

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
CURCUMİN'İN KARACİĞER VE UZAK ORGAN ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

Dr. ABDULLAH OĞUZ

TEZ YÖNETİCİSİ
YRD. DOÇ. DR. MURAT KAPAN

DİYARBAKIR - 2010

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
CURCUMİN'İN KARACİĞER VE UZAK ORGAN ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

Dr. ABDULLAH OĞUZ

TEZ YÖNETİCİSİ
YRD.DOÇ.DR.MURAT KAPAN

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından
10-TF-02 proje numarası ile desteklenmiştir.

DİYARBAKIR, 2010

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
TABLolar DİZİNİ.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
KISALTMALAR.....	VI
ÖZET.....	VIII
SUMMARY.....	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Karaciğer anatomisi.....	2
2.2. Karaciğer Fonksiyonel Ünitesi	5
2.3.Karaciğerin Lobları ve Segmentleri.....	6
2.4.Karaciğerin HistolojikYapısı.....	8
2.4.1.Hepatosit	
2.4.2.Endotelial Hücreler	
2.4.3.Kupffer Hücreleri	
2.4.4.Presinüzoidal Hücreler (İto Hücreleri)	
2.4.5.Karaciğer Sinüzoidleri ve Disse Aralığı	
2.5.Karaciğerin Fizyolojisi.....	10
2.6. Pringle Manevrası	10
2.7. İskemi Ve Reperfüzyon.....	11
2.7.1. İskemi	
2.7.2. Reperfüzyon Hasarı	
2.7.3. İskemik –Reperfüzyon Hasarına Neden Olan Faktörler	
2.8. karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi.....	24
2.8.1. Serbest oksijen rarikallerinin rolü	
2.8.2. Endotelin ve Nitrik Oksit'in (NO) rolü	
2.8.3. Nötrofiller ve adezyon moleküllerinin rolü	
2.8.4. Proinflamatuvar ve Anti-inflamatuvar mediatörlerin rolü	
2.8.5.Lipid mediatörler	
2.8.6.Kupffer Hücreleri	
2.9. Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	31
2.9.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)	

2.9.2.Katalaz	
2.9.3.Glutatyon Peroksidaz	
2.9.4.Glutatyon Redüktaz	
2.9.5.Sitokrom Oksidaz	
2.10. Curcumin.....	32
2.10.1.Metabolizması	
2.10.2.Moleküler Özellikleri	
2.10.3.Curcuminin Etkileri	
2.10.4.Güvenlik	
3.MATERYAL VE METOD.....	37
4.BULGULAR.....	43
5.TARTIŞMA.....	56
6.SONUÇ.....	65
KAYNAKLAR.....	66

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 1. Plazma AOA ve MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	44
Tablo 2. Karaciğer dokusunda AOA, TOA ve histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı.....	47
Tablo 3. Böbrek dokusunda AOA, TOA ve histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı.....	50
Tablo 4. Akciğer dokusunda AOA, TOA ve histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı.....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1. karaciğer Anatomisi.....	3
Şekil 2. Karaciğer sinüzoidi, portal triad ve karaciğer zonları	6
Şekil 3. Karaciğer Segmentleri	7
Şekil 4. Karaciğerin hepatik venlere göre sektörlere ayrılması.....	8
Şekil 5. Pringle manevrasının şematize edilmesi.....	10
Şekil 6. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları.....	12
Şekil 7. İskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisi.....	18
Şekil 8.SR'lerin Hücrede Oluşturdukları Hasarın Şematize edilmesi.....	20
Şekil 9. Lökosit-endotel etkileşiminde lökosit adhezyon molekülleri ve lökosit göçünün şematize edilmesi.....	21
Şekil 10.I/R zedelenmesinin mekanizması.....	25
Şekil 11 . Curcuminin kimyasal yapısı.....	33
Şekil 12. Curcuminin Etkileri	34
Şekil13. Batın traşı yapılarak, insizyon bölgesinin Betadine ile boyanması.....	38
Şekil 14. Hepatoduedonal ligamanın diseke edilmesi.....	38
Şekil 15. Pringle manevrası ile hepatoduedonal ligamanın askıya alınması.....	39
Şekil 16. Plazma AOA düzeylerinin gruplar arasında dağılımı.....	43
Şekil 17. Plazma MDA düzeylerinin gruplar arasında dağılımı.....	44
Şekil 18. Karaciğer dokusunda gruplar arasında AOA değerlerinin dağılımı.....	45
Şekil 19. Karaciğer dokusu TOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı.....	46
Şekil 20. Karaciğer dokusuna ait histopatolojik değerlendirme bulgularının gruplar arasında dağılımı.....	47
Şekil 21. Böbrek dokusunda gruplar arasında AOA değerlerinin dağılımı.....	48
Şekil 22. Böbrek dokusunda TOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı.....	49
Şekil 23. Böbrek dokusuna ait histopatolojik değerlendirme bulgularının gruplar arasında dağılımı.....	50
Şekil24. Akciğer dokusunda AOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı.....	51

Şekil 25. Akciğer dokusunda TOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı.....	52
Şekil 26. Akciğer dokusuna ait histopatolojik değerlendirme bulguların gruplar arasında dağılımı.....	53
Şekil 27. Karaciğer ve böbrek dokusuna ait total oksidan aktive arasındaki.....	54
Şekil 28. Karaciğer ve akciğer dokusuna ait total oksidan aktive arasındaki ilişki.....	55
Şekil 29. Sham, karaciğer; patolojik bulgular	59
Şekil 30. Kontrol, karaciğer; patolojik bulgular	59
Şekil 31. İskemi/Reperfüzyon, karaciğer; patolojik bulgular.....	60
Şekil 32. İskemi/Reperfüzyon+Curcumin, karaciğer: patolojik bulgular	60
Şekil 33. Sham, böbrek; patolojik bulgular	61
Şekil 34. Kontrol, böbrek; patolojik bulgular	61
Şekil 35. İskemi/Reperfüzyon, böbrek; patolojik bulgular	62
Şekil 36. İskemi/Reperfüzyon +Curcumin, böbrek; patolojik bulgular	62
Şekil 37. Sham, akciğer; patolojik bulgular.....	63
Şekil 38. Kontrol; akciğer; patolojik bulgular.....	63
Şekil 39. İskemi/Reperfüzyon, akciğer; patolojik bulgular.....	64
Şekil 40. İskemi/Reperfüzyon+Curcumin, akciğer; patolojik bulgular.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA :Arasidonikasit
AOA: Antioksidan Aktivite
ARDS :Ani solunum sıkıntısı sendromu
AST:aspartat transaminaz
ATP :Adenozin trifosfat
Ca :Kalsiyum
CUR : Curcumin
C5a :Kompleman5a
DNA :Deoksiribonükleik asit
ELAM-1 :Endotel hücre lökosit adezyon molekülü
ET: Endotelin
E-Selektin: Endotelial selektin
Gprx :Glutasyon peroksidaz
GSH :Glutasyon
GSSG :Okside glutasyon
HPETE :Hidroperoksieikozatetraenoik asit
HOCL :Hipoklorik asit
HOCL :Hipoklorik asit
H2O2 :Hidrojen peroksit
İ/R :İskemi reperfüzyon
İL :İnterlökin
İCAM :İnterasellüler adezyon molekülü
ICAM-1: İnterasellüler adezyon molekülü-1
IL-1: İnterlökin-1
IL-6: İnterlökin-6
IVC: İnterior Vena Cava
KAT :Katalaz
KC :karaciğer makrofajları
LTB4: lökotrien B4
MCP- 1: monosit kemoatraktan protein
MDA: Malondialdehid

NADPH :Nikotinamid adenin nükleotid fosfat

NAD :Nikotinamid dinükleotid

NO: Nitrikoksit

NOS: Nitrikoksit sentetaz

NK :Doğal öldürücü hücreler

O₂:Süperoksit

OH- :Hidroksil radikali

OSI :oksidatif stres indeksi

PAF: Trombosit aktive edici faktör

PMNL :Polimorf Nüveli Lökosit

PG :Prostaglandin

SOD :Süperoksit dismutaz

SR :Serbest radikal

TBA: tiobarbitürik asit

TNF- α :Tümör nekrozis faktör

TXA₂ :Tromboksan A₂

TNF- α :Tümör Nekroz Faktör- α

TOA: Total Oksidan Aktivite

VCAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

ÖZET

Giriş ve Amaç

Karaciğer kan akımının kesilmesi sonucu ortaya çıkan iskemi / reperfüzyon(I/R) hasarının karaciğer ve uzak organlar üzerindeki etkilerinin azaltılmasında doğal bir ürün olan curcuminin etkinliğinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Hepatik iskemi reperfüzyon modellerinde ise; son zamanlarda ülkemiz dâhil birçok merkezde başarıyla uygulanan karaciğer transplantasyonları sonrası ortaya çıkan reperfüzyon hasarlarının mekanizmasının ortaya konması ve buna yönelik yeni yaklaşımları getirilmesine odaklandığını, ayrıca karaciğer ve safra yollarına yönelik yapılan cerrahi girişimler esnasında yapılması zorunlu hale gelen pringle manevrası ile ortaya çıkan karaciğer iskemisine bağlı olarak ortaya çıkan reperfüzyon hasarının engellenmesine yönelik yaklaşımların oluşturulmasını amaçlanmaktadır. Ayrıca ortaya çıkan iskemi reperfüzyon hasarının sadece ilgili organı değil, özellikle akciğer ve böbrek başta olmak üzere diğer organlarında etkilediği ve organizmada sistematik bir yanıtın oluşmasına neden olduğu da bilinmektedir. Bu nedenle aynı ajanın diğer organlar üzerine etkilerinin ortaya konması bu çalışmanın bir diğer hedefidir.

Curcumin (diferuloylmethane), hem antiinflamatuvar hemde antioksidan özellikleri bulunan ve Curcuma Longa (zerdeçal) adı verilen bitkinin esas pigmenti olup fenolik bir birleşiktir. Curcumin'in Vitamin C ve E ile karşılaştırılabilir düzeyde antioksidan aktivitesi bulunduğu, endojen antioksidan savunma enzimlerini arttırdığı ve peroksinitrit (OONO⁻) oluşumunu azalttığı, aynı zamanda reaktif oksijen radikallerinin atımını kolaylaştırdığı ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme etkisi olduğu literatür çalışmalarıyla ortaya konmuştur.

Materyal ve Metot:

Çalışmamızda 10'ar hayvandan 4 grup olmak üzere 40 hayvan kullanıldı. Birinci gruba laparotomi yapıp hiçbir ajan verilmezken ikinci gruba curcumin verildi. Üçüncü gruba laparotomi yapıp hepatoduedonal ligamanın 30 dakika klemplenip, daha sonra 30 dakika reperfüzyon uygulandı. Dördüncü gruba ise üçüncü gruba ek olarak curcumin verildi. Deneysel çalışma sırasında; curcumin kapsülleri açılarak toz halinde hassas terazide tartılarak hayvanlar için gerekli uygun doz oluşturulduktan sonra serum fizyolojik ile sulandırılarak oral gavaj yoluyla iskemiden 15 dakika önce verildi. 1 ve 2.

Gruplarda deney başladıktan 60 dakika sonra, 3 ve 4. Gruplarda reperfüzyon başlangıcından 30 dakika sonra (tüm gruplarda deney süresi 60 dakikadır) biyokimyasal inceleme için kan alınarak hayvanlar sakrifiye edildi. Eş zamanlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularının çıkarılarak biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular:

Plazmanın değerlendirilmesi sonucu; iskemi/reperfüzyon grubu iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuyla karşılaştırıldığında Malonildialdehid (MDA) değerleri daha yüksek, Antioksidan aktivite (AOA) değerleri ise daha düşüktü. MDA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) iken, AOA değerleri arasındaki fark ($p>0.05$) anlamlı değildi. Doku örneklerinin biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirilmesi sonucu; iskemi/reperfüzyon grubu iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuyla karşılaştırıldığında AOA değerlerinin iskem/reperfüzyon + curcumin grubunda daha yüksek, total oksidan aktivitenin (TOA) daha düşük olduğu, histopatolojik skorların daha iyi olduğu görüldü. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$)

Sonuç:

Curcumin hepatik iskemi reperfüzyon hasarının karaciğer ve uzak organlar üzerine etkisini kısmen azaltmasına rağmen, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Anahtar Kelimeler: Hepatik iskemi-reperfüzyon, curcumin, karaciğer, uzak organ

ABSTRACT

Introduction:

We aimed to investigate the impact of the curcumin, a natural product, by the histopathological and biochemical examinations in reducing of the ischemia / reperfusion injury as a result of liver blood flow cutting on the liver and distant organs. Recently, Hepatic ischemia-reperfusion models were focused the prevention from the reperfusion injury and its mechanism after liver transplantation and mandatory pringle maneuver during the liver and bile duct surgery. In addition, Hepatic ischemia reperfusion injury doesn't affect only the relevant organ, affecting other organs especially lungs and kidneys and causes a systematic response in the organism. Therefore, the another goal of this study is to put forward the effects of the same agent on the other organs.

Curcumin (diferuloylmethane), the main pigment of *Curcuma Longa* (turmeric) plant and called a phenolic compound, has anti-inflammatory and antioxidant properties. Curcumin has antioxidant activity, can be compared with Vitamin C and E, increases the endogenous antioxidant defense enzymes, reduces peroxynitrite (OONO-) the formation, expedites the excretion of reactive oxygen radicals and inhibits lipid peroxidation.

Material and Methods:

We used 40 animals, 10 rat for each group, in our study. Ischemia was applied 30-45 min with the hepatoduodenal ligament clamping and then reperfusion is started. Groups are like these; the first group; only laparotomy, the second group; laparotomy and curcumin, the third group; hepatic ischemia-reperfusion and the fourth group; hepatic ischemia-reperfusion and curcumin.

During experimental studies, curcumin capsules were opened and appropriate dose required for animals had been created with the weighing scales. And then the powder was diluted with saline. Fifteen minutes before the ischemia, we gave curcumin through the oral gavage. Sixty minutes after starting the experiment in 1-2 groups, 30 minutes after beginning reperfusion in 3-4 groups (60 minutes after beginning the experiment in all groups), blood was taken from the animals for biochemical analysis and sacrificed in this way. Simultaneously liver, lung and kidney tissue were removed for biochemical and histopathological examination.

Results:

As a result of the Plasma evaluation; malondialdehyde (MDA) values were higher and antioxidant activity (AOA) values were lower in ischemia/reperfusion group compared with ischemia / reperfusion + curcumin group. The difference between MDA levels were significant ($p < 0.001$), while the difference between the values of AOA were not significant ($p > 0.05$). As a result of biochemical and histopathological evaluation of tissue samples; AOA values were higher, total oxidant activity (TOA) values were lower and histopathologic scores were better in ischemia / reperfusion + curcumin group, compared with values of ischemia / reperfusion group. However, these differences were not statistically significant ($p > 0.05$)

Conclusion:

Curcumin was partly to reduce the effects on hepatic ischemia reperfusion injury on the liver and distant organs, , although this difference was not statistically significant.

Keywords: Hepatic ischemia-reperfusion, curcumin, liver, remote organ

1.GİRİŞ ve AMAÇ

İskemi ve takiben reperfüzyon periyodunu içeren bir çok cerrahi girişim teknikleri ve pankreatit, şok ve sepsis gibi hastalıklar tanımlanmıştır. Özellikle karaciğer iskemi/reperfüzyonu hasarı, karaciğer travması, büyük tümör rezeksiyonları, karaciğer transplantasyonu esnasında ortaya çıkabilir. İskemi sırasında ortaya çıkan oksijen yoksunluğu şiddetli hasara yol açtığı gibi, reperfüzyon sırasında reaktif oksijen radikalleri daha fazla hasara yol açmaktadır. (1) Ortaya çıkan iskemik karaciğer hasarı ve sonrasında oluşan reperfüzyon hasarının minimize edilmesi için birçok çalışma yapılmış, birçok ajan kullanılmıştır. Buna rağmen karaciğerin iskemi reperfüzyon hasarı tam olarak çözüm bulamamış bir sorun olarak karşımızda durmaktadır.

Curcumin (diferuloylmethane), hem antiinflamatuvar hemde antioksidan özellikleri bulunan ve Curcuma Longa (zerdeçal) adı verilen bitkinin esas pigmenti olup fenolik bir birleşiktir. Curcuminin, Vitamin C ve E ile karşılaştırılabilir düzeyde antioksidan aktivitesi mevcuttur (2). Birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de süperoksit anyon radikalleri ile nitrojen dioksit radikallerinin ve hidroksil radikallerinin atımını kolaylaştırdığı bilinmektedir (3,4). Bazı çalışmalar curcuminin, vasküler endotelial hücrelerde oksidanların aracı olduğu zararlı etkileri azalttığını ve lipid peroksidasyonunu da birçok hayvan modelinde inhibe edebildiğini gösterilmiştir (5,6). Curcumin uygulanan hayvan modellerinde karaciğer iskemik hasarında artan serum aspartat transaminaz (AST) düzeylerinin de azaldığı ortaya konulmuştur (7). Ayrıca polifenolik bir bileşik olan curcuminin oksidatif strese organizmanın korunmasını sağlayan glutamylcysteine synthetase, glutathione S-transferases ve NADPH:quinone oxidoreductase gibi Faz II detoksifikasyon enzimlerini indüklediği bildirilmiştir (8). Literatür incelendiğinde; curcuminin karaciğer üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar var olmasına rağmen, hepatik iskemi modelleriyle ilgili yapılmış çalışmalar gözümüze çarpmamıştır.

Bu çalışmada amaç; Pringle manevrası sonrası oluşan hepatik iskemi/reperfüzyon hasarının engellenerek minimize edilmesinde ve akciğer ile böbrek gibi uzak organlar üzerine etkilerinin değerlendirilmesinde özellikle antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri ön planda curcuminin ratlara verilmesiyle etkinliğinin araştırılmasıdır. Deneysel olarak iskemi/reperfüzyon oluşturulacak ratlarda; hasar öncesi oral gavaj yoluyla verilecek curcuminin etkinliği kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak başta karaciğer olmak üzere, böbrek ve akciğerlerde alınacak doku ve kan örneklerinin biyokimyasal ve histopatolojik analizi sonucunda incelenerek reel olarak ortaya konulacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer vücut ağırlığının yaklaşık 1/15'ini kapsamaktadır. (1200-1600 gr) Karında sağ üst kadranı doldurur. Karaciğer büyük bir bölümü göğüs kafesi ile korunmaktadır (9).

Karaciğer peritonla kaplı bir organ olmakla beraber safra kesesi yatağı, porta hepatis ve arka yüzeyde Inferior Vena Cava (IVC)'nin sağ komşuluğundaki diyafram ile temas halinde olan bölge (çıplak alan) peritonsuzdur. Bu periton güçlü bir bağ dokusu halindedir ve bu şekilde Glisson Kapsülü olarak adlandırılan kapsülü oluşturur (9).

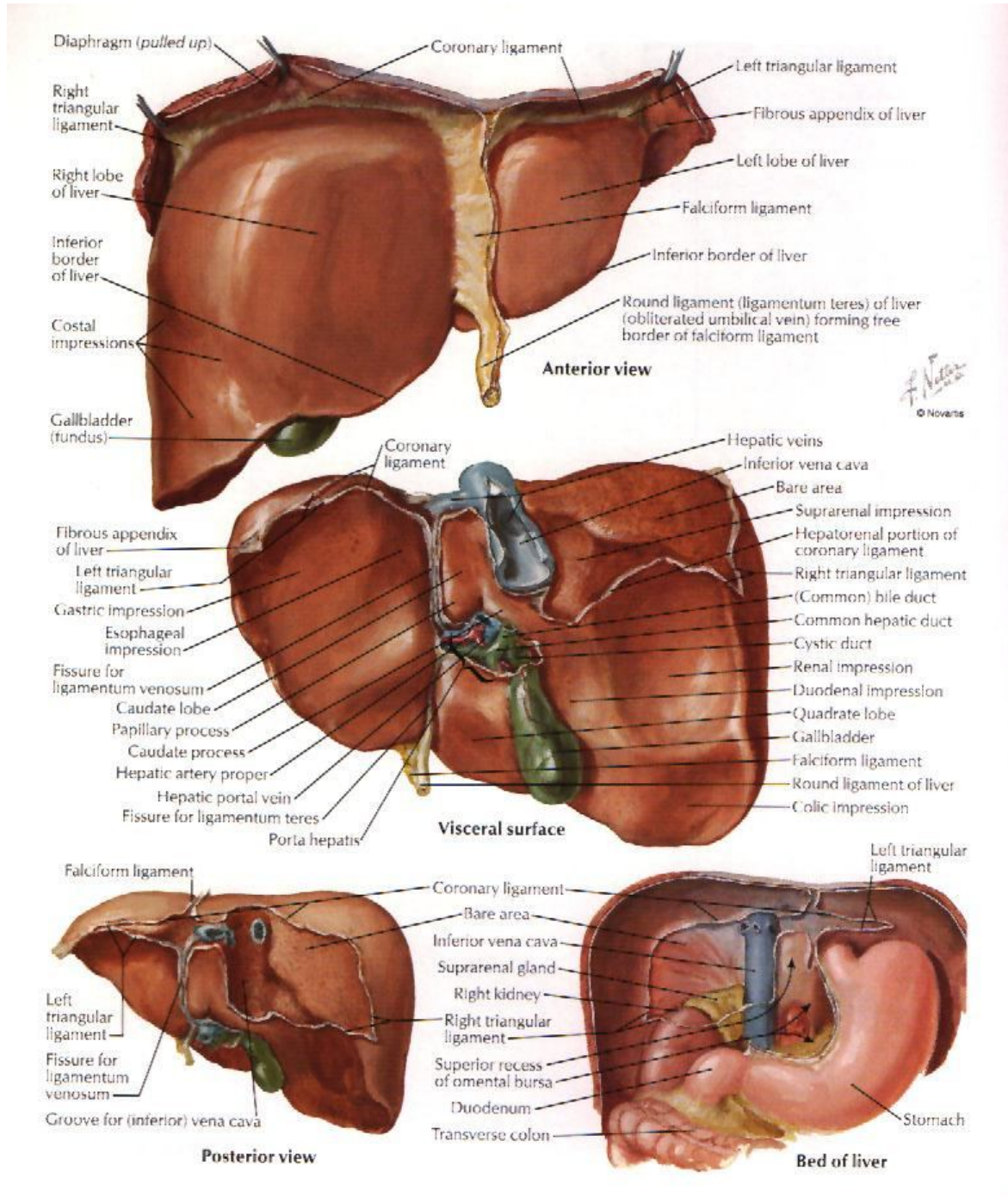
Karaciğerin diafragmatik yüzey ve visseral yüzey olmak üzere iki yüzeyi vardır. Diafragmatik yüzey süperiorda sağ ve sol plevra ve akciğerlerle, ayrıca kalp ve perikard ile komşudur. Posteriorunda IVC ve alt seviye kotları ile, anteriorunda kot kenarları ve ksifoid çıkıntı ile ve sağ lateralde 7-11. kotlar, sağ plevra ve akciğer ile komşuluk gösterir. Bütün bu komşu olduğu organlarla arasında diyafram vardır. Visseral yüzeyde ise komşu olduğu organlar kolon, sağ böbrek, sağ sürrenal bez, safra kesesi, duodenum, mide ve özofagusun abdominal parçasıdır(10).

Peritonun karaciğer üzerinden yansıdıktan sonra oluşturduğu katlantılara ligaman denir. Periton diafragmatik ve visseral yüzeyden ilerler ve posteriorunda diyafram ile komşu olan çıplak alana geldiğinde kendi üzerinde dönerek sırasıyla anterior ve posterior koroner ligamanları oluşturur. Bu iki yaprak şeklindeki ligaman sağda ve solda birleşerek sağ ve sol triangular ligamanları oluşturur. Anterior koroner ligaman karaciğer yüzeyi ile anterior karın duvarı arasında uzanan bir katlantı yapar ve falsiform ligamanı oluşturur. Falsiform ligaman karın ön duvarına, umblikusa ve diyaframa doğru uzanmaktadır. Bu ligamanın yaprakları arasında embriyojenik dönemde aktif olan umblikal venin kalıntısı olan yuvarlak ligamanı (ligamentum teres) oluşturur (9-10).

Yukarıda tanımlanan koroner ligamanlar, triangular ligamanlar, falsiform ligaman ve ligamentum teres, karaciğeri diyafram ve karın ön duvarına asmaktadır (10).

Ayrıca karaciğerin posterioriorunda sol portal ven ile sol hepatik ven arasında uzanan ve sinüs venosus'un kalıntısı olan ligamentum venosum bulunur (9).

Karaciğer üzerinden devam eden periton portal hilusuda içine alacak şekilde duodenuma ve mide küçük kurvaturuna doğru uzanır. Bu iki yapıya sırasıyla hepatoduodonal ve hepatogastik ligaman denir. Bu iki lagamana birlikte küçük omentum (omentum minus) denir (10).



Şekil-1 Karaciğer Anatomisi(9)

Karaciğerin kanlanması başlıca portal ven ve hepatik arterler aracılığıyla olur.

Portal Ven: Süperior mezenterik ven ile splenik venin pankreas boynu arkasında birleşmesi ile oluşan portal ven hepatik kanlanmanın %75'ini sağlamaktadır. Büyük oranda deoksijene kan taşımaya rağmen karaciğerin oksijenasyonuna katkısı %50 - 70 kadardır. Portal ven valf içermediği için düşük basınçta yüksek kanlanma sağlar. Ek olarak bu özelliği nedeniyle portal sistemin herhangi bir yerinden basınç ölçümü yapıldığında portal basınç ölçülmüş olacaktır. Portal ven 6-8 cm uzunluğunda ve

yaklaşık 1 cm çapındadır. Karaciğere girmeden hemen önce sağ ve sol portal dalları verir ve daha distalde segmenter anatomiye uygun olarak dallanır (9).

Hepatik Arter: Hepatik arter sistemik arteriyel kan taşır ve karaciğer kanlanmasının %25'ini, oksijenizasyonunun ise %30 - 50'sini karşılamaktadır. Ayrıca inferior frenik arterden ve gastroduodenal arterden de arteriyel beslenme olmaktadır. Common hepatic arter çölyak trunkustan ayrıldıktan sonra superior gastroduodenal ve sol gastrik dallarını verir ve arteria hepatica propria adını alır. Bu arterde karaciğere girmeden önce sağ ve sol hepatic arter dallarını verir (9).

Hepatic arter sağ ve sol dallarını verdikten sonra bağlansa bile interlober ve intersegmenter kollateraller sayesinde kanlanma yeterli seviyede kalmaya devam edebilir. Ancak bu kollaterallerin her zaman olmayabileceği de akıldan çıkarılmamalıdır (10).

Hepatic ve portal sistem arasında birbirine bağımlı bir basınç ilişkisi vardır. Vena porta basıncı yaklaşık olarak 6–10 mmHg, sinüzoidlerdeki basınç ise 2– 4 mm Hg'dır. Portal basınç arttığında arteriyel basınç azalmaktadır. Karaciğerde kan akımı, basınç farkına göre devam etmektedir. Karaciğerdeki kan dolaşımı, tüm vücutta olduğu gibi hormonal faktörlerle ve nörolojik sistemle kontrol altında tutulmakta ve düzenlenmektedir (11).

Hepatic fonksiyonel ünitenin dolaşımında ana yollar portal triadlardaki arteria hepatica ve vena portanın dallarıdır. Glisson kapsülünün hemen altında sinüzoidlere dal verirler. Fonksiyonel ünitenin dolaşımı arteriel sfinkterler ve sinüzoidlerle düzenlenmektedir. Sinüzoidler tek sıra endotelial hücrelerin birbirleri arasındaki sıkı bağlantılarla oluşmaktadır ve bazal mebranı yoktur. Bu sebeple sinüzoidal endotelin geçirgenliği yüksektir. Sinüsoidal akım ve geçirgenlik endotelial ve satellit hücrelerin geçirgenliğine göre değişmektedir (11).

Karaciğerin venöz drenajı üç ana hepatic ven ile IVC'ya olmaktadır. Sağ hepatic ven sağ lobun anterolateral ve anteromedial sektörlerini ayıracak şekilde bir olukta yer alır. Bu ven sağ karaciğerin büyük bir kısmını drene eder ve yaklaşık bir santimetre ekstrahepatik ilerledikten sonra IVC'nın sağ tarafına açılır. Orta hepatic ven sağ ve sol lobu ayırırken esas olarak IV nolu segmenti drene etmektedir. Sol hepatic ven de daha çok II ve III nolu segmentleri drene eder. Orta ve sol hepatic venler intrahepatik olarak birleşirler ve tek bir damar olarak IVC'ya sol taraftan açılırlar. Caudat lobun venöz drenajı ise bu sistemden bağımsız olarak direk IVC'ya olmaktadır (9).

2.2 Karaciğer Fonksiyonel Ünitesi

Karaciğerin fonksiyonel ünitesi lobüllerdir ve lobüller birleşerek lobları oluşturmaktadır. Karaciğer lobüllerinin sınırlarını, hilustan organ içine giren ve parankimi odacıklar şeklinde bölen glisson kapsülü oluşturmaktadır. Segmentler ise içinde birden çok lobül barındıran, sınırlarını vasküler ana dalların belirlediği, cerrahi prosedür için önemli olan ve karaciğeri topoğrafik olarak alanlara bölen ünitelerdir (11).

Lobüller şekil itibari ile kesitsel olarak altıgen biçimli yapılardır. Altıgen şeklindeki lobülün hemen hemen her köşesinde portal triad adı verilen ve portal ven, hepatik arter ve safra kanalikülünden oluşan bir ünite bulunmaktadır. Dıştan glisson kapsülü ile sınırlıdır ve bu kapsülden merkeze doğru ışınsal şekilde uzanım gösteren asinüslerle birbirinden ayrılmış hepatositlerden ibarettir. Asinüsler tek sıra endotel hücrelerinin oluşturduğu tüp şeklinde lümeni yapılarıdır. Merkezde vena centralis bulunmaktadır. Asinüslerin içleri portal ve hepatik arterden gelen kanla doludur ve vena centralise doğru yavaş bir akım halindedir.

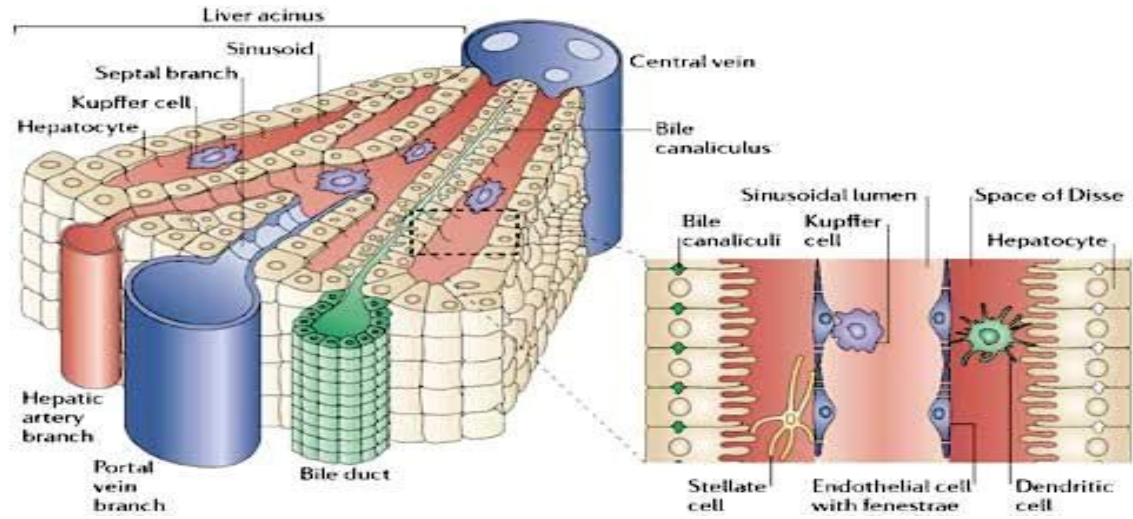
Hepatositlerin sinüzoidal olmayan yüzlerindeki komşu membranlarda sitoplazmaya doğru oluşan endozom benzeri çöküntü alanları mevcuttur ve bu alanlar karşı karşıya geldiklerinde tüp şeklini alırlar. Yan yana geldiklerinde, akım yönü portal triaddaki safra kanalına doğru olan bir safra kanalikülünü oluştururlar. Hepatositlerin safra kanalı oluşturan yüzlerinde endoplazmik retikulum ve golgi cisimcikleri yoğun olarak bulunmaktadır (11).

Karaciğer lobüllerini oluşturan hepatositlerin glikoz metabolizması, safra üretimi, detoksifikasyon ve protein sentezi gibi çeşitli fonksiyonları mevcuttur. Hepatositler ağırlıklı olarak yerine getirdikleri fonksiyonlara göre lobülün farklı alanlarında lokalize olmaktadır. Hepatositler bu özelliklerine göre periferden santrale doğru 3 zona ayrılmaktadır:

Zon-1; periferik zon olarak tanımlanır. Glisson kapsülünün altından başlar. Hepatik fonksiyonel ünitenin karşılama hücreleri olup toksinlere, oksijene, glukoz, lipid ve proteinlere en yüksek yoğunlukta maruz kalan hücrelerdir. Bu nedenle hücrelerde enzimatik faaliyetler yüksek seviyededir ve glikojen depoları ağırlıklı olarak bu zonda yer almaktadır.

Zon-2; periferik zon ile santral zon arasında yer alır ve geçiş zonu (intermediate zone) olarak tanımlanır.

Zon-3; santral zon olarak bilinir ve vena centralis etrafındaki hepatositlerden oluşmaktadır (11).



Şekil 2: Karaciğer sinüzoidi, portal triad ve karaciğer zonları (11).

2.3.Karaciğerin Lobları ve Segmentleri

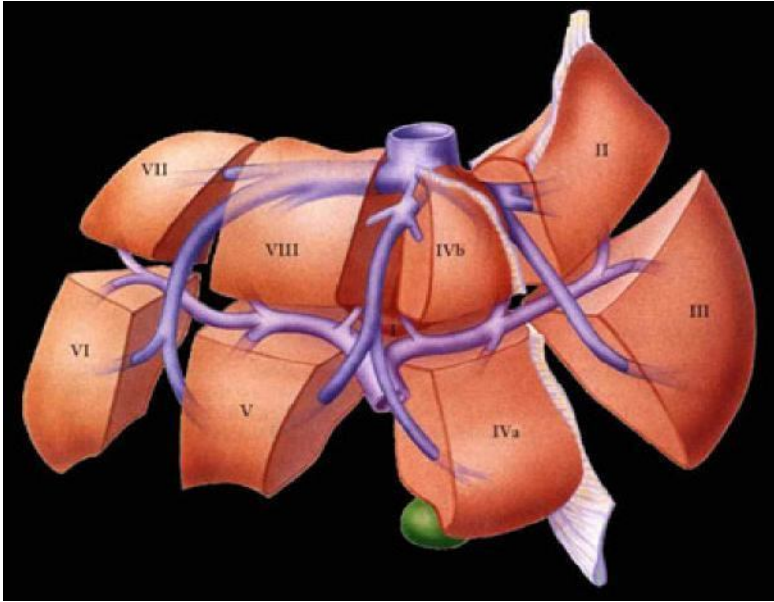
- 1) Sağ lob: Karaciğerin en geniş ve kalın lobudur. En önde impressio colica, biraz bunun arasında impressio renalis, daha arka ve biraz solda impresio suprarenalis bulunur.
- 2) Sol lob: Sağ loba nazaran daha ince ve dardır. Bu lobun ortasında impressio gastrica, en arka kısmında impressio esophagea bulunur.
- 3) Quadrat lob: İnferior yüzdedir. Önde karaciğerin inferior sınırı, solda ligamentum teres fissürü, arkada porta hepatis, sağda safra kesesinin yerleştiği fossa ile çevrilidir.
- 3) Caudat lob: Posterior yüzde yerleşmiştir. Önde porta hepatis, sağda vena kava inferior (VCI), solda ligamentum venozum fissürü ile sınırlıdır(12).

Gole Smith & Woodborne fonksiyonel karaciğer klasifikasyonunu üç major hepatik ven dağılımına göre yapmaktadır. Buna göre karaciğer üç loba ayrılmıştır (sağ, sol ve kaudat lob). Sağ hepatik ven, sağ lobun anterior ve posterior segmentlerini ayırır. Orta hepatik ven sağ lobu sol lobdan ayırır. Sol hepatik ven ve falsiform ligament sol lobun medial ve lateral segmentleri arasında yer alır. Karaciğerin cerrahi anatomisi karaciğerin vasküler iskeletine göre tanımlanmaktadır. Couinaud ve Bismuth portal ve hepatik venlerin dallanmasını esas alarak karaciğeri segmentlere ve subsegmentlere ayırmışlardır.

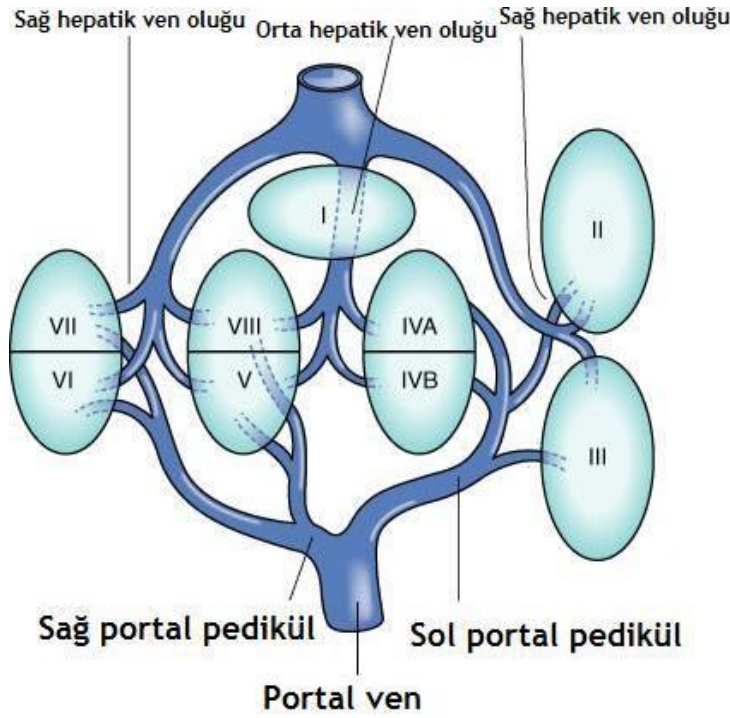
Buna göre;

1. Kaudat lob
2. Sol lateral superior subsegment
3. Sol lateral inferior subsegment
- 4a. Sol medial superior subsegment
- 4b. Sol medial inferior subsegment
5. Sağ anterior inferior subsegment
6. Sağ posterior inferior subsegment
7. Sağ posterior superior subsegment
8. Sağ anterior superior subsegment

Diğer subsegmentler üç ayrı dikey düzlem ile belirlenir. Segment I haricindeki tüm bu segmentler daha sonra sağ ve sol ana portal dallar düzeyinden geçen bir yatay düzlem ile superior ve inferior subsegmentlerine ayrılır. Böylece karaciğerin üç dikey ve bir yatay düzlem tarafından oluşturulan sekiz subsegmenti ve bir segmenti (segment I) tanımlanır(13).



Şekil 3: Karaciğer Segmentleri



Şekil 4: Karaciğerin hepatic venlere göre sektörlere ayrılması (10).

2.4. Karaciğerin Histolojik Yapısı

2.4.1. Hepatosit

Hepatositler polihedral şekilli, 6–8 yüzeyle, yaklaşık olarak 20–30 µm çaplı hücrelerdir. Merkezinde 1 ya da 2 nukleolusa sahip olan merkezi yerleşimli nukleusu mevcuttur. Fonksiyonu itibarı ile bol miktarda endoplazmik retikulum, ribozoma ve golgi cisimciğine sahiptir. Oldukça fazla sayıda mitokondri bulundurmaktadır. Endoplazmik retikulum, ribozom organelinin varlığı ya da yokluğuna göre granüllü ya da granülsüz olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak granüllü formu protein sentezinden sorumludur. Granülsüz formu hepatositlerde özellikle safra yapımı, salgılanması ve toksik maddelerin detoksifikasyonundan sorumludur. Hepatositler karaciğerin ana fonksiyonel hücreleridir. Karaciğer hücrelerinin %60-70'ini oluşturmaktadır. Bu hücreler, karaciğerin fonksiyonel ünitesi içerisinde periferden santrale doğru ışınal bir dizilim gösterirler. Bu dizilime 'remark kordonları' adı verilmektedir. Birbirine komşu hepatositler arasında fonksiyonuna göre 3 farklı bağlantı yüzü bulunmaktadır: İlk ve en geniş yüzeye sahip olan membran, sinüzoidal membrandır. Disse aralığına bakan yüzüdür. Plazma sıvısının dolaştığı alandır. Hepatositlerin metabolizması için uzun mikrovillusları barındırır ve plazma sıvısından absorpsiyon için gerekli yüzeyi artırır (11).

İkinci önemli yüzü ise iki hepatosit arasında yer alan ve doğrultu olarak vena centralise dik seyreden bir dağılım izleyen ve portal triaddaki safra kanallarına dökülen safra kanaliküllerini oluşturan yüzüdür. Kanaliküler membran olarak anılmaktadır. Kanalikülleri zonula okludens adı verilen bağlantılar oluşturmaktadır. Güçlü bağlantılardır. Kanaliküler membranda da mikrovilluslar bulunmaktadır. Mikrovilluslar ATP bağımlı transport mekanizmaları ile lümene safra salgılamaktadırlar. Son olarak da sırt sırta vermiş safra kanalları arasında sıkı bağlantı membranları bulunmaktadır. Sıkı bağlantılar gap-junction adı verilen bağlantılarla sağlanmaktadır. Dokunun iskeletini oluştururlar ve hücreler arası haberleşmeyi sağlarlar (11).

2.4.2. Endotelial Hücreler

Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %20-30'unu oluşturmaktadır. Karaciğer fonksiyonel ünitesindeki sinüzoidler, endotel hücrelerinin bir araya gelerek bağlanmasıyla oluşturdukları tubuler yapılardır. Endotel hücrelerinin arasındaki bağlantılar geniş porlar içermektedir. Disse aralığına geçen mayi, endotel hücreleri arasından süzülerek ya da primer endotel hücrelerinin aktif transportu ile protein ve elektrolit transferiyle oluşturulmaktadır (11).

2.4.3. Kupffer Hücreleri

Vücudun retiküloendotelial sisteminin önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar. Karaciğerin doku makrofajlarıdır ve karaciğer sinüzoidlerinin yüzeyini döşemektedirler. Karaciğerin primer fagositer hücreleri olma özelliği ile dolaşımdan, barsaklardan ve kolonik floradan dolaşıma katılan bakteri, virüs ve endotoksinleri etkisiz hale getirmektedirler (11).

2.4.4. Presinüzoidal Hücreler (İto Hücreleri)

Sinüzoidleri oluşturan endotel hücrelerinin hemen altında yani ağırlıklı olarak zon-1'de yer almaktadırlar. Sinüzoidlerin kan akımının düzenlenmesine, kasılıp gevşeyerek katkıda bulunmaktadır. Yapılan mikroskopik bakılarda yağ vakuollerince zengin olduğu için A vitamini deposu oldukları düşünülmektedir. Bu hücreler aynı zamanda kollajen üretimi ve depolanmasından sorumludur. Bu sebeple hepatit zemininde gelişen fibrozisten sorumlu tutulmaktadır (11).

2.4.5. Karaciğer Sinüzoidleri ve Disse Aralığı

Sinüzoidleri oluşturan endotel hücreleri ile hepatik lobüldeki ışınal dizilimli hepatositler arasındaki interstisyel boşluğa disse aralığı adı verilmektedir. Sinüzoidlerden kanın geçişi esnasında disse aralığına plazma sıvısı akmaktadır. Hepatik lobül köşelerindeki bağ dokudan zengin olup içinde portal triadı bulunduran ve kiernan

aralığı adı verilen bölgede lenfatik damarlar mevcuttur (14). Disse aralığına geçen plazma sıvısı, hepatositlerin metabolik artıkları, yüksek molekül ağırlıklı proteinler, kolesterol ve yağ asitleri bu lenfatiklere drene olur.

2.5.Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğer vücuttaki tüm sistemleri ilgilendiren önemli görevler üstlenmiştir. Karaciğerin temel görevleri şu şekilde sıralanabilir.

1-Vasküler rezervuar fonksiyonu: Genişleyebilen bir organ olduğundan hepatik venler ve sinüsler içinde normalde var olan 450 ml'lik kan rezervuarına duruma göre ekstra 500 - 1000 ml daha kan ekleyebilir.

2-Filtre fonksiyonu: Portal sistemde bağırsaklardan gelen mikroorganizmalar hepatik sinüslerde bulunan makrofajlar (Kupffer hücreleri) aracılığı ile filtrelenmiş olur.

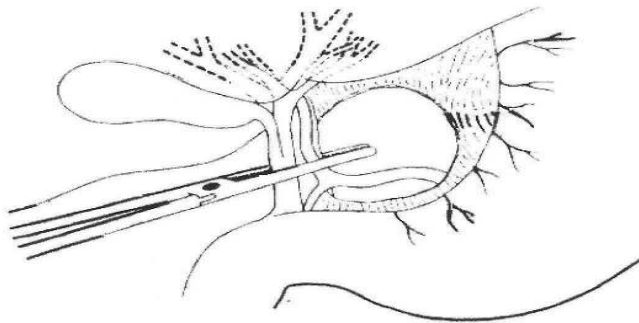
3-Metabolik fonksiyonu: Karaciğer karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında kritik görevler gerçekleştirir. Aynı zamanda vitamin, mineral ve enerji yedeği oluşturacak glikojen gibi maddelerin depolanmasında ve koagülasyon faktörlerinin sentezinde de görev alır.

4-Detoksifikasyon fonksiyonu: Dışarıdan alınan ilaçların, dışarıdan alınan veya endokrin sistemde üretilen hormonların fazlasının veya kalsiyum gibi minerallerin fazlasının detoksifikasyonunu veya safra ile atılımını sağlar.

5-Sekretuar fonksiyonu: Safra üretimi ve gastrointestinal sisteme aktarılması işlevi vardır. Bu şekilde sindirim sistemi içinde de görev alır(15).

2.6. Pringle Manevrası

İlk olarak 1908'de tarif edilmiş olan bu teknikte amaç portal hilusa baskı uygulayarak karaciğerin kanlanmasını azaltmak ve kanamayı durdurmaktır. Bu müdahale el ile yapılabileceği gibi klemp kullanılarak da yapılabilir. Bu manevra hem tanısal hem tedavi amaçlı kullanılabilir (16).



Şekil5: Pringle manevrasının şematize edilmesi(16)

2.7. İskemi Ve Reperfüzyon

2.7.1. İskemi:

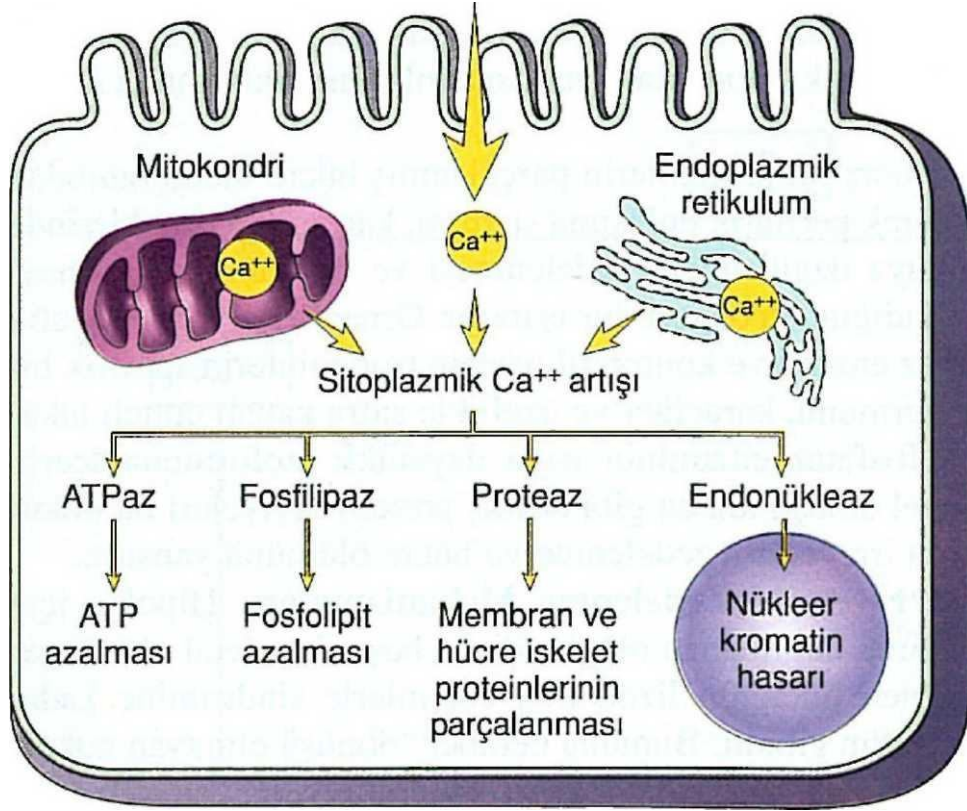
İskemi tanım olarak dolaşım tarafından dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılamamasıdır. İskemiye bağlı doku hasarında hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne neden olur.

İskemide hücre zedelenmesinin patogenezinde oksijen yetersizliği ile birlikte reaktif oksijen türevleride hücre ölümünün önemli araçlarındandır. Bu serbest radikal türevleri(SR) hücre üzerinde lipid peroksidasyonu ve diğer zararlı etkilere neden olur(17).

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokunun kan akımının azalmasıyla hücresel oksidatif fosforilasyon azalır. Hücresel enerji depolarının azalması sonucunda hücre zarında bulunan Na K ATP az pompası inhibe olur. Hücre içinde sodyum ve kalsiyum iyonları birikir. Bunu hücre içi stoklardan kalsiyumun serbest bırakılması izler. Artan sitoplazmik kalsiyum sıra ile çeşitli fosfolipazları (membran hasarını ilerletir), proteazları (yapısal ve membran proteinlerini katabolize eder), ATPazları (ATP kaybını hızlandırır) ve endonükleazları (genetik materyali parçalar) aktive eder.(17) (Şekil 6).

İskemi klinik tıpta hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. Glikolitik enerji üretiminin devam edebildiği hipoksinin aksine, iskemi glikoliz için gerekli maddelerin salınmasına olanak sağlar. Sonuç olarak iskemik dokularda anaerobik enerji üretimi yeterli maddelerin tükenmesi veya normalde kan akımı ile temizlenen metabolitlerin birikimiyle glikolizin engellenmesinden sonra durur. İskemi dokuları hipoksinin zedelediğinden daha çabuk zedeler. Hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunumu yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyonu üzerinedir. Oksijen basıncının azalması sonucu hücre içi ATP üretimi belirgin olarak azalır. ATP azalmasının hücre içindeki birçok sistemler üzerinde etkisi olur. Yukarıda tanımlandığı gibi sitoplazmik serbest kalsiyumda bir artış vardır. Ayrıca plazma membranının ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesi azalır. Bunu sodyumun hücre içinde birikimi ve potasyumun hücre dışına çıkışı izler. Sodyum iyonunun net artışı, suyun izoozmotik artışı ile birlikte olup akut hücresel şişmeye neden olur. Bu şişme inorganik fosfatlar, laktik asit ve purin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile artan ozmotik yükü daha da artar (17).

ZEDELEYİCİ AJAN



Şekil 6: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları.(17).

Hücresel ATP de azalma ile birlikte adenosin monofosfatta artma da fosfofruktokinaz enzimini uyararak glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini temin amacıyla gelişen anaerobik glikoliz hızını artırır. Sonuç olarak glikojen hızla tükenir. Bu durum histolojik olarak karbonhidratların boyanmasının azalması ile gösterilebilir. Artan glikolizde fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olarak hücre içi pH'nın düşmesine yol açar (17). Sonraki olay ribozomların granüllü endoplazmik retikülumdan ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinin azalmasıdır. Hipoksi düzelmez ise mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran permeabilitesinin artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. Osmotik regülasyon kaybından dolayı hüme hücreler şişmiş gibi görünür. Eğer oksijen eski haline dönerse yukardaki tüm bozukluklar reverzibldir. Bununla beraber iskemi devam ederse irreverzibl zedelenme gelişir. Morfolojik olarak irreverzibl zedelenmeye mitokondrilerin daha şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz ve kalsiyumdan zengin

yoğunlukların birikimi, plazma membranlarının geniş hasarı ve lizozomların şişmesi eşlik eder (17).

İskeminin hücreyel etkileri (18):

- 1-Membran potansiyelinin değişmesi
- 2-İyon dağılımının değişmesi (artmış intrasellüler Ca^{2+} / Na^{+})
- 3-Hücreyel şişme
- 4-Hücre iskeletinin disorganizasyonu
- 5-Artmış hipoksantin
- 6-Azalmış ATP
- 7-Azalmış fosfokreatin
- 8-Azalmış glutasyon
- 9-Hücreyel asidoz

Membran hasarının birçok potansiyel nedeni vardır (17).

- 1- Membran fosfolipitlerinin ilerleyici kaybı: İskemiye bağlı kalsiyum artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonu artan parçalanmaya yol açabilir.
- 2- Hücre iskelet anormallikleri: Hücre içi kalsiyum artması ile aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilirler.
- 3- Toksik oksijen radikalleri: İndirgenmiş oksijen türevleri hücre membranına ve elemanlarına zarar verirler. Bu gibi oksijen radikalleri iskemik dokularda, özellikle kan akımının düzelmesinden sonra artar. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde reperfüzyon sırasında zedelenme alanına gelen PMNL tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.
- 4- Lipit yıkım ürünleri: Fosfolipit parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu katabolik ürünler membranlar üzerinde deterjan etkisi yapar.

Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuç, yukarıda tanımlanan olaylarla kalsiyumunun bol miktarda hücre içine girmesidir (17) (şekil 6).

İskemi sırasında sellüler ATP hipoksantin oluşturmak üzere indirgenir. Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz yardımıyla ksantine oksidize edilir. Ancak iskemi sırasında ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüştürülür. Substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotidi kullanan ksantin dehidrogenazın tersine ksantin oksidaz oksijeni kullanır ve bundan dolayı iskemi sırasında hipoksantin, ksantine dönüşümünü kataliz edemez. Sonuç olarak hipoksantin dokuda aşırı seviyelere çıkar.

Reperfüzyonla oksijen tekrar sunulduğunda fazla miktardaki hipoksantin oksidaz tarafından dönüştürülmesi toksik SR oluşumu ile sonuçlanır (19).

2.7.2. Reperfüzyon Hasarı

İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu hemde toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu bir dizi olayın başlaması ile paradoksal olarak doku hasarına yol açar. İskemi döneminde dokuda biriken ksantin oksidaz dokuya aniden sunulan oksijeni kullanarak hipoksantini ürik asite çevirirken bu reaksiyon esnasında bol miktarda SR oluşumuna neden olur. Reperfüzyon döneminde dokuda nötrofil infiltrasyonu, kopleman sisteminin aktivasyonu, kalsiyum aracılı proteazların aktivasyonu, araşidonik asit (AA) metabolizması gibi pek çok sistem de SR oluşumunu artırarak hasara neden olmaktadır. Vasküler endotelial hasar nedeniyle geçirgenlik artar ve interstisyuma geçen plazma ve proteinler ile doku ödemi oluşur (9). Doku ödemi vasküler yapıları daha da daraltır ve mikrosirkülasyon yavaşlar. İnflamatuvar hücrelerden ve endotelden salgılanan sitokinler ile birlikte vasküler ve endotelial adezyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) sentezlenmeye başlar. Sonuç olarak, yavaşlayan akımın ve adezyon moleküllerinin sayesinde interstisyuma nötrofil adezyonu ve migrasyonu gerçekleşir. Süreç sonunda akımın yavaşlaması, sitokinlerin ve tromboksanların etkileri ile trombosit tıkaçlar oluşur (11).

Günlük uygulama içerisinde tıbbın pek çok dalında iskemi ve reperfüzyonun yer aldığı olgular vardır. Şok, yanık, sepsis, pankreatit gibi olgularda ortaya çıkan hipovolemi ile iskemi ve bu durumların resusite edilmesi ile de reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. Serebrovasküler olaylarda, myokard infarktüsünde, mezentriyovasküler olaylarda uygulanan trombolitik tedavi veya revaskülarizasyon ameliyatları da yine reperfüzyon hasarına neden olmaktadır. Travmalarda ve travma cerrahilerinde hipovolemi yada kanama kontrolü nedeniyle yapılan klemp, tampon uygulamaları iskemiye neden olurken resusitasyon sonrası mutlak bir reperfüzyon ile yine İR hasarı gündeme gelmektedir. Kardiovasküler cerrahide aort ya da periferik arter klemp uygulaması sonrası ortaya çıkan tablo İR hasarı ile karakterizedir. Transplantasyon cerrahisinde kaçınılmaz olarak transplante edilecek organın iskemi ve reperfüzyonu söz konusu olup oluşan hasar greft fonksiyonlarını etkilemektedir. Özetle bütün cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve sıklıkla bunun takip eden bir reperfüzyon periyodu vardır.

Yapılan çalışmalarda reperfüzyon hasarında 2 evre ortaya konmuştur. Reperfüzyon sonrası ilk 1,5–2 saatlik süreçte temel patolojik ajan, ortamın tekrar oksijenasyonu sonucu oluşan SR'lerdir. Bu evreye başlangıç evresi adı verilir. Reperfüzyon sonrası 6. saat ile 2 gün arasında devam eden süreç ise geç evre olarak adlandırılmıştır ve bu süreçteki reperfüzyon hasarından humoral ve hücrel inflamatuvar ajanlar sorumlu tutulmaktadır (11).

2.7.3. İskemik –Reperfüzyon Hasarına Neden Olan Faktörler

I/R hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisidir(20). Başlıca faktörler şunlardır:

- 1- Serbest Oksijen Radikalleri
- 2- Polimorf Nuveli Lokositler Ve Adezyon Molekülleri
- 3- Kopmleman Sistemi Ve Sitokinler
- 4- Endotel Hucreleri

2.7.3.1 Serbest Oksijen Radikalleri

Atom çekirdeğinin etrafında bulunan elektronlar 'orbit' denilen yörüngelerde hareket halindedir. Kararlı durumlarda ilk orbitte iki, diğerlerinde sekiz elektron bulunur. Bir veya daha fazla orbitinde eşlenmemiş elektron bulunan atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır. Serbest radikaller kimyasal olarak kararsız yapılardır. Bu nedenle herhangi bir molekül veya atom ile etkileşime girerek, o yapıdan bir elektron alma veya bir elektron verme eğilimindedirler. Yani kimyasal olarak reaktiviteleri yüksek yapılardır(21).

Canlılarda SR eksojen ve endojen, fizyolojik veya endojen patolojik mekanizmalar sonucu oluşabilir(11).

Endojen kaynaklar:

- 1-) Mitokondrial redoks zincirinde üretim
- 2-) Endoplazmik retikulum ve nükleer membran transport sistemi
- 3-) Peroksizomlar
- 4-) İnflamatuvar hücreler (makrofaj, nötrofil, NK hücreler)
- 5-) Ksantin oksidaz sistemi
- 6-) Fenton reaksiyonları

Ekzojen kaynaklar:

- 1-) Radyasyon
- 2-) Toksinler (CCl₄ gibi)
- 3-) Kemoterapötikler
- 4-) Hava kirliliği
- 5-) Sigara kullanımı
- 6-) Ultraviyole ışınları
- 7-) Stres (katekolamin metabolizması sırasında oluşur)
- 8-) Hiperbarik oksijen tedavileri

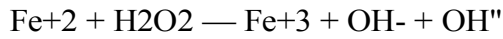
Moleküler oksijen (O₂) iki tane eşleşmemiş elektronu olan biradikal bir moleküldür. Biyolojik sistemlerle ilişkili oksijen türevli serbest radikallerin başlıcaları şunlardır;

1. Süperoksit anyonu (O₂⁻);
2. Peroksil radikali (HO₂[•]);
3. Hidroksil radikali (OH[•]);
4. Nitrik Oksit (NO[•]);
5. Singlet oksijen (O₂¹) (18).

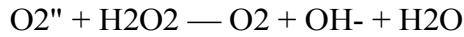
Süperoksit radikalinin toksisitesi biyolojik hedeflerle doğrudan reaksiyona girmesiyle oluşabilir. Ancak dokularda yaptığı etkinin çoğunu, oluşturduğu sekonder SR aracılığı ile gerçekleştirir. Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve spontan olarak dismutasyona uğrayarak ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürülür.

Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir;

- 1-Hidrojen peroksit, katalaz veya glutatyon peroksidaz (GPx) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür(18).
- 2- **H₂O₂**: Metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oldukça toksik hidroksil radikale döner. H₂O₂ bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe⁺² veya diğer geçiş metallerinin varlığında, **Fenton reaksiyonu**yla veya süperoksit radikali varlığında **Haber-Weiss reaksiyonu**yla, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan, hidroksil radikalini (OH[•]) oluşturur(22).



Fenton Reaksiyonu



Haber-Weiss Reaksiyonu

Hidroksil radikali (OH): Hidroksil radikali (OH), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu H₂O₂'den oluşmaktadır. Ayrıca suyun, yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da oluşur. OH'nin yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali SR'lerin en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri, karbon merkezli organik radikaller (R), organik peroksitler (RCOO) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur(22).

Hipokloröz asit (HOCl): Aktive nötrofiller tarafından üretilen güçlü bir oksidan maddedir. Hem taşıyan enzim olan myeloperoksidaz enzimi, fagositin sitoplazmasında H₂O₂ ve klorid iyonu (Cl⁻) varlığında HOCl oluşumunu katalizler (22).

Nitrojenin oksidasyonu: Nitrik oksid (NO) ve nitrojen dioksit (NO₂) tek sayıda elektron taşıdıkları için radikal olarak tanımlanabilirler. Ancak nitroz oksid (N₂O) radikal değildir. NO tüm fizyolojik ve patolojik süreçlerde, önemli bir mediator olarak karşımıza çıkar. NO sentezini yapan NO sentaz (NOS) enzimi, L-arjininin, sitrüllin ve NO'ya dönüşümünü katalizler. Reaksiyon O₂, NADPH ve arjininin, guanidin nitrojenine gereksinim gösterir. Nöronal NOS (tip I, nNOS) ve endotelial (tip III, eNOS) Ca⁺⁺-Kalmodulin bağımlı, yapısal NOS tipleridir. nNOS nörotransmitter olan NO'nun üretiminden sorumludur. eNOS tarafından üretilen NO, endotel kökenli gevşetici faktör olarak bilinir ve vasküler düz kasın gevşemesini sağlayan temel uyarandır. eNOS ve nNOS fizyolojik durumlarda önemli fonksiyonlar yaparlar(22).

Uyarılabilen NOS (inducible NOS, iNOS, tip II) normal koşullarda aktif değildir. iNOS enfeksiyöz ve inflamatuvar proseslerde sitokinler ve/veya endotoksinlere bağlı olarak aktiflenir ve çok bol miktarda NO üretimi gerçekleştirir. iNOS hepatositler, makrofajlar, nötrofiller, düz kas hücreleri ve kondrositler gibi birçok hücrede bulunur. iNOS'un artmış ekspresyonu iskemi-reperfüzyon zedelenmesi ve patolojik süreçte gösterilmiştir (22).

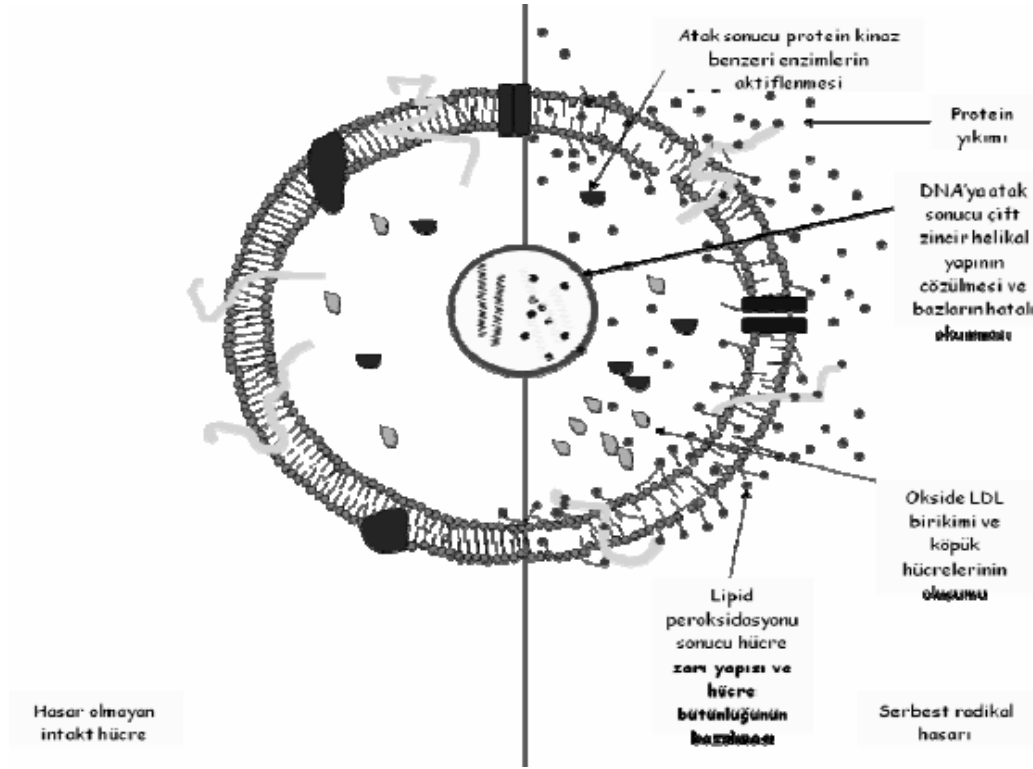
Serbest Radikallerin Hasar Mekanizması

SR' ler bütün hücrel makromoleküllerle reaksiyona girebilirler. Hücrel hasar oluşumunda özellikle üç tip reaksiyon önemlidir;

a) Lipid Peroksidasyonu: Serbest oksijen radikalleri, plazma ve organel membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Hidroksil radikali membran lipidleri ile çift bağ yapar ve böylece lipid-radikal etkileşimi ile zincirleme reaksiyon sonucu pek çok lipid peroksidasyon ürünü (malondialdehit, dien konjugatları gibi) oluşur. Eritrosit membranlarının, lipozomal membranların (özellikle hücre ve mitokondri) okside olması ile bu yapıların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişir. Membranın iyon geçirgenliği bozulur. Eritrositlerde hemoliz olur. Böylece yaygın membran, organel ve hücre hasarı ortaya çıkar(22).

b) Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu: Serbest oksijen radikalleri, aminoasit yan zincirleri oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Ayrıca protein yapısında, ana zinciri okside ederek proteinlerin parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel önemi olan enzimlerde bozulmalar ortaya çıkar(22).

c) DNA Hasarı: Serbest oksijen radikalleri, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Sonuçta hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü olur(22).



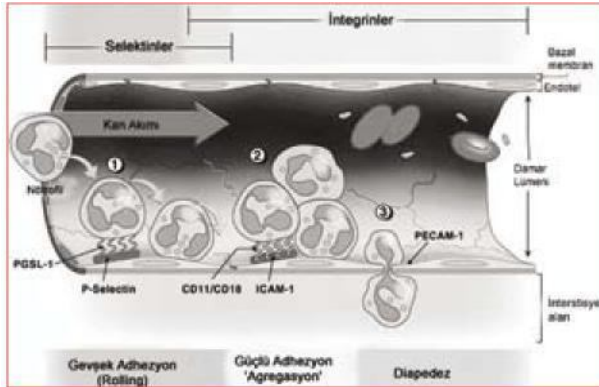
Şekil:8.SR'lerin Hücrede Oluşturdukları Hasarın Şematize edilmesi

2.7.3.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)

Nötrofiller reperfüzyon hasarında mikrovasküler permeabiledaki artıştan sorumludurlar. İ/R ile polimorf nüveli lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir. Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür(17). Bunlar: 1) Mikrovasküler oklüzyon; 2) SR salınması; 3) Sitotoksik enzim salınması; 4) Vasküler permeabilite artışı; ve 5) Sitokin salınmasında artıştır.

PMNL'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile, trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir.

Aktive lökositler damar dışına ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (20). (Şekil 9).



Şekil 9: Lökosit-endotel etkileşiminde lökosit adhezyon molekülleri ve lökosit göçünün şematize edilmesi(20).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-a) sentezine yol açar(17). Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarırlar. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar. Nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon mevcuttur.

Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıt şu mekanizmalar ile gerçekleştirilir:

- Fosfolipaz A2 aktivasyonu araşidonik asit metabolitleri (prostaglandinler ve lökotrienler) sonucu üretilir.
- Degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınır.
- SR üretimi gerçekleşir.

Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü araçlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının 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 ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir(20).

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, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF, TNF-a gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur(20).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ/R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz enzimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde ksantin-oksidadz'ın artması ile SR'un oluşumunda artar.İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksit dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden saliverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve 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 (20).

2.7.3.3. Kompleman ve Sitokinlerin Rölü

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anafatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyarak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder.

Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır(20).

- Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1)
- İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)
- E-selektin
- P-selektin

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar(20).

İskemi-reperfüzyon hasarında sitokinler inflamatuvar yanıtı yönetir ve yönlendirirler. Bütün sitokinlerin otokrin, parakrin ve humoral etkileri mevcuttur(11). Sitokin salgılanması kendi kendini denetler ve düzenler. Sitokinler hedef hücrede membran reseptörlerine bağlanarak etki ederler. Sitokinler, inflamasyona verdikleri yöne göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak iki ana gruba ayrılırlar. Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar, inflamasyonu ağırlaştırırlar, diğer yardımcı sitokinlerin salınımını artırır ve inflamatuvar hücreleri aktive ederler. İmmün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler TNF- α ve IL-1'dir. Proinflamatuvar yardımcı sitokinler ise IL-6 ve IL-8'dir. Antiinflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde ve iyileşme sürecinde salınırlar. Bunlar IL-4, IL-10, IL-11, IL-13'dür (11).

Sitokinler etkilerini, gen ekspresyonunu düzenleyerek gösterirler ve hücrede sentezlenen maddelere yön verirler. Kemik iliği üzerine hematopoietik etkileri vardır. İlk etapta hücre hasarı ile birlikte Kupffer hücrelerinin aktivasyonu ile TNF- α , IL-1 ve IL-6 sentezlenir (22). TNF- α ve IL-1, IL-8 sentezini uyarır ve adezyon molekülleri sentezini artırır. TNF- α iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası uzak organ hasarında rol alan en önemli sitokindir. TNF- α , IL-1 salınımını artırır ve IL-1 de nötrofillerden serbest radikal salınımını tetikler. IL-1 ile TNF- α 'nın inflamatuvar mekanizmalar üzerine sinerjistik etkileri vardır ve birbirlerinin etkilerini potansiyalize ederler. IL-6 sinüzoidal endotel hücrelerinden ve Kupffer hücrelerinden salgılanmaktadır. IL-6 akut faz reaktanlarının salınımını düzenlemektedir. IL-6 iskemi-reperfüzyon modelinde MOF(Çoklu Organ Hasarı) ve ARDS(Ani solunum sıkıntısı sendromu) gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. IL-6 aynı zamanda B lenfosit diferansiyasyonunu ve immünglobulin salınımını arttırmaktadır. IL-12 iskemi-reperfüzyon döneminde hepatositlerden salgılanmaktadır ve TNF- α salınımını düzenlemektedir. IL-10

inflamasyonu baskılayan bir sitokindir. IL-10 salınımı NF- κ B'yı baskılayarak inflamatuvar medyatörlerin transkripsiyonunu engellemektedir. IL-10 makrofajlar ve PMNL'ler tarafından yapılan RS sentezini de baskılamaktadır (11).

PAF bir fosfolipid mediatördür. Trombosit kümelenmesini, vasküler permeabilitenin artmasını, lökosit adezyon ve migrasyonunun artmasını sağlamaktadır. PAF üretimi iskemi-reperfüzyon sonrasında reperfüzyon sonrası 24. saatte en yüksek değerine ulaşmaktadır. Ratlarda PAF reseptör antagonistleri ile reperfüzyondan önce tedavi yapılmasının TNF- α 'yı baskıladığı bildirilmiştir (11).

2.7.3.4. Endotelin Rolü

İyon ve organik moleküllere geçirgenlikte bariyer oluşturması, prostoglandinlerin dolaşımdan kısmen uzaklaştırılması, akciğerlerde Anjiotensin I'in Anjiotensin II'ye dönüştürülmesi ve koagülasyondaki rolü, endotel hücrelerinin bilinen klasik görevlerindendir.

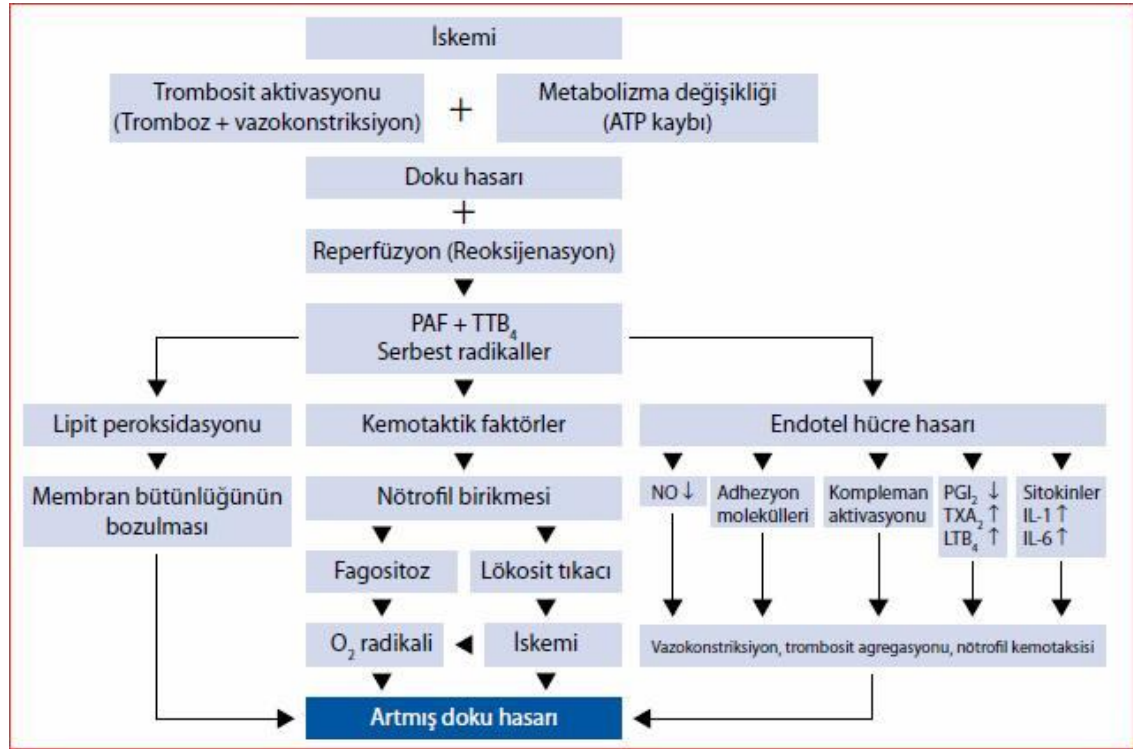
I/R hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/R hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur.

Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, prostaglandinler (PG I₂, PG E₂), GM-CSF, büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A₂ (TxA₂) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir(20).

2.8. karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi

İskemi sonucunda dokuda gelişecek hasarın şiddetini, tıkanan arterin büyüklüğü, tıkanma süresi ve dokunun karakteristik özellikleri gibi bir çok faktör etkilemektedir. I/R zedelenmesi, hücre ve doku hasarına yol açan kompleks bir seri olaylar dizisidir..Aşağıdaki şekilde I/R zedelenmesinin fizyopatolojisi özetlenmeye çalışılmıştır. Bazı dokular, iskemiye karşı daha dayanıklı olabilmektedir. İskemi sırasında hücreler iyonik gradiyentini ve homeostazını korumak için gerekli olan

enerjiyi sağlayamamaktadır. İskemi sonrası dokunun yaşamını devam ettirmesi için, reperfüzyon mutlaka gereklidir. Fakat I/R döngüsünün hasarı sadece iskemiye göre daha fazla arttırdığı da gösterilmiştir. Bu hasar sadece lokal değil zaman zaman sistemik sonuçlarda doğurmakta ve multiple organ yetmezliklerine de ilerleyebilmektedir(22).



Şekil : 10.I/R zedelenmesinin mekanizması.(20)

Organ kan akımının ve buna bağlı olarak da organa sağlanan oksijen ve besin desteğinin kesilmesi, bir çok cerrahi prosedürde karşımıza çıkmaktadır. Karaciğer cerrahisinde, özelliklede büyük hepatik tümörlerin çıkartılması, hepatik travmanın cerrahisi, vasküler yapıların düzeltilmesi, transplantasyon ve rezeksiyon cerrahilerinde (pringle manevrası) bu iskemi periyotları oldukça uzundur.(22).

2.8.1. Serbest oksijen rarikallerinin rolü:

SR'ler I/R zedelenmesinde, hücre ve doku hasarına yol açan faktörler içinde en önemli olanlarındandır. I/R sürecinde KC (karaciğer makrofajları), polimorf nüveli lökositler (PMNs), endotel hücreleri (EC), hepatositler v.b hücrelerde sürekli SR üretilmektedir. Fizyolojik koşullarda aerobik metabolizma sırasında, düşük düzeyde SR'ler normal hücre fonksiyonunun bileşeni olarak salınmaktadır. I/R durumlarında ise

SR/antioksidan dengesi SR'ler yönüne kaymakta ve sonuçta oksidatif stres ve sitotoksiste oluşmaktadır(22).

Karaciğer iskemisinde önce KC'ler, hepatositler ve EC'ler etkilenmektedir. Zaten I/R süreçlerinde üretilen SR'lerin ana kaynağını da bu hücreler oluşturmaktadır.

KC ve EC'de enerji substratlarında azalma sonucu membran transport bozulmakta ve ödem oluşmaktadır. Hücrelere gelen oksijen kesilince oksidatif fosforilasyonun bozulmasıyla ATP miktarı azalmakta, Ca^{++} homeostazı bozulmakta ve hücre içine su, Na^+ ve Ca^{++} girişi artmaktadır. Adenozin trifosfat (ATP) üretimindeki problemlere bağlı olarak hücreler enerji molekülü olarak ATP'nin yanında, adenozin difosfat (ADP) ve hatta adenozin monofosfatları da (AMP) kullanmaya başlamaktadır. AMP yıkımlarının artışı sonucu hücrede ksantin türevleri, ürik asit düzeyleri artmaktadır. Ksantin oksidaz reaksiyonunun sürekli çalışmasına bağlı olarak da normalden çok fazla miktarlarda OH ve H_2O_2 üretilmektedir. ATP katabolizmasındaki bu değişikliklerle SR'lerin, sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve endotelin ve tromboksan gibi vazoaktif ajanların üretimleri artmaktadır. Bu tip değişikliklere NO, Pg I'ler gibi hücre koruyucu maddelerin azalması da eşlik etmektedir. Böylece iske mi, reperfüzyon döneminde doku zedelenmesini artıran proinflatuar bir durum yaratmaktadır.

Ksantin oksidaz reaksiyonu yanında, hepatositlerde ve EC'lerde üretilen süperoksitlerin ana kaynağı olarak, fagosit tip NADPH oksidaz reaksiyonu gösterilmektedir.

Aktive KC'ler SR'lar kadar bol miktarda, proinflatuar (TNF-a, IL-6, IL-1 ve prostaglandinler) ve antiinflatuar (IL-10, IL-13) mediatörlerin salınımını gerçekleştirir(22).

Hasarlanmış vasküler endotelial hücrelerde, özellikle geç reperfüzyon fazında SR, araşidonik asit metabolitleri, NO, endotelinler (ET), sitokinler, adezyon molekülleri gibi maddelerin salınımı artmakta ve kompleman aktivasyonu ortaya çıkmaktadır. Proinflatuar sitokinler, kemokinler ve aktive kompleman faktörleri geç reperfüzyon fazında nötrofillerin biraraya toplanmasından ve nötrofil aracılı oksidatif stresten sorumludur. KC ve nötrofil aracılı oksidatif stres, reperfüzyon fazında oluşan vasküler ve parankimal hasarın önemli bir faktörüdür(22).

Oksidan strese bağlı hücre ölümünde piridin nükleotidlerin oksidasyonu, mitokondrilerde Ca^{++} birikimi, mitokondride O_2 üretimi azalması, O_2 azlığına bağlı olarak da mitokondrial membran geçirgenliğinde artış ve membran potansiyelinde bozulma gibi süreçler karşımıza çıkar(22). Bunu destekler şekilde, karaciğer I/R zedelenmesinde mitokondrial membranda permeablite artışı olur ve mitokondrial

membran permeabilite artışının farmakolojik olarak inhibisyonunun reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğuda gösterilmiştir. Akut atakta KC ve nötrofiller tarafından gerçekleştirilen hepatosellüler nekroza, proteaz katkısı zorunlu değildir. Bununla beraber günler sonra, uzun süreli nötrofil cevabının olaya eklenmesiyle, hasardan sorumlu olanlar SR ve proteazlar olarak sayılabilir.

İnflamatuvar hücreler SR'lerin yanında, nötrofiller için sitotoksik mediatörler olan proteazların salınımını gerçekleştirmektedir. KC ve nötrofiller tarafından üretilen SR'ler, hepatositlerin ölümünden sorumludurlar (22).

2.8.2. Endotelin ve Nitrik Oksit'in (NO) rolü:

NO karaciğerde yapısal enzimler olan eNOS ve iNOS tarafından sentezlenir. eNOS sadece sinüzoidal endotelial hücrelerde üretilmektedir. iNOS ise transkripsiyonel olarak, endotelial hücreler, hepatositler ve diğer karaciğer hücreleri tarafından düzenlenmektedir. NO hücre membranından serbestce difüze olur ve sitoplazmik guanilat siklazı aktive ederek vazodilatasyon oluşturur. Vazokonstriktörlerin etkin olduğu dönemde, NO presinüzoidal ve sinusoidal alanda vazodilatasyonu uyarır(25). Vazodilatasyon etkisine ek olarak NO, O_2^- ile reaksiyona girer ve potansiyel bir oksidan olan ONOO⁻ 'i meydana getirir. Aslında O_2^- 'de NO ile SOD'dan daha hızlı reaksiyona girmektedir(26). Genel olarak eNOS'un ürettiği NO karaciğer kan akımının devamlılığı açısından önemlidir. Bunun yanında iNOS'un ürettiği fazla miktardaki NO'da hipotansiyon oluşumu, şok yanında peroksinitrit aracılı hücre hasarından da sorumludur(22).

Mikrodolaşım bozuklukları ve nonperfüze sinüzoidler, hepatik iskemi sonrası reperfüzyon hasarına yol açar. Bunun yanında reperfüzyon fazında oluşan vazokonstriksiyon, vasküler hücrelerin hasarı ve intravasküler koagülasyon sinüzoidlere olan kan akımını azaltır veya durdurur ve karaciğer hasarına yol açar. Reperfüzyon fazında vazokonstriksiyona yol açan en potent ajan endotelinlerdir(27).

Hepatik I/R zedelenmesinde vasküler tonus, NO ve ET arasındaki dengeye bağlıdır. NO ile ET arasındaki bu kolayca kırılabilen dengenin bozulması, vazokonstriksiyonu uyarmaktadır. Reperfüzyonun başlangıcında NO seviyeleri azalmakta, ET seviyeleri artmaktadır ve sonuçta mikrosirkülasyonda vazokonstriksiyon oluşmaktadır. İskemi, hücre içi NO sentezi için gerekli olan NADPH ve oksijen konsantrasyonunu azaltmakta ve protein kinazlardan arjinaz enziminin uyarılmasıyla arjinin salınımını ve yıkımını

artırmaktadır. Endojen ve eksojen tüm NO'lar, vazodilatasyon yaparak ve selektinler gibi adezyon moleküllerinin ifadesini azaltarak, I/R zedelenmesine karşı hepatosit ve EC'leri korumaktadır. Bunun yanında spesifik uyarıların (sitokinler ve kemotaktik faktörler gibi) etkisiyle uyarılabilir iNOS uyarılmakta ve sentezlenmektedir. Klinik pratikte NO konsantrasyon artışının ve ET konsantrasyonunun azalmasının I/R zedelenmesini azalttığı gösterilmiştir(28). Ayrıca NOS inhibitörlerinin kullanımının eNOS'u azaltarak I/R'da mikrovasküler perfüzyonu daha da düşürdüğü ve karaciğer hasarını artırdığı net bir şekilde ortaya konmuştur(29).

iNOS gen ifadesinin endotoksinlerle uyarılması, iNOS enzim aktivitesinin artışına ve fazla miktarda NO üretilmesine yol açar. Artan NO'da sistemik vazodilatasyon ve hipotansiyona bağlı karaciğer kan akımını azaltarak ve peroksinitrit sentezini artırarak hasarı artırmaktadır(22).

NO ve ET arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşan vazokonstriksiyonun diğer bir sonucu, EC ile lökositler arasındaki teması artırması ve lökotaksisin uyarılmasıdır. Her ne kadar kapiller lümen tam olarak tıkanmasada, toplanmış lökositler sinüzoidal kapillerlere kan geçişini azaltmaktadır(30). Bu tabloya platelet agregasyonunun eklenmesiyle kan akımı daha da bozulmaktadır. Ayrıca mikrosirkülasyonda oluşan yetmezlik tablosu, KC ve nötrofillerden de iskemik hasarın şiddetini artıran sitokinlerin salınımına yol açmaktadır.

2.8.3. Nötrofiller ve adezyon moleküllerinin rolü

I/R zedelenmesinin erken reperfüzyon fazında, nötrofiller karaciğer vasküler kompartımanında toplanır, aktive olur ve reperfüzyon hasarını şiddetlendirirler. Nötrofillerin vasküler kompartımanında toplanmasında ve dokuya geçişinde bir çok lökosit adezyon molekülleri görev yapmaktadır(31). Nötrofillerin postkapiller venüller bölgesinde toplanması için, endotelial hücrelerden selektinlerin salınması ve nötrofillerde bulunan reseptörlerle selektinlere bağlanması gereklidir.

Karaciğerde sinüzoidler ve postsinüzoidal venüller olmak üzere, reperfüzyonda nötrofillerin toplanacağı iki temel vasküler yatak bulunmaktadır. Venüller endotelial hücreler, Weibel Palade body'ler tarafından salınan moleküller sayesinde P-selektin ekspresyonunu artırabilirler. P-selektinle beraber E-selektinler, ICAM-1 ve VCAM-1 transkripsiyonel olarak aktive edilebilir. Sinusoidal EC'ler ise, Weibel Palade body'leri içermedikleri için P-selektin salınımını uyaramazlar ancak bu hücrelerde, diğer CAM'ların salınımını artırmaktadırlar(32).

Selektinler ve p₂-integrinler-ICAM-1 etkileşimleri postsinüzoidal venüllerde, nötrofillerin rolling ve adezyonu süreçlerine katılır. Bununla beraber post-sinüzoidal kapillerlerden lökositlerin göçüne ait kanıtlar sınırlıdır ve bu bölgenin, parankime nötrofil göçüne katılıp katılmadığı soru işaretidir. Sinusoidal alan ise nötrofil ekstrasvazasyonu için esas alandır(33). Sinüzoidlere nötrofil sekestrasyonu kan akımına karşı rezistansı artırır, ancak perfüzyonda oluşan yetmezliğin ve hasarın temel nedeni değildir.(22) .Nötrofil aracılı hasarın oluşabilmesi için önce nötrofiller damar dışına çıkmalıdır. Nötrofiller damar dışına çıktıktan sonra, p₂ integrin lenfosit function-associated antigen-1'leri (LFA-1; CD11a/CD18) kullanarak, hepatositte exprese edilen ICAM-1'e bağlanır. Daha da önemli olarak bu süreç sonunda, lökositlerde degranülasyon (proteaz salınımı) ve uzun sürelerde adezyona bağlı oksidan stres ortaya çıkar(34). Hepatik I/R sürecinde ICAM-1 üretimi, hepatosit ve endotelial hücrelerde transkripsiyonel olarak uyarılmaktadır(22). Bununla beraber reperfüzyonda oluşan yaygın vasküler hasar, endotelial hücre bariyerini ortadan kaldırmakta ve nötrofiller direkt olarak hepatositlere bağlanmaktadır. Bu bağlanma temelde LFA-1-ICAM-1 bağlantısına bağlıdır(34).

Selektinlerin, özellikle de P-selektinin karaciğer inflamasyonundaki rolü karmaşıktır. Sinusoidal endotelial hücreler ne Weibel Palade body'leri içerirler nede P-selektinin transkripsiyonel olarak aktivasyonunu gerçekleştirirler. Sinüzoidlerde, selektine bağlı olarak nötrofillerin damar dışına çıkışı izlenmez.Fakat bir çok nötrofil sinüzoidlerden damar dışına çıkmaktadır.Rat çalışmalarında, endotelial hücrelere lökosit adezyonundan temelde sorumlu olanın, P-selektin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hepatik I/R zedelenmesinde, P-selektin antikorlarla yapılan tedavinin hasarı azalttığı ve yaşam süresini uzattığı da gösterilmiştir(35).

2.8.4. Proinflamatuvar ve Anti-inflamatuvar mediatörlerin rolü:

2.8.4.1.Kompleman Sistemi:

Hepatik I/R sürecinde, özelliklede reperfüzyon fazında kompleman sistemi, hücrede proteinlerin salınımına bağlı olarak hızla aktive olmaktadır. C_{5a} gibi kompleman faktörleri nötrofillerdeki Mac-1 reseptörlerine bağlanarak, nötrofillerin sinüzoidlerde toplanmasına yol açmaktadır.C_{5a}, nötrofilleri ve KC'leri SR üretmek üzere uyarmaktadır. Aktive komplemanlar ayrıca bir araya toplanarak, membran atak kompleksi ve direk olarak hücre hasarı oluştururlar(36).

2.8.4.2.Sitokinler:

Hepatik I/R hücre hasarı ile birlikte Kupffer hücrelerinin aktivasyonu ile TNF- α , IL-1 ve IL-6 sentezlenir.TNF- α ve IL-1, IL-8 sentezini uyarır ve adezyon molekülleri sentezini artırır.TNF- α iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası uzak organ hasarında rol alan en önemli sitokindir (11). TNF- α , IL-1 salınımını artırır ve IL-1 de nötrofillerden serbest radikal salınımını tetikler (37). IL-1 ile TNF- α 'nın inflamatuvar mekanizmalar üzerine sinerjistik etkileri vardır ve birbirlerinin etkilerini potansiyalize ederler. IL-6 sinüzoidal endotel hücrelerinden ve Kupffer hücrelerinden salgılanmaktadır. IL-6 akut faz reaktanlarının salınımını düzenlemektedir. IL-6 iskemireperfüzyon modelinde MOF(Çoklu Organ Hasarı) ve ARDS(Ani solunum sıkıntısı sendrom) gelişiminden sorumlu tutulmaktadır.IL-12 iskemi-reperfüzyon döneminde hepatositlerden salgılanmaktadır ve TNF- α salınımını düzenlemektedir. IL-10 inflamasyonu baskılayan bir sitokindir. IL-10 salınımı NF- $\kappa\beta$ 'yı baskılayarak inflamatuvar medyatörlerin transkripsiyonunu engellemektedir (11). IL-10 makrofajlar ve PMNL'ler tarafından yapılan SR sentezini de baskılamaktadır (38).

2.8.5.Lipid mediatörler:

TXA2 platelet agregasyonunu artırır ve vazokonstrüksiyona sebep olur PGI2 platelet agregasyonunu baskılar ve vazodilatasyon oluşturur. Bu iki mediatör dolaşımda denge halindedir(39).Siklooksijenaz yolak nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlarla baskılanabilmektedir.Lipooksijenaz yolak daha ziyade nötrofillerde kullanılmaktadır. Lipooksijenazların katalizlediği tepkime ile AA'ten 5-HPETE sentezlenmektedir. 5-HPETE'den de lökotrienler sentezlenmektedir. Lökotrienler güçlü kemotaktik ajanlardır, vazokonstrüktördürler ve vasküler permeabiliteyi artırarak doku ödemeine sebep olurlar (39).Lökotrien B4 (LTB4), nötrofiller için potent kemotaktik faktördür. LTB4 reperfüzyon fazında nötrofil aracılı hasarı uyarmaktadır. PAF nötrofilleri süperoksit üretmek için uyarmaktadır. Ayrıca PAF, p₂ integrinler MAC-1'in potent aktivatörüdür. Ayrıca lipid peroksidasyon ürünleri de nötrofiller için kemotaktik faktördür(40).

2.8.6.Kupffer Hücreleri

Retiküloendotelial sistemin karaciğerde bulunan hücreleridir. Dolaşımdaki monositlerden köken almaktadırlar. Karaciğerde fonksiyonel ünite sinüzoidal endotelin hemen üstünde lümene bakar şekilde dizilmektedirler.Tipik doku makrofajlarıdır. Hepatik iskemi-reperfüzyon modelinde reperfüzyonla birlikte IL-1 ve TNF- α ilk Kupffer hücrelerinden salgılanmakta ve hasarı başlatmaktadır (41).

2.9. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Organizmanın fizyolojik ya da patolojik süreçlerinde görülen, metabolizma dahilinde ya da patolojik safhada ürettiği SR'ı elimine etmeye yarayan savunma mekanizmalarıdır. İki ana grubu vardır. İlk grup serbest radikal oluşumunu engellemekte, ikinci grup ise oluşan serbest radikalleri detoksifiye etmektedir. İntrasellüler ya da ekstrasellüler olabilmektedirler. SR oluşumunu önleyen antioksidanlar SOD, katalaz, mitokondrial sitokrom oksidaz, glutatyon peroksidazdan oluşmaktadır (11).

2.9.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

Patolojik ya da fizyolojik süreçte, metabolizma sırasında ya da hipoksi sonrasında, ortamdaki O₂ konsantrasyonundaki ani artışla birlikte O₂'den ksantin oksidaz enzimiyle süperoksit (O₂⁻) sentezlenmektedir. Süperoksit, süperoksit dismutaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla hidrojen peroksit (H₂O₂) üretmektedir.



SOD aktivitesi hücre ömrünün sonuna doğru azalmaya başlamaktadır. Bu sebeple apoptozis mekanizmasında rol oynadığı düşünülmektedir. SOD enzimi kofaktör olarak metal iyonu taşımaktadır ve bu metal iyonunun çeşidine göre 3 ana enzim tanımlanmıştır. İnsanda 2 tipi mevcuttur. Sitozolik ve mitokondrial tipleri bulunmaktadır. Sitozolik tipinin yapısında Cu ve Zn içeren dimerik bir form bulunmaktadır (Cu-Zn SOD). Mitokondrial tipinde de tetramerik formda Mn bulunur (MnSOD). Prokaryotlarda bulunan Fe içeren bir izomer daha tanımlanmıştır (11).

2.9.2.Katalaz

Dört adet hem grubu içeren hemoproteindir. Eritrositler katalaz enzimini yüksek miktarlarda bulundurmaktadır. Katalaz enzimi antioksidan etkinliğin %98'inden fazlasını karşılamaktadır. Hidrojen peroksidi suya ve oksijene indirger. Katalaz enzimi 2 ana mekanizma kullanır: Birincisi oksidatif stresin düşük olduğu dönemlerde peroksidatik reaksiyon, ikincisi ise oksidatif stresin yüksek olduğu dönemlerde katalitik reaksiyondur (42).

Peroksidatif mekanizma;



Katalitik mekanizma;



2.9.3. Glutasyon Peroksidaz

GSH peroksidaz enzimi hücreleri organik hidroperoksitler ve H₂O₂ tarafından oluşturulan oksidatif tahribata karşı GSH' ı kullanarak korur (43). İndirgenmiş GSH, bol miktarda tiyol ihtiva eden, düşük moleküler ağırlıklı bir maddedir. GSH, sahip olduğu sülfhidril grubu ile oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreleri korur. GSH dokularda açığa çıkan lipidperoksitleri, H₂O₂' yi, askorbik asiti ve SR' leri indirger ve Gprx enzimi için kofaktör olarak görev yaparak sonuçta okside olur (44). Gprx, H₂O₂ varlığında redükte GSH' nin okside glutatyon (GSSG) yükseltgenmesini katalize eder (11). Ayrıca H₂O₂ mitokondri ve sitoplazmada Gprx ile su ve oksijene indirgenir (45).

2.9.4. Glutasyon Redüktaz

GSH redüktaz bir flavin enzimidir ve koenzimi NADPH ve prostetik grubu flavinadenin dinükleotiddir. Hem sitozol hemde mitokondride bulunmaktadır. GSSG hücreyi oksidanlara karşı koruyamaz. Hücre elektron kaynağı olarak NADPH' ı kullanan GSH redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla GSSG tekrar indirgenmiş GSH' a çevrilir (46).



2.9.5. Sitokrom Oksidaz

Oksidatif fosforilasyonun son basamağıdır ve elektron transport zincirinde bulunur. Bu mekanizma fizyolojik bir mekanizmadır ve ATP üretiminde etkindir (44).

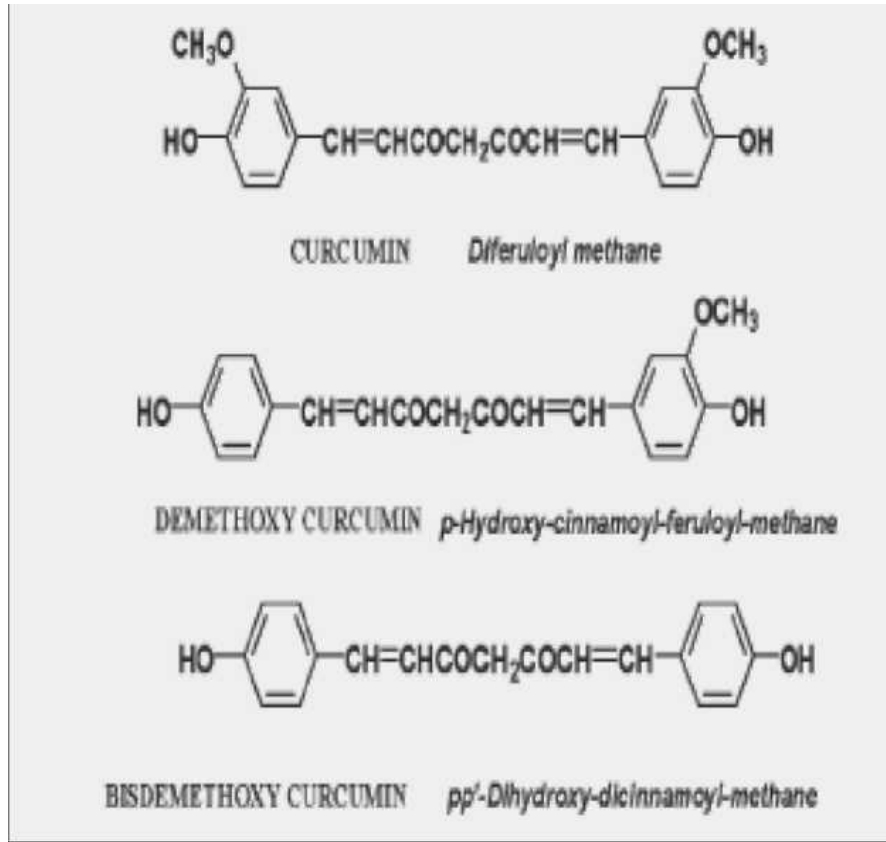
-



2.10. Curcumin

Curcuma Longa, Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan CUR (difuruloylmetan) portakal sarısı rengi ile gıda boyası olarak da kullanılmaktadır. Çok iyi bilinen ve sıklıkla kullanılan köri baharatının ana komponentidir.. CUR yerel paramedikal kullanımı son yıllarda bir çok araştırmacı için zihinlerinde yanıt bekleyen sorular

oluşturmuştur (48). CUR'un antioksidan özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, immunomodulatuvar, antitümoral ve antipsöriyatik etkinliği gösterilmiştir (49).



Şekil 11 : Curcuminin kimyasal yapısı (50)

2.10.1. Metabolizması

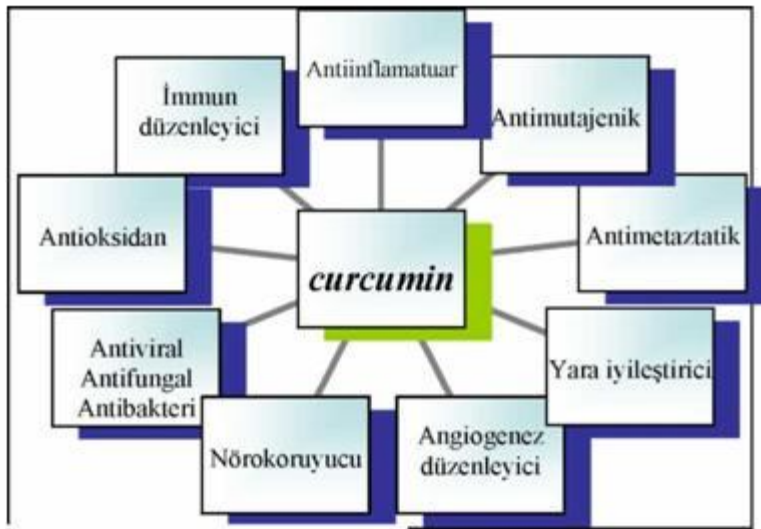
Curcumin suda çözünmez, hücre membranının hidrofobik ceplerinde lokalize olur. CUR moleküler özellikleri nedeniyle hücrelere hızlıca penetre olmakta, plazma membranından kolayca geçerek sitozole girmektedir. Stoplazmada biriken CUR çekirdeğe girmez. Lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı, endoplazmik retikulum ve çekirdek kılıfı gibi membranöz yapıların içinde yoğunlaşmaktadır. CUR dolaşımında çok düşük düzeyde veya hiç bulunmamaktadır (51).

Curcumin bağırsaklardan emilimi sırasında renksiz ve daha az polar olan tetrahidrocurcumin adlı metabolite dönüşmektedir. Tetrahidrocurcumin bağırsaklardan emilerek tüm dokulara dağılmaktadır. Tetrahidrocurcumin karaciğerde glukuronlanarak safra yolu ile atılmaktadır. Ağızdan alınan CUR'in yaklaşık % 75 i feçesle, geri kalan kısmı idrarla atılmaktadır. İntraperitoneal uygulamalarda da vücuttan atılımı benzerdir, ancak % 11'i dekonjuge olarak safra ile atılmaktadır (52) .

2.10.2.Moleküler Özellikleri

Curcuminler genel olarak doğal ve yapay curcuminler şeklinde sınıflandırılmaktadır. CUR, demetoksicurcumin, bisdemetoksicurcumin doğal olarak bulunan bileşiklerdir . Suda erimez, etanol, keton, asetik asit ve kloroform gibi maddelerle çözünür. Ticari CUR aseton içinde eritildikten sonra kromatografik yöntemle subfraksiyonlara ayrılarak %77 CUR (CUR I), %17 dimetoksicurcumin (CUR II) ve %3 bisdemetoksicurcumin (CUR III) izole edilir (53).

2.10.3.Curcuminin Etkileri



Şekil: 12. Curcuminin Etkileri

2.10.3.1.Curcuminin Antioksidan Etkileri

Curcuminin antioksidan özellikleri böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğer İ/R hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir. Curcuminin, Vitamin C ve E ile karşılaştırılabilir antioksidan aktivitesi mevcuttur.CUR antioksidan etkinliğini Ksantin Dehidrogenazın Ksantin Oksidaza dönüşümünün önlenmesi, lipid peroksidasyonu oluşumunun engellenmesi ve iskemik ortamda bulunan SR'leri toplayarak gösterir(54). CUR KAT, SOD ve GPx enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu azaltır (53).

Curcuminlerin yapısındaki fenolik ve metoksi gruplarının serbest radikallerle reaksiyona girmesiyle fenoksil radikali oluşmaktadır (55). Ayrıca CUR'in primer metaboliti tetrahidrocurcumin, antioksidan β diketo etki ile birlikte 2 karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağıyı yıkarak antioksidan etki yapar. Bu

antioksidan etkileriyle SR oluşumunu doğrudan veya Ksantin Dehidrogenazın Ksantin Oksidaza dönüşümünün inhibisyonu ile dolaylı etkileyerek olmaktadır. Ancak CUR'un diğer hasar veren hidroksil radikalleri veya peroksinitrit üzerindeki etkisi henüz aydınlatılamamıştır (56). Kronik enflamasyon ve sitokinler NO sentezini indükleyerek DNA hasarına ve kansere yol açan peroksinitrit ve nitrit oluşumuna yol açmaktadır. Yapılan pek çok çalışmada curcuminin NO sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir(57). .

2.10.3.2.Curcuminin Diğer Etkileri

Curcuminin potansiyel antikanser etkinliği sağlıklı hücelere zarar vermeden kanserli hücrelerde apoptoza neden olmasından kaynaklanmaktadır (50). CUR proliferen olan hücrenin bölünme sürecini değiştirmez, hücre bölünmesini geciktirmez. Büyüme inhibisyonu doza bağlıdır ve CUR'in uzaklaştırılmasıyla beraber geri dönüşümlüdür, CUR hücrede toksisite oluşturmaz. CUR'nin sebep olduğu büyüme inhibisyonu büyüme faktörlerinin ortama konulması ile geri döndürülemez, bu da CUR hücre siklus olaylarına etki ettiğini göstermektedir. CUR ile inkübe edilen hücre kültürlerinde, hücrelerin DNA içeriklerinin G1 /S fazında yoğunlaştığını gösterilmiştir. S fazındaki hücre sayıları ve hücre proliferasyonundaki inhibisyon hücrelerin S fazında yavaşladıklarını veya durduklarını ve DNA sentezinin CUR siz gruba göre aktif olmadığını düşündürmektedir (58).

Curcumin diyetle alındığında kolonik mukozadaki siklooksigenaz ve lipooksigenaz enzimlerinin aktivitelerini inhibe etmektedir. Bu enzimlerin inhibe olması sonucu enflamatuar yanıtta rol alan arasıdonik asit metabolizması önlenerek anti enflamatuar etki gösterdiği rapor edilmiştir (59).

Curcuminin ateroskleroz gelişimini önleyici etkisi vardır. Düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu ateroskleroz gelişimde en önemli role sahiptir. CUR plazma kolesterol, lipoproteinler ve trigliserit düzeylerini azaltarak ateroskleroz gelişimini önlediği ileri sürülmüştür (60).

Curcuminin potent bir antitrombotik ajandır. Bu etkisini siklooksigenaz aktivitesinin inhibe ederek gerçekleştirmektedir(59). CUR psöriyazisli hastalarda topikal kullanıldığında klinik, histolojik ve immünolojik kriterlere göre psöriyazisi geriletmediği gösterilmiştir. CUR'un bu etkisini immunomodölatör, antiinflamatuar ve siklooksigenaz inhibisyonu etkilerinden dolayı olduğu öne sürülmüştür(54). Curcuminin diete eklenmesi ile nörodegeneratif hastalıklardan olan Alzheimer hastalığından korunulmuş olunur(61).Fare fokal serebral iskemi modellerinde Curcumin belirgin nörokoruyucu etkinliği; lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi,

endogen antioksidan savunma enzimlerini artırması ve peroksinitrit ($\text{OONO}^\cdot$) oluşumunu azaltması ile oluşmaktadır(62).

2.10.4.Güvenlik

Serum curcumin konsantrasyonları en yüksek oral alımın ardından 1-2 saat sonra saptanılmış ve daha sonra 12 saat içinde de kademeli olarak azaldığı gösterilmiştir.

Curcuminle yapılmış hayvan çalışmalarında 5 g/kg'ın üzerindeki dozlarda bile toksisite bulgularına rastlanılmamıştır. Sistemik prelinik çalışmalarda Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü Korunma Bölümünde ratlarda, köpeklerde, maymunlarda 3.5 g/kg üzerindeki dozlarda 3 aydan uzun kullanımda yan etki saptanmamıştır. Curcumine bağlı 2 gastrointestinal yan etki ilişkilendirilmiş olup; bunlar, daire ve karın ağrısıdır. Bu da ilaç toksisitesinden çok hastalık ilerleyişine bağlanılmıştır(63)

3. MATERYAL METOD

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi şartlarında, Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (DUHADEK) 31.05.2010 tarih ve 2010-25 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak yapıldı.

3.1.Deney Hayvanları

Deney hayvanı olarak, biyomedikal araştırmalarda kullanılan başlıca tür olması, boyutlarının küçüklüğü ve bakımının kolaylığı nedeniyle rat tercih edildi. Bu amaçla, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM) şartlarında, 40 adet, ortalama ağırlıkları 250 - 300 gr. olan Wistar Albino rat rastgele olarak seçildi. Tüm ratlar çalışma boyunca bir kafeste 5 rat olacak şekilde tutuldu. Ratlar 25°C de 12 saat gündüz, 12 saat gece periyotlarında standart rat yemi su ile beslendi. Su olarak klorlu çeşme suyu kullanılmıştır.

3.2. Deneysel Çalışma

Operasyon öncesi akşamdan sonra aç bırakılan hayvanlara; intramuskuler yoldan 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar®; Parke Davis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun®; Bayer AG, Leverkusen, Germany). enjekte edilerek anestezi sağlandı ve deneysel prosedür başlatıldı. Batın bölgesinin traşını takiben %10'luk povidone iodine solusyonu (Betadine®) ile cilt temizliği yapıldı (Resim 14). Steril koşullarda ratların karın kısmına yapılan orta hat insizyonu ile karın açıldı; karaciğer, diyafragma, hepatoduedonal ligaman ile komşu organlar dikkatlice diseke edildi (Resim 15). Hepatoduedonal ligaman (v.porta, a.hepatica communis ve koledok kanalı) ortaya konuldu. Bir paket lastiği hepatoduedonal ligamanın üstüne yerleştirildikten sonra, 3.0 ipek sütür ile hepatoduedonal ligamanın etrafından dönülerek askıya alındı ve pringle manevrası gerçekleştirilerek iskemi periyodu başlatıldı (Resim 16). 30 dakikalık iskemik periyodu takiben paket lastiği çekilerek sütür gevşetilerek açıldı ve 30 dakikalık reperfüzyon periyodu başlatıldı ve bu sürenin sonunda kalpten kan alınarak hayvanlar sakrifiye edildi.

Çalışmaya toplam 40 adet Wistar Albino dişi rat alındı ve gruplar şu şekilde oluşturuldu:

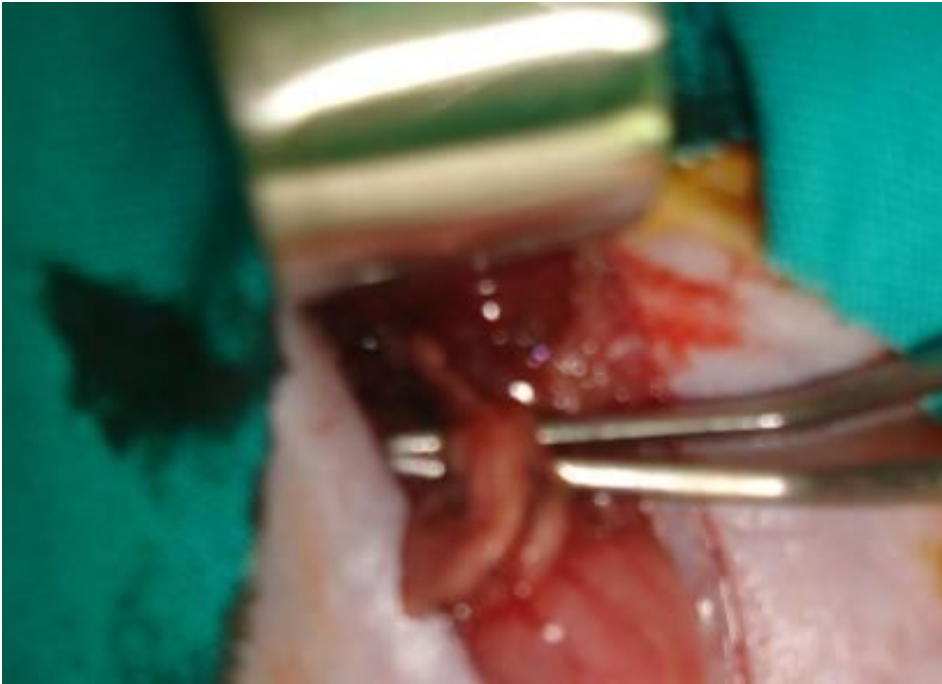
Grup I (Sham): Hepatoduodenal ligaman disseksiyonu yapıldı, herhangi bir ilaç verilmedi.**Grup II (Kontrol):** Grup 1'e ilaveten deneysel çalışmaya başlamadan 15 dakika önce oral gavaj yoluyla (Tmax'a göre) 200mg/kg dozunda oral yolla Curcumin verildi (64).

Grup III (İskemi/Reperfüzyon): 30 dk'lık Pringle Manevrasını takiben 30 dk reperfüzyon uygulandı ve herhangi bir ilaç verilmedi.

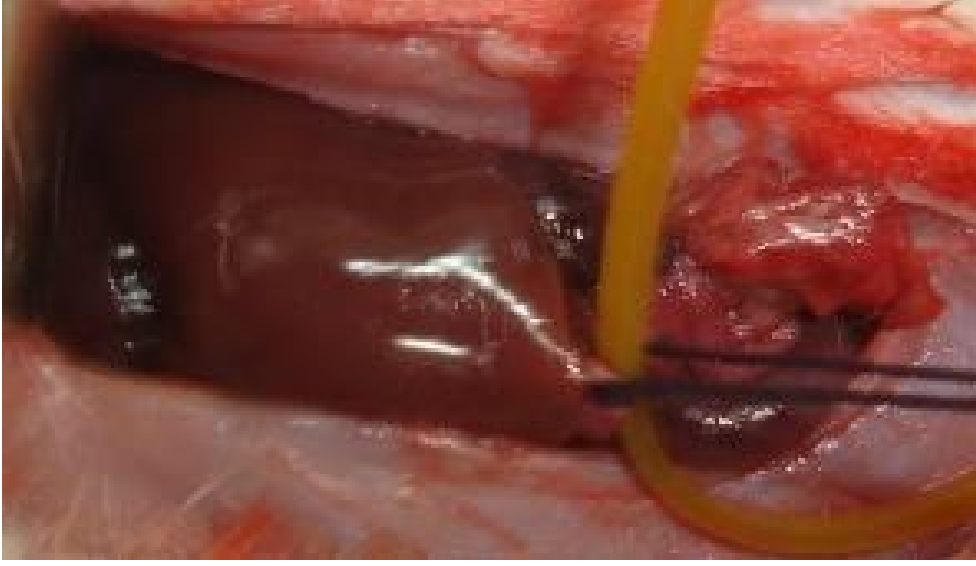
Grup IV (İskemi/Reperfüzyon+Curcumin): Grup 3'e ilaveten iskemi periyodu başlatılmadan 15 dakika önce oral gavaj yoluyla (Tmax'a göre) 200mg/kg dozunda oral yolla Curcumin verildi (64).



Şekil 13. Batın traşı yapılarak, insizyon bölgesinin Betadine ile boyanması



Şekil 14. Hepatoduodenal ligamanın diseke edilmesi



Şekil 15. Pringle manevrası ile hepatoduodenal ligamanın askıya alınması

Her grupta deneysel işlemlerin sonunda, biokimyasal tetkikler ve histopatolojik incelemeler için kan örnekleri ile karaciğer, her iki akciğer ve böbreklerden doku örnekleri alınmak üzere çıkarıldı. Alınan kan süratle santrifüjlenerak elde edilen plazma, biyokimyasal analizler için plastik endorf kapaklı tüplere transfer edilerek -80 °C derin dondurucuda saklandı. Alınan dokulardan biyokimyasal analizlere uygun olarak separe edildi. Kan ve yabancı doku artıkları serum fizyolojik ile yıkanarak uzaklaştırıldı ve takiben süratle uygun saklama kaplarına (plastik endorf kapaklı tüplere) konup -80 °C derin dondurucuya aktarıldı. Ayrıca patolojik değerlendirme için söz konusu dokular, uygun miktarlarda alınarak %10 formaldehit solüsyonunda plastik ve kapaklı kaplara konularak ilgili plazma ve doku örneklerinde o numuneye özgü parametrelerin analizleri için saklandı.

3.3.Biyokimyasal Analizler:

Kanda total antioksidan durum (AOA) ve malondialdehit (MDA) analizleri gerçekleştirilirken, dokularda ise total oksidan durum (TOA) ve AOA analizleri gerçekleştirildi. Ayrıca dokular için oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplandı.

3.3.1.Dokuların Homojenizasyonu

Analiz gününe kadar – 80⁰ C de saklanan dokular, çalışma günü derin dondurucudan çıkarılıp kuru buz ortamında laboratuara getirildi. Soğuk zincire dikkat edilerek tüpe aktarılan yaklaşık 0,30 - 0,50 gramlık doku parçasına 2 ml Tris-HCl tamponu eklendi. Buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen tüpteki dokular 1-3 dakika süreyle homojenizatörde (Ultra Turrax Type T8 , IKA Labortechnik, Germany) 50 mM pH 7.0 fosfat tamponu (PBS) içinde 14.000 devirde (rpm) işlem gördü. Bu sürede son hacim

doku ağırlığının 10 katı olacak şekilde tampon eklemesi yapıldı. Homojenat +4⁰ C de 30 dakika süre ile santrifüj edildi. Supernatandan TOA ve AOA analizleri için numune alındı.

3.3.2. Malondialdehit (MDA) Analizi

MDA seviyeleri Hammouda A el-R ve ark. metodu ile tiobarbitürik asit (TBA) reaktivitesi yöntemi kullanılarak ölçüldü (65). Yağ asidi peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek sıcak ve alkali ortamda, 532 nm’de maksimum absorbands veren renkli kompleks oluşturur. Oluşan kompleksin okunan absorbandsından faydalanılarak MDA değerleri elde edildi.

Numune ve deney tüpleri hazırlandı. Tüplere 2,5 ml % 10’ luk (w/v) TCA çözeltisi koyulduktan sonra kör tüpüne 0,5 ml distile su, numune tüpüne ise 0,5 ml numune koyularak vorteksle karıştırıldı. Tüplerin ağzı kapatıldıktan sonra 90⁰ C lik su banyosunda 15 dakika bekletildi. Tüpler soğutulduktan sonra 3000 x g de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatantlardan 2 ml alınıp üzerine % 0,675’ lik (w/v) TBA çözeltisinden 1 ml eklendi. Tekrar 90⁰ C lik su banyosunda 15 dakika bekletildikten sonra tüpler soğutuldu. Her numunenin 532 nm de köre karşı absorbandsları okutuldu.

1,1,3,3-tetramethoxypropane’nın değişik konsantrasyonları ile hazırlanan Standart grafiğinden faydalanılarak serum MDA düzeyleri µM/L olarak hesaplandı.

3.3.3. TOA Analizi

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir(66). Örneklerde bulunan oksidanlar ferroz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonla oksitlerken ortamdaki gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda “xylenol orange” ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilgili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçüldü. Doku TOA değerleri nmol H₂O₂ equiv /mg protein olarak hesaplanmıştır.

3.3.4. AOA Analizi

Bu yöntem Erel tarafından geliştirilen tam otomatik ve güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçebilen güncel bir yöntemdir(66-67). Bu yöntemde; Fe²⁺-o-dianisidin kompleksi ile hidrojen peroksid Fenton reaksiyonuna girerek OH radikalini oluşumuna neden olur. Bu OH radikali indirgenip düşük pH’da renksiz o-dianisidin molekülüyle etkileşerek sarı-kahverengi dianisidil radikallerini oluşturur. Dianisidil radikalleri ise daha ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak bu renk oluşumunu artırır. Halbuki analiz örneklerindeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırıp engelleyerek renk oluşumunu azaltmaktadır. Bu reaksiyon

otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kan AOA değerleri hesaplanırken $\mu\text{mol Trolox Equiv/ L}$ olarak, doku AOA değerleri ise $\text{nmol Trolox Equiv./mg protein}$ olarak hesaplanmıştır.

3.3.5. OSI Analizi

OSI, oksidatif stres derecesinin bir indikatör parametresi olup, formülizasyonu aşağıdaki gibidir:

$$\text{OSI} = (\text{TOS/ TAS}) \times 100 \text{ (68).}$$

3.4. Histopatolojik Değerlendirme:

Karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında hafif düzeyde incinmeden ağır düzeyde incinmeye kadar skorlanarak ortaya konuldu. Dokular % 10 formalin solüsyonu içerisine konup parafin bloklara yerleştirilerek 4- μm 'lik kesitler hazırlanır ve hematoxylin-eosin ile boyanarak standart protokol uygulandı. Hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı; Grade 0, minimal veya hasar yok; Grade 1, sitoplazmik vakuolizasyon ve fokal nükleer piknozis içeren hafif hasar; Grade 2, genişlemiş nükleer piknozis, sitoplazmik hipereozinofili ve intersellüler sınırların kaybını içeren ılımlı şiddetli hasar; Grade 3, hepatik bağların parçalanmanın eşlik ettiği şiddetli nekroz, kanama ve nötrofil infiltrasyonunu içeren şiddetli hasar şeklinde sınıflandırıldı. Hepatik iskemi/reperfüzyona sekonder akciğer hasarı; grade 0, değişiklik yok; grade 1, hafif nötrofil lökosit infiltrasyonu ve hafif - ılımlı interstisyel konjesyon; grade 2, ılımlı nötrofil lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem formasyonu ve pulmoner yapının parçalanması; grade 3, yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonu ve pulmoner yapının tamament harabiyeti olarak tanımlandı. Hepatik iskemi/reperfüzyon hasarına sekonder böbrek hasarı ise; grade 0, diagnostik değişiklik yok; grade 1, tubuler hücrelerin şişmesi, fırça kenarların kaybı, nükleer kaybı gösteren nükleer yoğunlaşmadan tubuler yapıların 1/3'üne kadar uzanan değişiklikler; grade 2, grade 1'e ek olarak tubuler yapıların 2/3'üne kadar uzanan nükleer kayıplar; grade 3, tubuler yapıların 2/3'ünden fazlasını içeren nükleer kayıpları içeren değişiklikler olarak tanımlandı (69).

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

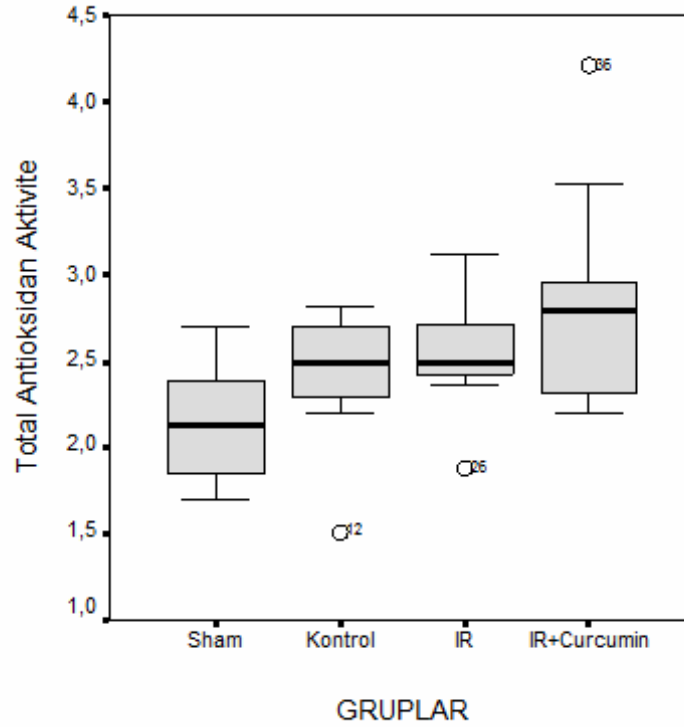
Gruplardan elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarıldı. Veriler SPSS for Windows 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), paket programına girildi. Gruplar arası karşılaştırma için Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı İkili karşılaştırma için Mann- Whitney U testi kullanıldı. ($P < 0.05$) seviyesi anlamlı olarak kabul edildi. Parametreler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon testi

kullanıldı. Hitopatolojik ve biyokimyasal değerler için ortalama (minumum, maksimum) değerler kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Plazma AOA ve MDA sonuçlarının değerlendirilmesi

Gruplar arasında plazma AOA ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi (sırasıyla $p=0.008$ ve $p<0.001$). (Şekil 17 ve Şekil 18)



Şekil 16. Plazma AOA düzeylerinin gruplar arasında dağılımı

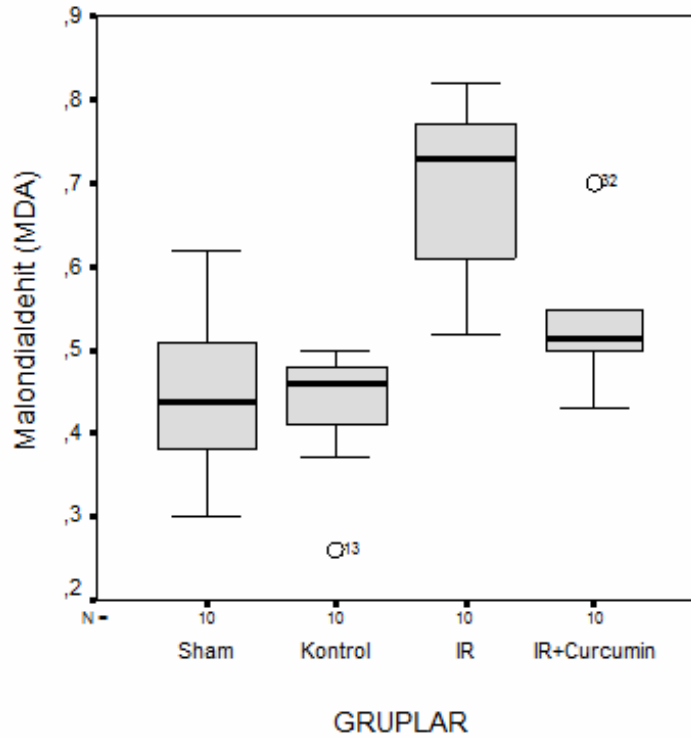
Sham ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; kontrol grubunda AOA değerleri daha yüksekti ($p=0.043$). MDA değerleri ise sham grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0.05$)

Sham grubuyla iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; sham grubunda AOA ve MDA değerleri daha düşüktü (sırasıyla iskemi/reperfüzyon grubu için $p=0.015$ ve $p<0,001$ ve iskemi/reperfüzyon+curcumin grubu için $p=0.002$ ve $p=0.043$). Kontrol grubuyla iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; kontrol grubunda AOA ve MDA değerleri daha düşüktü. MDA değerleri arasındaki fark anlamlı iken, AOA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla iskemi/reperfüzyon grubu için $p>0.05$ ve $p=0,002$ ve iskemi/reperfüzyon+curcumin grubu için $p>0.05$ ve $p=0.015$).

İskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grupları karşılaştırıldığında, iskemi/reperfüzyon grubunda MDA değerleri daha yüksek, AOA değerleri ise daha

düşüktü. MDA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) iken, AOA değerleri arasındaki fark ($p>0,05$) anlamlı değildi.

Plazmaya ait AOA ve MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 1’de verilmiştir.



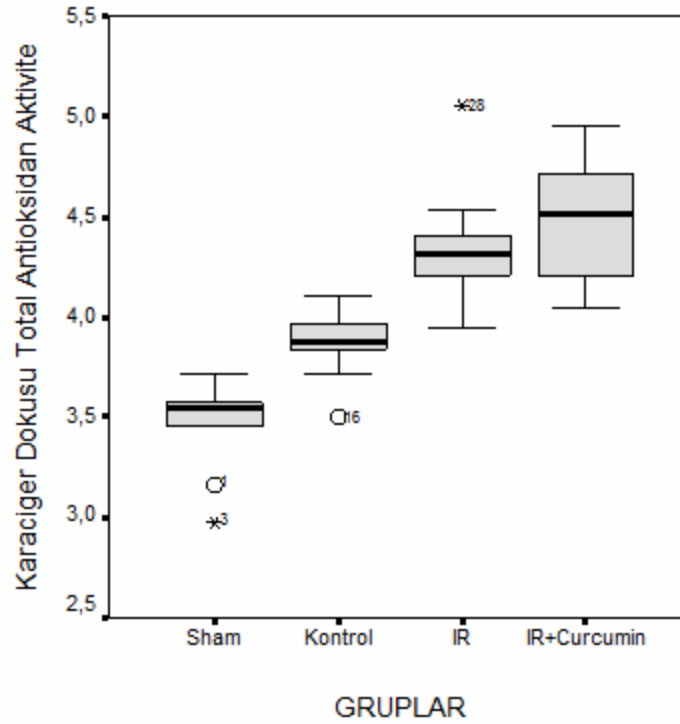
Şekil 17. Plazma MDA düzeylerinin gruplar arasında dağılımı

Tablo 1. Plazma AOA ve MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

	Grup	Ortalama değer	Standart sapma	Minumum değer	Maksimum değer
AOA ($\mu\text{mol Trolox Equiv/ L}$)	Sham	2,14	0,32	1,70	2,70
	Kontrol	2,42	,38	1,51	2,82
	IR	2,54	,32	1,88	3,12
	IR+Curcumin	2,87	,63	2,19	4,21
MDA ($\mu\text{M/L}$)	Sham	0,44	0,10	0,30	0,60
	Kontrol	,47	,14	,26	,83
	IR	,70	,10	,52	,82
	IR+Curcumin	,53	,07	,43	,70
AOA= Total Antioksidan aktivite, MDA= Malondialdehit, IR=Iskemi/Reperfüzyon					

4.2. Karaciğer dokusunda AOA, TOA, OSI ve histopatolojik sonuçların değerlendirilmesi

Gruplar arasında karaciğer dokusunda AOA ve TOA değerleri ile histopatolojik bulgular karşılaştırıldığında arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.006$ ve $p<0.001$). (Şekil 19 ve Şekil 20)



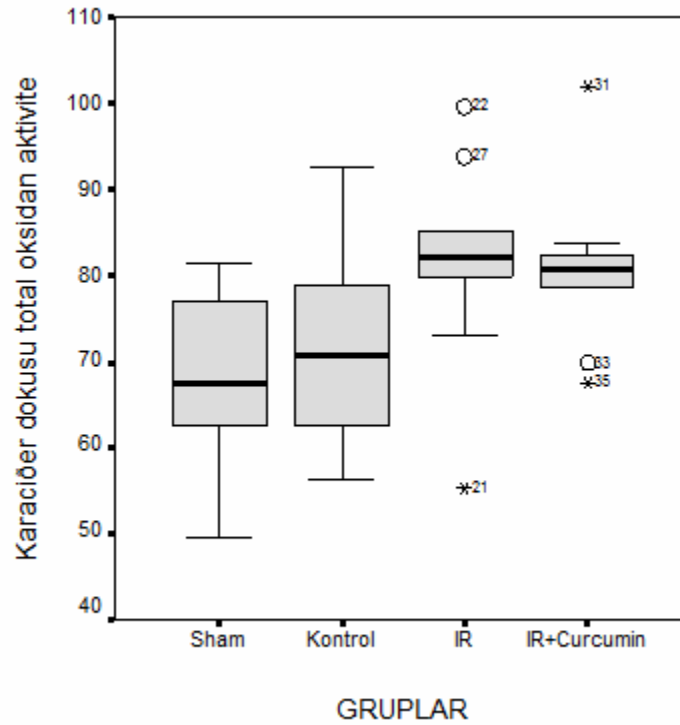
Şekil 18. Karaciğer dokusunda gruplar arasında AOA değerlerinin dağılımı

Sham ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; kontrol grubunda karaciğer dokusunda AOA değerleri daha yüksekti ($p<0.001$). TOA değerleri ise sham grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0.05$)

Sham grubuyla iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; sham grubunda karaciğer dokusunda AOA ve TOA değerleri daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla iskemi/reperfüzyon grubu için $p<0.001$ ve $p=0.005$ ve iskemi/reperfüzyon+curcumin grubu için $p<0.001$ ve $p=0.004$).

Kontrol grubuyla iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; kontrol grubunda karaciğer dokusunda AOA ve TOA değerleri daha düşüktü. AOA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken, TOA değerleri arasındaki fark iskemi/reperfüzyon grubu için anlamlı iken, iskemi/reperfüzyon +curcumin grubu için anlamlı değildi (sırasıyla iskemi/reperfüzyon

grubu için $p<0.001$ ve $p=0,035$ ve iskemi/reperfüzyon+curcumin grubu için $p<0.001$ ve $p>0.05$).

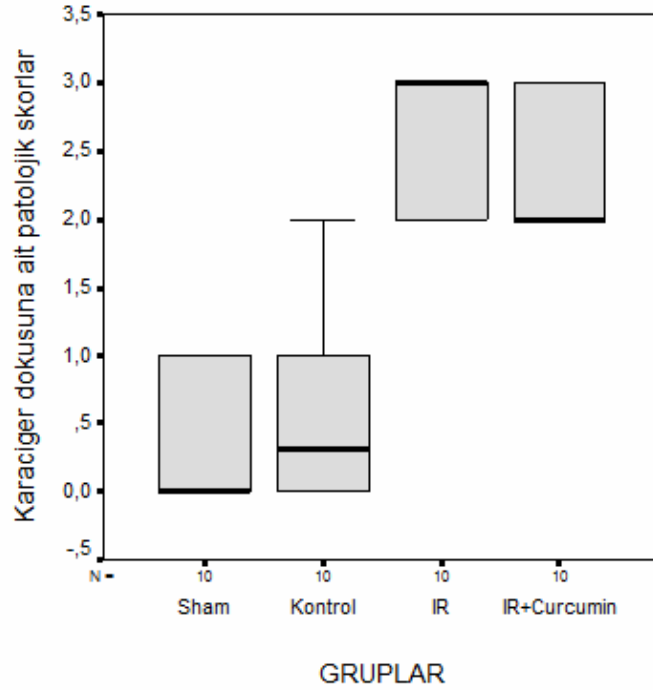


Şekil 19. Karaciğer dokusu TOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı

İskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grupları karşılaştırıldığında, iskemi/reperfüzyon grubunda karaciğer dokusunda TOA değerleri daha yüksek, AOA değerleri ise daha düşüktü. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Çalışma gruplarında OSI değerlendirildiğinde; kontrol grubu ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda değerlerin sham ve iskemi/reperfüzyon grubuna göre daha iyi olduğu, sham grubun ve iskemi/reperfüzyon grubu karşılaştırıldığında ise beklenildiği üzere sham grubunda oksidatif stresin daha az olduğu görüldü, ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Sham ve kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait histopatolojik skorları değerlendirildiğinde benzer olduğu görüldü. Her iki grubun histopatoloji skorları; iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuyla karşılaştırıldığında her iki grubun skorlarının iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin gruplarına göre daha iyi olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.001$). Ancak iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin gruplarının skorları değerlendirildiğinde; iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda skorların kısmen daha iyi olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Şekil 21).



Şekil 20. Karaciğer dokusuna ait histopatolojik değerlendirme bulgularının gruplar arasında dağılımı

Karaciğer dokusuna ait AOA ve TOA değerleri ile histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo2. Karaciğer dokusunda AOA, TOA ve histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı

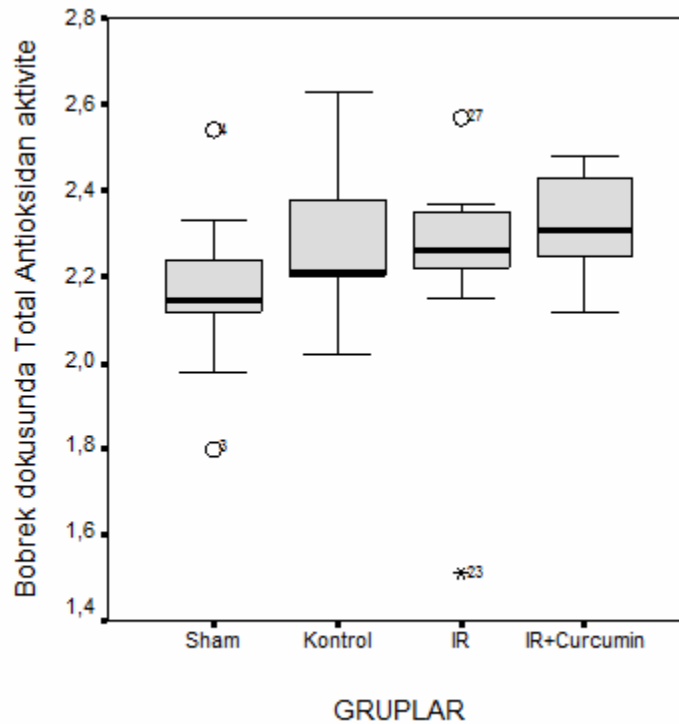
	Grup	Ortalama değer	Standart sapma	Minumum değer	Maksimum değer
AOA (nmol Trolox Equiv./mg)	Sham	3,46	,22	2,9	3,7
	Kontrol	3,88	,18	3,50	4,11
	IR	4,36	,29	3,95	5,05
	IR+Curcumin	4,49	,30	4,05	4,95
TOA (nmol H2O2 equiv /mg)	Sham	68,33	9,50	49,5	81,3
	Kontrol	71,27	10,82	56,19	92,50
	IR	81,62	11,83	55,28	99,58
	IR+Curcumin	80,75	9,20	67,62	102,00
Patoloji Skor	Sham	,30	,48	0	1
	Kontrol	,52	,67	0	2
	IR	2,60	,51	2	3
	IR+Curcumin	2,34	,47	2	3
AOA= Total Antioksidan aktivite, TOA= Total Oksidan Aktivite, IR=Iskemi/Reperfüzyon					

4.3. Böbrek dokusunda AOA, TOA, OSI ve histopatolojik sonuçların değerlendirilmesi

Gruplar arasında böbrek dokusunda AOA ve TOA değerleri ile histopatolojik bulgular karşılaştırıldığında AOA değerleri arasındaki fark anlamlı değil iken, TOA ve histopatolojik değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p>0.05$, $p=0.001$ ve $p<0.001$). (Şekil 22 ve Şekil 23)

Sham ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; kontrol grubunda böbrek dokusunda AOA değerleri daha yüksek olmasına rağmen, fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). TOA değerleri kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$).

Sham ve iskemi/reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında AOA ve TOA değerleri daha düşüktü. AOA değerleri arasındaki fark anlamlı değildi. TOA değerleri arasındaki fark ise anlamlıydı ($p=0.001$).



Şekil 21. Böbrek dokusunda gruplar arasında AOA değerlerinin dağılımı

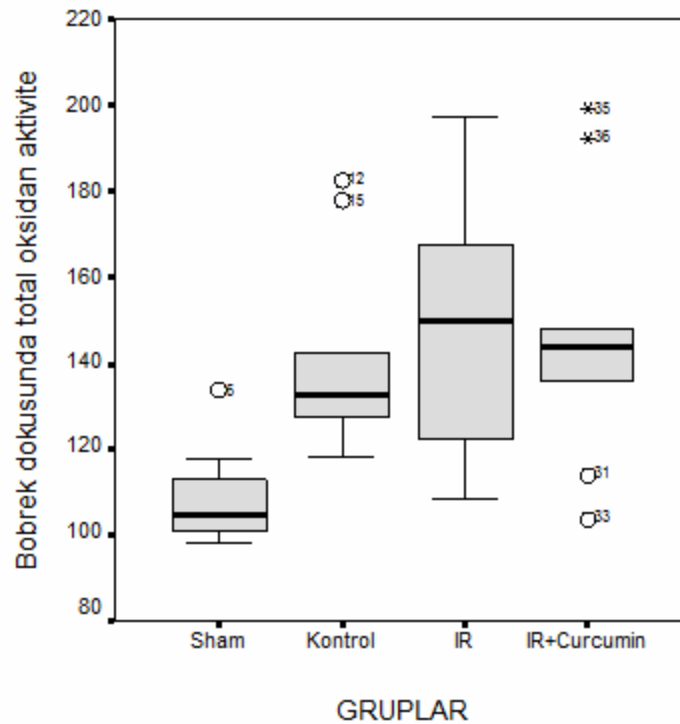
Sham ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; benzer şekilde karşılaştırıldığında AOA ve TOA değerleri daha düşüktü. AOA değerleri arasındaki fark anlamlı değildi. TOA değerleri arasındaki fark ise anlamlıydı ($p=0.001$).

Kontrol grubuyla iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; kontrol grubunda böbrek dokusunda AOA ve TOA değerleri daha

düşük olmasına rağmen , değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0.05$).

İskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grupları karşılaştırıldığında, iskemi/reperfüzyon grubunda böbrek dokusunda TOA değerleri daha yüksek, AOA değerleri ise daha düşüktü. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

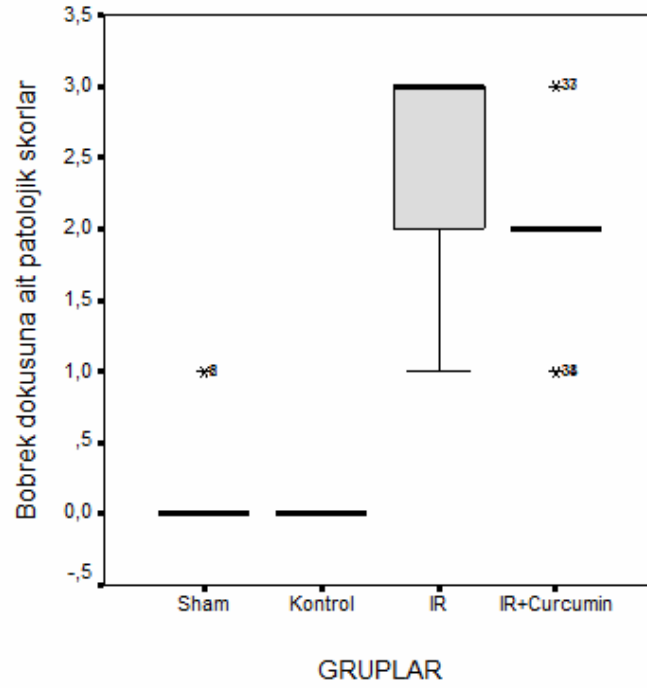
Çalışma gruplarında OSI değerlendirildiğinde; Sham grubunda oksidatif stresin kontrol, iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu (sırasıyla $p=0.015$, $p=0.035$ ve $p=0.015$), kontrol grubu ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunun sonuçlarının ise iskemi/reperfüzyon grubuna göre daha iyi olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$).



Şekil 22. Böbrek dokusunda TOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı

Sham ve kontrol grubunun böbrek dokusuna ait histopatolojik skorları değerlendirildiğinde; skorlar sham grubunda daha iyiydi, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Her iki grubun histopatoloji skorları iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuyla karşılaştırıldığında, sham grubunun skorlarının daha iyi olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.001$). İskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunun skorları değerlendirildiğinde; iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda skorların kısmen daha

iyi olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$)(Şekil 24).



Şekil 23. Böbrek dokusuna ait histopatolojik değerlendirme bulgularının gruplar arasında dağılımı

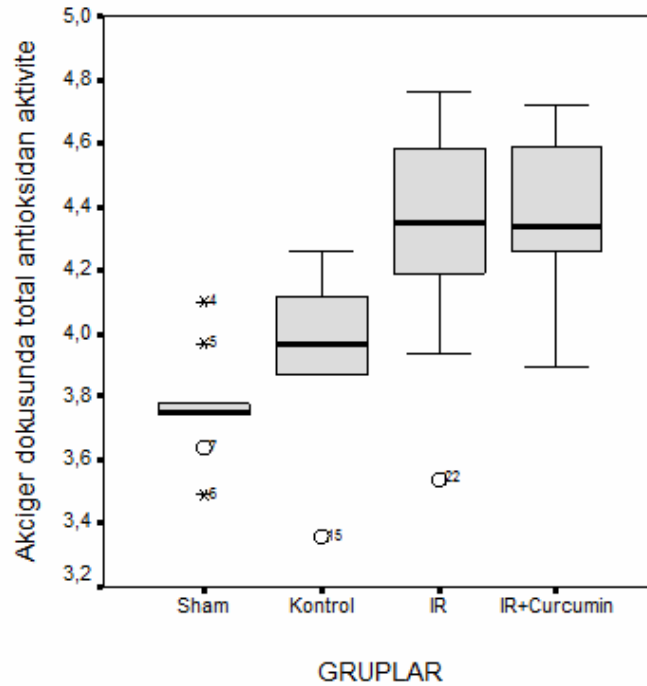
Böbrek dokusuna ait AOA ve TOA değerleri ile histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo3. Böbrek dokusunda AOA, TOA ve histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı

	Grup	Ortalama değer	Standart sapma	Minumum değer	Maksimum değer
AOA (nmol Trolox Equiv./mg)	Sham	2,16	,20	1,80	2,54
	Kontrol	2,29	,19	2,02	2,63
	IR	2,23	,28	1,51	2,57
	IR+Curcumin	2,31	,11	2,12	2,48
TOA nmol H2O2 equiv /mg)	Sham	108,49	10,72	97,98	133,74
	Kontrol	140,12	22,57	117,90	182,53
	IR	149,38	30,56	108,27	197,47
	IR+Curcumin	146,48	29,78	103,76	198,92
Patoloji Skor	Sham	,20	,422	0	1
	Kontrol	,00	,00	0	0
	IR	2,60	,69	1	3
	IR+Curcumi	2,00	,66	1	3
AOA= Total Antioksidan aktivite, TOA= Total Oksidan Aktivite, IR=Iskemi/Reperfüzyon					

4.4. Akciğer dokusunda AOA, TOA, OSI ve histopatolojik sonuçların değerlendirilmesi

Gruplar arasında akciğer dokusunda AOA ve TOA değerleri ile histopatolojik bulgular karşılaştırıldığında değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.008$ ve $p<0.001$)(Şekil 25 ve Şekil 26).



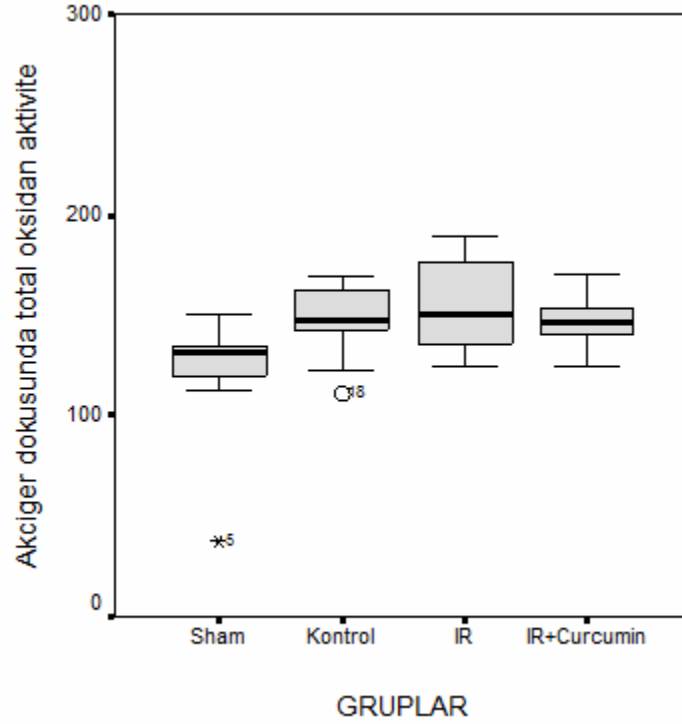
Şekil 24. Akciğer dokusunda AOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı

Sham ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; kontrol grubunda akciğer dokusunda AOA ve TOA değerleri daha yüksekti ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. (sırasıyla $p=0.023$ ve $p=0.023$)

Sham ve iskemi/reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında, sham grubunda AOA ve TOA değerleri anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla $p=0.002$ ve $p=0.002$).

Sham ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; benzer şekilde sham grubunda AOA ve TOA değerleri anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla $p<0.001$ ve $p=0.003$).

Kontrol grubuyla iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + Curcumin grupları karşılaştırıldığında; kontrol grubunda akciğer dokusunda AOA ve TOA değerleri daha düşüktü. AOA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken, TOA değerleri arasındaki fark her iki grup için anlamlı değildi (sırasıyla iskemi/reperfüzyon grubu için $p=0.011$ ve $p>0,05$ ve iskemi/reperfüzyon+curcumin grubu için $p=0.005$ ve $p>0.05$).



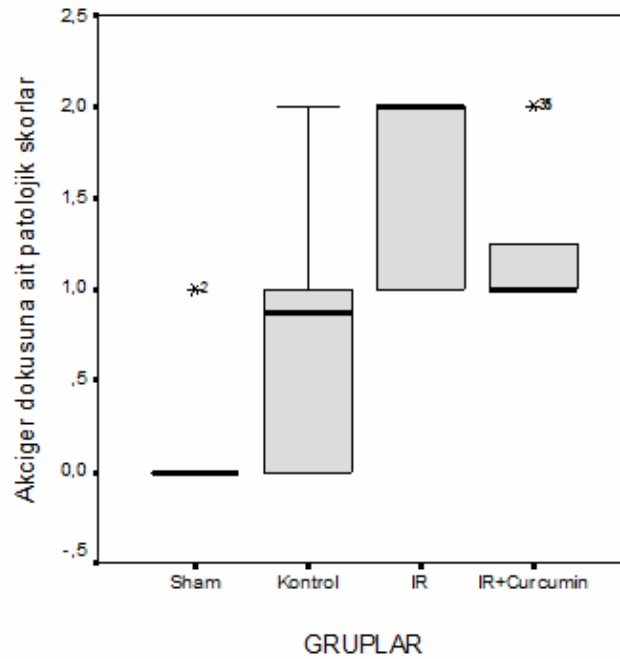
Şekil 25. Akciğer dokusunda TOA değerlerinin gruplar arasında dağılımı

İskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grupları karşılaştırıldığında, iskemi/reperfüzyon grubunda akciğer dokusunda TOA değerleri daha yüksek, AOA değerleri ise daha düşüktü. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Çalışma gruplarında OSI değerlendirildiğinde; iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda oksidatif stresin diğer grupların tamamına göre daha düşük olduğu, ancak bu farkın anlamlı olmadığı görüldü. Sham grubunun sonuçları iskemi/reperfüzyon grubundan daha düşüktü. Kontrol grubunda ise oksidatif stres diğer gruplardan ılımlı olarak daha yüksekti. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sham ve kontrol grubunun akciğer dokusuna ait histopatolojik skorları değerlendirildiğinde; sham grubunda sonuçlar daha iyiydi, ancak bu fark anlamlı değildi. Sham grubunun histopatoloji skorları iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuyla karşılaştırıldığında, sham grubunun skorlarının her iki gruptan daha iyi olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (her iki grup için $p < 0.001$). Kontrol grubunun histopatoloji skorları iskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubuyla karşılaştırıldığında skorlar her iki grupta anlamlı olarak daha iyiydi (sırasıyla $p = 0.004$ ve $p = 0.043$). İskemi/reperfüzyon ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunu skorları değerlendirildiğinde; iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda skorların daha iyi

olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Şekil 27).



Şekil 26. Akciğer dokusuna ait histopatolojik değerlendirme bulguların gruplar arasında dağılımı
Akciğer dokusuna ait AOA ve TOA değerleri ile histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı Tablo 4’de verilmiştir.

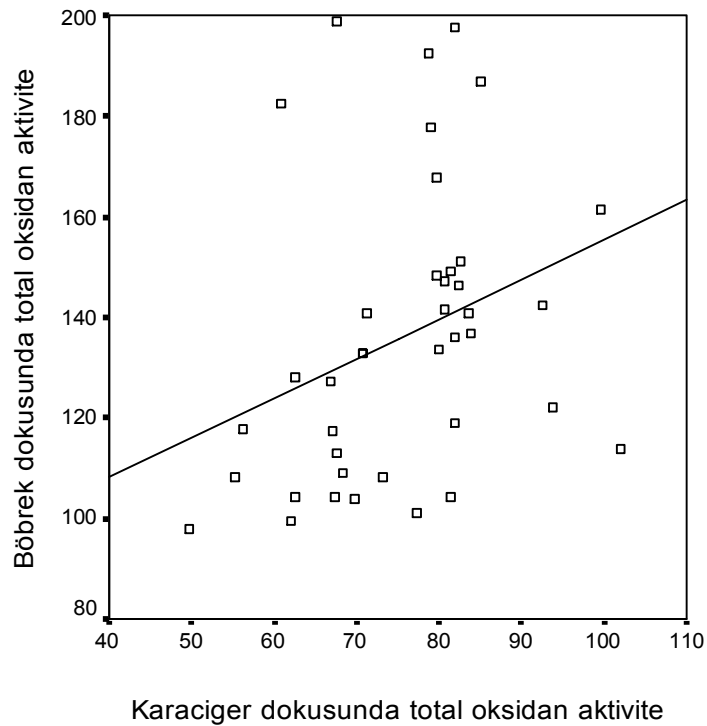
Tablo 4. Akciğer dokusunda AOA, TOA ve histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımı

	Grup	Ortalama değer	Standart sapma	Minumum değer	Maksimum Değer
AOA (nmol Trolox Equiv./mg)	Sham	3,77	,17	3,49	4,10
	Kontrol	3,95	,24	3,36	4,26
	IR	4,31	,36	3,54	4,76
	IR+Curcumin	4,34	,29	3,90	4,72
TOA nmol H2O2 equiv /mg)	Sham	121,73	31,19	37,71	150,78
	Kontrol	148,15	18,63	111,58	169,63
	IR	154,04	20,86	125,62	189,29
	IR+Curcumin	148,33	12,81	124,70	170,66
Patoloji Skor	Sham	,10	,316	0	1
	Kontrol	,68	,667	0	2
	IR	1,66	,47	1	2
	IR+Curcumin	1,23	,41	1	2
AOA= Total Antioksidan aktivite, TOA= Total Oksidan Aktivite, IR=Iskemi/Reperfüzyon					

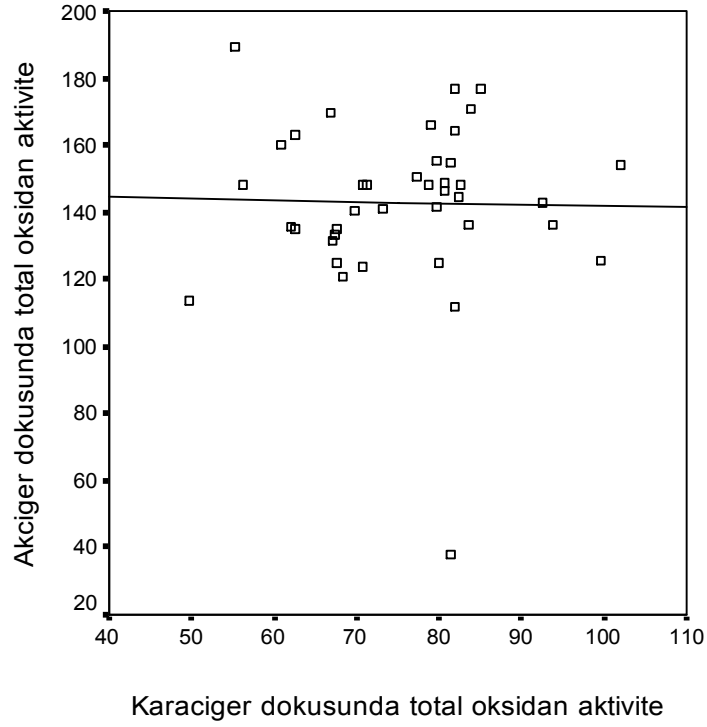
4.5. Sonuçların genel olarak değerlendirilmesi

Tüm çalışma gruplarına genel olarak bakıldığında, kan MDA değerleri yüksek olan gruplarda, karaciğer AOA ve TOA değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve aralarında pozitif korelasyon olduğu görüldü (sırasıyla $p=0.001$, $\rho=0.512$ ve $p=0.001$, $\rho=0.517$). Benzer şekilde karaciğerin histopatolojik değerlendirme sonuçları da MDA ile uyumluydu ($p<0.001$ ve $\rho=0.617$). MDA değeri ile böbreğe ait değerler karşılaştırıldığında; AOA değerleriyle anlamlı bir korelasyon saptanamazken, TOA değerleri ve histopatolojik bulgular koreleydi (sırasıyla $p=0.022$, $\rho=0.360$ ve $p<0.001$, $\rho=0.608$). MDA değeri ile akciğere ait değerler karşılaştırıldığında ise ; TOA değerleriyle anlamlı bir korelasyon saptanamazken, AOA değerleri ve histopatolojik bulgular koreleydi (sırasıyla $p=0.005$, $\rho=0.431$ ve $p<0.001$, $\rho=0.603$).

Karaciğer dokusunda ortaya çıkan TOA değeriyle böbrek ve akciğer dokusunda TOA değerleri karşılaştırıldığında, karaciğer ve böbrek dokusu arasında anlamlı derecede pozitif korelasyon ($p=0.003$, $\rho=0.043$), karaciğer ve akciğer arasında zayıf bir pozitif korelasyon olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$ ve $\rho=0.123$) (Şekil 28 ve Şekil 29).



Şekil 27. Karaciğer ve böbrek dokusuna ait total oksidan aktive arasındaki ilişki



Şekil 28. Karaciğer ve akciğer dokusuna ait total oksidan aktive arasındaki ilişki

Karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında ortaya çıkan TOA değerleri ile AOA ve histopatolojik bulgular arasında pozitif korelasyon olduğu, böbrek dokusunda TOA ve AOA değerleri haricinde bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Karaciğer dokusunda; TOA ile AOA ve histopatolojik bulgular için sırasıyla $p<0.001$, $\rho=0.542$ ve $p<0.001$, $\rho=0.633$, böbrek dokusunda; TOA ile AOA ve histopatolojik bulgular için sırasıyla $p>0.05$, $\rho=0.080$ ve $p=0.024$, $\rho=0.314$, akciğer dokusunda; TOA ile AOA ve histopatolojik bulgular için sırasıyla $p=0.001$, $\rho=0.460$ ve $p<0.001$, $\rho=0.587$).

5. TARTIŞMA

İskemi reperfüzyon hasarı; intrasellüler sinyal yolları, medyatörler, hücreler ve patofizyolojik bozuklukların eşlik ettiği kompleks bir süreçtir (1). Hipoksi ve reoksijenizasyonun genellikle iskemi/reperfüzyon esnasında doku hasarına yol açan temel faktörler olarak kabul edilir. Birçok çalışmada asıl hasara yol açan olumsuz faktörün hipoksi tarafından değil, iskemik dokuya oksijenli kanın geri dönmesi esnasında ortaya çıkan olumsuz reaksiyonların neden olduğu gösterilmiştir (70). Reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikallerinin inflamasyon, nekroz, apoptozis dahil hepatoselüler hasara yol açan hücresel olaylar zincirine neden olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalar; iskemik (hipoksik) dokularda reperfüzyonun hücre hasarını daha fazla artıran reaktif oksijen radikallerinin üretimin uyardığını göstermiştir. Bununla beraber reperfüzyonun değişik evrelerinde ortaya çıkan hücre ölümü ve yapısal değişikliklerin mekanizması hala tam anlamıyla açıklanabilmiş değildir. Reperfüzyon sırasında oluşan hasarın; reoksijenizasyon ile başlayan erken faz ve gecikmiş faz olmak üzere iki aşamalı model olduğu gösterilmiştir. Erken evre; sellüler hasar ile ilişkili olup reperfüzyon sonrası (reoksijenizasyon) 2-6 saat arasında, geç fazlar ise; reperfüzyon sonrası 18-24 saat görülür ve nötrofil infiltrasyonu eşlik eder. Erken evre (akut dönem) içinde yaralanmaya serbest oksijen radikalleri aracılık ederken, geç fazda (subakut faz) hasar nötrofil aktivite aracılığı oluşan inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir (71).

Karaciğerde iskemi/reperfüzyon hasarını açıklamak için çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür. Serbest oksijen radikallerin, kupffer hücrelerini anormal bir şekilde aktive etmesi, inflamatuvar sitokinlerin ve proteolitik enzimlerin salgılanmasının karaciğer iskemi/reperfüzyonunda anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca, hasarlanan alana aktive polimorfonükleer lökositlerin göçü; inflamatuvar sitokinler, adezyon molekülleri ve serbest oksijen radikallerinin üretiminin devam etmesine yol açar. Serbest oksijen radikalleride lipid peroksidasyonuna yol açarak oksidatif stresi başlatabilir (72). Karaciğer hasarında tüm bu değişikliklerin ana nedeni olarak serbest oksijen radikalleri gösterilmesi nedeniyle, birçok tedavi stratejisi; serbest radikal hasarının önlenmesine yönelik olarak serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve ortamdan temizlenmesine odaklanmıştır (1).

Son yıllarda bazı pleiotropik biyolojik aktiviteye sahip bir takım yerel ilaçlar değişik hastalıkların tedavisinde tamamlayıcı ve alternatif tedavide kullanılmaktadır (73). Bu amaçla kullanılan ajanlardan biri Curcumin (diferuloylmethane), Curcuma longa'nın

rizozomlarının aktif bir komponenti olup, anti-inflamatuvar, antioksidan ve bakterisidal etkileri içeren geniş bir farmakolojik aktivite etkinliğine sahip önemli bir hücre içi antioksidan olduğu bildirilmiştir (70,73). Curcuminin invitro çalışmalarda reaktif oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen türleri için etkili bir temizleyici olduğu gösterilmiştir. Ancak invivo çalışmalarda curcuminin doğrudan bir antioksidan olup olmadığı tam olarak anlaşılamamıştır. İnsanlarda sınırlı oral biyoyararlanımı nedeniyle, plazma ve doku curcumin konsantrasyonları alfa-tokoferol (vitamin E) gibi diğer yağda çözünen antioksidanlara göre daha düşüktür (70). Chan ve ark., curcuminin invivo ortamda oral tedavisi sonrası lipopolisakkarit enjekte edilmiş ratların karaciğerlerinde İNOS ve mRNA ekspresyonunu %50-70'e kadar azalttığı bildirilmiştir(74). Ayrıca Curcuminin düşük konsantrasyonlarda bile aktive makrofajlarda NO üretimini azaltmaktadır (75). Curcumin proinflamatuvar medyatörler ve koruyucu antioksidan genleri düzenleyen NF- κ B ve AP-1 transkripsiyon genlerinin aktivasyonunu da inhibe etmekte ve proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL1- β 'nin oluşumunu azaltmaktadır (73). Bir başka çalışmada ise curcuminin rat karaciğerinde sitokrom p450 ve glutatyon S-transferaz enzimlerin güçlü bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir (76).

Bu nedenle çalışmamızda, pringle manevrasının kullanılarak oluşturulduğu hepatik iskemi/reperfüzyon modelinde karaciğer ile böbrek ve akciğer gibi uzak organlar üzerinde iskemi ve reperfüzyon hasarının erken evresinde ortaya çıkan değişikliklerin temel nedeni olan serbest radikal hasarının etkilerinin engellenmesi yada minimize edilmesinde anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri nedeniyle curcuminin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

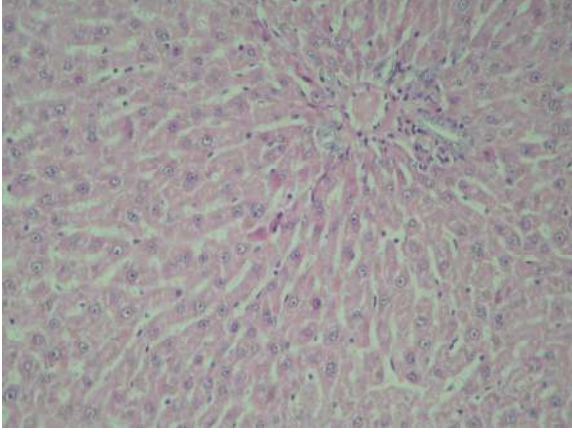
Artmış MDA değerleri, oksidatif stresin sonucu olarak lipid peroksidasyonunun ve plazma membran hasarının bir göstergesidir(77). Çalışmamızda; plazma MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, sham grubunda iskemi/reperfüzyon grubuna göre sonuçların anlamlı olarak düşük olduğu, iskem/reperfüzyon + curcumin grubuna göre sonuçların daha düşük olduğu, ancak aradaki farkın daha ılımlı olduğu görüldü. İskemi/reperfüzyon grubunda ise tüm gruplardan çok daha yüksek MDA değerleri saptandı. İskemi/reperfüzyon uygulanan hayvanlarda MDA değerlerin yükselmesi; ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonunda artışın bir sonucudur. Benzer şekilde curcumin verilen çalışma grubunda MDA'da gözlenen anlamlı düşüşte, curcuminin bir serbest oksijen radikali temizleyici olarak antioksidan etkisine ve proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunu azaltmasına atfedilebilir. Plazma AOA değerleri karşılaştırıldığında ise; çalışma gruplarında sham ve kontrol grubuna

oranla değerleri daha yüksekti. Sham grubuyla çalışma grupları arasında olan değer farkının anlamlı olduğu, kontrol grubunda ise anlamlı olmadığı gözlendi. Bu ortaya çıkan oksidatif stresin doğal bir sonucu olarak antioksidan sistemlerin aktive olmasının bir sonucudur. Kontrol grubunda bu farkın anlamlı olmaması, iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda iskemi/reperfüzyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da AOA değerlerinin daha yüksek olması curcuminin antioksidan etkisine atfedilebilir. Oksidatif stres; proinflatuar sitokinler ve hücre adezyon moleküllerinin sentezi yol açan mekanizmaları harekete geçirir. Bu nedenle, hepatik iskemi reperfüzyon sonrası oksidatif stresin, endotoksemi ile tetiklenen inflamatuvar yanıtta katkıda bulunduğu söylenebilir(78). Yapılacak olan çalışmalarda tek başına oksidan ve antioksidan aktivitelerin belirlenmesi fikir verici olabileceği gibi, her ikisinin beraber belirlenmesi ortaya çıkan oksidatif stres hakkında daha fazla bilgi verici olabilir(79). Bu amaçla çalışmamızda hem oksidan, hem de antioksidan sistemleri bir bütün olarak görebilmek ve ortaya çıkacak olan oksidatif stresi belirleyebilmek amaçıyla TOA ve AOA değerleri belirlenerek, OSI hesaplandı.

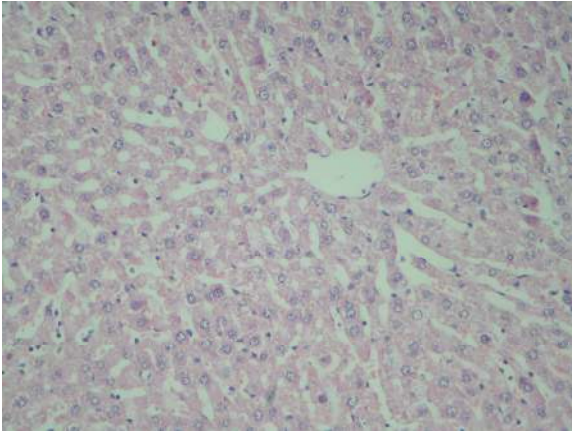
Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı karaciğer yanında, sıklıkla kalp, akciğer ve böbrek gibi organları içeren uzak organ hasarına yol açar(78). Çalışmamızda elde edilen bilgiler ışığında, karaciğer dokusunda total oksidan aktivite ile böbrek ve akciğer dokusundan saptanan veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif korelasyon olduğu, ancak bu ilişkinin sadece böbrek dokusuyla istatistiksel olarak anlamlılık taşıdığı, akciğer dokusunda ise son derece zayıf olduğu görüldü.

Hepatik hasarda ana rolü serbet oksijen radikalleri ve ilişkili olarak kupfer hücrelerinin anormal bir şekilde aktive olması oynar (72). Bu ise karaciğerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin olmasına yol açar (1). Çalışmamızda karaciğer hasarının ortaya konulabilmesi için TOA ve AOA değerleri yanında histopatolojik olarak; sitoplazmak vakuolizasyon, nklerer piknozis, sitoplazmik hipereozinofili, intersellüler sınırların kaybı, nekroz, kanama ve nötrofil infiltrasyonunu da araştırıldı. Kontrol grubunda sham grubuyla benzer TOA değerleri saptanırken, AOA değerleri anlamlı olarak daha yüksekti. Sham grubunda hem TOA, hemde AOA değerleri iskemi/reperfüzyon grubuna göre daha düşüktü. İskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda iskemi/reperfüzyon grubuna göre daha düşük TOA, daha yüksek AOA değerleri saptanırken, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. OSI değerlendirildiğinde ise; kontrol ve iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda oksidatif stresin diğer iki gruba göre ılımlı olarak daha düşük olduğu gözlendi. Histopatolojik

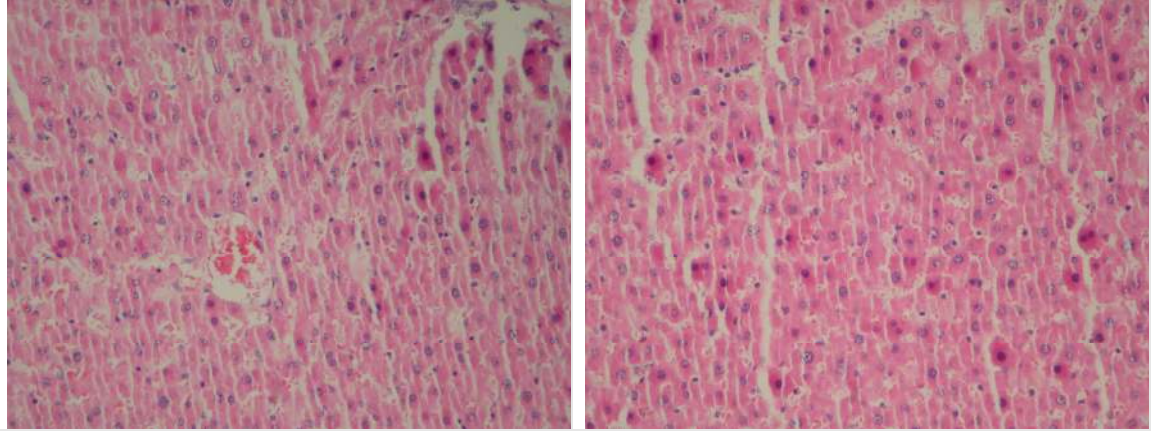
olarak sham ve kontrol gruplarında yer yer fokal nükleer piknozis ve sitoplazmik vakuolizasyon dışında normal bulgular saptanırken, çalışma gruplarında genişlemiş nükleer piknozis, sitoplazmik hipereozinofili ve intersellüler sınırların kaybını içeren ılımlı şiddetli hasar yanında iskemi/reperfüzyon grubunda ılımlı olarak daha sık olmak üzere nötrofil infiltrasyonu ile nekroz ve kanama alanları izlendi(Şekil29-32). Bu sonuçlar curcumin hepatik hasar üzerinde ılımlı bir pozitif etkisinin olduğunu, ancak bu etkinin anlamlılık düzeyinin düşük olduğunu gösterdi.



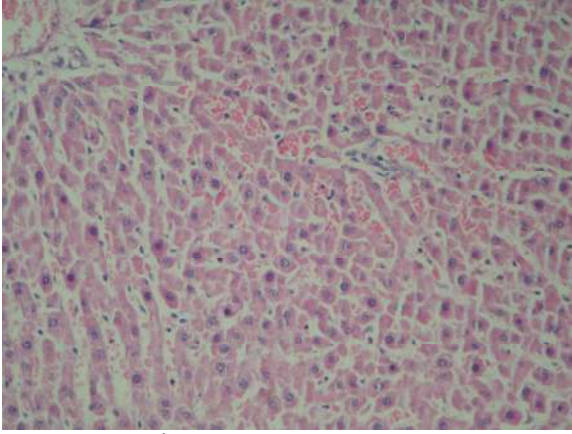
Şekil 29. Sham, karaciğer; Bazı hepatositlerde fokal nükleer piknozis ve sitoplazmik vakuolizasyon (H&E stain, x200).



Şekil 30. Kontrol, karaciğer; Bazı hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon (H&E stain, x200).



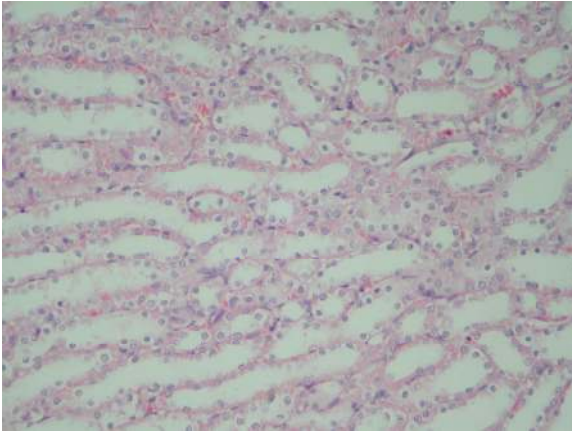
Şekil 31. İskemi/Reperfüzyon, karaciğer; Sitoplazmik hipereosinofilik değişiklikler, nükleer piknozis, hücreler arası sınır kaybı, nekrobiyozis ve bazı hepatositlerde nekroz ile karaciğer dokusunda birkaç düzensiz alan ve hemoraji. (H&E stain, x200).



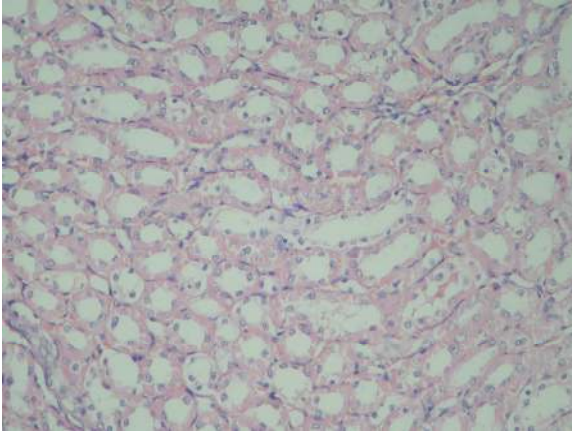
Şekil 32. İskemi/Reperfüzyon+Curcumin, karaciğer: Sitoplazmik hipereosinofilik değişiklikler, nükleer piknozis, hücreler arası sınırların kaybı, bazı hepatositlerde kanama ve nekrobiyozis, karaciğer dokusunda çok az bir alanda düzensizlik mevcuttu. (H&E stain, x200).

Majör karaciğer iskemi/reperfüzyonu sonrası akut böbrek yetmezliği gelişmesi, son derece sık olup (%40-85), perioperatif dönemde yüksek mortalite ve morbiditeyle sonuçlanır (78). Hepatik iskemi/reperfüzyonun, böbrek fonksiyonlarını orta derecede bozduğu ifade edilmektedir (80). Park ve ark. yaptığı çalışmada; hepatik iskemi reperfüzyonun sadece karaciğerde hızlı nötrofil infiltrasyonuna neden olmadığını, ayrıca böbrekte de benzer şekilde sonuçlandığı bildirilmiştir. Aktive nötrofillerin salınımı doku hasarına yol açan araşidonik asit metabolitleri, serbest oksijen radikalleri ve nötrofil elastaz gibi maddelerin salınımıyla sonuçlanır (78). Çalışmamızda böbrek dokusunda AOA değerleri arasında anlamlı fark saptanmazken, curcumin kullanımı ile ılımlı bir artış görüldü. TOA değerleri ise iskemi/reperfüzyon grubunda ılımlı olarak daha yüksekti. OSI değerlendirildiğinde; kontrol ve iskemi/reperfüzyon + curcumin

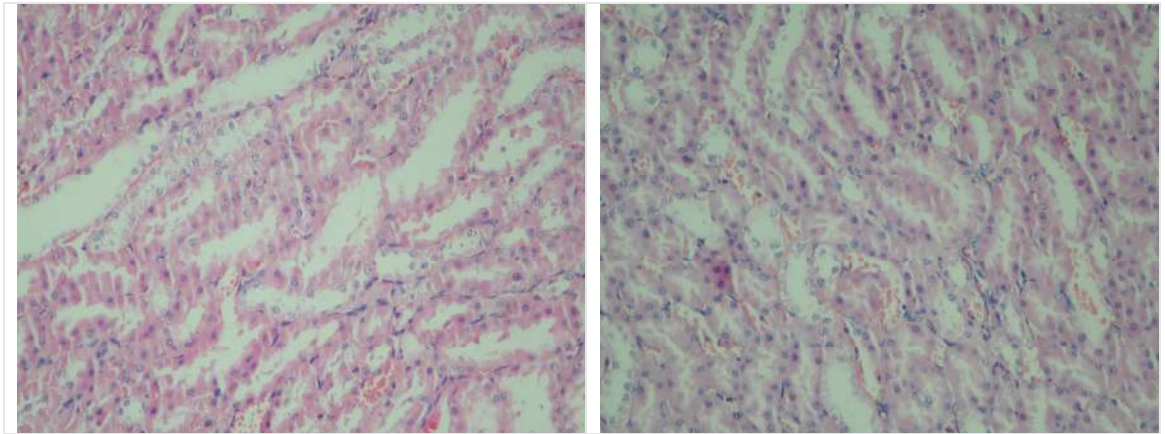
grubunda oksidatif stresin daha düşük olduğu, ancak bu farkın anlamlı olmadığı görüldü. Histopatolojik olarak gruplar değerdendirildiğinde ise; sham ve kontrol grubunda normal bulgular ile seyrek olarak tubuler hücrelerde hafif şişme saptanırken, çalışma gruplarında tubuler hücrelerin şişmesi, fırça kenarların kaybı, nükleer kaybı gösteren nükleer yoğunlaşma ve tubuler yapıların 2/3'üne kadar uzanan nükleer kayıplar izlenirken, iskemi/reperfüzyon grubunda ek olarak nükleer kayıpların tubuler yapıların 2/3'ünden fazlasını içerdiği, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.(ŞEKİL33-36). Curcuminin hepatik iskemi/reperfüzyon sonrası ortaya çıkan böbrek hasarında etkileri sınırlıydı.



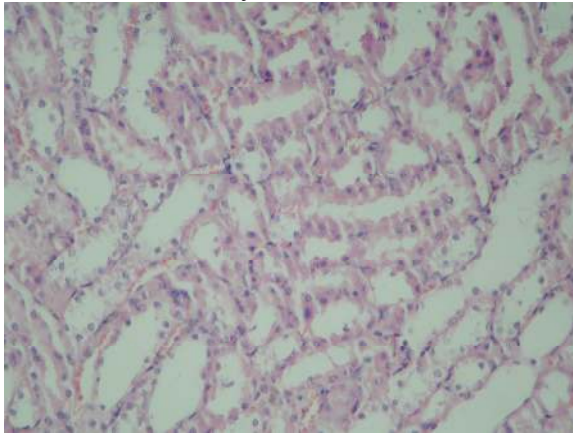
Şekil 33. Sham, böbrek; Bazı tubuler hücrelerde ılımlı hidropik değışiklikler ve diğerd alanlarda normal görünüm (H&E stain, x200).



Şekil 34. Kontrol, böbrek; Renal tubullerde normal morfolojik görünüm (H&E stain, x200).



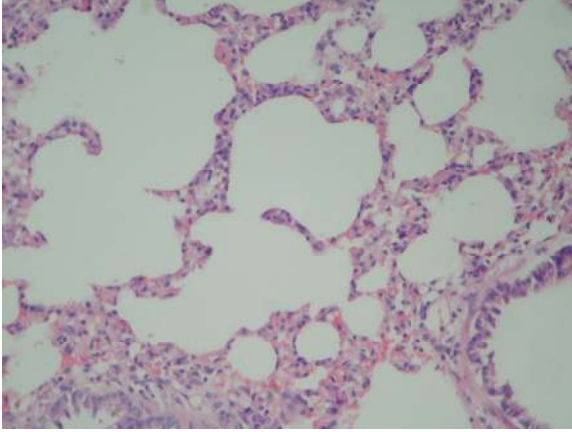
Şekil 35. İskemi/Reperfüzyon, böbrek; Sellüler şişme, fırçamsı kenarların kaybı, nükleer kondensasyon ve renal tubuler hücrelerde nükleer kayıp. (H&E stain, x200).



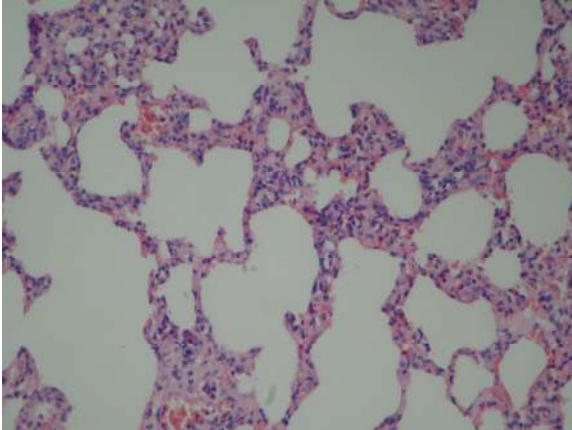
Şekil 36. İskemi/Reperfüzyon +Curcumin, böbrek; Sellüler şişme, fırçamsı kenarların kaybı, nükleer kondensasyon ve renal tubuler hücrelerde nükleer kayıp ile beraber, bazılarında ılımlı sellüler şişme ile beraber normal morfolojik görünüm saptandı. (H&E stain, x200).

Hepatik iskemi/reperfüzyon sonucu salınan aktif nötrofiller akciğer hasarında ana rol oynayan serbest oksijen radikalleri için önemli bir kaynaktır. İskemi/reperfüzyona bağlı olarak sistemik dolaşıma salınan oksidatif ve inflamatuvar mediatörlerin ana hedefi; pulmoner mikrovaskülaritedir (80). İskemi/reperfüzyon hasarı esnasında salınan proinflamatuvar mediyatörler, endotel bütünlüğünü ortadan kaldırarak protein geçirgenliğinin artışı ve akciğer endotelinin bozulmasına yol açar (81). Chen ve ark. (82); curcuminin, sıçanlarda aspirasyona bağlı akciğer hasarında inflamatuvar sitokinlerin artışı, eozinofil sekestrasyonu ve hava yolu aşırı duyarlılığına neden olan iNOS aktivitesini azalttığını bildirmiştir. Bu mekanizmaların neden olduğu hasar ise akciğer ventilasyonu, perfüzyon basınçları ve vasküler dirençte artış, akciğer kompliyansında azalma ile sonuçlanır (80). Çalışmamızda sham ve kontrol grubunda ılımlı olarak çalışma gruplarına oranla TOA ve AOA değerlerinin daha düşük olduğu, iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda iskemi/reperfüzyon grubuna oranla ılımlı

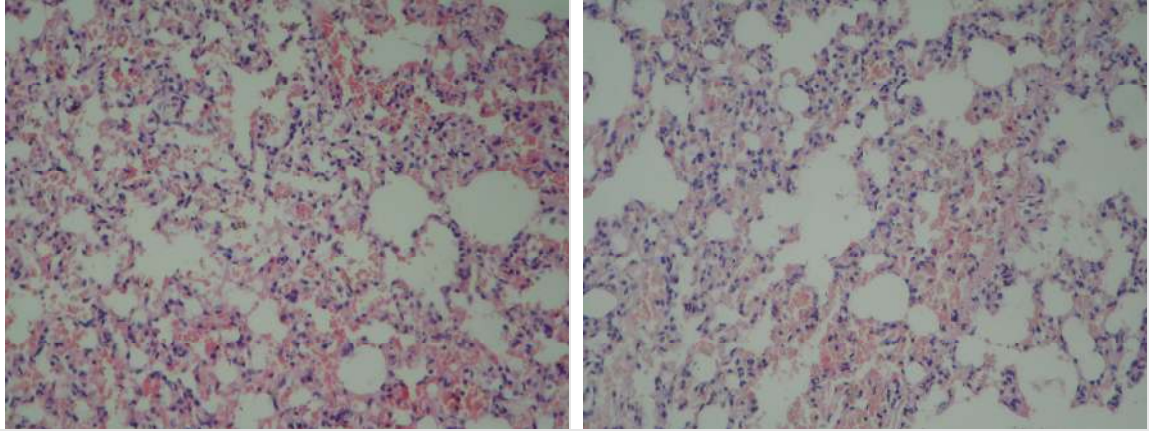
olarak daha düşük TOA ve daha yüksek AOA değerleri olduğu görüldü. Histopatolojik olarak akciğer dokusunda; sham ve kontrol grubunda normal bulgular ve yer yer hafif nötrofil lökosit infiltrasyonu ile hafif - ılımlı intertisyel konjesyon saptanırken, çalışma gruplarında; hafif ılımlı nötrofil lökosit infiltrasyonu ile intertisyel konjesyon saptanırken, iskemi/reperfüzyon grubuna yer yer perivasküler  dem formasyonu ve parçalanmış pulmoner yapıların eşlik ettiği görüldü.(şEK L37-40)



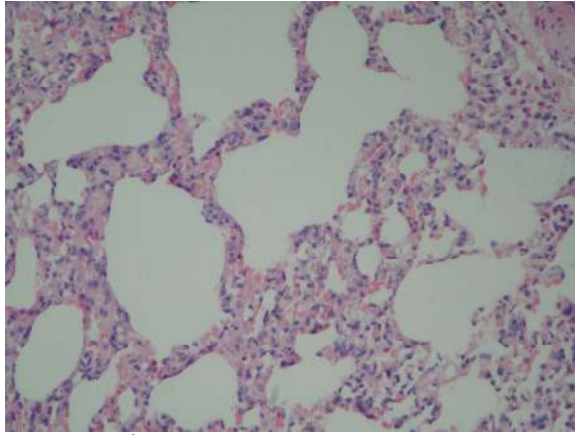
şekil 37. Sham, akciğer; ılımlı PMNL infiltrasyonu ve orta şiddette interstitial konjesyon (H&E stain, x200).



şekil 38. Kontrol; akciğer; ılımlı PMNL infiltrasyonu ve orta şiddette interstitial konjesyon (H&E stain, x200).



Şekil 39. İskemi/Reperfüzyon, akciğer; İnterstisyel inflamasyon, perivasküler ödem ve beraber akciğer parankiminde parçalanma ile beraber hemoraji (H&E stain, x200).



Şekil 40. İskemi/Reperfüzyon+Curcumin, akciğer; Orta şiddette PMNL infiltrasyonu ve akciğer dokusunda interstisyel konjesyon. (H&E stain, x200).

Miranda ve ark.(80) yaptığı çalışmada; hepatik iskemi reperfüzyon sonrası akciğerde nötrofil sayısında ve lipid peroksidasyonunda artış olduğunu ve bu bulguların uzak organlarda saptanan oksidatif parametreler ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. Verilerimiz bu bulguları desteklerken, literatürden farklı olarak böbrek dokusunda ortaya çıkan total oksidan aktivite ile korelasyon saptanmasına rağmen karaciğer dokusunda ölçülen total oksidan aktivite ile anlamlı bir korelasyon saptamadı. Ota ve ark. (83) hepatik iskemi reperfüzyon modelinde akciğer hasarını belirleyen temel faktörün ventilasyon olduğunu, düşük tidal volümlü ventilasyonlarda akciğer hasarının olmadığını, yüksek tidal volümlü ventilasyonlar da ise hasarın daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Sham ve kontrol grubunda çalışma gruplarına göre daha iyi histopatolojik bulgular saptanmış olması, iskemi/reperfüzyon hasarının doğal bir sonucudur. Ancak iskemi/reperfüzyon ile iskemi/reperfüzyon + curcumin grubunda anlamlı bir farklılık saptanmamış olması literatürde de belirtildiği üzere hayvanların ventilasyon volümlerinde bir değişiklik olmamasına ve curcuminin değişiklikler üzerinde efektif bir etkisinin olmamasına atfedilebilir.

6. SONUÇ

Yaptığımız deneysel çalışmada, pringle manevrasına bağı olarak oluşturduğumuz hepatik iskemi reperfüzyon hasarının bir sonucu olarak; başta karaciğer olmak üzere böbrek ve akciğer gibi uzak organlarda da belirgin hasar gelişti görüldü. Curcuminin bu hasarı karaciğer ve uzak organlarda kısmen azalttığı görülmeline rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Curcuminin özellikle ameliyat öncesi hazırlık aşamasında tek başına veya nutrisyonel destek amaçlı olarak kullanılmasının klinik olarak önerilmesi için daha geniş karşılaştırmalı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Şehirli Ö, Özel Y, Dulundu E, Topaloglu U, Ercan F, Şener G. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion Injury in rats. *Phytother. Res.* 2008;22:43-48
- 2.Thiyagarajan M, Sharma, SS, Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sciences*, 2004; 74 : 969–985.
- 3.Reddy, AC, Lokesh, BR, Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1994. 137 (1), 1–8.
- 4.Sreejayan RMN, Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.1997. 49 (1), 105–107.
- 5.Reddy AC, Lokesh BR, Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1992. 111 (1–2), 117–124.
- 6.Sreejayan RMN, Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1994. 46 (12), 1013–1016.
- 7.Xu J, Fu Y, Chen A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ contributes to the inhibitory effects of curcumin on rat hepatic stellate cell growth. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2003.285: G20–G30;
- 8.Balogun E, Hoque M, Gong P, Killeen E, Green CJ, Foresti R, Alam J, Motterlini R. Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochem. J.* 2003;371:887-895.
- 9.D'Angelica M, Fong Y. The liver. Ed. Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Sabiston Textbook of Surgery*. 17. edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004; 1513-69.
10. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Çeviri: Seven R, Yaltı T, Erbil Y, Değerli Ü. *Cerrahi anatomi ve teknik*. Karaciğer. 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000: 531-72.
- 11.Bozkurt S. Hepatik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Adrenomedullin ve Adrenomedullin Bağlayıcı Protein-1 Kombinasyonunun Akut Akciğer ve Karaciğer Hasarı Üzerine Etkilerinin Araştırılması ,Genel Cerrahi uzmanlık Tezi ,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,2009.

12. Kuran O: Sistematik anatomi. Filiz Kitabevi, 1983.429-438
13. Goldsmith N A .Woodburne R T .Surgical anatomy pertaining to liver resection.Surg Gynecol Obstet . 1987 ;195:310-318.
14. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas. Fourth Edition. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2003;532-548.
15. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. The liver as an organ. 9. edition, Philadelphia: WB Saunders company, 1996: 883-88.
16. Asensio JA, Demetriades D, Chahwan S, Gomez H ve ark. Approach to the management of complex hepatic injuries. J Trauma 2000; 48: 66-9.
17. Kumar V, Cotran R, Robbins SL., Temel patoloji (Basic Pathology), 6. edisyon , 2000 ;syf: 6-10,30-36
18. Collard ,C.D., Gelman,S.: pathophysiology , clinical manifestations and prevention of _schemiareperfusion injury. Anesthesiology, 2001;94,1133-1138.
19. Toyokuni S: Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology.Pathol int 1999;49:91-102.
20. Şener G, Yegen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı, http://www.klinikgelisim.org.tr/kg22_3/2.pdf 20.10.2010.
21. Cuzzocrea S., Riley D. P., Caputi A. P., Salvemini D.: Antioxidant Therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol. 2001;Rev., 53: 135-159,.
22. Akın KO. Deneysel Karaciger iskemik/Reperfüzyon Modelinde Tioredoksin ve L-NAME'in Karaciger Hasarı üzerine Etkilerinin karşılaştırılması. Biyokimya Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2000.
23. Kathleen E. De Greef, Dirk K. Ysebaert, Manuela Ghielli, Sven Vercauteren, Etienne J. Nouwen, Eric J. Eyskens, Marc E. De Broe. Neutrophils and acute ischemia-reperfusion injury. journal of nephrology vol. 11 no. 3 - 1998 / pp 110-122.
24. Chan PH: Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 27:1124-1129, 1996.
25. Anrather J, Csizmadia V, Brostjan C, Soares MP, Bach FH, Winkler H. Inhibition of bovine endothelial cell activation in vitro by regulated expression of a transdominant inhibitor of NF-kappa B. J Clin Invest 1997; 99:763-772.
26. Lasky LA. Selectin carbohydrate interactions and the initiation of the inflammatory response. Ann Rev Biochem 1995; 64:113-139.

27. Jaeschke H. Cellular adhesion molecules: regulation and functional significance in the pathogenesis of liver diseases. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1997;273:G602-G611.
28. Tedder TF, Steeber DA, Chen A, Engel P. The selectins: vascular adhesion molecules. *FASEB J* 1995; 9: 866-873.
29. Rentsch M, Post S, Palma P, Lang G, Menger MD, Messmer K. Anti-ICAM-1 blockade reduces postsinusoidal WBC adherence following cold ischemia and reperfusion, but does not improve early graft function in rat liver transplantation. *J Hepatol* 2000; 32: 821- 828.
30. Chosay JG, Essani NA, Dunn CJ, Jaeschke H. Neutrophil margination and extravasation in sinusoids and venules of the liver during endotoxin-induced injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1997; 272: G1195-G1200.
31. Fox-Robichaud A, Kubes P. Molecular-stimulated leukocyte recruitment into the mechanisms of tumor necrosis factor murine hepatic circulation. *Hepatology* 2000; 31: 1123-1127.
32. Vollmar B, Richter S, Menger MD. Leukocyte stasis in hepatic sinusoids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1996; 270:G798- G803.
33. Lawson JA, Burns AR, Farhood A, Bajt ML, Collins RG, Smith CW, et al. Pathophysiological importance of E- and L-selectin for neutrophil-induced liver injury during endotoxemia in mice. *Hepatology* 2000;32: 990-998.
34. Nagendra AR, Mickelson JK, Smith CW. CD18 integrin and CD54- dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated human hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1997;272:G408-G416.
35. Yadav SS, Howell DN, Steeber DA, Harland RC, Tedder TF, Clavien PA. P-selectin mediates reperfusion injury through neutrophil and platelet sequestration in the warm ischemic mouse liver. *Hepatology* 1999; 29:1494-1502.
36. Sawaya Jr DE, Zibari GB, Minardi A, Bilton B, Burney D, Granger DN, et al. P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion. *Shock* 1999; 12:227-232.
37. Smith CW, Jaeschke H. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Journal of Leukocyte Biology* .1995; 57:368–374
38. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action., *The American Journal of Medicine* 1994; 97:5-12

39. Lentsch AB, Atsushi K, Yoshidome H et al. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000;32:169–173.
40. Bajt ML, Farhood A, Jaeschke H. Effects of CXC chemokines on neutrophil activation and sequestration in the hepatic vasculature. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281:G1188-G1195.
41. Wu R, Zhou M, Wang P. Adrenomedullin and adrenomedullin binding protein–1 downregulate TNF- α in macrophage cell line and rat Kupffer cells. *Regulatory Peptides* 2003;112:19–26.
42. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.
43. Mates JM, Gomez CP, Castro I , Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochem.* 1999;32, 595-603.
44. Akkus İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları., Konya. 1995.
45. Jaeschke H. Mechanism oxidant stress induced acute tissue injury PSEBM, 1995; 209:104- 111.
46. Wang NP, Bufkin BL, Nakamura M, Zhao ZQ, Wilcox JN, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, Vinten-Johansen J: Ischemic preconditioning reduces neutrophil accumulation and myocardial apoptosis. *Ann Thorac Surg* 1999; 67:1689–95.
47. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD, Dewar M, Eleftheriades J, Hines R, Kopf G, Kraker P, Li L, O'Hara R, Rinder C, Rinder H, Shaw R, Smith B, Stahl G, Shernan SK: Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100:2499–506
48. Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett* 2000;115(3):195-204.
49. Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Arch Gerontol Geriatr* ,2002;34(1):37-46.
50. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* ,2005;223(2):181-

51. Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, Chrul S, Bandorowicz-Pikula J, Sikora E et al. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Lett* ,1998;433(3):287-93.
52. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin. *Life Sci* ,2006;78(18):2081-7.
53. Limtrakul P, Lipigorngoson S, Namwong O, Apisariyakul A, Dunn FW. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett*, 1997;116(2):197-203.
54. Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Arch Gerontol Geriatr* 2002;34(1):37-46.
55. Wright JS Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *J Mol Struct* ,2002;591(1-3):207-17.
56. Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *Int J Biochem Cell Biol* ,2004 ;36(10):1967-80.
57. Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nde L. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res*, 2001;43(2):145-50.
58. Singh AK, Sidhu GS, Deepa T, Maheshwari RK. Curcumin inhibits the proliferation and cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cell. *Cancer Lett* ,1996;107(1):109-15.
59. Shah BH, Nawaz Z, Pertani SA, Roomi A, Mahmood H, Saeed SA et al. Inhibitory effect of curcumin, a food spice from turmeric, on platelet-activating factor- and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca²⁺ signaling. *Biochem Pharmacol* ,1999;58(7):1167-7
60. Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez-Tortosa CL et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* ,1999;147:371-8.
61. Calabrese, V., Butterfield, D.A., Stella, A.M.,. Nutritional antioxidants and the heme oxygenase pathway of stress tolerance: novel targets for neuroprotection in Alzheimer's disease. *Italian Journal of Biochemistry* ,2003;52 : 177–181.

- 62.Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J.H., Chen, X., Sang, S., Lee, M.J., Yang, C.S.,. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis* ,2004;25 :1671–1679.
63. Garcea G, Jones DJL, Singh R, et al. Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *Br J Cancer*, 2004; 90, 1011–1015.
- 64.Araujo CAC, Leon LL. Biological Activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2001;Vol. 96(5): 723-728.
- 65.Hammouda A el-R, Khalil MM and Salem A . Lipid peroxidation products in pleural fluid for seperation of transudates and exudates, *Clin Chem*, 1995;41, 1314-1315.
66. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004; 37(2): 112-9.
67. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total exident status. *Clin Biochem*. 2005; 38(12): 1103-11.
68. Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, Aslan M, Celik H, Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 95
- 69.Kesik V, Güven A, Vurucu S, Tunç T, Uysal B, Gündoğdu G, Öztaş E, Korkmaz A. Melatonin and 1400 W Ameliorat both intestinal and remote organ infury following mesenteric ishemia/reperfusion. *Journal of Surgical Resarch* 2009; 1: 1-9
- 70.Karatepe O, Gulcicek OB, Ugurlucan M, Adas G, Battal M, Kemik A, Kamali G, Altug T, Karahan S. Curcumin nutrition for the prevention of mesenteric ischemia-reperfusion injury: an experimental rodent model. *Transplant Proc*. 2009 Nov;41(9):3611-6.
- 71.Hosseini Ali Arab, Farhang Sasani, Mohammad Hossein Rafiee, Ahmad Fatemi, Abbas Javaheri Histological and biochemical alterations in early-stage lobar ischemia-reperfusion in rat liver. *World J Gastroenterol* 2009 April 28; 15(16): 1951-1957
- 72.Gedik E, Girgin S, Öztürk H, Obay BD, Öztürk H, Büyükbayram H. Resveratrol attenuates oxidative stress and histological alterations induced by liver ischemia/reperfusion in rats. *World J Gastroenterol* 2008;14(46):7101-7106

73. Gaddipati JP, Sundar SV, Calemine J, Seth P, Sidhu GS, Maheshwari RK. Differential regulation of cytokines and transcription factors in liver by curcumin following hemorrhage /resuscitatio. *SHOCK* 2003;19(2):150–156.
74. Chan MM, Huang HI, Fenton MR, et al: In vivo inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties. *Biochem Pharmacol* 1998;55:1955.
75. Shi-Qiang S, Yuan Z, Jin-Jian X, et al: Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World J Gastroenterol* 2007;13:1953.
76. Oetari S., Sudibyo M., Commandeur J.N., Samhoedi R., Vermeulen N.P. Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 1996; 51 39–45.
77. Girish C, Koner BC, Jayanthi S, Rao Kr, Rajesh B, Pradhan SC. Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2009;23:735–745
78. Park SW, Chen SW, Kim M, D'Agati VD, Lee HT. Human activated protein C attenuates both hepatic and renal injury caused by hepatic ischemia and reperfusion injury in mice. *Kidney Int.* 2009;76(7):739-750.
79. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: R431-R444
80. Miranda LE, Capellini VK, Reis GS, Celotto AC, Carlotti CG Jr, Evora PR. Effects of partial liver ischemia followed by global liver reperfusion on the remote tissue expression of nitric oxide synthase: lungs and kidneys. *Transplant Proc.* 2010;42(5):1557-1562.
81. Awad AS, Sharif AE. Immunomodulatory effects of rosuvastatin on hepatic ischemia/reperfusion induced injury. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*;2010: 1-7: (doi: 10.3109/08923970903575716)
82. Chen KH, Chao D, Liu CF, Chen CF, Wang D. Curcumin Attenuates Airway Hyperreactivity Induced by Ischemia-Reperfusion of the Pancreas in Rats. *Transplantation Proceedings*. 2010;42:744–747
83. Ota S, Nakamura K, Yazawa T, Kawaguchi Y, Baba Y, Kitaoka R, Morimura N, Goto T, Yamada Y, Kurahashi K. High tidal volume ventilation induces lung injury

after hepatic ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007;292(3):625-631.