



Karaciğer Rejenerasyonu: Deneysel Modeller ve Sinyal Mekanizmaları

Arzu GÜNEŞ^{1, a}
İlknur KESKİN^{2, b}

¹ İstanbul Medipol
Üniversitesi,
Uluslararası Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı,
İstanbul, TÜRKİYE

² İstanbul Medipol
Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı,
İstanbul, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0003-2496-7673

^b ORCID: 0000-0002-7059-1884

Geliş Tarihi : 03.09.2024
Kabul Tarihi : 11.11.2024

Yazışma Adresi

Arzu GÜNEŞ
İstanbul Medipol
Üniversitesi, Uluslararası
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı,
İstanbul - TÜRKİYE

arzu.gunes@medipol.edu.tr

Karaciğer, hasar gördüğünde yüksek düzeyde kendini yenileme yeteneği gösteren vital bir organdır. Günümüzde toksik maddelere artan maruziyet, çevresel faktörler ve yaşam tarzı değişiklikleri nedeniyle karaciğer hastalıklarının görülme sıklığı artmıştır. Bu durum, karaciğer rejenerasyonunu anlama ve bu süreci optimize etme ihtiyacını daha da önemli hale getirmiştir. Kronik karaciğer hastalıklarının son evresinde karaciğer nakli yaygın bir tedavi seçeneği olmasına rağmen uygun organ bulmanın zorluğu ve doku reddi gibi dezavantajları mevcuttur. Bu nedenle, birçok araştırmacı karaciğerin rejeneratif kapasitesini inceleyerek yeni tedavi yaklaşımları geliştirmeyi amaçlamaktadır. Bu derleme makalesi, karaciğer rejenerasyon sürecini, bu süreçteki biyolojik ve moleküler mekanizmaları, çalışılan hayvan modellerini ve sinyal yollarını detaylandırmaktadır. Böylece, rejenerasyon sürecindeki değişiklikler ele alınırken, gelecekteki araştırmalar ve potansiyel terapötik stratejiler için bu derleme makalesinin bir rehber niteliği taşınması sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer rejenerasyonu, moleküler mekanizmalar, deneysel modeller, sinyal yolları, hücresel yenilenme

Liver Regeneration: Experimental Models and Signalling Mechanisms

The liver is a vital organ that exhibits a high self-renewal ability when damaged. Today, the prevalence of liver diseases has increased due to heightened exposure to toxic substances, environmental factors, and lifestyle changes. This situation has made understanding liver regeneration and optimising this process more critical. Although liver transplantation is a common treatment option for end-stage chronic liver diseases, there are disadvantages, such as the difficulty of finding suitable organs and the risk of tissue rejection. Therefore, many researchers aim to develop new therapeutic approaches by studying the regenerative capacity of the liver. This review article details the liver regeneration process, the biological and molecular mechanisms involved, the animal models studied, and the signalling pathways. Thus, by addressing the changes in the regeneration process, this review article serves as a guide for future research and potential therapeutic strategies.

Key Words: Liver regeneration, molecular mechanisms, experimental models, signalling pathways, cellular renewal

GİRİŞ

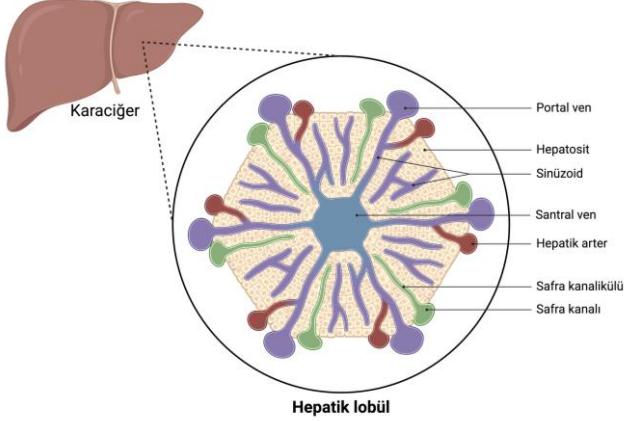
Yunan mitolojisinde Prometheus efsanesi, olağanüstü iyileşme yeteneğine sahip, yok edilemez bir karaciğer üzerine odaklanmıştır. Efsaneye göre, Prometheus Zeus'un ateşini çalıp insanlara verir. Zeus bu eylemden öfkeleniği için Prometheus'u yüksek bir dağda kayalıklara zincirler ve her gün bir kartalı Prometheus'un üzerine gönderir. Kartal, Prometheus'un karaciğerini her gün yer ancak karaciğer, kartal tekrar gelene kadar her gece iyileşir (1). Modern tıpta ise karaciğer rejenerasyonu terimi 19. yüzyılın başlarında kullanılmaya başlanmış ve günümüzde 'oldukça iyi düzenlenen hepatoselüler ölüm ile tetiklenen, orijinal doku kütlelerini, yapısal düzenini ve işlevini restore eden karmaşık bir biyolojik süreç' olarak tanımlanmaktadır (2, 3). Karaciğerin rejenerasyon yeteneğinin ilk bilimsel bulgusu Higgings ve ekibinin 1931 yılında yaptıkları sıçanlarda parsiyel hepatektomi sonrası doku kütlelerinin restorasyonuna yönelik çalışmalarıyla ortaya konmuştur (2).

KARACİĞER REJENERASYON SÜRECİ

Karaciğerin rejenerasyonu, parsiyel rezeksiyonun ardından rezidüel karaciğer dokusunun organizmanın metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için büyüdüğü bir tür kompanse edilebilir hiperplazi olarak da tanımlanabilir. Cerrahi olarak %70'inin rezeke edilmesinden sonra karaciğer hızla rejenerasyon sürecine girer. Rejenerasyon sürecinde kaybettiği kütlelerine birkaç hafta içinde tekrar ulaşması bakımından karaciğer vital organlar arasında benzersizdir. Ancak, karaciğer rejenerasyon sonunda fonksiyonel olgunlaşmaya ulaşmasına rağmen, orijinal anatomik yapısını tamamen geri kazanamamaktadır (4).

Karaciğer rejenerasyonu, karaciğerin tüm hücre çeşitlerinin proliferasyonunu kapsar. Bu hücreler hepatik epitelyal hücreler (hepatositler ve kolanjiositler) ile Kupffer hücreleri, hepatik kök hücreler, karaciğer sinüzoidal endotelyal hücreler gibi non-

parankimal hücrelerdir (Şekil 1) (5). Ancak karaciğer rejenerasyonunda temel mekanizma geride kalan hepatositlerin kompensatuvar proliferasyonu ile gerçekleşmektedir (6).



Şekil 1. Hepatik lobülün yapısı (7).

Homeostasis sırasında durağan olan hepatositler parsiyel hepatektomi (PH) sonrası karaciğer rejenerasyonu sürecinde çoklu hücre bölünmesi geçirecek parankimi yeniden oluştururlar. Bu durum, çeşitli karaciğer hastalıklarında da gözlemlenmektedir (8). Bu bilgiyi teyit etmek amacıyla yapılan çalışmalarda adeno-assosiyatif virüs 8 (AAV8) kullanılarak hepatositler işaretlenmiş ve PH veya karbon tetraklorür (CCl₄) hasarı sonrası elde edilen yeni hepatositlerin, mevcut hepatositlerin bölünmesiyle oluştuğu gösterilmiştir (9,10). Bu mekanizma hem homeostazist hem de akut ve kronik karaciğer hasarı sonrasında karaciğerin işlevini sürdürmesinde ve iyileşmesinde kritik bir rol oynamaktadır (8).

Kronik karaciğer hasarlarında hasar ile rejenerasyon arasındaki denge bozulduğunda veya rejenerasyon gerçekleşmediğinde hüresel hasar çok yaygınsa akut karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilir. Günümüzde fulminant karaciğer yetmezliği ve son evre kronik karaciğer hastalıklarında karaciğer nakli hâlâ tek tedavi seçeneğidir. Karaciğer naklinde rejeneratif süreç, transplante edilen dokunun alıcının dokusuna uyum sürecini de içermektedir (11). Karaciğer nakli sonrasında sonuçlar son yıllarda sürekli olarak iyileşme gösterse de uzun dönem sağkalım hâlâ genel popülasyonun ortalama yaşam süresinden daha düşüktür. Karaciğer, transplante edilen dokuya karşı güçlü bir bağışıklık yanıtı geliştirme (alloreaktivite) riski taşır. Nakil sonrası uygulanan immün supresyon protokolleri sayesinde immün sistem kaynaklı greft kaybı riski azalmıştır. Ancak, immünoşüpresif ilaçların uzun süreli kullanımı enfeksiyonlar, kardiyovasküler olaylar ve maligniteler gibi morbiditelere ve mortaliteye neden olabilmektedir. Bu nedenle immünoşüpresyonun azaltılması ve uzun dönem sonuçlarının iyileştirilme stratejileri geliştirilmeye çalışılmaktadır (12).

PH sonrası karaciğer rejenerasyon süreci temelde üç aşamada ilerlemektedir. Bu aşamalar: başlangıç fazı, çoğalma fazı ve sonlanma fazıdır.

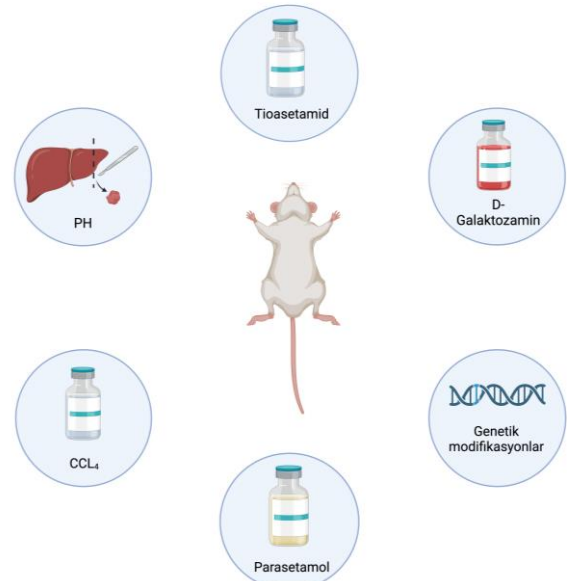
Başlangıç fazı: Fizyolojik koşullarda G0 fazında bulunan hepatositler PH sonrası hücre döngüsünde hızla G1 ve S fazlarına geçiş yapar. Bu faz, ekstraselüler matriksin çözünmesiyle başlar ve sürecin en kısa evresi olup yaklaşık 12-18 saat sürer.

Çoğalma fazı: Hepatositler DNA replikasyonunu tamamlayarak (G1-S-G2-M) ve hücre döngüsünde tekrar G0 fazına dönerler. Bu aşama ekstraselüler matriksin tekrar düzenlendiği ve kolanjiyositler ve sinüzoidal endotelial hücreler gibi parankim olmayan diğer hücrelerin de proliferasyona uğradığı aşamadır. Bu aşama başlangıç fazını müteakiben 4. güne kadar sürer.

Terminasyon fazı: Hepatik homeostazisinin tekrar oluşması için büyümeyi iletten sinyallerin sonlanması, rejenerasyonu durduran sinyallerin üretilmesini de kapsayan karaciğerin orijinal kütlesini korunmasını sağlayan süreçleri içeren rejenerasyonun 4. ila 7. günlerini kapsayan fazıdır (13).

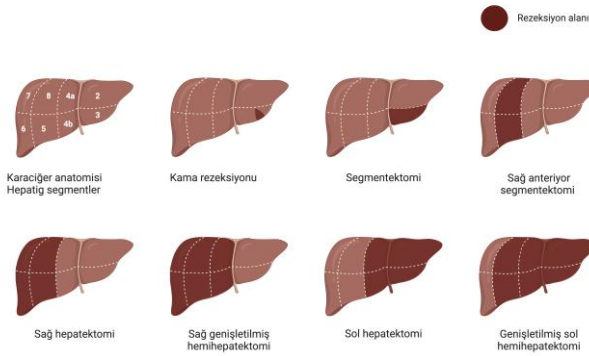
Karaciğer Rejenerasyonu Deneysel Modeller

Karaciğer rejenerasyonuna yönelik yapılan araştırmalarda hayvan türü seçimi genellikle incelenen bilimsel problem ve ilgili çalışmaların içeriğine bağlıdır. Sıçanlar ve fareler, yönetimlerinin kolay olması ve optimal immünojenik ve moleküler biyolojik yanıtları nedeniyle, karaciğer rejenerasyonu araştırmalarında tercih edilen türlerdir. Sirkadiyen ritim, yaş, cinsiyet ve beslenme faktörlerinin hepatosit proliferasyonu üzerine etkileri göz önünde bulundurulduğunda karaciğer rejenerasyonu çalışmalarında kullanılan hayvan deneylerinin sıkı bir şekilde standardize olmasının gerekliliği açıktır (14) (Şekil 2).



Şekil 2. Yaygın çalışılan karaciğer rejenerasyonu hayvan modelleri (7).

Parsiyel Hepatektomi: Kemirgenlerde 2/3 PH modeli, karaciğer rejenerasyonunu incelemek için en çok tercih edilen hayvan deney modellerinden biridir. Bu modelin yaygın olarak tercih edilmesinin başlıca nedenlerinden biri, çıkarılan karaciğer dokusunda ve kalan dokularda nekroz oluşmamasıdır. PH modelinin bu avantajı sıçan ve farelerin çok loblu karaciğer anatomilerinin 'temiz' bir rezeksiyona olanak tanınması sayesinde (Şekil 3). PH modelinin tercih edilmesinin diğer bir nedeni ise inflamatuvar reaksiyonların yol açtığı komplikasyonlar oluşmaksızın rejenerasyon sürecinin birkaç dakika içinde başlama. Bu nedenle, PH zamanı, rejenerasyonun başlangıç noktası için referans zaman olarak kabul edilmektedir (2, 15).

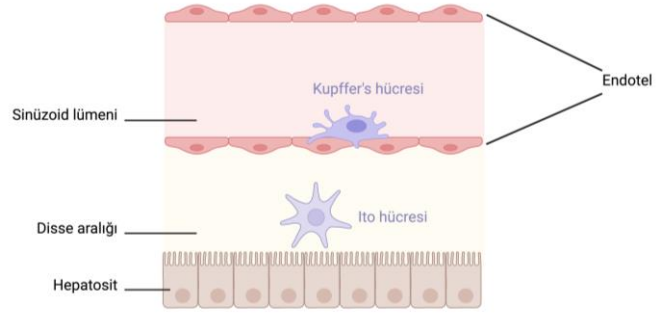


Şekil 3. Hepatik rezeksiyon tipleri (7).

Karaciğer hastalıklarında nekrotik materyallerin uzaklaştırılması ve doku iyileşmesi gibi süreçlerin önemli rol oynadığı göz önünde bulundurulması gereken önemli süreçlerdir. Bu süreçlerin 'temiz' bir model olan PH modelinde tam olarak incelenememesi PH modelinin bir dezavantajıdır. İnsan karaciğer hastalıklarında rejenerasyon sürecinin daha iyi anlaşılması için karaciğer hasarında rejeneratif yanıtların yanı sıra rejeneratif olmayan yanıtların da incelenmesi gerekmektedir (2).

CCl₄ İntoksikasyonu: Rejeneratif yanıtlarla beraber rejeneratif olmayan yanıtların da incelenmesine olanak sağlayan modellerden biri CCl₄ gibi toksinlerle oluşturulan hepatotoksisite modelleridir. Bu modellerde toksik hasarın hemen ardından karaciğerde nekroz ve akut inflamasyon bulguları görülür. Ayrıca polimorfonükleer lökositler ve makrofajlar, nekrotik alanlara göç ederek ölü hepatositleri fagosite ederler. Bu modellerde gerçekleşen yoğun inflamatuvar yanıt karaciğer rejenerasyonunun başlangıcını ve süresini etkilemektedir (16). CCl₄ intoksikasyon modeli özellikle karaciğerin kronik toksin hasarını taklit ettiği için en yaygın kullanılan hepatotoksisite modelidir. Bu modelde CCl₄ uygulamasını müteakiben santral ven etrafındaki parankimde (hepatik zon 3) nekroz gelişmeye başlar. Nekrotik hasar intoksikasyonun 24. saatinde en yüksek düzeyine ulaşır ve sonrasında karaciğer rejenerasyonu başlar. CCl₄ uygulaması kronik olduğundaysa Disse

aralığında bulunan Ito hücreleri kolajen 1 üreten miyofibroblast özellikleri kazanır ve fibrin üretimi aktive olur (17). Artan fibrin üretimi karaciğer fibrozisine yol açan fibröz skar formasyonlarına yol açar. CCl₄ uygulamasının sonlandırılmasıyla beraber rejenerasyon süreci başlar ve fibrozis geriler. Bu süreçte Kupffer hücreleri hem fibrinleri fagosite ederek fibrozisin gerilemesinde hem de nekrotik hepatositleri fagosite ederek karaciğerin rejenerasyonunda kritik bir rol üstlenir (Şekil 4) (18).



Şekil 4. Karaciğer sinüzoid yapısının histolojik şeması (7).

Parasetamol İntoksikasyonu: Klinikte sık kullanılan analjeziklerden biri olduğu için parasetamol (asetaminofen) intoksikasyonu akut karaciğer yetmezliğine (AKY) neden olan intoksikasyonlar arasında en yaygın olanıdır. İnsanda akut parasetamol intoksikasyonu, hepatositlerde nekroza yol açar ve mikroskopik incelemelerde yoğun nötrofil infiltrasyonları gözlenir. Bu yoğun nötrofil kümeleri, doku hasarının artışı gösterirken aynı zamanda inflamasyon sürecinin başlatıcısı ve sürdürücüsü olarak işlev görür (19). Parasetamol ile oluşturulan AKY hayvan modelinde de inflamasyon süreci klinik duruma benzer şekilde ilerler. Bu modelde parasetamol, oksidatif disfonksiyona, oksidatif hasara ve karaciğer hücre nekrozuna neden olur. Parasetamol ile indüklenen AKY modelinde karaciğer rejenerasyonu, büyük ölçüde parasetamolün dozuna ve uygulama süresine bağlıdır. Bununla birlikte, parasetamolün düşük çözünürlüğü nedeniyle, modelin oluşturulabilmesi için yüksek konsantrasyonlarda kullanılması gerekliliği, bu modelin dezavantajlarından biridir (18).

D-Galaktozamin (D-Gal) İntoksikasyonu: D-Gal AKY modeli oluşturmak için sık kullanılan bir diğer hepatotoksik ajandır. Üretiminin kolay olması, dozaj ve uygulama tekrarının daha iyi kontrol edilebilmesi gibi özellikleri nedeniyle, D-Gal, AKY modeli oluşturmak için genellikle ideal bir hepatotoksik ajan olarak kabul edilir. AKY modelinde D-Gal, hepatositlerde bir RNA nükleotidi olan üridin trifosfatı (UTP) bozarak yaygın hepatik nekroza ve klinik viral hepatit benzeri patolojik değişikliklere yol açan bir inflamatuvar yanıt oluşturur (20). Ayrıca, D-Gal, protrombin zamanında uzamaya yol açarken plazma AST ve total bilirubin düzeylerinde de ciddi artışlara neden olur (21). D-Gal ile oluşturulan AKY modelinin dezavantajlarından biri AKY sürecinin anesteziden önemli derecede etkilenebilmesidir. Bir

diğer dezavantajı da D-Gal uygulamasıyla deney hayvanlarının ölümü arasındaki sürenin hayvanlar arasında değişkenlik gösterebilmesidir. Ayrıca, büyük hayvanlarda AKY modelinin oluşturulması için gereken yüksek miktarda D-Gal, maliyet açısından önemli bir yük oluşturmaktadır (22).

Tioasetamid İntoksikasyonu: AKY modeli geliştirmek için yaygın olarak kullanılan diğer bir hepatotoksik ajan, hepatokarsinojen özellikleri taşıyan tioasetamiddir. Tioasetamid uygulandıktan sonra, tioasetamid disülfoksite dönüşür ve bu, toksik bir reaktif metabolittir. Bu reaktif metabolit, karaciğer makromolekülleriyle kovalent bağlanarak reaktif oksijen türlerinin üretimini ciddi olarak artırır ve bu durum akut sentrilobüler karaciğer nekrozunu tetikler. Nekrozun ardından hepatosit rejenerasyonu başlar. Bu nedenle tioasetamid ile oluşturulmuş AKY modeli, kimyasal hasar sonrası hepatosit proliferasyonu çalışmaları için önerilen bir yöntemdir (18, 22).

Genetik Olarak Modifiye Edilmiş Hayvan Modelleri: PH veya hepatotoksik ajanlarla oluşturulan AKY hayvan modellerinde insan karaciğerinin özelliklerini taklit etmek türler arasındaki biyolojik farklılıklardan ötürü tam olarak mümkün olamamaktadır. Bu nedenle, genetik olarak modifiye edilmiş hayvanlar, karaciğer rejenerasyonu araştırmaları için yeni modeller olarak önerilmiştir (18). Genetik modifikasyonlarla bağışıklık sistemi zayıflatılmış farelere insan hücreleri veya dokuları nakledilerek oluşturulan modeller, özellikle ilaç geliştirme ve bağışıklık sistemi araştırmalarında giderek daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu modellerde, insan hepatositleri immün yetersiz farelere nakil (ksenotransplant) edilir ve böylece farelerin kendi karaciğerlerinin %70'inden fazlasının insan hücreleri ile değiştirilmesi sağlanır. Böylece hayvan deneylerinde insan hepatositleri kullanarak türler arasındaki biyolojik farklılıklar azaltılabilir. Ancak, immün sistemi baskılanmış bu farelerde hepatotoksisteye karşı daha az duyarlılık gözlemlenmiştir. Bu durum, fizyolojik bağışıklık yanıtın, AKY modeli oluşturmakta önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (23).

Karaciğer Rejenerasyonu Çalışmalarında İn Vitro Yöntemler

Canlı hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların birçok avantajı olmasına rağmen insan karaciğerinin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini tam olarak yansıtmakta yetersiz kalabilmektedirler. Ayrıca, hayvanlar arasındaki genetik ve metabolik farklılıklar, araştırma sonuçlarının doğrudan insanlara uygulanabilirliğini kısıtlayabilir. Bu sınırlamaları aşmak için in vitro teknikler geliştirilmiştir. Bu teknikler, hücresel düzeyde spesifik sinyal yollarını daha doğru bir şekilde tanımlamaya ve insan biyolojisine daha uygun modeller geliştirmeye olanak tanır (24). Ancak, karaciğer dokusunun tamamının homojenize edilerek elde edilen hücresel veriler, yalnızca hepatositleri yansıtmaz. Çünkü bu yöntemle elde edilen doku örneği, hepatositlerin yanı sıra karaciğer kök hücreleri, Kupffer hücreleri, kolanjiositler ve sinüzoidal endotelial hücreler gibi diğer hücre türlerini de içerir. Bu durumdan kaçınabilmek için,

fare, sıçan veya insan karaciğer dokularındaki hepatositlerin izole edilerek kültüre edilmesi gerekmektedir. İlk olarak 1970'lerin başında uygulanmaya başlanan bu teknikle elde edilen hücre kültürlerine "primer kültürler" adı verilir. Primer kültürlere hücrelerin büyüme faktörleri veya diğer uyarıcılarla uyarılmasıyla sekonder kültürler elde edilir. Sekonder kültürler, genetik modifikasyonlar veya diğer teknikler kullanılarak daha uzun süre canlılığını koruyacak şekilde tasarlanabilme özelliğine sahiptir. Sekonder kültürler, hücrelerin geniş çapta karakterize edilmesine ve çeşitli biyolojik süreçlerin daha detaylı incelenmesine olanak tanır. Örneğin, uzun süreli izlem ve deneyler için kullanılabilir ve farklı koşullar altında hücresel yanıtların incelenmesine imkan sağlar. Bu nedenle, sekonder kültürler karaciğer rejenerasyonu, toksisite testleri ve ilaç tarama çalışmaları gibi birçok biyomedikal araştırma alanında yaygın olarak kullanılmaktadır (25).

Karaciğer Rejenerasyonunda Sinyal Mekanizmaları

Karaciğer rejenerasyonu, çeşitli mekanizmalarla sıkı bir şekilde kontrol edilen bir süreç olduğundan, bu sürecin iyi anlaşılması ve gelecekteki tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşır. Karaciğerin rejenerasyonunu başlatan veya durduran ve fizyolojik olarak organizmanın ihtiyaçlarını karşılayacak yeterli karaciğer kütesinin büyüklüğünü belirleyen tüm sinyal moleküllerine "hepatostat" denir (26).

Hepatostatlar hakkında yapılan çalışmaların öncülerinden biri, LaBrecque ve Pesch tarafından 1975 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, anne sütünden yeni kesilmiş sıçanlardan alınan karaciğer dokusundan bir ekstrakt elde edilmiştir. Bu ekstrakta "hepatik stimülatör madde" (HSS) adı verilmiştir. HSS'nin PH yapılan sıçanlara uygulandığında karaciğer rejenerasyonunun stimüle olduğu gösterilmiştir (27). Yapılan daha ileri araştırmalar, karaciğer rejenerasyonunu stimüle eden molekülün tanımlanarak HSS'den izole edilmesine yönelik olmuştur (28). Yapılan ileri çalışmaların sonucunda sıçanlarda %40 PH sonrası karaciğer rejenerasyonunun hızlanmasını sağlayan protein başarıyla izole edilmiştir ve karaciğer rejenerasyonunu hızlandıran protein (ALR) olarak adlandırılmıştır (29).

Karaciğer rejenerasyonunu hızlandırmaya yönelik yapılan güncel araştırma konularından bir diğeri de kemik iliği kök hücre transplantasyonu yöntemidir. Köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada kemik iliği aspirasyonu ile kemik iliği kökenli mezensefmal kök hücreler elde edilip kültüre edilerek çoğaltılmıştır. Daha sonra bu kök hücreler CCl₄ ile karaciğer fibrozisi geliştirilmiş köpeklere periferik venöz infüzyon ve hepatik arter infüzyonu yoluyla otolog olarak verilmiştir. Bu araştırmanın sonucunda otolog kemik iliği hücre infüzyonunun karaciğer fibrozisi üzerindeki güvenli terapötik etkinliği tespit edilmiştir (30).

Karaciğer rejenerasyonunda hepatosit proliferasyonunun kritik bir rolü olmasından dolayı hepatosit aracılı karaciğer rejenerasyonunun sinyalizasyon mekanizmalarını incelemek üzere PH

modeli kullanılarak araştırmalar yapılmaktadır (31). Bu çalışmaların sonuçlarına göre PH'yi takip eden dakikalarda, hepatositler G0 fazından çıkmaya başlamakta ve hücre döngüsünün başlamasıyla birlikte gen ekspresyonunda önemli değişiklikler meydana gelmektedir (32, 33). Hepatositleri ilk uyarıcı mitojenik faktör ekstraselüler matrikste bulunan hepatosit büyüme faktörüdür (HGF). PH'yi takip eden birkaç dakika içinde, matriks metalloproteinaz kaskadının aktive edilmesine yol açan ürokinaz aktivitesinde hızlı bir artış görülür (31). Bu durum, ekstraselüler matrikste azalmaya yol açarak mezenkimal kök hücrelerin HGF üretimini stimüle eder. Hepatik kök hücreler ve karaciğer sinüzoidal endotelial hücreler de PH'yi takiben 36 saat içinde, HGF'nin öncüsü olan novo-HGF'yi üretirek HGF seviyelerini yüksek tutarlar. HGF ve epitelial büyüme faktörü (EGF) gibi diğer büyüme faktörleri, inflamatuvar sitokinler, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6), karaciğer rejenerasyonunda önemli roller üstlenirler (16, 34). Bu bağlamda TNF- α ve IL-6 sitokinlerini ekspresyon eden Kupffer hücreleri karaciğer rejenerasyonunda kritik öneme sahiptir (35, 36).

TNF- α , hücre yüzeyindeki TNF- α reseptörleri aracılığıyla hücrelerarası sinyal yollarını aktive ederek nükleer faktör kappa B (NF- κ B)'nin aktive olmasına yol açar. TNF- α reseptör 1 mutasyonu olan farelerde NF- κ B aktivasyonu düşük seviyededir ve bu farelerde rejeneratif yanıt geç görülmektedir (37). Bu durum, NF- κ B'nin IL-6 üretimini stimüle eden fonksiyonu ile ilişkilidir. Dolayısıyla, TNF- α reseptör 1 mutasyonu olan farelerde IL-6 üretimindeki eksiklik, hepatosit proliferasyonunun bozulmasına ve rejenerasyonun gecikmesine yol açmaktadır. IL-6 fazla ekspresyon olduğu durumlarda ise karaciğer rejenerasyonunun hızlandığı gösterilmiştir (38).

Karaciğer rejenerasyonunda diğer bir anahtar sinyal yolağı β -catenin sinyal yolağıdır. β -catenin sinyal yolağı aktive olduğunda hücre döngüsünde G1 fazında olan hepatositler S fazına geçerler. Farelerde yapılan bir çalışmada β -catenin üretiminde bir azalma mevcutsa PH sonrası 40. saatte hepatositlerin kontrol grubuna göre yalnızca yarısının S fazına ilerlediği tespit edilmiştir. Böylece β -catenin eksikliğinin karaciğer rejenerasyonunda gecikmeye neden olduğu anlaşılmıştır. Bununla birlikte PH'den 72 saat sonra proliferasyon oranının normale döndüğü görülmüş böylelikle β -catenin çok önemli oluşunun yanı sıra hücre döngüsünü kontrol eden tek sinyal molekülü olmadığı sonucuna varılmıştır (6, 39-41).

Hepatosit proliferasyonuna etki eden bir diğer sinyalizasyon mekanizması Notch sinyalizasyon yolağıdır. Notch sinyalizasyonu hepatositlerin erken dönem proliferasyonunda rol oynamaktadır. Bu mekanizmada Notch1'in yokluğu veya Jagged-1'in (ligand) yokluğu karaciğer rejenerasyonunun gecikmesine neden olmaktadır (42).

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda safra asidinin, karaciğer rejenerasyonunda önemli sinyal düzenleyicilerinden biri olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmalarda yapılan PH sonrası, rezidüel hepatositler yüksek safra asidi seviyelerine maruz kalmaktadırlar.

Artan safra asidi konsantrasyonu farnesoid X reseptörünün (FXR) aktivasyonuna yol açar. Bu aktivasyon, safra asidi sentezini inhibe eder ve FOXM1B geninin ekspresyonunu uyarır. FOXM1B, DNA sentezini ve mitozu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür ve hücrelerin G1 fazından S fazına geçişi için gerekli olan siklin-bağımlı kinaz 2'yi (CDK2) ve S fazından M fazına geçişinden sorumlu olan CDK1'i aktive eder ve HGF aracılığıyla hepatositleri proliferasyona indükler (43, 44). FXR geni susturulmuş farelerde ise PH sonrası veya CCl₄ intoksikasyonu sonrası karaciğer rejenerasyonunda gecikme olduğu gösterilmiştir (45, 46). Böylece FXR'nin hepatik safra asidi seviyelerinden organın fonksiyonel kapasitesine ulaşımını engelleyerek karaciğerin büyüklüğünü düzenlediği anlaşılmıştır. Ayrıca hepatositlerde bulunmayan fakat kolanjiositlerin ve Kupffer hücrelerinin hücre yüzeyinde bulunan safra asidi reseptörü (TGR5), PH sonrası yüksek safra asidi konsantrasyonunu belirleme fonksiyonu nedeniyle rejenerasyon sürecinin ilerlemesinde önemli bir rol üstlenmektedir (47, 48). Sonuç olarak, safra asitlerinin karaciğer rejenerasyonu için hayati öneme sahip olduğu ve konsantrasyonlarındaki değişiklikler (çok yüksek, çok düşük veya çok hidrofobik olması) karaciğer rejenerasyonunu olumsuz etkilediği anlaşılmıştır. Başka bir deyişle, safra asitlerinin hem rejeneratif hem de toksik etkileri nedeniyle, safra asidi homeostazisi karaciğer rejenerasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (43).

Kemirgenlerde, PH sonrasında karaciğer dokusundaki kütle artışının sadece hücre proliferasyonundan kaynaklanmadığını, aynı zamanda hücre hipertrofinin de bu süreçte önemli bir rol oynadığını vurgulamak gerekir (49, 50). PH sonrası karaciğer rejenerasyonunda yeni doku oluşumu hem hepatosit proliferasyonu hem de hepatosit hipertrofi ile sağlanır. Karaciğerdeki hepatositlerin %30'dan fazlası poliploiddir, yani iki veya daha fazla çekirdek içerir. PH sonrası hepatositlerde görülen poliploidinin nedeni, rejenerasyon sürecinde birçok hepatositin mitoz bölünmeye başlamasına rağmen, hepsinin hücre bölünmesini (sitokinez) tamamlamamasıdır. Bu durum, genişlemiş çekirdekleri olan hipertrofik poliploidik hepatositlerin oluşmasına yol açmaktadır (4).

Karaciğer rejenerasyonu sırasında karaciğer eski kütlelerine ulaştıktan sonra hepatositler hala proliferasyona devam ederse kanser gelişebilir. Bu nedenle, hepatositlerin anormal çoğalmasını engellemek için karaciğer rejenerasyonu sürecinde bir sonlanma fazı olmalıdır. Bu aşamada PH sonrası hücre proliferasyonu ile karaciğer/vücut kütle oranı %2.5'a ulaşır ve çeşitli sinyal yolları aktifleşerek rejenerasyonun hızı yavaşlatılır (51). Karaciğerin fonksiyonel kapasiteye ulaştığını gösteren işaretlerden biri, normal hepatik safra asidi seviyelerine ulaşılmasıdır. Normal hepatik safra asidi düzeyi rejenerasyon sürecini durduran mekanizmalardan biridir. Ayrıca, ekstraselüler matriksten gelen sinyaller de rejenerasyon sürecinin sonlanmasını düzenler (44, 52).

Karaciğer rejenerasyonunun sonlanma fazında işlev gören ekstraselüler matriksten gelen sinyal moleküllerinden biri membran ilişkili bir heparan sülfat proteoglikanı olan Glypican-3'tür (GPC3). GPC3, sağlıklı

karaciğerde ya tespit edilemeyecek kadar az eksprese edilir ya da hiç eksprese edilmez (53). İnsan hepatoselüler karsinomasında ise ekspresyonu aşırı arttığı için insan karaciğer kanserinde klinik bir belirteç olarak kullanılır. GPC3'ün hepatoselüler karsinoma hücreleri tarafından yüksek düzeyde üretilmesine rağmen, aslında bir proliferasyon inhibitörü olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Hepatositlerin proliferasyonu sırasında eksprese olmaya başlayan GPC3 karaciğerin fizyolojik büyümesi tamamlandığında hepatosit proliferasyonunun durdurulmasına katkıda bulunan bir geri kontrol mekanizması olarak görev yapar. Ancak, hepatoselüler karsinoma hücrelerinin bu proliferasyonu baskılayan mekanizmaya yanıt veremediği dolayısıyla proliferasyona devam ettikleri öne sürülmektedir (2). Ayrıca, GPC3'ün işlev kaybının gözlemlendiği fare modellerinde de benzer semptomlar ortaya çıkmış ve GPC3 eksikliği olan farelerde hepatomegali gözlenmiştir (54).

Sonlanma fazında işlev gören başka bir sinyal yolağı ise Hippo sinyal yolağıdır. Etkörü olan Yes-ilişkili protein (YAP) aracılığıyla Hippo yolağının aktivasyonu proliferasyon ve organ büyüklüğü de dahil olmak üzere hücrenel birçok süreç ile ilişkilidir. Hippo sinyalizasyonunun mekanizmasında bir değişiklik olduğunda hepatositlerde artmış proliferasyon ile karakterize hepatomegali gelişir (55). Örneğin, Hippo sinyal yolağında bulunan Mst1/2 genindeki delesyon veya Mst1/2'nin farmasötik inhibisyonu durdurulamayan hepatositik proliferasyon nedeniyle gelişen hepatomegaliyle sonuçlanır (2,56).

Hepatosit proliferasyonu inhibisyonunda güçlü işlevi olan moleküllerden biri de TGF-β'dir. Karaciğer rejenerasyon sürecinde TGF-β, ilk beş saat içinde HGF ve EGF sinyallerine yanıt olarak Ito hücreleri ve makrofajlar tarafından salınmaya başlar. TGF-β, ekstraselüler matriks (ECM) proteinlerinden biri olan decorine, periportal alandan santral alana doğru bağlanarak hücre çoğalmasını inhibe eder (57).

TGF-β ayrıca, PAI-1 ekspresyonunu artırarak DNA sentezini baskılar ve rejenerasyon sürecinde tübülogenez ve yeni damar oluşumunu tetikleyerek vasküler ağ gelişimini destekler. Karaciğer rejenerasyonu tamamlandıktan sonra yeni ECM oluşumu başlar ve TGF-β ekspresyonu, kısmi hepatektomiden sonraki üçüncü gün (72 saat) en yüksek seviyeye ulaşarak sinüzoidal kapiller ağın oluşumuna katkı sağlar. Ayrıca TGF-β1 stromal hücreleri etkileyerek kolajen ve diğer ekstraselüler matrikslerin sentezini aktive eder. TGF-β hepatositlerin proliferasyonun baskılanmasında aktinin A ile birlikte çalışır (58-60).

SONUÇ

Çok uzun yıllar boyunca karaciğer rejenerasyonu üzerine yapılan çok çeşitli çalışmalara rağmen günümüzde dünya genelinde hala sayısız kişi son evre kronik karaciğer hastalıklarından mustarıdır ve son evre karaciğer yetersizliği hastalıklarında organ transplantasyonu maalesef hala tek tedavi seçeneğidir. Karaciğer rejenerasyonunun yetersiz kaldığı bu hastalıklarda, rejenerasyon sürecini tetikleyen faktörlerin, süreci durduran veya aksatan sebeplerin ve süreci daha güçlü ve etkin bir şekilde başlatılması için gerekli tüm mekanizmaların ortaya çıkarılması ve bu karmaşık süreçte rol alan tüm etkenlerin açığa kavuşturulması organ naklini tek seçenek olmaktan çıkarılabilir ve yeni tedaviler oluşturmak için fikir verebilir. Karaciğer rejenerasyonunu etkileyen çok çeşitli faktörler ve çok çeşitli sinyal yollarının oluşu, tam olarak tüm mekanizmaların anlaşılammış olmasında büyük rol oynamaktadır. Karaciğer transplantasyonu, karaciğer yetmezliği ve son evre karaciğer hastalıkları gibi hayatı tehdit eden durumlar araştırmacıların karaciğer rejenerasyonu üzerindeki ilgisini canlı tutmaktadır. Gelecekte, yeni teknolojiler ve literatüre katılan her yeni bilginin ışığında yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulmasında ümit verici gelişmeler olması beklenmektedir.

Kaynaklar

1. Reuben A. Prometheus and Pandora--together again. *Hepatology* 2004; 39(5):1460-1463.
2. Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: Critical analysis of mechanistic dilemmas. *American Journal of Pathology* 2010; 176(1): 2-13.
3. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43(2): 45-53.
4. Mao SA, Glorioso JM, Nyberg SL. Liver regeneration. *Transl Res.* 2014 Apr;163(4):352-62.
5. Manco R, Leclercq IA, Clerbaux LA. Liver regeneration: Different sub-populations of parenchymal cells at play choreographed by an injury-specific microenvironment. *Int J Mol Sci* 2018; 19(12): 4115.
6. Huang R, Zhang X, Gracia-Sancho J, Xie WF. Liver regeneration: Cellular origin and molecular mechanisms. *Liver Int* 2022; 42(7): 1486-1495.
7. BioRender. 2024. Created with <https://www.biorender.com/>
8. Yagi S, Hirata M, Miyachi Y, Uemoto S. Liver regeneration after hepatectomy and partial liver transplantation. *Int J Mol Sci* 2020; 21(21): 8414.
9. Schaub JR, Malato Y, Gormond C, Willenbring H. Evidence against a stem cell origin of new hepatocytes in a common mouse model of chronic liver injury. *Cell Rep* 2014; 8(4): 933-939.
10. Yanger K, Knigin D, Zong Y, Maggs L, et al. Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation. *Cell Stem Cell* 2014; 15(3): 340-349.
11. Michalopoulos GK. Hepatostat: Liver regeneration and normal liver tissue maintenance. *Hepatology* 2017; 65(4): 1384-1392.
12. Montano-Loza AJ, Rodríguez-Perálvarez ML, Pageaux GP, Sanchez-Fueyo A, Feng S. Liver transplantation immunology: Immunosuppression, rejection, and immunomodulation. *J Hepatol* 2023; 78(6): 1199-1215.

13. Berber B. The importance of mTOR signal pathway in liver regeneration. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal* 2017; 2(2): 68-73.
14. Göksoy B. Karaciğer Rezeksiyonu Sonrası Rejenerasyon Modelleri. *Akademisyen Kitabevi*. 2020; 553-560
15. Sakamoto T, Liu Z, Murase N, et al. Mitosis and apoptosis in the liver of interleukin-6-deficient mice after partial hepatectomy. *Hepatology* 1999; 29(2): 403-411.
16. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol* 2007; 213(2): 286-300.
17. Çolakoğlu N., Kükner, A. Prenatal gelişim sırasında yüksek doz a vitamininin kalp'te transforming growth faktör beta -2 işaretlenmesi üzerine olan etkileri. *Fırat Tıp Dergisi* 2002; 7(2): 779-785.
18. Huang W, Han N, Du L, et al. A narrative review of liver regeneration—from models to molecular basis. *Ann Transl Med* 2021; 9(22): 1705-1705.
19. Alvarenga DM, Mattos MS, Lopes ME, et al. Paradoxical role of matrix metalloproteinases in liver injury and regeneration after sterile acute hepatic failure. *Cells* 2018; 7(12): 247.
20. Feng L, Cai L, He GL, et al. Novel D-galactosamine-induced cynomolgus monkey model of acute liver failure. *World J Gastroenterol* 2017; 23(42): 7572-1783.
21. Maezono K, Mawatari K, Kajiwara K, Shinkai A, Maki T. Effect of alanine on D-galactosamine-induced acute liver failure in rats. *Epatology* 1996; 24(5): 1211-1216.
22. Koblihová E, Mrázová I, Vernerová Z, Ryska M. Acute liver failure induced by thioacetamide: Selection of optimal dosage in wistar and lewis rats. *Physiol Res* 2014; 63(4): 491-503.
23. Hefler J, Marfil-Garza BA, Pawlick RL, et al. Preclinical models of acute liver failure: A comprehensive review. *Peer J* 2021; 9: e12579.
24. Block GD, Locker J, Bowen WC, et al. Population expansion, clonal growth, and specific differentiation patterns in primary cultures of hepatocytes induced by HGF/SF, EGF and TGF α in a chemically defined (HGM) medium. *J Cell Biol* 1996; 132(6): 1133-1149.
25. Yang H, Chen J, Li J. Isolation, culture, and delivery considerations for the use of mesenchymal stem cells in potential therapies for acute liver failure. *Front Immunol* 2023; 14: 1243220.
26. Michalopoulos GK, Bhushan B. Liver regeneration: Biological and pathological mechanisms and implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021; 18(1): 40-55.
27. Francavilla A, Ove P, Polimeno L, et al. Extraction and partial purification of a Hepatic stimulatory substance in rats, mice, and dogs. *Cancer Res* 1987; 47(21): 5600-5605.
28. Labrecque DR. Hepatic stimulator substance discovery, characteristics and mechanism of action. *Dig Dis Sci* 1991; 36(5): 669-673.
29. Hagiya M, Francavillatt A, Polimenott L, et al. Cloning and sequence analysis of the rat augments of liver regeneration (ALR) gene: Expression of biologically active recombinant ALR and demonstration of tissue distribution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(17): 8142-8146.
30. Matsuda T, Takami T, Sasaki R, et al. A Canine liver fibrosis model to develop a therapy for liver cirrhosis using cultured bone marrow-derived cells. *Hepatol Commun* 2017; 1(7): 691-703.
31. Michalopoulos GK, DeFrances M. Liver regeneration. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2005;93:101-34.
32. Tsubouchi H. Recent progress in research for hepatocyte growth factor. *Gan To Kagaku Ryoho* 1991; 18(15): 2495-2503.
33. Fausto N. Messenger RNA in regenerating liver: Implications for the understanding of regulated growth. *Mol Cell Biochem* 1984; 59(1-2): 131-147.
34. Wang L, Wang X, Xie G, et al. Liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells promote liver regeneration in rats. *Journal of Clinical Investigation* 2012; 122(4): 1567-1573.
35. Takeishi T, Hirano K, Kobayashi T, et al. The role of Kupffer cells in liver regeneration. *Arch Histol Cytol* 1999; 5: 413-422.
36. Akbari, M., Kocaay, A. F., Akyol, C., Çelik, S. U., Genç, ve ark. (2014). Omega 3 yağ asidinin karaciğer rejenerasyonuna olan etkisi Ratlarda deneysel çalışma . 19. Ulusal Cerrahi Kongresi, Turkey.
37. Yamada Y, Fausto N. Deficient liver regeneration after carbon tetrachloride injury in mice lacking type 1 but not type 2 tumor necrosis factor receptor. *Am J Pathol* 1998; 152(6): 1577-1589.
38. Galun E, Zeira E, Pappo O, Peters M, Rose-John S. Liver regeneration induced by a designer human IL-6/ sIL-6R fusion protein reverses severe hepatocellular injury. *The FASEB Journal* 2000; 14(13): 1979-1987.
39. Tan X, Behari J, Cieply B, Michalopoulos GK, Monga SPS. Conditional deletion of β -catenin reveals its role in liver growth and regeneration. *Gastroenterology* 2006; 131(5): 1561-1572.
40. Monga SPS, Padiaditakis P, Mule K, Beer Stolz D, Michalopoulos GK. Changes in Wnt/ β -catenin pathway during regulated growth in rat liver regeneration. *Hepatology* 2001; 33(5): 1098-1109.
41. Sekine S, Lan BYA, Bedolli M, Feng S, Hebrok M. Liver-specific loss of β -catenin blocks glutamine synthesis pathway activity and cytochrome P450 expression in mice. *Hepatology* 2006; 43(4): 817-825.
42. Croquelois A, Blindenbacher A, Terracciano L, et al. Inducible inactivation of Notch1 causes nodular regenerative hyperplasia in mice. *Hepatology* 2005 ;41(3): 487-496.
43. Liu Q, Wang S, Fu J, et al. Liver regeneration after injury: Mechanisms, cellular interactions and therapeutic innovations. *Clin Transl Med* 2024; 14(8): e1812.
44. Kiseleva YV, Antonyan SZ, Zharikova TS, et al. Molecular pathways of liver regeneration: A comprehensive review. *World J Hepatol* 2021; 13(3): 270-290.
45. Hayashi H, Nagaki M, Imose M, et al. Normal liver regeneration and liver cell apoptosis after partial hepatectomy in tumor necrosis factor- α -deficient mice. *Liver International* 2005; 25(1): 162-170.
46. Cornell RP, Liljequist BL, Bartizal KF. Depressed liver regeneration after partial hepatectomy of germ-free, athymic and lipopolysaccharide-resistant mice. *Hepatology* 1990; 11(6): 916-922.

47. Campbell JS, Riehle KJ, Brooling JT, et al. Proinflammatory cytokine production in liver regeneration is myd88-dependent, but independent of Cd14, Tlr2, and Tlr4 1. *J Immunol* 2006; 176(4): 2522-2528.
48. Vaquero J, Campbell JS, Haque J, et al. Toll-like receptor 4 and myeloid differentiation factor 88 provide mechanistic insights into the cause and effects of interleukin-6 activation in mouse liver regeneration. *Hepatology* 2011; 54(2): 597-608.
49. Nakamura K, Nonaka H, Saito H, Tanaka M, Miyajima A. Hepatocyte proliferation and tissue remodeling is impaired after liver injury in oncostatin M receptor knockout mice. *Hepatology* 2004; 39(3): 635-644.
50. Li W, Liang X, Kellendonk C, Poli V, Taub R. STAT3 contributes to the mitogenic response of hepatocytes during liver regeneration. *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277(32): 28411-28417.
51. Zhang C, Sun C, Zhao Y, Ye B, Yu GY. Signaling pathways of liver regeneration: Biological mechanisms and implications. *iScience*. 2023 Dec 7;27(1):108683.
52. Hora S, Wuestefeld T. Liver injury and regeneration: current understanding, new approaches, and future perspectives. *Cells* 2023; 12(17): 2129.
53. Zheng X, Liu X, Lei Y, Wang G, Liu M. Glypican-3: A novel and promising target for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Front Oncol* 2022; 12: 824208.
54. Cano-Gauci DF, Song HH, Yang H, et al. Glypican-3-deficient mice exhibit developmental overgrowth and some of the abnormalities typical of simpson-golabi-behmel syndrome. *J Cell Biol* 1999; 146(1): 255-264.
55. Lu L, Li Y, Kim SM, et al. Hippo signaling is a potent in vivo growth and tumor suppressor pathway in the mammalian liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(4): 1437-1442.
56. Russell JO, Camargo FD. Hippo signalling in the liver: Role in development, regeneration and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2022; 19(5): 297-312.
57. Özmen A, Sıçanlarda Karaciğer Rejenerasyonunda Ubiquitin Sinyal Yolağının Rolü. Doktora Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.
58. Oe S, Lemmer ER, Conner EA, et al. Intact signaling by transforming growth factor β is not required for termination of liver regeneration in mice. *Hepatology* 2004; 40(5): 1098-1105.
59. Deng J, Teng J, Xiao T, Wen J, Meng W. MAD1 deficiency accelerates hepatocellular proliferation via suppressing TGF- β signaling. *Heliyon*. 2024 May 15;10(10):e31312.
60. Valizadeh A, Majidinia M, Samadi-Kafil H, Yousefi M, Yousefi B. The roles of signaling pathways in liver repair and regeneration. *J Cell Physiol* 2019; 234(9): 14966-14974.