

# Deneysel Parsiyel Hepatektomi Modelinde Yorucu Egzersizin Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisi

## Effect of Exhaustive Exercise on Liver Regeneration in an Experimental Partial Hepatectomy Model

Elvan Onur Kırımker<sup>1</sup>, Süleyman Utku Çelik<sup>2</sup>, Seyit Mehmet Sadık Ersöz<sup>1</sup>, Mehmet Kaan Karayalçın<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada amacımız yorucu egzersizin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini parsiyel hepatektomi yapılan bir hayvan modeli üzerinde incelemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya ağırlıkları 225-275 g olan 24 Wistar albino sıçan dahil edildi. Deney grubuna (n=12) %70 hepatektomiden sonra iki defa yorucu egzersiz yaptırılırken; kontrol grubuna (n=12) herhangi bir egzersiz yaptırılmadı. Ardından deneklerin hepsinde parsiyel hepatektominin 72 saat sonrasında remnant karaciğerin rezeksiyonu gerçekleştirildi. Gruplar rejenerasyon indeksi, histopatolojik incelemede gözlenen rejeneratif değişiklikler, Ki-67 boyanma yoğunlukları ve mitoz sayısı açısından karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Gruplar, parsiyel hepatektomi ile elde edilen örneklerde yapılan incelemede rejeneratif değişiklikler benzer bulundu. Ki-67 boyanma yoğunluğu ve mitoz sayıları yönünden de gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Egzersiz sonrasında sıçanların rejenerasyon indeksleri deney grubunda  $1,93 \pm 0,34$ ; kontrol grubunda ise  $2,42 \pm 0,21$  olarak hesaplandı ( $p=0,001$ ). Gruplar arasında total hepatektomi sonrasında ölçülen rejeneratif değişiklik puanları ( $p=0,842$ ) ve Ki-67 boyanma yoğunlukları ( $p=0,200$ ) bakımından istatistiksel fark saptanmadı. Ancak mitoz sayıları, kontrol grubuna göre deney grubunda daha düşük olarak hesaplandı (11,5'e karşı 26,0;  $p=0,010$ ).

**Sonuç:** Bu sonuçlar ışığında yorucu egzersizin modelinde oluşturulan karaciğer rejenerasyonu hızını mitoz sayısı ve kütle artışı parametreleri bakımından olumsuz etkilediği, rejeneratif değişiklikler ve Ki-67 boyanması bakımından ise anlamlı olarak etkilemediği belirlendi. Konuyla ilgili daha detaylı plazma incelemeleri ve immünohistokimyasal analizler yapılarak daha nesnel ve daha geniş kapsamlı ve keskin sonuçlar sağlamak için ve farklı egzersiz yöntemleriyle egzersizin etkilerini ortaya koymak için konuyla ilgili daha ileri araştırmalar gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Egzersiz, Karaciğer, Rejenerasyon

### Abstract

**Objectives:** To investigate the results of exhaustive exercise on hepatocyte hyperplasia in an animal experiment consisting of partial hepatectomy.

**Materials and Methods:** The experimental study was conducted with 24 Wistar Albino rats weighing between 225 and 275. Whereas exhaustive exercise was performed twice after 70% hepatectomy in the experimental group (n=12); the control group (n=12) did not perform an exercise. Then, rats underwent total hepatectomy 72 hours after partial hepatectomy. Groups were compared in terms of regeneration index, regenerative changes in hepatocytes, mitosis, and Ki-67 staining levels.

**Results:** The groups were similar at baseline (at the time of 70% liver resection) regarding regenerative changes, mitosis count, and Ki-67. Regeneration index after exercise were  $2.02 \pm 0.40$  in the experimental group; and  $2.42 \pm 0.21$  in the control group ( $p=0.007$ ). There was no difference

\*Bu makale, yazarlardan Elvan Onur Kırımker'in "Sıçan modelinde yorucu egzersizin karaciğer rejenerasyonuna etkisi" başlıklı uzmanlık tezinden türetilmiştir (Yök tez merkezi no:306342)

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Elvan Onur Kırımker,  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
Tel.: +90 532 731 80 75 E-posta: kırımker@ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9890-9540

Geliş Tarihi/Received: 29.09.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 10.12.2020

©Telif Hakkı 2021 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.  
Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



between the groups in terms of regenerative scores ( $p=0.842$ ) and Ki-67 staining ( $p=0.200$ ) measured after total hepatectomy. However, mitosis was lower in the experimental group than the control group (11.5 vs. 26.0;  $p=0.010$ ).

**Conclusion:** It was showed that effect of exhaustive exercise on liver regeneration is negative according to mitosis count and liver mass increase but did not affect histologic changes of regeneration and Ki-67 staining. Blood tests and detailed immunohistochemical studies may reveal mechanisms of effect of exercise on liver cell hyperplasia and its potential clinical benefits.

**Key Words:** Exercise, Liver, Regeneration

## Giriş

Karaciğer, detoksifikasyon, bilirubin ekskresyonu, kan şekeri düzenlenmesi, glikojen sentezi, pıhtılaşma faktörlerinin ve albüminin de içinde olduğu birçok proteinin sentezi gibi farklı işlevlerin gerçekleştirildiği aynı zamanda bu işlevlerin birbiriyle bağlantısının da sağlandığı vücudun en büyük organıdır (1,2). Ancak karaciğerin fonksiyonel hacminin eksilmelerle sonuçlanan klinik tablolar vardır. Bu tablolar arasında fulminan hepatitler, karaciğer rezeksiyon ve zehirlenmeler sayılabilir (3). Canlı vericili karaciğer naklinin hemen sonrasında da hem alıcıda hem de vericide tam bir karaciğer yoktur. Sağlıklı bir bireyde karaciğerin fonksiyonel kapasitesini düşüren bu durumlardan sonra karaciğer eski hacmine yakın büyüklükte ve eski fonksiyonu düzeyinde vücut ihtiyaçlarını karşılamak için hacmini artırır (4). Söz konusu hacim artışı karaciğerdeki hücrelerin bölünmesiyle gerçekleşir (1). Günümüzde karaciğer yetmezliğinde karaciğer fonksiyonlarının kronik olarak yerini alacak hemodiyaliz benzeri bir cihaz yoktur ve dekompanze karaciğer yetmezliğinin tek kalıcı tedavisi karaciğer naklidir. Gelişen anestezi teknikleri ve hemodinaminin invaziv monitörizasyonu, gelişen cerrahi enstrümanlar, karaciğer cerrahisi alanında gelişmiş deneyim ve bilgi birikimi günümüzde majör ve radikal karaciğer rezeksiyonlarının yapılabilmesini mümkün kılmıştır. Fakat, bu durumlarda da rezidü karaciğer dokusunun yeterli fonksiyon gösterememesi söz konusu olabilmektedir (4,5).

İnsanlarda fonksiyonel karaciğer kütesinin eksilmesi sonrasında karaciğerin rejenerasyon yetisi uzun zamandır bilinmektedir. Karaciğer fonksiyonlarını akut veya kronik süreçte bozan yukarıda sıralanan klinik durumlar karaciğer rejenerasyonu ile ilgili olarak araştırmacıların ilgisini artırmıştır. Günümüzde, ağırlıklı kabul gören bakış açısı karaciğerin rejenerasyonunun birçok farklı odaktan tetiklenen karmaşık bir süreç olduğudur. Rejenerasyonla ilgili süreçler moleküler ve hücresel seviyede kısmen ortaya konmuştur. Bu süreçlerin içerisinde öncelikle Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), interlökin-6 (IL-6), Epidermal büyüme faktörü (EGF), Hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin etkisi gözlenmiştir (4).

Karaciğer rejenerasyonu üzerinde çeşitli hormon ve ilaçların etkisi incelenmiştir (6,7). Ancak karaciğer rejenerasyonu üzerinde, tıbbi açıdan da çeşitli faydaları gösterilen egzersizin etkisini inceleyen çalışma sayısı azdır. Akut ya da sürekli egzersiz

sonucunda dokularda ve kanda düzeyleri artan mediatörler arasında karaciğer rejenerasyonuna da etkili olduğu gösterilmiş olanları mevcuttur (1). Bu ilişki potansiyel olarak karaciğerin rejenerasyonu egzersizin üzerinde olumlu etkileri olabileceğini düşündürür. Fakat rejenerasyona olumsuz etkisi olabilecek ve bilinmeyen ve egzersizle artan diğer faktörlerin egzersizin net etkisini rejenerasyon hızını düşürme veya rejenerasyonu durma noktasına getirmesi de olası bir senaryodur. Bu deneysel çalışmada egzersizin karaciğer rejenerasyonu üzerinde potansiyel etkilerini belirlemeyi hedefledik. Bunun için kontrollü bir sıçan deneyinde hipotezimizi test ettik.

## Gereç ve Yöntem

Çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra (karar numarası: 2010-99-358) Ankara Üniversitesi Deneysel Hayvanlar ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmada vücut ağırlıkları 215-275 gram arasında değişen 25 adet Wistar Albino soyuna ait erkek sıçan kullanıldı. Cerrahi işlem, anestezi uygulaması ve hayvan bakım yöntemleri Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu yönergesi ve Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu prensiplerine uygun olarak gerçekleştirildi.

### Çalışma Grupları

Hipotezin test edilmesi amacıyla bir sıçan deney modeli seçildi ve sıçanlardan biri pilot deney maksadıyla kullanıldı. Bu deneğe %70 hepatektomi yapıldı ve takip eden iki günde yorucu egzersiz yaptırıldı. %70 hepatektomiden 3 gün sonra tamamlayıcı hepatektomi gerçekleştirildi. Böylelikle pilot deney yoluyla araştırmacılar hepatektomi deney modeli deneyimlerini, fiziki imkanların sınırlarını, sıçanın fiziki ve davranışsal olarak deneylere ve koşu bandına uyumunu gözlemlediler. Ardından, sıçanlar her grupta 12 sıçan olacak şekilde rastgele iki gruba ayrıldı:

- Deney grubundaki 12 deneğe: %70 karaciğer rezeksiyonu yapıldı ve postoperatif 24. ve 48. saatlerde yorucu egzersiz yaptırıldı.

Egzersizleri takip eden günde yani postoperatif 72. saatte tamamlayıcı karaciğer rezeksiyonu yapıldı.

- Kontrol grubundaki 12 deneğe ise %70 karaciğer rezeksiyonunu takiben doğrudan postoperatif 72. saatte tamamlayıcı karaciğer rezeksiyonu yapıldı.

### Deneklerin Bakımı

Sıçanlar çalışma süresince 12 saat aydınlık/karanlık periyotlarında, 21°C oda sıcaklığında ve 30x40x70 santimetre boyutlarındaki kafeslerde; kafeslerin her birinde en fazla altı sıçan barınacak şekilde yerleştirildi ve beslenmelerinde standart sıçan yemi ile içme suyu kullanıldı.

### Anestezi İşlemi ve Cerrahi Prosedür

Peroperatif analjezi 20 mg/kg petidin hidroklorürün (Aldolan®, Liba Laboratuvarları, Türkiye) ameliyattan hemen önce deneklerin deri altına uygulanmasıyla sağlandı. Operasyon anestezi için 20 mg/kg xylazine (Rompun®, Bayer, Türkiye) ile 80 mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer Ltd., UK) ile karışımı deneklere intraperitoneal olarak uygulandı. Sıçanların ameliyatlarından sonra, ağrısız egzersiz yapabilmeleri ve yapacakları egzersizlere uyumlarını sağlamak amacıyla parsiyel ve tamamlayıcı karaciğer rezeksiyonu arasındaki 3 günlük arada sıçanların içme sularına 7,5 mg/kg/gün dozda ibuprofen (İbufen®, Abbott İlaç, Türkiye) katıldı.

### Cerrahi Teknik

Sıçanlara %70 karaciğer rezeksiyonu için tarif edilen anestezinin etkisi gözlemlendikten sonra karın kılları alındı ve %10 povidon iyodür (Batticon®, Adeka, Türkiye) ile cilt antisepsisi yapıldı. Denekler ameliyat tablasına supin pozisyonda tespit edilerek delikli steril kumaşla örtüldü. Altı cm'lik orta hat kesisi bisturi ile yapılarak deri ve linea alba kesilerek karın boşluğuna ulaşıldı. Diyafragma, kaudat lob ve mideden karaciğerin sol lateral lobu ile median lobu serbestlendi. Bu iki lobun ortak pedikülü bir adet 4/0 ipek bağlama ile bağlanarak ve bağlamanın hemen distalinin divizyonuyla bu iki lob çıkartıldı ve ardından tartıldı (8). Varsa aktif kanamalar durduruldu ve kanama açısından kontroller yapıldı. Deri ve linea alba ayrı ayrı olarak 3/0 ipek sürekli dikiş kullanılarak onarıldı ve ameliyat bitirildi.

Total hepatektomiler ya da diğer bir deyişle tamamlayıcı karaciğer rezeksiyonları %70 karaciğer rezeksiyonunun 72 saat sonrasında ilk cerrahi işlem ile aynı analjezi, anestezi ve hijyen şartlarında gerçekleştirildi. Önceki operasyonun dikişleri alındı ve yine orta hattan karın boşluğuna girildi. Rezidü karaciğer lobları ön ve arka kaudat loblar ile üst ve alt sağ lob idi. Rezidü karaciğer kütlesi makas yardımıyla mide, diyafram ve dalaktan ayrıldı. Karaciğer pedikülü 4/0 ipek ipe bağlanarak karaciğer tarafı kesildi. Loblar anterio traksiyon altında vena kavadan kesilerek ayrıldı. Karın dışına çıkarılıp tartıldı.

Ameliyatlar saat 10:00 ile 14:00 arasında gerçekleştirildi.

### Egzersiz Protokolü

Deney protokolündeki yorucu egzersiz modeli Gandra ve ark'nın (9) daha önceki çalışmasından alıntılanarak uygulandı. Sıçanlar, sıçan deneyleri için tasarlanmış dört kulvardan oluşan koşu bandı üzerinde (Sıçan koşu bandı, Ankara Üniversitesi

Mühendislik Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi, Türkiye) %10 eğitimde bandın hızı aşamalı olarak artırılarak önce 5 dakika 5 m/dk hızda, sonrasında 5 dakika 10 m/dk hızda, takiben 5 dakika 15 m/dk hızda, ardından 35 dakika 20 m/dk hızda ve bundan sonra da her dakika 1 m/dk artan hızlarda yoruluncaya kadar koşturuldular. Deney grubundaki sıçanlara %70 karaciğer rezeksiyonunun ertesi günü ve 48 saat sonra olmak üzere iki kez yukarıda tarif edilen şekilde yorucu egzersiz yaptırıldı. Egzersizler 10:00 - 14:00 saatleri arasında yaptırıldı.

Sıçanların koşmasını teşvik maksadıyla koşu bandının gerisinde kalan alana düşük voltajlı elektrik verildi. Yorulma, deneklerin dakikada beş kez koşu bandına yetişemeyip geri alana düşmesi ile belirlendi.

### Sakrifikasyon

Denekler, tamamlayıcı karaciğer rezeksiyonu sonrasında anestezi altında iken intraabdominal büyük damarları kesilerek ve kanatılarak sakrifiye edildi.

### Ölçümler ve Patolojik Değerlendirme

Deneklerin ağırlıkları ameliyatlar öncesinde ölçüldü. %70 karaciğer rezeksiyonu materyallerinin ağırlıkları oranlanarak aynı karaciğerin bırakılan kısmının ağırlığı yaklaşık olarak hesaplandı ( $KK_{post-hep} = KK_{pars} / 70 \times 30$ ). Elde edilen sayı vücut ağırlığına bölünerek %70 karaciğer rezeksiyonu sonrasında her gram vücut ağırlığına düşen karaciğer kütlesi her sıçan için hesaplandı (Parsiyel indeksi= $KK_{post-hep} / VA_{ilk}$ ). Buna ilave olarak tamamlayıcı hepatektomi sonrasında çıkan hepatektomi spesimenleri de deneklerin vücut ağırlıklarına bölündü. Böylece rejenerasyon sonrasında gram vücut ağırlığına düşen karaciğer kütlesi her sıçan için hesaplandı (Total indeksi= $KK_{total} / VA_{son}$ ). Ayrıca her sıçan için total indeksi parsiyel indeksine bölündü ve ağırlığa göre düzeltilmiş rejenerasyon indeksi hesaplandı (10).

$KK_{post-hep} = \%70$  parsiyel hepatektomi sonrası tahmini kalan karaciğer kütlesi;  $KK_{pars}$ =parsiyel hepatektomi ile çıkarılan karaciğer kütlesi;  $VA_{ilk}$ =%70 parsiyel hepatektomi sonrası ölçülen sıçan ağırlığı;  $KK_{total}$ =total (tamamlayıcı) hepatektomi sonrası rejenerasyon olan karaciğer volümü;  $VA_{son}$ =total (tamamlayıcı) hepatektomi öncesi ölçülen sıçan ağırlığı.

%70 karaciğer rezeksiyonu ve tamamlayıcı karaciğer rezeksiyonu spesimenleri ameliyatlardan hemen sonra %10 formol içine kondu. Ki-67 ve hematoksilen-eosin ile boyamalar yapıldı. Işık mikroskobu altında mitoz sayıları belirlendi. Hepatositlerdeki mitoz sayısı belirlenmesi mitozların büyük büyütmede (400x) on tane alanda sayılmasıyla belirlendi (11). Işık mikroskobunda proliferasyona ait hücre nükleuslarında büyüme ile nükleol belirginleşmesi gibi hücresel seviyede değişiklikler de gözlemlendi ve 0 ile 4 arasında puanlar verildi (12). Puanlama; rejeneratif farklılık olmaması 0 puan, hepatositlerin %25'inden azında rejeneratif farklılık olması 1 puan, hepatositlerin %25-50'sinde rejeneratif farklılık olması 2

puan, hepatositlerin %50-75'inde rejeneratif değişiklik olması 3 puan ve hepatositlerin %75'inden fazlasında rejeneratif farklılık olması 4 puan olacak şekilde yapıldı.

Hücre bölünmesine bağlı rejenerasyon gerçekleşmesi nedeniyle proliferasyon hızlarının immünohistokimyasal boyamalarla incelenmesi planlandı. Ki-67 boyanma şiddeti proliferasyonda ölçüt olarak belirlendi. İmmünohistokimyasal incelemede hepatektomi piyeslerinde mikroskobun 400 kat büyütmesinde rastlantısal olarak seçilmiş, Ki-67 ile boyanmış hücreler büyük damar veya kanal yapısı içermeyen 10 alanda sayıldı. Yüz hepatosit başına düşen Ki-67 pozitif hücreler tüm materyallerde hesaplandı (13).

### İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi ve değişkenlerin arasındaki ilişkilerin incelenmesinde SPSS versiyon 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, IL) istatistik programı kullanıldı. Elde edilen rejenerasyon indeks puanlarının yanı sıra hem parsiyel hepatektomi hem de total hepatektomi sırasında elde edilen rejeneratif değişiklik puanları, Ki-67 boyanma miktarları ve mitoz sayıları gruplar arasında karşılaştırılarak incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Student's t-testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parametrik veriler, ortalama  $\pm$  standart sapma, non parametrik veriler ise ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulurken; kategorik veriler yüzde olarak sunuldu. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

### Bulgular

Deney ve kontrol grubundaki sıçanlar çalışmanın başında ağırlıkları ölçüldü. Deney grubunun ortalama vücut kütlesi  $238,75 \pm 18,46$  g hesaplanırken; kontrol grubunun ortalama

vücut kütlesi  $245,83 \pm 14,44$  g bulundu. Gruplar arasında ortalama vücut kütleleri açısından anlamlı fark olmadığı belirlendi. ( $p=0,306$ ). Deney grubuna dahil edilen sıçanlar koşu bandında her egzersizde ortalama olarak 54 dakika 22 saniye (24-62 dakika) koşabildiler.

İlk olarak hepatektominin rejenerasyon üzerine yarattığı değişikliği ortaya koymak için parsiyel hepatektomi materyali ile total hepatektomi materyallerindeki ölçümler karşılaştırıldı. Hem deney grubunda hem de kontrol grubunda rejeneratif hücresel değişiklik düzeyleri, Ki-67 boyanma miktarları ve mitoz sayıları beklenildiği üzere istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmış olarak gözlemlendi. Yani iki grupta da parsiyel hepatektomi sonrasında belirgin düzeyde bir rejenerasyon mevcut idi.

%70 parsiyel hepatektomi sonrasında deney grubunda gram vücut ağırlığına düşen karaciğer ağırlığı yani parsiyel indeksi  $0,015$  g karaciğer/g vücut ağırlığı ( $0,011-0,022$ ) olarak ölçüldürken; bu değer kontrol grubunda  $0,014$  g karaciğer/g vücut ağırlığı ( $0,012-0,017$ ) olarak hesaplandı ( $p=0,898$ ). Total hepatektomi sonrası ölçülen gram vücut ağırlığı başına düşen karaciğer ağırlığı yani total indeksi deney grubunda  $0,029$  g karaciğer/g vücut ağırlığı ( $0,022-0,034$ ) bulunurken; kontrol grubunda  $0,034$  g karaciğer/g vücut ağırlığı ( $0,031-0,038$ ) bulundu ( $p=0,652$ ). Hem parsiyel hepatektomi sırasında hem de total hepatektomi sırasında hesaplanan indeksler açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Karaciğer ağırlığına göre hesaplanan rejenerasyon indeksinin ortalaması  $1,93 \pm 0,34$  olarak deney grubunda gözlemlendi. Kontrol grubunun rejenerasyon indeksi deney grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek idi ( $2,42 \pm 0,21$ ) ( $p=0,001$ ) (Tablo 1).

Histokimyasal incelemede hepatositlerdeki rejeneratif farklılıklar incelendiğinde deney ve kontrol gruplarından elde

**Tablo 1: Sıçanların parsiyel hepatektomi sonrası rejenerasyon düzeylerinin değerlendirilmesi**

Ölçümler	Deney grubu	Kontrol grubu	p
Vücut kütlesi (ilk), g	$238,75 \pm 18,46$	$245,83 \pm 14,44$	0,306
Parsiyel indeksi*	0,015 (0,011-0,022)	0,014 (0,012-0,017)	0,898
Total indeksi*	0,029 (0,022-0,034)	0,034 (0,031-0,038)	0,652
Rejenerasyon indeksi	$1,93 \pm 0,34$	$2,42 \pm 0,21$	0,001
<b>Parsiyel hepatektomi</b>			
Rejenerasyon puanı (0-4)	0 (0-2)	0 (0-2)	0,671
Mitoz sayısı	0 (0-1)	0,5 (0-2)	0,078
Ki-67 oranı	%0,5 (0-3)	%0,5 (0-1)	0,326
<b>Total hepatektomi</b>			
Rejenerasyon puanı (0-4)	2 (1-3)	2 (1-3)	0,842
Mitoz sayısı	11,5 (5-27)	26,0 (8-42)	0,010
Ki-67 oranı	%28,5 (0,5-60)	%39 (30-50)	0,200

\*gram vücut kütlesi başına düşen karaciğer kütlesi



edilen %70 hepatektomi materyallerinin ortanca rejenerasyon puanları sırayla 0 (0-2) ile 0 (0-2) olarak hesaplandı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı görüldü ( $p=0,671$ ). Aynı incelemede deney ve kontrol gruplarının total (tamamlayıcı) hepatektomi materyallerindeki ortanca rejenerasyon puanları sırasıyla benzer şekilde 2 (1-3) ve 2 (1-3) olarak hesaplandı ve değerler arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ( $p=0,842$ ).

Gruplar ayrıca eozin ve hematoksilin ile boyalı preparatlarda mitoz sayıları açısından ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Deney ve kontrol gruplarının %70 hepatektomi materyallerinde gözlemlenen mitoz miktarları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmedi ( $p=0,078$ ). Total hepatektomi materyallerindeki mitoz sayıları ise kontrol grubunda 11,5 (5-27), deney grubunda 26 (8-42) olarak hesaplandı ve kontrol grubundaki mitoz sayısının deney grubundakine göre istatistiksel olarak belirgin ölçüde fazla olduğu görüldü ( $p=0,010$ ).

İmmünohistokimyasal incelemede Ki-67 ile boyanmaya göre; deney grubundaki parsiyel hepatektomi materyalinin Ki-67 boyanma yüzdesi %0,5 (0-3) olurken; kontrol grubundaki Ki-67 boyanma yüzdesi %0,5 (0-1) oldu. Total hepatektomi materyallerinin Ki-67 boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında ise deney grubunun boyanma oranı %28,5 (0,5-60) iken; kontrol grubunun Ki-67 boyanma oranı %39 (30-50) bulundu. Sonuç olarak hem parsiyel hepatektomi materyali hem de total hepatektomi materyallerinden elde edilen Ki-67 değerleri bağlamında iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla;  $p=0,326$  ve  $p=0,200$ ) (Şekil 1).

## Tartışma

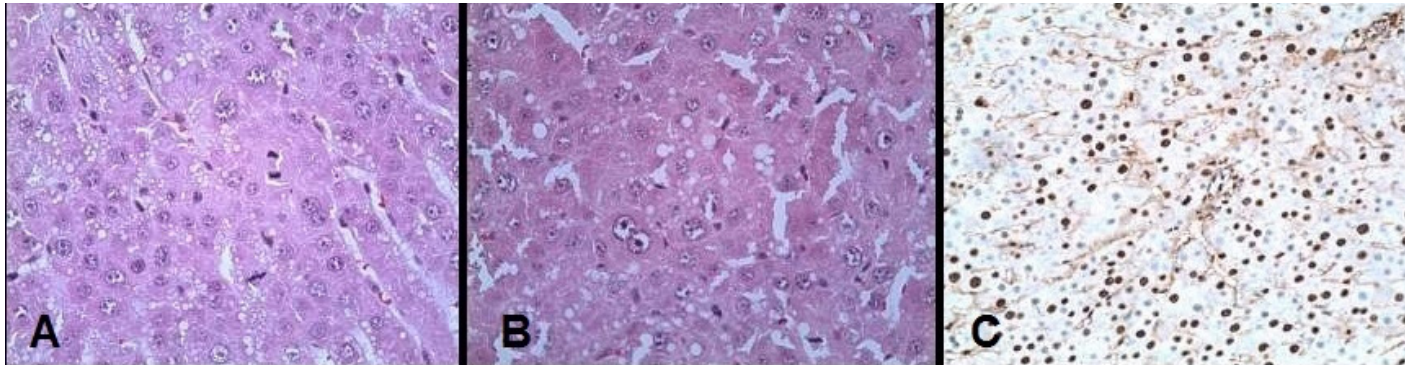
İnsan bedeninde rejenerasyon kapasitesine sahip tek organ karaciğerdir (2). Esasen, rezeke edilmiş bir karaciğer lobu tekrar oluşmamaktadır. Fakat remnant lobun hiperplazisi sayesinde organizmaya yeterli olacak kadar fonksiyonel hacmi yeniden kazanır (14). Diğer dokularda görülen onarımda, çıkarılan

dokunun yerini orijinal dokudan farklı olarak fibrozis dokusu ile tamamlarken kaybolan işlevsel hacim ise orijinal dokuya ait olan hücre tipiyle yerine konur ve mikromimari de korunur (15). Karaciğerde fonksiyonel parankim kaybı farklı şekilde ortaya çıkabilir. Bu nedenlerin başında cerrahi rezeksiyon, viral enfeksiyon, metabolik hastalık, toksik etkenler veya vasküler nedenler olabilmektedir.

Karaciğerin rejenerasyon özelliğini deneysel olarak ilk kez Higgins ve ark. (8) 1931 yılında göstermiştir. Günümüzde de sıçanlarda karaciğerin %70'i güvenli bir şekilde benzer tekniklerle çıkarılabilmektedir (8). Rejenerasyon süreci sitokinler, büyüme faktörleri ve metabolik yolların birbirleriyle çok ilişkili olduğu komplike bir süreçtir (1,5). Moolten ve Bucher (16) dolaşımda hepatektomi sonrası rejenerasyonu artıran büyüme faktörleri bulunduğunu ilk kez hepatektomi geçiren sıçanlar ile normal karaciğerli sıçanların dolaşımlarını birleştirerek normal karaciğerde hepatosit replikasyonunu olduğunu bildirmişlerdir. Rejenerasyon süreci parankimal kayıp sonrası dakikalar içinde başlayıp sıçanlarda günlerce, insanlarda ise aylarca sürmektedir. Taub (1), 2000'li yılların başında yayınladığı bir makalede karaciğerin proliferatif yanıtını gösteren NF- $\kappa$ B, STAT3 ve AP1 gibi özel transkripsiyon faktörlerinin parsiyel hepatektomi sonrası kalan dokuda dakikalar içinde aktifleştiğini bildirmiş; ayrıca büyüme faktörlerinden HGF, EGF ve TGF ile sitokinlerden IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın rejenerasyon süreci için gerekli olduğunu söylemiştir.

Günümüzde mevcut çalışmalarla, birçok ilaç, hormon veya deneysel ürünün karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisi incelenmiştir ve incelenmeye de devam edecektir (6,7). Ancak karaciğerdeki yağ asidi oksidasyonunu arttıran, yağ asidi sentezini azaltan, mitokondriyal ve hepatoselüler hasarı önleyen egzersizin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini inceleyen çalışmalar sınırlıdır (17).

Egzersizle birlikte plazmada adrenalin, prolaktin, büyüme hormonu ve kortizol yükselmesi gerçekleşeceği gibi plazmada enflamatuvar belirteçler de yükselmektedir (18,19). Ek olarak



**Şekil 1:** Hepatositlerde gözlenen belirgin mitotik aktivite artışı (Hematoksilen Eozin,  $\times 200$ ) (A), hepatositlerde nükleer büyüme ve belirgin nükleol ile karakterli rejeneratif değişiklikler (B) (Hematoksilen Eozin,  $\times 200$ ), Ki-67 immünohistokimya boyası ile hepatositlerde yaygın nükleer boyanma (Ki-67,  $\times 200$ ) (C)

kas kasılmaları hücresele düzeyde immün değişimlere de yol açmaktadır (20). İskelet kasının çalışmasıyla IL-6 salgıladığı gösterilmiş olup bu IL-6 artışı, egzersiz yoğunluğu ile yakından bağlantılıdır (19-21). Ayrıca yorucu egzersizlerin IL-8 artışına da yol açtığı gösterilmiştir (18,22). Czarkowska-Paczek ve ark. (23), gönüllü insanlar üzerinde yaptıkları ölçümlerde yorucu egzersizin hemen sonrasında plazmadaki TGF $\beta$ 1, VEGF ve PDGF seviyelerinde anlamlı miktarda yükselmeler gözlemlemişlerdir. Rowsey ve ark.'nın (24) bir çalışmasında ise 8 hafta egzersiz yapan sıçan grubunun karaciğer ve kalplerinin egzersiz yapmayan gruba göre daha büyük olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada yorucu egzersizlerin karaciğer rejenerasyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sıçanlardaki karaciğer rejenerasyonunun insanlardakine göre çok daha kısa sürede gerçekleşiyor olması nedeni ile çalışmada yorucu tipte egzersiz kullanılmıştır. Ayrıca yorucu egzersiz ile bu rejenerasyon sürecinde en yüksek miktarda sitokin ve büyüme faktörü salınımının indüklenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada karaciğer rejenerasyonu egzersiz sonrasında dört parametre ile ölçülmüştür. Bu parametrelerden vücut ağırlığı başına düşen karaciğer ağırlığı rezeksiyon tekniğinden etkilenebilecek ve hatta ölçüm hatalarına daha açık olabilecek bir parametredir. Oysa hepatositlerdeki rejeneratif değişikliklerin izlenmesi, mitoz miktarı ve Ki-67 ile immünohistokimyasal inceleme kör olarak değerlendirmeye imkan tanıyan ve total hepatektominin cerrahi teknik başarısından etkilenmeyen; bu nedenle de daha objektif olarak değerlendirebileceğimiz parametrelerdir (13). Örneğin posterior kaudat lobun total hepatektomi sırasında midenin arkasında kalmış olması sebebiyle rezekte edilememiş olması veya karaciğer yaş ağırlığı tartıldığında geniş sinüzoidal ve venöz yapılarıdaki kanın farklı miktarlarda boşalması gibi durumlar karaciğer rejenerasyonunu doğru şekilde yansıtacak veri sağlayamayabilir.

Sonuçları incelediğimizde rejenerasyon indekslerinin anlamlı ölçüde egzersiz yapmayan grubun hepatosit rejenerasyonu lehine farklı olduğunu (2,42'ye karşı 1,93; p=0,001) ve egzersiz yapmayan grupta mitoz miktarının büyük oranda artmış olduğunu (26,0'a karşı 11,5; p=0,010) görmekteyiz. Ki-67 boyanma düzeylerinde fark olmaması ve rejeneratif değişiklikler rejenerasyonun egzersizle inhibisyonunun sınırlı seviyede olduğunu düşündürmektedir. Her ne kadar egzersizin hedef organa ulaşan sitokin ve büyüme hormonu gibi maddelerde artışa yol açarak rejenerasyonu tetikleyebileceği düşünülse de egzersiz sırasında karaciğer rejenerasyonunu inhibe eden TGF- $\beta$  gibi habercilerin plazma ve doku seviyelerindeki artışı rejenerasyonun inhibe olmasına yol açıyor olabilir. Ek olarak karaciğer perfüzyonu da egzersiz yaparken azalmaktadır. Radak ve ark. (25) bir çalışmalarında yorucu egzersizin böbrek ve karaciğer dokularında oksidatif yıkıma sebep olduğunu ortaya koymuşlardır. Linecker ve ark.'nın (26) 2020 yılında "Annals of

Surgery" dergisinde yayınladıkları çalışma ise egzersizin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkilerini değerlendiren sınırlı sayıda çalışmalardan biridir. Bu çalışmada araştırmacılar, egzersizin steatoz, iskemik tolerans ve rejeneratif kapasite üzerindeki etkilerini yağlı karaciğere sahip farelerde değerlendirmişler ve orta derecede bir egzersizin yağlı karaciğerin metabolik, iskemik ve rejeneratif bozukluklarını etkin bir şekilde önlediği sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca egzersizin bu etkisini adenozein monofosfat aktive edici protein kinaz aktivasyonu ile sağladığını ortaya koymuşlardır. Görüldüğü gibi egzersizin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkilerini inceleyen sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Ek olarak çalışmalar, çeşitli yönlerden, egzersizin karaciğer üzerine belirgin bir etkisi olduğunu gösterirken; bu etkilerin rejenerasyonu hangi yönde etkileyeceği ile ilgili sonuçlar tartışmalıdır.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızda dört parametre ile yapılmış ölçümlerde ortaya çıkan sonuçlar doğrultusunda yorucu egzersizin karaciğer rejenerasyonuna olumlu nicel bir etkisinin olmadığı yönündedir. Bu sonucun egzersiz düzeyinin yüksekliğinin olası bir etkisi olabileceği de açıktır. Ancak düşük/orta düzey egzersiz yaptırılan bir kontrol grubunun olmayışı bu hipotezi test etmemizi engellemektedir. Konu ile ilgili olarak egzersizin toplam etkisini değerlendiren çalışmalar sınırlıdır. Ayrıca egzersizle karaciğer rejenerasyonunu inhibe eden habercilerin ilişkisinin net olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Benzer çalışmalarda standardize edilmiş egzersiz modelleri kullanılarak karaciğer proliferasyonu, hücre nükleer antijeni, gerçek zamanlı (real-time) polimeraz zincir reaksiyonu ve gen ekspresyon analizleriyle değerlendirilerek egzersiz ile karaciğer rejenerasyonu arasındaki ilişkinin açığa kavuşması sağlanabilir.

### Sonuç

Oluşturulan deneysel hayvan modeli, yorucu egzersizin sıçanlarda karaciğer rejenerasyon artışını mitoz miktarı ve ağırlık artışı açısından olumsuz etkilediğini, rejeneratif değişimler ve Ki-67 boyanması açısından ise etkilemediğini ortaya koymuştur. Ancak çalışmaların sınırlı olduğu bu alanda daha objektif ve klinik uygulamalara yansıtılabilecek netlikte sonuçlara ulaşmak için konuyla ilgili daha detaylı plazma incelemeleri ve immünohistokimyasal analizler yapılarak daha geniş boyutlu ve farklı egzersiz düzeyleri ile dizayn edilmiş araştırmalara ihtiyaç vardır.

### Etik

**Etik Kurul Onayı:** Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (karar numarası: 2010-99-358).

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

#### Yazar Katkıları

Konsept/Dizayn: S.E., K.K., Veri Toplama: E.O.K., S.U.Ç., Veri Analizi/Yorumlama: E.O.K., S.U.Ç., S.E., K.K., Literatür Arama: E.O.K., S.U.Ç., K.K., İçeriğin Eleştirel İncelemesi: S.E., K.K., Son Onay ve Sorumluluk: E.O.K., S.U.Ç., S.E., K.K., Malzeme ve Teknik Destek: E.O.K., S.U.Ç., Süpervizyon: S.E., K.K.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

#### Kaynaklar

1. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5:836-847.
2. Preziosi ME, Monga SP. Update on the Mechanisms of Liver Regeneration. *Semin Liver Dis.* 2017;37:141-151.
3. Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China. *Hepatology.* 2014;60:2099-2108.
4. Koniaris LG, McKillop IH, Schwartz SI, et al. Liver regeneration. *J Am Coll Surg.* 2003;197:634-659.
5. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology.* 2006;43:45-53.
6. Mastellos DC, Deangelis RA, Lambris JD. Inducing and characterizing liver regeneration in mice: Reliable models, essential "readouts" and critical perspectives. *Curr Protoc Mouse Biol.* 2013;3:141-170.
7. Andersen KJ, Knudsen AR, Kannerup AS, et al. The natural history of liver regeneration in rats: description of an animal model for liver regeneration studies. *Int J Surg.* 2013;11:903-908.
8. Higgins GM, Anderson RM, Higgins G, et al. Experimental pathology of the liver: Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *AMA Arch pathol.* 1931;12:186-202.
9. Gandra PG, Valente RH, Perales J, et al. Proteomic analysis of rat skeletal muscle submitted to one bout of incremental exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2012;22:207-216.
10. Sasanuma H, Mortensen FV, Knudsen AR, et al. Increased liver regeneration rate and decreased liver function after synchronous liver and colon resection in rats. *Ann Surg Innov Res.* 2009;3:16.
11. Marshak A, Walker AC. MITOSIS IN REGENERATING LIVER. *Science.* 1945;101:94-95.
12. Tannuri AC, Tannuri U, Coelho MC, et al. Experimental models of hepatectomy and liver regeneration using newborn and weaning rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2007;62:757-762.
13. Gerlach C, Sakkab DY, Scholzen T, et al. Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Hepatology.* 1997;26:573-578.
14. Marongiu F, Marongiu M, Contini A, et al. Hyperplasia vs hypertrophy in tissue regeneration after extensive liver resection. *World J Gastroenterol.* 2017;23:1764-1770.
15. Klaas M, Kangur T, Viil J, et al. The alterations in the extracellular matrix composition guide the repair of damaged liver tissue. *Sci Rep.* 2016;6:27398.
16. Moolten FL, Bucher NL. Regeneration of rat liver: transfer of humoral agent by cross circulation. *Science.* 1967;158:272-274.
17. van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, et al. The Effects of Physical Exercise on Fatty Liver Disease. *Gene Expr.* 2018;18:89-101.
18. Nieman DC. Current perspective on exercise immunology. *Curr Sports Med Rep.* 2003;2:239-242.
19. Terra R, da Silva SAG, Pinto VS, et al. Effect of exercise on immune system: response, adaptation and cell signaling. *Rev Bras Med Esporte.* 2012;18:208-214.
20. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008;88:1379-1406.
21. Pedersen BK, Fischer CP. Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007;10:265-271.
22. Nieman DC, Davis JM, Henson DA, et al. Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *J Appl Physiol (1985).* 2003;94:1917-1925.
23. Czarkowska-Paczek B, Bartłomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57:189-197.
24. Rowsey PJ, Metzger BL, Carlson J, et al. Long-term exercise training selectively alters serum cytokines involved in fever. *Biol Res Nurs.* 2009;10:374-380.
25. Radák Z, Asano K, Inoue M, et al. Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1996;72:189-194.
26. Linecker M, Frick L, Kron P, et al. Exercise Improves Outcomes of Surgery on Fatty Liver in Mice: A Novel Effect Mediated by the AMPK Pathway. *Ann Surg.* 2020;271:347-355.