

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

138678

POLİANSATÜRE YAĞ ASİT BİLEŞİKLERİNİN DENEYSEL KRONİK  
BİLİYER OBSTRÜKSİYON MODELİNDE KARACİĞER DOKU  
HASARINI AZALTICI ETKİSİ

TEZ YÖNETİCİSİNİN KUTULU  
KÜTÜPHANESİ

UZMANLIK TEZİ  
DR. ABDURRAHMAN KARAMAN

138678

TEZ YÖNETİCİSİ  
DOÇ. DR. SAVAŞ DEMİRBİLEK

MALATYA-2003

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA NO</b>
1. TABLO, GRAFİK ve RESİMLERİN LİSTELERİ	2
2. KISALTMALAR	4
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
5. GEREÇ VE YÖNTEM	32
6. BULGULAR	39
7. TARTIŞMA	50
8. SONUÇLAR	55
9. ÖZET	56
10. KAYNAKLAR	58

## 1. TABLO, GRAFİK ve RESİMLERİN LİSTELERİ

- Tablo 1:** Safra yollarında tıkanıklık yapan lezyonlar
- Tablo 2:** Purifiye edilmiş PFK ekstresinin içeriği
- Tablo 3:** Portal inflamasyonun derecelendirilmesi
- Tablo 4:** Duktüler proliferasyonun derecelendirilmesi
- Tablo 5:** Fibrozisin derecelendirilmesi
- Tablo 6:** Grupların karaciğer enzim düzeylerinin ve hidroksprolin seviyelerinin ortalama değerleri
- Şekil 1:** Fosfatidik asit
- Şekil 2:** Fosfatidilkolin
- Şekil 3:** Grupların hepatik MDA seviyeleri
- Şekil 4A:** Grupların serum ALP değerleri
- Şekil 4B:** Grupların serum AST değerleri
- Şekil 4C:** Grupların serum ALT değerleri
- Şekil 4D:** Grupların serum GGT değerleri
- Şekil 4E:** Grupların serum 5'NT değerleri
- Şekil 5:** Grupların serum D.Bil ve İ. Bil. değerleri
- Şekil 6:** Grupların karaciğer doku HPR seviyeleri
- Şekil 7A:** Grupların portal inflamasyon düzeyleri
- Şekil 7B:** Grupların duktüler proliferasyon düzeyleri
- Şekil 7C:** Grupların fibrozis düzeyleri
- Resim 1:** Koledok kanalının eksplorasyonu
- Resim 2:** Koledok kanalının çift bağlanıp kesilmesi
- Resim 3:** İntravenöz olarak PFK tedavisinin verilmesi
- Resim 4 A:** Biliyer obstrüksiyon grubundaki ratların karaciğer kesiti
- Resim 4 B:** Biliyer obstrüksiyon grubundaki ratların karaciğer kesiti

**Resim 4 C:** Biliyer obstrüksiyon grubundaki ratların karaciğer kesiti

**Resim 4 D:** Biliyer obstrüksiyon + PFK tedavisi grubundaki ratların karaciğer kesiti

**Resim 4 E:** Biliyer obstrüksiyon + PFK tedavisi grubundaki ratların karaciğer kesiti



## 2. KISALTMALAR

IHSK	İntrahepatik safra kanalları
BO	Biliyer obstrüksiyon
TGF-beta <sub>1</sub>	Transforming growth factor-beta <sub>1</sub>
D.Bil	Direkt bilirubin
İ.Bil.	İndirekt bilirubin
AST	Aspartat amino transferaz
ALT	Alanin amino transferaz
ALP	Alkalen fosfataz
GGT	Gama glutamil transpeptidaz
5'NT	5' Nükleotidaz
NK	Naturel killer hücreleri
TNF-alfa	Tümör nekrozis faktör-alfa
IL-1	İnterlökin-1
ICAM	İnterselüler adezyon molekülü
VCAM	Vasküler selüler adezyon molekülü
BA	Biliyer atrezi
IL-6	İnterlökin-6
PFK	Poliansature fosfatidilkolin
DLFK	Dilinolleoilfosfatidilkolin
PLFK	Palmitoil-linoleoil-fosfatidilkolin
PAYA	Poliansature yağ asiti
KBO	Kronik biliyer obstrüksiyon
EBO	Ekstrahepatik biliyer obstrüksiyon
LTB <sub>4</sub>	lökotrien B <sub>4</sub>

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

Biliyer obstrüksiyon, safra yollarındaki bir tıkanıklık nedeniyle safra akımının tam yada kısmen kesilmesini ifade etmektedir. Erişkin yaş grubunda biliyer obstrüksiyonla seyreden hastalıklar arasında safra yollarında taş, safra yollarından kaynaklanan veya safra yollarına komşu tümörler, oddi sfinkterinde darlık ve sklerojan kolanjit başta gelir. Çocukluk yaş grubunda ise biliyer obstrüksiyona sebep olan hastalıkların başında biliyer atrezi ve koledok kisti gibi konjenital hastalıklar gelmektedir.<sup>1</sup>

Biliyer obstrüksiyonla seyreden hastalıklarda, çocukluk yaş grubundaki biliyer atreziye olduğu gibi, cerrahi tedaviye rağmen ilerleyici bir karaciğer hasarı ortaya çıkabilmektedir. Bu hastaların karaciğerleri incelendiğinde portal inflamasyon, duktal proliferasyon ve fibrozis saptanmıştır. Bu progressif karaciğer hasarı biliyer sirozla sonuçlanabilmekte ve mortalite ve morbiditenin artmasına neden olmaktadır.<sup>2,3</sup>

Biliyer obstrüksiyonda görülen progressif karaciğer hasarının etyopatogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. BO'da ortaya çıkan ve obstrüksiyonun cerrahi olarak düzeltilmesine rağmen devam eden karaciğer hasarının patogenezinin, persistan inflamatuvar yanıtın neden olduğu hücresel ve hümoral immün yanıt sorumlu tutulmaktadır.<sup>2,4-9</sup>

Soyayağı fosfolipidi olan poliansature fosfatidilkolin (PFK) bir poliansature yağ asiti (PAYA) karışımı olup % 94-96 oranında fosfatidilkolin içerir.<sup>10</sup> Memelilerdeki fosfolipitlerin bir varyansı olan bu bitkisel lipidin intestinal absorpsiyonu kolay ve biyoyararlanımı yüksektir.<sup>11</sup> PFK, sitoplazmik membranların ana yapıtaşlarından olması ve hücre içi iletişimde rol oynayan transport ve transkripsiyon faktörlerinin yapısına katılmasından dolayı güçlü sitoprotektif etkiye sahiptir. Aynı zamanda PFK'in in vivo olarak inflamatuvar reaksiyonlarda süpresyon yaptığı, in vitro olarak lökosit cevabını azalttığı gösterilmiştir.<sup>12</sup> Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda uzun zincirli PAYA bileşiklerinin T lenfosit proliferasyonunu, sitokin üretimini ve geç-tip hipersensitiviteyi azalttığı tesbit edilmiştir. PFK, bu etkilerinin yanı sıra antifibrotik etkiye de sahiptir. Çeşitli çalışmalarda PFK'in büyük komponenti olan DLFK'in kollajenaz aktivitesini arttırdığı ve bu yolla dokuda kollajen birikiminin önüne geçtiği gösterilmiştir.<sup>13-14</sup>

Günümüzde tıkanma sarılıklarında, karaciğer hasarının engellenmesini hedefleyen, tam bir tedavi yöntemi belirlenebilmiş değildir. BO'lu hastalarda cerrahi tedaviye rağmen, bir süre sonra siroz ve karaciğer yetmezliği gelişebilmektedir. Bu

hastalarda, BO sonrası ortaya çıkan karaciğer hasarının engellenmesine yönelik etkin tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.<sup>1-3</sup>

Rat kronik biliyer obstrüksiyon modelinde gerçekleştirdiğimiz bu deneysel çalışmada, sitoprotektif, immünmodölatör ve anti-kollajen özellikleri olan PFK'in BO sonrasında ortaya çıkan karaciğer hasarının engellenmesi üzerindeki etkinliğini araştırmayı amaçladık.



## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. KARACİĞER, SAFRA KESESİ VE SAFRA YOLLARI

#### 4.1.1. EMBRİYOLOJİ

**Karaciğer**, safra kesesi ve safra kanal sistemi, embriyonik hayatın 4. haftasında. ön bağırsağın kaudal kısmındaki bir çıkıntıdan gelişmektedir. Hepatik divertikül veya karaciğer tomurcuğu olarak bilinen bu çıkıntı, hızlı proliferasyon gösteren hücre kordonlarından meydana gelir. Bu hücre kordonları, perikard boşluğu ve yolk sapı arasındaki mezodermal plağı, yani septum transversumunu penetre etmektedirler.<sup>15</sup>

Karaciğer divertikulumu ventral mezenter yaprakları arasında büyürken iki kısma ayrılır. Divertikülümün daha büyük olan kranial parçası karaciğer taslağıdır. Burada çoğalan endoderm hücreleri karaciğer hücre kordonlarını meydana getirir. Karaciğer kordonları, karaciğer sinüzoidlerinin taslağı olan epitelle döşeli boşluklar etrafında anastomoz yaparlar. Karaciğerin fibröz, hemotopietik dokusu ve kupffer hücreleri septum transversumdaki mezenşimden köken alırlar.<sup>16</sup>

Karaciğer hızla büyür ve 5. haftadan 10. haftaya kadar, karın boşluğunun büyük bir kısmını doldurur bir hale gelir. Başlangıçta sağ ve sol loblar aynı büyüklükte dirler. sağ lob kısa zamanda daha büyük hale gelir.<sup>15,16</sup>

Karaciğere, parlak kırmızı bir renk veren hemotopoiezis, 6. haftada başlar. Dokuzuncu haftada karaciğer, fetüsün toplam ağırlığının yaklaşık % 10'u meydana getirir. Hemotopietik işlev, gebeliğin son iki ayına kadar giderek azalır ve geride ancak bir kaç hemotopietik hücre adası kalır. Doğumda karaciğer ağırlığı toplam vücut ağırlığının %5'i kadardır. Karaciğer hücreleri tarafından safra salınması 12. haftada başlamaktadır.<sup>15-17</sup>

**İntrahepatik safra kanal (İHSK)** sisteminin oluşumu intrauterin 8. haftada başlar. Bu haftada en büyük portal ven (gelecekte) dalını çevreleyen mezenkimal doku ile temas eden hepatoblastlar küçülür. Portal ven dallarını bir kılıf gibi saran bu hücre topluluğu İHSK'nın primitif dokusunu oluşturur ve duktal tabaka olarak adlandırılır.<sup>18-19</sup>

Duktal tabaka, benzer hücrelerden oluşan ikinci bir tabaka ile ikiye ayrılır. Bu üç katlı duktal tabaka şu katlardan oluşur: 1, portal ven çevresindeki mezenşimle temasta olan ve biliyer tip hücrelerin oluşturduğu portal duktal tabaka; 2, primitif karaciğer parankimi ile temasta olan ve biliyer tip hücrelerin oluşturduğu lobuler duktal tabaka; 3, Bu iki epitel tabakası arasında uzanan yarık benzeri bir kanal.<sup>19</sup>



İlerleyen haftalarda, duktal tabakalar daha küçük portal ven dallarının çevresinde de görülür. Bu sırada duktal tabaka formasyonuna katılmayan hepatoblastlar karaciğer parankim hücre özelliklerini kazanmaya başlarlar. Erken embriyonik dönemde karaciğeri oluşturan hepatoblastlar bipotansiyel progenitor hücrelerdir ve kolanjiyositlere (periportal mezenşim ile temasta ise) veya hepatositlere (periportal mezenşim ile temasta değilse) dönüşebilmektedirler.<sup>20</sup>

Gestasyonunun 12. haftasında duktal tabakada progresif bir yeniden şekillenme (remodelling) işlemi başlar. Bu yeniden şekillenme işlemi yine önce hiluma yakın büyük portal ven çevresindeki duktal tabakadan başlar. İki katlı duktal tabakaların kısa segmentleri dilate olmaya başlar. Böylece gelecekteki portal sistemi çevreleyen biliyer epitelyal kılıflar boyunca longitudinal olarak "tübüler" dilatasyonlar oluşur.<sup>21</sup>

Birleşik haldeki tübüllerin duktal tabaka ile lümen devamlılığı epitelyal kanallarla (gelecekteki "duktülüsler") sağlanır. Böylece duktal tabakanın yeniden şekillenmesi periportal mezenkimde (gelecekteki portal sistem) yerleşen tübüler kanallarla (gelecekteki safra kanalları) sonuçlanır. Tübüler dilatasyonların belli kısımları safra kanallarına dönüşmektedir. Duktal tabakadaki dönüşüme katılmayan epitelyal hücreler muhtemelen apoptozis ile kaybolmaktadır.<sup>21-22</sup>

Duktal tabakaların oluşumu ve "remodelling" işlemi portal venin dallanarak hilumdan periferde doğru büyümesini takip eder. İleri evredeki fetal karaciğerin histolojik kesitlerinde hiler bölgede matür safra kanallarının, periferde ise duktal tabakaların varlığı gözlenmiştir. Bu da doğumda intrahepatik biliyer sistemin bir derece immatüresini göstermektedir.<sup>18-20</sup>

Duktal tabakanın oluşumu, şekillenmesi ve progresif matürasyonu hepatoblastların fenotipik değişimleriyle sağlanır. Bu değişim hepatoblastlardaki bazı yüzey antijenlerinin üretimindeki değişiklikleri kapsamaktadır. Bu yüzey antijenleri sitokeratin, doku peptid antijeni, biliyer glikoprotein 1, karsinoembriyonik antijen, epitelyal membran antijeni, karbohidrat antijeni ve glutatyon-s-transferaz izoenzimidir. Bu fenotipik heterojenite, safra kanal boyutlarının embriyolojik gelişimin erken dönemlerinde belirlendiğini göstermektedir.<sup>18-24</sup>

Portal venin intrahepatik biliyer sistemin gelişimindeki öncül rolü, duktal tabakanın oluşma yeriyle anlaşılabilir. Duktal tabaka portal ven dallarını çevreleyen mezenkim çevresinde oluşur. Ancak aynı işlem hepatic venlerin çevresinde ortaya çıkmamaktadır. Bu durum portal venin karaciğerin tamamında olduğu gibi biliyer sistemin üç boyutlu gelişiminde de belirgin rolü olduğunu göstermektedir.<sup>18</sup>

**Ekstrahepatik safra kanalları** 4. haftada hepatik divertikülden gelişir. 5. haftanın sonunda safra kesesi, sistik kanal, pankreatik kanal ve hepatik kanal oluşur. Ancak bu dönemde ekstrahepatik safra yolları solid yapıdadır. 6. hafta sonunda kanalize olur. 10. hafta sonunda intrahepatik safra yolları kaudalde ekstrahepatik safra yolları ile birleşmesiyle safra kanalları gelişimini tamamlar.<sup>25</sup>

## 4.1.2. ANATOMİ

### 4.1.2.1 Karaciğer

Karaciğer topoğrafik olarak iki yüzeye sahiptir:

1-Diafragmatik Yüzey: Dört kısma ayrılır. Üst kısım diafragma ile ilişkili olup sağdan sola doğru sağ plevra, sağ akciğer, kalp, sol plevra ve sol akciğer ile komşudur. Arka kısım diafragma ve alt kostalarla ilişkili olup inferior vena cava sulkusu burada bulunur. Ön kısım diafragma, kostal margin ve batın ön duvarı ile komşuluk gösterir. Sağ kısım 7-12 kostalarla, sağ plevra ve akciğerle komşudur.

2- Visseral Yüzey: Sağdan sola doğru kolonun hepatik fleksurası, hepatorenal poş, sağ böbrek, sağ adrenal bez, safra kesesi, duodenum 1.ve 2. kıtası, ligamentum venozumun solunda özofagus ve mide ile komşuluk yapar.<sup>26</sup>

Karaciğer diafragma ve karın ön duvarına falsiform, round ve koroner ligamentlerle tutunur. Koroner ligamentler sağda sağ trianguler ligamente solda sol trianguler ligamente dahil olurken önde katlanarak falsiform ligamenti yaparlar. Falsiform ligament, içinde umblikal ven artığını (Ligamentum Teres) taşır. Falsiform ve round ligament, visseral yüzde karaciğeri sağ ve sol loba ayırır. Round ligament fissürü ile ligamentum venozumun fissürü, safra kesesi ile arasında önde kuadrat arkada ise kaudat lobu ayırır. Periton porta hepatiste küçük omentuma katılır ve gastrohepatik ve hepatoduodonal ligamenti oluşturur.<sup>26,27</sup>

Karaciğer kan ihtiyacının %25'ini hepatik arterden, %75'ini ise portal venden sağlar. Hepatik arter çölyak trunkusunun bir dalı olup porta hepatiste sağ ve sol dallara ayrılarak karaciğere girer. Portal ven, superior ve inferior mezenterik ven, splenik ven ve sol gastrik venden oluşur. Venöz kan hepatik ven aracılığıyla inferior vena kavaya dökülür. Karaciğerin yüzeyel ve derin lenfatikleri diafragmadaki sağ orta frenik lenf nodu ile porta hepatisteki lenf nodlarınınca drene edilir.<sup>26,27</sup>

### 4.1.2.2. İntrahepatik Safra Kanalları

Karaciğer hücrelerinde yapılan safra hücre kenarında birikir ve oradan intersellüler kanaliküllere atılır. İntersellüler kanaliküller toplayıcı duktülüslerle onlarda

interlobuler duktuslarla devam ederler. Portal sistemin bir komponenti olan her bir portal venin yanında iki ya da üç adet safra kanalı bulunur. Bu kanalların birleşimi ile daha büyük safra kanalları oluşur. Karaciğer içine uzanan bu kanalların birleşmesi sonucu kanalların sayıları gittikçe azalır ve hilusa sağ ve sol hepatik duktus olarak ulaşırlar.<sup>27</sup> Sağ ve sol karaciğer karşılıklı olarak sağ ve sol hepatik kanallarla drene olurken kaudat lob bu kanallarla bağlantı yapan birkaç kanal yoluyla drene olur.<sup>28</sup>

#### **4.1.2.3. Safra Kesesi**

Duktus hepatikusun bir divertikülü olarak kabul edilebilir. Üç kısımdan oluşur: Fundus, kesenin kapalı uç bölümüdür. Korpus fundustan sonraki büyük bölümdür. Boyun, duktus sistikusla devam eden daralmış olan bölümdür. Safra kesesi karaciğerin sağ lobu ile sol lob medial segmentinin birleştiği yerde yerleşmiştir. Hepatik yüzü bir konnektif doku ile karaciğere tutunur. Diğer kısımlarıysa peritonla kaplıdır. Safra kesesi transvers kolon ve duodenum ile komşuluk içindedir. Kese boynu S şeklinde olup hepatoduodenal ligament içinde serbest olarak bulunur.<sup>17,28,29</sup>

#### **4.1.2.4. Ekstrahepatik Safra Kanalları**

Sağ ve sol hepatik safra kanalları karaciğerden ayrıldıktan hemen sonra birleşerek ortak hepatik duktusu oluştururlar. Ortak hepatik duktus distalde sistik kanal ile birleşerek koledok kanalını oluşturur. Koledok kanalının intramural kısmı duodenum adventisyası içinde pankreatik kanalla birleşir ve oddi sfinkteri ile duodenumun ikinci kısmına açılır.<sup>25,30,31</sup>

Safra kesesi kanlanması, sağ hepatik arterin dalı olan sistik arter yapar. Safra kanallarının kanlanmasıysa posterosuperior pankreatikoduodenal, retroduodenal ve sağ ve sol hepatik arter dalları tarafından sağlanır. Venöz kan sistik ven aracılığıyla karaciğer parankimine taşınır. Safra kesesi lenfatikleri sistik nodül yoluyla hiatal nodüle boşalırken perikoledokal nodül ekstrahepatik safra kanallarının lenfatiklerini drene eder.<sup>26,30</sup>

### **4.1.3. HİSTOLOJİ**

#### **4.1.3.1. Karaciğer**

Vücudun en büyük bezi olan karaciğer, safra kanalları yoluyla salgısını duodenuma boşalttığından ekzokrin, sentezlediği maddeleri kana doğrudan doğruya verdiği endokrin bir bez niteliğini taşır.<sup>32</sup>

Diaframla ve arka yüzünde abdomen duvarıyla temas eden kısımları dışında karaciğer çepeçevre peritonla örtülüdür. Peritonun altında bulunan ve organı tümüyle

dıştan kuşatan elastik fibrillerden zengin bağ dokusu "Glisson kapsülü" olarak adlandırılır. Hilus bölgesinde Glisson kapsülü içeri doğru girer ve organı lobüllere ayırır. Lobüllerin birbiriyle birleştiği yerde bağ dokusu artarak enine kesitlerde üçgen biçiminde seçilen alanlar oluşturur. Arter, ven ve safra kanalı (bu üçlü yapıya beraberce portal triad denir) içeren bu bağ dokusu alanlara portal aralık, Glisson üçgeni ya da Kiernan aralığı denir.<sup>32,33</sup>

Karaciğerde üç tip lobül tanımlanır:

- 1- Klasik karaciğer lobülü: Enine kesitlerde lobül altıgen şeklinde seçilir. Her köşesinde portal aralık, ortasında vena sentralis denen ve lobüle giren kanın toplandığı bir damar bulunur. Vena sentralis çevresinde ışınsal seyirli, birbiriyle anastomozlaşan, dallanan karaciğer hücre kordonları bulunur.
- 2- Portal lobül: Bu ayırımda safra salgılanışı göz önüne alınmıştır. Portal aralık içindeki bir safra kanalına safra veren komşu karaciğer hücreleri (değişik klasik lobüle aittirler) portal lobül olarak gruplanır. Üç klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleştirilmesiyle portal lobülün sınırları çizilir.
- 3- Asinus: İki komşu klasik lobül içinde aynı interlobüler venden kanlanan hücre grupları hepatik asinus olarak tanımlanır.<sup>33</sup>

Portal aralıkta bulunan portal ven ve hepatik arterin dalları, kanlarını karaciğer hücre kordonları arasında bulunan sinüzoidlere boşaltırlar. Sinüzoid damarlar klasik lobülün ortasında bulunan vena sentralise açılırlar. Vena sentralislerin kanı vena interkalarislere dökülür. Vena interkalarislerin birleşmesiyle toplayıcı venler oluşur. Bunlarda vena hepatikayı yaparak vena kava inferiora boşalırlar.<sup>32,33</sup>

Sinüzoid duvarında üç tip hücre bulunur. Bunlar endotel hücresi, Kupffer fagositik yıldız hücresi ve intermediet hücrelerdir. Elektron mikroskopunda karaciğer hücresi ile endotel arasında seçilen aralığa "Disse aralığı" denir. Buradaki sıvı plazma niteliğinde olmasına karşın Disse lenfatik aralık değil, interstisyel aralıktır.<sup>32-34</sup>

#### **4.1.3.2. İntrahepatik Safra Kanalları**

Safra kanalikülleri karaciğer hücreleri arasında yer alan, duvarlarını karaciğer hücrelerinin oluşturduğu küçük kanalcıklardır.

Kanaliküller içinde safra akımı, kan akımına ters olarak sentrifugaldır. Bu kanaliküller safra sıvısını lobül sınırından portal triadın bir komponenti olan interlobüler safra kanallarına taşır. Portal vene yaklaştıkça safra kanaliküllerindeki kuboidal epitel yerini kolumnar epitele bırakır. Bu kolumnar yapı iyi gelişmiş mikrovilluslara sahiptir ve ekstrahepatik safra yollarına kadar uzanır. Safra kanalları büyüdükçe kanal duvarı

içinde elastin fibrinlerinde bulunduğu konnektif bir dokuya dönüşür. Hilusa yakın bu konnektif dokuda düz kas hücreleride belirir.<sup>32,33</sup>

#### **4.1.3.3. Ekstrahepatik Safra Kanalları**

Duktus hepaticus, duktus sistikus ve duktus koledokus ekstrahepatik safra yollarını oluşturur. Mukozadaki epitel silindirik hücrelerden oluşur. Duktus koledokusun duodenuma açıldığı yerde mukoza lümene doğru valv şeklinde kıvrılır. Musküler tabaka duktus hepaticusta sirküler, duktus sistikus ve duktus koledokusta longitudinal seyirlidir. Duktus koledokusun son bölümünde kas tabakasının kalınlaşmasıyla değişik sfinkterler ortaya çıkar.<sup>32,33</sup>

Boyden sfinkteri duktus koledokusun son bölümündeki sirküler kaslardan oluşur.

Oddi sfinkteri duktus pankreatikus ve duktus koledokusu beraberce kuşatan sirküler kaslardan oluşur.<sup>32</sup>

#### **4.1.3.4. Safra Kesesi**

Duktus hepaticusun bir divertikülü olarak kabul edilebilir.<sup>32</sup>

Boş safra kesesinde çok belirgin olarak seçilen mukoza kıvrımları, kesenin gerilmesiyle büyük ölçüde kaybolur. Boyun bölümündeki mukoza kıvrımlarına Heister' in spiral valvi denir. Epiteli yüksek silindirik tipteki hücrelerden oluşur. Lamina propria da boyun bölümüne yakın bölümde çok sayıda muköz bez bulunur. Bu bezler safrada bulunan mukusun kaynağını oluştururlar.<sup>32,33</sup>

Kas tabakasında her yönde seyreden, düzensiz kalınlıktaki kas fibrilleri ince bir ağ yapısı oluşturur. Kas dokusu dışında damardan zengin, kalın ve gevşek bir bağ dokusu tabakası bulunmaktadır. Bu tabakaya perimusküler tabaka denir. Dış tabakayı oluşturan kompakt bağ dokusu fibrilleri bazı yerlerde Glisson kapsülü içine girer. Adventisya dıştan peritonla kuşatılmıştır.<sup>32,34</sup>

#### **4.1.4. FİZYOLOJİ**

Karaciğer, diğer organ sistemlerinin aktivitelerini de ilgilendiren, çok önemli metabolik fonksiyonları üstlenmiş bir organdır.<sup>35</sup>

Karaciğerin temel fonksiyonları: barsaklardan dönen kanın depolanması ve filtrasyonu (vasküler fonksiyon), vücudun metabolik sisteminin büyük bir kısmının koordinasyon ve regülasyonu (metabolik fonksiyon) ve safranın yapılması ve safra kanallarıyla intestinal sisteme ulaştırılması (sekretuar ve ekskretuar fonksiyon) olarak belirlenmiştir.<sup>35-37</sup>

#### *Karaciğerin Metabolik Fonksiyonları*

*Karbonhidrat Metabolizması:* Karaciğer karbonhidrat metabolizmasında anahtar rolü oynar. Karaciğerin burada üstlendiği fizyolojik olaylar şunlardır:

- I. Glikojenin depolanması; monosakkaritler barsaktan emilerek karaciğerde depolanır.
- II. Fruktoz glukozla çevrilir, galaktoz da ya direkt olarak veya glikojen yoluyla glukozla çevrilir.
- III. Glukoneogenezis: Hipoglisemi halinde, depolanmış haldeki glikojen, aminoasit veya yağ asitlerinden glukoz üretilir.

Bu fizyolojik olaylar sayesinde kan glukoz düzeyinin devamını sağlamakta karaciğer tampon görevi üstlenmiştir.<sup>38</sup>

*Protein Metabolizması:* Protein metabolizmasında karaciğerin en önemli fonksiyonları; aminoasitlerin deaminasyonu sonucu ortaya çıkan amonyağın üre oluşumu ile temizlenmesi, plazma proteinlerinin yapımı (albumin, fibrinojen, alfa 1 antitripsin, transferrin, kompleman, immünglobulinler) ve vücudun metabolik fonksiyonları için önemli maddelerin ve değişik aminoasitlerin birbirine dönüşümünü sağlamaktır. Karaciğerde günlük ortalama 50 gr. protein yapılmaktadır. Esas olarak gama globulinlerin bir kısmı hariç bütün plazma proteinleri karaciğer hücreleri tarafından sentezlenmektedir.<sup>37,38</sup>

*Lipid Metabolizması:* Karaciğerin yağ metabolizmasında temel fonksiyonları; çok hızlı olarak yağ asitlerinin beta oksidasyonu ve asetoasit oluşumu, lipoproteinlerin büyük bir kısmının sentezi, kolesterol ve fosfolipitlerin yapımı ve karbonhidrat ile proteinlerin yağla dönüşümüdür.<sup>38</sup>

Karaciğerde sentezlenen kolesterol %80 oranında safra tuzlarına dönüşür ve safra ile atılır. Geriye kalan kısmı ise lipoproteinler içinde bütün vücuda dağılır. Fosfolipitler de benzer şekilde karaciğerde sentez edilir ve adipöz dokularda depolanmak üzere lipoproteinlerle taşınır.<sup>38,39</sup>

*Hepatik Salgı Fonksiyonu :* Karaciğer salgı fonksiyonu ve safra akımı, safra asitlerinin salgılanması ve resirkülasyonu ile yakın ilişkilidir. Safra asitleri kolesterolden metabolize edilmektedir.<sup>44</sup> Kolesterol, ya yiyeceklerle dışardan alınır ya da metabolizma sırasında sentez edilir. Daha sonra eşit miktarda kolik asit ya da kenodeoksikolik asite çevrilir. Bu asitlerde daha sonra başlıca glisin ve daha az ölçüde taurin ile birleşerek gliko ve tauro konjuge safra asitlerini oluşturur. Bu asitlerin tuzları safrada salgılanır. Karaciğer tarafından sürekli olarak salgılanan safra, normalde safra kesesinde depo edilerek gerektiğinde duodenuma akar. Safra kesesinde su, sodyum klorür ve

elektrolitlerin bir çoğu aktif transportla geri emilerek safra tuzları, kolesterol, lesitin ve bilirubin konsantre edilir. Safra genellikle beş kat konsantre edilmekle beraber, maksimum 12-18 kat kadar yoğunlaştırılabilir. Safra kesesi, depoladığı konsantre safrayı kolesistokininin stimülasyonu ile duodenuma boşaltır.<sup>37,38</sup>

Safra tuzları intestinal kanalda iki önemli görev yaparlar. İlk olarak, besindeki yağ partiküllerinin yüzey gerilimini azaltarak, küçük yağ damlacıklarına parçalanmasına ve karışımına yardım ederler. İkinci olarak safra tuzları, yağ asitleri, monogliserid, kolesterol ve öteki lipitlerin intestinal kanalda absorpsiyonuna yardım ederler.<sup>35-37</sup>

Barsağa geçmiş olan safra tuzlarının yaklaşık %94'ü, ileumun distal bölümünde aktif transportla reabsorbe olur ve tekrar karaciğere döner. Karaciğerde, hemen tümüyle hepatik hücrelere absorbe olan safra tuzları daha sonra yeniden safraya sekrete edilir. Safra tuzlarının bu dolaşımına enterohepatik sirkülasyon denir. İleal absorpsiyondan kaçan safra asitleri kolonda bakterilerce dehidroksilasyon ve dekonjugasyondan geçerler ve sekonder safra asitleri olan deoksikolat ve litokolata dönüşürler.<sup>37-39</sup>

Sindirim işlemlerinde önemli rol oynayan safra salgısı aynı zamanda bir çok maddenin feçesle atılmasına da yardımcı olur. Bunlardan biri de bilirubin pigmentidir. Bilirubin, hemoglobun yıkımındaki son ürünlerin başında gelir. Bilirubin oluşması ve atılması şu şekilde olmaktadır: Eritrositlerin membranlarının yıkılmasından sonra serbestleşen hemoglobun, doku makrofajları tarafından fagosite edilir. Burada hemoglobun ilk olarak hem ve globine ayrılır. Hem grubu demir ve dört pirol çekirdeğine ayrılır. Pirol çekirdeği biliverdine, oda hızla indirgenerek serbest bilirubine dönüşür. Serbest bilirubin yavaş yavaş plazmaya geçer, ancak derhal plazma albuminine kuvvetlice bağlanır. Bir süre sonra bilirubin karaciğer hücre membranından absorbe edilir. Burada bilirubinün %80'i glukuronik asitle, %10'u sulfatla ve kalan %10'u da diğer maddelerle birleşerek konjuge (direkt) bilirubin haline gelir. Bilirubin bu halde safra kanallıklarına atılır. Safra ile barsağa geçen bilirubinün yaklaşık yarısı bakteriler tarafından suda kolay eriyen ürobilinojene çevrilir. Ürobilinojenin bir kısmı barsak mukozasından kana absorbe edilir ve enterohepatik sirkülasyona girer. %5'i böbreklerden idrara atılır. Hava ile temas eden idrarda, ürobilinojen ürobiline oksitlenir. Feçeste oksitlenerek sterkobiline çevrilir. Feçese rengini veren budur. Tıkanma sarılıklarında bilirubin barsağa geçemez ve feçes akolik görünüm kazanır.<sup>38</sup>

Yenidoğanlarda safra asitlerinin, ileal reabsorpsiyonu ve hepatik klirensi zayıftır. Bu nedenle serum safra konsantrasyonu bir süre yüksek kalır. Yenidoğanlarda safra asit miktarı yetişkinin yarısı kadardır. Proksimal ileumdaki safra asit miktarıda düşüktür

ve miçel oluşturacak konsantrasyonun altında kalır (2 mM). Bu nedenle yağ ve yağda çözünür vitaminlerin emilimi azalır, fakat malabsorbsiyon olmaz.<sup>35</sup>

## **4.2. SAFRA KANALI TIKANIKLIKLARI**

### **4.2.1. Erişkinlerde Görülen Safra Kanalı Tıkanıklıkları**

Safra yollarında tıkanıklıkla seyreden hastalıkların sayısı oldukça fazla olup bu hastalıkların tanı ve tedavisinin daha iyi yapılabilmesi ve altta yatan patolojinin daha iyi anlaşılabilmesi için bir gruplamaya ihtiyaç duyulmuştur.

Erişkinlerde pratik olarak kullanımı en uygun olan gruplama Benjamin ve arkadaşlarının tariflediği gruplamadır.<sup>40</sup>

- Tip 1: Komplet obstrüksiyon; sarılık mutlaka vardır.
- Tip 2: Aralıklı obstrüksiyon; sarılık atakları olmadan da tıkanmanın klinik ve biyokimyasal bulguları vardır.
- Tip 3: Kronik inkomplet obstrüksiyon; Klinik ve biyokimyasal olarak tıkanma sarılığı olmadan, koledok kanalında ve karaciğerde patolojik değişiklikler ortaya çıkar.
- Tip 4: Segmental obstrüksiyon; bir yada daha fazla anatomik segmentte intrahepatik safra yollarında tıkanıklık vardır.

Bu gruplandırmadaki tiplere uyan spesifik hastalıklar tablo 1' de verilmiştir.<sup>40</sup>



Tablo 1. Safra yollarında tıkanıklık yapan lezyonlar

Tip 1: Komplet obstrüksiyon
Tümörler, özellikle pankreas başı tümörleri
Koledok kanalının bağlanması
Kolanjiyokarsinom
Parankimal karaciğer tümörleri
Tip 2: Aralıklı obstrüksiyon
Koledokolitiazis
Periampuller tümörler
Duedonal divertiküller
Safra kanalında papillomlar
Koledok kisti
Polikistik karaciğer hastalıkları
Safra kanallarında parazit
Hemobili
Tip 3: Kronik inkomplet obstrüksiyon
Koledok kanalındaki darlıklar
Konjenital
Travmatik
Sklerojan kolanjit
Radyoterapi sonrası
Biliyer-enterik anastomozda darlık
Kronik pankreatit
Kistik fibrozis
Oddi sfinkterinde darlık
Oddi sfinkterinde fonksiyon bozukluğu
Tip 4: Segmental obstrüksiyon
Travmatik
Hepadokolitiazis
Sklerojan kolanjit
Kolanjiyokarsinom

## 4.2.2. Çocukluk Yaş Grubunda Görülen Safra Kanalı Tıkanıklıkları

### 4.2.2.1. Biliyer atrezi

Biliyer atrezi, çocukluk yaş grubunda en sık tıkanma sarılığı yapan hastalıktır. Biliyer atreziler, ilk kez 1953'te Gross'un yenidoğan dönemindeki cerrahi tedavi gerektiren tıkanma sarılıklarının önemli bir kısmının biliyer atreziye bağlı olduğu fikrini ortaya atmasından sonra dikkati çekmeye başlamıştır.

Biliyer atrezi, gerek intrahepatik gerekse ekstrahepatik safra kanallarında obliteratif bir inflamasyonla seyretmektedir.<sup>41,42</sup>

Biliyer atrezilerin etyopatogenezinde bir çok teori öne sürülmüştür. Bu teorilerden ilki rekanalizasyon teorisidir. Erken fetal dönemde içinden safranın akabildiği safra kanalları, bir süre sonra epitel tıkaçlarıyla tıkanır ve fetal hayatın sonuna doğru rekanalize olarak tekrar açılır. Biliyer atrezinin etyopatogenezinde uzun süre. rekanalizasyon bozukluklarının rol oynadığı öne sürülmüştür. Ancak hastalığın kliniğinin kronik ve ilerleyici bir özelliğe sahip olması, etyopatogenezin, hem ekstra hemde intrahepatik safra kanallarını tümüyle ilgilendiren dinamik ve progresif sklerojan bir sürece dayandığı görüşüne ağırlık kazandırmıştır. İlk kez 1987 yılında Desmet ve arkadaşları etyolojide duktal tabaka malformasyonunu öne sürmüşlerdir.<sup>116</sup> Yaptıkları çalışmalarda BA'li hastalarda interlobuler safra kanallarının hala primitif embriyonik yapıda olduğunu göstermişlerdir. BA'li hastalarda duktal tabaka malformasyonunun varlığı, atrezinin sebebinin intrauterin hayatta başladığını düşündürmektedir. Bu konudaki bir başka çalışmada Funaki ve arkadaşları BA'li hastaların safra kanallarında. apoptozisin belirgin olarak arttığını göstermişler ve bunun sebebinin de duktal tabaka malformasyonunun olduğunu ileri sürmüşlerdir.<sup>41-43</sup>

Viral enfeksiyonlar, kan dolaşımında azalma, anormal safra asit içeriği ve pankreatiko-biliyer bileşkede anomali ileri sürülen diğer etyolojik teorilerdir. Viral enfeksiyonlardan özellikle Reo virüs tip 3 sorumlu tutulmuştur.<sup>44,45</sup>

Biliyer atrezi histopatolojik ve kolanjiografik olarak değerlendirildiğinde, makroskopik olarak üç şekilde olabilir:

Tip 1. Bu tipte koledok kanalı atreziktir. Karaciğer hilusuna yakın kesimdeki ekstrahepatik safra kanallarında yanıtıcı olarak içi sıvıyla dolu bir kistik genişleme vardır. Ancak bu yapının intrahepatik safra kanallarıyla bir ilgisi yoktur

Tip 2. İkinci tipte, hepatik duktus atreziktir. Safra kesesi ve sistik kanalın altında kalan koledok açıktır. Olguların %11'i bu tiptedir.

Tip 3. Olguların % 88'ini oluşturan bu tip atrezilerde tüm ekstrahepatik safra kanallarında komplet bir obliterasyon vardır. <sup>44,45</sup>

Biliyer atrezide, karaciğerdeki histolojik değişiklikler arasında en dikkati çekici bulgu kolestazistir. Duktüler proliferasyon, portal inflamasyon ve fibrozis diğer histolojik bulgulardır.<sup>44</sup>

Klinik olarak biliyer atrezili bebeklerin ancak %35'i doğumda sarıklıdır. Geri kalan bebeklerde, sarılık yaşamın ilk haftasında ortaya çıkar. İkinci veya üçüncü haftada belirginleşir. Dışkıları akolik hale gelirken idrarlarında koyu bir renk alır.<sup>45</sup>

Günümüzde hepatic portoenterostomi (Kasai prosedürü), BA'da standart operasyon olarak kabul edilmektedir. Ancak safra akımı sağlansa bile çoğunlukla kalıcı inflamatuvar yanıt nedeniyle karaciğerdeki hasar devam etmekte ve hastalar ya karaciğer transplantasyonuna ihtiyaç duymakta ya da kaybedilmektedirler.<sup>3,5,46</sup>

#### 4.2.2.2. Koledok kisti

Bebek ve çocuklardaki safra yollarının konjenital kistik dilatasyonları, koledok kistleri adı altında toplanır. Koledok kistleri 2 milyon canlı doğumda bir görülen nadir anomalilerdendir. Anatomik olarak beş tipte sınıflandırılmıştır.

Tip 1. Ekstrahepatik safra kanallarında segmental yada diffüz dilatasyon vardır.

Tip 2. Koledokta divertikül tarzında kistik genişleme vardır.

Tip 3. Koledoğun intraduodenal kısmında kistik genişleme vardır.

Tip 4. İntra ve ekstrahepatik safra kanallarında çok sayıda kistik dilatasyonlar mevcuttur.<sup>47</sup>

Tip 5. Sadece intrahepatik safra kanallarında tek veya çok sayıda kistler vardır.

Koledok kistlerinde yaygın olarak kabul edilen etyopatogenez, pankreatik kanalla koledok kanalının birleşim yerindeki anomalidir. Bu anomaliye bağlı olarak pankreatik enzimler koledok kanalına geçer ve koledokta mukozal hasar, fibrozis ve ardında da kistik dilatasyona neden olur. Ancak bu teori intrahepatik safra kanallarında kistik dilatasyonların olduğu Caroli hastalığının etyolojisini açıklamakta yetersiz kalmaktadır.<sup>44,47</sup>

Koledok kistleri klinik olarak hastaların başvuru yaşına göre ikiye ayrılmaktadır. İnfantil tipte hastaların yaşı 1-3 ay arasındadır. Bu hastalarda klinik olarak sarılık, hepatomegali ve akolik dışkı tesbit edilmektedir. Erişkin tip koledok kistlerinde hasta 2 yaşından büyüktür ve hastalar tekrarlayan sarılık atakları, sağ üst kadranda ağrı ve kitle şikayetiyle başvururlar. Tekrarlayan kolanjit atakları karaciğerde sirotik değişikliklere yol açmaktadır. Koledok kistinde tedavi, kistin eksizyonu ve proksimaldeki safra kanalıyla

barsak arasında Roux en Y şeklinde anastomoz yapılmasıdır. Genellikle hastalığın prognozu iyidir.<sup>47</sup>

#### 4.2.2.3. İnterlobüler biliyer hipoplazi

İnterlobüler biliyer hipoplazi, intrahepatik safra kanallarında sayıca azalma ile birlikte ekstrahepatik safra yollarında hipoplazi ile karakterizedir. Ekstrahepatik safra yollarındaki hipoplazi hafif tiptedir. İnterlobüler safra kanallarıyla beraber interlobüler safra kanallıklarında sayıca azalmayı ifade eder. Sendromatik ve sendromatik olmayan tip olarak ikiye ayrılır. Sendromatik tipte kronik kolestazla beraber posterior embriyotokson, vertebral arkus defekti ve pulmoner arter hipoplazisi mevcuttur. Alagille sendromu olarak da bilinen bu tip, sendromatik olmayan tipten daha siktir. Sendromatik olmayan tipte yaşamın ilk ayında kısmi tıkanıklığa bağlı kolestazis gözlenmektedir.<sup>44,48</sup>

#### 4.2.2.4 Safra kanallarında tıkanıklık yapan mekanik nedenler

*Koyu safra sendromu:* Bu sendrom, yenidoğan döneminde, koledok kanalının distal kısmında yerleşen koyu safra tıkaçına bağlı, safra akımında tam veya kısmi tıkanıklığı ifade eder. Bu sendrom özellikle hemoliz, diüretik tedavisi, parenteral nütrisyon, ağır dehidratasyon ve hepatik safra akımının bozulduğu durumlarda ortaya çıkar. Tüm bu durumlarda görülen ortak sebep, safra viskozitesinin artması ve safra akışkanlığının azalmasıdır.<sup>112,129</sup>

Safra tıkaçı altta yatan primer patoloji düzeldiğinde, çoğunlukla kendiliğinden erir ve düzelir. Kalıcı tıkaç olduğu durumlarda, cerrahi olarak ya koledok kanalının irrigasyonu ile yada koledokotomi ile tıkaç uzaklaştırılır.<sup>44,47</sup>

*Safra kanallarında taş:* Kolelitiyazis, çocukluk yaş grubunda çoğunlukla hematolojik hastalıklara eşlik etmektedir. Bu hastalıklar sıklıkla herediter sferositoz, orak hücreli anemi ve talasemi majordür. Distal barsak rezeksiyonu yapılan ve parenteral nütrisyon alan hastalarda da görülebilmektedir.<sup>44</sup>

Taşların bir kısmı kendiliğinden eriyebilmektedir. Klinik olarak bulgu vermeyen taşlarda kolesistektomi geciktirilebilmektedir. Ancak bulgu veriyorsa kolesistektomi yapılması gerekir. Laparoskopik kolesistektomi günümüzde çocukluk yaş grubunda da sıklıkla tercih edilir hale gelmiştir. Koledok kanalında taş olan durumlarda endoskopik sfinkterotomi, açık cerrahi ile koledok kanalının irrigasyonu veya transduedonal sfinkterotomi tedavi seçenekleridir.<sup>44,47</sup>

Koledok kanalının spontan perforasyonu, sklerozan kolanjit, pyojenik kolanjit, travmatik darlık, kolesistit, ekstrahepatik safra yolu tümörleri ve ekstramüral bası çocukluk yaş grubunda nadir görülen diğer tıkanma sarılığı nedenleridirler.<sup>49</sup>

### **4.3. BİLİYER OBSTRÜKSİYONDA PATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER**

#### **4.3.1. Fیزیopatolojik Değişiklikler**

##### **4.3.1.1. Basınç artışı**

Biliyer obstrüksiyonda tıkanıklığın proksimalindeki safra kanallarında basınç yükselir. Yüksek kanaliküler basınç bir süre sonra safra üretiminin belirgin şekilde azalmasına yol açar. Ekstrahepatik safra kanallarının komplet obstrüksiyonlarında proksimaldeki safra kanallarının dilate olması beklenir. Ancak her hastada böyle bir bulgu tesbit edilemez. Özellikle akut obstrüksiyonlarda, dilatasyon, obstrüksiyonun süresine, safra kanalının ve onu saran karaciğer dokusunun genişlemeye izin verip vermemesine bağlıdır. Kronik obstrüksiyonlarda ise tabloya kolanjit ve fibrozisin eklenmesi dilatasyonu belirginleştirmektedir.<sup>50</sup>

##### **4.3.1.2. Hepatik kan akımı**

Safra kanalı tıkanıklıkları sonrasında, hepatik kan akımındaki değişikliklerle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Hunt ve ark. ratlarda gerçekleştirdikleri deneysel çalışmada biliyer obstrüksiyonun hepatik kan akımını azalttığını göstermişlerdir. Yine yapılan çalışmalarda, safra kanal tıkanıklıkları sonrası gelişen karaciğer hasarının fizyopatolojisinde, hepatik mikrosirkülasyondaki yada sinüzoidal kan akımındaki bozulmanın önemli rol oynadığı tesbit edilmiştir.<sup>51</sup> Edlund ve ark. biliyer obstrüksiyon yaptıkları ratlarda ikinci günden sonra hepatik lobüllerde perfüzyonun azaldığını saptamışlardır.<sup>50</sup>

Biliyer obstrüksiyon sonrası gelişen sinüzoidal kan akımı bozuklukları birkaç mekanizmayla gelişir. BO'un ardından intrahepatik safra kanal ve kanalikülleri dilate olmakta ve periportal ödem gelişmektedir. Bunun sonucu olarak biliyer sistemde hidrostatik basınç artmakta ve sinüzoidlerde daralma olmaktadır. Bu daralma kan akımının azalmasına yol açmaktadır.<sup>50,52</sup> Sinüzoidal endotel hücrelerinde ödem ve ayrışma, nötrofil infiltrasyonuna ve toksik mediyatör salınımına neden olmaktadır. Ayrıca BO esnasında insan vasküler endotel hücrelerinde hasara yol açan monohidroksi safra tuzlarının miktarıda artış göstermektedir. Toksik mediyatör salınımı ve monohidroksi safra tuzlarının artışı vasküler endotel hasarı yaparak sinüzoidal kan akımının azalmasına neden olmaktadır.<sup>50-53</sup>

Biliyer obstrüksiyon esnasında sinüzoidlerdeki "Kupffer" hücreleride hızla proliferere olmaktadır.<sup>51,54</sup> Sinüzoidlerdeki "Kupffer" hücre birikimi de mekanik tıkanıklığa sebep olarak perfüzyonu bozabilmektedir. Disse aralığındaki steallete hücreleri kontraktıl özellikleri ile sinüzoidal kan akımını düzenlemeye çalışmakla beraber, salgıladıkları ekstrasellüler matriks, hem karaciğer hasarına yol açmakta hemde sinüzoid çaplarını azaltmaktadır.<sup>50</sup>

#### **4.3.2. Histopatolojik Değişiklikler**

##### **4.3.2.1. Safra kanal ve kanaliküllerindeki değişiklikler**

Biliyer obstrüksiyon sonrası ilk hasarlanma, safra kanaliküllerinde ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda kanaliküler seviyedeki hasarın hem ekstrahepatik hemde intrahepatik obstrüksiyonlarda benzer olduğu gösterilmiştir.<sup>55</sup> Tıkanmaya bağlı kolestazisin morfolojik bulguları tıkanmanın şiddeti, süresi ve neden olan hastalıkla yakından ilişkilidir. Tıkanma sonrasında kanaliküller genişler, mikrovilluslerde şişme ve şekil bozuklukları başlar.<sup>56</sup> Safra pigmentlerinden oluşan "trombüsler" kanalikül içinde ve komşu hepatositlerde izlenmeye başlar.<sup>55</sup> Tıkanmanın süresi uzadığında safra stazı ve safranin geriye doğru yaptığı basınç, safra kanal epitelinde proliferasyona neden olur. Bu durum "duktüler proliferasyon" olarak adlandırılan yeni safra kanaliküllerinin oluşumu ile sonuçlanır.<sup>56</sup>

Safra elemanlarının kanaliküllerden geri emilimi, portal alanda belirgin inflamatuvar yanıt ve nötrofil infiltrasyonuna neden olur. Bu "akut kolanjiyolit" tablosu asenden bakteriyel enfeksiyona bağlı olmaksızın ortaya çıkan, kimyasal irritasyona bağlı doku reaksiyonudur. Komplet biliyer obstrüksiyonun olduğu BA'li hastaların karaciğerleri incelendiğinde safra kanaliküllerinin çevresinde T lenfositlerinin ve klas II antijenlerinin belirgin arttığı tesbit edilmiştir. Burdan hareketle inflamatuvar süreçte T lenfosit sitotoksitesinin de önemli rol oynadığı savunulmuştur.<sup>57</sup> Bu kolanjiolitik değişiklikleri, artmış fibrogenezisle seyreden retiküler fibrin birikimi ve kollajen bant oluşumu takip eder.<sup>58</sup>

Periportal zondaki hepatosit içinde biriken bilirubin ve safra asitlerinin toksik etkileri hepatositlerde de hasara yol açar. Hem düz hemde granüllü endoplazmik retikulum hasarlanır ve kanaliküler membran elemanları erir. Portal alan çevresinde lökosit birikimi ile sitoplazmik hyalen ve hasara uğramış hepatosit birikimi safranin "piecemeal nekrozu" olarak adlandırılır.<sup>55-62</sup>

Cerrahi olarak biliyer dekompresyon sağlansa bile devam eden persistan inflamasyon doku iyileşmesini yetersiz kılmaktadır. Persistan inflamatuvar yanıt

esnasında sistemik monositler de karaciğerde birikmekte, hakim hücrelerse hepatik makrofaj veya "Kuppfer" hücreleri olmaktadır. Bu hücrelerin aktivasyonu tümör nekrozis faktör (TNF)- $\alpha$ , transforming growth faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), PAF ve lökotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı arttırmaktadır.<sup>63,64</sup> Davenport ve arkadaşları yaptıkları çalışmada BA'li hastaların karaciğer ve atrezik safra kanalı artıklarını ayrı ayrı incelemişler. Atrezik safra kanallarında "naturel killer" hücrelerinin ve doku makrofajlarının karaciğerden daha az yoğunlukta olduğu ancak immün yanıtta önemli rol oynayan intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), E-selektin ve HLA-DR seviyelerinin karaciğerden daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır.<sup>4</sup> Benzer bir çalışmayı Kobayashi ve arkadaşları yapmış ve BA'li hastaların serumlarında proinflamatuvar sitokinlerden interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin belirgin arttığını göstermişlerdir.<sup>3</sup> Bu kimyasal mediatörler hepatik metabolizmayı etkilemekte, hepatik rejenerasyonu uyarmakta, skar oluşumuna yol açmakta ve en önemlisi monosit birikimi ve proliferasyonunun devam etmesine neden olmaktadır. Bu monositler portal dolaşımdaki endotoksinleri ve mikrobial ajanları temizleseler de hepatik makrofajları uyardıkları için progresif hasara yol açmaktadırlar.<sup>2,76</sup> İmmünohistokimyasal olarak bu makrofajların heterojen fenotipte oldukları gösterilmiştir.<sup>75</sup> Tıkanma sürecinin farklı zamanlarında farklı yüzey elemanları üretmektedirler. Bu fenotipik değişiklikler de onarımın kinetiğini etkilemektedir.<sup>2,64</sup>

Biliyer obstrüksiyona bağlı karaciğer hasarı, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu da ilişkilendirilmiştir.<sup>65,66</sup> Lipid peroksidasyon ürünleri biyolojik membranların fizikokimyasal yapısında değişiklikler yaparak hasara yol açar. Bu gibi oksidatif etkilere karşı hücrel savunma mekanizmaları arasında Vit E gibi antioksidanlar yer alır.<sup>66</sup> Deneysel ve klinik araştırmalarla, safra asitlerinin, kolestatik karaciğer hasarında rol oynayan inflamatuvar hücrelerden, serbest oksijen radikallerinin salınımını arttırdığı gösterilmiştir. Aynı zamanda biliyer obstrüksiyonu olan hastaların plazmalarında lipid peroksidatlarının konsantrasyonları yüksek bulunmuştur. Baron ve arkadaşları, yaptıkları deneysel çalışmada lipid peroksidasyonunun, biliyer obstrüksiyona bağlı karaciğer hasarının sebebi mi yoksa sonucu mu olduğunu sorgulamışlardır.<sup>65</sup> Bu çalışma sonunda kullandıkları antioksidan (Vit E ve Trolox) ajanların, karaciğer hasarının göstergesi olan biyokimyasal markırların ve histolojik bulguların önüne geçmediğini bulmuşlardır. Buradan hareketle, lipid peroksidasyonunun, karaciğer hasarının sebebi değil sonucu olduğu görüşünü savunmuşlardır.<sup>66</sup>

#### **4.3.2.2. Fibrotik değişiklikler**

Obstrüksiyonun devam etmesi durumunda periportal alanda Tip 1 kollajen içeren retikülin birikimi olur ve safra kanalikülleri çevresinde kolestazı artıracak şekilde fibrotik skar gelişir. Benzer değişiklikler ekstrahepatik safra kanallarında da görülür. İnflamatuvar reaksiyonu takiben skuamöz metaplazi ve mukozal atrofiyle beraber fibrozis gelişir. Özellikle bu tabloya enfeksiyonun da eklenmesi ile safra kanallarının subepitelyal tabakasındaki inflamasyon ve fibrozis daha da hız kazanır.<sup>58</sup>

Ramm ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, fibrotik septalarda, özellikle hepatik stellat hücrelerinin ve transforming growth faktör- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) mRNA ekspresyonunun belirgin arttığını göstermişlerdir. Hepatik stellat hücrelerinin transforming growth faktör- $\beta_1$  mRNA ekspresyonunu indükleyerek kollajen üretimindeki artıştan sorumlu olduklarını savunmuşlardır.<sup>67</sup>

#### **4.3.3. Biyokimyasal Değişiklikler**

##### **4.3.3.1. Bilirubin**

Plazma direkt bilirubinindeki yükselme safra yolu tıkanıklıklarının klasik bulgusudur. Normal popülasyonda serum bilirubin düzeyi 1,2 mg/dL dir.<sup>68</sup>

Direkt hiperbilirubinemi diğer karaciğer fonksiyonlarında bozulma olmaksızın bazı hastalıklarda da (örneğin Dubin Johnson ve Rotor send.) yükselebilir. Ancak daha çok biliyer obstrüksiyonun bir göstergesidir ve kolestazda plazma seviyeleri belirgin artar. Kolestatik sarılıklarda bilirubin barsağa akamamaktadır. Bu nedenle idrarda ürobilinojen bulunmaz. Aynı zamanda dışkı akolik yani açık renkli hale gelir.<sup>2,68</sup>

##### **4.3.3.2. Serum enzim düzeyleri**

###### **4.3.3.2.1. Transaminazlar**

Transaminazlar bir amino grubunun veya bir alfa aminoasitin, alfa ketoasite transferini katalize eden bir grup enzim topluluğudur.<sup>69</sup> Bunlar mitokondriyal enzimlerdir. Transaminazların bulunduğu dokular akut bir yaralanmaya veya parçalanmaya maruz kalırlarsa bu enzimler sistemik dolaşıma katılırlar ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artma görülür.<sup>70</sup> Transaminazlardan klinikte yaygın olarak kullanılan alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferazın (AST) serum düzeyleri biliyer obstrüksiyon sonrasında artar.<sup>71,72</sup> Bu enzim düzeyleri Karmen ünitesi olarak ölçülmektedir. Enzimlerin normal değerleri 0-40 arasında olmalıdır. İnternasyonal olarak 5-17 arası normaldir.<sup>68</sup> Sada ve arkadaşları yaptıkları deneysel



çalışmada biliyer obstrüksiyon sonrasında AST artışının daha değerli bir bulgu olduğunu savunmuşlardır.<sup>72</sup> Bu enzimler tüm vücutta yaygın olarak bulunmakla beraber kalp, karaciğer ve iskelet kasında daha fazla bulunurlar.<sup>73</sup> ALT ise karaciğerde diğer organlardan daha fazla bulunur.<sup>68</sup> Yapılan bir çok deneysel çalışmada akut karaciğer hasarında bu enzim düzeylerinin çok yüksek değerlere kadar çıkabileceği gösterilmiştir. Kronik karaciğer hastalıklarında ise hastalığın tipine ve siroz gelişip gelişmemesine göre enzim düzeyleri farklılık gösterir.<sup>68,70,73</sup>

#### 4.3.3.2.2. Membran enzimleri

*Alkalin Fosfataz (ALP)* bir enzim değil izoenzim topluluğudur. Normal plazmada bulunan ALP karaciğer kaynaklıdır.<sup>68</sup> ALP'ın safrada temel olarak iki komponenti bulunur. Birisi karaciğer hasarıyla seyreden hastalıklarda yükselen ve hepatosit tarafından yapılan formudur. Diğeri ise sadece biliyer obstrüksiyonlarda plazma değerleri yükselen formudur. İntrahepatik kolestaz ile ekstrahepatik kolestazın ayırımında ALP'ın ikinci komponenti daha önemlidir. ALP, büyük boyuta sahip olup diğer büyük boyutlu enzimler gibi membrana yerleşmiştir.<sup>68,74</sup>

Kaplan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, tıkanma esnasında geriye regürjite olan safra tuzlarının deterjan etkisi ile, kanalikülleri oluşturan hepatositlerin membranlarını eritmekte ve bu nedenle ALP seviyelerinin yükselmekte olduğunu göstermişlerdir.<sup>75</sup> ALP'ın kemik yada karaciğer kaynaklı olup olmadığının anlaşılabilmesi için gama glutamil transpeptidaz (GGT) seviyelerine bakılması gerekir.<sup>76</sup>

ALP'nin normal değerleri değişik birimlerle saptanmaktadır. (21-85) IU/L, (1,5-4,5) Bodanski ünitesi ve (4-13) King Armstrong ünitesi olarak normal sınırlarda kabul edilmektedir.<sup>68</sup> Paritpokee ve arkadaşları yaptıkları klinik araştırmalarda 100 IU/L değerini malign biliyer obstrüksiyonlar için alt sınır olarak değerlendirmişlerdir.<sup>74</sup>

*Gama glutamil transpeptidaz*, glutasyon gibi gama-glutamil peptitlerden diğer peptitlere ve L-aminoasitlere gama glutamil grubunun transferini katalize eder. Karaciğer hücre hasarında serum seviyesi artan GGT aynı zamanda kolestazın en iyi göstergelerindendir.<sup>94</sup> Bu enzimin serum aktivitesinin yükselmesi, sıklıkla karaciğer, biliyer kanal ve pankreas hastalıklarında olur. Normal değerleri 0-30 IU/L arasında değişir.<sup>73,76</sup>

ALP'ın yükselmesine neden olan hastalığın saptanmasında GGT tayinleri klinik olarak önemlidir. ALP ve GGT beraber yükselmişse ALP karaciğer kaynaklıdır. İzole

ALP yüksekliği olan olgularda, GGT normal düzeylerde ise ALP'ın kesin kaynağının belirlenmesi için 5' Nükleotidaz (5'NT) seviyesine bakılması gerekir.<sup>77</sup>

5' Nükleotidaz daha çok karaciğerde bulunan orijinal bir fosfattır. 5'NT, adozin 5' fosfat ve inozin 5' fosfat gibi nükleotidleri hidrolize eden bir alkalen fosfomono esterazdır.<sup>68,73</sup> 5' Nükleotidaz, ALP ve GGT gibi büyük boyutta olup kanaliküler ve sinüzoidal membranda yerleşmiştir. Hepatobiliyer hastalıklarda ALP'dan daha spesifik olduğu savunulmaktadır. Serumdaki normal değerleri 0,3-3,2 Bodanski ünitesi arasındadır. Çocuklarda serum seviyeleri düşük olup yaşla artar. Kolestazda serum değerlerinin yükselme nedeni, kolestaz esnasında biriken safra asitlerinin sinüzoidal ve kanaliküler membranda hasar oluşturarak 5'NT'ı açığa çıkarmasıdır.<sup>73,76,78</sup>

#### 4.3.4. Protein Sentezindeki Değişiklikler

Karaciğer protein sentezinde önemli rol oynar. Karaciğerde sentezlenen en önemli proteinlerden başlıcaları albumin, protrombin, fibrinojen, antitripsin, haptoglobulin, seruloplazmin ve transferrindir.<sup>38,68</sup>

Biliyer obstrüksiyon sonrası karaciğer hücre hasarı nedeniyle karaciğerdeki protein yapımı belirgin olarak azalır. Hipoalbuminemi bu durumun labaratuvar göstergelerinin başında gelir. Bununla birlikte albumin seviyeleri, yarılanma ömrünün uzun oluşundan dolayı (20 gün), biliyer obstrüksiyonda minimal değişiklikler gösterir. Ancak biliyer obstrüksiyona eşlik eden malignensi veya beslenme bozukluklarında hipoalbuminemi belirgin hale gelir ve prognozu kötü yönde etkiler.<sup>76</sup>

Prealbumin hepatik protein sentezinin akut göstergelerinden biri olarak, kısa yarılanma ömrüyle (1,9 gün) daha değerlidir.<sup>79</sup>

#### 4.3.5. Lipid Metabolizmasındaki Değişiklikler

Akut veya kronik karaciğer hastalıklarında lipit metabolizmasında önemli değişiklikler ortaya çıkar. Kanaghinis ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada, biliyer obstrüksiyon sonrasında plazmada esterifiye olmayan kolesterol seviyelerinin belirgin arttığını ve esterleşme işleminin bozuk olduğunu göstermişlerdir.<sup>80</sup> Kolesterol ile birlikte trigliserit ve özellikle düşük dansiteliiler olmak üzere lipoproteinlerin de arttığını gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda biliyer obstrüksiyon sonrası anormal yapıda lipoproteinlerin ortaya çıktığı saptanmıştır. Ekstrahepatik kolestazın intrahepatik kolestazdan ayırımında, anormal bir lipoprotein olan Lipoprotein X'in plazma seviyelerinin artışı önemli bir göstergedir.<sup>79</sup>

#### 4.3.6. Karbonhidrat Metabolizması Değişiklikler

Yapılan deneysel çalışmalarda, safra kanalları bağlanan ratlarda, glukoneogenezin bozulduğu ve glukoz toleransında anormalliklerin olduğu saptanmıştır.<sup>58</sup> Younes ve arkadaşları, yaptıkları deneysel çalışmada iki hafta süreyle biliyer obstrüksiyon uyguladıkları ratlarda, kan glukoz seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını ancak obstrüksiyonun giderilmesinden sonra normale döndüğünü göstermişlerdir.<sup>81</sup>

#### 4.3.7. Retikülo-endotelyal Sistem Aktivitesinin Baskılanması ve Endotoksemi

Endotoksin, barsakta bulunan Gr(-) bakterilerin hücre duvarında bulunur. Normalde endotoksinler portal dolaşıma oldukça az miktarda ve kısa bir süre için girerler. Bu az miktardaki endotoksin hepatik retikülo-endotelyal sistem (RES) tarafından hızla dolaşımdan temizlenir. Ancak tıkanma sarılığı olan hastaların % 50'sinde periferik dolaşımda endotoksin saptanabilir. Dolaşımdaki endotoksinin renal vazokonstrüksiyon, kompleman, lökosit, makrofaj ve trombosit aktivasyonu gibi sistemik etkileri vardır. Yapılan deneysel çalışmalarda, endotokseminin başlıca iki nedenden kaynaklandığı gösterilmiştir. Birincisi, ince barsağa safra tuzu geçişinin olmaması nedeniyle buradaki mikrofloranın uğradığı değişimdir. İkincisi ise portal sirkülasyondaki endotoksini temizleyecek RES aktivitesinin BO'da deprese olmasıdır.<sup>82</sup>

#### 4.3.8. İmmünolojik Değişiklikler

Halliday ve arkadaşları yaptıkları klinik araştırmalarda, tıkanma sarılığı olan hastalarda, cilt testlerinde hücresel immünitinin bozuk olduğunu saptamışlardır. Deneysel çalışmalarda ise biliyer obstrüksiyon uygulanan ratlarda T-lenfosit ve "Natural killer" (NK) hücre aktivitelerinin in vitro olarak azaldığı yada bozulduğu gösterilmiştir. Pace ve arkadaşları bu çalışmalara ters olarak, yaptıkları klinik araştırmalarda biliyer obstrüksiyonun böyle bir etkisinin olmadığını tesbit etmişlerdir.<sup>79,83</sup>

Saito ve arkadaşları biliyer obstrüksiyon uyguladıkları ratlarda 3 saat içinde karaciğerde nötrofil infiltrasyonunun geliştiğini tesbit etmişlerdir. Nötrofil infiltrasyonuna neden olarakta safra kanallarındaki biliyer hücrelerin salgıladığı kemotaktik faktörleri göstermişlerdir.<sup>83</sup> Proinflamatuvar sitokinlerle beraber inflamatuvar yanıtın başlamasında ve devamında önemli rol oynayan intersellüler adezyon molekülü (ICAM) seviyeside biliyer obstrüksiyonda belirgin artmaktadır.<sup>84,85</sup>

#### 4.4. FOSFOLİPİDLER

Vücutta ve besinlerdeki birçok farklı kimyasal bileşikler lipidler sınıfına yerleştirilirler. Bunlar arasında trigliseridler adıyla da bilinen nötral yağlar, fosfolipidler, kolesterol ve diğer birkaç tane bileşik bulunur. Kimyasal olarak hem trigliserid hem de fosfolipidlerin temel yapısını yağ asitleri oluşturur. Bunlarda basitçe uzun zincirli hidrokarbonlu organik asitlerden ibarettir.<sup>86</sup> Lipidler, kimyasal özelliklerinden çok fiziksel özellikleriyle birbirlerine benzerlik gösteren heterojen bir gruptur. Lipidlerin ortak özelliği suda çözünmeyip, eter ve benzen gibi nonpolar çözücülerde çözünür olmalarıdır.<sup>87</sup>

Yağ ve proteinlerden oluşan ve lipoproteinler olarak isimlendirilen bileşikler, hücre membran ve sitoplazmik organellerin yapıtaşlarına girdikleri gibi yağların kanda taşınmasında da görev alırlar. Bir diğer lipid bileşeni olan fosfolipidler, beslenmede ve doku iyileşmesinde önemli rol oynamaktadırlar.<sup>87,88</sup>

Besinlerdeki en önemli yağ olan trigliseridlerin hidrolizi, lingual ve gastrik lipazın etkisi ile ağız ve midede başlar. Bu iki enzim asit ortamda kısa zincirli yağ asitlerini hidrolize eder. Lipolitik aktivitenin büyük bir kısmı ince barsaklarda gerçekleşir. Lipidlerin emilimi yetişkinlerde %95 iken, bu oran full-term bebeklerde %85-90, preterm bebeklerde ise %50-75 civarındadır. Full-term bebeklerde yağ emilimi, erişkin seviyesine 8-10. aylarda ulaşır.<sup>89</sup> Pankreatik lipaz fetal hayatın 3. ayından itibaren mevcuttur. Ancak, bu enzimin miktarı getasyonun geri kalan dönemlerinde ve ilk iki yaş içinde artmaya devam eder. Pretermelerde lipaz aktivitesi çok düşüktür. Full-term bebeklerin dışkısında lipazın varlığına rağmen hidrolize olmamış trigliseridlere rastlanır.<sup>89,90</sup>

Bloor, lipidlerin sınıflandırılmasını aşağıdaki gibi modifiye etmiştir:

A. Basit lipitler: Yağ asitlerinin çeşitli alkollerle yaptıkları esterlerdir.

1. Yağlar: Yağ asitlerinin gliserolle yaptıkları esterlerdir. Yağlardan akışkan kıvamda olanlara "oil" (sıvı yağ) adı verilir.
2. Mumlar: Yağ asitlerinin yüksek moleküler ağırlıklı monohidrik alkollerle yaptıkları esterlerdir.

B. Birleşik lipidler: Yağ asitlerinin içlerinde bir alkol ve bir yağ asitine ek olarak başka gruplar taşıyan esterleridir.

1. Fosfolipidler: İçlerinde yağ asitleri ve gliserole ek olarak bir fosforik asit artığı içerir.

2. Glikolipidler: Yağ asitlerinin karbonhidratlarla yaptıkları, içlerinde azot bulunan, fakat fosforik asit bulunmayan birleşiklerdir.

3. Diğer birleşik lipidler: Süfolipidler ve aminolipidler gibi. Lipoproteinlerde bu grupta sayılabilir.

C. Türev lipidler: Yukardaki gruplardan hidroliz yoluyla türeyen maddelerdir. Bunlar yağ asitlerini (doymuş ve doymamış), gliserolü, steroidleri, gliserole ve sterollere ek olarak alkollerini, yağ aldehitleri ve keton cisimlerini kapsarlar.<sup>87</sup>

Gliseridlere, kolesterole ve kolesterol esterlerine, elektriksel yükleri bulunmadığı için nötral lipidler denir.<sup>87</sup>

#### 4.4.1. Yağ asitleri

Yağ asitleri yağların hidrolizinden elde edilirler. Doğal yağlarda yer alan yağ asitlerinin içinde çift sayıda karbon atomları bulunur ve bunlar düz zincirli türevlerdir. Bu zincir doymuş (içinde çift bağ taşımaz) veya doymamış (içinde bir veya daha fazla çift bağ bulunur) olabilir.<sup>87,91</sup>

Doymuş yağ asitleri (sature yağ asitleri), bu serinin ilk üyesi olan asetik asit üzerine kurulmuş olarak tasarlanabilir. Bu serinin daha yüksek diğer üyelerinin, özellikle mumlarda bulunduğu bilinmektedir.<sup>87,91</sup>

Doymamış yağ asitleri (ansature yağ asitleri), doymamışlık derecesine göre daha da alt gruplara ayrılırlar.

A. *Monoansature yağ asitleri*: Hemen hemen bütün yağlarda bulunan oleik veya palmitoleik asitler bu grupta yer alırlar.

B. *Poliansature yağ asitleri*:

1. İki çift bağılılar: Örneğin linoleik asit bu grupta bulunur. Çekirdekten elde edilen bir çok sıvı yağda ( mısır, yer fıstığı, pamuk çekirdeği ve soya fasulyesi yağı gibi) bulunur.

2. Üç çift bağılılar:  $\alpha$ -linolenik asit bu grupta yer alır. Sıklıkla linoleik asitle birlikte fakat özellikle keten tohumu sıvı yağı içinde bulunurlar.

3. Dört çift bağılılar: Araşidonik asit bu grupta yer alır.

Linoleik asit,  $\alpha$ -linolenik asit ve araşidonik asit "esansiyel" yağ asitleridirler. İnsanlarda her ikisinde  $\omega$ -6 serilerinden olduğundan, araşidonik asit linoleik asitten sentezlenebilir.

C. *Eikosaenoidler*: Prostaglandinler, poliansature yağ asitlerinin, örneğin araşidonik asitin bir siklopentan halkası teşkil etmek üzere in-vivo 20-C zincirinin siklikleşmesi yolu ile sentez olunurlar. Bununla ilişkili bir seri birleşikler, tromboksanlar, trombositler içinde keşfedilmiştir. Lökotrienler, yağ asiti zincirinin siklizasyonu yerine lipooksijenaz yolu sayesinde teşekkül eden türevleridirler.<sup>87,91</sup>

#### 4.4.2. Fosfolipidler

Bu grupta yer alan bileşikler sırasıyla (1) fosfatidik asit ve fosfatidilgliseroller, (2) fosfatidilkolin, (3) fosfatidiletanolamin, (4) fosfatidilinozitol, (5) fosfatidilserin, (6) lizofosfolipidler, (7) plazmalojenler ve (8) sfingomyelinlerdir. Plazmadaki fosfolipidlerin %90'ını fosfatidilkolin ve sfingomyelin oluşturur. Bununda %80'i fosfatidilkolindir. Fosfolipidler hücre membranlarında bulunan lipidlerin en büyük kısmını oluştururlar.<sup>92</sup>

Fosfolipidler daima bir ya da daha çok yağ asidi molekülü ve bir fosfat asiti kökü ile genellikle bir nitrojen bazı içerirler. Fosfatidik asit, triaçilgliseroller ve fosfolipidlerin sentezinde bir ara madde olarak önemli yere sahiptir ancak dokularda yüksek miktarda bulunmaz. Fosfolipidlerin kimyasal yapıları değişmekle birlikte, fiziksel nitelikleri birbirlerine benzer. Hepsi lipidlerde erir ve lipoproteinlerle taşınarak bütün vücutta çeşitli yapısal amaçlarla, benzer şekilde kullanılır.<sup>93</sup>

Fosfolipidler bütün vücut hücrelerinde yapılırsa da bazı hücreler fosfolipid yapımı için özel bir yeteneğe sahiptir. Vücuttaki fosfolipidlerin %90'ı karaciğerde yapılmaktadır.<sup>93</sup>

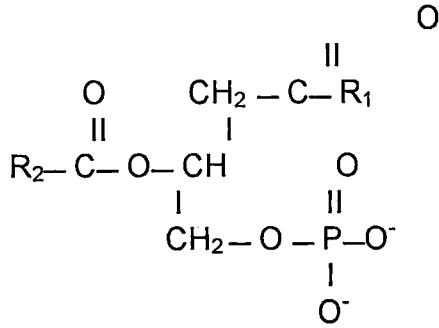
#### 4.4.3. Fosfatidilkolin

Fosfatidilkolinin içinde basit yağlarda olduğu gibi gliserol ve yağ asitleri vardır. Fosfatidilkolin aynı zamanda fosforik asit ve kolinde taşır. PFK'ler vücut hücreleri içinde geniş ölçüde yayılmışlardır. Hem metabolik hemde yapısal fonksiyonları vardır. Dipalmitil fosfatidilkolin çok etkili bir yüzey aktif maddedir, akciğerlerin iç yüzeylerinin yüzey gerilimine bağlı olarak yapışmasını önleyen sürfaktanın ana yapıtaşlarındanıdır.<sup>91</sup>

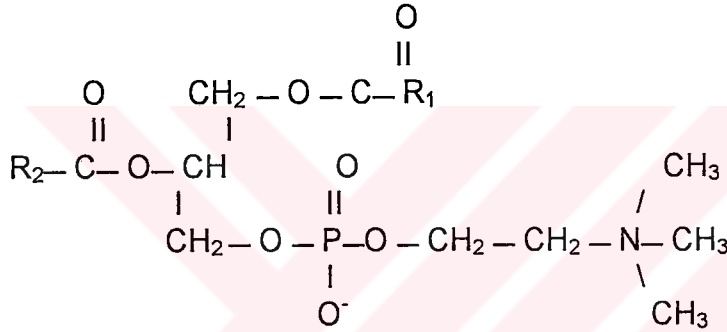
Oral alınan PFK'in ince barsaklardan emilimi kolay ve biyoyaralanımı yüksektir. Yapılan deneysel çalışmalarda PFK'in endojen fosfolipidler gibi hepatosit membranına katıldığı ve membran akışkanlığıyla beraber membrandaki aktif transport sistemini de etkilediği tesbit edilmiştir.<sup>91-93</sup>

Fosfatidilkolin, 1,2 diaçilgliserolden sentezlenir. Fosfatidilkolinin biyosentezinde kolinin önce mutlaka aktif koline çevrilmesi gerekir. Bu iki basamaklı bir olaydır; önce

kendisine uyan monofosfatı oluşturmak üzere ATP ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonda sitidin difosfokolin (CDP-kolin) oluşturmak üzere sitidin trifosfat (CTP) ile gireceği diğer reaksiyon izler. Bu şekilde kolin, fosfatidilkolin oluşturmak üzere diaçilgliserole transfer olur. Bu reaksiyonlardaki düzenleyici enzim fosfokinazdır.<sup>87</sup>



Şekil 1. Fosfatidik asit



Şekil 2. Fosfatidilkolin

#### 4.4.4. Fosfatidilkolin'in klinik kullanımı

PFK, 1970'li yılların başlarında alkole bağlı karaciğer hasarında başarıyla kullanılmaya başlanmıştır. Lieber ve ark. deneysel olarak, maymunlarda alkolik karaciğer yağlanması ve siroz meydana getirmişler ve besinlerine PFK eklemişlerdir. Çalışma sonunda alkol alan maymunlarda karaciğer yağlanması ve fibrotik bulgulara rastlanırken alkolle beraber PFK alan maymunlarda bu patolojik değişikliklerin olmadığını göstermişlerdir. Yazarlar alkolik sirozda lipositlerin fibroz gelişiminde önemli bir role sahip olduğunu, lipositlerin transizyonel hücrelere dönüşmesinin fibrozise yol açtığını belirtmektedirler. Yaptıkları çalışmada, PFK'in invivo koşullarda bu dönüşümü %48 ile %81 oranında azalttığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada bu etkiden özellikle dilinolleoilfosfatidilkolinin sorumlu olduğu gösterilmiştir.<sup>94,95</sup>

Cantafora ve ark. yaptıkları klinik çalışmalarda sirotik hastalarda eritrosit membranında kolesterolün, poliansature yağ asitlerine oranının kolesterol lehinde

arttığını, bununda insülin reseptörlerini etkileyerek yağlanmayı hızlandığını göstermişlerdir. Çalışmalarında PFK verdikleri hastalarda bu oranın azaldığını ve membran lipid kompozisyonundaki bu değişikliğin faydalı etkilerinin olduğunu savunmuşlardır. Karaciğer hasarındaki faydalı etkilerinin ortaya çıkması üzerine Holecek ve ark. PFK'i parsiyel hepatektomi yaptıkları ratlarda kullanmış ve rejenerasyonu hızlandığını göstermişlerdir.<sup>96-97</sup>

Niderau ve ark. PFK'i kronik hepatit B ve C tedavisinde kullanmışlardır. Çalışma sonunda özellikle kronik hepatit C tedavisinde interferonla kombine kullanıldığında oldukça faydalı etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Ancak kronik hepatit B'de etkisi sınırlı kalmıştır. Yazarlar, bunun nedeninin C ve B hepatitinin patogenezindeki farklılıktan kaynaklandığını savunmuşlardır. PFK'in klinik olarak sadece kronik viral hepatitlerde değil otoimmün hepatitlerde de faydalı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>88</sup>

PFK'in karaciğer hastalıklarında faydalı etkilerinin olduğunu gösterilmesinden sonra benzer çalışmalar intestinal sistemdeki inflamatuvar darlıklarla ilgili olarak da yapılmıştır. Mourelle ve ark. ratlarda kolit oluşturmuş ve PFK verilen gruplarda kolit sonrası darlık gelişiminin belirgin şekilde azaldığını göstermişlerdir. Ülkemizde yapılan bir başka deneysel çalışmada, Demirbilek ve ark, kostik özofagus yanıklarında PFK kullanılmasının darlık gelişimini önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Yazarlar, bu etkiyi, PFK'in kollajenaz aktivitesinde yaptığı artışa bağlamışlardır.<sup>10,11</sup>

PFK'in başarıyla kullanıldığı diğer hastalıklar arasında lupus glomerulonefriti, nefrotoksik nefrit , hidronefroz, intersitisyel nefrit , myokart infarktüsü, immün diabet ve artrit sayılabilir.<sup>12,97</sup>



## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada her iki cinsten, ağırlıkları 185 gr. ile 215 gr. arasında değişen (ortalama 200±5 gr.) toplam 50 adet swiss albino rat kullanıldı. Ratlar, Erciyes Ün. Tıp Fak. Hasan Çetinsaya Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi.

### 5.1. Yöntem

#### 5.1.1. Deney grupları

Çalışmada kullanılan toplam 50 adet rat dört gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol grubu: Bu grupta bulunan 10 adet rat kontrol grubunu oluşturdu.

Grup 2: Sham grubu: Bu gruptaki 10 adet rata biliyer obstrüksiyon uygulanmadan sadece laparotomi uygulandı.

Grup 3: Biliyer obstrüksiyon grubu: Bu gruptaki 15 adet rata biliyer obstrüksiyon uygulandı ve ikinci haftadan sonra iki hafta süreyle serum fizyolojik (SF) verildi.

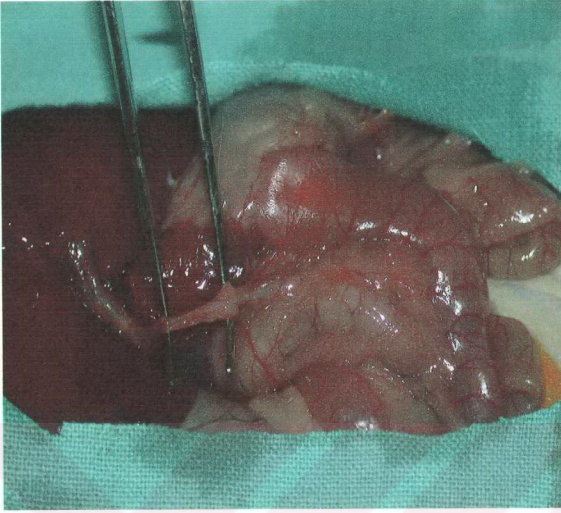
Grup 4: Biliyer obstrüksiyon + PFK tedavisi grubu: Bu gruptaki 15 adet rata biliyer obstrüksiyon uygulandı ve obstrüksiyonun ikinci haftasından sonra iki hafta süreyle PFK verildi.

#### 5.1.2. Biliyer obstrüksiyon modeli

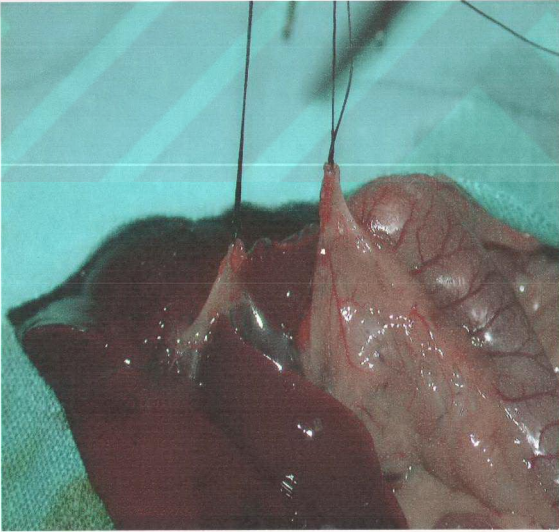
Çalışma için rat kronik biliyer obstrüksiyon modeli kullanıldı. Bu modelde ortaya çıkan karaciğer hasarı insandaki BO sonrası ortaya çıkan karaciğer hasarıyla benzerlik göstermektedir. Bu obstrüktif modelin, kolestatik değişikliklerin incelenmesi için olduğu kadar ilaçların karaciğer üzerindeki etkilerinin araştırılması için de uygun bir yöntem olduğu bildirilmektedir.<sup>66</sup>

Grup 3 ve 4'teki biliyer obstrüksiyon uygulanacak ratların, deneyden altı saat önce standart rat yemi ile beslenmeleri kesilerek sadece su içmelerine izin verildi. Ratlara ketamin (50mg/kg, i.m.) anestezisi uygulandı. Ratların deney esnasında spontan solunumları korundu. Betadinle cilt asepsisi sağlandıktan sonra orta hat insizyonla karına girildi. Karaciğerin medial lobu laterale çekilerek hilus görünür hale getirildi. Duedonum bulunarak hilusa doğru uzanan koledok kanalı eksplore edildi. (Resim 1) Koledok kanalı 5-0 ipekle çift bağlandı ve kesildi. (Resim 2) Ardından abdominal katlar 4-0 ipekle ayrı ayrı iki kat olarak devamlı sütürlerle kapatıldı. Postoperatif 4. saatte tüm ratların standart rat yemi ve su ile beslenmelerine başlandı.<sup>66</sup>

Sham grubundaki ratlara laparotomi yapıldı ancak koledok kanalı kesilmedi.



**Resim 1:** Koledok kanalının eksplorasyonu



**Resim 2:** Koledok kanalının çift bağlanıp kesilmesi

### 5.1.3. Tedavi

1. ve 2. gruptaki ratlara herhangi bir tedavi verilmezken 3. gruptaki ratlara obstrüksiyonun 3. haftasından itibaren intramusküler olarak serum fizyolojik verildi. 4. gruptaki ratlara ise obstrüksiyonun 3. haftasından itibaren intravenöz yoldan PFK tedavisi uygulandı. Her iki grupta tedaviye obstrüksiyonun ikinci haftasından sonra başlanmasındaki amaç, biliyer obstrüktif hastalıkların klinik seyrine uygun bir model olmasının sağlanmasıydı. Tedavi iki hafta sürdürüldü. Bu gruptaki her bir rata intravenöz yoldan 50 mg/gün dozunda PFK (Essantiale N) verildi. (Resim 3)<sup>95</sup> Biliyer obstrüksiyon oluşturulmasından 4 hafta sonra tedavi ile beraber deney de sonlandırıldı.

4. grupta PFK tedavisi, ratların sağ internal juguler venine yerleştirilen bir kateter yardımıyla uygulandı. Bunun için BO'un 14. gününde, ratlara ketamin anestezisi (50 mg/kg, IM) uygulandı. Supin pozisyonda baş hiperekstansiyona getirildi. Boyun sağ yandan vertikal insizyonla katlar geçildi ve internal juguler ven bulundu. Venin distali bağlandı. Ardından cut-down uygulanarak venin proksimaline kateter (Cavafix 18G, Braun Melsungen AG D- 34209 Melsungen) yerleştirildi. Kateterin serbest ucu cilt altında hazırlanan tünelden geçirilerek sırtta tesbit edildi. (Resim 3)



**Resim 3:** İntravenöz olarak PFK tedavisinin verilmesi

PFK (Essantiale N) Rhonö-Poulene-Rorer (Aventis Pharma, Deutschland GmbH, Nattermannallee 1, 50829 Köln) firmasından sağlanmıştır. Soya fasulyesinden elde edilen bu ekstre, içerisinde büyük oranda fosfatidilkolin bileşikleri içermektedir. Bununla iki büyük bileşiği dilinoleoilfosfatidilkolin (DLFK) ve palmitoil-linoleoil-fosfatidilkolindir (PLFK). (Tablo 2)<sup>94</sup>

Tablo 2. Purifiye edilmiş PFK ekstresinin içeriği

PFK	%94-%96
DLFK (18:2-18:2)	%40-%52
PLFK (16:0-18:2)	%23-%24
Oleoil- linoleoil (18:1-18:2) FK	%12-%13
Linoleoil – linoleoil (18:3-18:2) FK	%6-%7
Steroil- linoleoil (18:0-18:2) FK	%6
Palmitoil- oleoil (16:0-18:1) FK	%3-%4
Steroil-araşidonoil (18:0-20:4) FK	%1-%2

Dört haftalık deney periyodu sonunda ketamin anestezisi altında intrakardiyak olarak kan örnekleri alındı ve ratlar sakrifiye edildi. Diüurnal etkilerden korumak için tüm ratlar aynı anda sakrifiye edildi. Ratlar sakrifiye edildikten sonra süratle karaciğer doku örnekleri alındı ve alüminyum folyo içinde – 40 derecede saklandı. Kanlar 3500 rpm + 4 derecede 10 dakika santrifüje edildi. Elde edilen plazmalar – 40 derecede saklandı.

## 5.2. Biyokimyasal değerlendirmeler

### 5.2.1. Serum enzim ve bilirubin düzeyleri

Serum ALT, AST, ALP, GGT, direkt ve indirekt bilirubin seviyeleri AU600 Olympus otoanalizator (Boehringer Mannheim) yardımıyla ve orijinal kitler kullanılarak ölçüldü (Olympus Diagnostica GmbH, Ireland).

Plazma 5' Nükleotidaz (5'NT) seviyesi daha önceden tariflenen yöntemle çalışıldı.<sup>92</sup>

### 5.2.2. Karaciğer malondialdehit seviyesi

MDA seviyesinin ölçülmesi lipid peroksidasyonun düzeyini belirlemede kullanılmaktadır.<sup>98</sup> Çalışma gününe kadar  $-40^{\circ}\text{C}$ ' de saklanan dokular önce soğuk izotonik ile sonra soğuk distile su ile yıkandı, kurulandı ve temiz bisturi ile küçük parçalara ayrılarak tartıldı. Tartılan dokular 0,2 M Tris-HCl tamponunda 16000 devirde 2 dk. homojenize edildi. Daha sonra MDA seviyeleri, homojenatta, Uchiyama ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı.<sup>99</sup>

### 5.2.3. Karaciğer kollajen birikiminin belirlenmesi

Karaciğer kollajen birikiminin biyokimyasal olarak belirlenebilmesi için alınan doku örneklerinde hidrokisprolin seviyeleri ölçüldü. Çalışma gününe kadar  $-40^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuş karaciğer örnekleri çözülerek izotonik NaCl ile yıkandı ve kendi halinde kurumaya bırakılarak tartıldı. Her biri ayrı ayrı cam tüplere konularak  $100^{\circ}\text{C}$ ' ye ayarlanmış etüvde 72 saat kurutuldu. Daha sonra kuru ağırlıkları ölçüldü. Kontaminasyon engellenerek kurutulan dokular küçük bir havan içinde toz haline getirildi. Toz halindeki dokular 10 ml'lik balon jöjeler içine konularak üzerine 2 ml 12N HCl eklendi. Etüvde  $130^{\circ}\text{C}$ ' de 3 saat hidrolize edildi. Miktarı 1 ml'nin altına düşenler 12N HCl ile tekrar 1 ml'ye tamamlandı. Daha sonra santrifüj tüplerine aktarılarak 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Hidrokisprolin tayini Woessner'in tarif ettiği yöntemle yapıldı.<sup>100</sup> Deneyde Hidrokisprolin standartı, Cholaramine-T çözeltisi, Ehrlich reaktifi, asetat-sitrat tamponu (pH 6) ve 12N HCl, 1mM HCl çözeltileri kullanıldı. Bu çözeltiler "Merck&Co" firmasından sağlanmıştır.

### 5.3. Histopatolojik değerlendirme

İnönü Ün. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında iki patolog tarafından ve materyalin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin yapılan histopatolojik değerlendirme için karaciğer doku örnekleri % 10 tamponlanmış formolde tesbit edildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan hazırlanan kesitler hemotoksilen eozin ve masson trikrom boyası ile boyandı. Her preparat duktüler proliferasyon, portal inflamasyon ve kollajen birikimi açısından incelendi ve aşağıdaki şekilde değerlendirme yapıldı.<sup>101,102</sup>

Tablo 3. Portal inflamasyonun derecelendirilmesi

Portal alanlarda inflamasyon yok	1
Bazı veya tüm portal alanlarda hafif inflamasyon	2
Bazı veya tüm portal alanlarda orta derecede inflamasyon	3
Bazı veya tüm portal alanlarda orta veya hafif derecede inflamasyon	4
Tüm portal alanlarda orta derecede inflamasyon	5

Duktüler proliferasyon için, yirmi portal aralıktaki duktül sayısı bulunarak ortalama duktül sayısı hesaplandı. Buna göre duktüler proliferasyon derecelendirildi.

Tablo 4. Duktüler proliferasyonun derecelendirilmesi

Portal alandaki duktül sayısı 1-4 arası	1
Portal alandaki duktül sayısı 5-8 arası	2
Portal alandaki duktül sayısı > 9	3

Tablo 5. Fibrozisin derecelendirilmesi

Fibrozis yok	1
Bazı portal alanlarda fibrotik genişleme (fibroz septa var yada yok)	2
Tüm portal alanlarda fibrotik genişleme (fibroz septa var yada yok)	3
Tüm portal alanlarda fibrotik genişleme (porto-portal fibroz köprülenmeler var)	4

#### 5.4. İstatistiksel analiz

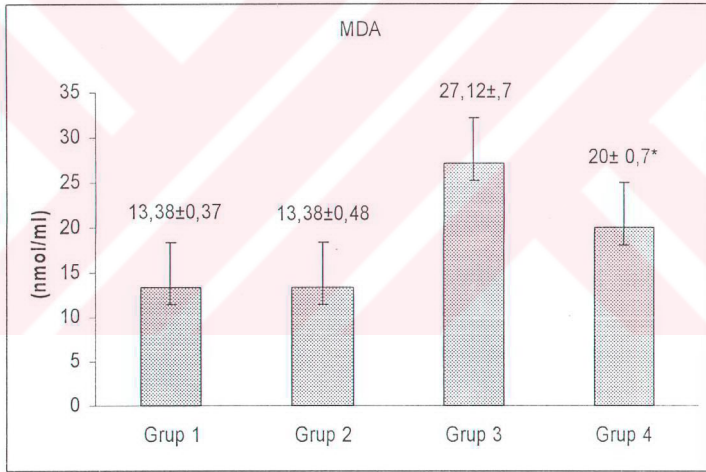
Tüm verilerin ortalama ve standart hataları hesaplandı. Ortalamalar arasında anlamlı farklılıklar varyans analizi ile, gruplar arası anlamlılık Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak yapıldı. (SPSS for windows; Chicago, IL, USA). P değerinin 0,05 ten küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

## 6. BULGULAR

Biliyer obstrüksiyon sonrası gelişen karaciğer hasarı üzerine PFK'in etkilerini araştırdığımız bu çalışmada, elde ettiğimiz bulgular aşağıda sunulmuştur.

### 6.1. Biyokimyasal bulgular

Doku MDA seviyeleri kontrol ve sham grubunda birbirine yakın seviyelerde bulunmuştur. (Tablo 6) 3. grupta, biliyer obstrüksiyonu takiben kontrol ve sham grubuna göre yaklaşık iki kat artmış artmıştır. ( $27,12 \pm 0,7$ ) ( $p < 0,05$ ) MDA seviyeleri PFK tedavisi verilen grupta, kontrol ve sham grubuna göre yüksek olmakla beraber 3. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. ( $20 \pm 0,7$  nmol/ml) ( $p < 0,05$ ) (Tablo 6) (Şekil 3)



Şekil 3: Grupların hepatik MDA seviyeleri.

\* $p < 0,05$ ; BO grubundan anlamlı olarak farklı

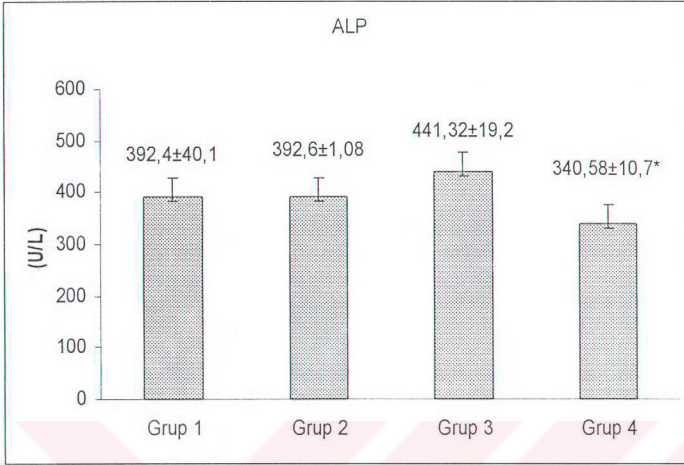
Biliyer obstrüksiyon grubunda kolestaz ve nekrozun göstergesi olan ALP, AST, ALT, GGT, 5'NT enzimlerin seviyelerinin belirgin şekilde arttığı görülmektedir. Aynı enzim seviyeleri PFK tedavisi verilen grupta kontrol ve sham grubuna göre yüksek olmakla birlikte grup 3'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. ( $p < 0,05$ ) (Tablo 6) (Şekil 4)



Tablo 6. Grupların karaciğer enzim düzeylerinin ve hidroksiprolin seviyelerinin ortalamaları

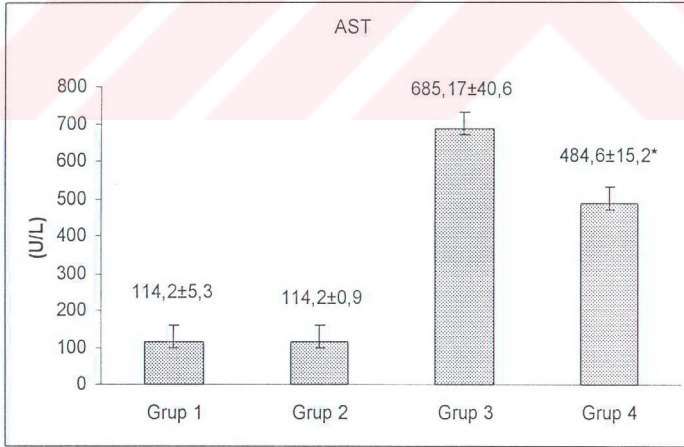
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
ALT (U/L)	57,1±2,2	57±0,5	171,77±7,7	116±5,4*
AST (U/L)	114,2±5,3	114,2±0,9	685,17±40,6	484,6±15,2*
ALP (U/L)	392,4±40,1	392,6±1,08	441,32±19,2	340,58±10,7*
GGT (U/L)	0,7±0,1	0,7±0,1	22,91±1,4	3±0,5*
D.BIL (mg/dL)	0±0	0±0	4,62±0,9	0,15±0,04*
I.BIL (mg/dL)	0,008±0,001	0,008±0,001	2,9±0,7	0,28±0,05*
MDA (nmol/ml)	13,38±0,37	13,38±0,48	27,12±0,7	20±0,7*
5'-NT (U/L)	21,94±1,68	21,94±0,41	35,29±1,8	18,76±0,7*
HPR (mg./gr doku)	4,8±0,4	5,34±0,4	7,22±0,2	3,41±0,2*

Kısaltmalar: ALT, alanin aminotransferaz; AST, aspartat aminotransferaz; ALP, alkalen fosfat; GGT, gama-glutamil tanspeptidaz; D.BIL., direkt bilirubin; I.BIL., indirekt bilirubin;MDA, malondialdehit; 5'NT, 5'-nükleotidaz; HPR, hidroksiprolin  
 \*p<0.05 biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı



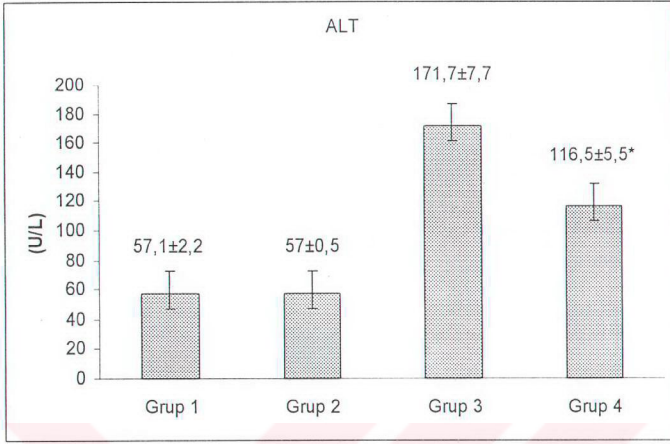
Şekil 4A. Grupların serum ALP değerleri.

\* $p < 0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı



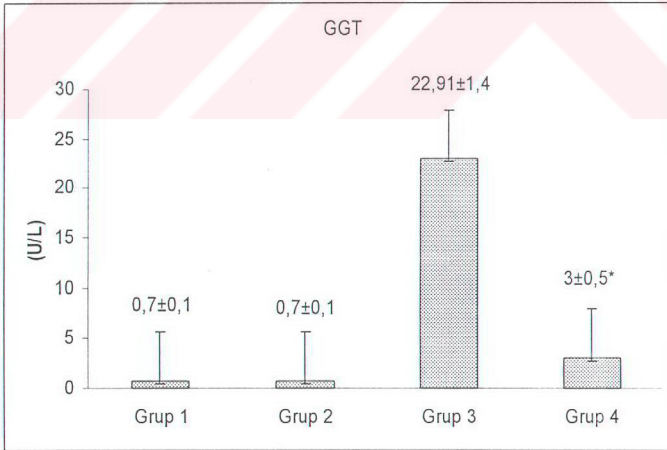
Şekil 4B. Grupların serum AST değerleri.

\* $p < 0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı



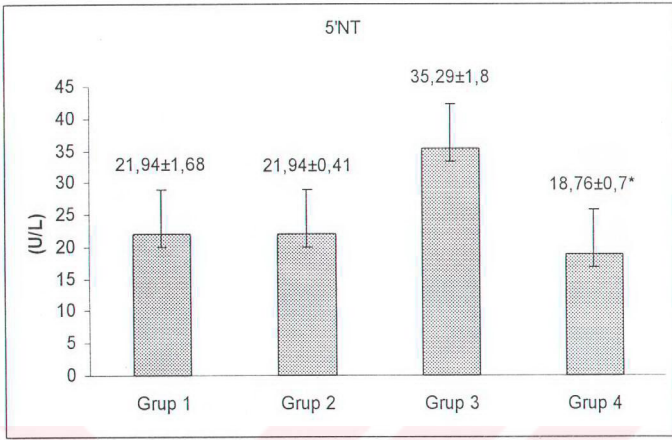
Şekil 4C. Grupların serum ALT değerleri.

\* $p < 0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı



Şekil 4D. Grupların serum GGT değerleri.

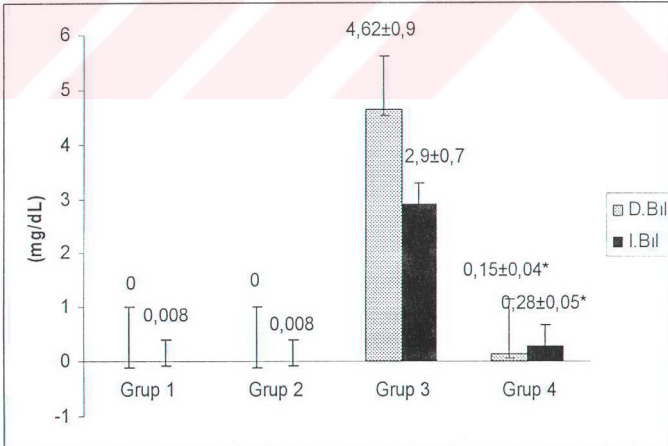
\* $p < 0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı



Şekil 4E. Grupların serum 5'NT değerleri.

\* $p < 0,05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı

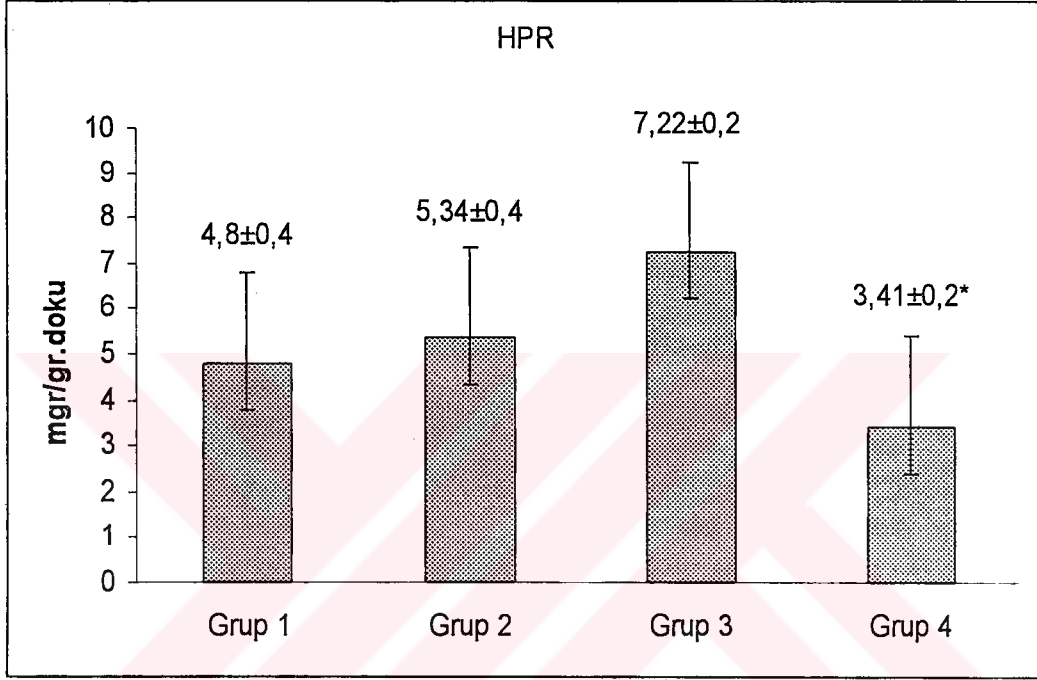
Serum total, direkt ve indirekt bilirubin seviyelerinin biliyer obstrüksiyon grubunda normalin yaklaşık beş katına çıktığı saptanmıştır. ( $p < 0,001$ ) PFK tedavisi alan grupta ise normale yakın olduğu görülmektedir. ( $p < 0,001$ ) (Tablo 6) (Şekil 5)



Şekil 5. Grupların serum D.Bil ve İ. Bil. değerleri.

\* $p < 0,001$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı

Dört haftalık deney süresi sonunda grup 3' teki ratların karaciğer doku örneklerinde kollajen birikimine bağlı olarak hidroksiprolin seviyesi belirgin artmış bulunmuştur. Ancak PFK tedavili grupta hidroksiprolin seviyesi sham ve kontrol grubundaki değerlere yakın olarak 3. gruba göre anlamlı şekilde ( $p<0,05$ ) düşük bulunmuştur.(Tablo 6) (Şekil 6)

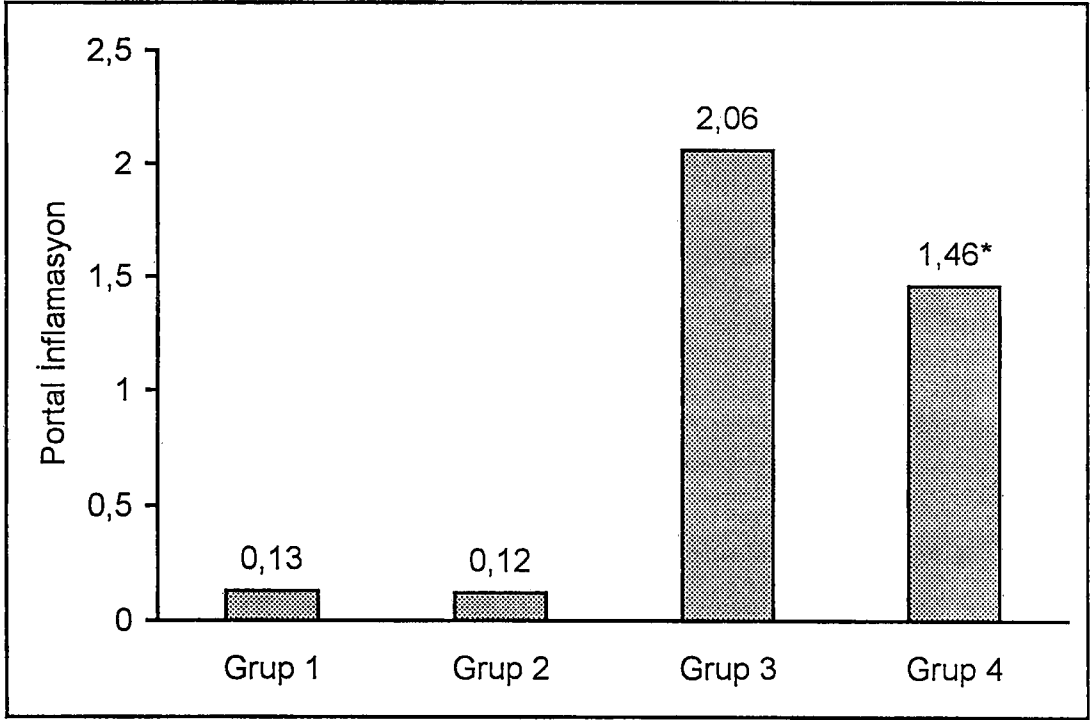


Şekil 6. Grupların karaciğer doku HPR seviyeleri.

\* $p<0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı

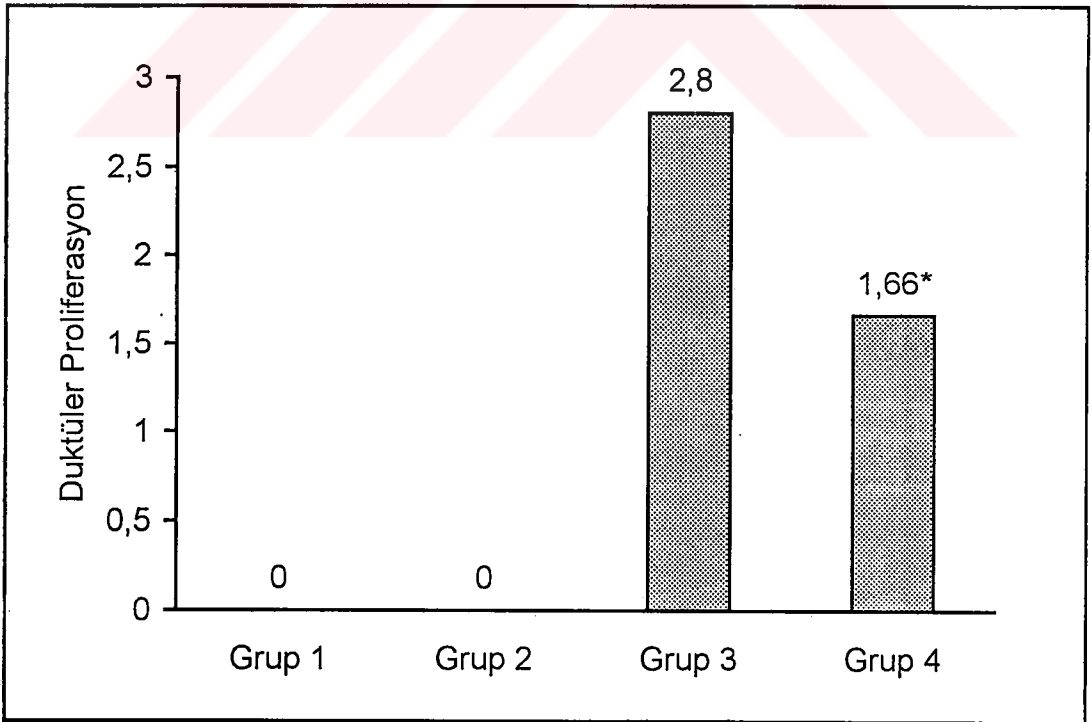
## 6.2. Patolojik bulgular

Histopatolojik değerlendirmede portal inflamasyon, duktüler proliferasyon ve fibrozis düzeylerinin biliyer obstrüksiyon grubunda belirgin olarak arttığı bulunmuştur. PFK verilen 4. grupta ise portal inflamasyon ve duktüler proliferasyon düzeylerinin 3.gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p<0.05$ ) azalmış olduğu tesbit edilmiştir. Fibrozis düzeyi 4. grupta, 3. gruba göre düşüktü, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Şekil 7)



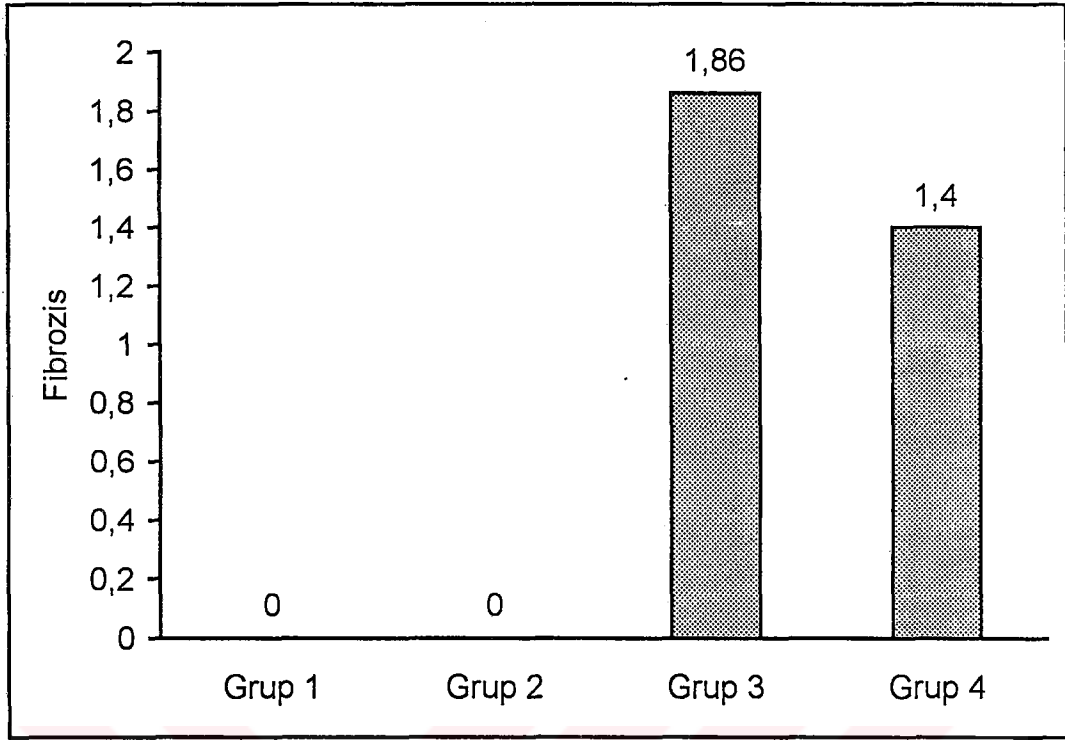
**Şekil 7A.** Grupların portal inflamasyon düzeyleri.

\* $p < 0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı



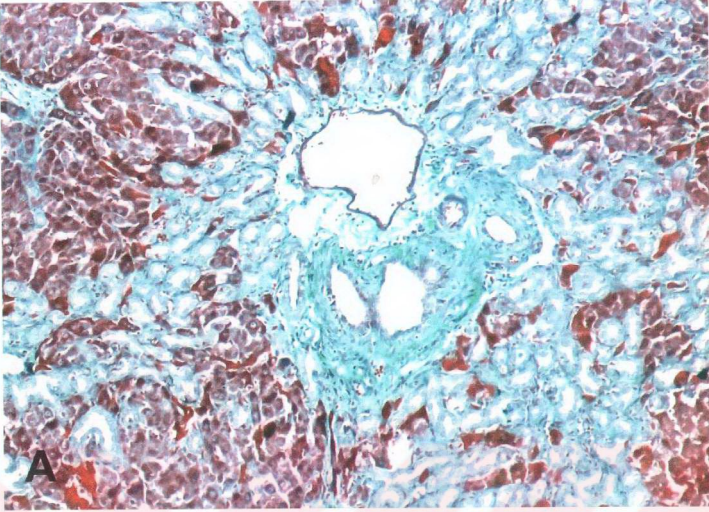
**Şekil 7B.** Grupların duktüler proliferasyon düzeyleri.

\* $p < 0.05$ ; biliyer obstrüksiyon grubundan anlamlı olarak farklı

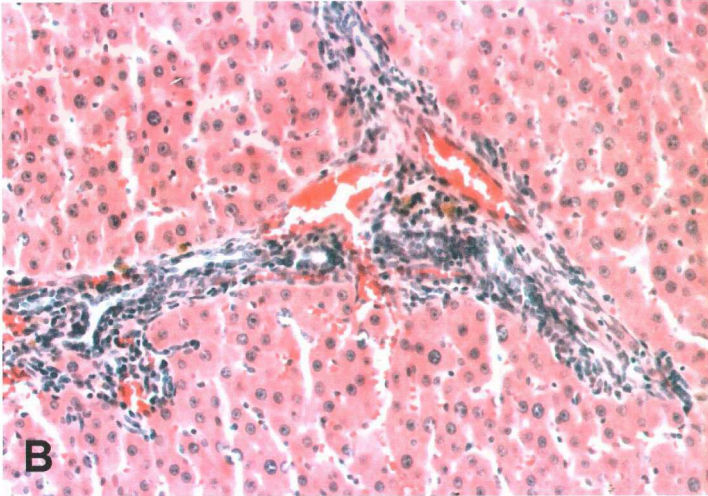


Şekil 7C. Grupların fibrozis düzeyleri

Resim 4 karaciğer kesitlerinin histolojik analizlerini göstermektedir. Üçüncü gruptaki ratların karaciğer kesitlerinde portal sahada genişlemeyle beraber duktüler proliferasyonda belirgin artış (Resim 4A), lobüller arasına doğru uzanan proliferatif safra kanalları (Resim 4B) ve portal sahada artmış mononükleer hücre yoğunluğu (Resim 4C) izlendi. EBO'un neden olduğu kolestazın bulguları olan hepatositlerde pigment birikimi, kanaliküllerde safra trombinleri ve makrofajlarca fagosite edilmiş safra pigmentleri kesitlerin bir çoğunda izlenmektedir (Resim 4C). Grup 4'teki ratlarda ise gerek duktüler proliferasyon (Resim 4D), gerekse portal sahada mononükleer hücre infiltrasyonu (Resim 4E) düşük seviyede olup karaciğer hasarı daha az izlenmektedir.

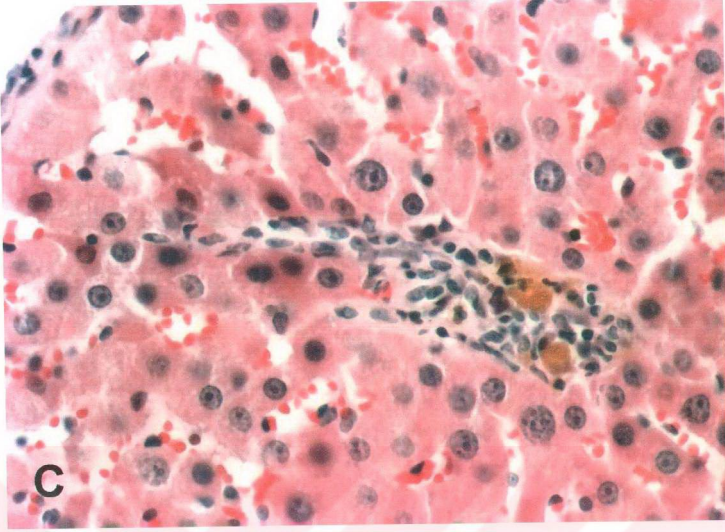


**Resim 4 A.** Biliyer obstrüksiyon uygulanan 3. gruptaki ratların karaciğer kesitlerinde ileri derecede duktüler proliferasyon izlenmektedir. (Masson Trikrom boyası X 400)

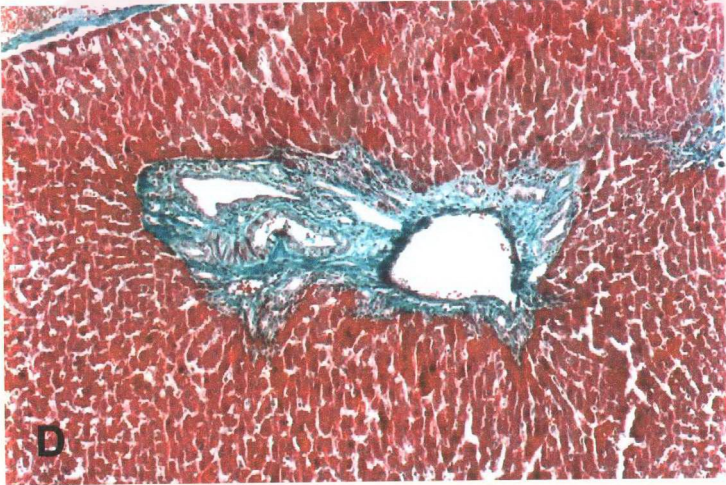


**Resim 4 B.** Biliyer obstrüksiyon uygulanan 3. gruptaki ratların karaciğer kesitlerinde yoğun hücre infiltrasyonu izlenmektedir. (H&E X 400)

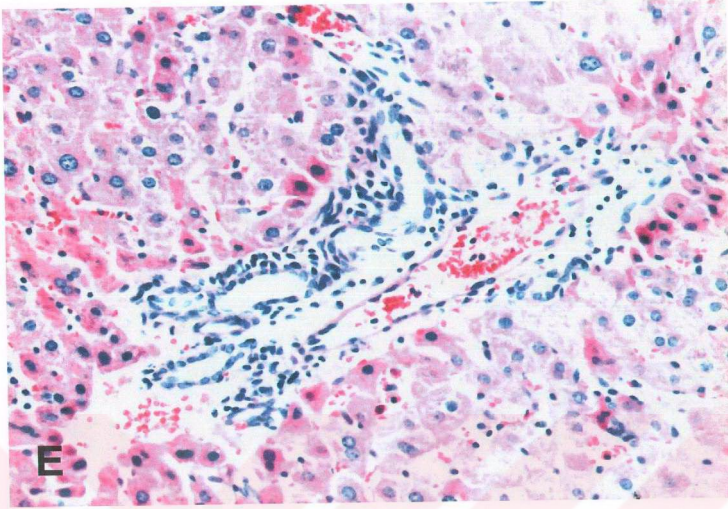




**Resim 4 C.** Biliyer obstrüksiyon uygulanan 3. gruptaki ratların karaciğer kesitlerinde portal aralıkta safra pigmentlerini fagosite etmiş makrofajlar görülmektedir. (H&E X 400)



**Resim 4 D.** PFK tedavisi verilen 4. gruptaki ratların karaciğer kesitlerinde duktüler proliferasyonun belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. (Masson Trikrom boyası X 400)



**Resim 4 E.** PFK tedavisi verilen 4. gruptaki ratların karaciğer kesitlerinde portal aralıkta inflamasyonun ve mononükleer hücre infiltrasyonunun belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. (H&E X 400)

## 7. TARTIŞMA

Biliyer obstrüksiyon ile seyreden hastalıklar oldukça geniş bir yelpazede dağılmaktadırlar.<sup>90</sup> Erişkinlerde biliyer obstrüksiyon yapan hastalıklar arasında tümörler, taş, sklerojan kolanjit ve iatrojenik nedenler ön planda gelmektedir. Sklerojan kolanjit dışında mekanik nedenlerden kaynaklanan obstrüksiyonlarda, cerrahi olarak safra akımı sağlandığında kolestatik karaciğer hasarı geri dönüşümlü olarak düzelmektedir. Ancak primer biliyer siroz ve sklerojan kolanjitte karaciğer hasarı ilerleyicidir.<sup>58</sup>

Çocukluk yaş grubunda biliyer obstrüktif hastalıklar arasında biliyer atrezi, koledok kistleri, koledok kanalında darlık, safra kanallarında taş oluşumu, pankreatikobiliyer bileşkede anomali ve interlobüler biliyer hipoplazi önde gelen hastalıklardır. BO, çocukluk yaş grubunda en sık yenidoğan döneminde karşımıza çıkmaktadır.<sup>103</sup>

Biliyer obstrüksiyon sonrasında safra kanaliküllerinde genişleme ile birlikte hidrofobik safra pigmentleri kanalikül ve hepatositlerde birikmeye başlamaktadır. Safra sıvısının birikerek geriye doğru basınç yapmasıyla duktüler proliferasyon ortaya çıkmaktadır. Safra pigmentleri ile beraber, yüksek toksiteye sahip toksik ürünlerinde kanaliküllerden geri emilmesi, nötrofil infiltrasyonu ile beraber yoğun portal inflamasyona neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu ve hepatik makrofaj aktivitesindeki artış inflamatuvar yanıtın şiddetlenmesine neden olmaktadır. Duktüler proliferasyon ve portal alandaki yoğun inflamatuvar değişiklikleri, artmış fibrogenezisle seyreden retiküler fibrin birikimi ve kollajen bant oluşumu takip etmektedir. Bu durum fibrozise ve ardından da siroza kadar ilerleyebilmektedir.<sup>59-62</sup>

Tıkanma sarılıklarında, özellikle çocukluk çağı BA' da olduğu gibi cerrahi olarak safra drenajının sağlanmasına rağmen klinik iyileşme %25-30 seviyesinde kalmaktadır.<sup>104-105</sup> Bunun nedeni tıkanma sarılıklarında cerrahi tedaviye rağmen progresif bir karaciğer hasarının devam etmesidir. Günümüzde, BO sonrasında devam eden progresif karaciğer hasarının nedenleri tam olarak açığa kavuşturulamamakla birlikte, yapılan çalışmalarda progresif hasarda, hücresel ve humoral immünitenin neden olduğu persistan inflamatuvar yanıtın önemli rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>106-10E</sup> Persistan inflamatuvar yanıt esnasında hepatik makrofajlarla birlikte "Kupffer" hücreleri de aktive olmaktadır. Yapılan çalışmalarda makrofaj aktivitesi ie birlikte proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin de arttığı gösterilmiştir. Biliyer obstrüktif hastalık tanısı almış hastaların serumları incelendiğinde proinflamatuvar sitokinlerden IL-6 ve TNF-alfa seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır.<sup>2,3</sup> Yine yapılan çalışmalarda , hastalar uzun

dönem takip edilmiş ve klinik olarak sarılığın kaybolduğu hastalarda bu sitokinlerin seviyelerinin düştüğü oysa sarılığı devam eden ve karaciğer fonksiyonları bozulan hastalarda sitokin seviyelerinin yüksek kaldığı gösterilmiştir.<sup>3</sup>

Biliyer atrezi gibi biliyer obstrüktif hastalıklarda sitokinler yanında inflamasyonun erken basamaklarında rol oynayan adezyon moleküllerine yönelik çalışmalar da yapılmıştır. İntersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler sellüler adezyon molekülü-1 (VCAM-1), immünglobulin ailesinde yer alan glikoproteinler olup özellikle immün reaksiyonlarda lenfositlerin hedef hücrelere tutunmasında önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda her iki molekül sitokinleri de aktive etmektedirler.<sup>5</sup> Normal karaciğer dokusunda, sinüzoid endotel hücrelerinde ICAM-1 ve VCAM-1 bulunmamaktadır.<sup>109</sup> Ancak yapılan klinik çalışmalarda tıkanma sarılıklarında ICAM-1 ve VCAM-1 seviyelerinin belirgin arttığı gösterilmiştir. Bu durum karaciğerdeki hasarda sitotoksik-T lenfositlerinin aktif rol aldığını düşündürmüştür. Uzun dönem takiplerde, klinik olarak sarılığın devam ettiği hastalarda her iki molekülün seviyelerinin de yüksek kaldığı, özellikle portal hipertansiyon gelişen hastalarda VCAM-1 seviyesinin belirgin arttığı tesbit edilmiştir. Bu nedenle adezyon moleküllerinin tıkanma sarılığı olan hastalarda takip parametresi olarak da kullanılabilceği görüşü ileri sürülmüştür.<sup>5,7</sup>

Biliyer obstrüksiyonu olan hastalarda prognostik faktörler açısından çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda serum IL-6, TNF-alfa, hyaluronik asit ve TGF-beta<sub>1</sub> seviyesinin veya karaciğer dokusunda aminopeptidaz N düzeyinin tayini ile prognoz arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiştir.<sup>107, 110, 111</sup>

Biliyer atrezide olduğu gibi BO'larda tüm tedavi yöntemlerine rağmen mortalite ve morbidite yüksek kalmaya devam etmektedir. Bu nedenle BO'larda karaciğer hasarının azaltılmasına yönelik etkin tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Yaptığımız tez çalışmasında, PFK'in deneysel rat kronik biliyer obstrüksiyon modelinde, karaciğer hasarının engellenmesindeki etkinliğini araştırmayı amaçladık. Literatürde, tıkanma sarılıklarında, karaciğer hasarının azaltılmasında PFK kullanımıyla ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda karaciğer fonksiyon testleri olarak da bilinen ve karaciğerdeki hasarın göstergeleri olan ALT, AST, GGT, ALP, 5'NT ve Bil. seviyelerinin biliyer obstrüksiyon uygulanan grupta belirgin şekilde artarken PFK tedavisi uygulanan ratlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır (p<0.05). Bu sonuçlar PFK'in BO sonrası ortaya çıkan karaciğer hasarının engellenmesinde etkin olduğunu

göstermektedir. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda PFK' in, alkolik siroz ve hepatit gibi karaciğer hastalıklarında da karaciğer hasarını engellemekte etkin olduğu gösterilmiştir.<sup>94-96</sup> Bu hastalıklarda karaciğerdeki hasarı belirgin şekilde engellemesi, PFK'in güçlü sitoprotektif etkisine bağlanmıştır. PFK'in sitoprotektif etkinliğinin mekanizması ile ilgili olarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Puglielli ve ark. yaptıkları deneysel çalışmalarda invitro olarak eritrosit kültürlerinde, safra tuzlarının sitotoksik etki gösterdiğini gözlemiş ardından da ortama PFK eklenmesiyle bu sitotoksik hasarın azaldığını göstermişlerdir.<sup>112</sup> Yine yapılan çalışmalarda PFK'den zengin beslenmelerde safra sıvısı içindeki lipid kompozisyonunda PFK/kolesterol oranının arttığı ve kolestazise karşı hepatositlerin daha dirençli hale geldiği gösterilmiştir.<sup>113</sup> PFK membran yapısına girerek membran akışkanlığını ve aktif transport sistemini olumlu yönde etkilemektedir. Haag ve ark. PAYA bileşiklerinin enterositlerde Mg-ATPaz pompasının inhibe ettiğini ve membran akışkanlığını etkilediğini bildirmiştir. Aynı zamanda mitokondrial membrana da katılan PFK'in, tüm sitoplazmik membranlarda stabilizasyonu sağladığı gösterilmiştir.<sup>114</sup> Çalışmamızda karaciğer hasarının engellenmesinde PFK'in bu sitoprotektif özelliğinin rol oynadığı düşünülmüştür.

Biliver obstrüksiyon sonrası ortaya çıkan karaciğer hasarının patogeneğinde portal inflamasyon önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda da histopatolojik incelemede BO uygulanan ratların karaciğer kesitlerinde yoğun portal inflamasyon geliştiği görülmüştür. PFK tedavisi verilen grupta, portal inflamasyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p<0.05$ ) engellendiği saptanmıştır. PFK tedavisinin çeşitli inflamatuvar hastalıklarda belirgin düzelmeye sağladığına dair bir çok çalışma yapılmıştır. Bunlar arasında rat lupus glomerulonefriti, nefrotoksik nefrit, hidronefroz, interstisyel nefrit ve romatoid artrit sayılabilir.<sup>12</sup> PFK gibi poliansature yağ asitlerinin, insanlarda, özellikle romatoid artrit gibi bazı otoimmün hastalıklarda tedaviye eklenmesiyle faydalı etkiler gözlenmiştir.<sup>12</sup>

Poliansature yağ asitlerinin inflamatuvar yanıtı hangi mekanizmalarla engellediği konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan deneysel çalışmalarda içinde PFK' in de bulunduğu PAYA bileşiklerinin in vivo olarak inflamatuvar reaksiyonları baskıladığı, in vitro olarak ise lökosit cevabını azalttığı gösterilmiştir. Costabile ve ark. yaptıkları çalışmada PAYA bileşiklerinin modifiye edilmesiyle antiinflamatuvar etkilerinin arttığını göstermiştir. Bu bileşiklerin özellikle T lenfosit proliferasyonunu azalttığı, proinflamatuvar sitokinler olan IL-1, IL-6, TNF alfa ve TGF beta üretimini düşürdüğü görülmüştür. PAYA

bileşikleri, aynı zamanda geç tip hipersensitivitenin engellenmesinde de rol oynamaktadır.<sup>13</sup>

Grimble ve ark yaptıkları çalışmada, ratların besinlerine n-3 ve n-6 PAYA eklemiş ve proinflatuar sitokinlerin seviyeleriyle beraber membran değişikliklerini incelemiştir. Çalışmalarında özellikle n-3 PAYA verilen ratların, serum IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin düştüğünü, aynı zamanda n-3 PAYA bileşiklerinin membran fosfolipid kompozisyonunu değiştirerek bu stokinlerin reseptörlerine bağlanmasını da azalttığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada G proteini ve proteinkinaz C aktivasyonunda da değişiklikler saptanmıştır.<sup>116</sup>

Poliansature yağ asitleri, bir prekürsör olarak, hücrelerin savunma sistemlerinde önemli rol oynayan prostaglandinler ve onlarla ilgili diğer mediatörlerin de yapımını etkiler. Yapılan çalışmalarda PFK tedavisinin, bu mediatörlerin seviyesini artırarak karaciğer hasarının gerek engellenmesinde gerekse onarımında önemli rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>95</sup> Çalışmamızdaki bulgular PFK'in anti-inflatuar özelliğinin de karaciğer hasarının engellenmesinde etkin bir rol oynadığı göstermektedir.

Biliyer obstrüksiyon sonrası gelişen karaciğer hasarında portal inflamasyon ile birlikte lipid peroksidasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir.<sup>117</sup> Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA seviyesi PFK tedavisi verilen grupta, tedavi verilmeyen biliyer obstrüksiyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). MDA seviyesindeki bu azalmanın PFK'in anti-oksidan özelliğinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. PFK'in anti-oksidan etkinliğinin mekanizması ile ilgili yapılan bir deneysel çalışmada, Rise ve ark. uzun zincirli PAYA'nin proteinkinaz C aktivasyonunu artırarak lipit peroksidlerinin zararlı etkilerini azaltılabileceğini göstermişlerdir.<sup>117</sup> Çalışmamızda PFK'in lipid peroksidasyonunu azaltmasının da karaciğer hasarını engellemesinde rol oynayan mekanizmalardan bir diğeri olabileceği düşünülmüştür.

Hidroksiprolin, kollajen yıkımından sonra ortaya çıkan son üründür. Bu nedenle doku hidroksiprolin düzeyleri, dokulardaki kollajen miktarını indirekt olarak gösteren objektif bir parametredir. Çalışmamızda, HPR seviyeleri PFK tedavisi verilen biliyer obstrüksiyon grubunda PFK verilmeyen gruba göre düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu bulgu ile uyumlu olarak histolojik değerlendirmede fibrozis düzeylerinin PFK tedavisi verilen grupta, tedavi verilmeyen gruba göre azalmış olduğu görülmüştür. PFK kollajen birikimini engellemesi nedeni ile intestinal sistemdeki inflamatuvar darlıklarda, kostik

özofagus darlıklarında ve alkolik karaciğer hasarında başarıyla kullanılmıştır.<sup>112,113</sup> Lieber ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PFK'in kollajen yıkılımını arttırdığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada, özellikle PFK' in büyük komponenti olan DLFK' in bu etkiden sorumlu olduğu savunulmuştur.<sup>94</sup> Bu sonuçlar PFK'in aynı zamanda BO modelinde de anti-kollajen etkinliğinin olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda PFK'in sitoprotektif, anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkilerinin yanı sıra anti-kollajen özelliği ile de rat BO modelinde karaciğerdeki hasarın azaltılmasında rol oynadığı anlaşılmaktadır.

Tıkanma sarılıklarında ortaya çıkan karaciğer hasarının engellenmesi üzerine çeşitli tedaviler denenmiştir. Kobayashi ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmada üç ayrı bitkiden elde ettikleri özütü ("inchin-ko-to") biliyer atrezi nedeniyle opere edilmiş hastalarda kullanmışlar ve karaciğer hasarının azaldığını göstermişlerdir.<sup>108</sup> Perez ve ark. bir flavanoid olan "quercetin" in antioksidan etkisinden faydalanarak karaciğerdeki hasarı azalttıklarını bildirmişlerdir.<sup>118</sup> Muriel ve ark. "S-adenozil-l-metionin" in biliyer obstrüksiyonlarda lipit peroksidasyonunu engelleyerek karaciğerdeki hasarı azaltmayı başarmışlardır. Muriel bir başka çalışmasında alfa-interferon kullanmış ve hasarın azalmasını alfa-interferonun antifibrotik etkisine bağlamıştır.<sup>119</sup> Steroid tedavisi ile ilgili çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. BA'de cerrahi tedavinin, 3 aylıktan önce uygulandığı hastalarda steroid tedavisinin sonuçlarının daha iyi olduğu tesbit edilmiştir. Dillon ve ark. yaptıkları klinik çalışmada immünsüpressif dozda steroid tedavisinin karaciğerdeki hasarı belirgin azalttığını göstermişlerdir.<sup>105</sup> Tüm bu çalışmalara rağmen henüz BO sonrası ortaya çıkan karaciğer hasarının engellenmesinde etkin bir tedavi yöntemi klinik uygulamaya girmemiştir.

Çalışmamızda PFK'in muhtemel sitoprotektif, anti-inflamatuar, immünmodülatör ve anti-fibrotik etkileriyle ratlarda BO sonrası ortaya çıkan progresif karaciğer hasarının engellenmesinde etkin olduğu görülmüştür. PFK'in, BO sonrası karaciğer hasarının engellemesindeki etkinlik mekanizma yada mekanizmalarının daha ileri çalışmalarla ortaya konulması ile klinik kullanıma girebileceği düşünülmüştür.

## 8. SONUÇLAR

1. Çalışmada, biliyer obstrüksiyon uygulanan grupta, karaciğer hasarının göstergeleri olan, serum ALT, AST, ALP, GGT, 5'NT, D. Bil, İ. Bil ve doku MDA ve HPR seviyeleri yüksek bulunmuştur. Histopatolojik olarak portal inflamasyon, duktüler proliferasyon ve fibrozis düzeyleri belirgin artmıştır.

2. Biliyer obstrüksiyon ile beraber PFK tedavisi verilen grupta, serum ALT, AST, ALP, GGT, 5'NT, D. Bil, İ. Bil ve doku MDA ve HPR seviyeleri, kontrol ve sham grubuna göre yüksek olmakla beraber biliyer obstrüksiyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur. Histopatolojik olarak portal inflamasyon ve duktüler proliferasyon düzeyleri biliyer obstrüksiyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük ( $p > 0,05$ ) bulunmuştur.

3. PFK'in biliyer obstrüksiyondaki karaciğer hasarını hangi mekanizmalarla engellediği tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ancak güçlü sitoprotektif, immünmodülatör ve antifibrotik etkilerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

4. PFK, tıkanma sarılıklarında karaciğer hasarının engellenmesindeki etkinliği nedeniyle klinik kullanıma girebilecektir.



## 9.ÖZET

Biliyer obstrüksiyon terimi, safra yollarındaki bir tıkanıklık nedeniyle safra akımının tam yada kısmen kesilmesini ifade eder. Erişkin yaş grubunda biliyer obstrüksiyonla seyreden hastalıklar arasında safra yollarında taş, safra yollarından kaynaklanan veya safra yollarına komşu tümörler, oddi sfinkterinde darlık ve sklerojan kolanjit başta gelir. Çocukluk yaş grubunda ise biliyer atrezi ve koledok kisti gibi daha çok konjenital sebepler ön plandadır. Özellikle çocukluk yaş grubunda cerrahi olarak safra yollarında akım sağlansa da karaciğer hasarı progressif olarak devam etmektedir. Bu progresif karaciğer hasarı biliyer obstrüktif hastalıklarda mortalite ve morbiditenin artmasına neden olmaktadır

Biliyer obstrüksiyonda safra akımın kesilmesi sonucu, hepatositlerde safra asitleri ile beraber toksik ürünlerde birikmektedir. Bunun sonucunda lipit peroksidasyonu, hepatik makrofaj aktivasyonu ve proinflamatuvar stokin salınımı ortaya çıkmakta, bu da karaciğer hasarına sebep olmaktadır.

PFK soyafasulyesinden elde edilen bir PAYA bileşiğidir. Memelilerdeki fosfolipidlerin bir varyansı olan PFK'nin intestinal absorpsiyonunu kolay ve biyoyaralanımını yüksektir.

Yapılan klinik ve deneysel araştırmalarda PFK'nin membran fosfolipitlerinin yapı taşlarından olması ve hücre içi iletişimi sağlayan faktörlerin yapısına girmesi nedeniyle güçlü bir sitoprotektif etkisinin olduğu; lökosit migrasyonunu, T lenfosit proliferasyonunu, lökotrien B<sub>4</sub> ve PAF başta olmak üzere proinflamatuvar stokinlerin salınımını azaltması nedeniyle güçlü bir immünmodülatör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Yine yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda doku kollajenaz aktivitesinde artışa neden olduğuda saptanmıştır.

Bu etkilerini göz önüne alarak rat kronik biliyer obstrüksiyon modelinde gerçekleştirdiğimiz bu deneysel çalışmada BO'da gelişen karaciğer hasarının engellenmesinde PFK'nin etkinliğini araştırmayı planladık.

Çalışmada kullanılan toplam 50 adet rat 4 gruba ayrıldı. 1.Gruptaki on rat kontrol grubunu oluştururken. 2.Gruptaki 10 rat sham grubunu oluşturdu. 3.Gruptaki 15 rata biliyer obstrüksiyon uygulandı. 4. Gruptaki 15 rata biliyer obstrüksiyon ile beraber PFK tedavisi verildi. PFK tedavisine kronik biliyer obstrüktif hastalıkların klinik seyrine uygun olarak obstrüksiyonun 15. gününde başlandı ve 15 gün sürdürüldü.

Dört haftalık deney periyodu sonunda tüm ratlardan aynı anda kan ve karaciğer doku örnekleri alındı ve ratlar kurban edildi. Alınan kan örneklerinden serum ayrıldı ve

serumda karaciğer hasarının ve obstrüksiyonun göstergesi olan AST, ALT, GGT, ALP, 5' Nükleotidaz, D.Bil. ve İ.Bil. seviyeleri ölçüldü. Karaciğer doku homojenatında ise lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA ve kollajen birikimini gösteren hidroksiprolin düzeyleri belirlendi. Dokuların histopatolojik incelemesinde portal inflamasyon, duktüler proliferasyon ve kollajen düzeyleri değerlendirildi. İstatistiksel karşılaştırmada gruplar arası anlamlılık için Kruskal-Wallis H ve fark için Mann-Whitney U testi uygulandı.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde PFK tedavisinin biliyer obstrüksiyonda karaciğer hasarını azalttığı ve kolajen birikiminin önüne geçtiği görülmüştür. PFK tedavisinden sonra kolestaz göstergelerinde tama yakın düzelme tesbit edilmiştir. PFK' in bu faydalı etkileri onun anti-inflamatuar, immünmodülatör, sitoprotektif ve anti-fibrotik özellikleriyle açıklanabilir.

Özetle, BO sonrası ortaya çıkan kalıcı inflamatuvar yanıt biliyer atrezi, koledok kisti gibi hastalıklarda mortalite ve morbiditenin yüksek kalmasını sağlamaktadır. PFK'nin BO'da karaciğer hasarının engellenmesinde etkin olarak kullanılabileceği tesbit edilmiştir.

PFK'nin karaciğerdeki bu hasarı hangi mekanizmalarla azalttığı tam olarak kesinlik kazanmamakla birlikte güçlü sitoprotektif ve immünmodülatör özelliklerinin bu etkide rol oynadığını düşünmekteyiz.

## 10. KAYNAKLAR

1. Okazaki T, Kobayashi H, Yamataka A, et al. Long-term postsurgical outcome of biliary atresia. *J Ped Surg* 1999;34: 312-15
2. Roggin KK, Kim JC, Kurkchvasche AG, et al. Macrophage phenotype during cholestatic injury and repair: the persistent inflammatory response. *J Ped Surg* 2001;36: 220-28
3. Kobayashi H, Yamataka A, Lane JG, Miyano T. Levels of circulating antiinflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist and proinflammatory cytokines at different stages of biliary atresia. *J Ped Surg* 2002;37: 1038-41
4. Davenport M, Gonde C, Redkar R, Koukoulis G, Tredger M, Mieli-Vergani G, Portmann B, Howard ER. Immunohistochemistry of the liver and biliary tree in extrahepatic biliary atresia. *J Ped Surg* 2001;36: 1017-25
5. Kobayashi H, Horikoshi K, Long L, Yamataka A, Lane JG, Miyano T. Serum concentration of adhesion molecules in postoperative biliary atresia patients: relationship to disease activity and cirrhosis. *J Ped Surg* 2001;36: 1297-1301
6. Volpes R, van Den Oord JJ, Desmet VJ. Immunohistochemical study of adhesion molecules in liver inflammation. *Hepatology* 1990;12: 59-65
7. Minnick KE, Kreisberg R, Dillon PW. Soluble ICAM-1 (sICAM-1) biliary atresia and its relationship to disease activity. *J Surg Res* 1998;76: 53-56
8. Hines J, Johnson S, Burt A. In vivo responses of macrophages and perisinusoidal cells to cholestatic liver injury. *Am J Pathol* 1993;142: 511-17
9. Ramm GA, Nair VG, Bridle KR, et al. Contribution of hepatic parenchymal and nonparenchymal cells to hepatic fibrogenesis in biliary atresia. *Am J Pathol* 1998;153: 527-53
10. Mourella M, Guarner F, Molageloda J. Polyunsaturated phosphatidylcholine prevents stricture formation in a rat model of colitis. *Gastroenterology* 1996;110: 1033-37
11. Demirbilek S, Aydın G, Yücesan S, Vural H, Bitiren M. Polyunsaturated phosphatidylcholine lowers collagen deposition in a rat model of corrosive esophageal burn. *Eur J Pediatr Surgery*, 2002;12: 8-12
12. Lefhowith JB, Morrison A, et al. Manipulation of the acute inflammatory response by dietary polyunsaturated fatty acid modulation. *J Immunol* 1990;145: 1523-29

13. Costabile M, Hii CST, Robinson BS, et al. A novel long chain polyunsaturated fatty acid  $\beta$ -Oxa 21:3n-3, inhibits T lymphocyte proliferation, cytokine products, delayed-type hypersensitivity, and carageenan-induced paw reaction and selectively targets intracellular signals. *J Immunol* 2001;167: 3980-87

14. Nielse GLKL, Faarvang BS, Thomsen KL, Teglbjaerg LT, Jensen TM, Hansen HH, Lervang EB, Schmidt J, and Ernest E. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with rheumatoid arthritis: a randomized double blind trial. *Eur. J Clin Invest* 1992;22: 687-89

15. Şeftalioğlu A. İnsan Embriyolojisi; 3. baskı. Ankara: Tıp Teknik Yayıncılık Ltd. Şti. Feryal Matbaası 1998: 301-02

16. Başaklar C. Langman's Medikal Embriyoloji; 7. baskı. Ankara: Palme Yayın Dağıtım Pazarlama Ltd.Şti. 1996: 242-44

17. Gadacz TR. Congenital anomalies of the gallbladder. In: Shackelford R.T, Zuidema G.D. *Surgery of the Alimentary Tract*; 2nd ed. USA: W.B. Saunders Company 1983: 172-73

18. Desmet JV. Ludvig Symposium on Biliary Disorders-Part 1, Pathogenesis of ductal plate abnormalities. *Mayo Clin Proc* 1998;73: 80-89

19. Desmet VJ. Congenital diseases of intrahepatic bile ducts: variations on the theme "ductal plate malformation". *Hepatology* 1992;16: 1069-83

20. Haruna Y, Saito K, Spaulding S, Nalesnik MA, Gerber MA. Identification of bipotential progenitor cells in human liver development. *Hepatology* 1996;23: 476-81

21. Tan CE, Moscoso GJ. The developing human biliary system at the porta hepatis level between 11 and 25 weeks of gestation: a way to understanding biliary atresia. Part 2. *Pathol Int* 1994;44: 600-10

22. Terada T, Nakanuma Y. Detection of apoptosis and expression of apoptosis related proteins during human intrahepatic bile duct development. *Am J Pathol* 1995; 146: 67-74

23. Terada T, Nakanuma Y. Profiles of expression of carbohydrate chain structures during human intrahepatic bile duct development and maturation: a lectin-histochemical and immunohistochemical study. *Hepatology* 1994;20: 388-97

24. Desmet VJ. Embryogenese des voies biliaires. *Med Ther* 1995;1: 227-35

25. Tan CE et al. Extrahepatic biliary atresia: a first trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry. *J Ped Surg* 1994; 29: 808-14

26. Tan CE, Vijayan V. New clues for the developing human biliary system at the porta hepatis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001;8: 295-302
27. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis JL. *Surgical Anatomy and Technique. A pocket Manual.* USA: Springer –Verlag New York Inc. 1995: 471-90
28. Odar İV. *Anatomi Ders Kitabı; 7. baskı.* Ankara: Sistem Ofset. 1986: 124
29. Toouli F. The function of the biliary tract and factors in the production of biliary pain. In: Blumgart LH. *Surgery of the Liver and Biliary Tract; 2nd ed.* UK: Longman Group Limited. 1994: 121-22
30. Smadja C, Blumgart HL. The biliary tract and the anatomy of biliary exposure. In: Blumgart LH. *Surgery of the Liver and Biliary Tract; 2nd ed.* UK: Longman Group Limited. 1994: 11-17
31. Sherlock S, Dooley. *Diseases of the Liver and Biliary System; 9th ed.* UK: Marston Book Services Ltd. 1993: 1-17
32. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. *Histology A Text and Atlas; 3th ed.* USA: Williams & Wilkins. 1995: 496-09
33. Paker Ş. *Histoloji; 2. baskı.* Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi. 1993:361-73
34. McCuskey RS, McCuskey PA. Fine structure and function of Kupffer cells. *J Electron Microscop Tech* 1990 Mar;14(3): 237-46
35. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Textbook of pediatrics; 16th ed* USA: W.B. Saunders company. 2000: 1195-97
36. Menteş NK. *Harrison İç Hastalıklarında Temel Bilgiler; 1.baskı.* İzmir: Menteş kitabevi. 1979: 2031-32
37. Pocock G, Richards CD. *Human Physiology The Basis of Medicine; 2nd ed.* Great Britain: Butler and Tanner Ltd.2001: 416-21
38. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology; 7th ed.* İstanbul: Merk Yayıncılık 1986: 1122-25
39. Bray JJ, Cragg PA, Macknight ADC, Mills RG: *Lecture Notes on Human Physiology, 4th ed.* Great Britain: Blackwell Science Ltd. 1999: 391-92
40. Benjamin IS. Biliary tract obstruction. *Surgical Gastroenterology* 1983;2: 105-20
41. Funaki N, Sasano H, Shizawa S, et al. Apoptosis and cell proliferation in biliary atresia. *J Pathol* 1998;186: 429-33
42. Desmet VJ. Cholangiopathies: past, present and future. *Semin Liver Dis* 1987; 7: 67-76

43. Desmet VJ. What is congenital hepatic fibrosis? *Histopatology* 1992;20: 465-77
44. Ohi R, Nio M. The jaundiced infant: Biliar atresia and other obstructions. In: O'Neill J, Rowe M, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, ran AG. *Pedatric Surgery*; 5th ed. USA: Mosby-Year Book 1998: 1465-80
45. Ohi R et al. The present status of surgical treatment for biliary atresia: report of the questionnaire for the main institutions in Japan. In: Ohi R, editor. *Biliary Atresia Tokyo* . Professional postgraduate services 1987: 1470-75
46. Kobayashi H, Miyano T, Horikoshi K, et al. Clinical significance of plazma endotelin levels in patients with biliary atresia. *Ped Surgery Int* 1998;13:491-93
47. Ashcraft K W, et al. *Pediatric Surgery*; 3th ed. USA: W. B. Saunders Company. 2000; 5587-95
48. Alagille D. Management of paucity of interlobular bile ducts, *J Hepatol* 1985; 1: 561-62
49. Fischler B, Papadogiannakis N, Nemeth A. Aetiological factors in neonatal cholestasis. *Acta Pediatr* 2001;90: 88-92
50. Benjamin IS. Biliary tract obstruction-pathophysiology In: Blumgart LH. *Surgery of the Liver and Biliary Tract*; 2nd ed. UK: Longman Group Limited 1994: 135-45
51. Koepfel T, trauner M, Baas JC, Thies JC et al. Extrahepatic biliary obstruction impairs microvascular perfusion and increases leukocyte adhesion in rat liver. *Hepatology* 1997;26:1085-91
52. Baumgartner U, Scholmerich J, Weitzel C, et al. Pattern of bile acid regurgitation and metabolism during perfusion of the bile duct obstructed rat liver. *J Hepatol* 1995;22: 208-18
53. Garner CM, Mills CO, Elias E, Neuberger JM. The effect of bile salts on human vascular endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1991;1091: 41-45
54. Scott – Conner CE, grogan JB. The pathophysiology of biliary obstructionand its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Research* 1994;57: 316-36
55. Schaffner F, Poper H. Classification and mechanism of cholestasis. In: Wright R, Albert KGMM, Karran S, Millvard-Sadler GDT. *Liver and biliary disease: Pathophysiology, Diagnosis, management*; 2nd ed. UK: Saunders 1985: 359-86
56. Robbins S, Kumar V. *Basic Pathology*; 4. baskı. Çev. EDİT. Uluoğlu Ö ve ark. Ankara: Güneş Kitabevi 1990: 770-72

57. Kobayashi H, Puri P, Sean D, Surana R, Miyano T. Hepatic overexpression of MHC class II antigens and macrophage-associated antigens (CD 68) in patients with biliary atresia of poor prognosis. *J Ped Surg* 1997;32: 590-93
58. Blumgart LH. *Surgery of the Liver and Biliary Tract*; 2nd ed. UK: Longman Group Limited 1994: 137-142
59. Slott P, Liu M, Tavaloni N. Origin, pattern, and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990;99: 466-77
60. Solkol RJ, Winkloher BM, Deverazx MV, McKim JM. Generation of hydroperoxides in isolated rat hepatocytes and hepatic mitochondria exposed to hydrophobic bile acids. *Gastroenterology* 1995;109: 1249-50
61. Sigh S, Schakleton G, Ah-Sing E, Chakraborty J, Boley ME. Antioxidant defenses in the bile duct-ligated rat. *Gastroenterology* 1992;103: 1625-29
62. Winwood P, Arther M. Kupffer cells: Their activation and role in animal models of liver injury and human liver diseases. *Semin Liver Dis* 1993;3: 50-59
63. Hines J, Johnson S, Burt A. In vivo responses of macrophages and perisinusoidal cells to cholestatic liver injury. *Am J Pathol* 1993;142: 511-17
64. Tracy TF, Dillon P, Fox ES, et al. Inflammatory response in pediatric biliary disease macrophage phenotype and distribution. *J Ped Surg* 1996;31: 131-35
65. Baron V, Muriel P. Role of glutathione, lipid peroxidation and antioxidants on acute bile-duct obstruction in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999;1472: 173-80
66. Cantürk NZ, Cantürk Z, Utkan NZ, et al. Cytoprotective effect of alpha tocopherol against liver injury induced by extrahepatic biliary obstruction. *East African Medical Journal* 1998;75: 77-80
67. Ramm GA, Nair VG, Bridle KR, Shepherd RW, Crawford DHG. Contribution of hepatic paranchymal and nonparanchymal cells to hepatic fibrogenesis in biliary atresia. *Am J Pathol* 1998;153: 527-35
68. Sayek İ. *Temel Cerrahi*; 2.baskı. Ankara: Güneş Kitabevi. 1996: 1210-15
69. Moss DW, Henderson AR. *Clinical enzymology in Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Pennsylvania: W.B.Saunders Company. 1999: 652-53*
70. Stein TA, Burns GP, Wise L. Diagnostic value of liver function tests in bile duct obstruction. *J Surg Res* 1989;46: 226-29

71. Souza ME, Castro-e-Silva Junior O, Picinato MA, Franco CF, Mazzetto SA, Ceneviva R, Roselino JE. Serum transaminase levels in the acute phase of chronic extrahepatic cholestasis. *Braz J Med Biol Res* 1990;23: 995-97
72. Sada E, Tashiro S, Morino Y. The significance of serum mitochondrial aspartate aminotransferase activity in obstructive jaundice: experimental and clinical studies. *Jpn J Surg* 1990;20: 392-405
73. İlçin G, Biberöglü K, Ünal S, Akalın S, Süleymanlar G. *Temel İç Hastalıkları*; 1. baskı. İstanbul: Güneş kitabevi. 1996;1103-05
74. Paritpokee N, Tangkijvanich P, Teerasaksilp S, Wiwanitkit V, Lertmaharit S, Tosukhowong P. Fast liver alkaline phosphatase isoenzyme in diagnosis of malignant biliary obstruction. *J Med Assoc Thai* 1999;82: 1241-46
75. Kaplan MM, Ohkubo A, Quarone EG, Szetu D. Increased Synthesis of rat liver alkaline phosphatase by bile duct ligation. *Hepatology* 1983;3: 368-76
76. Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ. *Gastroenteroloji*; 1. baskı. Ankara: Fersa Matbaacılık Ltd.Şti. 2002: 424-25
77. Fukatsu T. Alkaline phosphatase. *Rinsho Byori* 2001;116: 27-35
78. Ellis G, Goldberg DM, Spooner RJ, Ward AM. Serum enzyme tests in diseases of the liver and biliary tree. *Am J Clin Pathol* 1978;70: 248-58
79. Halliday A, Benjamin IS, Blumgart LH. Nutritional risk factors in major hepatobiliary surgery. *J Paren And Enter Nut* 1988;12: 43-48
80. Kanaghinis T, Avgerinos A, Scliros P, et al. Plasma lipoprotein pattern in relation to liver histology after toxic hepatitis and experimental biliary obstruction in rabbits. *Am J Gastroenterol* 1982;77: 512-22
81. Younes RN, Vydellingum NA, Derooij P, Scognamiglio F, Andrade L, Posner MC, Brennan MF. Metabolic alterations in obstructive jaundice: effect of duration of jaundice and bile-duct decompression. *HPB Surg* 1991;5: 35-48
82. Ingoldby CJH, McPherson GAD, Blumgart LH. Endotoxaemia in human obstructive jaundice: effect of polymixin B. *Am J Surgery* 1984;144: 776-71
83. Saito JM, Maher JJ. Bile duct ligation in rats induces biliary expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant. *Gastroenterology* 2000;118: 1157-68
84. Belov L, Meher-Homji V, Putaswamy V, Miller R. Western blot analysis of bile or intestinal fluid from patients with septic shock or systemic inflammatory response syndrome, using antibodies to TNF-alpha, IL-1 alpha and IL-1 beta. *Immunol Cell Biol* 1999;77: 34-40



85. Marucci L, Baroni GS, Mancini R, Benedetti A, Jezequel AM, Orlandi F. Cell proliferation following extrahepatic biliary obstruction. Evaluation by immunohistochemical methods. *J Hepatol* 1993;17: 163-9
86. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology*; 7.baskı. İstanbul: Merk Yayıncılık. 1986: 1177-78
87. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*: 24th ed. USA: Appleton&Lange company. 1996: 146-47
88. Niederau C, strohmeyer G, Heintges T, Peter K, Göpfert E. Polyunsaturated phosphatidyl-choline Interferon alpha for treatment of chronic hepatitis B and C: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Hepato-Gastroenterology* 1998;45: 797-804
89. Başaklar C. *Yenidoğanın Cerrahi Hastalıkları*; 1. baskı. Ankara: Palme Yayıncılık. 1996: 33-36
90. Neyzi O, Ertuğrul T. *Pediatric*; 3. baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi. 2002: 741-45
91. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry*; 5th ed. USA: W. H. Freeman and Company. 200: 322-29
92. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Pennsylvania: W.B.Saunders Company. 1999: 216-17
93. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology*; 7th ed. İstanbul: Merk Yayıncılık. 1986; 1186-87
94. Lieber CS, Robins SJ, Li J, DeCarli LM, et al. Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Gastroenterology* 1994;106: 152-59
95. Lieber CS, DeCarli LM, Mak KM, Kim C, Leo M. Attenuation of alcohol induced hepatic fibrosis by polyunsaturated lecithin. *Hepatology* 1990;12: 1390-98
96. Cantafora A, Masella R, Angelico M, Gadn C, Blount RJ, Peterson SW. Effect of intravenous polyunsaturated phosphatidylcholine infusion on insulin receptor processing and lipid composition of erythrocytes in patients with liver cirrhosis. *Eu j Clin Invest* 1992;22: 777-82
97. Holecek M, Mraz J, Koldova P, Skopec F. Effect of polyunsaturated phosphatidylcholine on liver regeneration onset after hepatectomy in the rat. *Drug Res* 1992;42: 337-39
98. Ohkawa H, Ohnishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95: 351-78

99. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malondaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978;26: 271-72
100. Woessner JB. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961; 99: 440-41
101. Ishak K, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22: 696-99
102. Knodell RG, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1: 431-35
103. Donnellan WL, Burrington JD, Kimura K, Schafer JC, White JW. *Abdominal Surgery of Infancy and Childhood*; 1st ed. USA: Harwood Academic publishers GmbH. 1996: 32/2
104. Ito T, Nagaya M, et al. Modified hepatic portal enterostomy for biliary atresia. *Z Kinderchir* 1984;39: 242-54
105. Dillon PW, Owings E, Cilley R, Douglas F et al. Immunosuppression as adjuvant therapy for biliary atresia. *J Ped Surg* 2001;36: 80-85
106. Davenport M, Kerker N, Mieli-Vergani G et al. Biliary atresia: the King's collage hospital experience (1974-1995) *J Ped Surg* 1997;32: 479-85
107. Kobayashi H, Horikoshi K, Ymataka A, et al. Are stable postoperative biliary atresia patients really stable. *Ped Surg Int* 2001;17: 104-07
108. Kobayashi H, Horikoshi K, Ymataka A, et al. Beneficial effect of a traditional herbal medicine (inchin-ko-to) in postoperative biliary atresia patients. *Ped Surg Int* 2001;17: 386-89
109. Couvelard A, Scoazec JY, Feldmann G. Expression of cell-cell and cell-matrix adhesion proteins by sinusoidal endothelial cells in the normal and cirrhotic human liver. *Am J Pathol* 1993;143: 738-52
110. Liu C, Chiu JH, Chin T, et al. Expression of aminopeptidase N in bile canaliculi: A predictor of clinical outcome in biliary atresia and a potential tool to implicate the mechanism of biliary atresia. *J Surg Res* 2001;100: 76-83
111. Dhawan A, Trivedi P, Cheeseman p, et al. Serum hyaluronic acid as an early prognostic marker in biliary atresia. *J Ped Surg* 2001;36: 443-46
112. Puglielli L, Amigo L, Arrese M, Nunez L, Rigotti A, Garrido J, Gonzalez S, Mingrone G, Greco AV, Accatino L, et al. Protective role of biliary cholesterol and

phospholipid lamellae against bile acid-induced cell damage. *Gastroenterology* 1994; 107(1): 244-54

113. LeBlanc MJ, Gavino V, Perea A, Yousef IM, Levy E, Tuchweber B. The role of dietary choline in the beneficial effects of lecithin on the secretion of biliary lipids in rats. *Biochim Biophys Acta* 1998;1393: 223-34

114. Haag M, Vermeulen F, Magada O, Kruger MC. Polyunsaturated fatty acids inhibit Mg<sup>2+</sup> -ATPase in basolateral membranes from rat enterocytes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999;61: 25-7

115. Lata J, Dastych M Jr, Senkyrik M, Husova M, Stary K. Protective effect of essential phospholipids on liver injury due to total parenteral nutrition. *Vnitr Lek* 2001;47: 599-03

116. Grimble RF, Tappia PS. Modulation of pro-inflammatory cytokine biology by unsaturated fatty acids. *Z Ernahrungswiss* 1998;371: 57-65

117. Rise P, Galli C. Arachidonic and docosahexaenoic acids differentially affect the expression of fatty acyl-CoA oxidase, protein kinase C and lipid peroxidation in HepG2 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999;60: 367-70

118. Peres W, Maria Jt, Collado PS, et al. The flavanoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J Hepatology* 2000;33: 742-50

119. Muriel P. Alpha-interferon prevents liver collagen deposition and damage induced by prolonged bile duct obstruction in the rat. *J Hepatology* 1996;24: 614-21