

**T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINDA ERDOSTEİN'İN ETKİSİ**

Dr. Sait TAYFUN

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Kemal KARAKAYA**

ZONGULDAK

2014

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Deneysel Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Erdosteine'in Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Sait TAYFUN

Tez Savunma Tarihi: 25/04/2014

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Kemal KARAKAYA

Doç. Dr. Ali Uğur EMRE
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Hamdi Bülent UÇAN
Üye

Doç. Dr. Kemal KARAKAYA
Üye

UYGUNDUR
15/07/2014

Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan Vekili



ÖNSÖZ

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimim süresince, eğitimimde büyük katkı ve emekleri olan, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm sayın hocalarım; Prof. Dr. Mustafa Cömert, Doç. Dr. Hamdi Bülent Uçan, Doç. Dr. Öge Taşçılar, Doç. Dr. Ali Uğur Emre, Doç. Dr. Güldeniz Karadeniz Çakmak, Doç. Dr. Kemal Karakaya, Doç. Dr. Fatma Ayça Gültekin ve tıp eğitimimin temellerini aldığım Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki hocalarıma teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında gerekli olan bütün maddi ve manevi desteği sağlayan BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ Bilimsel Araştırma Proje bölümü'ne, 2011-20-00-12 no'lu bitirme tezi projeme verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki desteklerinden ötürü Patoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Nilüfer Onak Kandemir, Biyokimya Anabilim Dalından Doç. Dr. Murat Can ve Biyoistatistik Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Fürüzan Köktürk'e şükranlarımı sunarım.

Ayrıca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Dr. Metin Varlı, Dr. Selçuk Özkan, Dr. Ali Gençoğlu ile genel cerrahi yoğun bakım, ameliyathane ve servis hemşire ve personeline asistanlığım süresince göstermiş oldukları anlayış ve hoşgörülerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli aileme, canımdan çok sevdiğim kızım Hazal ve hayat arkadaşım Banu Tayfun'a sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Sait TAYFUN
Zonguldak, 2014

ÖZET

Sait Tayfun "Deneysel Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Erdosteine'in Etkisi" Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2014.

Karaciğer iskemî-repefüzyon hasarı klinikte; travma, hemorajik şok, karaciğer cerrahisi, transplantasyon gibi bir çok durumda karşımıza çıkmaktadır. Bu hasarın oluşumundan sorumlu mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

İskemî reperfüzyon hasarını (IRH) önlemek için iskemik önkoşullama gibi bazı yöntemler ve pek çok farmakolojik ajan kullanılmıştır. Ancak henüz IRH tam olarak önlenememiştir.

Antiaoksidan, antienflamatuar etkili erdosteinein'in farklı iskemî reperfüzyon hasarı modellerinde koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada deneysel olarak erdosteine'in karaciğer iskemî reperfüzyon hasarı (HIRH) üzerine etkinliği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem:

Bu deney 8 rat içeren 3 grupta uygulandı.

Grup 1 (sham) :Sadece laparotomi yapıldı.

Grup 2 (HIRH) :Rat karaciğerinin sol ve median lobuna giden hepatik arter ve portal ven non- travmatik damar klempiyle 60 dakika süreyle klemplenerek %70 hepatik (Segment 2-5) iskemî oluşturulup, daha sonra vasküler okluzyon ortadan kaldırılarak 60 dakika reperfüzyon sağlandı.

Grup 3 (ERD):Ardışık 3 gün 100mg/kg/gün Erdosteine gavaj şeklinde verildikten sonra aynı şekilde iskemî ve reperfüzyon sağlandı.

Deney protokolü sonunda tüm ratlar kurban edildi. Alınan kan ve karaciğer dokusundan biyokimyasal patolojik değerlendirme yapıldı.

Karaciğer dokusu ve kan örnekleri alındı. Alınan örneklerden ALT, AST, Ürik asit bakıldı. Total antioksidan kapasite (TAC), ve Malondialdehid (MDA), seviyesi ölçüldü.

Yapılan biyokimyasal değerlendirmede Erdosteine verilen grupta doku TAC seviyesinin diğer iki gruptan anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. ALT, AST, GGT, doku MDA seviyeleri ve patolojik analizde lökosit infiltrasyonu, apoptoz, iskemik koagulatif nekroz açısından Erdosteine grubu ile HIRH grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı.

Erdosteine verilmesinin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırdığımız bu çalışmada; serum transaminazları, TAC, MDA ve histopatolojik parametreler değerlendirildiğinde erdosteine karaciğer iskemi reperfüzyon hasarını önlemede kısmen katkısı olsa da farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. Erdosteine karaciğer IRH 'nı önlemede etkisinin daha geniş örneklem grubunda sınanması uygun olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Erdosteine, İskemi, Reperfüzyon, Karaciğer, Hasar

*Bu Çalışma BEUN BAP tarafından desteklenmiştir. (Bilimsel Araştırma Proje No: 2011-20-00-12)

ABSTRACT

“Effects of erdosteine on hepatic is chemia-reperfusion injury” Bulent Ecevit University, Department of General Surgery, Zonguldak, 2014.

Ischemia – reperfusion injury of the liver may be seen in various clinical conditions such as trauma, hemorrhagic shock, liver operations and transplantation. The mechanism of this injury hasn't yet been clearly explained.

Many different pharmacologic agents and methods like hepatic ischemic preconditioning are used in order to prevent ischemia reperfusion injury (IRI). However IRI still can't be precisely prevented.

There are reports that antioxidant and antiinflammatory erdostein has protective effects in different ischemia reperfusion injury models.

In this study erdostein's effects on liver ischemia reperfusion injury (HIRI) are investigated.

Materials and Methods;

3 groups of 8 rats in each are studied.

Group 1 (Sham): only laparotomy is performed.

Group 2 (HIRH): hepatic artery and portal vein which supply blood to rat's left and median liver lobes (segments 2-5) are clamped with non – traumatic vascular clamp for 60 minutes in order to create %70 hepatic ischemia. After 60 minutes, the clamp has been removed and reperfusion is maintained for 60 minutes.

Group 3 (ERD): 100 mg/kg/day dose of erdostein given by gavage for 3 days before the ischemia and reperfusion injury with vascular clamping.

Blood and liver tissue samples were taken for biochemical and pathologic evaluation. After the experimental protocol, all rats were sacrificed.

Liver tissue and blood samples were taken. ALT, AST, Uric Acid levels were studied.. We also measured Total Antioxidant Capacity (TAC) and Malondialdehyde (MDA) levels.

In biochemical evaluation, we found that TAC levels were significantly lower in group 3 compared to group 1 and 2. ALT, AST, GGT, tissue MDA levels and in pathologic analyses; leukocyte infiltration, apoptosis, ischemic coagulative necrosis didnt differ between HIRH (Group 2) and Erdosteine (Group 3) groups.

In this study where we investigated Erdosteine's role on liver's ischemia reperfusion injury; we found that serum transaminases, TAC, MDA and histopathologic parameters are partially improved with Erdosteine in liver ischemia reperfusion damage but the difference wasn't statistically significant. This study shows that Erdosteine has partial protective effects in HIRI, but further studies in larger group trials are needed.

Keywords: Erdosteine, Ischemia, Reperfusion, Liver, Injury.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGRELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİL DİZİNİ	xii
RESİM DİZİNİ	xiii
TABLO DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEMEL BİLGİLER	2
2.1. Karaciğer	2
2.1.1. İnsan karaciğer'inin anatomisi	3
2.1.2. Karaciğer fizyolojisi	6
2.2. İskemi	7
2.3. Reperfüzyon	8
2.3.1. Serbest radikaller	11
2.3.2. Polimorf nüveli lökositler (PMNL)	14
2.3.3. Kompleman sistemi	19
2.3.4. Endotel hücresinin rolü	20
2.4. Antioksidanlar	21
2.4.1. Endojen antioksidanlar	22
2.4.2. Eksojen antioksidanlar	22
2.5. Erdosteine	23
2.5.1. Erdosteine'in farmakolojik özellikleri	23
2.5.2. Erdosteine'in emilimi	24
2.5.3. Erdosteine'in dağılımı ve metabolizması	24
2.5.4. Erdosteine'in atılımı	24
2.5.5. Erdosteine'in kullanım alanları	24
3. MATERYAL METOD	25
4. BULGULAR	29

4.1. Histopatolojik Bulgular	29
4.1.1. Sham grubu	29
4.1.2. İskemi-reperfüzyon (kontrol) grubu	29
4.1.3. Erdosteine grubu	29
4.2. Histopatolojik Sonuç	32
4.3. İstatistiksel Analiz	32
4.3.1. İstatistiksel bulgular	33
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ	40
7. KAYNAKLAR	41
8. EKLER	51
Ek 1. Etik Kurul Onayı	51

SİMGRELER VE KISALTMALAR

ALT	: Alanin Aminotransferaz
AMP	: Adenozin Monofosfat
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
CO ₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ET	: Endotelin
GGT	: Glutamil Transferaz: Gama
GST	: Glutasyon S-Transferaz
GSHPx	: Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HIRH	: Hepatik İskemi Reperfüzyon Hasarı
İ/R	: İskemi/Reperfüzyon
IL-1	: İnterleukin 1
IL-6	: İnterleukin 6
ICAM-1	: İnterselüler Adhezyon Molekülü
KAT	: Katalaz
KDH	: Ksantin Dehidrojenaz
KO	: Ksantin Oksidaz
LT-B4	: Lökotrien B4

MCP	: Monosit Kemoatraktan Protein
MDA	: Malondialdehid
MIP	: Makrofaj İnflamatuvar Protein
MODS	: Çoklu Organ Yetmezliği
NAD ⁺	: Nikotinamid Adenin Dinükleotidin Okside Formu
NF- κ B	: Nükleer Transkripsiyon Faktörleri
NO	: Nitrik Oksit
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit Radikali
OH ⁻	: Hidroksil Radikali
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PECAM-1	: Trombosit-endotel Hücre Adhezyon Molekülü1
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökositler
PSGL-1	: P-Selektin Glikoprotein1
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü 1

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Hepatik ven ve portal ven akımına göre tasarlanmış karaciğerin sekiz segmentli anatomisi	5
2. Karaciğerin eksternal ve retroperitoneal bağlantı yerleri	5
3. Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu ve nitrik Oksit ile ilişkisi	12
4. Lökosit adhezyon moleküllerinin lökosit/endotel etkileşimindeki rolü ve Lökosit göçünün şematize edilmesi	15
5. İ/R hasarında yer alan olaylar dizisi	21

RESİM DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
1. Laparotomi.	26
2. Karaciğer sol ve median lobuna giden haptik arter ve portal ven.	26
3. Karaciğer sol ve median lobuna giden haptik arter ve portal venin askıya alınması.	27
4. Karaciğer median ve sol lopta oluşan iskemik alan.	27
5. Karaciğer median ve sol lopta oluşan iskemik alan	28
6. Endosteın grubu: Portal alanda nötrofil ve eozinofil lökositlerin baskın olduğu mikst tipte inflamatuvar hücreler görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X200). ..	30
7. Endosteın grubu: Hepatik parankimde perisellüler lokalizasyonda mikst tipte lökositik infiltrasyon odağı görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X200).	31
8. Endosteın grubu: Karaciğer parankiminde hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu yanı sıra nükleer piknoz ve sitoplazmik eozinofili ile karakterize orta derecede hepatik zedelenme bulguları görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X100).	31
9. Endosteın grubu: Santral ven çevresinde hepatosit kordonlarında bozulma, koagülatif nekroz ve belirgin sinüzoidal konjesyon ile karakterize ağır derecede hepatik zedelenme bulguları görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X100).	32

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. IRH ve Karaciğer hücre hasarı belirteçleri.....	34
2. Dokuda TAC ve MDA seviyeleri ölçümü.	35
3. Histopatolojik değerlendirme.....	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarı klinikte; travma, hemorajik şok, karaciğer cerrahisi, transplantasyon gibi bir çok durumda karşımıza çıkmaktadır(1). İskemi reperfüzyon hasarı oluşumundan sorumlu mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (2).

Karaciğer iskemi reperfüzyon harabiyeti; reaktif oksijen metabolitleri, kemokinler, sitokinler, savunma hücrelerinin aktivasyonu, nitrik oksit ve endotelin dengesinde bozulma gibi pek çok mediatörün rol aldığı enflamatuvar bir süreç sonucunda gerçekleşmektedir (3).

Oksijen desteğinin kesilmesi; ATP üretiminin azalmasına, mitokondrial değişikliklere, hücre membran fonksiyonlarının bozulması ve buna bağlı hücre için zararlı maddelerin birikmesine neden olmaktadır. Reperfüzyon sağlandığında tüm bu harabiyetin düzelmesi beklenirken, iskemi reperfüzyon hasarı büyük ölçüde reperfüzyon döneminde gerçekleşmektedir (4).

Bu çalışmada, farklı iskemi reperfüzyon hasarı modellerinde deneysel olarak koruyucu etkileri olduğu bulunan erdosteine'in karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkinliği araştırılmıştır.

2. TEMEL BİLGİLER

Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının gelişiminde iki önemli evre vardır. Birincisi iskemik evrede oksijen ve nutrient sağlanmasının kesilmesine bağlı ortaya çıkan hasar, ikincisi ise kanlanmanın tekrar tesisi durumunda ortaya çıkan hasardır. İskemik dokuya kan akımının tekrar başlaması daha şiddetli hasar oluşumuna neden olmaktadır. Reperfüzyon hasarı da kendi içinde iki önemli süreçte değerlendirilir. Reperfüzyonu takip eden yaklaşık 3-4 saatlik erken fazda serbest oksijen radikallerinin ve kompleman faktörlerinin üretimi, kupffer hücrelerinin aktivasyonu, lenfositlerin akumülasyonu göze çarpmaktadır(5).

Geç dönemde ise aktive nötrofillerin massif infiltrasyonu, serbest oksijen radikalleri ve proteazların açığa çıkması ön planda yer almaktadır. Bu dönemde polimorfo- nukleer lökosit birikiminde; TNF- α , İL-1, İL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve kompleman faktörlerinin açığa çıkmasının rolü vardır(5).

İskemi reperfüzyona bağlı harabiyeti önlemek için henüz standart bir tedavi modalitesi yoktur. Günümüzde halen araştırmalar devam etmektedir.

2.1. Karaciğer

Karaciğer organizmada belli koşullarda herhangi bir sekel bırakmadan kendini yenileyebilen tek organ olarak dikkat çekmektedir.

Domuz karaciğerinin şekli, pozisyonu, damarlanması ve histolojik görünümü insan karaciğerine çok benzemekle birlikte hayvan deneylerinde kullanımı daha kısıtlıdır (6). Deneysel çalışmalarda ucuz ve kolaylıkla temin edilebilmesi, hemen hemen her hayvan laboratuvarında üretilip bakılabilmesi nedeniyle çoğunlukla ratlar kullanılmaktadır

Deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan rat karaciğerinin histolojik yapısı insan karaciğerine benzemektedir (7). Ancak, ratlarda insandan farklı olarak safra kesesi bulunmamakta ve safra, koledok ile doğrudan barsağa dökülmektedir.

Ratlarda karaciğerin morfolojisi de insandan farklıdır. İnsanda sağ lob, soldan daha büyükken ratlarda her iki lobda yaklaşık olarak birbirine eşittir. Rat karaciğeri

multilobule yapıdadır. İnsan karaciğerinin kaudal yüzeyi konkav yapıda ve üzerinde basık alanlar içerirken bu yapı rat karaciğerinde görülmez. Rat karaciğeri, nispeten keskin kenarları olan loblardan oluşurken insan karaciğeri daha künt kenarlara sahiptir. Ratlarda karaciğer, toplam vücut ağırlığının yaklaşık %5'i kadarken, insanda bu oran %2.5 kadardır (8). Rat karaciğerine giden major damarların orijini ve seyri insanlardakine benzer. Rat çöliak trunkusu, insana kıyasla daha uzundur. Ratlarda kollateral arterial dolaşım (Hepatoesophageal arter) sıktır. İnsan karaciğeri Couinoud' un tarif ettiği şekilde (9,10) 8 seğmente bölünürken rat karaciğeri farklı otörler tarafından farklı bölümlere ayrılmıştır.

2.1.1. İnsan karaciğer'inin anatomisi

Karaciğer vucuttaki en büyük solid organdır ve yetişkinde yaklaşık 1,5 kg ağırlığındadır. Abdomenin sağ üst kadranında yer alır ve göğüs kafesi tarafından tamamıyla korunur. Normal yerleşimi dördüncü interkostal aralıkta meme başı hizasından midklaviküler çizgide kosta kenarına kadar uzanır. Glisson kapsülü denilen bir periton zarı tarafından tamamıyla sarılmıştır. Karaciğerin üst yüzü, sağ ve sol hemidiyafragma tarafından sarılmıştır. Alt yüzeyi ise mide, duodenum ve kolonla temas halindedir. Glisson kapsülü aynı zamanda portal triad yapılarını karaciğere girdiklerinde bir zar gibi sarar. Karaciğerin arka yüzü böbrek ve adrenal bez ile temas halindedir. Gros anatomik noktalar: falciform ligament ve ligamentum teres hepaticus'u (karaciğerin round ligamenti) içerir. Bu ligamentler sol lateral segmenti (segment II ve III) karaciğerin kalan kısmından ayırır (Şekil 1).

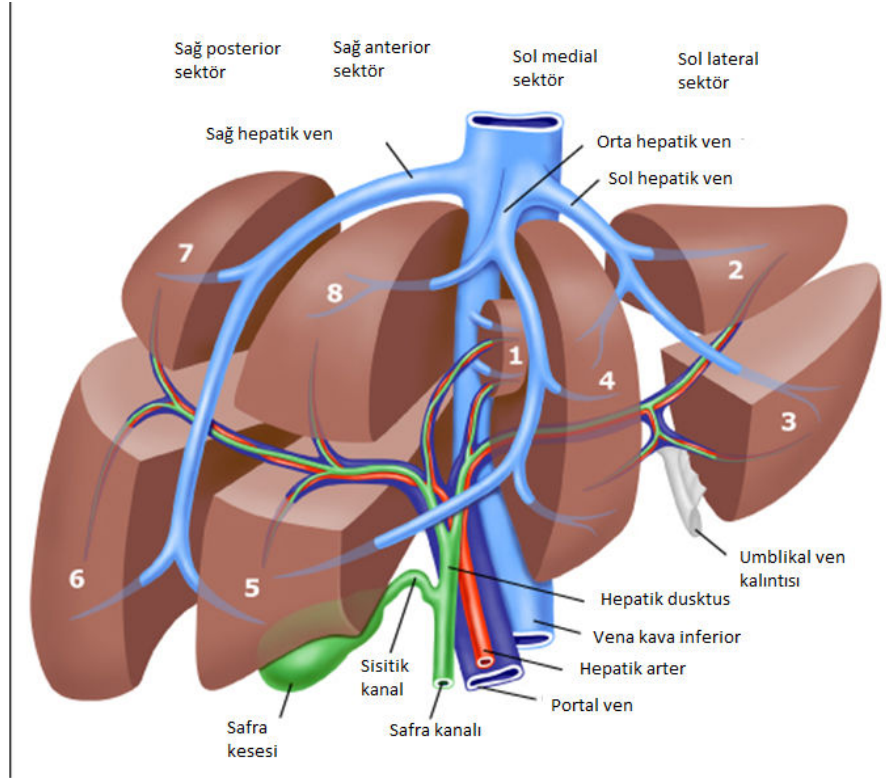
Round ligament; umbilikal ven kalıntısıdır ve sol portal venin intrahepatik yerleşim yeri için eksternal bir anatomik markerdir. Ligamentum venosum; duktus venosum'un kalıntısıdır ve intrahepatik portal venden vena kava'ya uzanır. Kaudat lop (segment I) ve sol lateral sektör arasındaki sınırı gösterir. Safra kesesi karaciğerin alt yüzeyinde yer alır. Sağ ve sol triangular ligamentler karaciğerin retroperitoneum'a tutunmasını sağlar (Şekil 2).

Gastrohepatik omentum içerisinden vagus'un hepatic dalları ve eğer varsa aksesuar ve replase sol hepatic arter geçer ve karaciğer alt yüzünü midenin küçük kurvaturuna bağlar (13).

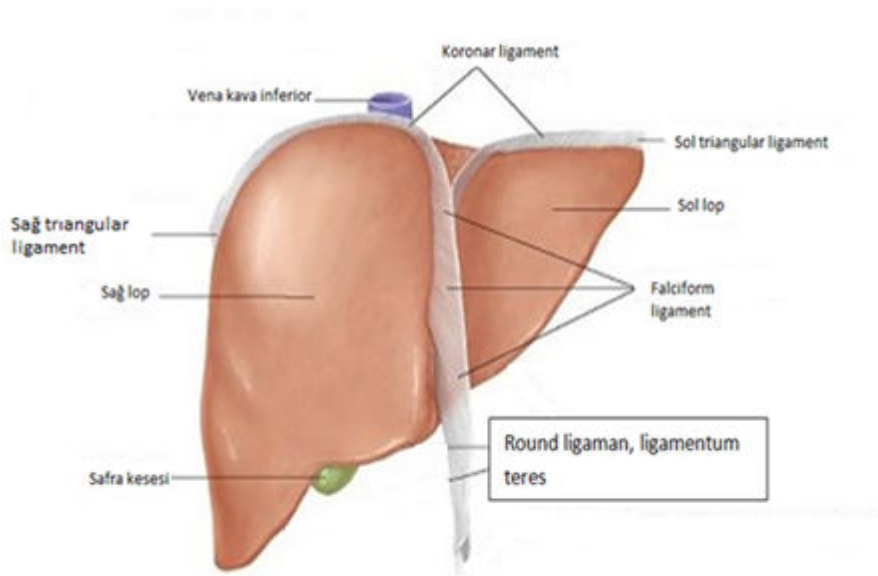
Karaciğer cerrahisindeki en önemli gelişmelerden biri karaciğerin segmental anatomisinin anlaşılmasıdır. Couinaud'un karaciğer için geliştirdiği segmental sistem (14) pratikte geniş kabul görmüştür. Karaciğer, longitudinal planlarda her bir hepatik ven boyunca vena kava'ya uzanan düzlemde ve transvers planda, ana portal ven bifurkasyonu karaciğeri sağ ve sol'a böler ve bu plan inferior vena kava'dan safra kesesi yatağının tepe noktasına uzanır. Sağda ve solda sekonder portal bifurkasyonlar karaciğeri 4 sektöre böler. Sağ tarafta anterior ve posterior sektörleri oluşturur ve bunlar sağ hepatik ven düzlemiyle birbirinden ayrılır. Sağ tarafta, tersiyer dallar her sektörden ikişerden toplan 4 segmenti besler. Sol da, sekonder bifurkasyon daha az simetriktir. Sol hepatik venin asendan dalı sol lobun medial sektörüne rekürren dallar verir (15).

Sol lateral sektör, iki segmenti besleyen ana dallarla beslenir (segment II ve III). Segment I (kaudat lop); hem sağ hemde sol portal pedikülden beslenir. Segment I'in safra yolları, sağ ve sol hepatik duktuslara drene olur.

Karaciğer, orta hepatik ven düzleminde ikiye bölünür ve ana portal venin primer dallarıyla beslenir. Karaciğerin sektörleri, sağ ve sol hepatik venlerce bölünür ve her bir lobtaki sekonder portal dallanmalarla beslenir.



Şekil 1. Hepatik ven ve portal ven akımına göre tasarlanmış karaciğerin sekiz segmentli anatomisi (11).



Şekil 2. Karaciğerin eksternal ve retroperitoneal bağlantı yerleri (12).

2.1.2. Karaciğer fizyolojisi

Karaciğer, kolesterolden safra asitlerini sentezler. Kolesterolün vucuttan atılımının başlıca yolu safra ile atılımdır. Günde yaklaşık olarak 600 ile 1000 ml arasında safra salınımı olur. Karaciğer tarafından üretilen safra, başta bilirubin olmak üzere safra boyaları, safra asitlerinin bağlı tuzları, fosfolipidler, kolestrol, protein, elektrolitler, su ve birçok metabolitin karışımından meydana gelen sulu, karmaşık bir çözeltidir (13).

İntestinal sistemden emilen pentoz ve heksoz'lar karaciğerde glikojen halinde depolanır. Bu, karbonhidratların vucuttaki en önemli depolanma şeklidir. Karaciğer glikojen için kritik bir depodur. Buna glikojenez denir. Karaciğer glikojeni parçalayarak ihtiyaç halinde organizmaya glikoz temin eder. Buna da glikojenoliz denir. Sistemik glikoz dengesinin sağlanmasında lipid metabolizmasıyla da geniş ilişkisi olan karmaşık bir süreç aracılığıyla da hayati önem taşır (16). Karaciğer glikozu, heksoz monofosfat üzerinden çeşitli şekillerde kullanılan pentozlara dönüştürür. Karaciğer aynı zamanda laktad'ı metabolize eder. Cori siklusu, anaerobik metabolizma koşullarında glikozun periferik varlığı için önemlidir. Karaciğerde lipoproteinlerin ve trigliseritlerin sentezinde, yağ asitlerinden glukoneogenesisin ve kolesterol metabolizmasının oluşmasında önemli rol oynar (13). Böylelikle karaciğer, yağ asitleri ile nötral yağları sentez ve katabolize eden bir organdır. Kolestrol sentezi ve esterleştirilmesi temel olarak karaciğerde meydana gelen olaylardır. Karaciğer fosfolipid ve lipoproteinlerin de sentezinde ve parçalanmasında da önemli rol oynar. Karaciğerde çeşitli aminoasitler kullanılarak proteinler sentezlenebilir, aminoasitlerden şeker ve yağ asitleri de meydana getirilebilir. Transaminasyon mekanizmasıyla, azotlu olmayan bileşiklerden aminoasitler sentezlenebilir. Protein metabolizmasının son ürünü olan üre'nin yapıldığı en önemli yerlerden biridir. Beta ve gamma globülin gibi globinler de karaciğerde üretilir. Albumin ve globülinin üretildiği tek organ karaciğerdir.

Pek çok pıhtılaşma proteinleri karaciğerde sentez edilir. Bunlar; fibrinojen, protrombin ve faktör V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII'dir.

Vitaminler vucutta karaciğerde depolanır ve bu depolanan vitaminlerin bir kısmı karaciğer tarafından kullanılır.

Karaciğer kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla temizlendiği bir organdır. Karaciğer aynı zamanda vücudun detoksifikasyon merkezidir. Karaciğer; oksidasyon, redüksiyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle oluşan endojen, ilaç ve kimyasal madde gibi eksojen birçok maddeyi yıkarak veya değişime uğratarak detoksifikasyon yapar.

2.2. İskemi

Doku seviyesinde homeostasis'in devamı önemlidir. Hücrelerin gereksinim duyduğu besin öğeleri, bunların kullanılabilmesi için gereken oksijenin sağlanması ve ortaya çıkan atıkların ve toksik metabolitlerin eliminasyon'u gereklidir. Bu gerekliliklerden herhangi birisindeki bozukluk homeostasis'i geçici ya da kalıcı olarak bozabilir.

İskemi; dokunun oksijen ve metabolizması için gerekli diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve artık ürünlerin dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır (17). İskemi, hücresel enerji depolarının boşalması, enerji ihtiyacının anaerobik yollar tarafından karşılanmaya çalışılması ve buna bağlı olarak toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskeminin şiddeti ve süresi ortaya çıkan hasarda belirleyici olmaktadır.

Genel cerrahide travma / hipovolemi, transplantasyon yada damarsal tıkanıklıklar gibi nedenlerle karaciğerin oksijen ve metabolik ihtiyaçlarının karşılanamadığı gibi durumlar sık görülür. Özellikle onkolojik cerrahide ve major karaciğer yaralanmalarında ilk defa Pringle (18) tarafından 1908 yılında tariflendiği üzere cerrah tarafından kontrollü olarak karaciğere giden kan akımı bloke edilerek daha az kan kaybı ile cerrahi işlemin gerçekleştirilmesi amaçlanır. Bunu yaparken karaciğer kan akımının engellenmesi zamanla doğru orantılı olarak artan doku hasarı ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Yetersiz perfüzyona bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer doku hasarı maruz kalınan yetersiz perfüzyonun süresine bağlı olarak geri dönüşümlü ya da hücre ölümüyle sonuçlanan geri dönüşümsüz bir süreç olabilir (19).

Kısa süreli tekrarlayan iskemi periyodlarının (İskemik ön koşullama) doku ve organizma tarafından daha iyi tolere edildiği ve daha uzun süreli iskemiye maruziyet durumunda koruyucu etkilerinin olduğu saptanmıştır (20). İskemik ön koşullama ile birlikte iskemiye maruziyet öncesi, iskemi esnasında ve sonrasında verilen bazı farmakolojik ajanların da iskemiye bağlı doku hasarını azalttığı gözlenmiştir (21).

Rat karaciğeri, hepatoduodenal ligamının klempajı ile total iskemiye maruz bırakılabilir. Bu durumda gelişen splanknik konjesyon ratlarda kolay tolere edilmez. Median ve sol lateral loba giden portal ve arteriyel akımın klempajı ile gerçekleştirilen parsiyel karaciğer iskemisi dah iyi tolere edilir (19).

2.3. Reperfüzyon

Hücresel rejenerasyonu ve toksik metabolitlerin temizlenebilmesi için iskemik dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (22). Reperfüzyon döneminde oluşan bu hasarda, moleküler oksijenin hücre içerisine girişi sonucunda hızlıca oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. İskemi sonrası reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar; proteinler, hücre zar lipitleri, nükleik asit molekülleridir (23).

Karaciğer, kalp, beyin, barsaklar ve böbrekler başta olmak üzere pek çok organda iskemik dokuda, reperfüzyon sonrası gelişen hasar ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır (24, 25). Buna rağmen iskemi/reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi tam olarak anlaşılamamıştır.

Arteriyel ve / veya venöz tıkanıklık veya yetersiz kan akımı sonucu iskemi meydana gelir. Daha sonra etkilenen vasküler yatakta staz oluşur. İskemi; şok, transplantasyon, myokard infarktüsü, serebrovasküler olaylar sonrasında görülebilir. Karaciğerde iskemiye neden olan olayların başında; karaciğer rezeksiyonu, hemorajik şok, travmaya bağlı karaciğer hasarı gelir. İskemi ve reperfüzyon'un sonucu gelişen iltihabi yanıt, farklı organlarda da inflamatuvar hasarı hızlandırabilir. Bu durumda çoklu organ yetmezliği (MODS) meydana gelebilir ve bu bazı olgularda mortal seyredebilir.

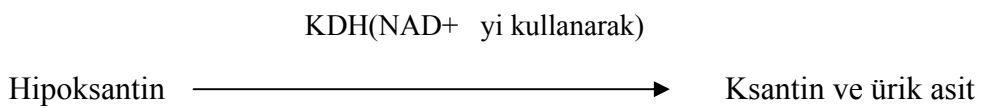
İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (26).

Hücre zarında bulunan $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP'az pompası, hücredeki enerji depolarının boşalması ile inhibe olur ve bunun sonucunda hücre içerisindeki Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyon'ları artar(27). Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonu'nun artışı hücre için sitotoksiktir (28).Yine bu dönemde hücre içerisindeki iyon konsantrasyonunun değişimi ile lökosit adhezyon moleküllerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin yapımında azalma meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu geline durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız hale getirir. Hücrede iskemi döneminde ATP yapımı olmadığı halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenosin oluşur. Adenosin, hücre dışına difüze olur ve hücre dışında inozin ve hipoksantin'e parçalanır. İskemi durumunda ksantin dehidrojenaz (KDH) ksantin oksidaz'a (KO) dönüştürülür. İskemi sonucu dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine yol açan durum yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımıdır.

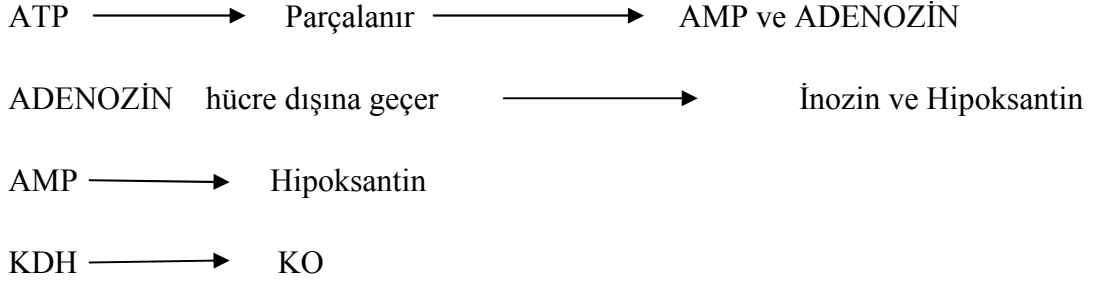
Normal metabolik döngüde, hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD^+ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Fakat, hipoksi ya da iskemi durumunda $\text{KDH} \rightarrow \text{KO}$ 'a dönüştüğünden hipoksantin, ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (29).

Reperfüzyon sağlandığında ksantin oksidaz, hipoksantin'i ksantine dönüştürür ve süperoksit radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Buna bağlı olarak başka reaktif oksijen türevleri(ROS) oluşur. Oluşan reaktif oksijen türevleri (ROS) hücre yaralanmasına yol açar (30).

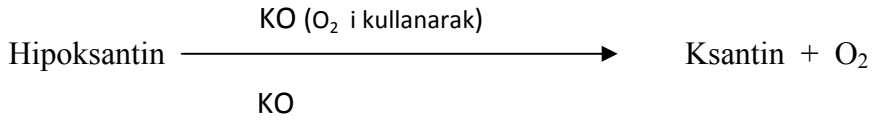
Normal şartlarda:



İskemide:



Reperfüzyon ile:



Noniskemik şartlarda birçok dokuda ksantin oksidaz aktivitesi düşüktür. İskemi başlangıcıyla birlikte ksantin dehidrogenaz'ın hızla ksantin oksidaz'a yıkımı başlar(31,32). İskemiye bağlı olarak ksantin oksidaz aktivitesinin artması, parankimal dokularda serbest radikallerin üretimine neden olur. Oksijen yokluğunda hipoksantin'in ksantin'e yıkımı gerçekleştirilmez. Reperfüzyon esnasında ortamda fazla bulunan hipoksantin hızla oksidasyona uğrarken moleküler oksijen redüksiyonu görülür. Moleküler oksijen redüksiyonu, süperoksit radikallerinin ortaya çıkmasına yol açar. Hücrelere zararlı etkileri olan bu SOR'i hidrojen peroksid ve ileri derecede sitotoksik etkileri olan hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan zararlı oksijen metabolitleri, mitokondri ve hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu yoluyla hücre hasarına neden olur(33).

İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi; birbiriyle karmaşık ilişkileri olan hücresel ve humoral olaylar serisidir (34,35).

Özellikle;

- 1.Serbest oksijen radikalleri
- 2.Polimorf nüveli lökositler

3.Kompleman sistemi

4.Endotel hücreleri

Olmak üzere başlıca dört faktör iskemi / reperfüzyon hasarında rol almaktadır.

2.3.1. Serbest radikaller

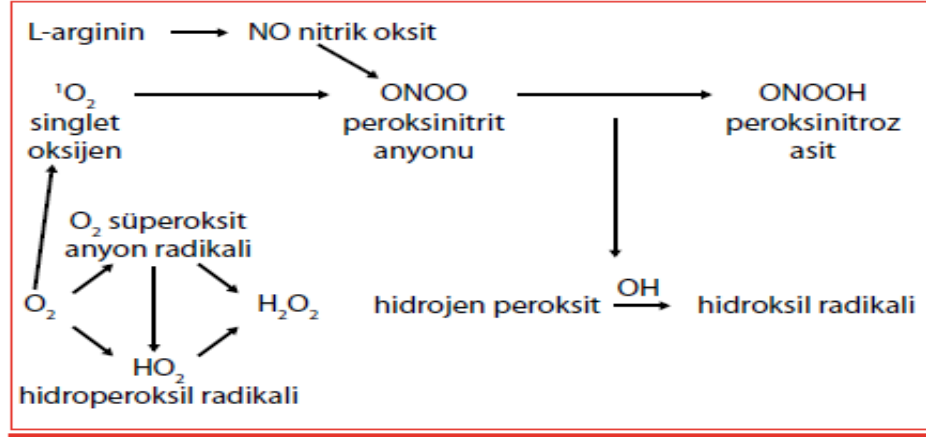
Radikal, latince de kök anlamına gelen radix den türetilmiştir. Serbest radikal, en az bir eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Molekülün reaktif hale gelmesi bir elektron ilavesi veya kaybı ile meydana gelir (36). Serbest radikaller diğer moleküllerle birleşerek yörüngelerindeki elektronları eşleyip kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışır.

Organizma sürekli olarak serbest radikallerle karşı karşıyadır. Oksijen atmosferin %21'ini teşkil eder ve aerobik organizmaların yaşamını idame ettirmeleri için mutlak gereklidir. Aerobik organizmalar oksijeni, elektron transport zincirinde son elektron alıcısı olarak kullanırlar.

Serbest radikaller, fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşur. Aerobik metabolizma neticesinde ortaya çıkan fazla oksidasyon, canlının yaşamını tehlikeye sokabilir. Serbest radikaller; negatif yüklü (anyon), nötr yada pozitif yüklü (katyon) olabilirler. Serbest radikaller protein yapısında bozulma, bazı enzimlerde aktivasyon, bazılarında ise inaktivasyona neden olabilirler (37).

Doku ve hücrelerin bu harap edici etkiden korunmasında superoksit dismutaz (SOD) (38), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx) gibi hücre içi enzimler rol alır. Oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin başlıca endojen kaynakları arasında sayılabilir. Organizma da oksijenin % 95' inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılır, yaklaşık %5 'i son yörüngelerinde eşlenmemiş

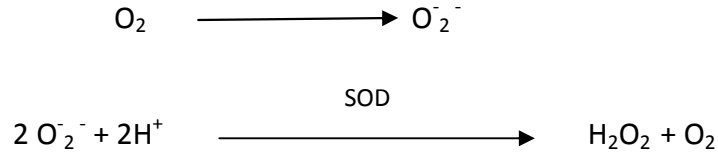
elektron içerir ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir(Şekil3).



Şekil 3. Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu ve nitrik Oksit ile ilişkisi (39,40).

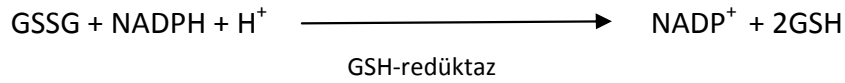
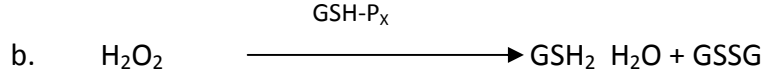
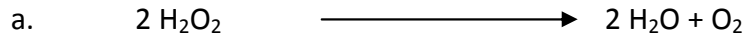
Moleküler oksijen, çoğunlukla reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species; ROS) oluşturma eğilimindedir. ROS normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)'den oluşmaktadır. İnsanda her yıl 2 kg O_2 oluştuğu bildirilmiştir. Reperfüzyon sırasında oksijen sunumunda ve intrasellüler oksijen konsantrasyonunda artış olur. Moleküler oksijen, ksantine oksidaz ile süperoksit anyonuna ($O_2^{\cdot-}$) indirgenir. Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijen (O_2) ve hidroksil radikalleri gibi çeşitli toksik oksijen metabolitlerini oluşturur(39,40).

Süperoksit radikali, kendisi doğrudan hücreye zarar vermemekle birlikte hidrojen peroksit oluşumuna yol açarak ve geçiş metalleri iyonlarını indirgeyerek hücreye zarar verir. Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron eklenmesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksitdismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir(41).

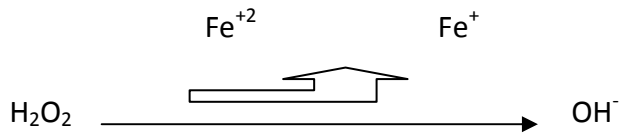


Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir

1- H_2O_2 , katalaz (KAT) veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür:



2- H_2O_2 geçiş metalllerinin varlığında toksik OH radikaline dönüşür: Fenton reaksiyonu.



Hidrojen peroksid'in, Fe^{+2} ile redüksiyonu (Fenton reaksiyonu) hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açar. Hidroksil radikalleri bir zincir reaksiyonu başlatarak hücre membranını meydana getiren yağdan oluşan çift katmanlı yapı içindeki poliunsature yağ asitlerinin harabiyetine neden olur. Hücre zarının harabiyeti diffüz kapiller kaçak ve bir dizi enflamatuvar kaskadın aktivasyonuna neden olur. Bu şekildeki radikallerin hücreye olan zararlı etkileri çok etkin antioksidan sistemlerle radikal oluşumunun önlenmesi, detoksifikasyonu ve oluşan

hasarın tamiri aşmalarının her birinde etkin olan çok etkili antioksidan sistemlerle dengelenmeye çalışılır (5).

Glutatyon; intrasellüler alanda okside edilmezken vasküler aralıkta okside edilir (39,40).

Hidroksil radikali oldukça reaktif ve toksik bir radikaldir(37). Büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile hidroksil radikali; DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makro moleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur (Şekil 3). Hücredeki makromoleküllerin miktarı kısıtlı olduğundan bu yapılarda oluşan hasar hücre için çok önemlidir. Organizmada, herhangi bir OH radikal süpürücüsünün etkili olabilmesi için mevcut hedef moleküllerin önemli bir bölümünü kapsayacak kadar yüksek konsantrasyonda bulunması gerekir. Bu nedenle OH radikalının oluşumunun önlenmesi, bu radikalın süpürülmesinden daha etkilidir (39, 40,).

2.3.2. Polimorf nüveli lökositler (PMNL)

Nötrofiller, reperfüzyondaki mikrovasküler permeabilite artışından başlıca sorumlu olan yapılardır. Bu reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adhezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(42). Lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu; İskemi reperfüzyon hasarında meydana gelir(43). PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (44).

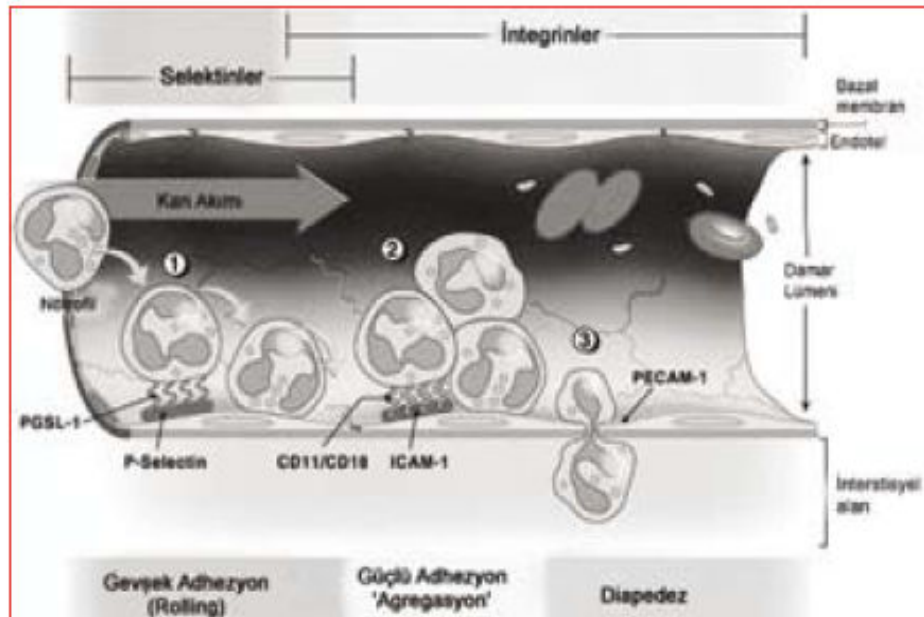
Bunlar:

- 1) Mikrovasküler oklüzyon
- 2) SOR salınması
- 3) Sitotoksik enzim salınması
- 4) Vasküler permeabilite artışı
- 5) Sitokin salınmasında artıştır.

Endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri, PMN'lerin aktivasyon ve migrasyonlarını sağlar. Adhezyon molekülleri aynı anda selektinler olarak ta bilinirler ve L, P ve E selektin olmak üzere üç üyesi vardır. Endoteldeki P-selektin ekspresyonu, İ/R durumunda artar. P-selektin, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). Lökosit adhezyonu ve agregasyonu; ikinci aşamada lökosit beta-2 integrinler (CD11a/CD18ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucu oluşur.

Lökosit transmigrasyonu; üçüncü aşamada trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile oluşur.

Aktive lökositler damar dışına ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (45) (Şekil 4).



Şekil 4. Lökosit adhezyon moleküllerinin lökosit/endotel etkileşimindeki rolü ve Lökosit göçünün şematize edilmesi (45).

C3a ve interlökin-1(IL 1), lökotrien B4(LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin(PG) türleri, nötrofillerin dokuya gelebilmesi için gerekli kemotaktik maddeler arasındadır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-a) sentezine yol açar(43). Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarak selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerini mobilize eder. Aktif nötrofiller, vasküler yatakta oluşturdukları agregatlar ve aktif trombositler ile birlikte damar endoteline yapışıp mikrovasküler tıkanmaya neden olmasının yanında salıverdikleri maddelerle sistemik hasarada neden olurlar(22). Nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korrelasyon olduğu yapılan son çalışmalarda bulunmuştur. Apoptozis; programlı hücre ölümü olarak bilinir ve immün sistem ile vücut homeostazının vazgeçilmez bir parçasıdır(46).Hücreölüm yolağındaki düzensizlikler, iskemi-reperfüzyon hasarının yanı sıra, kanser, otoimmün hastalıklar, immün sistem bozuklukları ve nörodejeneratif hastalıklara da yol açabilmektedir.

Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıt şu mekanizmalar ile gerçekleştirilir (47,48).

-Fosfolipaz A₂ aktivasyonu → araşidonik asit metabolitleri
(prostaglandinler ve lökotrienler) üretilir.

-Degranülasyon → lizozomal enzimler salınır.

-SOR üretimi

Bu ürünler doku zedelenmesinin ve endotel hasarının güçlü etkenleridir ve başlangıçtaki inflamatuvar yanıtın etkisini güçlendirirler. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya yoğunluğunu azaltmaya yönelik bu inflamatuvar yanıt sonucu;

- mikrovasküler permeabilite artışı

- ödem

- tromboz
- parankim hücre ölümü ortaya çıkar

Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve makrofajlar aracılığıyla lenfatik dolaşım yoluyla ortamdan uzaklaştırılırlar.

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O_2 oluşurken NO oluşumu ise azalır. NO ve süperoksit radikali arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur(47, 49).

Nötrofiller İ/R hasarında ve serbest radikallerin oluşumunda önemli bir kaynaktır. Nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz ezimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenirler. İskemi sonrası reperfüzyon döneminde dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğunlukla spontan dismutasyon ile hidrojen perokside dönüşür. Hidrojen peroksit ise miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile klorür iyonlarının varlığında hipoklorik aside indirgenir. Güçlü bir antioksidan olan hipoklorik asit birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir.

Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerinden salınan ;

- apolaktoferrin
- plazminojen aktivatörü
- komplemanı aktive eden enzim
- elastaz

-kolajenaz

-jelatinaz

gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır(50).

Kupffer hücreleri

Reperfüzyon döneminde plazmada glutatyon disülfid oluşumu Kupffer hücrelerinin aktivasyonu ya da inaktivasyonu ile orantılıdır. Reperfüzyon döneminde Kupffer hücrelerinin izole edilmesi Kupffer hücre aktivasyonunu kanıtlamıştır. Bu bulgular erken reperfüzyon döneminde Kupffer hücrelerinin vasküler oksidatif stresin ana kaynağı olduğunu düşündürmektedir. Karaciğerde Kupffer hücreleri prostaglandinler (PG) ve lökotrienleri üretir. Bu prostaglandinler arasında en önemlileri PGD₂, PGE₂, Tx A₂ ve lökotrienler arasında en önemlileri lökotrien B₄ ve lökotrien C₄ dür. Kupffer hücre aktivasyonu serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarına yol açan çeşitli mediatörlerin açığa çıkmasıyla giden fagositik ve enflamatuvar cevap oluşturur. Kupffer hücrelerinin uyarılması aynı zamanda komşu hepatositler üzerinde koruyucu etkiye neden olan vazodilatatör özellikte PGE₂ üretimine yol açar.

Kemokinler

Kemokinler küçük moleküler ağırlıklı proteinler olup hemen hemen tüm doku yaralanmalarında ekspresyonlarında artış olduğu saptanmıştır(51). İmmün hücrelerin dışındaki hücrelerde de kemokin reseptörleri saptanmış; yaralanmalarda enflamasyon dışı cevap ve organ homeostazisinin sağlanmasında rol aldığı görülmüştür(52). Kemokinlerin; hücrelerel diferansiyasyon, profilerasyon, survival ve apoptozisde rol aldığı, bununla birlikte gelişmenin düzenlenmesi, organ fibrojenezi, anjiogenes ve tümör metastazında rol aldığı ortaya konulmuştur(43, 53). Karaciğerdeki kemokin kaynakları hepatositler, Kupffer hücreleri, sinuzoidal endotel hücreleri, stellat hücreler ve safra yolları epitel hücreleridir(54). Elliden fazla kemokin ortaya konulmuştur. Bunların bazıları(CXCL₉₋₁₁/CXCR₃), kronik karaciğer hasarlanmasında rol alırken,

bazılarında (CCL2 (MCP-1)(55, 56), CXCL1, CXCL2, ve CXCL8;(57) akut yaralanmalarda görev almaktadır. İskemi reperfüzyon hasarlanması sonrasında erken dönem de CXCL9–11 seviyesinde artış görülür. Rat'larda CXCL 9 -10-11 in bloke edilmesiyle karaciğer hücre hasarlanmasının azaltıldığı ve survivalın arttığı görülmüştür(58). İskemi reperfüzyon yaralanması sonrası Kupffer hücreleri ROS açığa çıkması ve hepatositlerden salınan CXCL-1 ve CXCL-2 kemokinlerin aktivasyonu görülür(29). CXCL12 (SDF-1 α) homeostazis, embriyogenez, hematopoiez, ve angiogenez için çok önemlidir, Hipoksi durumlarında CXCL 12 üretimi artar(59). CX₃CL1 bir transmembran protini olarak sentezlenir ve metalloproteinaz yıkımı ile serbestlenir. Akut yada kronik karaciğer hastalığında enflamasyon ve safra kanal epiteli regenerasyonu durumunda arttığı görülmüştür(60). CX₃CR1'in kaybı daha ağır yaralanma ve iyileşmede gecikmeye neden olur(61). Akut karaciğer yaralanması ve iyileşmesinde CCL2 gibi CX₃CL1de karaciğere makrofaj göçünün farklı basamaklarında önemli rol oynamaktadır.

2.3.3. Kompleman sistemi

Kompleman sisteminin rolü iskemi reperfüzyon hasarında tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Proinflamatuvar komponentler, kompleman sisteminin aktivasyonu sonucu oluşur. Bu proinflamatuvar komponentler C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Kemotaksisin uyarılması ve lökosit aktivasyonuna ek olarak C5a, MIP-1a, MIP-1b, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı güçlendirir. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır (62).

-E-selektin

-P-selektin

-Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1)

-İnter selüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)

C5b9 endotelde MCP-1, IL-1a ve IL-8 salgısını aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. C5b9 aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe edip endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (63, 64).

İskemi sırasında hücre sel ATP düzeyinin düşmesi normal iyon gradientinin kaybına neden olur. Bunu takiben hücre içine kalsiyum geçişinde artış gerçekleşir. Hücre içinde kalsiyum seviyesinin artması proteazları aktive ederek ksanthine dehidrogenazı geri dönüşümsüz olarak ksantin oksidaz a çevirir (65).

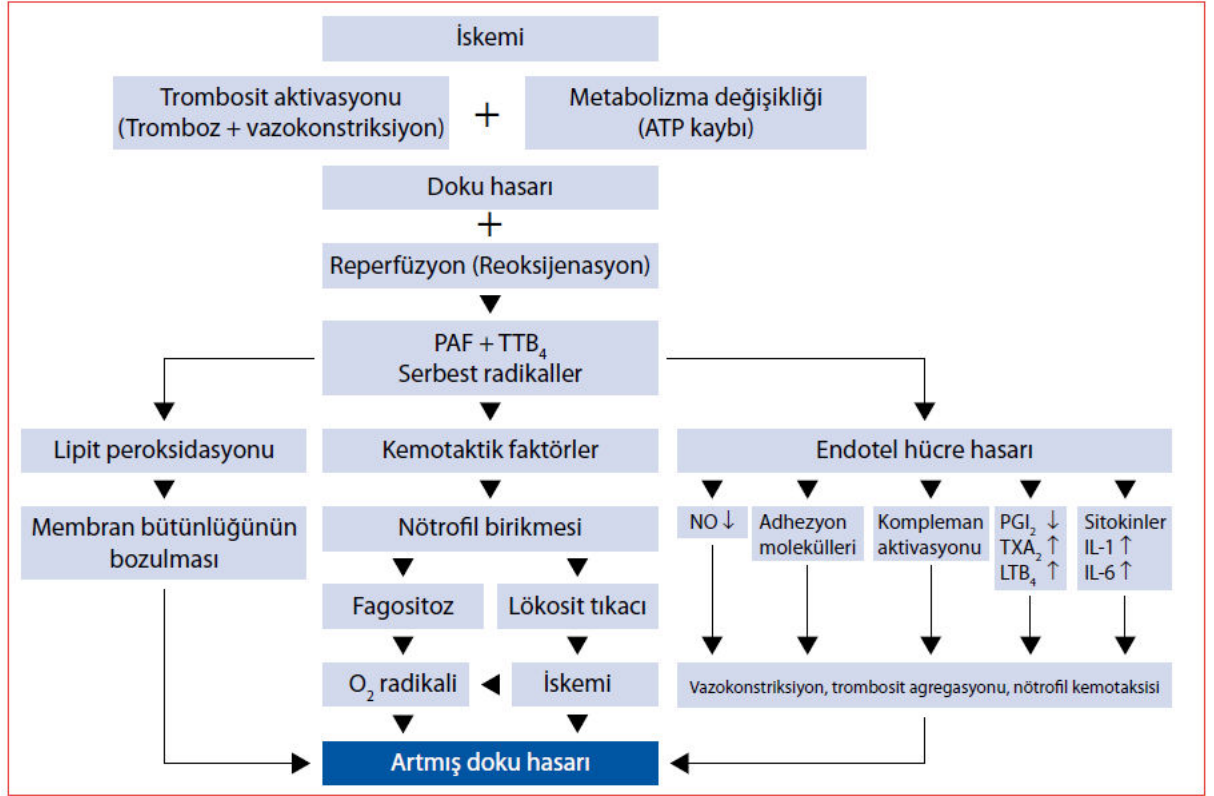
2.3.4. Endotel hücresinin rolü

Endotel hücreleri, iskemi/reperfüzyon hasarında önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri serbest oksijen radikalleri için hem üretim kaynağı hemde potansiyel hedef konumundadır. Endotel hücresi NO 'i ve homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i üretir. Arteriyel dolaşımda nitrik oksit, endotelinin vazokonstrüktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venöz sistemde ise bunun tersi bir durum söz konusudur. İ/R hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuç olarak venlerde vazodilatasyon, arterlerde vazokonstriksiyon olur (66). Lipit peroksidasyonuna bağlı endotel hasarında kapiller permeabilite artışına neden olmaktadır.

Kompleman, endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucunda aktive edilir. Böylelikle lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. Endotel hücreleri SOR etkisi ile hasara yanıt olarak NO, endotelin, İL-1, PAF, GM-CSF, büyüme faktörleri, prostaglandinler (PG I₂, PG E₂) ve tromboksan A₂ (TxA₂) salgırlar. Endotel hücreleri aktive olduğunda ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir (48).

Radikal olarak nitrik oksitlerin reaktivitesi düşüktür ancak radikaller ve metal içeren bileşikler ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipit radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Oksihemoglobin fizyolojik dozlarda üretilen NO'i, nitrata (NO-3) oksitleyerek aktivitesini sonlandırır. Nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu

da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nin dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücresel moleküllerin, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler (67).



Şekil 5. İ/R hasarında yer alan olaylar dizisi (68).

2.4. Antioksidanlar

Organizmanın sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi için prooksidan/antioksidan dengesi çok önemlidir. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve organizmada meydana getirdikleri hasarları önlemek için antioksidan savunma sistemi dört yolla etki göstermektedir.

I. Süpürücü etki

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu şekilde etki gösterirler(39, 40, 69).

II. İnaktif şekle dönüştürücü etki

Serbest oksijen radikallerinin yapısına bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma. Vitaminler ve flavanoidler bu şekilde etki gösterir(70).

III. Zincir kırıcı etki

Serbest oksijen radikalleri'ni bağlayarak yapısındaki zincirleri kırıp fonksiyonlarını engellemek. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu şekilde etki gösterir(71).

IV. Onarıcı etki

Serbest oksijen radikallerinin oluşturdukları hasarın onarılması(72).

2.4.1. Endojen antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

I- Enzim olan endojen antioksidanlar (73)

- | | |
|---|-------------------------------|
| *Süperoksit dismutaz (SOD) | *Glutasyon peroksidaz (GSHPx) |
| *Glutasyon S-Transferaz (GST) | *Katalaz |
| *Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi | *Hidroperoksidaz. |

II- Enzim olmayan endojen antioksidanlar (74)

- | | | | |
|-------------|----------------|-------------|--------------|
| *Melatonin | *Seruloplazmin | *Transferin | *Miyoglobin |
| *Hemoglobin | *Ferritin | *Bilirubin | *Glutasyon |
| *Sistein | *Metiyonin | *Ürat | *Laktoferrin |
| *Albümin | | | |

2.4.2. Eksojen antioksidanlar

I- Vitamin eksojen antioksidanlar

- | | |
|-------------------------------------|----------------------|
| * α - tokoferol (vitamin E), | *Beta karoten |
| *Askorbik asit (vitaminC), | *Folik asit (folat). |

II-İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar(75)

*Ksantin oksidaz inhibitörleri: (Allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)

*NADPH oksidaz inhibitörleri: (Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)

*Rekombinant süperoksit dismutaz

*Trolox-C(Vitamin E analogu)

*Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

*Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (Mannitol, albümin)

*Demir redoks döngüsü inhibitörleri (Desferoksamin)

*Nötrofil adhezyon inhibitörleri

*Sitokinler (TNF ve IL-1)

*Barbitüratlar

*Demir şelatör

2.5. Erdosteine

2.5.1. Erdosteine'in farmakolojik özellikleri

Bir tiol bileşeni olan Erdosteine mukomodülatör, antioksidan ve antienflamatuar etki gösteren bir ön ilaçtır. Barsaklardan emilip dolaşıma geçtikten sonra hepatik dolaşımda üç metabolitine dönüşerek aktif hale geçer. Mukusun bileşiminde yer alan glikoproteinlerdeki disülfid bağlarını kırarak mukolitik etki gösterir. Erdosteine, içerdiği tiyol grupları ile ortamda bulunan serbest oksijen radikallerini inhibe eder. Glutasyon gibi endojen antioksidanların üretimini artırarak güçlü antioksidan etki gösterir. Ayrıca sürfaktan aktivitesini de artırır. Özellikle sigara içenlerde α -1 antitripsin inaktivasyonu, lipid peroksidasyonu ve azalan nötrofil kemotaktik yanıtına karşı koruyucu etkisi ile de antioksidan aktivitesi gösterilmiştir.

2.5.2. Erdosteine'in emilimi

Erdosteine oral alımdan sonra hızla absorbe olur. Plazma doruk konsantrasyonu'na 1,4 saat sonra ulaşır.

2.5.3. Erdosteine'in dağılımı ve metabolizması

Emiliminden sonra karaciğerde ilk geçiş metabolizmasına uğrayarak üç aktif metabolite dönüşür ve başlangıçta bloke olan tiyol grupları serbestleşir. Üç aktif metabolitin plazma doruk konsantrasyonu'na ulaşması sırası ile

metabolit I; 1,1-2,2

metabolit II; 2,5-4.6

metabolit III; 2,3-4.8

saat sürer.

2.5.4. Erdosteine'in atılımı

Eliminasyon yarılanma ömrü

erdosteine için; 1,4

metabolit I için; 1,5

metabolit II için; 2,9

saat'tir.

2.5.5. Erdosteine'in kullanım alanları

Erdosteine, üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları ve özellikle kronik bronşit ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) durumlarında solunum yollarında biriken yoğun kıvamlı mukusun atılmasında endikedir.

3. MATERYAL METOD

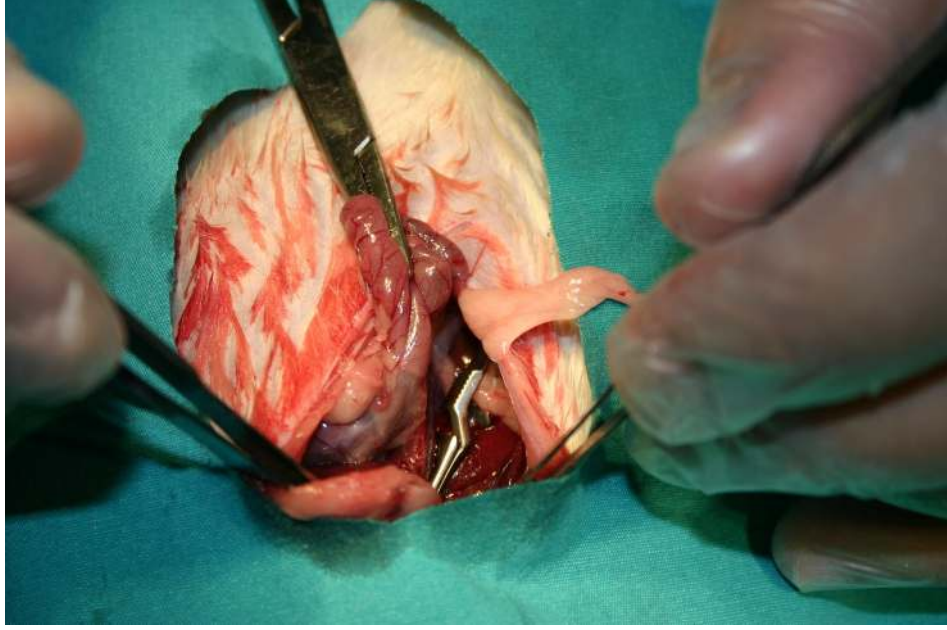
Bülent Ecevit Üniversitesi deney hayvanları etik komitesi onayı'nın alınması ardından ortalama 250-300 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi 24 erişkin rat çalışmaya dahil edildi. Tüm deney hayvanlarına intraperitoneal olarak 100 mg.kg-1 ketamin ile anestezi indüksiyonu uygulanması ardından, deney hayvanları her grupta 8 rat olmak üzere 3 gruba ayrıldı: Sham (grup S, n=8), hepatik iskemi reperfüzyon hasarı (HIRH) (grup HIRH, n=8), erdosteine + Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı (grup Erd, n=8).

Tüm cerrahi müdahaleler aynı cerrah tarafından bütün guruplarda aynı şekilde uygulandı. Sham grubundaki ratlara (Grup S) 2cc SF gavaj şeklinde verildikten 1 saat sonra yalnızca laparotomi yapıldı. HIRH grubunda 2 cc SF gavaj şeklinde verildikten 1 saat sonra rat karaciğerinin sol ve median lobuna giden hepatik arter ve portal ven, non travmatik damar klempliyle 60 dakika süreyle klemplenerek %70 hepatik (Segment 2-5) iskemi oluşturulup, daha sonra vasküler oklüzyon ortadan kaldırılarak reperfüzyon sağlandı. Erd grubunda, 100mg/kg/gün erdosteine, ardışık 3 gün verildikten sonra ketamin anestezisi altında yukarıda tarif edildiği şekilde hepatik iskemi reperfüzyon hasarı oluşturuldu. HIRH yapılan ratlarda 60 dakikalık reperfüzyon sonrası tekrar anestezi uygulanarak relaparotomi yapıldı. Karaciğer ligamanları serbestleştirilip, aortadan ponksiyon yapılarak biyokimyasal analiz için kan alındı ve karaciğer median ve sol lobu çıkarılarak bir kısmı patolojik incelemeye gönderildi. Histopatolojik incelemede karaciğer hasarı değerlendirildi, alınan kan örneklerinden ALT, AST, Ürik asit bakıldı. Total antioksidan kapasite (TAC) ve Malondialdehid (MDA), ALT ve AST seviyesi ölçüldü.

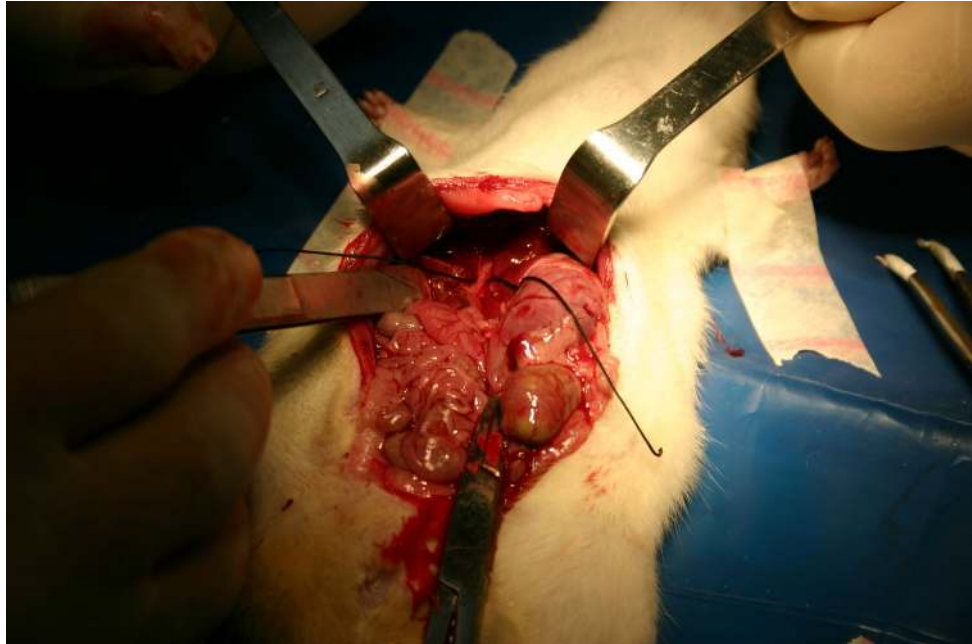
İskemi reperfüzyon uygulanan Karaciğer dokusu rezeke edildikten sonra %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Her karaciğer dokusundan uzun eksene dik, 3mm kalınlığında, 2 adet paralel dilim çıkarıldı. Materyaller standart doku takibi işleminden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında 2 adet ardışık kesit hazırlanarak Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Işık mikroskopik incelemede hepatik zedelenme bulguları olarak lökositik infiltrasyon yoğunluğu (76, 68) , nötrofil varlığı, balonlaşma dejenerasyonu,

sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon, steatoz (77), kolestaz, iskemik koagülatif nekroz ve apopitoz(78) daha önce tanımlanan kriterlere uygun olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal parametreler Bülent Ecevit Üniversitesi tıp fakültesi biyokimya anabilim dalında ölçülüp değerlendirildi.



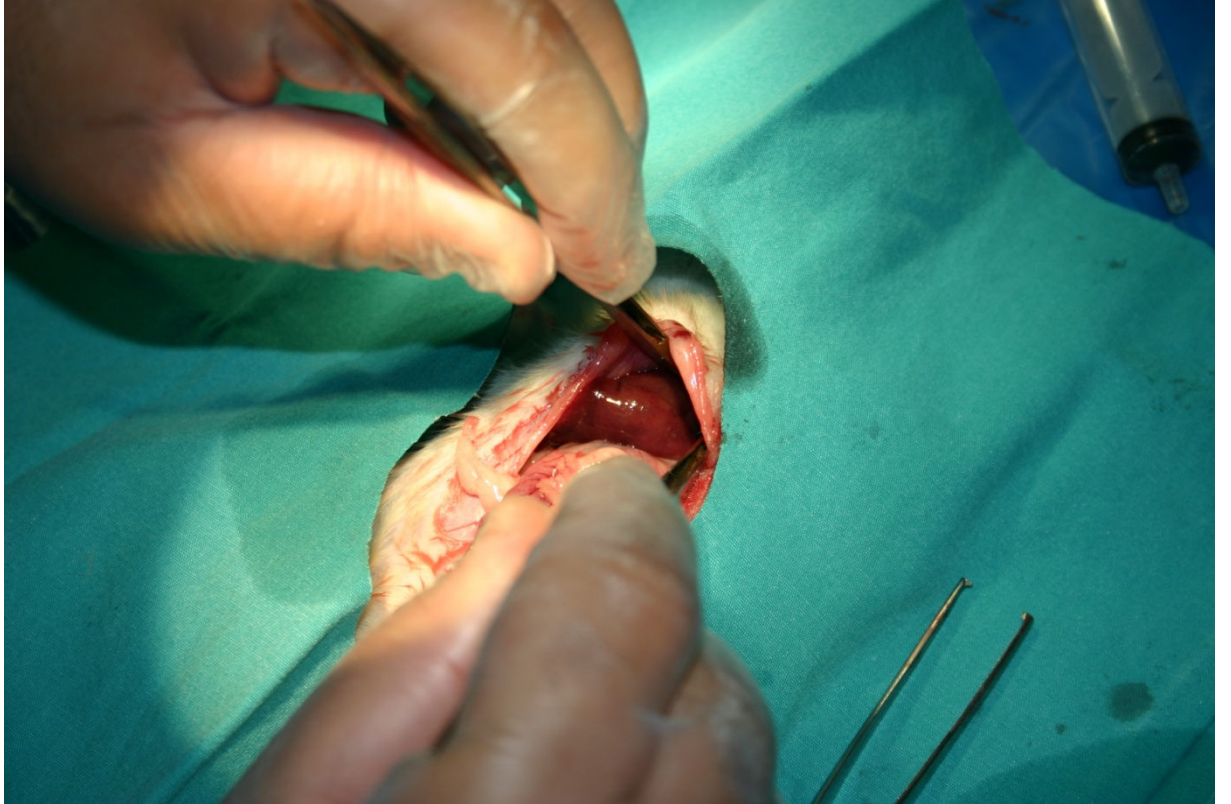
Resim 1. Laparotomi.



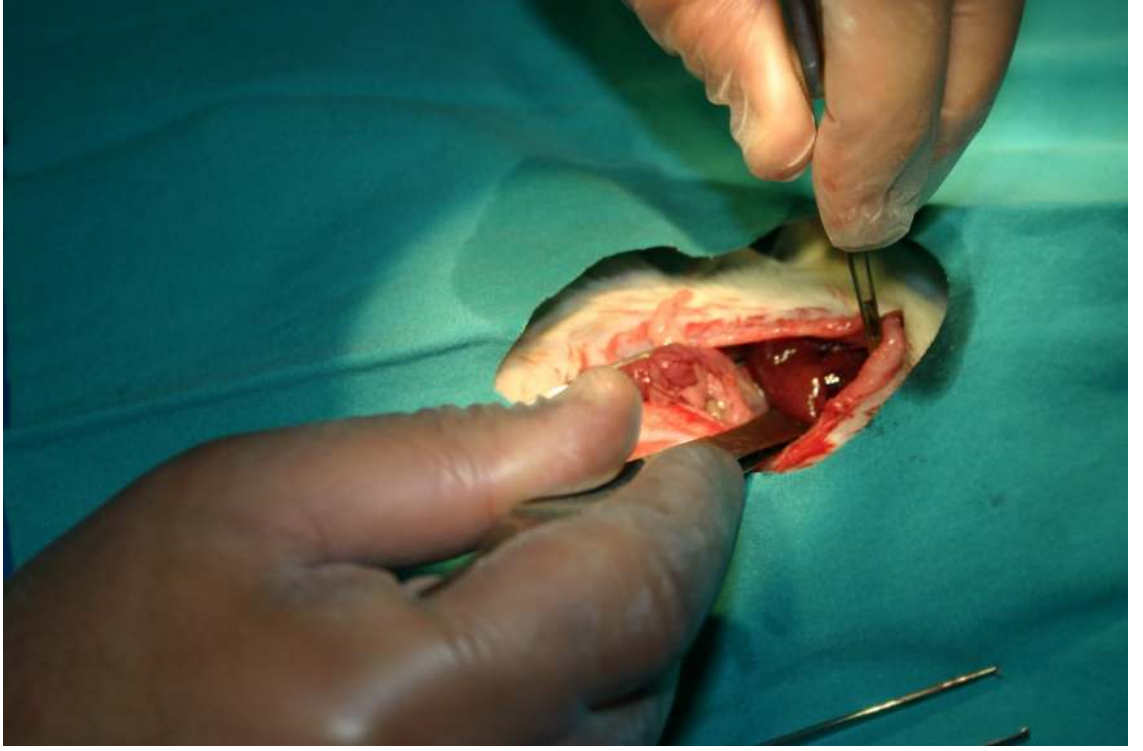
Resim 2. Karaciğer sol ve median lobuna giden haptik arter ve portal ven.



Resim 3. Karaciğer sol ve median lobuna giden haptik arter ve portal venin askıya alınması.



Resim 4. Karaciğer median ve sol lopta oluşan iskemik alan.



Resim 5. Karaciğer median ve sol lopta oluşan iskemik alan

4. BULGULAR

Her üç gruptaki tüm ratlarda cerrahi işlem sırasında eksitus olmadı. Gruplar arasında cinsiyet ve denek ağırlıkları birbirine benzerdi.

4.1. Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Sham grubu

Bu grupta bazı örneklerde fokal parankimal perisellüler lökositik infiltrasyon odakları dikkati çekti. Parankimal lökositik infiltrasyon izlenen örneklerde inflamatuvar hücreler ile birlikte tek hücreler halinde apoptotik hepatosit nekrozu gözlemlendi. Az sayıda olguda santral ven çevresinde hafif derecede balonlaşma dejenerasyonu izlendi.

4.1.2. İskemi-reperfüzyon (kontrol) grubu

Örneklerin tümünde belirgin sinüzoidal konjesyon, sentrilobüler iskemik koagülatif nekroz izlendi. Bazı olgularda nekroz hepatik lobülün tamamını etkilemiştir. Olguların çoğunda balonlaşma dejenerasyonu ve apoptoz koagülatif nekroza eşlik etmekteydi.

4.1.3. Erdosteine grubu

Örneklerin tümünde değişen derecelerde periportal ve intraparakimal alanlarda nötrofil lökositlerin eşlik ettiği mikst inflamasyon varlığı izlendi. Nötrofil lökosit infiltrasyonu ağırlıklı olarak portal alanlarda ve perivasküler lokalizasyonda izlendi. İki olguda fokal intraparakimal nötrofil lökosit infiltrasyonu dikkati çekti. Tüm örneklerde değişen derecelerde hepatositlerde iskemik nekroz bulguları izlendi. Hepatositlerde iskemik nekroz bulguları ağırlıklı olarak santral ven çevresinde yoğunlaşmaktayken, iki örnekte tüm hepatik lobülü kaplayan yaygın nekroz belirlendi. Örneklerin hiç birinde steatoz saptanmadı. Tüm örneklerde benzer olarak sentrilobüler alanda daha yoğun olmak üzere hepatosellüler balonlaşma dejenerasyonu gözlemlendi. İki olguda hafif derecede, beş olguda orta derecede sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon saptandı. Bir olguda hepatosit sitoplazmalarında ve kanaliküllerde lokalize orta derecede kolestaz bulguları izlenirken, dört olguda intrasitoplazmik safra pigment varlığı dikkati çekti.

Tablo başlıkları:

A= Hepatik parankimdeki lokositik infiltrasyon derecesi

B= Nötrofil lokosit infiltrasyonu

C= Apoptozis

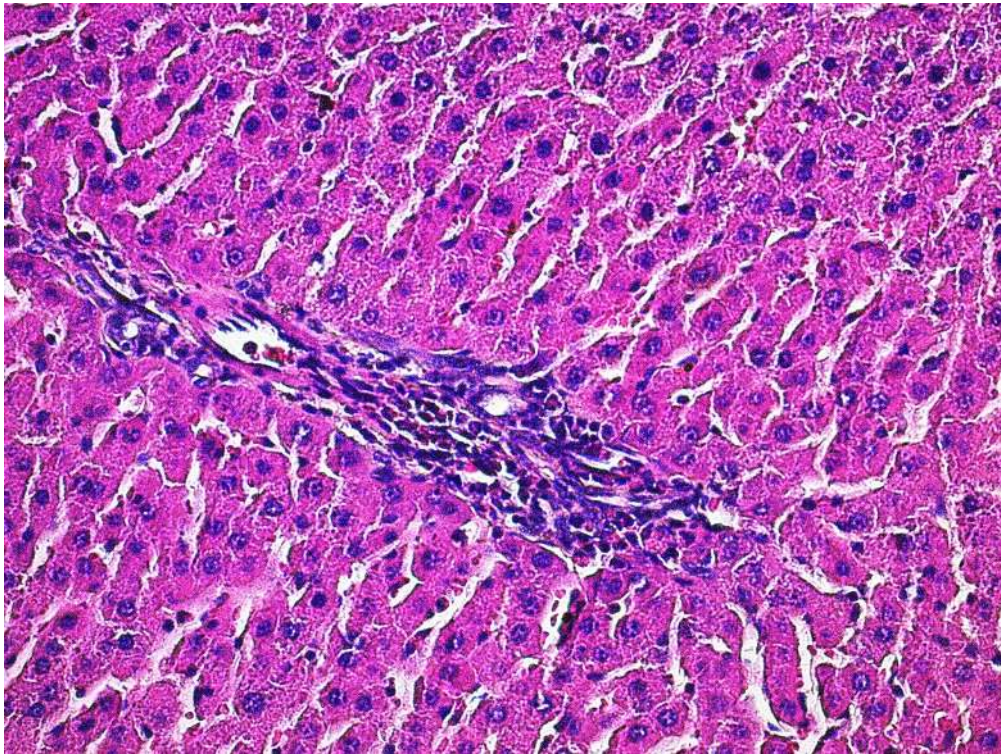
D=İskemik koagülatif nekroz

E= Steatozis

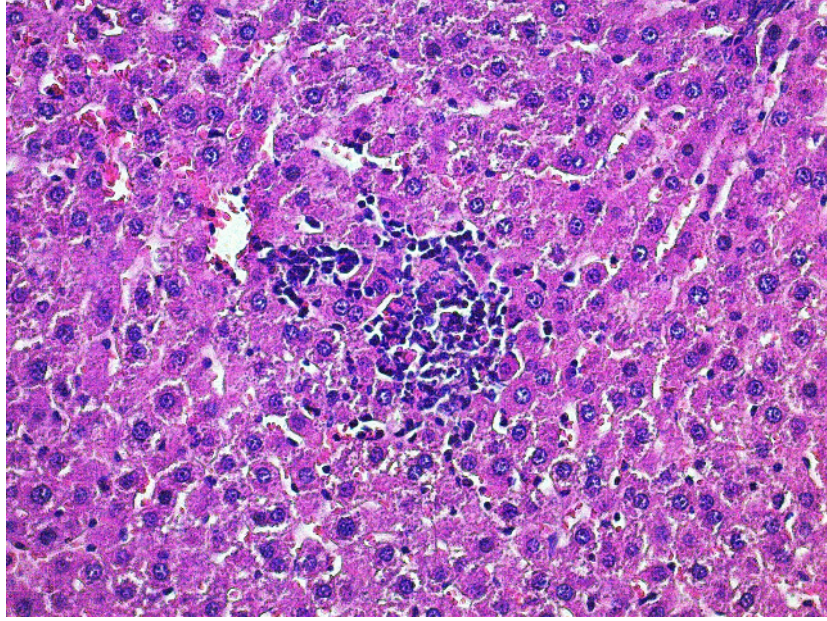
F= Hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu (Derecesi/ lokalizasyonu)

G= Hepatik sinüzoidlerin dilatasyonu ve konjesyonu

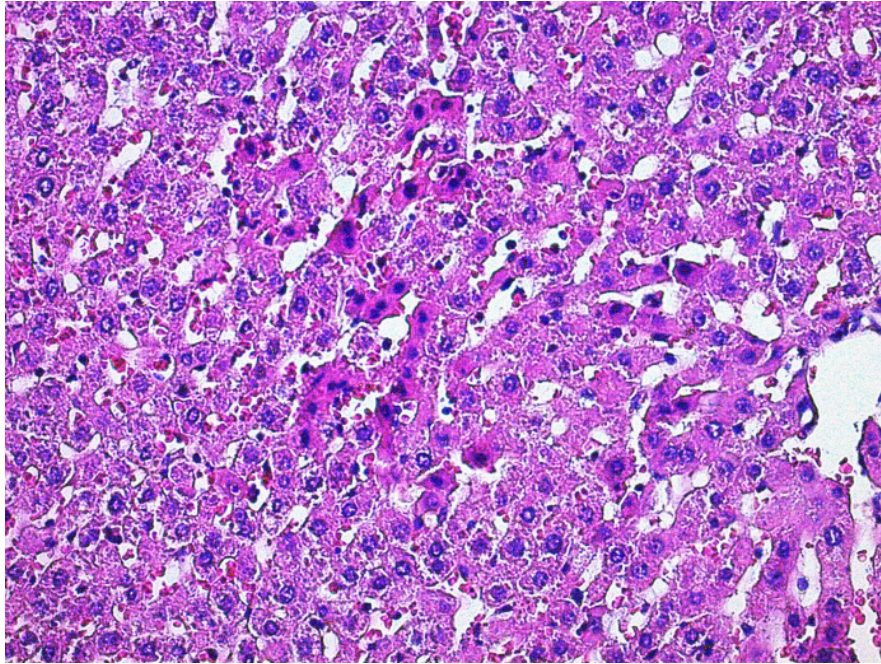
H= Kolestaz



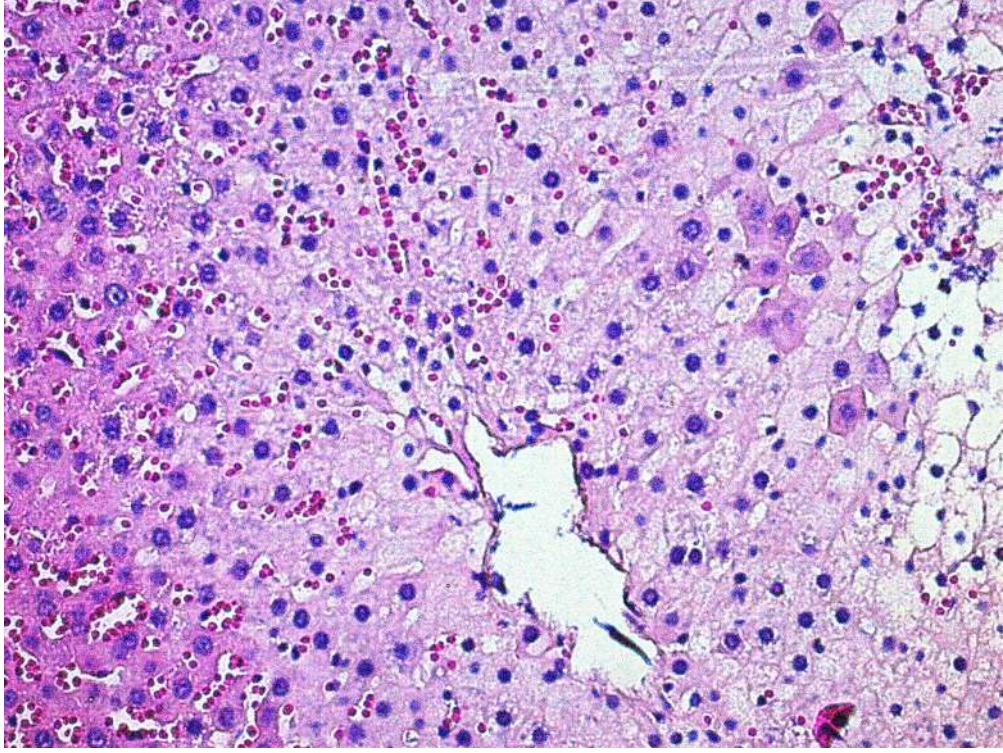
Resim 6. Endostein grubu: Portal alanda nötrofil ve eozinofil lökositlerin baskın olduğu mikst tipte inflamatuvar hücreler görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X200).



Resim 7. Endostein grubu: Hepatik parankimde perisellüler lokalizasyonda mikst tipte lökositik infiltrasyon odağı görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X200).



Resim 8. Endostein grubu: Karaciğer parankiminde hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu yanı sıra nükleer piknoz ve sitoplazmik eozinofili ile karakterize orta derecede hepatik zedelenme bulguları görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X100).



Resim 9. Endostein grubu: Santral ven çevresinde hepatosit kordonlarında bozulma, koagülatif nekroz ve belirgin sinüzoidal konjesyon ile karakterize ağır derecede hepatik zedelenme bulguları görülmektedir (Hematoksilen-Eozin, X100).

4.2. Histopatolojik Sonuç

- I. Sham grubunda nonspesifik bir hepatit tablosu mevcuttu. Bu nedenle Endostein grubuna benzer bir parankimal lökositik infiltrasyon izlendi.
- II. İskemi- reperfüzyon grubunda iskemik hasar endostein grubuna göre daha az olduğu izlendi.
- III. Endostein grubunda sinüzoidal konjesyon ve dilatasyon azalmıştı. İnflamatuvar hücre varlığı kontrol grubuna göre daha fazla izlendi.

4.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Biyokimyasal ve patolojik değişkenler bakımından gruplar arasındaki

farklılıklar Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4.3.1. İstatistiksel bulgular

Her üç gruptaki tüm ratlarda cerrahi işlem sırasında eksitus olmadı. Gruplar arasında cinsiyet ve denek ağırlıkları birbirine benzerdi.

Alınan kan örneklerinin analizinde TAC bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). İkili karşılaştırmalar sonucunda sham grubunun değerlerinin erdosteine ve HIRH grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. Erdosteine ve HIRH grupları arasındaki fark anlamlı değildi.

MDA bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.009$). İkili karşılaştırmalar sonucunda HIRH grubunun değerlerinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. Diğer karşılaştırmalar anlamlı bulunmadı.

ALT bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı ($p<0.001$). İkili karşılaştırmalar sonucunda üç grubun değerlerinin birbirlerinden anlamlı derecede farklı olduğu gözlemlendi.

AST ve GGT seviyeleri bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı ($p<0.001$) bulundu. Kontrol grubu değerlerinin diğer iki gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi. Erdosteine ve HIRH grupları arasındaki fark anlamlı bulunmadı.

Histopatolojik değerlendirmede; hepatik parankimdeki lökositik infiltrasyon derecesi bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.098$).

Nötrofil lökosit infiltrasyonu bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.002$). İkili karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun değerlerinin erdosteine ve HIRH grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. Erdosteine ve HIRH grupları arasındaki fark anlamlı değildi.

Apopitozis bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.014$). İkili karşılaştırmalar sonucunda HIRH grubu değerlerinin sham ve Erdosteine grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. Kontrol ve Erdosteine grupları arasındaki fark anlamlı değildi.

İskemik koagülatif nekroz, hepatik sinüzoidlerin dilatasyonu ve konjesyonu ve hepatositlerde balonlaşma dejenerasyon'u bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). İkili karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun değerlerinin erdosteine ve HIRH grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. Erdosteine ve HIRH grupları arasındaki fark anlamlı değildi.

Kolestaz bakımından üç grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.008$). İkili karşılaştırmalar sonucunda sham grubu ve HIRH grubu arasındaki fark anlamlı bulunurken diğer karşılaştırmalar anlamlı bulunmadı.

Doku TAC bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.026$). İkili karşılaştırmalar sonucunda HIRH grubu değerlerinin kontrol ve Erdosteine gruplarına göre anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. Kontrol ve Erdosteine grupları arasındaki fark anlamlı bulunmadı.

Doku MDA bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.605$).

Tablo 1. IRH ve Karaciğer hücre hasarı belirteçleri.

Kanda	Sham	HIRH	Erdosteine	p
TAC	2,44±0,65	1,89±0,34	1,34±0,35	<0,001
MDA	3,67±0,45	4,88±1,29	6,08±1,93	0,009
ALT	102,4±11,08	2020,75±1572,95	1449,33±1443,87	<0,001
AST	132,1±13,6	2092,25±2578,88	1926,22±2324,04	<0,001
GGT	1,63±0,53	9,38±15,83	9,44±14,55	0,001

Tablo 2. Dokuda TAC ve MDA seviyeleri ölçümü.

Grup	(n)	Median	Minimum	Maximum	p
Doku TAC	Sham (8)	243,5000	158,00	310,00	0.026
	HIRH (8)	162,0000	51,00	250,00	
	Erd (8)	246,5000	140,00	404,00	
Doku MDA	Sham (8)	2,4900	2,19	2,75	0.605
	HIRH (8)	3,1700	0,99	4,90	
	Erd (8)	2,5200	1,57	4,64	

Tablo 3. Histopatolojik değerlendirme

Histo-patolojik inceleme	Sham	HIRH	Erdosteine	p
Lökosit infiltrasyonu	0,90±0,74	1,43±0,53	0,80±0,42	0,098
Nötrofil lökosit infiltrasyonu	0,20±0,42	1,29±0,49	0,90±0,57	0,002
İskemik koagulatif nekroz	0,00±0,00	1,86±0,90	1,70±0,82	<0,001
Balonlaşma	0,60±0,51	2,00±0,00	1,70±0,82	<0,001
Kolestaz	0,00±0,00	0,86±0,69	0,40±0,51	0,008
Dilatasyon-Konjesyon	0,10±0,31	2,20±0,63	1,71±0,49	<0,001

5. TARTIŞMA

Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı komplike cerrahi girişimler, major travma ve transplantasyon olgularında oldukça sık görülmektedir. Oluşabilen hasarı azaltmak için prosedürel değişikliklerin (19) yanında koruyucu kimyasal maddelerin kullanımı söz konusu olmuştur. Antioksidan özellikteki bu maddelerin iskemi oluşmadan önce verilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (79). Ancak iskemi reperfüzyon hasarı gelişimi halen tam olarak önlenememiştir. Bu konuda deneysel çalışmalar halen devam etmektedir.

İnsan karaciğerine birçok açıdan en çok benzeyen domuz karaciğeri olmakla birlikte (6), deneysel amaçla domuz temini ve bakımı daha zor olduğundan hemen her hayvan deneyi laboratuvarında kolaylıkla temin edilip, bakılabilen ve histolojik olarak insan karaciğerine benzeyen (7) rat karaciğeri üzerinde bu deneysel çalışma planlandı.

Farklı iskemi reperfüzyon modelleri tarif edilmiştir. Önkoşullama ile birlikte ya da önkoşullama uygulanmaksızın iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan deneysel modeller mevcuttur. Hepatoduodenal ligamının klempajı ile total karaciğer iskemisi oluşturulabilir. Ancak ortaya çıkan splanknik konjesyon ratlarda kolay tolere edilmez (19). Bu nedenle ratlarda daha iyi tolere edilen median ve sol lateral loba giden portal ve arteriyel akımın klempajı ile gerçekleştirilen parsiyel karaciğer iskemisi oluşturulması tercih edilmiştir (19).

İskemi reperfüzyon hasarının oluşumunda en çok serbest radikaller suçlanmaktadır. Serbest radikaller hücrede yapısal ve fonksiyonel harabiyete yol açmaktadırlar. Oksidatif stres genel olarak prooksidanların antioksidanlardan daha baskın hale gelerek hücresel yaralanma potansiyeli oluşturmaktadır (73). Bu yaralanmanın ortaya çıkmasında serbest radikal düzeyi ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki denge belirleyici olur. Dışarıdan antioksidan verilmesi durumunda teorik olarak karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarı oluşumunun azalacağı düşünülebilir. Organizmada ortaya çıkan iskemi reperfüzyon hasarını değerlendirmede bazı belirteçler (80) ve histolojik değişimler dikkate alınır. Biz bu

çalışmada karaciğer hücre harabiyetinin biyo belirteçlerinin yanı sıra MDA seviyesi, Total antioksidan aktivite ve histolojik değerlendirmelerden faydalandık.

Erdostein içerdiği thiol grupları sayesinde serbest oksijen radikallerini inhibe etmekte aynı zamanda da glutatyon gibi endojen antioksidanların yapımını arttırarak antioksidan etki göstermektedir(Erdostin prospektüs'ü). Erdosteinin farklı deneylerle çeşitli dokular üzerinde I/R hasarı üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Erdosteinin renal I/R hasarında (81, 82, 83), İntestinal I/R hasarında , serebral I/R hasarında(84), testis torsiyonunda(85) iskemi ve reperfüzyonun oluşturduğu hasarlanmadan koruyucu etkileri olduğu görülmüştür. Pubmed taraması yaptığımızda karaciğer I/R hasarı üzerine erdosteinin etkisinin araştırıldığı bir çalışma henüz yoktur. Yeşildağ ve arkadaşları(86) yaptıkları deneysel çalışmada radiokontrast materyallerin meydana getirdiği karaciğer hasarına karşı erdostein uygulanmasıyla enzimatik antioksidan sistem yoluyla ROS üretimi inhibe edilerek karaciğer üzerine toksik etkileri azalttığını görmüşlerdir. Yaptığımız bu çalışmada antienflamatuvar, antioksidan etkili erdosteinin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkileri araştırılmıştır.

Serum ALT, AST ve GGT değerleri karşılaştırıldığında HIRH ve erdostein gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde transaminaz seviyeleri artarken ikili karşılaştırmalarda serum transaminaz değerleri HIRH ve erdostein grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi. Aslan ve ark.(87) Pentoksifilin ile yaptıkları çalışmada pentoksifilinin I/R hasarına karşı hepatoprotektif etkileri olduğunu, serum transaminaz seviyelerinin anlamlı olarak daha düşük olduğunu bulmuşlardır.

Total antioksidan kapasite HIRH ve erdostein grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azalmıştı($p<0.001$). Erdosteine ve HIRH grupları arasındaki fark anlamlı değildi. Bu çalışmada erdostein verilmesinin total antioksidan kapasiteyi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttırmadığını gördük. Lee ve arkadaşları (81) renal I/R hasarı üzerine erdosteinin etkilerini araştırdıkları deneysel çalışmalarında, erdostein uygulamasıyla glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktivitelerinde düşme olmadığı ve ROS yıkılarak hasarın azaltıldığını öne sürmüşlerdir.

İskemi-reperfüzyon hasarlanmasının ROS tetiklediği kemokin ve sitokinlerin etkin rol aldığı enflamasyonla başladığı bilinmektedir. Bunu reperfüzyonun geç döneminde nötrofil aracılı yaralanma takip etmektedir(88). Yaptığımız bu çalışmada nötrofil lökosit infiltrasyonu kontrol grubunda diğer iki gruba kıyasla anlamlı olarak daha azdı ($p=0.002$). Lökositlerin artması homeostazisin bozulması ve iskemiye yanıt olarak ortaya çıkmaktadır. Bu cevap homeostazisi yeniden sağlamak yerine hücre ölümüne kadar giden yaralanmaya neden olabilmektedir. Ancak ikili karşılaştırmalarda erdosteine grubu ile HIRH grubu arasında nötrofil lökosit infiltrasyonu açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Sırmalı ve arkadaşları (89) I/R uzak organ hasarını değerlendirdikleri deneysel çalışmada her iki arka ekstremitesinde I/R gerçekleştirilen ratlarda erdosteine verilmesine bağlı olarak akciğer dokusunda anlamlı ölçüde daha az nötrofil lökosit infiltrasyonu saptamışlardır.

MDA seviyesinin artması lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir (90,91,92). Bu çalışmada erdosteine verilmesinin ratlarda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı modelinde lipid peroksidasyonu ve hücre harabiyetini önlemede istatistiksel anlamlı farklılık oluşturmadığını gördük. Yeşildağ ve ark(86) radyokontrast ajanların karaciğer üzerine toksik etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında erdosteine uygulanmasıyla lipid peroksidasyon ürünleri oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı azalma saptamışlardır. Kurtoğlu ve arkadaşları(93) aortik klempaj ile oluşturdukları alt ekstremité iskemi reperfüzyonun akciğer üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında erdosteine verilmesi ile MDA seviyesinde düşüş olduğunu saptamışlar ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Kolestaz ve doku MDA bakımından HIRH grubu ve erdosteine grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı.

İskemik koagülatif nekroz, apoptozis, hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu, sinuzoidlerin dilatasyonu ve konjesyonu değerlendirildiğinde; Erdosteine ve HIRH grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Yeşildağ ve arkadaşları (86) radyokontrast maddelerin hepatotoksik etkilerini önlemek için erdosteine verdikleri ratlarda histopatolojik olarak daha az hücresel harabiyet

saptamışlardır. Karaciğerde I/R hasarını önlemede erdosteın kullanımı ile ilgili başka çalışma görölmemiştir.

6. SONUÇ

Erdosteine verilmesinin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırdığımız bu çalışmada; serum transaminazları, TAC, MDA ve histopatolojik parametreler değerlendirildiğinde erdosteine karaciğer iskemi reperfüzyon hasarını önlemede kısmen katkısı olsa da farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. Erdosteine karaciğer I/R 'nı önlemede etkisinin daha geniş örneklem grubunda, fark sürelerde iskemi reperfüzyon uygulamalarıyla sınanması uygun olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- 1- Serracino Inglott F, Habib NA, Mathie RT, Hepatic ischemia reperfusion injury. Am J Surg, 181:160-166, 2001
- 2- Chamoun F, Burne M, Rabb H, Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. Front Biosci. 5:E103-109, 2000
- 3- Carden DL, Granger DN, Pathophysiology of ischemia reperfusion injury. J Pathol, 190:255-66, 2000
- 4- Bulkley, G. B. "Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review." The British journal of cancer. Supplement 8 : 66;1987
- 5- Jaesche H. Molecular mechanism of hepatic ischemia reperfusion injury and preconditioning. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 284:G15–G26;2003
- 6- Schantz LD, Laber-Laird K, Bingel SA, Swindle MM. Pigs. In: Essentials of experimental surgery:Gastroenterology.. Eds: Jensen SL, Gregersen H, Shokouh-Amiri MH, Moody FG. Harwood Academic Publishers,, Amsterdam, 1996.
- 7- Smith JC. Rats. In: Essentials of experimental surgery: Gastroenterology. Eds: Jensen SL, Gregersen H, Shokouh-Amirii MH, Moody FG. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1996.
- 8- Martins P N A, Neuhaus P, Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. Liver International 384-392 DOI:10.1111/j.1478-3231.2006.01414.x; 2007
- 9- Lorente L, Aller MA, Rodriguez J, et al. Surgical anatomy of the liver in Wistar rats. Surg Res Commun. 17: 113–21; 1995
- 10- Kongure K, Ishizaki M, Nemoto M, Kuwano H, Makuuchi M. A comparative study of the anatomy of the rat and human livers. J Hepatobiliary Pancreat Surg 6: 171–5; 1999

- 11- AOKAİNC Anatomy Systems » Liver Anatomy » liver anatomy October 24, 2013
- 12- Edoctoronline.com/medical-atlas.asp?c=4&id= title=Liver anatomy>Liver anatomy;2010
- 13- Sielaff TD, Curley SA. Chapter 30 pp1139-1186 “Liver” IN: Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE. (Eds) Schwartz’s Principles of Surgery, eighth edition, Mc Graw-Hill Medical Publishing, 2005.
- 14- Couinaud C : le foie . Etudes anatomiques et chirurgicales. Paris mason & cie,p1; 1953
- 15- Otero AC, Strasberg SM: division of the left hemiliver in man segments, sectors, or sections liver transp surg 4:226,1998
- 16- Randle PJ. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glukoz fatty acid cycle after 35 years diabetes metab rev 14:263,1998
- 17- Majino G, Joiris I. Apoptosis, oncosis and necrosis: An overview of the death cell. Am J Pathol. 146:3-9, 1995
- 18- Pringle JH. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. Ann Surg; 48: 541-549, 1908.
- 19- Hardy KJ, Tancheroen S, Shulkes A. Comparison of continuous versus intermittent ischaemia-reperfusion during liver resection in an experimental model. Br J Surg. ;82(6):833-836,1995. PMID:7627525
- 20- Murry, C.E., Jennings, R.B., Reimer, K.A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium, Circulation; 74, 1124, 1986
- 21- Gao C, Chai W, Xu L, Zhang G, Zhang H, Han L, Sun X. Protective Effects of Hyperoxygenated Solution Preconditioning on Intestinal Ischemia–Reperfusion Injury in Rabbits. J Surg Res 135(2):268–274; 2006

- 22- Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusioninjury. *SurgClin North Am* 72: 65-83; 1992
- 23- Wilhelm J. Metabolicaspects of membranelipidperoxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 137:1-53; 1990
- 24- Harton JW, Walker PB; Oxygenradicals, lipid peroxidation and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion. *J Appl.* 74:1515-1520, 1993
- 25- Collard CD, Gehran S. Phatophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia reperfusion injury. *Anest* 94:1122-1138, 2001
- 26- Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 42: 225-246; 1991
- 27- Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun*7: 255-64; 1989
- 28- Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 32 Suppl: S33-42; 1992
- 29- Kuboki S., Shin T., Huber N., Eismann T., Galloway E., Schuster R., Blanchard J., Edwards M. J., Lentsch A. B. Hepatocyte signaling through CXC chemokine receptor-2 is detrimental to liver recovery after ischemia/reperfusion in mice. *Hepatology* 48, 1213–1223. doi: 10.1002/hep.22471. [PMCID: PMC2695827] [PubMed: 18688883]; 2008
- 30- Toledo-Pereyra LH. Organ Preservation for Transplantation. 3rd ed. Austin, TX: Landes Bioscience; 2010.
- 31- Roy R.S., McCord J.M. Superoxide and ischemia:conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. In *Oxy Radicals and Their Scavenger Systems: Cellular and MedicalAspects II*, Greenwald, R.A. & Cohen, G. (eds) p. 145. NewYork: Elsevier Science; 1983

- 32- Granger, D.N., Rutili, G. & McCord, J.M. Superoxideradicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 81, 22; 1981
- 33- McCORD, J.M. The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. *Surgery*, 94, 412; 1983
- 34- Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 14:195-203; 1997
- 35- Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 15: 293-306; 2001
- 36- Acworth IN, Bailey B. Reactive Oxygen Species. In: *The handbook of oxidative metabolism*. Massachusetts: ESA Inc. pp 1-4; 1997
- 37- Erenel G, Erbas D, Arıcıoğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi tıp dergisi*, 3: 243-250; 1992
- 38- McCord, J.M. & Fridovich, I. An enzymatic function for erythrocyte superoxide dismutase (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244, 6049; 1969
- 39- Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*, 9: 526-533; 1995
- 40- Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci*, 939: 200-215; 2001
- 41- Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential effect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol*, 3: 348-354; 1995
- 42- Lopez-Neblina F, Paez-Rollos AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J Surg Res*, 61: 469-472; 1996

- 43- Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 97: 738-747; 2007
- 44- Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull*, 70: 71-86; 2004
- 45- Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27: 2514-2523; 2007
- 46- Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 61:481-497; 2004
- 47- Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med*, 21: 1376-1386; 1993
- 48- Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg*, 83: 162-170; 1996
- 49- Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 376, 1-43; 2007
- 50- Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol*, 16(4 Suppl 1): I19-26; 1993
- 51- Bromley S. K., Mempel T. R., Luster A. D. Orchestrating the orchestrators: chemokines in control of T cell traffic. *Nat. Immunol.* 9, 970–980. doi: 10.1038/ni.f.213. [PubMed: 18711434] ; 2008
- 52- Zlotnik A., Burkhardt A. M., Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 597–606. doi: 10.1038/nri3049. [PubMed: 21866172] ; 2011

- 53- Mukaida N., Baba T. Chemokines in tumor development and progression. *Exp. Cell Res.* 318, 95–102. doi: 10.1016/j.yexcr.2011.10.012. [PubMed: 22036649] ; 2012
- 54- Karlmark K. R., Wasmuth H. E., Trautwein C., Tacke F. Chemokine-directed immune cell infiltration in acute and chronic liver disease. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2, 233–242. doi: 10.1586/17474124.2.2.233. [PubMed: 19072358] ; 2008
- 55- Zaldivar M. M., Berres M. L., Sahin H., Nellen A., Heinrichs D., Schmitz P., Gassler N., Streetz K. L., Trautwein C., Wasmuth H. E. The chemokine receptor CXCR3 limits injury after acute toxic liver damage. *Lab. Invest.* 92, 724–734. doi: 10.1038/labinvest.2012.48. [PubMed: 22430509] ; 2012
- 56- Possamai L. A., Antoniadou C. G., Anstee Q. M., Quaglia A., Vergani D., Thursz M., Wendon J. Role of monocytes and macrophages in experimental and human acute liver failure. *World J. Gastroenterol.* 16, 1811–1819. doi: 10.3748/wjg.v16.i15.1811. [PMCID: PMC2856819] [PubMed: 20397256] ; 2010
- 57- Kobayashi Y. The role of chemokines in neutrophil biology. *Front. Biosci.* 13, 2400–2407. doi: 10.2741/2853. [PubMed: 17981721] ; 2008
- 58- Horiguchi K., Kitagawa-Sakakida S., Sawa Y., Li Z. Z., Fukushima N., Shirakura R., Matsuda H. Selective chemokine and receptor gene expressions in allografts that develop transplant vasculopathy. *J. Heart Lung Transplant.* 21, 1090–1100. doi: 10.1016/S1053-2498(02)00443-6. [PubMed: 12398874] ; 2002
- 59- Santiago B., Calonge E., Del Rey M. J., Gutierrez-Canas I., Izquierdo E., Usategui A., Galindo M., Alcamí J., Pablos J. L. CXCL12 gene expression is upregulated by hypoxia and growth arrest but not by inflammatory cytokines in rheumatoid synovial fibroblasts. *Cytokine* 53, 184–190. doi: 10.1016/j.cyto.2010.06.006. [PubMed: 20609598] ; 2011

- 60- Efsen E., Grappone C., Defranco R. M., Milani S., Romanelli R. G., Bonacchi A., Caligiuri A., Failli P., Annunziato F., Pagliai G., Pinzani M., Laffi G., Gentilini P., Marra F;2002
- 61- Aoyama T., Inokuchi S., Brenner D. A., Seki E. CX3CL1-CX3CR1 interaction prevents carbon tetrachloride-induced liver inflammation and fibrosis in mice. *Hepatology* 52, 1390–1400. doi: 10.1002/hep.23795. [PMCID: PMC2947579] [PubMed: 20683935] ; 2010
- 62- Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses*, 68: 1363-1370; 2007
- 63- Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, GrangerDN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *MicrovascRes*, 42: 125-138; 1991
- 64- Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, StanimirovicD. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebro microvascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol*, 101:148-160; 1999
- 65- Beal AL, Cerra FB. Multiple organ failure syndrome in the 1990s. Systemic inflammatory response and organ dysfunction. *JAMA*,271:226; 1994
- 66- García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, SalcedoA, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol*,48:109-114; 2008
- 67- Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitricoxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg*, 22: 46-55; 2009
- 68- Sener G, Sakarcan A, Yegen BC. Role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury. *Mol Nutr Food Res*, 51: 1345-1352; 2007

- 69- Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS*,115:81-103; 2007
- 70- Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem*, 15: 1236-1248; 2008
- 71- Mickle DA, Weisel RD. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol*, 9: 89-93; 1993
- 72- Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev*, 54: 375-429; 2002
- 73- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39: 44-84; 2007
- 74- Şehirli AO. Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarında Melatonin'in Koruyucu Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. T.C. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2001.
- 75- Akkuş İ, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Baskı, Mimoza Yayınları, s.1-60; 1995
- 76- Liang R, Nickkholgh A, Kern M, Schneider H, Benzing S, Zorn M, Büchler MW, Schemmer P. Green tea extract ameliorates reperfusion injury to rat livers after warm ischemia in a dose-dependent manner.
- 77- de Fraga R:S, Camacho V.R.R, G.F. Souza, Cerski S, de Oliveira JR, de Oliveira MG, Álvares-da-Silva MR. S-Nitroso-N-Acetylcysteine: A Promising Drug for Early Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Liver. *Transplantation Proceedings*, 42, 4491–4495 ;2010. doi:10.1016/j.transproceed.2010.09.152
- 78- Sözen S, Kısakürek M, Yıldız F, Gönültaş M, Dinçel AS. The effects of glutamine on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Hippokratia*. 15(2):161-166. 2011.PMID:22110300

- 79- Fukai M, Hayashi T, Yokota R, Shimamura T, Suzuki T, Taniguchi M, Matsushita M, Furukawa H, Todo S. Lipid peroxidation during ischemia depends on ischemia time in warm ischemia and reperfusion of rat liver. Free Radic Biol Med. May 15;38(10):1372-81; 2005
- 80- Eken A. Rat Kan Ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri"" , "Küçük Deney Hayvanlarından Rat". Yücel O., Genç O., Ed., Derman Tıbbi Yayıncılık, Ankara, ss.69-73, 2012
- 81- H.T. Lee, A. Ota-Setlik, H. Xu, V.D. D'Agati, M.A. Jacobson, C.W. Emala A₃ adenosine receptor knockout mice are protected against ischemia- and myoglobinuria-induced renal failure American Journal of Physiology, 284 , pp. F267–F273; 2003
- 82- Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Ucar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. Urol Res 34: 41–46,2006. DOI 10.1007/s00240-005-0031-3
- 83- Yurdakul T, Kulaksizoglu H, Pişkin MM, Avunduk MC, Ertemli E, Gökçe G, Barışkaner H, Büyükbaş S, Kocabas V. Combination antioxidant effect of a-tocoferol and erdosteine in ischemia–reperfusion injury in rat model. Int Urol Nephrol 42:647–655 DOI 10.1007/s11255-009-9641-y; 2010
- 84- Ozerol E, Bilgic S, Iraz M, Cigli A, İlhan A, Akyol O. The protective effect of erdosteine on short-term global brain ischemia/reperfusion injury in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009 Feb 1;33(1):20-4. doi: 10.1016/j.pnpbp.2008.09.024. Epub 2008 Oct 8. PMID: 18930779; 2009
- 85- Koc A, Narci A, Duru M, Gergerlioglu HS, Akaydin Y, Sogut S. The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. Mol Cell Biochem. Dec;280(1-2):193-9. PMID: 16311923; 2005
- 86- Yesildağ A, Ozden A, Yilmaz HR, Uz E, Ağackiran Y, Yesildağ M, Yilmaz N, Sirmali R, Vural H, Naziroğlu M. Erdosteine modulates radiocontrast-induced

hepatotoxicity in rat. *Cell Biochem Funct.* 27(3):142-147;2009. doi:10.1002/cbf.1546. PMID:19277994

87- Aslan A, Karagüzel G, Çelik M, Uysal N, Yücel G, Melikoglu M. Pentoxifylline Contributes to the Hepatic Cytoprotective Process in Rats Undergoing Hepatic Ischemia and Reperfusion Injury. *Eur Surg Res* 2001;33:285–290; 2001 (DOI: 10.1159/000049719)

88- Jaeschke, H. Mechanisms of liver injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 290, 1083-1088; 2006

89- Sırmalı M, Uz E, Sırmalı R, Kılbas A, Yılmaz HR, Ağaçkiran Y, Altuntas I, Delibas N, The Effects of Erdosteine on Lung Injury Induced by the Ischemia-Reperfusion of the Hind-Limbs in Rats. *Journal of Surgical Research* 145, 303–307 (2008), doi:10.1016/j.jss.2007.02.027

90- Draper HH, Hadley M. Malonaldehyde determination as index of lipid peroxidation In: Parcker L, Glazer A, eds. *Methods in Enzymology*, Vol 186. New York: Academic Press, 421–431; 1991

91- Sizlan A, Guven A, Uysal B, Yanarates O, Atim A, Oztas E, Cosar A, Korkmaz A. Proanthocyanidin protects intestine and remote organs against mesenteric ischemia/reperfusion injury.

92- Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease.

93- Kurtoglu T, Sacar M, Inan BK, Duver MH, Guler A, Ucak A, Us MH, Yilmaz AT. Erdosteine ameliorates lung injury induced by transient aortic occlusion in rats. *Cardiovasc J Afr.* 2007 Nov-Dec;18(6):367-70. PMID:18092111; 200

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 09/03/2011
TOPLANTI NO : 2011/01

- 6- Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, 2011-06-09/03 Protokol nolu "Deneysel Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Erdosteine'in Etkisi" konulu çalışmasının ZKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Z. Nur Banoğlu", is written over the printed name.

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı