alıcılarında kullanımını kolaylaştırmaktadır. Tacrolimusun kan düzeyi karaciğer fonksiyonlarından etkilenebilir (15,66)

Günümüzde tacrolimus, immüsupresyon ve rejeksiyonda önemli bir basamak oluşturmaktadır. Yan etkileri sıklıkla başarılı bir monitörizasyon ve doz ayarlaması ile kontrol altına alınabilir. Ayrıca tacrolimus, çocuklarda karaciğer transplantasyonunda, uzun dönemde iyi sonuçların alınmasında etkili bir tedavi seçeneği oluşturmuştur

### **Mycophenolate mofetil**

Mycophelote mofetil (MMF; RS-61443) FDA tarafından 1995 yılında immüsupresyonun devamında kullanılmak üzere onaylanmıştır. MMF, *Penicillium stoloniferum*'dan elde edilen, antibiyotik ve antifungal etkisi de bulunan, zayıf bir organik asittir. MMF oral veya intravenöz alındıktan sonra hızla aktif metaboliti olan mycophenolik asite (MPA) dönüşür. MPA, inosin monofosfat dehidrogenaz (IMPDH) aktivitesini reversible inhibe ederek, de novo pürin biosentezini ve takiben DNA sentezini engellemiş olur. T ve B lenfositleri, diğer hücrelere göre çok daha fazla bu yola bağımlıdır. Böylece T ve B lenfositlerin proliferasyonunu, antikor oluşumunu ve mitojen stimülasyonu ya da alloantijenlere bağlı gelişecek olan sitotoksik T hücre çoğalmasını önlemiş olur. MMF ayrıca, adezyon yapıcı moleküllerde glikozilasyonu önler. MMF güvenli dozlarda alındığında, genellikle iyi tolere edilir ancak bazı yan etkileri mevcuttur. Bu yan etkileri gastrointestinal problemler (diyare, gastrit, duodenit, özofajit) ve daha az sıklıkla hematolojik toksisiteyi (nötropeni veya trombositopeni) kapsamaktadır. Hematolojik yan etkileri azathioprinden belirgin olarak daha düşüktür. Ancak bu yan etkiler, doz azaltılması ya da takrolimus ve MMF'nin 2-4 saat aralarla alınmasıyla azaltılabilir (11,21,23,24,29,31,46).

Böbrek transplantasyonundaki başarılı sonuçlardan sonra MMF, karaciğer transplantasyonunda da kullanılmaya başlanmıştır (23,24,50). MMF'in ayrıca karaciğer transplantasyonunda, tedaviye dirençli rejeksiyonun önlenmesinde etkili olduğuna dair yayınlar bulunmaktadır (23,47). Diğer taraftan MMF'nin akut karaciğer allograft rejeksiyonunun önlenmesinde, kalsinörin inhibitörleri ile birlikte güvenle kullanılabileceğini gösteren farklı çalışmalar bulunmaktadır (38,43,49). MMF,

tacrolimusla birlikte kullanıldığında, tacrolimusun nefrotoksik etkilerini azalttığı bildirilmektedir (31,32).

## KARACİĞER REJENERASYONU

Memeli karaciğerinde rejenerasyon yeteneği, antik çağlardan beri bilinmektedir. Bununla birlikte, karaciğer hücre büyümesi ve rejenerasyonu ile ilgili en kapsamlı veriler, geçen yüzyıllarda parsiyel hepatektomi modelinden sonra karaciğerin hücre proliferasyonunun, eski boyutuna vardığında durmasının gözlenmesi ile elde edilmiştir. Çok yakın geçmişte yapılan hayvan modelleri sayesinde, parsiyel hepatektomiden sonra karaciğer yanıtı ile ilgili çok değişik sonuçlar elde edilmiştir (1,6).

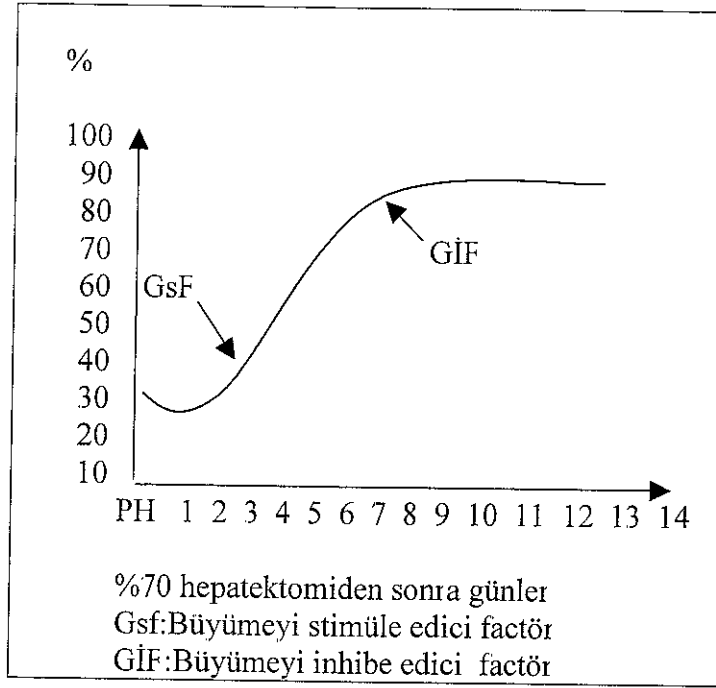
Rejenerasyon olayı ile ilgili evrimde; karaciğer hücre büyümesinin, büyümeyi stimüle edici ve inhibe edici faktörleri içeren çok basamaklı bir süreç olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen birçok bulgu, rejenerasyonu başlatan ve sürdüren faktörleri göstermiştir. Yine de çok yakın geçmişte tümör supresör genlerin tanımlanması ve doku immün sistem mekanizmasının karaciğer proliferasyonu ile ilişkisinin saptanması, bu alanda yeni umutların oluşmasına neden olmuştur (1).

## KARACİĞERİN REJENERASYON KİNETİĞİ

Bütün karaciğer hücrelerinin replikasyon yeteneğinde olmalarına rağmen, normal koşullarda sadece birkaç hepatosit proliferasyona uğrar (Proliferasyon indexi: ratlarda %0,3 ve köpeklerde %0,16 olarak hesaplanmıştır) Bu durum karaciğerin fonksiyonel kitlesinin, cerrahi rezeksiyon, viral ve kimyasal etkenlerle azalması durumunda, dramatik olarak değişir ve karaciğer kitle kaybı ve hasarı derecesine paralel olarak büyük bir patlama yapar

Klasik hepatic rejenerasyon modeli, ~%70 parsiyel hepatektomi (PHx) ile oluşturulmaktadır. Geride kalan loblar büyüyüp eski boyutuna gelinceye kadar rejenerolurlar. Ratlarda PHx'den sonra karaciğer rejenerasyonu 5-7 günde tamamlanmaktadır. Büyük hayvanlarda ve insanlarda bu süreç 2-3 hafta gibi bir zamana ihtiyaç duyar

Genel olarak karaciğer rejenerasyonunun, karaciğer eski boyutuna ulaşincaya kadar, organizma tarafından gönderilen pozitif ve negatif uyarılarla idare edilen çok planlı mükemmel bir süreç olduğu kabul edilmektedir.



**Şekil 1.** Ratlarda %70 hepatektomiden sonra karaciğer kitle değişimi

Parsiyel hepatektomiden sonra istirahat halinde bulunan matür karaciğer hücreleri, kaybolan dokuyu onarırlar. Bu hücreler; **hepatositler, endoteliyal hücreler, biliyer epitelyal hücreler, hepatik stellat hücreler ve Kupffer hücrelerini** kapsamaktadır. Diğer dokuların aksine karaciğerde, progenitör veya kök hücreler çok fazla rejenerasyon kapasitesine sahip değildir. Hepatositler ilk önce proliferer olurlar ve parankimal rejenerasyonda belirleyici rol oynarlar. İnsan karaciğeri normal koşullarda sessiz olup minimal replikasyon gösterir yani yaklaşık 20,000 hepatositten 1 tanesinde mitoz görülür. Doku hasarı veya kaybindan sonra, hücreler sırası ile istirahat fazından (**G<sub>0</sub>**) prereplikatif faza (**G<sub>1</sub>**), takiben DNA sentezi (**S**) ve mitozis (**M**) fazına geçerek hücre bölünmesini tamamlarlar. Prereplikatif faz, başlangıç (**G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>**) ve progresyon (**G<sub>1</sub>-S**) aşaması diye iki kısma ayrılabilir. PHx ten sonra istihattaki hepatositlerde DNA sentezi yaklaşık 12 saat sonra görülür ve takiben bazı hepatositler S fazına girmeye başlarlar. Mitoz, DNA sentezinden 6-8 saat sonra oluşur. Hepatik rejenerasyon süresince hepatositlerin çoğu ortalama bir-iki kez bölünürler. Hepatositler dışındaki hücrelerde (nonparankimal hücreler) bölünme genelde 24 saat gecikmeli başlar fakat aynı bölünme aşamalarını takip eder. Karaciğer orijinal boyutuna ulaştığında hepatositler tekrar istirahat durumuna geçerler ancak fonksiyoneldirler (1,10,17,18,22,39)

## KARACİĞER REJENERASYON MODÜLASYONU İLE İLİŞKİLİ FAKTÖRLER

Parsiyel hepatektomiden sonra Go fazında istirahat halinde bulunan hücreler, Go fazını terkederek mitotik faza geçerler. Bu ilerleme spesifik hormonal ve büyüme faktörlerinin kontrolü altında olup, spesifik protoonkogenlerin ekspresyonu ile birlikte dir.

Tablo 1'de karaciğer rejenerasyonunu kontrol eden, büyümeyi stimüle edici ve inhibe edici faktörlerin listesi bulunmaktadır. Bu substanslar rejenerasyonu başlatanlar (iniatörler), sürdürenler (progresörler), arttıranlar (augmenterler) ve durduranlar (inhibitörler) diye invitro ve invivo biyolojik aktivitelerine göre dört gruba ayrılırlar (1,5).

**Tablo 1.** Hepatik growth faktörlerin in vitro ve in vivo etkilerine göre sınıflandırılması

<i>Stimülatör faktörler</i>		<i>Inhibitör faktörler</i>		
Sadece in vitro	in vitro ve in vivo	sadece in vivo	sadece in vitro	in vitro ve in vivo
Prolaktin	HGF	T3	IL-1	IGF- $\beta$
Angiotensin	IGF- $\alpha$	İnsülin	IL-6	Rapamycin
Vazopressin	Safra tuzları	IGF-II	Tamoksifen	
Norepinefrin		ALR		
Östradiol		Cyc A		
Glukagon		FK506		
EGF				

Bu faktörlerin birçoğu çok iyi bilinmekte olup daha önceki çalışmalarda detaylı olarak tanımlanmıştır. Augmenterler diye adlandırılan hepatotrofik faktörler son yıllarda keşfedilmiştir (5)

#### 1-REJERASYONU BAŞLATAN FAKTÖRLER (İNİTİATÖRLER):

Bu gruptaki hepatotrofik faktörler, hepatosit kültürlerinde (Go-M) sadece in vivo olarak Go-G1 geçişinde proliferasyonu indükleyen faktörlerdir. Bu faktörler kendi içinde üç guruba ayrılırlar; iyonlar, besinler ve hormonlar.

#### 2-REJENERASYONU SÜRDÜREN FAKTÖRLER (PROGRESÖRLER):

Bu guruptaki substansların çoğu, hem invitro hem de invivo olarak etki edebilen faktörlerdir. Bunlar initiatörlerin stimülatör etkilerini güçlendirerek, hücrelerin bölünme sikluslarını tamamlamalarına izin verirler. Bu gurubun başlıcaları hepatosit growth faktör (HGF), transforming growth faktör- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) ve T3'dür. Son zamanlarda safra tuzları da bu guruba dahil edilmiştir.

#### 3-REJENERASYONU ARTTIRAN FAKTÖRLER (AUGMENTERLER):

Bu substanslar, in vitro olarak herhangi bir stimülatör etki göstermezler, yalnızca in vivo olarak hepatosit proliferasyonunu arttıırırlar. Bu gruptaki faktörlerin başlıcaları; CsA, FK506, insülin, insülin like growt faktör II (ILGF-II) ve ALR (augmenter of liver regeneration) olarak isimlendirilen faktörlerden oluşurlar.

#### 4-REJENERASYONU DURDURAN FAKTÖRLER (İNHİBİTÖRLER):

Bu guruptaki faktörler, hepatosit DNA sentezini inhibe ederek karaciğer rejenerasyonunu modüle eden faktörlerdir. Bu gurupta İL-1 ve İL-6 gibi sitokinler, Transforming growth faktör $\beta$  (TGF $\beta$ ) gibi büyüme faktörleri, Kupffer hücre hepatosit inhibitör (KCHI) ve rapamycin bulunmaktadır (1,5).

### **KARACİĞER TRANSPLANTASYONU VE HEPATİK REJENERASYON**

Bütün karaciğer transplantasyonlarında donör organ bir miktar hasara maruz kalır. Başarılı bir greft fonksiyonu için, bu hasarın yeterli bir hepatik rejenerasyonla kompanse edilmesi gerekir. Bu rejenerasyon hipoksi, reperfüzyon, iskemi veya rejeksiyon nedeniyle kayba uğrayan karaciğer hücrelerinin replase edilmesi ile mümkündür (2,3,4,5,10,17,19).

Ayrıca donör organ, sıklıkla hastalık nedeniyle çıkarılan organdan daha küçüktür. Sonuçta greft, karaciğer alıcısının uzun dönem metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için çok küçük kalır ve grette 100-140g/gün'lük büyümeyi sağlayan kompansatris hipertrofi oluşur. Karaciğer transplantasyonundan sonra görülen bu hepatik büyüme, otokrin ve parakrin yollarla etki eden endojen faktörlerin salınımı, CsA ve FK506 gibi büyümeyi stimüle edici faktörlerin varlığı sonucunda mümkün olur (2,5).

Uzun süre iyi tolere edilen başarılı bir greftte rejenerasyon, hepatik ve portal fibrozis olmaksızın kalın hepatik plakların oluşumu ve nodüler hepatik rejenerasyonla ortaya çıkar. Şiddetli rejeksiyona maruz kalan greftte, ileri derecede rejenerasyonla birlikte nodül formasyonu, safra kanalı proliferasyonu, sirotik nodülleri stimüle edebilen skar köprüleri oluşur. Transplante edilen bütün karaciğerlerde bu şekilde ileri derece bir rejenerasyon görülür (2,3,16).

Karaciğerin bu büyüme süreci, köpek ve rat modellerinde yaygın olarak çalışılmıştır. Bu çalışmalarda karaciğer büyümesi, çok çeşitli parametrelerle karakterize edilmiştir. Bu parametreler; direk rejenerasyon indeksleri (DNA sentezi, çekirdek işaretlenmesi ve takiben mitozis) ve rejenerasyonu indirekt olarak gösteren parametrelerdir (sistemik insülin ve glukagon, dolaşımdaki sex steroidleri ve onların sitozolik ve karaciğer reseptörleri, TGF- $\beta$  mRNA, c-Ha-ras mRNA ve c-jun mRNA). Boyutu küçültülerek yapılan karaciğer transplantasyonundan sonra görülen bu değişiklikler, %70 hepatektomiden sonra oluşan değişikliklerle paralellik gösterir. Ancak DNA sentezinin, hayvan modellerinde %70 hepatektomiden 24 saat sonra pik yapmasına karşın, genellikle transplantasyondan 2-3 gün sonra pik yapmaktadır (8,9,13,17,28).

Son zamanlarda, timidin kinaz (TK) ve ornitin dekarboksilaz (ODC) plazma seviyelerindeki değişikliklerin, karaciğer rejenerasyonu esnasında olduğu gösterilmiştir. Ratlarda, %70 hepatektomiden sonra bu iki enzimin tayini, karaciğer rejenerasyon takibinde pratik ve non-invaziv bir metod oluşturmuştur (1,5). Benzer gözlemler insanlarda da yapılmıştır. Parsiyel hepatektomi yapılan hastalarda, 24 saat sonra, DNA sentezinin bir göstergesi olan TK aktivitesinde artış olur ve takiben polyamin sentezi için gerekli bir enzim olan ODC serum seviyesinde önemli yükselme görülür. Bu iki parametre, hayvanlarda da biraz gecikmeli olarak yükselir. Hepatik rejenerasyon ayrıca bilgisayarlı tomografi (BT), sintigrafi, magnetik rezonans (MRI) gibi yöntemlerle kabaca değerlendirilebildiği gibi, flowcytometri ile DNA s fazı ve

ploidy tayini, PCNA ekspresyonu (immün boyama), Northern ve Western blot analizi, [3H] thymidine ve 5'bromo2'deoxyuridine (BrdU) incorporation yöntemleri ile de değerlendirilebilir (2,5,7,8,14,25) Majör bir rezeksiyondan sonra karaciğerin eski boyutuna gelmesi insanlarda 3 hafta, ratlarda 8-10 gün ve köpeklerde 14 günde gerçekleşmektedir (1)



## MATERYAL VE METOD

Bu deney Akdeniz Üniversitesi İbn-i Sina Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada, Wistar- Albino tipi, ortalama 6 aylık erkek ratlar kullanıldı. Ratların ağırlığı 230-350 gr. arasında idi.

Kontrol grubunda 10 rat ve diğer gruplarda 10'ar rat olmak üzere toplam 40 adet rat kullanıldı. Ratlar, operasyondan önce iki kefeli terazide tartılıp ağırlıkları kaydedildikten sonra, Xylocin hidroklorür (10 mg/kg) ve Ketamin hidroklorür (50 mg/kg) anestezisi ile uyutuldu. Ameliyat masasına supin pozisyonda ekstremitelerinden tespit edildi ve karın ön duvarındaki kıllar traş edildi. Operasyona başlamadan önce, saha povidon iodine solüsyonu ile dezenfekte edildi. Tüm ratlarda steril cerrahi aletler kullanıldı ve cerrahi girişimler aseptik koşullarda yapıldı. Bütün ratlara post-op subkutan (s.c) yoldan izotonik NaCl solüsyonu ve analjezik tedavisi verildi. Ratlar standart yem ile beslendi ve musluk suyu içirildi.

Karaciğer rejenerasyonu, makroskopik olarak karaciğerde oluşan ağırlık artışı, histopatolojik olarak PCNA (immün boyama), görüntü analizi yöntemi ile proliferasyon indeksi ve hücrelerin Go-G1-G2-S fazlarına bakılarak değerlendirildi. Proliferasyon indeksi  $\geq 1$  olanlar pozitif,  $PI \leq 1$  olanlar negatif değer olarak kabul edildi.

### Gruplar:

#### Grup I (Kontrol grubu, baz değerler için):

Anestezi ve kesi yeri dezenfekte edildikten sonra, 5 cm.'lik ortahat kesisi yapıldı. %70 hepatektomi, Higgins ve Anderson'un tarif ettiği yöntemle yapıldı. Çıkarılan karaciğerin ıslak ağırlığı, hassas terazide tartılarak kaydedildi. Karaciğer dokusu %10 formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Karın duvarı iki planda kapatıldı. Bu gruptaki ratlara herhangi bir ilaç verilmedi.

Post-operatif 8.gün ratlar uyutulup sakrifiye edilerek kalan karaciğer dokusu çıkarıldı, ıslak ağırlığı hassas terazide tartılarak kaydedildi. Daha sonra karaciğerden kesitlerle doku örneği alınıp, dokudaki kan, kuru gazlı beze emdirildikten sonra, 3 adet

lama imprint yöntemi ile bastırıldı. Karaciğer dokusu, rejenerasyon değerlendirilmesi amacıyla %10 formaldehit solüsyonunda tespit edildi.

#### Grup II (Mycophenolate mofetil-MMF- grubu):

Bu gruptaki ratlara, aynı teknikle laparotomi ve %70 hepatektomi yapıldıktan sonra, çıkarılan karaciğer dokusu hassas terazide tartılarak ıslak ağırlıkları kaydedildi. Çıkarılan karaciğer %10 formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Ratlara 7 gün boyunca, günde bir defa, sabah aç bırakılmaksızın, 12 F orogastrik sonda yutturularak, 30 mg/kg dozda mycophenolate mofetil verildi. Post-op. 8.gün ratlara tekrar anestezi verilip sakrifiye edilerek, kalan karaciğer dokusu çıkarılıp hassa terazide tartıldı ve ıslak ağırlıkları kaydedildi. Grup I deki gibi imprint ve doku örnekleri alındı.

#### Grup III (Tacrolimus-FK506-grubu):

Bu gruptaki ratlara aynı teknikle laparotomi ve %70 hepatektomi yapılarak çıkarılan karaciğer dokusu hassas terazide tartılıp ıslak ağırlıkları kaydedildi. Çıkarılan karaciğer dokusu %10 formaldehit solüsyonunda fixe edildi. Ratlara 7 gün boyunca, günde bir kez 12 F orogastrik sonda yutturularak 0,1 mg/kg dozunda tacrolimus (FK506) verildi. Post-op 8 günde ratlar anesteziden sonra sakrifiye edilerek, kalan karaciğer dokusu çıkarılıp hassas terazide tartıldı ve ıslak ağırlıkları kaydedildi. Diğer gruplara benzer şekilde doku örnekleri alındı.

#### Grup IV (FK506+MMF grubu):

Bu gruptaki ratlara da benzer teknikle %70 hepatektomi yapıldı. Ratlara 7 gün boyunca, günde bir kez 12 F orogastrik sonda yutturularak 20 mg/kg mycophenolate mofetil + 0,1 mg/kg tacrolimus verildi. Post-op 8. gün ratlar anaetezi ile uyutulduktan sonra sakrifiye edilerek diğer gruplara benzer şekilde karaciğer doku örnekleri alındı.

#### **Histopatolojik değerlendirme**

Post-op. 8. günde çıkarılan karaciğer dokularından hazırlanan spesmenler uygun koşullarda Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Rat karaciğer örnekleri, önce doku takibine alındı. Bir gün sonra örneklerin parafin blokları hazırlanarak 0.5 µm kalınlığında kesitler hazırlandı ve preparatlar yaklaşık 58°C'lik etüvde 2 saat kadar kurutuldu. Sonra preparatlar üzerindeki parafin, ksilol, alkolden geçirilerek, auyun içine alındı ve immünohistokimyasal boyamaya geçildi.

Önce preparatlar pH'ı 6 olan sitrat Buffer içinde microvawe'de 10 dakika, 90°C'de kaynatılıp, oda ısısında 20 dakika bekletildi. Preparatlar, DAKO LSBA-2 system peroxidase yöntemi ile monoklonal mouse anti-proliferating-cell nuclear antigen (PCNA-Clone PC10-DAKO) primer antibody ile çalışıldı. Sonra preparatlar üzerine:

1. %0,3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatıldı (10 dk),
2. PBS'de 5 dakika yıkandı,
3. Primer antibody ile (PCNA) 1/50 oranında sulandırılarak 30 dakika bekletildi,
4. Preparatlar PBS'de 5 dakika yıkandı,
5. Biotinle konjuge sekonder antibody damlatıldı (15 dk),
6. Tekrar preparatlar PBS'de yıkandı (15 dk),
7. Streptovidin-peroksidazla konjuge substrat damlatıldı (15 dk),
8. Preparatlar tekrar PBS'de 5 dk. daha yıkandı Sonra preparatlar üzerine DAB-Diamino Benzidin'e (Cromogen) damlatıldı. 5 dakika kadar devam edildi. Bu işleme dokular renklenince son verildi ve preparatlar çeşme suyunda yıkandı.
9. Zıt boyama için Hematoksilen-Eozin kullanıldı ve bu ortalama 2 dakika sürdü. Bu aşamaların hepsi nemli, oda ısısında yapıldı.

#### **Görüntü Analiz Yöntemi İle DNA Analizi:**

Hepatektomi materyallerinden hazırlanan "imprint" (dokunma) preparatlar DNA için spesifik Feulgen-Pararosanilin metodu ile boyandı Bohm- Sprenger metodu ile fikse edilen preparatlar ; hidrasyon, 6N HCl ile hidroliz ve suda yıkama aşamalarından sonra sülfür banyolarını takiben Schiff solusyonu ile boyandı Feulgen boyalı preparatlarda , bilgisayara bağlı Leica-DMLB mikroskopda, x 400 büyütmede, "Samba 2000 Ploidy" programı ile DNA miktarı ölçüldü. Herbir örnekden DNA miktarına göre hücre dağılımlarını gösteren histogramlar elde edildi. Bu histogramlarda hücre siklusu değerlendirildi. Her bir örnekte ortalama 200 hücre sayıldı Eksternal referans olarak aynı koşullarda hazırlanan yaymalardaki nötrofil polimorflar kullanıldı.

#### **İstatistiksel analiz:**

- Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi,
- Sayısal verilerin ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi,
- Eğer sonuç anlamlı ise iki grup ortalamasının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı İstatistiklerde  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi

## BULGULAR

Grup I de 1 rat (%10), grup II de 2 rat (%20), grup III 1 rat (%10), grup IV te 5 rat (%50) olmak üzere toplam 9 rat, deneyin değişik aşamalarında öldüğünden çalışma dışı bırakıldı. Grup I ve grup III deki ratlarda, grup IV deki 2 ratda ölüm nedeni, operasyondan birkaç saat sonra meydana gelen intraabdominal kanama, grup II deki 2 ve grup IV deki 3 ratdaki ölüm nedeninin ise, post-op 5-7'inci günlerde, muhtemelen immüsupresif ilaçların yan etkilerine bağlı olarak gelişen diyare, beslenememe, ileri derecede kilo kaybına bağlı olduğu düşünüldü.

Grup I de deney öncesi rat ağırlıkları  $298 \pm 27$  gr, grup II de  $267 \pm 24$  gr, grup III te  $289 \pm 46$  gr, grup IV te  $300 \pm 24$  gr olarak hesaplandı. Deney öncesi rat ağırlıkları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0,088$ ). Deney sonrası rat ağırlıkları grup I de  $283 \pm 27$  gr, grup II de  $230 \pm 28$  gr, grup III te  $279 \pm 23$  gr, grup IV te  $254 \pm 53$  gr olarak hesaplandı. Deney sonrası rat ağırlıklarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p=0,011$ ). Deney sonrası ağırlık azalması grup I de  $15 \pm 6$  gr, grup II de  $38 \pm 19$  gr, grup III te  $28 \pm 25$  gr, grup IV te  $36 \pm 15$  gr olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı fark vardı ( $p=0,006$ ) (Tablo II)

**Tablo II:** Rat ağırlıkları (gram)

	Deney öncesi	Deney sonrası	Değişim
	Ort $\pm$ std	Ort $\pm$ std	Ort $\pm$ std
Kontrol	$298 \pm 27$	$283 \pm 27$	$-15 \pm 6$
MMF	$267 \pm 24$	$230 \pm 28$	$-38 \pm 19$
FK506	$289 \pm 46$	$279 \pm 23$	$-28 \pm 25$
MMF+FK506	$300 \pm 24$	$254 \pm 53$	$-36 \pm 15$
P	0 088	0 011	0,006

Gruplar, tek tek ele alındığında en fazla ağırlık kaybının grup II ve IV te ortaya çıktığı görüldü. Gruplar karşılaştırıldığında, grup II deki ağırlık kaybının grup I e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğu görüldü ( $p=0,011$ ). Grup I ile grup III arasında istatistiksel fark yoktu ( $p=0,123$ ). Grup IV deki ağırlık kaybının grup I e göre istatistiksel olarak fazla olduğu saptandı ( $p<0 001$ ). Grup II ile grup III ve grup IV

arasında istatistiksel fark yoktu (sırasıyla  $p=0,111$  ve  $p=0,539$ ). Yine grup III ve IV arasında istatistiksel fark yoktu ( $p=0,115$ ) (Tablo III)

**Tablo III:** Gruplar rat ağırlık değişimleri karşılaştırması

		p
Kontrol	MMF	0.011
Kontrol	FK506	0.123
Kontrol	MMF+FK506	<0,001
MMF	FK506	0.111
MMF	MMF+FK506	0.539
FK506	MMF+FK506	0.115

Bütün gruptaki ratlara % 70 hepatektomi yapıldı. Çıkarılan karaciğer ağırlıkları sırasıyla grup I de  $6,3\pm 1,4$  gr grup II de  $6,4\pm 1,3$  gr. grup III te  $6,8\pm 1,0$  gr. grup IV te  $6,0\pm 1,0$  gr olarak hesaplandı. Çıkarılan karaciğer ağırlıkları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0,509$ ). Tek tek rat ağırlığı baz alınarak, çıkarılan karaciğer oranının %70 olduğu varsayılarak, geriye kalan %30 karaciğer ağırlığı hesaplandığında; grup I de  $2,7\pm 0,6$  gr., grup II de  $2,7\pm 0,6$  gr., grup III te  $2,7\pm 0,4$  gr., grup IV te  $2,9\pm 0,5$  gr. olarak saptandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0,727$ ). 7 günlük süre sonunda ratlara harvesting ile total hepatektomi yapıldığında, çıkarılan karaciğer ağırlıkları sırasıyla grup I de  $7,9\pm 1,2$  gr., grup II de  $6,7\pm 1,3$  gr., grup III te  $5,9\pm 1,1$  gr., grup IV te  $7,8\pm 0,9$  gr. olarak hesaplandı ve gruplar arasında istatistiksel fark vardı. ( $p=0,002$ ) Her grupta karaciğerde meydana gelen ortalama artış hesaplandığında; grup I de  $5,2\pm 0,9$  gr., grup II de  $3,9\pm 0,9$  gr., grup III  $5,5\pm 0,8$  gr., grup IV te  $3,3\pm 0,8$  gr., olarak tespit edildi ve gruplar arasında istatistiksel fark vardı ( $p<0,001$ ). Gruplar tek tek ele alınıp karşılaştırıldığında, grup I de, grup II ve IV e göre istatistiksel olarak anlamlı ağırlık artışı meydana geldiği görüldü (sırasıyla  $p=0,013$  ve  $p<0,001$ ). Grup I ve grup III arasında anlamlı fark yoktu ( $p=0,91$ ). Grup II ile grup III ve IV karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (sırasıyla  $p=0,013$  ve  $p=0,015$ ) Grup III ve IV karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ( $p<0,001$ ) (Tablo IV ve V)

**Tablo IV:** Karaciğer ağırlıkları (gram)

	% 70 HT	%30 HT	Deney sonrası HT	Değişim
	Ort ± std	Ort ± std	Ort ± std	Ort ± std
Kontrol	6,3 ± 1,4	2,7 ± 0,6	7,9 ± 1,2	5,2 ± 0,9
MMF	6,4 ± 1,3	2,7 ± 0,6	6,7 ± 1,3	3,9 ± 0,9
FK506	6,8 ± 1,0	2,7 ± 0,4	5,9 ± 1,1	5,5 ± 0,8
MMF+FK506	6,0 ± 1,0	2,9 ± 0,5	7,8 ± 0,9	3,3 ± 0,8
P	0.509	0.727	0 002	<0,001

**Tablo V:** Gruplar arası karaciğer ağırlık değişimleri karşılaştırması

		p
Kontrol	MMF	0.013
Kontrol	FK506	0.91
Kontrol	MMF+FK506	<0,001
MMF	FK506	0.013
MMF	MMF+FK506	0.015
FK506	MMF+FK506	<0,001

Bütün gruplar, tek tek ve kendi aralarında histopatolojik olarak karaciğer proliferasyonu açısından değerlendirildi. Karaciğer rejenerasyonu PCNA ve Görüntü Analiz Yöntemi ile proliferasyon indeksi, hücrelerin Go-G1 fazı, G2-M fazlarına bakılarak değerlendirildi.

PCNA değerleri baz alındığında; grup I de  $280 \pm 97$ , grup II de  $259 \pm 75$ , grup III de  $350 \pm 105$ , grup IV de  $356 \pm 56$  olarak hesaplandı ve gruplar arasında, PCNA esas alındığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p=0,238$ ) (Tablo VI).

**Tablo VI:** Gruplara göre PCNA oranları

	PCNA
	Ort ± std
Kontrol	$280 \pm 97$
MMF	$259 \pm 75$
FK506	$350 \pm 105$
MMF+FK506	$356 \pm 56$
P	0 238

Gruplar proliferasyon indekslerine (PI) göre değerlendirildiğinde grup I de PI %30 pozitif, %70 negatif, Grup II de PI %20 pozitif, %80 negatif, Grup III de PI %80 pozitif, %20 negatif, Grup IV de PI %30 pozitif, %70 negatif olarak saptandı. Gruplar karşılaştırıldığında sadece grup III de proliferasyon indeksinde anlamlı derecede pozitif değer (PI  $\geq$ 1) olduğu gözlemlendi (p=0,027) (Tablo VII).

**Tablo VII:** Gruplara göre proliferasyon durumu

	>1 (pozitif)	%	<1(negatif)	%
Kontrol	3	30	7	70
MMF	2	20	8	80
FK506	8	80	2	20
MMF+FK506	3	30	7	70
P	0 027			

Go-G1 fazlarına bakılarak gruplar değerlendirildiğinde, Go-G1 faz değeri grup I de  $39,2 \pm 18$ , grup II de  $42,0 \pm 8,7$ , Grup III de  $41,0 \pm 22$ , grup IV de  $51,0 \pm 15$  olarak tespit edildi ve Go-G1 faz değerleri baz alındığında gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı görüldü (p=0,238) (Tablo VIII).

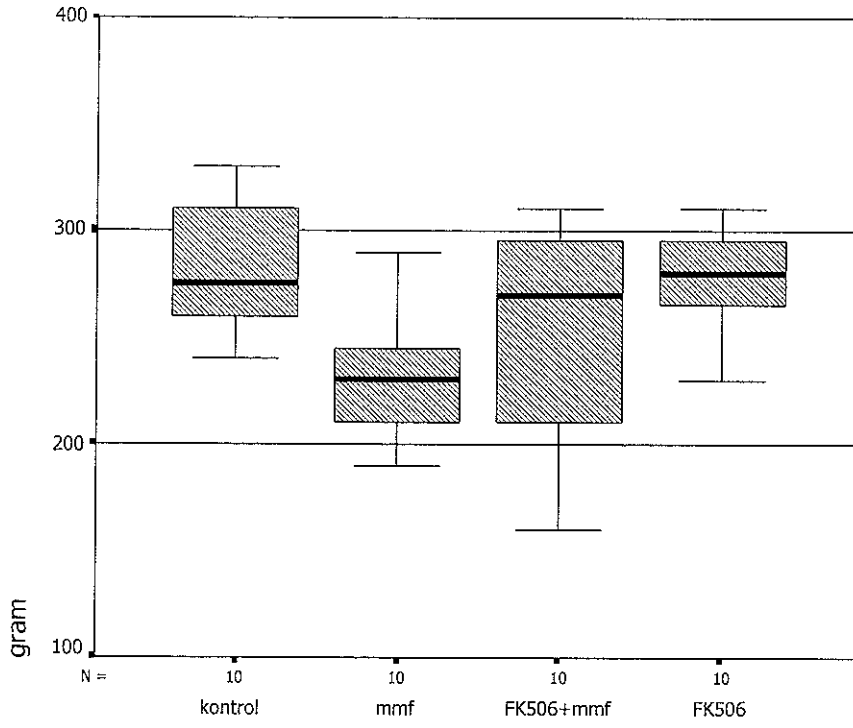
**Tablo VIII:** Gruplara göre hücrelerin Go-G1 faz oranları

	Go-G1 Ort $\pm$ std
Kontrol	$39,2 \pm 18$
MMF	$42,0 \pm 8,7$
FK506	$41,0 \pm 22$
MMF+FK506	$51,0 \pm 15$
P	0 238

G2-M değerlerine bakıldığında, grup I de G2-M faz değeri  $55,0 \pm 12$ , grup II de  $50,0 \pm 14$ , grup III de  $40,0 \pm 7,4$ , grup IV de  $35,0 \pm 13$  olarak hesaplandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (p=0,012) (Tablo IX).

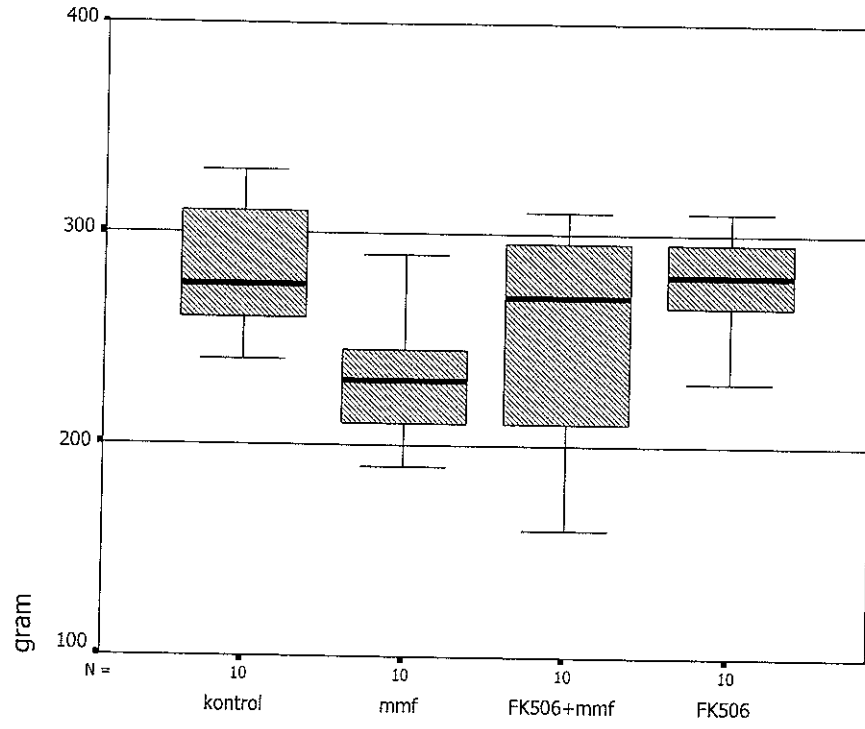
**Tablo IX:** Gruplara göre hücrelerin G2-M oranları

	G2-M Ort $\pm$ std
Kontrol	55.0 $\pm$ 12
MMF	50.0 $\pm$ 14
FK506	40.0 $\pm$ 7.4
MMF+FK506	35.0 $\pm$ 13
P	0.012

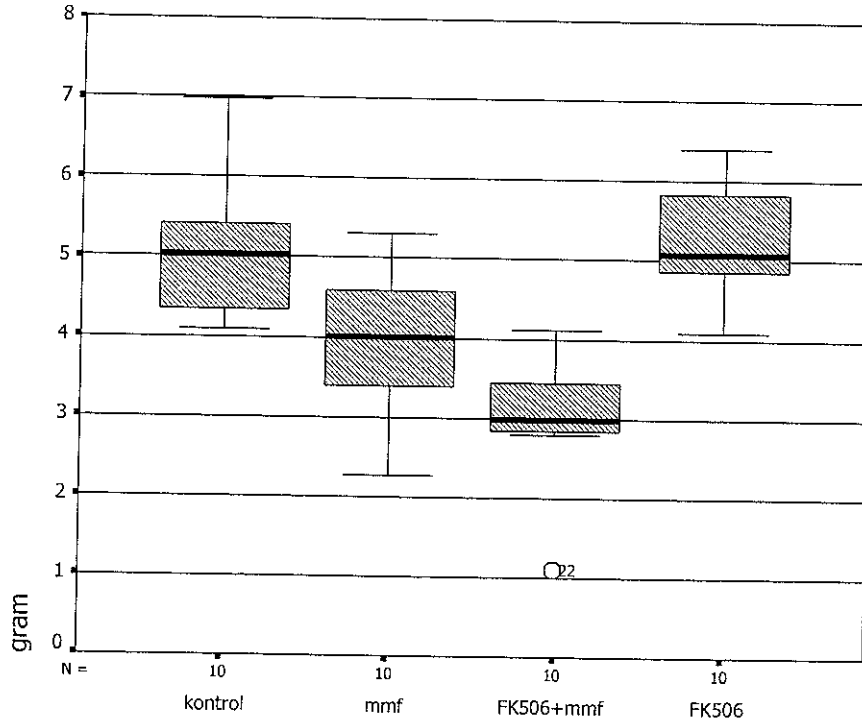


**Grafik 2:** Deney öncesi rat ağırlıkları

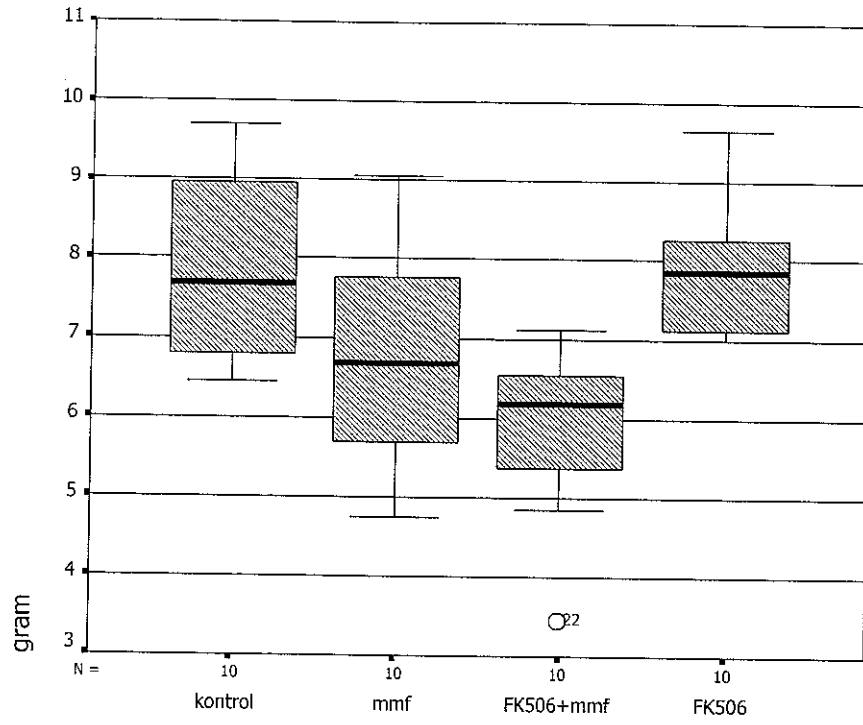




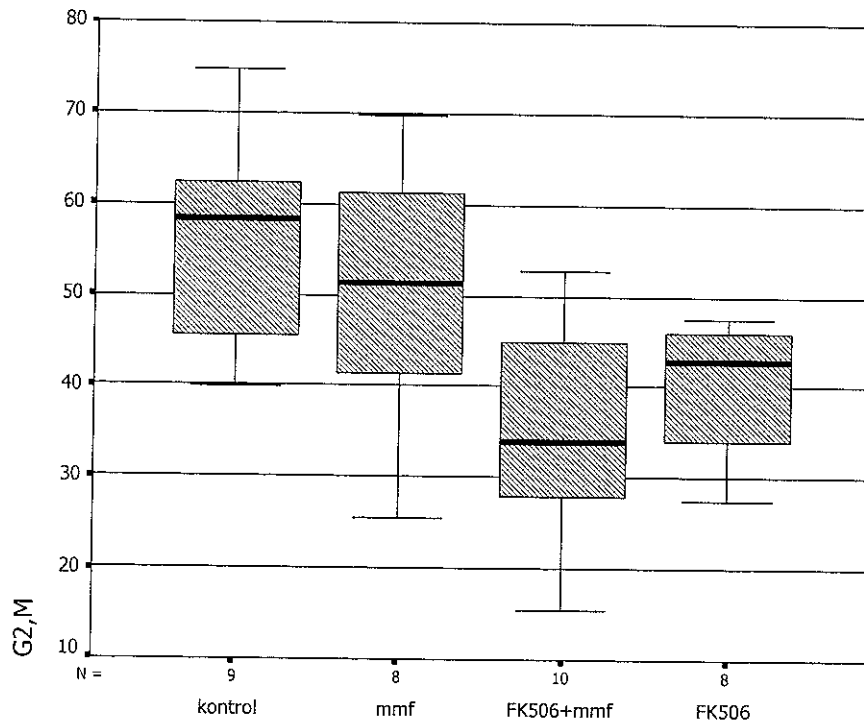
Grafik 3: Denedi sonrası rat ağırlıkları



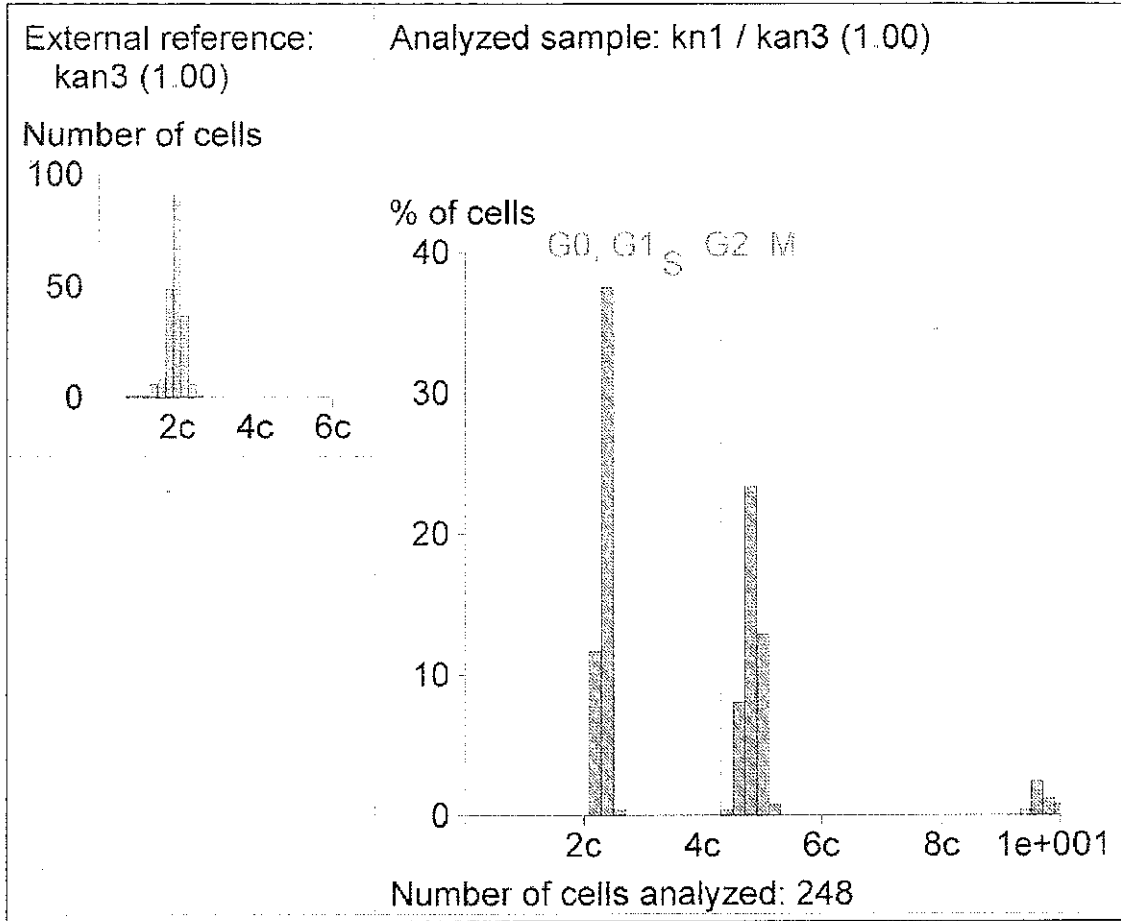
Grafik 4: %70 Hepatektomi ağırlıkları



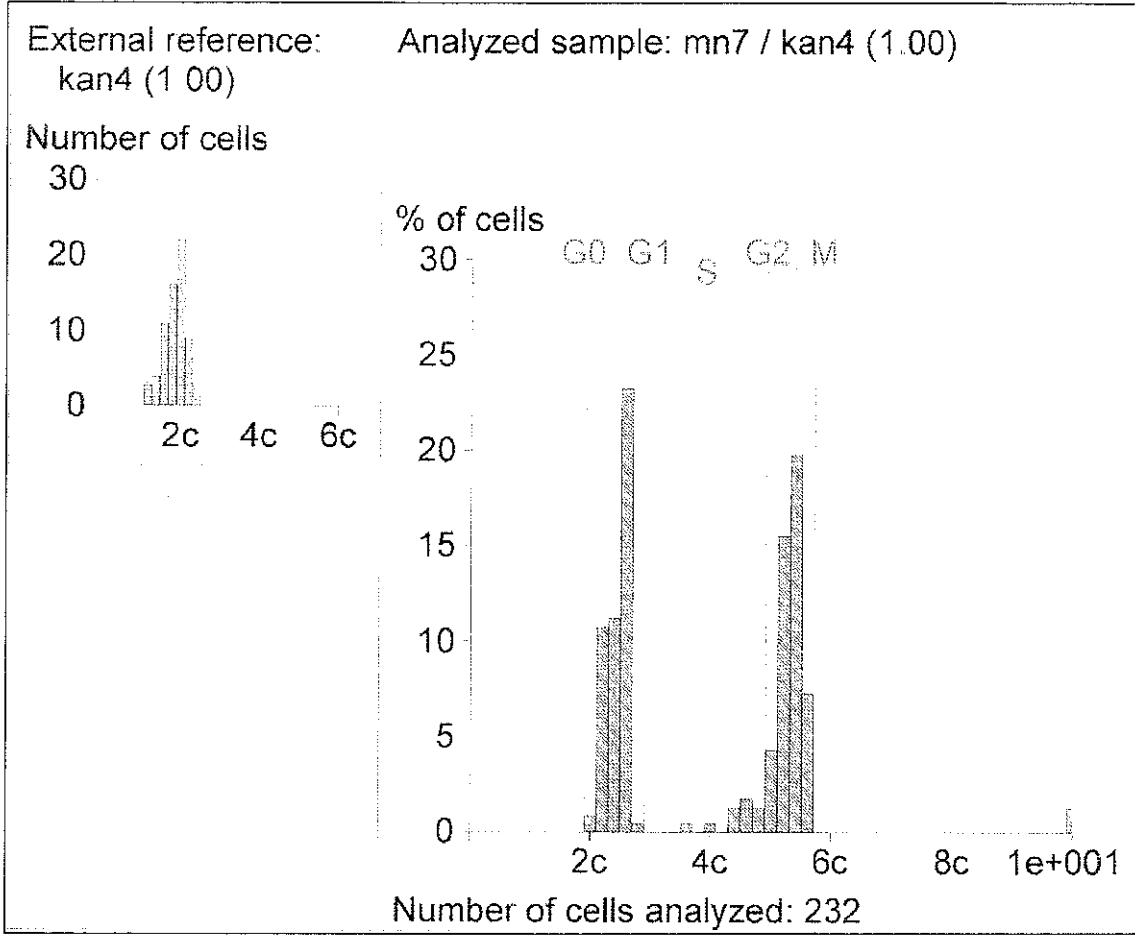
Grafik 5: Dency sonrası total hepatektomi ağırlıkları



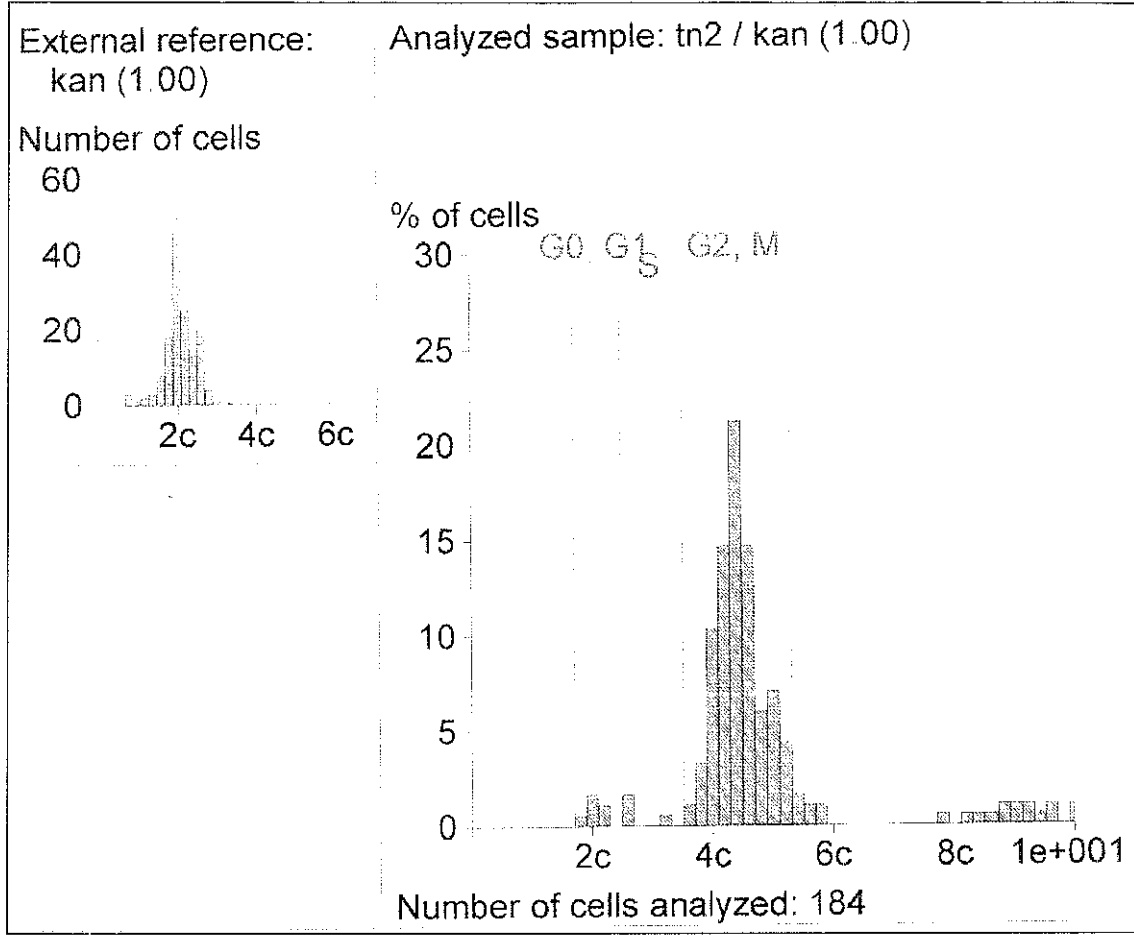
Grafik 6: Gruplara göre G2-M değerleri



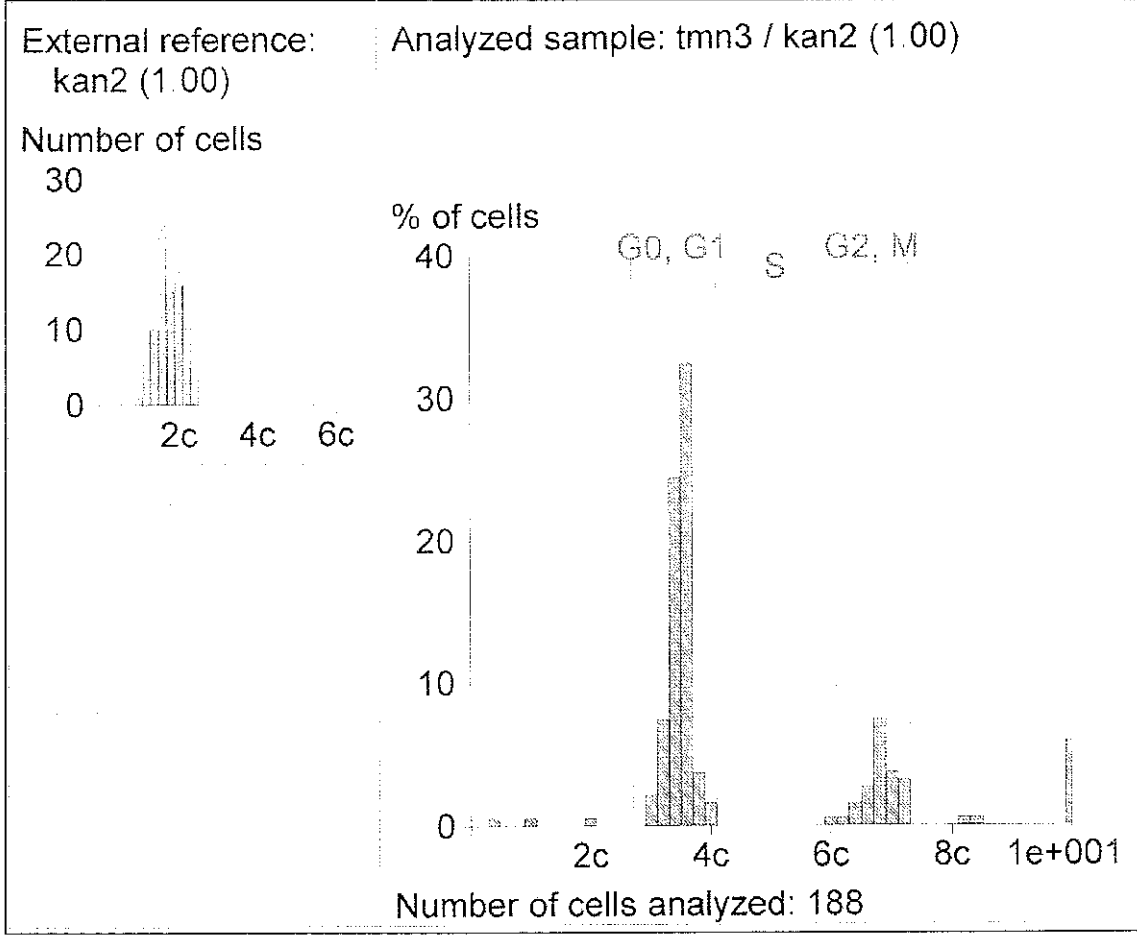
Şekil 1 Kontrol grubu görüntü analiz yöntemi örneği.



Şekil 2 MMF grubu görüntü analiz yöntemi örneği.



Şekil 3 FK506 grubu görüntü analiz yöntemi örneği.



Şekil 4. MMF + FK506 grubu görüntü analiz yöntemi örneği.

## TARTIŞMA

Karaciğer transplantasyonu, fonksiyonlarını önemli ölçüde kaybetmiş bir karaciğerin sağlıklı bir karaciğer ile değiştirilmesidir (2,3,4) Son yıllarda organ nakli alanında çok önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Organ alıcısı sayısının her gün artmasına karşın donör sayısı genellikle aynı kalmaktadır. Bu durum giderek organ yetmezliği ve organ temini arasında büyük bir açığa yol açmaktadır. Hastaların organ bekleme süreleri uzadıkça, morbidite ve mortalite oranlarında yükselme meydana gelmektedir. Bu yüzden, ileri yaşta olan ya da hemodinamik instabilitesi olan marginal donörden organ teminine yönelik yeni kavramlar geliştirilmiştir. Ancak, optimal donör ile marginal donörden organ temininde, hasta ve organın 5 yıllık yaşam oranı arasında yaklaşık %20'lik fark bulunmaktadır yani marginal donörden temin edilen organın sonuçları daha kötü olmaktadır. Bu nedenlerden dolayı, özellikle son dönem karaciğer yetmezliği olan pediatrik hastalarda, organ temini için değişik alternatif arayışlarına girilmiştir. Yaklaşık 35 yıl önce Smith, Canlı Akraba Vericili karaciğer transplantasyonunun teknik olarak yapılabileceğini bildirdi. Kadavra donörden ilk başarılı parsiyel karaciğer transplantasyonu 1984 yılında Houssin ve Bismuth tarafından, karaciğer masada bölünerek gerçekleştirildi. Bir sonraki gelişme, 1988 yılında kadavradan alınan bir karaciğerin bölünerek iki hastaya nakledilmesi oldu (split karaciğer transplantasyonu). İlk başarılı canlı akraba vericili karaciğer transplantasyonu 1989 yılında Strong ve ark. tarafından pediatrik bir hastaya yapıldı ve bundan çok kısa bir süre sonra Broelsch ve ark. ilk pediatrik hasta serisini bildirdiler. 1994 yılından sonra bir çok merkezde canlı akraba vericili karaciğer transplantasyonu başlatıldı.

Canlı akraba vericili karaciğer transplantasyonu başta olmak üzere, transplante edilen karaciğer dokusunun ne hızda, ne zaman, ne kadar ve hangi koşullarda rejenerasyon olacağı büyük önem taşımaktadır. Zira karaciğer alıcısının primer hastalığı, maruz kalacağı büyük cerrahi girişim, iskemi-reperfüzyon hasarı, kullanacağı immüno-supresif ilaçlar gibi, hepatik rejenerasyonu olumsuz yönde etkileyebilecek koşullarla karşılaşacaktır.

Yapılan çok merkezli, değişik hayvan ve insan çalışmalarında, FK506 ve CsA karaciğer rejenerasyonunu arttırdığını göstermiştir (6,7,9,10,14,15,16,17,21). MMF ile ilgili literatürde bu yönde bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Karaciğer; parsiyel hepatektomi veya akut karaciğer hasarına bağlı doku kayıplarında, kendini tam olarak onarabilme yeteneğine sahip bir organdır. Karaciğerin muazzam rejenerasyon potansiyeli antik çağlardan beri bilinmektedir (1,5). Klasik Yunan mitolojisinde, Prometheus, gizli ateşi çalıp dünyaya sunduktan sonra, Zeus'un büyük kartalı her gün kendi karaciğerini yemek sureti ile cezalandırılmıştır. Karaciğerin her gün rejenere olup kartal için günlük ziyafet oluşturması nedeniyle, bu işkencenin sonsuza dek sürdüğü varsayılır (40).

Klasik hepatik rejenerasyon modeli, ~%70 parsiyel hepatektomi (PHx) ile oluşturulmaktadır. Geride kalan loblar büyüyüp eski boyutuna gelinceye kadar rejenere olurlar. Ratlarda parsiyel hepatektomiden sonra karaciğer rejenerasyonu 5-7 günde tamamlanmaktadır (5,8). Genel olarak karaciğer rejenerasyonunun, karaciğer eski boyutuna ulaşmaya kadar, organizma tarafından gönderilen pozitif ve negatif uyarılarla idare edilen çok planlı mükemmel bir süreç olduğu kabul edilmektedir.

Parsiyel hepatektomiden sonra istirahat halinde bulunan matür karaciğer hücreleri, kaybolan dokuyu onarırlar. Bu hücreler; **hepatositler**, **endoteliyal hücreler**, **biliyer epitelyal hücreler**, **hepatik stellat hücreler** ve **Kupffer hücrelerini** kapsamaktadır. Diğer dokuların aksine karaciğerde, progenitör veya kök hücreler çok fazla rejenerasyon kapasitesine sahip değildir. Hepatositler ilk önce proliferasyon olurlar ve parankimal rejenerasyon belirleyici rol oynarlar. İnsan karaciğeri normal koşullarda sessiz olup minimal replikasyon gösterir yani yaklaşık 20,000 hepatositte 1 tanesinde mitoz görülür. Doku hasarı veya kaybından sonra, hücreler sırası ile istirahat fazından (**G<sub>0</sub>**) prereplikatif faza (**G<sub>1</sub>**), takiben DNA sentezi (**S**) ve mitozis (**M**) fazına geçerek hücre bölünmesini tamamlarlar. Prereplikatif faz, başlangıç (**G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>**) ve progresyon (**G<sub>1</sub>-S**) aşaması diye iki kısma ayrılabilir. Parsiyel hepatektomiden sonra, istirahatteki hepatositlerde DNA sentezi yaklaşık 12 saat sonra görülür ve takiben bazı hepatositler S fazına girmeye başlarlar. Mitoz, DNA sentezinden 6-8 saat sonra oluşur. Hepatik rejenerasyon süresince hepatositlerin çoğu ortalama bir-iki kez bölünürler. Hepatositler dışındaki hücrelerde (nonparankimal hücreler) bölünme genelde 24 saat gecikmeli başlar fakat aynı bölünme aşamalarını takip eder. Karaciğer orijinal boyutuna ulaştığında hepatositler tekrar istirahat durumuna geçerler ancak fonksiyoneldirler.

Karaciğer rejenerasyonu; büyüme faktörleri, hepatik sitokinler, büyüme inhibitörleri, hormonlar, iyonlar, extracellüler matrix ve istirahat halindeki hücreler gibi çok fazla sayıda uyarıdan etkilenmektedir.



**Tablo 10.** Karaciğer rejenerasyonunu stimüle ve inhibe eden büyüme faktörleri

<b>Büyümeyi stimüle eden faktörler</b>	<b>B.İnhibe eden faktörler</b>
Complet mitogenler	Transforming growth factor- $\beta$
Hepatocyte growth faktör (HGF)	İnterleukin-1
Transforming growth faktör- $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )	Activanlar
Epidermal growth faktör (EGF)	Inhibinler
İnsulin-like growth faktör (İLGF)	
Tumor necrosis faktör (TNF)	
Acidic fibroblast growth faktör	
Keratinocyte growth faktör	
Comitogenler	
İnsulin	
Glucagon	
Katekolaminler:norepinefrin, vasopressin, angiotensin	
Parathormon	
Thyroid hormonları	
Adrenal cortical hormonlar	
Kalsiyum	
Vitamin D	
İmmüsupresif ilaçlar↓	
FK506 (takrolimus), CycA (siklosporin)	

Karaciğer rejenerasyonu ile ilgili yapılan bütün çalışmalara rağmen halen tam olarak cevaplanmamış sorular vardır. Bu sorular;

- Karaciğer rejenerasyonunu başlatan ve bitiren şeyin ne olduğu?
- Karaciğer rejenerasyonu süresince, apoptozisin rolünün ne olduğu?
- Karaciğer kök hücrelerinin in vivo rejenerasyonda kritik rol alıp-almadığı?

- Bu sürecin, neoplazi ile benzerliği düşünülür ise, kontrollü rejenerasyonu, malignitedeki kontrolsüz rejenerasyondan ayıran faktörün ne olduğu?

Gelecekte bu soruların yanıtlanması ile karaciğer rejenerasyonu hakkında daha geniş bilgi sahibi olunacaktır.

Tanak N. ve ark 1993 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, %70 hepatektomi yaptıkları ratlara, önce 5 gün süreyle i.v. İL-2 verip, daha sonra CsA (10mg/kg) ve tacrolimus (0,1 mg/kg) vermişler. Karaciğer rejenerasyonunu in vivo Bromodeoxyuridine (BrdU) ölçülerek değerlendirilmiş. Deney sonucunda CsA ve FK506'nın İL-2 inhibisyonu yapmak sureti ile karaciğer rejenerasyonunu arttırdığını tespit etmişler (10).

Francavilla A, ve ark. 1991 yılında, parsiyel hepatektomi yaptıkları ratlarda FK506 ve CsA'nın hepatik büyümeyi nonimmünolojik yollarla yaptıklarını saptamışlardır (16).

Sakı MF. ve ark. 1991 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, deney grubundaki ratlara, %70 hepatektomi yapmadan 24 dk. önce ve operasyondan 30 dk sonra 0,3 mg/kg intravenöz FK506 enjekte etmişler. Bütün ratlarda hepatektomi yapmadan önce iskemi oluşturmuşlar. Kontrol grubundaki bütün ratlar 72 saat içinde ölürken FK506 grubundaki ratlar daha uzun yaşamışlar. Ayrıca FK506 grubundaki ratlarda serum ALT ve LDH düzeyinin daha düşük, hepatik nekroz ve nötrofil infiltrasyonunun daha az, mitotik aktivitenin daha fazla olduğunu gözlemlemişler (17).

Jain S. ve ark 2002 yılında yaptıkları klinik bir çalışmada, Hepatit-C nedeniyle karaciğer transplantasyonu yaptıkları 106 hastayı iki gruba ayırmışlar. Bir gruba FK506 + Prednisolon, diğer gruba FK506 + Prednisolon + MMF (mycophenolate mofetil) verip, hastaları ortalama 4,3 yıl izlemişler. Gözlem sonucunda hepatit-C nüksü bakımından gruplar arasında istatistiksel fark olmadığını saptamışlar (21)

Schlitt HJ. ve ark 2001 yılında yaptıkları klinik çalışmada, karaciğer transplantasyonu sonrasında renal disfonksiyon oluşan 28 hastayı iki gruba ayırmışlar. Bir gruba kalsinörin inhibitörlerine ilave olarak MMF verip, kontrol grubuna vermemişler. Çalışmanın başlangıcında ve 6 ay sonunda hastalar, renal fonksiyon, kan basıncı, ürik asit ve kan lipid seviyesini ölçmüşler. Sonuç olarak MMF'in kalsinörin inhibitörleri (CsA ve FK506) ile birlikte kullanılması durumunda renal fonksiyonları düzeltebileceğini saptamışlar (25)

Ringe B ve ark. 2001 yılında yaptıkları klinik bir çalışmada, karaciğer transplantasyonu yaptıkları 30 erişkin hastaya, immünsupresif ilaç olarak sadece FK506 ve MMF vermişler. Sadece rejeksiyon durumunda geçici steroid tedavisi verdikleri hastaları 2 yıl boyunca izlemişler. Etkinlik ve güvenlik parametrelerini, hasta ve greft sağkalım oranı, rejeksiyonun insidansı ve şiddeti, yan etkilerin ilaç düzeyleri ile ilişkisine bakarak değerlendirmişler. Sonuç olarak FK506 ve MMF'in karaciğer transplantasyonu alıcılarında, başka immünsupresif ilaç kullanılmaksızın, güvenle kullanılabilceğini vurgulamışlar (38).

Polak W ve ark 1999 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, her grupta 10'ar rat olmak üzere toplam 60 rata %70 hepatektomi yapıp, post-op. kontrol grubu dışındaki gruplara sırası ile CsA 10 mg/kg, Aza 3mg/kg, FK506 0,1mg/kg, Prednisolon 1 mg/kg verip 42 gün sonra ratları sakrifiye ederek karaciğer rejenerasyonunu değerlendirmişler. Karaciğerin en fazla CsA ve FK506 grubunda, en az Prednisolon grubunda rejenerasyona uğradığını saptamışlar(7).

Mitsumato Y. ve ark. 1999 yılında %80 hepatektomi yaptıkları köpekleri dört ayrı grupta izlemişler. Kontrol grubunda %80 hepatektomi ve porto-kaval şant, ikinci grupta FK506 + %80 hepatektomi + porto-kaval şant, üçüncü grupta FK506 + %80 hepatektomi, dördüncü grupta sadece hepatektomi yapmışlar. 7 günlük canlı kalma süresinin en fazla şant grubunda elde edildiğini (%57 1; %28 6), portal basıncın şant grubunda önemli derecede düşük olduğunu, FK506 + şant grubunda canlı kalma süresinin, karaciğer fonksiyonlarının ve hepatic mikrosirkülasyonun diğer gruplara göre anlamlı derecede iyi olduğunu bildirmişler. (9).

## SONUÇLAR

Yüzde yetmiş hepatektomi (ratlarda total karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı baz alınarak) yaptıktan sonra 7 gün boyunca değişik immünsupresif ilaç protokolleri oluşturduğumuz ratlardan elde ettiğimiz sonuçlar şöyledir;

- 1 Tacrolimus verdiğimiz ratlarda karaciğer rejenerasyonu, diğer gruplara nazaran hem makroskopik, hem de histopatolojik veriler dikkate alındığında daha fazla olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ).
2. 7 günlük deney sonunda, bütün ratlara standart yem ve musluk suyu verilmesine karşın, MMF + FK506 grubunda daha belirgin olmak üzere, MMF grubundaki ratlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede ağırlık kaybı olduğu saptandı ( $p < 0,005$ ). Bu durum MMF'in oluşturduğu gastrointestinal yan etkiler ve MMF + FK506 grubunda ağır immünsupren sonucu vücut savunma mekanizmasının zayıflamasına bağlandı.
- 3 Deney sonunda total hepatektomi yapıp karaciğerin ıslak ağırlığı hesaplandığında, MMF ve MMF + FK506 gruplarında daha az ağırlık artışı olduğunu gözlemlendi. ( $p < 0,005$ )
4. Gruplar histopatolojik olarak proliferasyon indexlerine göre karşılaştırıldığında, en iyi proliferasyon indeksinin FK506 grubunda olduğunu tespit ettik ( $p < 0,005$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0,005$ )
- 5 PCNA yöntemine göre gruplar karşılaştırıldığında, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ( $p > 0,005$ )
- 6 Hücrelerin Go-G1 fazlarına göre gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,005$ )
- 7 Gruplar hücrelerin G2-M fazlarına göre değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi yani FK506 grubundaki hücrelerin G2-M faz değerleri diğer gruplardan daha yüksek bulundu ( $p < 0,005$ ).

Sonuç olarak; ratlarda parsiyel (% 70) hepatektomiden sonra oluşan karaciğer rejenerasyonu FK506 verilmesi ile arttı; ancak bu olumlu etki MMF'nin tek başına ve FK506 ile birlikte verilmesi ile baskılandı. FK506 ile ilgili bulgularımız, bu konudaki literatür verileri ile benzerlik göstermekteydi. Literatürde MMF'nin kendisi veya diğeri immünsupresif ajanlarla kombinasyonunun, hepatektomili ratlarda karaciğer rejenerasyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmadı. Bu konuda kesin bir sonuca varmak için çok daha detaylı klinik ve deneysel çalışmaya gereksinim olduğu kanısındayız.

## KAYNAKLAR

- 1 Lorenzo P, Alessandro A, Antonio F  
New frontiers in the field of liver regeneratin.  
New technology for liver resections, edited by Renzo Dionigi and Juan R. Madariaga.  
1997 Karger Landes Systems
- 2 Jean E.  
Living-related liver transplantation  
Transplantation of the liver, edited by Willis C. Madrey, Eugene R. Schiff, and Micheal F. Sorell Philadelphia-2001
- 3 Ghobrial R M, Amersi F, McDiarmid S V, Busuttil R W.  
Pediatic liver transplantation.  
Transplantation of the Liver, edited by Willis C Madrey, Eugene R. Schiff, and Micheal F. Sorell Philadelphia-2001.
- 4 Emond J C, Heffron I G  
Living related liver transplantation  
Copyright 1995 by W.B Saunders Company
- 5 Francavilla A, Polimeno L, Barone M, Azzarone A, Starzl I E  
Hepatic regeneration and growth factors.  
J.Surg Oncol Suppl 1993 Mar; 3 :1-7.
6. Francavilla A, Barone M, Todo S, Zeng Q, Porter K. A, Starzl I. E.  
Augmentation of rat liver regeneration by FK506 compared with cyclosporine  
Lancet 1989; 1:1248.
- 7 Polak W, Szyber P, Patrzalek D, Chudoba P.  
The differences in liver regenerative rate after partial hepatectomy in rats treated with selected immunosuppressants.  
Pol Merkuriusz Lek. 1999 Feb;6(32):70-2
8. Uchiyama H, Yanaga K, Nishizaki I, Soejima Y, Yoshizumi T, Sugimachi K  
Effects of deletion variant of hepatocyte growth factor on reduced-size liver transplantation in rats.  
Transplantation. 1999 Jul 15;68(1):39-44.
- 9 Mitsumoto Y, Dhar DK, Yu L, Soda Y, Kinugasa S, Kohno H, Nagasue N.  
FK506 with portal decompression exerts beneficial effects following extended hepatectomy in dogs  
Eur Surg Res. 1999;31(1):48-56

- 10 Tanaka N, Yamamoto H, Tatemoto A, Urabe T, Orita K.  
Regulation of liver regeneration by interleukin-2 and its inhibitors:  
cyclosporine A and FK 506.  
Int J Immunopharmacol. 1993 Feb;15(2):211-8.
11. Jain A, Khanna A, Molmenti EP, Rishi N, Fung JJ.  
Immunosuppressive therapy.  
Surg Clin North Am. 1999 Feb;79(1):59-76
- 12 Kim YI, Kawano K, Iwao Y, Ono M, Goto S, Kobayashi M,  
Egashira I.  
Stimulation of liver regeneration by pretreatment with azathioprine as  
well as cyclosporine and FK506  
Transplantation 1992 Apr;53(4):949-51
13. Jain A, Kashyap R, Demetris AJ, Eghstesad B, Pokharna R, Fung JJ  
A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil in liver  
transplant recipients with hepatitis C.  
Liver Transpl 2002 Jan;8(1):40-6
14. Okamura N, Tsukada K, Sakaguchi I, Ohtake M, Yoshida K, Muto I.  
Enhanced liver regeneration by FK 506 can be blocked by interleukin-1  
alpha and interleukin-2.  
Transplant Proc 1992 Feb;24(1):413-5.
15. Starzl TE, Schreiber SL, Albers MW, Porter KA, Foglieni CS,  
Francavilla A.  
Hepatotropic properties in dogs of human FKBP, the binding protein for  
FK506 and rapamycin.  
Transplantation 1991 Oct;52(4):751-3.
16. Francavilla A, Starzl TE, Barone M, Zeng QH, Porter KA, Zeevi A,  
Markus PM, van den Brink MR, Todo S  
Studies on mechanisms of augmentation of liver regeneration by  
cyclosporine and FK 506.  
Hepatology. 1991 Jul;14(1):140-3
- 17 Sakr MF, Zetti GM, Hassanein II, Farghali H, Nalesnik MA,  
Gavaler JS, Starzl TE, Van Thiel DH.  
FK 506 ameliorates the hepatic injury associated with ischemia and  
reperfusion in rats  
Hepatology. 1991 May;13(5):947-51.
18. Francavilla A, Barone M, Starzl TE, Zeevi A, Scotti C, Carrieri  
G, Mazzaferro V, Prelich J, Todo S, Eiras G, et al.  
FK 506 as a growth control factor.  
Transplant Proc. 1990 Feb;22(1):90-2.

19. Francavilla A, Barone M, Todo S, Zeng Q, Porter KA, Starzl IE  
Augmentation of rat liver regeneration by FK 506 compared with cyclosporin.  
Lancet 1989 Nov 25;2(8674):1248-9.
- 20 Higgins GM, Anderson RM.  
Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal.  
Arch Pathol 12: 186-202, 1931
- 21 Nelson DR, Soldevila-Pico C, Reed A, Abdelmalek MF, Hemming AW, Van der Werf WJ, Howard R, Davis GL.  
Anti-interleukin-2 receptor therapy in combination with mycophenolate mofetil is associated with more severe hepatitis C recurrence after liver transplantation.  
Liver Transpl. 2001 Dec;7(12):1064-70.
- 22 Washburn K, Speeg KV, Esterl R, Cigarroa F, Pollack M, Tourtellot C, Maxwell P, Halff G.  
Steroid elimination 24 hours after liver transplantation using daclizumab, tacrolimus, and mycophenolate mofetil  
Transplantation 2001 Nov 27;72(10):1675-9.
- 23 Jain A, Kashyap R, Dodson F, Kramer D, Hamad I, Khan A, Eghestad B, Starzl IE, Fung JJ  
A prospective randomized trial of tacrolimus and prednisone versus tacrolimus, prednisone and mycophenolate mofetil in primary adult liver transplantation: a single center report  
Transplantation. 2001 Sep 27;72(6):1091-7.
- 24 Stewart SF, Hudson M, Talbot D, Manas D, Day CP.  
Mycophenolate mofetil monotherapy in liver transplantation.  
Lancet. 2001 Feb 24;357(9256):609-10
- 25 Schlitt HJ, Barkmann A, Boker KH, Schmidt HH, Emmanouilidis N, Rosenau J, Bahr MJ, Tusch G, Manns MP, Nashan B, Klempnauer J  
Replacement of calcineurin inhibitors with mycophenolate mofetil in liver-transplant patients with renal dysfunction: a randomised controlled study  
Lancet 2001 Feb 24;357(9256):587-91.
- 26 Ascher NL.  
Immunosuppressant substitutes in liver transplantation.  
Lancet 2001 Feb 24;357(9256):571-2.
- 27 Aw MM, Samaroo B, Baker AJ, Verma A, Rela M, Heaton ND,  
Calcineurin-inhibitor related nephrotoxicity- reversibility in paediatric liver transplant recipients.  
Transplantation 2001 Aug 27;72(4):746-9.



- 28 Schmidt LE, Rasmussen A, Norrelykke MR, Poulsen HE, Hansen BA  
The effect of selective bowel decontamination on the pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in liver transplant recipients.  
Liver Transpl. 2001 Aug;7(8):739-42
- 29 Ogawa N, Nagashima N, Nakamura M, Shalabi A, Maley WR, Burdick JF.  
Measurement of mycophenolate mofetil effect in transplant recipients  
Transplantation 2001 Aug 15;72(3):422-7
30. Nagashima N, Shalabi A, Watanabe I, Ogawa N, Koyama I, Kyo S, Burdick JF  
Immunocompetence assay for net effect of combined immunosuppression.  
Transplant Proc. 2001 May;33(3):2350-1
- 31 Schweizer RT, Meisterling LD.  
Tolerability of mycophenolate mofetil in organ transplant recipients.  
Transplant Proc. 2001 May;33(3):2309
- 32 Grasser B, Iberer F, Schaffellner S, Kniepeiss D, Stauber R, Koshisorur G,Rehak P, Tscheliessnigg KH  
Trough level-guided mycophenolate mofetil rejection prophylaxis in liver transplantation.  
Transplant Proc. 2001 May;33(3):2154-6
33. Klintmalm G, McDiarmid S, Langnas A, Punch J, McMaster P, Kalayoglu M, Levy G , Freeman R, Bismuth H, Neuhaus P, Mamelok R, Wang W.  
A randomized double-blind comparative study of mycophenolate mofetil and azathioprine in combination with cyclosporine and corticosteroids in primary liver transplant recipients  
Liver Transpl. 2001 May;7(5):442-50.
- 34 Jain A, Venkataramanan R, Hamad IS, Zuckerman S, Zhang S, Lever J, Warty VS, Fung JJ  
Pharmacokinetics of mycophenolic acid after mycophenolate mofetil administration in liver transplant patients treated with tacrolimus.  
J Clin Pharmacol 2001 Mar;41(3):268-76.
- 35 Jain A,Kashyap R,Kramer D,Dodson F, Hamad I, Starzl TE, Fung JJ.  
Prospective randomized trial of tacrolimus and prednisone versus tacrolimus,prednisone, and mycophenolate mofetil: complete report on 350 primary adult liver transplantations  
Transplant Proc. 2001 Feb-Mar;33(1-2):1342-4

36. Glanemann M, Klupp J, Langrehr JM, Platz KP, Schroer G, Raakow R, Stange B, Settmacher U, Bechstein WO, Neuhaus P.  
Mycophenolate mofetil is superior in combination with tacrolimus compared to cyclosporine for immunosuppressive therapy after liver transplantation.  
Transplant Proc. 2001 Feb-Mar;33(1-2):1069-70.
37. Ganschow R, Lyons M, Kemper MJ, Burdelski M.  
B-cell dysfunction and depletion using mycophenolate mofetil in a pediatric combined liver and kidney graft recipient  
Pediatr Transplant. 2001 Feb;5(1):60-3.
38. Ringe B, Braun F, Schutz E, Fuzesi L, Lorf I, Canelo R,  
A novel management strategy of steroid-free immunosuppression after liver transplantation: efficacy and safety of tacrolimus and mycophenolate mofetil.  
Transplantation. 2001 Feb 27;71(4):508-15
39. Van Mourik ID, Kelly DA.  
Immunosuppressive drugs in paediatric liver transplantation  
Paediatr Drugs. 2001;3(1):43-6.
40. Victor Ankoma-Sey.  
Hepatic regeneration-revisiting the myth of Prometheus.  
News in Physiological Sciences, 1999 Aug. 14(4);149-155.
41. Selzner N, Durand F, Bernuau J, Heneghan MA, Tuttle-Newhall JE, Belghiti J,  
Conversion from cyclosporine to FK506 in adult liver transplant recipients: a combined  
North American and European experience.  
Transplantation. 2001 Sep 27;72(6):1061-5
42. Camirand G, Caron NJ, Asselin I, Tremblay JP.  
Combined immunosuppression of mycophenolate mofetil and FK506 for myoblast transplantation in mdx mice  
Transplantation. 2001 Jul 15;72(1):38-44
43. Schuurman HJ, Pally C, Fringeli-Tanner M, Papageorgiou C.  
Comparative efficacy of mycophenolate sodium (MPS) and mycophenolate mofetil (MMF) with and without cyclosporine in rat transplantation models.  
Transplantation. 2001 Dec 15;72(11):1776-83
44. Squifflet JP, Backman L, Claesson K, Dietl KH, Ekberg H, Forsythe JL, Kundendorf U, Heemann U, Land W, Morales JM, Muhlbacher F, Talbot D, Taube D, Tyden G, van Hooff J, Schleichner S, Vanrenterghem Y  
Dose optimization of mycophenolate mofetil when administered with a low dose of tacrolimus in cadaveric renal transplant recipients.  
Transplantation. 2001 Jul 15;72(1):63-9.

45. Gjertson DW, Cecka JM, Terasaki PI  
The relative effects of FK506 and cyclosporine on short- and long-term kidneygraft survival.  
Transplantation 1995 Dec 27;60(12):1384-8
46. Ojo AO, Meier-Kriesche HU, Hanson JA, Leichtman AB, Cibrik D, Magee JC, Wolfe RA, Agodoa LY, Kaplan B  
mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection.  
Transplantation. 2000 Jun 15;69(11):2405-9
47. Fischer L, Sterneck M, Gahlemann CG, Malago M, Rogiers X, Broelsch CE.  
A prospective study comparing safety and efficacy of mycophenolate mofetil versus azathioprine in primary liver transplant recipients  
Transplant Proc 2000 Nov;32(7):2125-7.
48. Becker BN.  
Mycophenolate mofetil.  
Transplant Proc. 1999 Nov;31(7):2777-8
49. Ringe B, Braun F, Schutz E, Fuzesi L, Lorf T, Canelo R, Oellerich M, Ramadori G  
A novel management strategy of steroid-free immunosuppression after liver transplantation: efficacy and safety of tacrolimus and mycophenolate mofetil  
Transplantation. 2001 Feb 27;71(4):508-15.
50. Allison AC, Eugui EM.  
Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action.  
Immunopharmacology. 2000 May;47(2-3):85-118.
51. Glanemann M, Klupp J, Langrehr JM, Schroer G, Platz KP, Stange B, Settmacher U, Bechstein WO, Neuhaus P.  
Higher immunosuppressive efficacy of mycophenolate mofetil in combination with FK 506 than in combination with cyclosporine A  
Transplant Proc. 2000 May;32(3):522-3.
52. Ben-Ari Z, Mor E, Shaharabani E, Bar-Nathan N, Shapira Z, Turkaspa R  
Conversion of liver allograft recipients from cyclosporine A to FK 506 immunosuppressive therapy.  
Transplant Proc. 2000 Jun;32(4):709-10
53. Kliem V, Radermacher J, Hiss M, Pethig M, Burg M, Brunkhorst R.  
Conversion to tacrolimus for acute corticosteroid- and antibody-resistant rejection following kidney transplantation  
Transplant Proc. 1999 Nov;31(7A):37S-40S

- 54 Rabkin JM, Corless CL, Rosen HR, Olyaei AJ.  
Pharmacoeconomic study of tacrolimus-based versus cyclosporine-based immunosuppressive therapy following liver transplantation.  
Transplant Proc 2001 Feb-Mar;33(1-2):1532-4
- 55 Granot E, Boros P, Miller CM.  
Differential effect of hepatocyte growth factor and tumor growth factor-beta one early release of vascular endothelial growth factor from HepG2 cells: possible implications in post-transplant liver regeneration  
Transplant Proc. 2001 Sep;33(6):2926-8.
- 56 Delany HM, John J, Teh EL, Li CS, Gliedman ML, Steinberg JJ, Levenson SM  
Contrasting effects of identical nutrients given parenterally or enterally after 70% hepatectomy  
Am J Surg 1994 Jan;167(1):135-43;
- 57 Garcia Sanchez MJ, Manzanares C, Santos-Buelga D, Blazquez A, Manzanares J, Urruzuno P, Medina E  
Covariate effects on the apparent clearance of tacrolimus in paediatric liver transplant patients undergoing conversion therapy  
Clin Pharmacokinet. 2001 Jan;40(1):63-71
- 58 Mazariegos GV, Salzedas AA, Jain A, Reyes J  
Conversion from cyclosporin to tacrolimus in paediatric liver transplant recipients  
Paediatr Drugs. 2001;3(9):661-72
- 59 Boillot O, Baulieux J, Wolf P, Messner M, Cherqui D, Gugenheim J, Pageaux G, Belghiti J, Calmus Y, Le Treut Y, Neau-Cransac M, Samuel D  
Low rejection rates with tacrolimus-based dual and triple regimens following liver transplantation  
Clin Transplant 2001 Jun;15(3):159-66.
- 60 Trotter JF, Wachs ME, Trouillot TE, Bak I, Kugelmas M, Kam I, Everson G  
Dyslipidemia during sirolimus therapy in liver transplant recipients occurs with concomitant cyclosporine but not tacrolimus.  
Liver Transpl 2001 May;7(5):401-8.
- 61 Basara N, Fauser AA.  
Safety profile of mycophenolate mofetil  
Bone Marrow Transplant. 2000 Dec;26(12):1362-3
62. Chavez R, Jamieson N, Takamori S, Nivatvongs S, Pino G.  
Hepatotropic effect of cyclosporine and FK 506 is not mimicked by rapamycin.  
Transplant Proc. 1999 Sep; 31(6):2429.

- 63 Tamura F, Masuhara A, Sakaida I, Fukumoto E, Nakamura I,  
FK506 promotes liver regeneration by suppressing natural killer cell  
activity  
J Gastroenterol Hepatol 1998 Jul;13(7):703-8.
- 64 Peltekian KM, Makowka L, Williams R, Blendis LM, Levy GA.  
Prostaglandins in liver failure and transplantation: regeneration,  
immunomodulation, and cytoprotection. Prostaglandins in Liver  
Transplantation Research Group  
Liver Transpl Surg 1996 May;2(3):171-84
- 65 Aono T, Sakaguchi I, Ohtake M, Sandoh N, Tsukada K,  
Hatakeyama K  
Minimal threshold of FK 506 for enhancing liver regeneration in  
thymectomized rats.  
Transplant Proc 1995 Apr;27(2):1913-5.
- 66 Bendahan J, Tyler M, Lotz Z, McLeod H, Engelbrecht GH, Kahn D,  
Hickman R.  
The effect of administration of FK506 on delayed regeneration in flushed  
partially hepatectomized livers.  
Transplantation. 1994 Mar 15;57(5):655-8.
- 67 Ohtake M, Okamura N, Sakaguchi I, Aono T, Koyama S, Tsukada  
K, Yoshida K, Muto T.  
Enhanced liver regeneration in rats treated with 15-deoxyspergualin  
alone and in combination with FK 506.  
Gastroenterol Jpn. 1993 Apr;28(2):249-53.
- 68 Sato Y, Tsukada K, Yoshida K, Muto T, Matumoto Y.  
FK 506 suppresses class II antigen expression in regenerating livers  
following partial hepatectomy in the rat  
Transplant Proc 1992 Aug;24(4):1628-30

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ