

ORIGINAL
INVESTIGATION
ÖZGÜN
ARAŞTIRMA

The Effect of Edaravone on Liver Damage in Controlled Experimental Non-Heart-Beating Donor Model

Deneysel Kontrollü Non-Heart Beating Donor Modelinde Edaravonun Karaciğer Hasarını Önleyici Etkisi

Mehmet Mustafa Çetin¹, Zeki Yılmaz¹, Tanık Artış¹, Kemal Deniz¹, Recep Saraymen²

ABSTRACT
ÖZET

Objective: The aim of this study is to investigate the effect of Edaravone on viability of hepatocytes in experimental controlled non-heart beating donor models of rats and additionally to determine the usefulness of these grafts.

Material and Methods: Forty Wistar-Albino male rats, 225-290 grams in weight were randomly assigned to five different groups (sham, two control and two study groups). Cardiac arrest was performed by intracardiac KCl injection (0.2 mL). Livers were subjected to 30 minutes of warm ischemia and were washed out with 50 mL Euro Collins solution via a portal vein catheter after total hepatectomy. Liver grafts in the control groups and the study groups were perfused with Histidin- Tryptophan- Ketoglutarat solution including SF and edaravone (1 mg/kg), respectively. The perfusion was lasted for 30 or 60 min using a circulatory system. AST, ALT, IL-10, IL-6, TNF- α levels were measured in the perfusion fluids. The grafts were saved under suitable conditions for histopathological assessment.

Results: It was found that the Edaravone Groups have lower levels of AST, ALT, IL-6, and TNF- α and have higher levels of IL-10, PCNA labeling index, and Bcl-2 staining index when compared to Control Groups.

Conclusion: Edaravone increases the viability of hepatocytes biochemically, morphologically in experimental controlled non-heart beating donor models of rats.

Key words: Donor, edaravone, liver transplantation, warm ischemia

Amaç: Sıçanlarda deneysel kontrollü kalp atımı olmayan (non-heart beating) donör modelinde, Edaravonun karaciğer hücre canlılığına etkisini ve kullanılabilirliğini araştırmak amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Ağırlığı 225-290 gram arasında olan, 40 adet Wistar-Albino erkek sıçanlar rastlantısal olarak 5 gruba (sham, iki kontrol ve iki çalışma grubu) ayrıldı. Kalp içine uygulanan KCl enjeksiyonu (0,2 mL) ile kalp durduruldu. Karaciğerler otuz dakika süreyle sıcak iskemiye maruz bırakıldı ve total hepatektomiden sonra portal ven kataterize edilerek 50 mL Euro Collins solüsyonu ile olarak yıkandı. Kontrol ve çalışma grubundaki karaciğerler, SF veya edaravon (1mg/kg) içeren Histidin- Triptofan- Ketoglutarat solüsyonu ile perfüze edildi. Perfüzyon bir sirkülatuar sistem kullanılarak 30 dakika veya 60 dakika sürdürüldü. AST, ALT, IL-6, IL-10, TNF- α ölçümleri perfüzyon sıvılarında yapıldı. Histokimyasal çalışmaları için de karaciğerler uygun koşullarda saklandı.

Bulgular: Edaravon verilen gruplarda, kontrol gruplarına göre AST, ALT, IL-6 ve TNF- α değerleri, daha düşük, IL-10 değerleri, PCNA işaretleme oranları ve Bcl-2 boyanma yüzdeleri ise daha yüksek bulundu.

Sonuç: Edaravon; deneysel kontrollü non-heart beating donör modelinde hepatosit canlılığını, biyokimyasal ve morfolojik açıdan artırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Donör, edaravon, karaciğer transplantasyonu, sıcak iskemi

¹Erciyes Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi
Anabilim Dalı,
Kayseri, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Biyokimya
Anabilim Dalı,
Kayseri, Türkiye

Submitted/Geliş Tarihi
12.02.2007

Accepted/Kabul Tarihi
08.03.2012

Correspondance/Yazışma
Dr. Zeki Yılmaz
Erciyes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Genel Cerrahi Anabilim Dalı,
38039 Kayseri, Türkiye
Phone: +90 352 223 87 33
e.mail: zyilmaz@erciyes.edu.tr

©Copyright 2012
by Erciyes University School of
Medicine - Available on-line at
www.erciyesmedicaljournal.com
©Telif Hakkı 2012
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Makale metnine
www.erciyesmedicaljournal.com
web sayfasından ulaşılabilir.

Giriş

Son dönem organ yetmezliği olan hastalarda fonksiyonunu yitirmiş organın yerine görev yapmak üzere yeni bir organ nakledilmesine organ nakli denir. Organ nakli 20. yüzyıl son çeyreğinde temel tıp bilimlerindeki gelişmelerin de katkısı ile ve özellikle iletişim kaynaklarının sağlandığı bilgi paylaşımı sayesinde çok hızlı gelişen bir tıp dalı olmuştur. Organ fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması, vasküler cerrahi tekniklerinin gelişmesi, immünoloji ve farmakolojideki gelişmeler organ naklinin gelişmesine katkıda bulunmuştur. Beyin ölümü kavramının kabul görmesi ve kalp atımı olan kadavra kavramının literatüre girmesiyle, her organın nakli için çalışmalar yapılmış ve organ naklinde günümüzdeki başarılı düzeye ulaşılmıştır (1).

Karaciğer nakli yüz güldüren sonuçları ve genişleyen endikasyonlarından dolayı son dönem karaciğer hastalığı olan hastalar için iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Ne yazık ki potansiyel alıcı sayısının artması ve donör sayısının değişmemesiyle, organ nakli bekleyenlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır (2). Karaciğer naklinden yarar görece hastalara organ sağlamak amacı ile bir dizi yeni yöntem kabul görmüştür. Bunlar arasında canlıdan canlıya yetişkin, pediyatrik ve kadaverik karaciğer nakli yer almaktadır (3-5). Bu yöntemler uygun donör havuzunun artmasını sağlamış olsa da hala çok büyük eksiklikler bulunmaktadır. Organ bekleyen hasta sayısındaki artıştan dolayı marjinal donör kullanımı da yaygınlaşmaktadır (6). Kalp atımı olmayan (Non-heart beating) donörden (NHBD) alınan organlara ilgi, organ yetersizliğinin giderek artması, sıcak iskemi periyodunun artmasına karşın greft sağkalımının iyi olması ve organların iyi fonksiyon görmesi nedeniyle artmıştır (7, 8).

Karaciğer nakli, son dönem karaciğer hastalığı olan hastaların tedavisi için sağkalımın da giderek iyi sonuçlar vermesi ile iyi bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Fakat sadece karaciğer nakil adayları bu tedavinin yararlarını görmektedir (9).

Edaravon (MCI-186, 3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-one) hidroksi radikallerinin iyi bir toplayıcısıdır ve demir kaynaklı peroksidasyon hasarını azaltmaktadır. Edaravon portal akım volümünü, safra üretimini ve NHBD donörlerde karaciğer için enerji gereksinimini azaltır ve aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrogenazı (LDH) düşürür. Proinflamatuvar sitokin üretimini inhibe eder ve lipid peroksidasyonunu baskılar (10). Edaravon karaciğerde edaravon glukonata metabolize olur ve sulfatla konjüge olarak hızlı bir şekilde idrarla atılır. Edaravon düşük molekül ağırlığına (MW: 174,2 g) sahiptir. Hem yağda hem de suda çözünür ve hücre membranından kolayca geçer (11).

Edaravonun antioksidan aktiviteyi etkileme mekanizması şu şekilde açıklanır: Edaravon anyonundan bir elektronun peroksil radikaline transfer olması sonucunda edaravon radikali ve peroksil anyonu oluşur. Daha sonra Edaravon peroksil radikali bir hidrojen atomu ve bir elektron eliminasyonu ile 4,5-dion'a ve bu da -okso-3-(fenilhidrazon)-butonoik asite (OBP) dönüşür ve OBP de antioksidan özellik gösterir (11).

Direk koruyucu etkisinin yanısıra Edaravon, anti-inflamatuvar ve immunregülatuar özellikleri olan IL-10 salınımını güçlü bir şekilde uyarır. Karaciğer hasarı ile IL-10 salınımı arasındaki ilişki rapor edilmiştir (12-15). Karaciğer hücrelerinin serbest oksijen radikallerine (SOR) yanıt olarak interlökin-10 (IL-10) salgıladığı ileri sürülmüştür (15). Fakat ciddi iskemi reperfüzyon hasarında toksik hidroksil radikallerinin aşırı üretimi ile IL-10 salınımı baskılanabilir. Bundan dolayı edaravon ile tedavinin, IL-10 salınımı artırarak bu negatif regülasyonun önüne geçebileceği düşünülmüştür (16). Nakamura ve ark. (10) potansiyel serbest radikal toplayıcısı olan Edaravon'un, sıcak iskemi reperfüzyon hasarına maruz kalan NHBD greftleri üzerinde portal akım hacmi, safra üretimi ve enerji düzeyini iyileştirdiğini göstermişlerdir.

Biz bu çalışma farklı reperfüzyon süreleri (30 ve 60 dk.) uygulanarak ile NHBD greftlerdeki iskemik değişikliklerin edaravon ile azaltılıp azaltılamayacağını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler

Ağırlıkları 225-290 gram arasında değişen, 40 adet Wistar-Albino erkek sıçan sham, kontrol I, kontrol II, çalışma I ve çalışma II gruplarına ayrıldı (her grup için n=8) Sham grubundaki sıçanlara portal ven kateterizasyonu da dahil olmak üzere hiçbir uygulama yapılmadı. Diğer sıçanlara anestezi madde verilmeden, 0,1 mL heparin subkutan verildi ve 0,2 mL intrakardiyak potasyum klorür (KCl) verilerek kardiyak arrest sağlandı. Daha sonra sham dışındaki tüm gruplarda 30 dakikalık kardiyak arrest sonrası sıcak iskemi beklendi. Her bir sıçanda, orta hat insizyonundan sonra Falsiform ligament kesilip tüm bağları açılarak karaciğer total olarak disseke edildi. Yukarıda vena kava ve alt tarafta vena porta disseke edilerek serbestleştirildi. Daha sonra portal ven lümenine uygun 3,5 french bir kateter yardımıyla portal ven kateterize edildi. Bu kateter yardımıyla 50 mL Euro Collins solüsyonu ile *in vivo* olarak karaciğer yıkandı. Perfüzant solüsyonu portal vene yerleştirilen kateterden ve-

rildi. Kontrol grubundaki karaciğerler, 0,5 mL serum fizyolojik (SF) Histidin Triptofan Ketoglutarat (HTK) solüsyonu ile; çalışma gruplarındakiler ise 1mg/kg Edaravon HTK solüsyonu ile perfüze edildi. Perfüzyon sıvısı I kodlu gruplara 30 dakika II kodlu gruplara ise 60 dakika süreyle verildi. Böylelikle farklı reperfüzyon sürelerinin greft fonksiyonu üzeri etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), İnterlökin-6 (IL-6), IL-10, Tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α) ölçümleri için perfüzyon sıvıları, immunohistokimya çalışmaları için de karaciğerler uygun koşullarda saklandı.

Biyo kimyasal parametreler: Alınan perfüzant örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda AST, ALT düzeyleri Konelab 60i (Thermo Clinical LabSystems, Espoo, Finland) otoanalizator cihazında ölçüldü ve IU/L olarak birimlendirildi. Çalışma günü oda ısısında çözünen serumlarda IL-10 düzeyi elisa kiti ile (Assaypro) ng/mL, IL-6 düzeyi elisa kiti ile (Biosource) pg/mL, TNF- α düzeyi elisa kiti ile (Assaypro) ile ng/mL olarak ölçüldü.

Histopatolojik Parametreler

Prolifere olan hücre nükleer antijeni (PCNA) ile işaretlenme oranı: %10'luk formol içinde saklanan karaciğer dokusuna parafin emdirdikten sonra spesmenlerden 5 micrometre kalınlığındaki kesitler, yapıştırıcı madde olarak poli-L-lizin ile kaplanmış lamalar üzerine alındı. PCNA boyanacak preparatlar 60°C'lik etüvde bir saat beletildikten sonra ksilol ve derecesi giderek azalan alkolden geçirilerek distile suda yıkandı. Kesitler sitrat buffer (pH: 6,0) ile 20 dakika kaynatıldı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için bütün preparatlara 15 dakika süreyle %3'lük H₂O₂ uygulandı. On dakika tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda yıkandı. Primer antikor olarak sıçan monoklonal antikor olan PCNA (clone PC10) hazır kiti kullanıldı. Primer antikor uygulandıktan sonra 30 dk bekletildi. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı. Otuz büyük büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı ve her 1000 hücreye oranı şeklinde tanımlandı.

B Hücreli Lenfoma-2 (Bcl-2) ile işaretlenme oranı: Primer antikor olarak sıçan monoklonal antikor olan Bcl-2 α kiti kullanıldı. Primer antikor uygulandıktan sonra 30 dk bekletildi. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı. Otuz büyük büyütme sahasındaki Bcl-2 ile boyanmış hücreler boyanma şiddetine göre semikantitatif değerlendirildi.

Pozitif kontrol olarak PCNA ve Bcl-2 için normal tonsil dokusu kullanıldı. Kesitlerin kurumaması için işlemlerin tümü oda ısısında ve nemli bir ortamda gerçekleştirildi. Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Kesitlerin değerlendirilmesi, randomize olarak ve uzman bir patolog tarafından preparatın hangi gruba ait olduğunu bilmeden yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) ve SigmaStat 3.5 İstatistik Paket programları ile analiz edildi. Gruplararası karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren de-

Tablo 1. Sham, kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğer perfüzyonlarında AST, Alanin aminotransferaz (ALT), İnterlökin 10 (IL-10), İnterlökin 6 (IL-6) ve Tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α) değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları

	Sham	Kontrol I	Kontrol II	Çalışma I	Çalışma II	p<
AST (IU/L)	9 \pm 3,779	477,5 \pm 57,95	858,5 \pm 378,37	151 \pm 36,61	72,5 \pm 7,93	0,001
ALT (IU/L)	10.5 \pm 4,334	241 \pm 56,068	1570 \pm 964,537	173 \pm 62,202	68 \pm 18,629	0,001
IL-10 (ng/mL)	15 \pm 1,505	18 \pm 1,195	18,5 \pm 1,06	54 \pm 2,445	58 \pm 1,807	0,001
IL-6 (pg/mL)	21,5 \pm 1,164	110 \pm 8,345	135 \pm 9,258	24 \pm 2,133	18,5 \pm 1,060	0,001
TNF- α (ng/mL)	115 \pm 8,864	405 \pm 10,796	430 \pm 9,258	360 \pm 12,464	320 \pm 10,350	0,001
PCNA	60 \pm 15,41	39,62 \pm 11,50	42,38 \pm 17,02	46,5 \pm 13,67	69 \pm 12,20	0,001

ğişkenler için Tek Yönlü Varyans Analizi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal Wallis Analizi kullanıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi'nde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalarda homojen varyans gösteren gruplar için Tukey testi kullanıldı. Kruskal Wallis Analizi'nde fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar Dunn yöntemi ile yapıldı. İki nitel değişkenin karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testinin Exact yöntemi kullanıldı. p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Sham, kontrol ve çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğerleri sirkülataur bir sistem yardımıyla perfüze edilirken perfüzyon sıvıları uygun koşullarda elde edildi ve perfüzyatlardan AST, ALT, IL-10, IL6 ve TNF- α çalışıldı. Elde edilen değerler Tablo 1'de verilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçları ölçülen tüm parametreler için Sham, Kontrol ve Çalışma grupları arasında anlamlı fark bulunduğunu gösterdi (p<0,05; Tablo 1).

Sham, kontrol ve çalışma gruplarında saptanan proliferen olan hücre nükleer antijeni (PCNA) değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0,05) Bcl-2 ile yapılan boyama sonucunda sonuçlar negatif, zayıf pozitif ve kuvvetli pozitif olarak tanımlandı. Sham, kontrol ve çalışma gruplarında saptanan Bcl-2 ile boyanma kriterleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0,05; Tablo 2).

Tartışma

Organ nakli için yeterince greftin bulunamaması organ nakli bekleyen hastaların artmasına ve hastaların bekleme sürecinde kaybedilmesine neden olmaktadır. Bundan dolayı günümüzde ilgili çalışmalar donör organ sayısı azlığı üzerine yoğunlaşmıştır. Geçmişte beyin ölümü kriterlerinin tanımlanmadığı dönemlerde farkında olunmadan kullanılan NHBD'ler organ havuzunun genişletilmesinde iyi bir potansiyel oluşturmuştur. Bu donörlerin karmaşık süreçlerinin greft survey ve fonksiyonlarına yansıyan kötü yanları geliştirilen stratejiler ile düzeltilebilirse NHBD'ler organ havuzunu çözmekte çok daha önemli rol oynayacaklardır. Tahminler, NHBD'lerin organ havuzuna her yıl yaklaşık 1000 donör eklenmesiyle kadaverik organ havuzunu potansiyel olarak %25-42 oranında arttıracaklarını göstermektedir (17, 18).

Ninomiya ve arkadaşları (16) edaravonun hidroksil radikallerini toplayarak deneysel soğuk hepatik iskemi reperfüzyon hasarının anlamlı olarak düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 ekspresyonunun artırılması ile iskemi reperfüzyon

Tablo 2. Sham, kontrol ve çalışma gruplarının bcl-2 ile boyanma oranları ve dağılımı

Grup		Bcl2			Toplam
		Boyanma yok	zayıf	kuvvetli	
Sham	n	8	0	0	8
	%	100,0	0,0	0,0	100,0
Kontrol 1	n	6	2	0	8
	%	75,0	25,0	0,0	100,0
Kontrol 2	n	7	1	0	8
	%	87,5	12,5	0,0	100,0
Çalışma 1	n	0	8	0	8
	%	0,0	100,0	0,0	100,0
Çalışma 2	n	0	6	2	8
	%	0,0	75,0	25,0	100,0
Toplam	n	21	17	2	40
	%	52,5	42,5	5,0	100,0

hasarının sadece erken safhası değil geç safhasında da edaravonun etkili olduğunu göstermişlerdir. Klinik kullanımda güvenli ve kolay kullanılabilir olduğu ispatlanan Edaravon, karaciğer organ nakli cerrahisinde bir terapötik ajan olarak kullanımı için ümit vaat etmektedir.

Higashi ve arkadaşları (11) edaravonun akut miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda sadece iskemi reperfüzyonu takip eden miyokardiyal ve vasküler hasarda değil kronik fazdaki aterosklerozda da yararlı olduğunu göstermişlerdir. Amiyotrofik lateral skleroz (ALS) ve mitokondriyal miyopati gibi değişik hastalıklarda edaravonun kullanılabilir gösterilmiştir (19, 20). Edaravon tedavisinin ağır oksidatif stresli hastalarda mortalite oranlarını düşürdüğü tartışılabilir da patogenezinde oksidatif stres bulunan birçok hastalıkta yararlı olacağı rapor edilmektedir. Bizim çalışmamızda da hepatik enzimler ve TNF- α düzeylerinin çalışma gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunması edaravon'un karaciğeri iskemi reperfüzyon hasarından koruduğunu desteklemektedir.

Reperfüzyon sonrası üretilen serbest oksijen radikalleri ve sitokinlerin adezyon moleküllerinin up regülasyonunu uyardığı rapor edilmiştir. Hepatik iskemi reperfüzyon hasarında adezyon molekülleri hedef dokulardaki nötrofil migrasyonunu artırarak hasarı ağırlaştırmaktadır (21).

Song ve ark. (22) edaravon'un retinal iskemide reperfüzyon hasar modelinde oksidatif parametreleri hafifleterek retinal nöronları apoptozdan koruduğunu rapor ettiler.

Edaravon, karaciğer iskemide reperfüzyon hasarında karaciğere nörofil infiltrasyonunu azaltmaktadır (23). Ayrıca histolojik bulgular da hepatik iskemide reperfüzyon hasarında edaravon'un koruyucu etkilerini gösterilmiş, reperfüzyon hasarı başlamadan hemen önce verilen edaravon'un daha efektif ve parsiyel hepatektomi ve karaciğer naklinde kullanılabileceği rapor edilmiştir (23).

Non-heart beating donör greftlerin kullanıldığı bir çalışmada lipid peroksidasyonun bir ürünü olan lipid hidroperoksidaz, edaravon tedavisi ile azaltılmış ve sıcak iskemide reperfüzyon hasarında karaciğerdeki lipid peroksidasyonu radikal toplayıcılarla baskılandığı öne sürülmüştür (10). Edaravon tedavisi ile perfüzyon sıvısındaki azalmış AST ve LDH değerleri, hücre membranlarında lipid peroksidasyonu ile oluşan düşük SOR miktarları ile membran hasarını azaltıcı etkisini göstermektedir (10). Bizim çalışmamızda perfüzyon sıvısındaki AST ve ALT değerleri anlamlı olarak düşük bulunmuş bu da Edaravon'un yararlı etkilerini ortaya koymuştur.

Sitoplazmik ve mitokondrial bir enzim olan AST, karaciğer dışında kalp, iskelet kası, böbrek, beyin gibi birçok dokuda bulunurken, sitoplazmik bir enzim olan ALT başlıca karaciğerde bulunur ve AST'ye göre daha özgündür. Bu enzimler parankim hasarının olduğu dönemden itibaren yükselmeye başlar. Enzimlerin serum değerlerindeki yükselme hepatosellüler hasarın boyutlarını yansıtır. İskemi-reperfüzyon hasarının belirlenmesinde en sık kullanılan laboratuvar parametreleridirler (24). Bizim çalışmamızda çalışma grubunda hepatektomi sonrası AST ve ALT değerlerinin düşük bulunması, karaciğer hücre hasarında SOR'un edaravon tarafından toplanmasının kanıtı olduğu söylenebilir. Bu görüş ile yola çıkıldığında AST ve ALT değerlerinin düşük olduğu edaravon grubunda karaciğer hücre canlılığının daha iyi olduğu ve greft sağkalım ve fonksiyonu açısından daha iyi sonuçlar verebileceği öngörülebilir.

Schauer ve arkadaşları (25) *in vivo* bir mikroskop gözlemi ile transplante edilen rat karaciğerlerinde mikrosirkülasyon bozulmasının Kupffer hücre fonksiyonlarının baskılanması ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca kupffer hücre blokajı ile bu hücrelerinden elde edilen SOR'un azaldığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da edaravon'un antienflamatuar sitokinleri artırdığı, proinflamatuar sitokinleri baskılayarak sıcak iskemide maruz kalmış NHBD'lerde faydalı olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca perfüzyon sıvısındaki AST ve ALT değerlerinin edaravon verilen gruplarda anlamlı düşük olması da NHBD'lerde edaravon'un faydalı etkilerini ortaya koymaktadır.

Normal karaciğerde PCNA antikoru ile immünohistokimyasal inceleme sonrası önemsenmeyecek kadar az sayıda hücrede boyanma saptanırken, rejenerasyon olan karaciğerde son derece yüksek sayıda hücrede pozitif boyanma saptanmaktadır (26). Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda PCNA değerlerine bakılarak, rejenerasyon açısından değerlendirilmesi amaçlandı. PCNA açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi. Çalışma gruplarının PCNA ile boyanması; edaravonun karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkisini göstermiştir.

Yamamoto ve ark. (27) sıçan karaciğerlerinin rejeksiyon sırasında apoptozise direnç gösterdiklerini ve hepatositlerin canlılıklarını korumaya çalıştıklarını göstermişlerdir. Herhangi bir nedenle is-

kemiye maruz kalan hücrenin apoptozisten korunmak için Bcl-2 ekspresyonu ettiğini bildirmişlerdir. Gruplar karşılaştırıldığında Bcl-2 boyanma yüzdeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Kontrol gruplarında Bcl-2 zayıf oranda boyanırken, çalışma gruplarında Bcl-2 kuvvetli boyandı. Çalışma II grubunda santral ven etrafında zon 3'de çok kuvvetli boyanma tespit edildi. Hepatositlerin Bcl-2 ile boyanması, edaravonun karaciğeri iskemide reperfüzyon hasarından koruduğunu gösterebilir.

Sonuç

Karaciğer nakli bekleyen hastaların sayısının giderek artması ve organ yetersizliğinden dolayı donör havuzunu genişletmek için NHBD iyi bir alternatif olabilir. NHBD ile yapılan karaciğer nakillerinde greft fonksiyonunu artırma çalışmaları önemli yararlar sağlayacaktır. Bu bağlamda sıcak iskemide maruz kalmış NHBD'lerde edaravon güçlü bir radikal toplayıcısı olarak çok faydalı ve ümit verici bir ajandır.

Teşekkür

Bu çalışma 20-23 Mayıs 2009 tarihinde Fransa (Nimes)'da yapılan 44. Avrupa Cerrahi Araştırma Kongresi'nde sunulmuştur.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Yazarlık katkıları: Fikir ve deneylerin tasarlanması: ZY; Deneylerin uygulanması: MÇ; Verilerin analizi: KD, RS; Yazının hazırlanması: ZY, MÇ, TA; Tüm yazarlar yazının son halini okumuş ve onaylamıştır.

Kaynaklar

1. Titiz İ, Aker F, Arman A, ve ark. Renal Transplasyona Pratik Yaklaşım, 2. Baskı, İstanbul: ISBN:975-93649-0-5 (Eczacıbaşı İlaç Pazarlama'nın katkılarıyla); 2004. s.7-8.
2. D'alessandro AM, Hoffmann RM, Knechtle SJ, Odorico JS, Becker YT, Musat A, et al. Liver transplantation from controlled non-heart beating donors. *Surgery* 2000; 128(4): 579-88. [CrossRef]
3. Marcos A. Right lobe living donor liver transplantation: a review. *Liver Transpl* 2000; 6(1): 3-20. [CrossRef]
4. Tanaka K, Uemoto S, Tokunaga Y, Fujita S, Sano K, Yamamoto E, et al. Living related liver transplantation in children. *Am J Surg* 1994; 168(1): 41-8. [CrossRef]
5. Busuttil RW, Goss JA. Split liver transplantation. *Ann Surg* 1999; 229(3): 313-21. [CrossRef]
6. Becker YT. Use of marginal donors in kidney transplantation. *Graft* 2000; 3: 216-20.
7. D'Alessandro AM, Hoffmann RM, Knechtle SJ, Eckhoff DE, Love RB, Kalayoglu M, et al. Controlled non-heart-beating donors: a potential source of extrarenal organs. *Transplant Proc* 1995; 27(1): 707-9.
8. Nicholson M. Kidney transplantation from asystolic donors. *Br J Hosp Med* 1996; 55(1-2): 51-6.
9. Otero A, Gómez-Gutiérrez M, Suárez F, Arnal F, Fernández-García A, Aguirrezabalaga J, et al. Liver transplantation from Maastricht category 2 non-heart-beating donors: a source to increase the donor pool? *Transplant Proc* 2004; 36(3): 747-50. [CrossRef]
10. Nakamura A, Akamatsu Y, Miyagi S, Fukumori T, Sekiguchi S, Satomi S. A free radical scavenger, edaravone, prevents ischemia-reperfusion injury in liver grafts from non-heart-beating donors. *Transplantation Proceedings* 2008; 40(7): 2171-4. [CrossRef]
11. Higashi Y, Jitsuiki D, Chayama K, Yoshizumi M. Edaravone (3-Methyl-1-Phenyl-2-Pyrazolin-5-One), A Novel free radical scavenger, for treatment of cardiovascular diseases. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov* 2006; 1(1): 85-93. [CrossRef]

12. Bourdi M, Mascbuchi Y, Reilly TP, Amouzadeh HR, Martin JL, George JW, et al. Protection against acetaminophen-induced liver injury and lethality by interleukin 10: role of inducible nitric oxide synthase. *Hepatology* 2002; 35(2): 289-98. [\[CrossRef\]](#)
13. Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, McAulay M, Millward-Sadler H, Sheron N. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology* 1998; 28(6): 1597-606. [\[CrossRef\]](#)
14. Louis H, Van Leathem JL, Wu W, Quertinmont E, Degraef C, Van den Berg K, et al. Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Hepatology* 1998; 28(6): 1607-15. [\[CrossRef\]](#)
15. Le Moine O, Marchant A, Durand F, Ickx B, Pradier O, Belghiti J, et al. Systemic release of interleukin-10 during orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1994; 20(4 Pt 1): 889-92. [\[CrossRef\]](#)
16. Ninomiya M, Shimada M, Harada N, Soejima Y, Suehiro T, Maehara Y. The hydroxyl radical scavenger MCI-186 protects the liver from experimental cold ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 2004; 91(2): 184-90. [\[CrossRef\]](#)
17. Kimber RM, Metcalfe MS, White SA, Nicholson ML. Use of non-heart-beating donors in renal transplantation. *Postgrad Med J* 2001; 77(913): 681-5. [\[CrossRef\]](#)
18. Reich DJ, Munoz SJ, Rothstein KD, Nathan HM, Edwards JM, Hasz RD, et al. Controlled non heart-beating donor liver transplantation: a successful single center experience, with topic update. *Transplantation* 2000; 70(8): 1159-66. [\[CrossRef\]](#)
19. Yoshino H, Kimura A. Investigation of the therapeutic effects of edaravone, a free radical scavenger, on amyotrophic lateral sclerosis (Phase II study). *Amyotrop Lateral Scler* 2006; 7(4): 241-5. [\[CrossRef\]](#)
20. Maeda K, Tatsumi M, Yasuda H, Murata Y, Kawai H, Yasuda H. A case of stroke-like episode of MELAS of which progressive spread would be prevented by edaravone. *Rinsho Shinkeigaku* 2005; 45(6): 416-21.
21. Garcia-Criado FJ, Palma-Vargas JM, Valduncel-Garcia JJ, Gomez-Alonso A, Srivastava O, Ezrin A, et al. Sulfo-Lewis diinishes neutrophil infiltration and free radicals with minimal effect on serum cytokines after liver ischemia and reperfusion. *J Sur Res* 1997; 70(2): 187-94. [\[CrossRef\]](#)
22. Song Y, Gong Y, Xie Z, Li CH, Gu Q, Wu XW. Edaravone (MCI186), a free radical scavenger, attenuates retinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29(7): 823-8. [\[CrossRef\]](#)
23. Hiranuma S, Ito K, Noda Y, Ozasa H, Koike Y, Horikawa S. Amelioration of hepatic ischemia/reperfusion injury in the remnant liver after partial hepatectomy in rats. *Hepatology* 2007; 22(12): 2167-72.
24. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, Hannoun L, Parc R, Deriaz H, et al. Vascular occlusions for liver resections. Operative management and tolerance to hepatic ischemia: 142 cases. *Ann Surg* 1989; 209(2): 211-8. [\[CrossRef\]](#)
25. Schauer RJ, Bilzer M, Kalmuk S, Gerbes AL, Leiderer R, Schildberg FW, et al. Microcirculatory failure after rat liver transplantation is related to Kupffer cell derived oxidant stress but not involved in early graft dysfunction. *Transplantation* 2001; 72(10): 1692-9. [\[CrossRef\]](#)
26. Nieminen AL, Gores GJ, Wray BE, Tanaka Y, Herman B, Lemasters JJ. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Cell Calcium* 1988; 9(5-6): 237-46. [\[CrossRef\]](#)
27. Yamamoto H, Ohdan H, Shintaku S, Miyata Y, Marubayashi S, Asahara T, et al. Expression of Bcl-2/Bax mRNA in grafted liver during acute rejection after rat liver transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30(7): 2950-1. [\[CrossRef\]](#)