

**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA MAGNEZYUM SÜLFATIN ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Kerem AKKOCA

UZMANLIK TEZİ

OCAK 2018

**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA MAGNEZYUM SÜLFATIN ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Kerem AKKOCA

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: Yrd.Doç.Dr. Hamit YOLDAŞ

OCAK 2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki ve hayat tecrübeleriyle eğitimime katkıda bulunan, tez hazırlama dönemimde bana her konuda yardımını ve desteğini esirgemeyen tez danışmanı Yrd. Doç. Dr. Hamit YOLDAŞ hocama,

Eğitimim boyunca mesleki ve hayat bilgileriyle eğitimime destek olan, hep yanımda hissettiğim ve iyi bir anesteziist olmam için emek veren Doç. Dr. Abdullah DEMİRHAN, Doç. Dr. Akcan AKKAYA, Doç. Dr. Murat BİLGİ, Doç. Dr. İsa YILDIZ ve Yrd. Doç. Dr. İbrahim KARAGÖZ hocalarıma,

Asistanlık süresince beraber çalıştığım tüm asistan kardeşlerime,

Benim bugünlere gelmemde büyük emekleri olan anneme, babama, kardeşime,

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimle...

Dr.Kerem AKKOCA

BOLU-2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
TABLolar LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Karaciğer Anatomisi	4
2.1.1 Karaciğer Kan Akımı.....	5
2.2 Karaciğer Histolojisi	6
2.2.1. Hepatositler	7
2.2.3. Kupffer Hücreleri	8
2.3. Karaciğerin Biyokimyasal ve Fizyolojik fonksiyonları.....	8
2.3.1. Karaciğerin Kan Depo İşlevi:	8
2.3.2. Karaciğerin Kan Temizleme İşlevi:	8
2.3.3. Karaciğerin Metabolik İşlevleri:	9
2.3.4. Karaciğerin Diğer İşlevleri:	10
2.4 İskemi Reperfüzyon Hasarı.....	11
2.4.1. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	11
2.4.2. Glikokaliks.....	13
2.4.3. Hepatik I / R Fazları.....	14
2.4.4. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları.....	18
2.4.4. Serbest Radikaller ve İskemi reperfüzyon hasarı.....	27
2.5. Antioksidanlar ve etki mekanizmaları	28
2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar:.....	29
2.5.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS):	31
2.5.3. Total Oksidan Seviye (TOS)	32
2.5.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSI).....	31

2.6. Magnezyum Farmakokinetiği	32
2.6.1. Magnezyum Farmakodinamiği	33
2.6.2. Magnezyumun Sistemler Üzerindeki Etkileri.....	34
2.6.3. Magnezyum Uygulama Endikasyonları	38
2.6.4. Magnezyumun Anestezide Kullanımı	38
2.6.4.Magnezyumun antiinflamnatuar etkisi	40
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
4.BULGULAR	46
5.TARTIŞMA	57
6.SONUÇ.....	60
KAYNAKLAR	61

ÖZET

Bu çalışmada karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine magnezyum sülfatın etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamız Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu onayı alınarak gerçekleştirildi.

Çalışmamızda 2-4 aylık 250-350 gram ağırlığında Wistar Albino cinsi 32 dişi rat kullanıldı. Ratlar randomize edilerek dört gruba ayrıldı. Kontrol(K) grubunda sadece ratların batını açıldı. İskemi oluşturulmadı ve diğer gruplar kadar beklendi. Magnezyum(M) grubuna sadece laparatomiden 20 dakika önce 200 mg/kg magnezyum sülfat uygulandı. İskemi oluşturulmadı ve diğer gruplar kadar beklendi. İskemi reperfüzyon(IR) grubunda laparatomiden sonra 60 dakika kadar karaciğerde iskemi yapıldı. Daha sonra 60 dakika reperfüzyon sağlandı. İskemi reperfüzyon ve magnezyum(IR+M) grubunda batın açılmadan 20 dakika önce 200 mg/kg magnezyum sülfat uygulandı. Laparotomi yapıldıktan sonra 60 dakika kadar karaciğerde iskemi oluşturuldu ve daha sonra 60 dakika reperfüzyon sağlandı.

Kan örnekleri bütün gruplarda intrakardiyak olarak alındı. Biokimya laboratuvarında alınan örneklerden TAS, TOS, ALT, AST, TROPONİN I ve INR çalışıldı. Daha sonra karaciğerden doku örnekleri alındı. Karaciğer kesitleri hemotoksilen eosin ile boyandı. Deney gruplarından habersiz histoloji uzmanı tarafından histoloji laboratuvarında örnekler incelendi ve karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı puanlama yapılarak değerlendirildi.

ABSTRACT

In this study, we aimed to investigate the effect of magnesium sulphate on liver ischemia reperfusion injury.

Our work was carried out with the approval of Abant İzzet Baysal University Animal Studies Ethics Committee.

In our study, 32 female Wistar Albino rats weighing 250-350 grams were used for 2-4 months. The rats were randomly divided into four groups. In the control group (K), only the rats' abdomen were opened and no ischaemia was formed and waited until the other groups. Magnesium (M) group was administered 200 mg / kg magnesium sulphate only 20 minutes before laparotomy and was not as ischemic. In the group of ischemia reperfusion (IR), ischemia was performed in the liver for about 60 minutes after laparotomy. Then reperfusion was allowed for 60 minutes. Ischemia reperfusion and magnesium (IR + M) group received 200 mg / kg magnesium sulphate 20 minutes before the abdomen was opened. After laparotomy, ischemia was induced in the liver for about 60 minutes and then reperfusion was allowed for 60 minutes.

Blood samples were taken intracardiac in all groups. TAS, TOS, ALT, AST, TROPONIN I and INR were studied in the biochemistry laboratory. Tissue samples were then taken from the liver. Liver sections were stained with hemotoxyline eosin. The specimens were examined by a histologist unaware of the experimental groups in the histology laboratory and evaluated by liver ischemia reperfusion injury scoring.

SİMGELER ve KISALTMALAR

IR:	İskemi Reperfüzyon
ROS:	Reaktif Oksijen Ürünleri
RNS	Reaktif Nitrojen Ürünleri
ATP:	Adenozin trifosfat
DNA:	Deoksiribonükleik asit
KC:	Kuppfer hücresi
SEC:	Sinozoidal Endotel Hücresi
GCX:	Glikokaliks
HSC:	Hepatik Yıldız Hücreler
DC:	Dentrik Hücre
NO:	Nitrik Oksit
ET-1:	Endotelin 1
CO:	Karbon Monoksit
HC	Hepatositler
DAMP:	Hasar İlişkili Moleküler Madde
TNFα:	Tümör Nekroz Faktör Alfa
NL:	Lökosit
PG:	Proteoglikan
ETC:	Elektron Taşıma Zinciri
ICAM1:	Hücrel Adezyon Molekülü
GAG:	Glikoz Amino Glikan
NADH:	Nikotinamid Adenine Dinükleotit

VCAM1:	Vasküler Adezyon Molekülü
İL1B:	İnterlökin 1B
IFN-γ:	İnterferon Gama
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NKT:	Doğal Öldürücü T
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
ONOO- / ONOOH:	Peroksinitrit / Peroksinitrit asid
SOD:	Süperoksit Dismutaz
MnSOD:	Mitokondriyal Süperoksit Dismutaz
MPT:	Mitokondri Geçirgenlik Geçşi
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
TLR4:	Toll Benzeri Reseptör 4
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
O₂⁻ :	Süperoksit Radikali
OH⁻:	Hidroksil Radikali
ÇDYA:	Çoklu Doymamış Yağ Asiti
TAS:	Total Antioksidan Kapasitesi
TOS:	Total Oksidan Kapasitesi
OSİ:	Oksidatif Stress İndeksi
ALT:	Alaninaminotransferaz
AST:	Aspartatamino transferaz
VAC:	Vakuolizasyon
Sid:	Sinüzoidal Dilatasyon
GPx:	Glutatyon Peroksidaz

CAT:	Katalaz
GST:	Glutasyon Transferaz
Mg:	Magnezyum sülfat
PTH:	Paratiroid Hormon
ADH:	Antidiüretik Hormon
NMDA:	N-Metil-D-Aspartat
Ca:	Kalsiyum
K :	Potasyum
GABA A:	Gama Amino Bütirik Asit A
TBI:	Travmatik Beyin Hasarı
SKY:	Spinal Kord Yaralanması

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1	Reaktif oksijen türleri (ROS)	21
Tablo 1.2	Reaktif nitrojen türleri (RNS)	22
Tablo 3.1.	Karaciğer histopatolojik hasar skorlaması	41
Tablo 4.1.	Gruplar arası p değerleri,	43



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Karaciğerin klemplenerek iskemi yapılması	2
Şekil 2.2.	Couinaud Segmental Anatomisi	4
Şekil 2.3.	Karaciğer hepatik lobül histolojisi	6
Şekil 2.1.	Karaciğer İR hasarının fizyopatolojisi	11
Şekil 2.5.	Hücre Zedelenmesi	17
Şekil 2.5.	Mikrosirkulator kan akışının azalmasının patofizyolojisi	18
Şekil 2.6.	İmmun sistemin aktivasyonu ve hücre hasarı	19
Şekil 4.1.	ALT Ortalamaları	44
Şekil 4.2.	AST Ortalamaları	45
Şekil 4.3.	Troponin Ortalamaları	46
Şekil 4.4.	INR Ortalamaları	47
Şekil 4.5.	TAS Ortalamaları	48
Şekil 4.6.	TOS Ortalamaları	49
Şekil 4.7.	Karaciğer hasarının mikroskopik görünümü	51
Şekil 4.8.	VAC Ortalamaları	52
Şekil 4.9.	SID Ortalamaları	53
Şekil 4.10.	Nekroz ve Apoptoz Ortalamaları	53

GİRİŞ ve AMAÇ

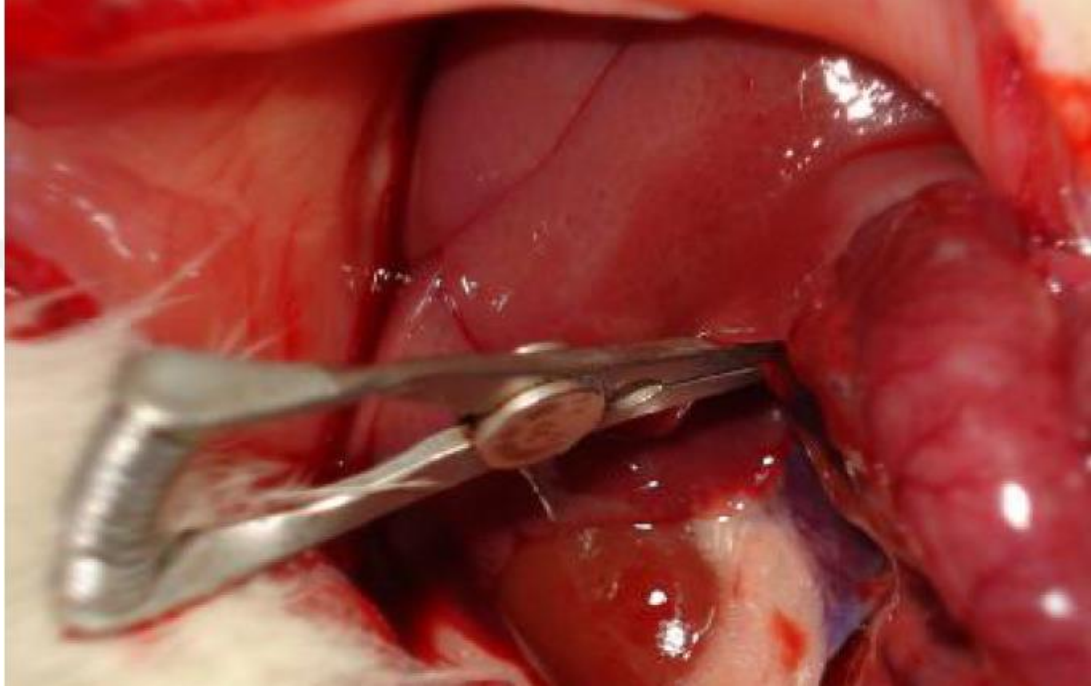
İskemi kan akımının azalması ya da kesilmesi ile organın veya dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu dokuların ihtiyacı olan oksijen ve metabolik ürünlerin karşılanamadığı patolojik bir durumdur. Reperfüzyon bu iskemik dokudaki kan dolaşımının tekrar sağlanmasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması dokunun oksijen ve diğer metabolik gereksinimlerini karşılarken dokulara iskemik hasardan daha fazla zarar verebilmektedir. Bu olay iskemi ve reperfüzyon (IR) hasarı olarak adlandırılmaktadır. İskemi-reperfüzyon (IR) hasarı travma, organ transplantasyonu, myokard infarktüsü, inme, hipovolemik şok, sepsis gibi sık karşılaşılan ciddi klinik tablolarda meydana gelir (1).

İskemi durumunda hücrelerde metabolik değişimler oluşur. İskemi sonucu hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi ile hücre ölümü meydana gelebilir. Hücrelerin oksijensiz kalması ile oksidatif fosforilasyon azalır. Adenozintrifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfatların sentezi azalır, anaerobik metabolitler hücrede birikir. Hücre membranındaki ATP bağımlı Na^+/K^+ ve Ca^{+2} pompalarının çalışmamasına bağlı hücre içi serbest Ca^{+2} , K^+ , Na^+ artışı olur. Fosfolipaz aktivasyonu, hücre membran hasarı, mitokondrial disfonksiyon ve iskemik sürecin uzaması ile geri dönüşümsüz olarak lizozomal enzim aktivasyonu ve sonuçta apopitozis ile birlikte hücre ölümü meydana gelir (2).

Reperfüzyon, iskemiden sonrakı akımının yeniden sağlanmasıyla başlar. Bu dönemde yüksek O_2 konsantrasyonuyla birlikte dokudaki ve hücredeki iskemik dönemde oluşan hasar artar. Reaktif Oksijen Ürünleri (ROS) ve Reaktif Nitrojen Ürünlerine (RNS) bağılı lipid peroksidasyonu, membran hasarı, deoksiribonükleik asit hasarı, protein denatürasyonu ve mitokondrial hasar meydana gelir. Reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikalleri endotelial hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemine neden olur. Aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik inflamatuvar yanıtı başlatabilir. Zincirleme inflamatuvar reaksiyonlar devam eder ve lökosit ilişkili hücre hasarını mikrosirkülasyon bozukluğu izler. Doku iskemisi ile başlayan süreç reperfüzyonla inflamatuvar yanıt oluşturur ve kan akımı tekrar sağlanmasına rağmen hücre hasarı devam eder (3).

Karaciğerde iskemi-reperfüzyon hasarına genellikle hemorajik şok, sepsisin geç dönemi, karaciğer transplantasyonu, büyük bir travmaya yönelik cerrahi girişim

ve hepatik rezeksiyon sırasında görülmektedir (4). Rezeksiyon esnasında kanamayı azaltmak için en bilinen yol karaciğere gelen kan akımını kesmek için karaciğer pedikülünün klemplenmesidir ki bu işlem Pringle manevrası olarak bilinir. Karaciğer cerrahisinde kansız bir alan sağlanması için Pringle manevrası uygulanmaktadır. Pringle manevrası da potansiyel olarak tehlikeli hepatik parankim iskemisine neden olur (5).



Şekil 3.1Karaciğerin klemplenerek iskemi yapılması

Bu hasarın mekanizmalarının bilinmesi ve hasarı azaltan önlemlerin ve ilaçların araştırılması, karaciğer cerrahisinin başarısını artırmak ve kronik karaciğer hastalıklarının hasarını azaltabilmek açısından büyük önem taşımaktadır (5, 6).

Magnezyum vücutta en çok bulunan 4. katyondur. Baskın olarak hücre içi katyondur. Magnezyum kan mononükleer hücreleri de içeren çeşitli hücrelerde enzimatik reaksiyonlar, hücre kanalları, reseptörler ve hücre içi sinyal molekülleri üzerinde etkilidir. İyon kanal düzenleyicisidir. Hücresel iyon dengesinin korunmasına katkıda bulunur. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak düz kaslarda gevşeme ve vazodilatasyon sağlar. Magnezyum aynı zamanda endokrin fonksiyonlar ve protein sentezi için gereklidir (7).

Magnezyum sülfat ($MgSO_4$) güçlü bir anti-inflamatuar etkiye sahiptir ve güçlü bir antioksidandır. Endotoksin bağımlı inflamatuvar molekül upregülasyonunu

inhibe eder. Magnezyum, L-tipi bir kalsiyum kanal blokeridir ve L-tipi kalsiyum kanalı bloke etmesi ile doku hasarıyla ilgili kalsiyum aşırı yükünü azaltarak IR hasarını önlemede etkili olabilir (8-11).

Literatür taramalarımızda rat karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı modelinde magnezyum sülfatın koruyucu etkinliğini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasının amacı; rat karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı modelinde magnezyum sülfatın koruyucu etkinliğinin araştırılmasıdır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, insan vücudunda, toplam kütlenin % 2'sini oluşturan çok yönlü ve en büyük iç organdır. Kahverengi kırmızımsı renktedir, yaklaşık olarak 1.500 gr ağırlığındadır ve bu da vücut ağırlığının 1/35-40'ını oluşturmaktadır. Karaciğer benzersiz bir çift kan kaynağı ile yaklaşık toplam kalp debisinin % 30'una sahip olduğundan, vücuttaki en vasküler organdır.

Anatomik olarak; karaciğer karın boşluğunun sağ üst tarafında, diyafragmanın hemen altında, mide-bağırsakların üzerinde bulunur. İnsan vücudunun en büyük bezidir. Diyaframa yaslanmış olarak bulunur. Sağ orta aksiller çizgide 7–11. kostalar arasında yer alır. Elastikiyet yeteneği çok azdır. İçi de kanla dolu olduğu için travmalardan etkilenir ve çabuk yırtılabilir süngerimsi bir yapıya sahiptir. Komşu olduğu organların sınırlarına uyum gösterir. Makroskopik olarak, superior, inferior ve posterior olmak üzere üç yüze sahip bumerang şeklindedir (12).

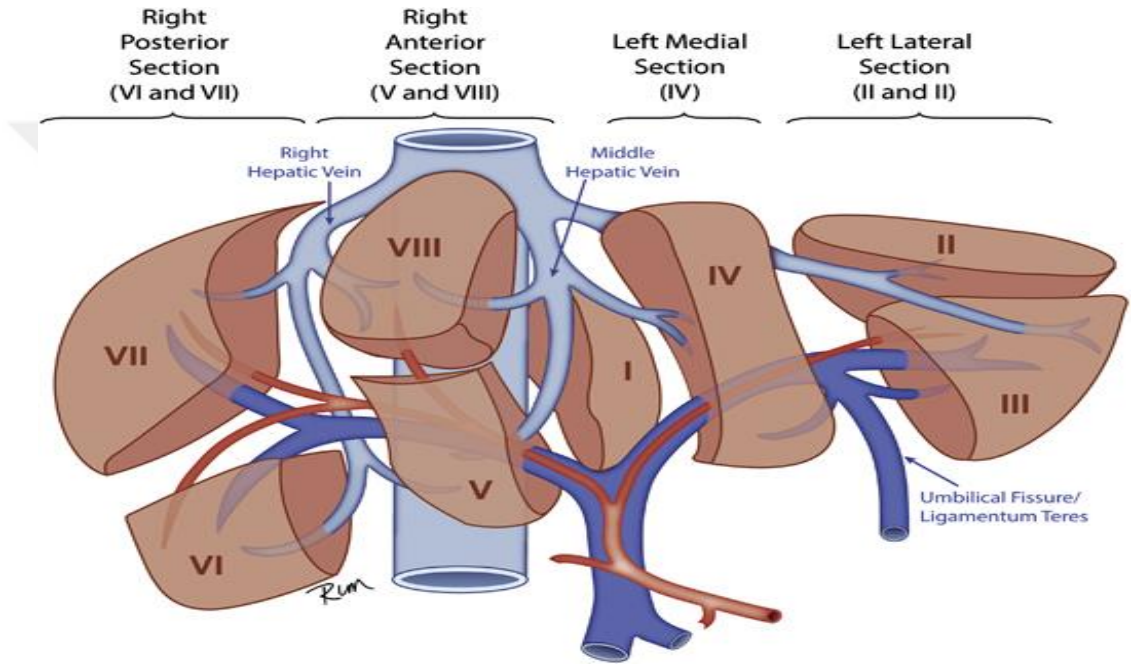
Karaciğer çevresindeki organlara, hepatogastrik ve hepatoduodenalligamentlerle tutunur. Ligamentum triangular ve coronariumla da karın ön duvarı ve diafragmaya bağlanır. Diyafragmatik yüz lig. falciforme hepatis aracılığı ile iki loba ayrılır. Bunun dışında fetal dokuların oblitere olmasıyla meydana gelen fibröz kordlar; umblikal ven (ligamentum teres hepatis) ve duktus venosus (ligamentum venosum) mevcuttur (12).

Klasik anatomide, karaciğer dört ana loba “ sağ lob, sol lob, kaudat ve quadrat loblara” ayrılır. Superior yüzeyde karaciğer falsiform ligamentle sağ ve sol loba ayrılır. Posteroinferior yüzeyde portal ven, safra kesesi, ligamentum venosum ve inferior vena cava karaciğeri; sağ, sol, kaudat ve quadrat loblara ayrımını sağlar (13, 14).

Karaciğerin fizyolojik anatomisi ise fonksiyonel, segmentel, cerrahi anatomi olarak isimlendirilir. Varyasyonları olmasına rağmen her bir segmentin kendi afferent kan akımı, venöz ve bilier drenajı mevcuttur (13, 14).

İlk defa 1957 senesinde Fransız cerrah Couinaud tarafından kendi vasküler ve biliyer drenajına sahip bağımsız fonksiyonel segmentlerden oluşmuş bir karaciğer yapısı öne sürülmüş ve karaciğer 8 segmente ayrılmıştır. Günümüzde Couinaud sınıflaması tariflenen segmentlerin ayrı ayrı rezeke edilebiliyor olmasından dolayı

önemini korumaktadır. Couinaud tarafından tanımlanan karaciğerin segmental anatomisine göre, karaciğer orta hepatik ven tarafından sağ ve sol loba ayrılmaktadır. Kaudat lob ise karaciğerin posteroinferiorunda, sağ ve sol lob arasında ayrı bir lob olarak izlenmekte ve segment 1 olarak adlandırılmaktadır. Burada karaciğer saat yönünde sekiz segmente ayrılmıştır. Bütün bu anatomik sınıflamalara rağmen karaciğer pek çok anatomik varyasyon gösteren bir organdır. Günümüzde görüntüleme tekniklerinin gelişmesiyle birlikte Couinaud'ın segmentel anatomisi gerçeğe yakın bir şekilde ameliyat öncesi ortaya koyulabilmektedir (15, 16).



Şekil 2.1 Couinaud Segmental Anatomisi

2.1.1 Karaciğer Kan Akımı

Vücudun en vasküler organı olan karaciğer kalp debisinin yaklaşık üçte birini alır. Portal ven ve hepatik arter karaciğere kan akımını sağlayan iki ana vasküler yapıdır. Portal ven yoluyla karaciğer sinüzoidlerine yaklaşık dakikada 1050 ml kan hepatik arter ile de dakikada 300 ml kan gelir. Böylece 1350 ml kan toplanır. Karaciğere giren portal vendeki basınç 9-10 mmhg iken sinüzoidlerin basıncı 2-4 mmhg ve karaciğerden çıkan hepatik venlerin basıncı 0 mmhg'dır. Splanknik sirkülasyon bu nedenle portal venden sinüzoidlere doğrudur. Karaciğerde kan akımı yüksek ve vasküler direnç düşüktür. Hepatik arterdeki kanın oksijen saturasyonu

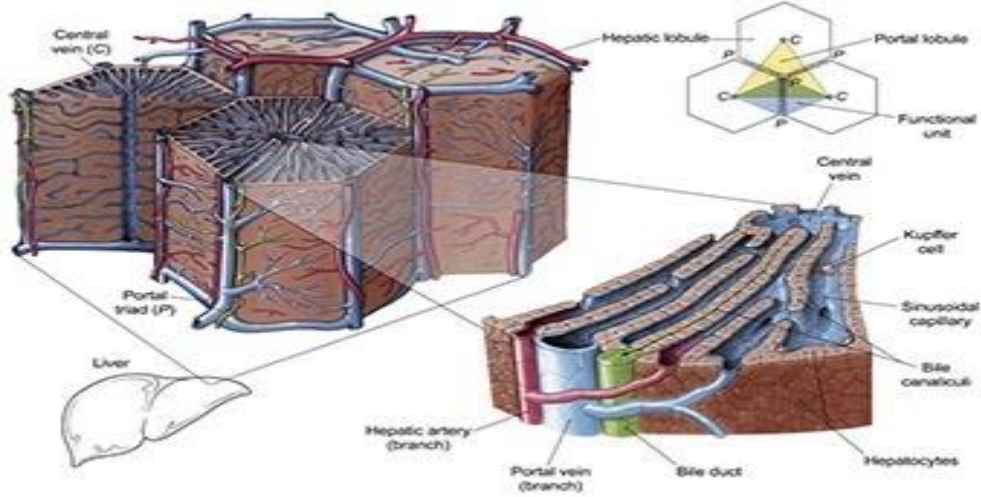
normal insanda %96–98’dir. Hepatik arter akımı portal vene göre düşük olduğu için karaciğer oksijenasyonunun %60-70’inden portal ven, %30-40’ından ise hepatik arter sorumludur (12, 17).

2.2Karaciğer Histolojisi

Hepatositler karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi lobülün asıl yapısını oluşturur. Bu model Rappaport tarafından 1954 te tanımlanmıştır. Poligonal veya hegzagonal şekillidir, köşelerinde Glisson üçgenleri, ortasında vena sentralis vardır. Köşelerde genellikle 6 portal triad bulunur. Portal triad portal ven, hepatik arter ve safra kanalikülünden oluşan bir ünedir. Kan akımı periferden merkeze doğrudur. Safra akışı merkezden perifere doğrudur. Yetişkin karaciğerinde yaklaşık 1 milyon adet klasik karaciğer lobülü vardır (18).

Portal lobül: Bu ayırmda safra salgılanışı gözönüne alınmıştır. Birbirine komşu üç klasik lobülün vena sentralis’lerini köşe kabul eden üçgen şeklindeki sahanın içi portal lobuldür. Lobülün merkezi portal alan (Kiernan aralığı)’dır. Bu lobülde kan akımı merkezden perifere doğrudur. Safra akış yönü periferden merkeze doğrudur. Bir bakıma, portal lobülün merkezi hepatositlerde salgılanan safranın toplandığı merkezdir. Bu tür lobül tanımı karaciğerin ekzokrin fonksiyonunu açıklamakta kolaylık sağlar (18).

Glisson kapsülünün merkeze doğru ışınsal şekilde uzanım göstermesiyle asinüsler oluşturur. İki komşu klasik lobül içinde aynı hepatik arter ve vena porta dalından kanlanan hücre grupları hepatik asinus olarak tanımlanır. Karaciğerde asinuslar üç heterojen dolaşım bölgesi içerir. Zon 1: periportal, zon 2: orta ve zon 3: perisentral zonlardır. Zon 1: Sinüzoidlerin başlangıç bölgesidir. Oksijen ve besin açısından zengindir. Zon 3: Oksijenden en fakir bölgedir, kan akımı zon 1 ve 2 den sonra buraya ulaşır (18, 19).



Şekil 2.2 Karaciğer hepatik lobül histolojisi

2.2.1. Hepatositler

Hepatositler çok yüzlüdür, 6–8 yüzeyle, yaklaşık olarak 20–30 µm çaplı hücrelerdir. Yaşla birlikte çift çekirdek sayısı artar. Hepatositlerin yaklaşık beş aylık yaşam süreleri vardır. Fonksiyonu itibarı ile bol miktarda mitokondri, endoplazmik retikulum, ribozom ve golgi cisimciğine sahiptir. Karaciğer hücrelerinin % 60-70'ini oluşturur. Bu hücreler karaciğerin fonksiyonel ünitesi içerisinde periferden santrale doğru ışınal olarak sıralanır. Bu dizilime ‘remark kordonları’ adı verilir. Sinüzoid duvarı ile hepatositler arasında dar bir aralık bulunur, buraya; Disse aralığına perisinüzoidal aralık ve subendotel aralık gibi isimler verilir. Hepatositlerin Disse aralığına bakan yüz safra kanalcıkları oluşumuna katılır (18).

2.2.2. Sinüzoidal Endotelial Hücreler

Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %20-30'unu oluşturur. Karaciğer fonksiyonel ünitesindeki sinüzoidler, endotel hücrelerinin bir araya gelerek bağlanmasıyla oluşturdukları tubuler yapılardır. Endotel hücrelerinin arasındaki bağlantılar geniş porlar içermektedir. Hepatositlere işlenen ve sentezlenen proteinler, lipoproteinler ve diğer bazı ürünler yine aynı yüzeyden Disse aralığına boşaltılarak kan dolaşımına verilir (18).

Disse aralığı içinde bulunan yıldızlı hücrelere İto hücreleri (perisinüzoidal hücre) hepatik yıldızlı hücre (HSC) adı verilir. Bu hücreler mezenşimal orijinlidirler, sitoplazmalarında yağ içerirler ve vitamin A'nın metabolizmasında ve

depolanmasında rol oynarlar. Sağlıklı karaciğerde bu hücreler retinoidlerin alınması, depo edilmesi ve salınması, bazı ekstrasellüler matriks proteinlerinin ve proteoglikanların sentezi ve salgılanması, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salgılanması ve çeşitli düzenleyici maddelere (örn. prostaglandinler, trombaksan A2) yanıt olarak sinüzoid çapının düzenlenmesi gibi işlevler görürler. Kollajen üretimi ve depolanmasından da sorumludurlar. Bu sebeple hepatit zemininde gelişen fibrozisten sorumlu tutulmaktadır (20).

2.2.3. Kupffer Hücreleri

Doku makrofajları adıyla ilk olarak histopatolog C. Von Kupffer tarafından tanımlanmıştır. Doğal bağışıklığın önemli bir bileşenidir. Bu retiküloendotelial sistem hücreleri nonparankimal karaciğer hücrelerinin yaklaşık %35'ini oluşturur ve karaciğer sinüzoidlerinin lümenine ve kan damarlarının endotelial hücrelerine bitişik olarak bulunurlar. Kupffer hücreleri vücudun bakteri, bakteriyel endotoksin ve mikrobiyal artıklara temas etmesiyle ve bunların portal ven ya da gastrointestinal sistem yoluyla karaciğere ulaşmasıyla aktif olurlar (18).

Kupffer hücreleri, iske-mi-reperfüzyon hasarı, asetaminofen toksisitesi, karaciğer fibrozu, portal hipertansiyon, non-alkolik yağlı karaciğer ve alkolik karaciğer hasarı gibi pek çok karaciğer hasar ve hastalığının patogene-zinde yer alırlar (21).

2.3. Karaciğerin Biyokimyasal ve Fizyolojik fonksiyonları

2.3.1. Karaciğerin Kan Depo İşlevi:

Normal bir karaciğerin kan volümü 450 ml'dir. Karaciğerin hepatik venlerinde ve sinüslerinde sağ atriyumda basınç yükseldiğinde büyük miktarlarda kan depolanabilir. Kan hacmi azaldığında ek kan sağlama yeteneği olan, kan hacmi aşırı şekilde arttığında ise önemli bir kan deposu olabilen büyük venöz bir organdır (17).

2.3.2. Karaciğerin Kan Temizleme İşlevi:

Barsak kapillerlerinden portal venlere akan kan barsaklardan birçok bakteriyi de beraberinde karaciğere getirir. Karaciğere gelen bu kan venöz sinüsler içinden geçerken sinüsoidleri döşeyen Kupffer hücreleri tarafından son derece etkili bir şekilde temizlenmektedir. Barsaklardan portal kana girerek karaciğer içinden geçip sistemik dolaşıma ulaşmayı başaran bakterilerin sayısı bu yüzden muhtemelen birden

fazla değildir (17, 22).

2.3.3. Karaciğerin Metabolik İşlevleri:

Bu metabolik işlevler karbonhidrat metabolizması, yağ metabolizması, protein metabolizması ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır.

a) Karbonhidrat Metabolizması:

1-Kan glikozunun fazlasını kandan alıp glikojen olarak depolamak ve kan glikoz konsantrasyonu düşmeye başladığında da tekrar glikoz olarak kana verir (glikojenoliz).

2-Galaktoz ve fruktozu glikoza çevirir.

3-Kan glikoz konsantrasyonunun normalin altına düşmeye başladığı zaman glikoneojenez yoluyla aminoasitleri glikoza çevirir.

4-Karbonhidrat metabolizması ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal madde oluşturur (23).

b) Yağ Metabolizması:

1-Yağ asitlerinin oksidasyonu ile enerji sağlamak; Karaciğerde nötral yağlar gliserol ve yağ asitlerine ayrıldıktan sonra beta oksidasyonla yağ asitlerinden asetilkoenzim A (asetil CoA) oluşur. Oluşan asetil CoA sitrik asit döngüsüne girerek okside edilip büyük miktarda enerji sağlanır. Ayrıca iki molekül asetil CoA'nın birleşmesiyle oluşan ve çok kolay eriyen asetoasetik asit bütün vücuda taşınarak dokular tarafından tekrar asetil CoA'ya çevrilerek okside edilip enerji sağlanır.

2-Kolesterol, fosfolipit ve lipoprotein sentezi; Karaciğerde sentezlenen kolesterolün yaklaşık yüzde 80'i safra tuzlarına çevrilip safraya salgılanırken geri kalanı lipoproteinler içinde kanla tüm vücuda taşınırlar. Fosfolipitler de karaciğerde sentezlendikten sonra başlıca lipoproteinler içinde taşınırlar.

3- Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi; Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük ölçüde karaciğerde gerçekleşir, sentezlenen yağ lipoproteinler içinde yağ dokusuna taşınırlar (23).

c) Protein Metabolizması:

1-Aminoasitlerin deaminasyonu; Aminoasitlerin, enerji için kullanılması, karbonhidrat veya yağlara çevrilmesi için önce karaciğerde deaminasyonu olmaktadır.

2-Üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması; Karaciğerde

üre oluşumuyla sağlanmaktadır.

3-Plazma proteinlerinin oluşumu; Gama globülinlerin bir bölümü dışında plazma proteinlerinin yaklaşık yüzde 90'ı karaciğerde yapılır.

4-Vücuttaki metabolik olaylar için önemli bazı aminoasitlerin sentezi ve aminoasitlerinden önemli kimyasal bileşiklerin oluşturmalarıdır (23).

2.3.4. Karaciğerin Diğer İşlevleri:

a) Vitaminlerin depo edilmesi;

Karaciğerde en fazla A vitamini depo edilirken büyük miktarlarda D vitaminive B12 vitamini de depo edilir.

b) Karaciğerde demirin ferritin şeklinde depolanması;

Vücutta demir hemoglobin dışında, normalde en büyük oranda karaciğerde ferritin şeklinde bulunur. Ferritin vücut sıvılarında demir miktarı arttığı zaman karaciğerde apoferritin ile birleşerek bir daha kullanılmak üzere depo edilir.

c) Kan pıhtılaşmasına etkisi;

Birçok koagülasyon faktörü karaciğerde yapılır. Bu faktörlerden protrombin, faktör VII, IX ve X'un oluşumundaki metabolik olaylarda K vitamini gerekmektedir. K vitamini yokluğunda bu faktörlerin konsantrasyonu çok düşer ve pıhtılaşma bozulur.

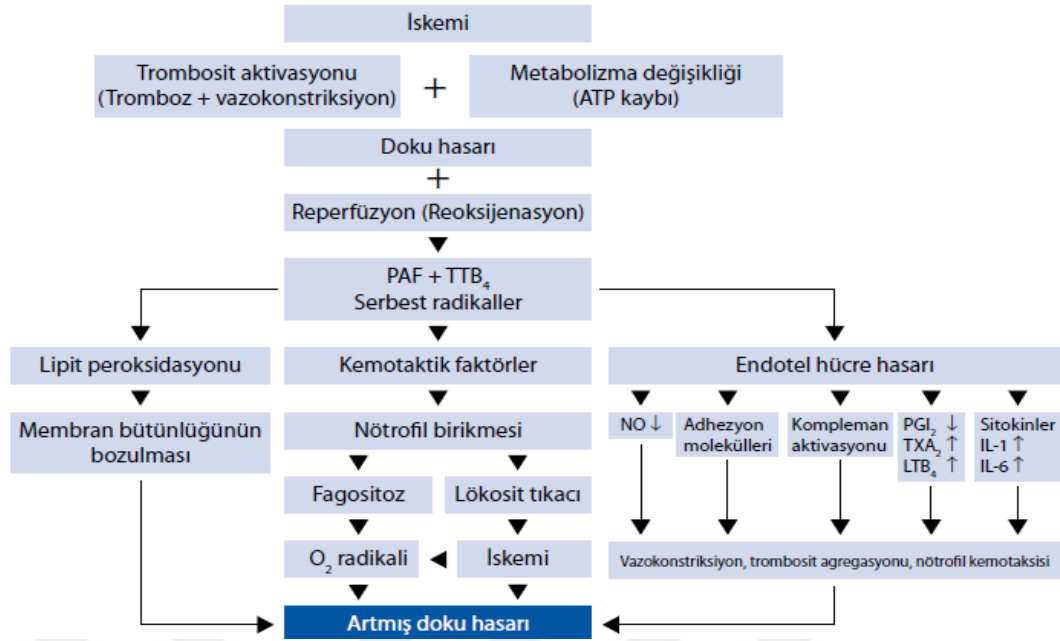
d) Bilirubin atılımına etkisi;

Hemoglobin yıkımındaki son ürünlerden biri olan bilirubin plazmada albumine bağlı olarak karaciğere taşınır. Bilirubin karaciğerde plazma albümininden ayrılıp yaklaşık yüzde 80'i glükuronik asitle, yüzde 10'u sülfatla birleşerek bilirubin glükuronat ve bilirubin sülfat oluşurken geri kalan yüzde 10'u çeşitli maddelerle birleşir. Bilirubin bu şekilde hepatositlerden aktif transportla safra kanalcıklarına daha sonra da barsaklara salgılanır. Barsaklara geçen "konjuge" bilirubinin yarısı bakteriler tarafından suda kolay eriyen ürobilinojene çevrilir. Ürobilinojenin bir kısmı barsak mukozasından kana emilir. Kana emilen ürobilinojenin büyük kısmı karaciğerden tekrar barsağa atılırken yaklaşık yüzde 5'i de böbreklerden geçip idrar ile atılır. Aynı zamanda bazı antibiyotikler (sulfonamid, penisilin gibi), hormonlar (tüm steroid hormonlar ve tiroksin) ve diğer maddeler (kalsiyum gibi) karaciğer tarafından bilirubin atılımı ile vücuttan uzaklaştırılır (17, 24).

2.4 İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.4.1. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Karaciğer rezeksiyonu ve karaciğer transplantasyonunda perioperatif kan kaybını en aza indirmek için uygulanan Pringle manevrası, hepatik IR hasarı oluştursa da kaçınılmaz olan bir gerekliliktir (25). Kan dolaşımının iyileştirilmesi ve ardından kan dolaşımının restorasyonu ile ortaya çıkan zararlı etkiler topluca IR yaralanması olarak bilinir ve bu durumun etkileri cerrahiden sonra karaciğerin (greft) fonksiyonel sonucunu doğrudan belirler (26). Hemorajik, kardiyojenik ve septik şok gibi klinik durumlarda ortaya çıkan karaciğer IR hasarı genelde karaciğer cerrahisi ve transplantasyonunda yüksek mortalite ve morbidite ile seyreder (27). Karaciğerde iskemi sırasında aktive olan Kupffer hücreleri reperfüzyon sırasında ROS ve sitokinleri salgıladığından endotelde ve hepatositlerde hasara yol açmaktadır (27-29). Karaciğer kan akımının %70–80'i portal venden, geri kalan kısmı ise hepatik arterden sağlanmaktadır. İki afferentkan akımına ve glikojen depolarının yüksek anaerobik metabolizma kapasitesine rağmen karaciğerde hipoksik hasarlanma oluşabilmektedir (30). Pringle manevrası, karaciğerin geniş yaralanmalarında yapılan onarımlarda, karaciğer nakli ve karaciğer rezeksiyonu sırasında kanama kontrolü için yararlı bir girişimdir. Ancak klempleme süresinin uzun olması karaciğer IR hasarına neden olabilir (5, 31). Karaciğer IR hasarında ışık mikroskopik olarak incelendiğinde santral nötrofil lökosit (NL) infiltrasyonu, bölgesel hemoraji ve nekroz, konjesyon, sinüzoidler ve kılcal damarlarda genişleme, bölgesel hepatoselüler vakuolizasyon, hepatosit şişmesi gibi değişiklikler görülür (18, 32).



Şekil 2.3. Karaciğer IR hasarının fizyopatolojisi

İskemi döneminde oksijen yoksunluğu, IR hasarının başlıca sorumlusu değildir; karaciğeri daha zararlı reperfüzyon fazına yönlendirir. Reperfüzyon fazı, oksidatif / nitrosatif stres durumuyla karakterize edilir; bu, endojen antioksidan savunma mekanizmaları, reaktif oksijen ve azot türlerinin toksik etkilerini (sırasıyla ROS ve RNS) etkin şekilde dengelemekte başarısız olduğunda ortaya çıkar (33). Postiskemik reperfüzyon esasen radikallerin baskın kökeni temelinde üç farklı alt faza bölünebilir: hiperakut faz (mitokondri), akut faz (Kupffer hücreleri (KC) ve kronik faz (nötrofiller). ROS / RNS üretim sahası, hiperaküt fazdan reperfüzyonun akut ve kronik fazlarına geçişle mitokondriden vasküler translokasyon yapar (34). İkinci aşamalarda, KC'ler ve kemokinle uyarılmış nötrofiller, sinüsoidal endotel hücrelerini (SEC'ler) yönlendiren glikokaliksin (GCX) kimyasal modifikasyonu ve parçalanması yoluyla hepatik inflamasyon ve hasar derecesini artırma potansiyeline sahip çeşitli reaktif türler üretir (35). GCX'in oksidatif bozunması, dolaşımdaki inflamatuvar hücrelerin endotele yapışmasını artırır. Bu durum pıhtılaşma kaskadının aktivasyonunu ve mikrosirkülasyonun bozulması gibi patofizyolojik sonuçlara neden olur (36). Bu sonuçların hepatik IR sırasında mevcut olduğu da gösterilmiştir (37).

IR gibi patolojik koşullar altında, mikrovasküler homeostazın hızlı alt üst olması, genel bir inflamasyon durumu ve beraberinde karaciğer fonksiyonunu tehlikeye atan bir vazokonstriktif ortam yaratır (37). Sinüzoidler vasküler düz kas

hücrelerinden yoksun oldukları için vasküler tonus, disse alanında endotelyum (SEC, KC) ve hepatik yıldız hücreleri (HSC) kaplayan kontraktıl hücre tipleri tarafından düzenlenir. Bu hücreler başta SEC'ler ve HSC'ler tarafından salınan nitrik oksit (NO), karbon monoksit (CO) ve endotelin-1 (ET-1) gibi çeşitli vazoaaktif araçlara tepki verirler (38). Karaciğer, bağırsaktan türetilen bakterilerin sürekli akışı ile etkili bir şekilde baş etmek için KC'ler ve dendritik hücreler (DC'ler) görev alır.. KC'ler SEC'ler arasında tutulur ve mikrobik artıkların temizlenmesini kontrol ederler. Buna karşın DC'ler mikrodamarlarda hücre ölümü belirtileri için dolaşabilirler (39). KC'ler ve DC'ler sürekli fizyolojik olarak çekişir: KC'ler inflamatuvar uyarılara tepki olarak bağışıklık tepkileri uyandırır ve DC'ler inflamasyonun çekim kuvvetine göre KC'ler tarafından verilen bağışıklık yanıtlarını gösterir (40). Her iki hücre tipi hepatik IR sırasında aktive edilir ve sırasıyla tümör nekroz faktörü α (TNF- α) ve interlökin-10 (IL 10) gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınması yoluyla immün yanıtı modüle eder ve ek immün efektör hücrelerin mobilizasyonu sağlar (40).

2.4.2.Glikokaliks

İnflamatuvar hücre tiplerinin sinüzoidal bolluğuna rağmen, fizyolojik koşullar altında endotel, luminal endotel yüzeyi üzerinde bulunan GCX olarak bilinen koruyucu tabaka sayesinde homeostazı başarıyla muhafaza eder. Yapısal olarak, GCX, SEC'leri kaplayan ve vasküler duvardan yaklaşık 0,5 μ m uzanan ağır glikozile edilmiş proteinlerden (proteoglikanlar, PG) ince örgülü bir ağ içerir (41). GCX, çeşitli membrana bağlı glikoproteinler ve çözünür plazma veya endotelden türetilen bileşenlerle bağlantılı olarak, kan ile altta yatan endotel arasında işlevsel bir çardak oluşturan negatif yüklü bir bariyer oluşturur (42).

Glikokaksik fonksiyonları

GCX'in boyutu ve bileşimi, GCX işlevlerinin bolluğuna uyar.GCX'in (~ 0.5 μ m) tahmini fonksiyonel boyutu, hücresel adezyon moleküllerinin endotel yüzeyinden uzadığı mesafeyi büyük ölçüde aşar ve damar duvarında trombositlerin ve lökositlerin yanlışlıkla birikmesini önler. Örneğin Endotel-nötrofil ve Endotel-trombosit etkileşimlerinin temel reseptörünü oluşturan hücreler arası yapışma molekülü 1 (ICAM-1) dış membrandan 20 nm uzaklığa kadar uzanır (43, 44). Bu nedenle hem GCX'in enzimatik sindirimi hem de inflamasyon sırasında GCX'nin dökülmesi, sonuç olarak çok sayıda endotel yüzey reseptörünü açar ve lökosit ve

trombositlerin endotel hücrelerine yapışmasına olanak sağlar (45).

Bileşik olarak, ağır sülfatlanmış GAG (Glikoz aminoglikan) zincirleri, GCX üzerinde, sırasıyla, elektrostatik özellikler ve boyut temelinde GCX boyunca plazma moleküllerinin geçişi için bir elek görevi gören, GCX'in yüksek molekül yoğunluğu ile bir negatif yük oluşturmaktadır (46). Sonuç olarak, GCX vasküler geçirgenliğin önemli bir regülatörüdür (47). GCX vasküler lümen ile interstisyel boşluklar arasındaki sıvı dengesini sağlar (48). GCX zarar gördüğünde plazma makromoleküllerinin engellenmeden ekstravazasyonu, örneğin izole edilmiş guinea domuz kalplerinin IR sırasında görüldüğü gibi interstisyel ödem ile sonuçlanır (49).

Mikrovasküler homeostazın sağlanmasının bir parçası olarak GCX, pıhtılaşma kaskadının, özellikle doku faktörü yol inhibitörü ve antitrombin enzimlerini bağlayarak ve regüle ederek trombozu önler (50, 51). Hiperglisemi ile GCX'in bozulmasıyla gözlemlenen koagülasyon aktivasyonu GCX'in trombomodülatör fonksiyonunu gösterir (52). GCX' in fonksiyonları sadece birincil ve ikincil hemostaz ile sınırlı değildir, büyüme faktörü aktivitesinin kontrolünde ve lipid metabolizmasında da etkin rolü vardır (53).

2.4.3.Hepatik IR Fazları

Hepatik IR, kan dolaşımının durdurulması ve ardından kan dolaşımının restorasyonundan sonra yeniden oksijenasyona uğraması nedeniyle anoksi süresini kapsar. Reperfüzyon aşaması kabaca ROS / RNS'nin kökeni temelinde üç farklı zaman aralığına bölünebilir.

Hiperakut reperfüzyon fazı (~ ilk 30 dakika) sırasında, iskemik hasarla vurgulanan parankimal hücreler, oksijen tüketerek, hücre içi ROS / RNS üretimine yakıt kazandırır. Takip eden oksidatif / nitrosatif stres, onkotik veya apoptotik hücre ölümüne yol açar, bunun sonucunda hasara bağlı moleküler kalıplar (DAMP'ler) olarak bilinen belirli hücresel unsurlar dolaşıma bırakılır (34).

Akut reperfüzyon fazında (yaklaşık 30 dakika ila 4 saat), DAMPlar KC'ler tarafından tanınır ve bu KC'ler daha sonra kronik reperfüzyon fazında (> 4-6 saat) nötrofillerin akını veya aktivasyonunu tetikleyen bir dizi immünojenik sinyali serbest bırakır. Hem KC'ler hem de nötrofiller hepatik IR hasarını arttıran çeşitli ROS / RNS üretir (34, 54, 55).

Hiperakut reperfüzyon aşaması ROS / RNS'ye bağlı parankim hasarı,

reperfüzyonun en erken dönemlerinde subselüler seviyeden kaynaklanır. Mitokondriyumda Krebs siklusundan türeyen NADH, elektron taşıma zincirinde (ETC) ardışık dört redoks proteini boyunca taşınan ve sonuçta O_2 'yi H_2O 'ya indirgemek için kullanılan bir proton ve iki elektron üretmek için NAD^+ 'ya oksitlenir. Ortaya çıkan proton gradiyenti ATP'nin mitokondriyal üretiminin arkasındaki itici gücü oluşturmaktadır (55).

İntramitokondriyal indirgeme ortamı ve O_2 bolluğu, oksidatif fosforilasyon sırasında ETC'den elektron sızıntısı nedeniyle süperoksit anyon oluşumunu (O_2^-) desteklemektedir (56). Normofizyolojik koşullar altında, tüketilen O_2 'nin ~% 1-2'si O_2^- 'ye dönüştürülür. İR sırasında bu oran hızlıca yükselir. İskemi sırasında oksidatif fosforilasyonun durdurulması, kan akışının restorasyonu ve O_2 arzının sağlanması üzerine hızla okside olan NADH'nin birikmesine yol açar. Reperfüzyonun başlangıcı, reperfüzyonun ilk ~ 10 dakikasında reaktif hiperemi yönünde eğilim gösterir. NADH'nin aşırı oksidasyonunu, elektron sızıntısı besler ve mitokondriyumda oksijen üretir (57-59). O_2^- oluşumu ve O_2 konsantrasyonu arasında doğru orantılı ilişki görülür. NO de mitokondride bulunur. Ayrıca ETC'nin nitrit (NO_2^-) redüktaz aktivitesi NO'nun mitokondriye difüzyonu veya bir mitokondriyal NOS izoformunun varlığı ile açıklanır (60, 61). O_2^- ve NO'nun bir arada bulunması, normoxia → anoxia → normoxia rejimine maruz bırakılan sıçan karaciğeri mitokondrilerinde tirozin tortularının nitrozasyonunda belgelenen artış ile kanıtlandığı gibi, peroksinitrit / peroksinitrous asidin ($ONOO^-$ / $ONOOH$) mitokondriyal oluşumunu mümkün kılar (62).

Mitokondriyal oksidatif / nitrosatif stresin çeşitli zararlı sonuçları vardır. Birincisi, ROS / RNS, ETC'nin çoğul komplekslerini geri dönüşümsüz olarak oksitleyerek ATP'nin üretimini durdurur (63, 64). ETC'nin ayrılması yoluyla ROS üretimini daha da artırır. İkincisi, mitokondriyumdan köken alan ROS / RNS, protein sentezini ve hücre işlevini zayıflatarak mitokondriyal ve nükleer DNA'yı okside eder (65, 66). Üçüncü olarak, sadece mitokondriada bulunan bir süperoksit dismutaz (SOD) alt tip olan MnSOD'un RNS'ye bağlı tirozin nitrasyonu, enzimi inaktive eder ve böylece intramitokondriyal savunma kapasitesini O_2^- 'ye karşı zayıflatır (67). Bunun sonucunda ROS / RNS üretimi membranda gözenek açılmasıyla başlatılan mitokondriyal geçirgenlik geçişinin (MPT) başlangıcı

vasıtasıyla hücre ölümüne yol açar (68). Mitokondriyal membranın şişmesi, mitokondriyal membranın kopması ve mitokondriyal içeriğin sitoplazmada sızdırılması sonucunda meydana gelen ozmotik dengesizlik hücrenin artık enerjisine bağlı olarak apoptotik veya onkotik hücre ölümünü tetiklemektedir. Hiperakut reperfüzyon aşamasında, hücresel hasar ilk olarak SEC'lerde ve hepatositlerde belirgindir. Bu eğilim akut reperfüzyon evresinde devam etmektedir (69). Sıçan karaciğerlerinde 1 saatlik iskemi sonrasında 1 saatlik reperfüzyon sonrasında, SEC'lerin % 22'sinde ve hepatositlerin %12'sinde onkotik nekroz bulguları görülmüştür (70, 71). Bu çalışmalar topluca, hiperakut faz sırasında mitokondriyal ROS / RNS üretimindeki artışın hepatik İR'nin sonraki evrelerinde yaklaşmakta olan doku hasarı için önemli bir prekürsör olayı olduğunu tasdik etmektedir (34).

Akut ve kronik reperfüzyon fazı oksidatif / nitrosatif stresin bir sonucu olarak apoptoz veya nekrozdan geçen hücreler, steril bir inflamatuvar yanıtı tetikleyen ve hasar ilişkili moleküler madde (DAMP) olarak bilinen immünojenik hücresel bileşenleri serbest bırakır (72).

Serbest kalan DAMP'ler kompleman sistemi ile Toll-benzeri reseptör 4 (TLR-4) vasıtasıyla DC'ler ve KC'ler gibi karaciğere ait hücreler tarafından temizlenir (73, 74).

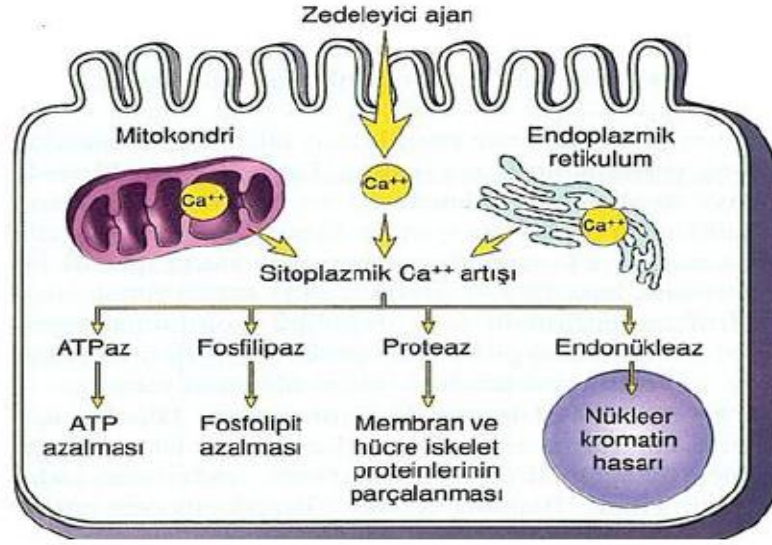
Bu reseptörlere DAMP ligasyonunun akış aşağısındaki olaylar, proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18) ve kemokinlerin indüklenen üretimi yoluyla iltihap durumunu daha da güçlendirir (75-77). TNF- α ile kümülatif olarak CD4⁺ T hücrelerinin ve nötrofillerin kemoatraksiyonunu veya aktivasyonunu provoke eden DC'ler ve KC'ler tarafından uyarılır (78, 79). Aktif nötrofiller, hücre hasarını indüklemek için oldukça donanımlıdır, zira bunlar büyük miktarda ROS / RNS üretirler. Aynı zamanda depolama granüllerinden bir dizi protein indirgeyici enzim salgırlar. Oksidatif ve nitrosatif stres, inflamatuvar cevapla birlikte, akut ve kronik reperfüzyon evrelerinde hepatik mikrovasküler homeostaz üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir (37). Sirkülasyonun postiskemik olarak restorasyonu, kısmen paradoksal olarak, ROS / RNS'nin aşırı üretimine atfedilebilen "no reflow fenomeni" olarak bilinen yerel perfüzyon defisitlerini beraberinde getirir (80).

Normalde, mikrovasküler homeostaz, perfüzyon taleplerine göre hepatik kan

akışını düzenleyen vasodilatörler (NO, CO, prostasiklin) ve vazokonstriktörler (ET-1, tromboksan A2) arasındaki dinamik denge ile yönetilir (37). Karaciğer mikrovasküler sisteminde reaktif türlerin gereksiz şekilde üretilmesi, bu sinyal molekülleri arasındaki dengeyi vazokonstriktif bir hale getirir ve böylece hepatik kan tedarikini sınırlar (81). Üstelik, vazokonstriksiyon, kemokinlerle uyarılmış lökositler ile damar çapı arasında büyüklük açısından bir uyumsuzluğa, sonuçta lökosit tıkanmasına ve vasküler disfonksiyonun daha da artırılmasına yol açar(34).

KronikFaz (6-48 saat):

Kronik faz karaciğere göç eden nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin ve trombositlerin inflamasyon yanıtı ile uyarılmaktadır Bu durum sinüzoidal kan akımında değişikliklere sebep olmaktadır. Hepatositlerdeki hasar ROS/RNS ve ekstrasellüler sitokinler ile meydana gelmektedir (33, 54). Karaciğer IR hasarının erken fazında endotelial hücre şişmesi, vazokonstriksiyon, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, platelet agregasyonu ve lökosit infiltrasyonu sonucunda mikrosirkülasyonda bir yetersizlik gelişir (82). Vazokonstriksiyon; NO ve ET dengesindeki bozulma sonucu ortaya çıkar. Sinüzoidal lümen daralır, bunu takiben NL'nin dolaşım hızı yavaşlar. NL'nin endotel ile temas süresi artar ve böylece lökostazis gerçekleşir. Bu durumda sinüzoidal ağ dolaşımı engellenir. Bu da hipoksiyi uzatır. Ardından Kupffer hücreleri ve NL'ler aktive olur, inflamatuvar sitokinler ve ROS/RNS ortaya çıkar ve hepatik hasar daha da şiddetlenir (83). Hepatik IR hasarı modellerinde komplemanın da IR hasarında rol oynadığı gösterilmiştir. Anaflatoksinler ve kompleman aktivasyonu sonucu ortaya çıkan ürünler; karaciğerde NL aktivasyonu, vazokonstriksiyon, mikrosirkülasyonda bozulma, vasküler permeabilitede artış ve hücre lizisi ile ilişkilidir (84). Serbest oksijen radikalleri hücrede sarkolemma, sarkoplazmik retikulum ve ekstrasellüler kollajen matriks veya kontraktil proteinler gibi organellerde, bunları takibende Ca^{+2} 'a bağlı mekanizmalarda bozukluklar oluşturur. Serbest sitozolik Ca^{+2} 'un artışı protein kinazları, fosfolipazları ve diğer yıkıcı enzimleri aktive eder ve subsellüler hasarın artmasına yol açar. Aşırı Ca^{+2} yüklenmesi, oksijen radikalleri ile başlayan hasarı artırır (85).



Şekil 2.4. Hücre Zedelenmesi

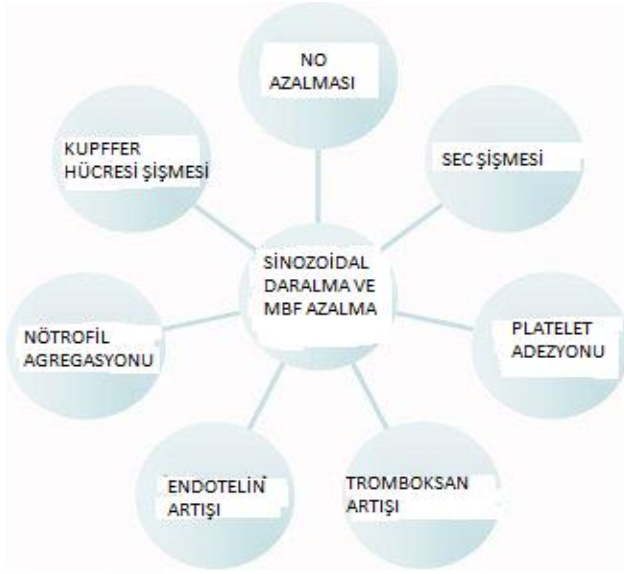
2.4.4. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları

2.4.4.1. pHParadoksu

İskemi sırasında, anaerobik glikoliz ve adenosin trifosfat (ATP) hidrolizi nedeniyle pH düşer. Bu oluşan metabolik asidoz hepatositlerde nekrotik hücre ölümünün başlamasına karşı koruyucu işlev görür. Ancak iskemik hücrelerde reperfüzyonla birlikte pH'nın normale dönmesi latent pH bağımlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücre ölümüne neden olur. Bu fenomen "pH paradoksu" olarak adlandırılır (86).

2.4.4.2.No reflow fenomeni

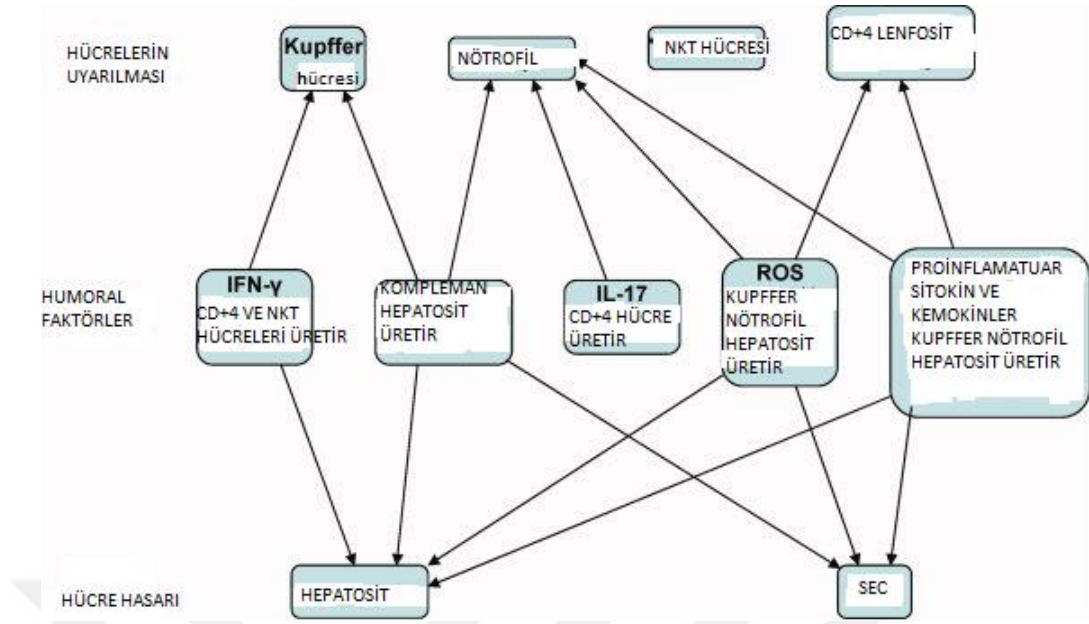
Glikojen tüketimi ve oksijen arzı eksikliği sonucu oluşan iskemik evrede, Kupffer hücreleri, sinüzoidal endotel hücreleri ve hepatositlerde ATP üretim eksikliği oluşturmaktadır. ATP eksikliği ile sodyum / potasyum ATP'ye bağımlı plazma membran pompası (Na^+ / K^+ adenosin trifosfataz) ve ardından hücre içi Na^+ birikimi, ödem ve şişme oluşturur (87). Kupffer hücre ve SEC şişmesi, vazokonstriktör endotelin ve tromboksan A2'de bir artış ve vasodilatör nitrik oksit de bir azalma ile birlikte sinüzoidal daralmaya neden olur (88). Buna ek olarak, reperfüzyonda sinüzoidlerde nötrofillerin ve trombositlerin artması ile yapışarak toplanır. Sonuç, "no-reflow" olarak bilinen, tam kan akımı bulunmayan bazı alanlar da dahil olmak üzere, reperfüzyonda mikro dolaşımdaki kan akımında önemli azalma oluşturur (89).



Şekil 2.5. Mikrosirkulatuar kan akışının azalmasının patofizyolojisi MBF:Ortalama Kan Akışı

2.4.4.3. Hücrelerin etkileşimleri

Kupffer hücreleri karaciğerde bulunan makrofajlardır. IR hasarında hücresel hasarın ve ölümün başlatılması ve çoğaltılmasında önemli bir rol oynarlar (90). Kupffer hücreleri iskemik faz sırasında ve hatta reperfüzyon sırasında daha aktif hale gelirler. Aktifleştirildiklerinde özellikle de reaktif oksijen türleri (ROS) tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlökin-1 β (IL-1 β) dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinler üretirler (91). Bu ROS/RNS ve sitokinlerin yaygın etkisi IR hasarının başlatılması ve yayılımıdır. Ana rolü, reperfüzyonda dolaşan nötrofilleri işe almak ve etkinleştirmektir. Buna ek olarak, CD4+ T lenfositlerini uyararak aktifleştirir. Hücre yüzey adezyon moleküllerinin ekspresyonuna yol açan SEC'leri harekete geçirir ve zararlarına katkıda bulunur (78). Hepatositleri ROS üretmeye teşvik eder ve hasarlarına katkıda bulunur ve SEC'lere platelete yapışmasını uyarır (92, 93). Kupffer hücreler, karaciğerin direkt veya uzak IR yaralanması sırasında tamamlayıcı sistem tarafından aktive edilir (21). Ek CD4+ T hücreleri ve doğal öldürücü T hücreleri tarafından üretilen interferon- γ (IFN- γ) tarafından ek Kupffer hücre aktivasyonu sağlanır (94, 95).



Şekil2.6. İmmun sistemin aktivasyonu ve hücre hasarı SEC:sinozoidal endotel hücre.

Aktive edilmiş SEC'ler, hepatositler ve nötrofiller hücre yüzeyi yapışma moleküllerini oluşturur. Nötrofiller üzerinde, SEC'ler ve hepatosit yüzeyinde hücrel adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler adezyon molekülü-1'e (VCAM-1) L-selektin ve β 2-integrinler (CD11b / CD18) yapışır (96). Bununla birlikte, karaciğer IR hasarında, sinüzoidlerde erken nötrofil birikim esasen şişkin, daralmış, trombositlere yapışan sinüzoidlerin mekanik olarak sıkıştırılmasından kaynaklanmaktadır. Aktive edilmiş ve hasar görmüş hepatositlerin kemokinlerine yanıt olarak, sinüzoidal olarak biriken nötrofiller, SEC ile benzeri partiküllerini bağlamak ve endotele parankime geçmek için yüzeyde eksprese edilen adezyon moleküllerini kullanırlar. Nötrofiller üzerindeki CD11b / CD18'in hepatositler üzerindeki ICAM-1 ve VCAM-1'e bağlanması, azaltılmış nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz sistemi vasıtasıyla ROS/RNS üretiminin artırılmasını ve aynı zamanda çeşitli enzimleri içeren sitoplazmik veziküllerin degranülasyonunu tetikler. Hücre dışı matriksi ve ölü hepatositleri parçalamakta ve yaşayabilir hepatositlere de zarar vermektedir (96).

Karaciğer lenfositlerin tüm alt tiplerini yerleşik hücreler olarak içerir. Bunlar, B hücreleri, CD8+ ve CD4+ T hücreleri (konvansiyonel T lenfositleri), doğal öldürücü T (NKT) hücreleri ve $\gamma\delta$ T hücreleridir(alışılmamış T lenfositleri). CD4+ ve daha az oranda NKT lenfositleri karaciğer IR hasarında önemli bir rol oynar (97).

CD4+ hücreleri, IR sonrası herhangi bir nötrofil birikiminden önce reperfüzyonun ilksaatinde karaciğerde birikir (98). Karaciğere alınır ve çeşitli Kupffer hücresi türevi ürünler tarafından aktive edilir. Bunlar arasında kemokinler, ROS, sitokinler ve matriks metalloproteinaz bulunur (78, 99, 100). CD4+ hücreleri, postiskemik karaciğere nötrofil alımında önemli katkıda bulunur (98). CD4+ lenfositleri, kemotaktik ajan IL-17 'nin üretimi yoluyla nötrofil birikimini uyarır. Ek olarak CD4+hücreleri IFN- γ , TNF- α ve IL-1 üretmek için Kupffer hücrelerini aktive eder ve hepatositleri kemokinler üretir (94, 98). Dolayısıyla CD4+T lenfositleri ve Kupffer hücreleri karşılıklı olarak birbirlerini aktive eder (78). Hepatik CD4 + hücresi alımını ve aktivasyon postiskemisinin nihai sonucu mikrovasküler perfüzyon defekti ile hepatosit ve SEC hasarına neden olur (100). NKT hücreleri, CD4+ hücrelerine benzer bir zaman ölçeğinde iskemi öncesi karaciğere alınır ve etkinleştirilir (98). NKT hücresi aktivasyonu, hepatositlerde ve antijen sunan hücrelerde eksprese edilen CD1d antijen sunan moleküllerle etkileşime bağlıdır. Karaciğerde CD1d, NKT hücrelerine kendiliğinden veya yabancı glikolipid antijenleri sunar. Aktive edilmiş NKT hücreleri doğrudan karaciğere zarar verebilir ve daha sonra Kupffer hücresi ve hepatosit aktivasyonu ile birlikte IFN- γ üretebilirler (95, 101).

2.4.4.4. Serbest Oksijen ve Nitrojen radikalleri

Oksijen yaşamın devamı için vazgeçilmez bir elementtir. Oksijen, enerji üretimi için kullanıldığında, hem reaktif oksijen türlerinin hem de reaktif nitrojen türlerinin oluşumuna sebep olmaktadır ve serbest radikaller vücudun normal oksijen kullanımını sırasında mitokondri tarafından sürekli üretilmektedir. Enerji üretimi sonucu oluşan bu serbest radikaller lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişiklik meydana getirebilir. Yarı ömürleri oldukça kısa elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü yahut yüksüz atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurdıklarından ve diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebildiklerinden dolayı oldukça reaktiftirler. Radikal olmayan maddeleri redükte veya okside ederek yeni radikal oluşumuna yol açabilirler ve böylelikle zincir reaksiyonunu başlatırlar (102).

Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilir. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak isimlendirilir. Karaciğerin iskemi reperfüzyonla ilişkili hasarının

mekanizmasında ROS ve RNS rol alır. ROS ve RNS nin üretiminin ve salınımının artmasıyla birlikte endojen antioksidanların tükenmesi apoptotik ve nekrotik hücre ölümünü hızlandırır (103).

Serbest oksijen radikalleri:

Endojen veya eksojen kaynaklı faktörler ile oksijen biokimyasal reaksiyonlarda hücre hasarı yapan moleküllere dönüşebilmektedir. Bunun yanı sıra hücrelerde gerçekleşen metabolik reaksiyonlar için gerekli olan oksijenin %90'ı mitokondride oksidatif fosforilasyon sırasında kullanılır. Kullanılan bu oksijenin %1-3'ü mitokondrilerde O_2^- , H_2O_2 ve OH^- gibi ROS'e dönüştürülür. Bu nedenle aerobik koşullarda hücreler her zaman ROS'in tehdidi altındadır. Ancak hücrelerin sahip olduğu antioksidan sistemleri, ROS'un zararlı etkileri başlamadan etkisiz hale dönüştürür (104).

ROS üretiminin artışı veya antioksidan savunma sistemlerinin fonksiyon azlığı ile birlikte bu hassas denge bozulursa, "oksidatif stres" meydana gelir. Hücresel fonksiyonlar bozulur, membran lipoproteinlerinin ve DNA'nın oksidasyonu ile birlikte hücreyi ölüme götürebilir. En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır: (104)

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	O_2^-	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^\cdot$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^\cdot$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^\cdot$	Singlet oksijen	O_2
Hidroperoksil	$HO_2^\cdot$	Ozon	O_3
Lipid peroksil	$LOO^\cdot$		

Tablo 2. Reaktif nitrojen türleri (15)

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	$\text{NO}\cdot$	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	$\text{NO}_2\cdot$	Nitrosil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksid	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	ONOO^-
		Peroksinitrik asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	ROONO

Süperoksit Radikali (O_2^-)

Süperoksit radikali O_2 molekülüne bir elektron alarak indirgenmesiyle meydana gelmektedir. Canlılarda olduğu ilk gösterilen oksijen radikalidir. Serbest radikal olmasına rağmen yüksek derecede reaktif değildir. Süperoksit'in üretimi çoğunlukla hücrenin mitokondrisi içinde gerçekleşir. Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO^-) meydana gelir. Bazı biyolojik moleküller ile aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olmaktadır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve bulundukları ortama verilmektedir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (104).

Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında

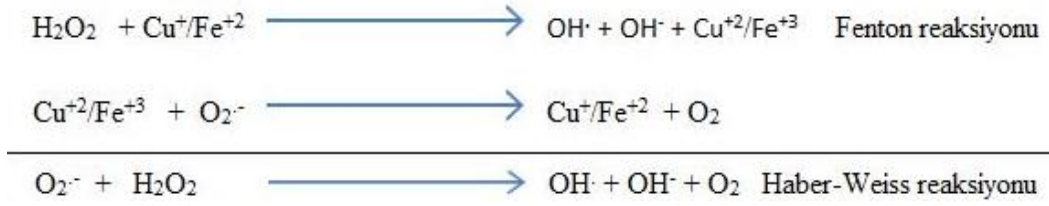
lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (104).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2) :

Hidrojen peroksit (H_2O_2), moleküler oksijenini çevresinden 2 elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O_2^-) dismutasyonu ile olur. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından dolayı oksitleyici bir tür olarak bilinir. H_2O_2 membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O_2^-) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH^\cdot$) oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir. Hidrojen peroksit, nötrofillerin fagozomlarında bulunan bir enzim olan miyeloperoksidaz tarafından hipokloröz asite ($HOCl$) dönüştürülür. Hidrojen peroksidin bir diğer önemli fonksiyonu da hücre içi sinyal molekülü rolünü yerine getirmektir (105).

Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$):

Hidroksil radikali ($OH^\cdot$), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir. Özellikle DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşerek oksidatif hasara yol açar. Araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile lipid peroksidasyonu hücre membranının, akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak hücre membranına zarar verebilir (102).



Singlet Oksijen ($\text{O}_2\uparrow\downarrow$):

Yapısında eşleşmemiş elektron olmasada serbest radikallerin reaksiyonunu başlatması açısından önemlidir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türü olan singlet oksijen, oksijenin bir elektronunun daha yüksek enerji ile uyarılmasıyla oluşur. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (102).

Singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlar özellikle karbon-karbon çift bağlarıdır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (102).

Serbest Nitrojen Radikalleri :

Nitrik oksit (NO) ve peroksinitritdir (ONOO). Serbest nitrojen radikallerinden organizma için en önemlileridir. NO, L-Arginin'in nitrik oksit sentetaz (NOS) katalizörlüğünde oksidasyonu ile oluşurlar. Endoteldeki bu enzimatik aktivite aynı zamanda NL, makrofajlar, böbrekler, karaciğer Kupffer hücreleri ve serebellar nöronlarda da görülür. NO'nun yarılanma ömrü saniyelerle ölçüldüğü için sadece üretildiği kaynağın çevresindeki hücreleri etkileyebilir. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda çözünür. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir, birçok dokuda fizyolojik süreçlerin kontrolünde yer alan önemli bir sinyal molekülüdür. Nitrik oksit (NO) karaciğerde önemli sinyal molekül işlevi gören pluripotent gaz formunda bir serbest radikaldir. Aşırı miktarda üretilen nitrik oksitin organizma üzerinde birçok zararlı etkileri vardır. Bu etkilerinin çoğunu enzimlerin demir-sülfür merkezleriyle etkileşerek oluştururlar. Mitokondriyel elektron transport zinciri enzimleri merkezlerinde demir bulundurlar. NO bu enzimleri inhibe ederek mitokondriyal solunum zincirini durdururlar. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz enzimini, adenosin difosfat

ribolizasyon mekanizmasıyla veya peroksinitrit oluşumu mekanizmasıyla inhibe ederler. Glikolitik olan bu enzimin inhibisyonu hücrel enerji üretimini durdurur (106).

Karaciğerde Nitrik Oksit Sentazın (NOS) 3 izoformu bulunmaktadır. Bunların içinde uyarılabilen inflamatuvar NOS (iNOS, NOS-2) ve endotelial yapısal NOS (eNOS, NOS-3) en önemli olanlarıdır. iNOS, genellikle inflamatuvar mediatörlere yanıt olarak, hepatositler ve Kupffer hücreleri ve NL'ler gibi inflamatuvar hücrelerden eksprese edilir. eNOS, SEC içinde eksprese edilir, aktivitesi intrasellüler kalsiyum seviyelerine bağımlıdır (107).

O_2^- ve NO'nun peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturmak üzere birleştiğini ve peroksinitroz asitin ($ONOOH$) biyolojik olarak aktif hidroksil radikalinin ($OH^\cdot$) kaynağı olduğu gösterilmiştir. NO'nin toksik etkileri peroksinitrit üretimi ile bağlantılıdır. $ONOO^-$ 'nin mitokondri elektron transportunda oluşturduğu değişiklikler peroksinitritin sitotoksik etkisinin de aslını oluşturur. Peroksinitrit hücrede lipid peroksidasyonunun başlaması, doğrudan mitokondriyal solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu ve membran Na / K ATPaz aktivitesi inhibisyonu ile hasar verir (108, 109).

Reperfüzyonun erken safhalarında endotelin, hem plazma hem de karaciğer parankiminde artar. Bu karaciğere olan kan akımın azalması ile orantılıdır. Mikrodolaşımdaki bozukluğa oldukça güçlü bir vazokonstriktör olması nedeniyle de katkıda bulunur. Bunun yanı sıra reperfüzyondaki ilk birkaç saat NO miktarı düşüktür. Bunun nedeni iskeminin ardından hücre içi NADPH ve O_2 (ki bunlar NO sentez kofaktörleridir) düzeylerinin düşük olmasıdır. Bu sırada bol miktarda, L-arginin'i yıkan enzim olan arginaz salgılır. L-arginin, NO biyosentezinin aminoasit substratıdır (110).

Hepatik reperfüzyondan hemen sonra, greftten yüksek miktarda arginaz salgılır. Yeterli NOS uyarımı 4–6 saati bulur. Daha sonraki dönemlerde artmış endojen NO üretimi, koruyucu role sahip olmaktadır. İskemi reperfüzyon modeli uygulanan ratlara dışarıdan L-Arginin verilmesi IR hasarını azaltmış, L-NAME (NOS'un spesifik olmayan inhibitörü) verilmesi ise hücrel hasarı ve mikrodolaşımın bozulmasını şiddetlendirmiştir (110).

2.4.4. Serbest Radikaller ve İskemi reperfüzyon hasarı

Serbest Radikallerantioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Lipit, karbonhidrat, protein ve DNA gibi biyomolekülleri hedef alırlar (111).

2.4.4.1.Lipidlere Etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin (ÇDYA) oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır.

Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ve lipid peroksit radikallerinin (LOO⁻) oluşması, ROS' nin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "nonenzimatik lipid peroksidasyonu" denir. Oluşan lipid peroksil radikali bir başka ÇDYA ile reaksiyona girerek kendisi lipid hidroperoksite dönüşürken ürün olarak bir başka lipid radikali oluşur. Peroksil radikalleri zincir reaksiyonunu devam ettirir. Oluşan lipid hidroperoksit geçiş metallerinin katalizi ile yıkılıp çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. Lipid peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri Malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal 'dir. MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi yapılabilmektedir (112, 113).

2.4.4.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı ÇDYA 'den daha az hassastırlar. Aminoasit içeriklerine göre proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi değişir. Doymamış bağ ve kükürt bulunan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitler içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin ROS üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli

oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali (O_2^-) veya hidrojen peroksitle (H_2O_2) reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (114).

2.4.4.3. Karbonhidratlara Etkileri

Hidroksil radikali glukoz, mannitol ve deoksi şekerlerle doğrudan reaksiyona girer. Monosakkaritlerin oksidasyonu peroksitler, H_2O_2 ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve çapraz bağlar yapma özelliğinden dolayı hücrede zararlı etkilere yol açarlar (115).

2.4.4.4. DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerle nükleotidlerin etkileşmesi sonucu DNA zincirinde kırılma ve mutasyonlar oluşabilir. DNA hasarının büyüklüğü serbest radikallerin polimeraz enzimi ile reaksiyona girerek DNA'nın onarılmasını engellemesi ile ilişkilidir. Bu da hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanabilir. Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Hücre zarlarında bulunan ÇDYA' nin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (115).

2.5. Antioksidanlar ve etki mekanizmaları

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir. Oksijen radikalleri (süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali ve peroksi radikaller), hidrojen peroksit ve tekil oksijen gibi reaktif non-radikal oksijen türleri, karbon, nitrojen ve sülfür radikalleri gibi çeşitli reaktif moleküllerin hücresel ve çevresel oluşumu oksidatif strese yol açmaktadır.

Serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği etkilerin giderilmesi için vücut, savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidan savunma sistemi adı verilen savunma sistemi, fizyolojik veya çevresel olarak meydana getirilen serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmaktadır.

. Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (116).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar,

süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar serbest radikallere karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (116).

Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (116).

2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar:

2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD):



SOD, süperoksit anyon radikali (O_2^-)'nin, daha az reaktif olan H_2O_2 'e indirgenmesini katalize eder. Bir radikal üzerine direkt olarak hareket eden tek enzimdir. Hidrojen iyonu kullanır ve oksijen üretir. Toksik ve reaktif olan O_2^- 'ni süpürerek hücreleri korur. Kesin özgülüğe sahip olan bu enzim kofaktör olarak Cu, Zn, Mn ve Fe'i kullanır. İntrasellüler olarak Cu-Zn SOD olarak sitozol ve nükleusta yer alır. Mitokondriyal matriks ve nükleusta ise Mn-SOD olarak yer alır. SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksit'e çeviren, intrasellüler bir metalloenzimdir. (117).

SOD, "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılan tepkimeyi oluşturur. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altına alınmaktadır. Ancak H_2O_2 son ürün olarak fenton reaksiyonu ile OH radikali dönüşebilir. Bu nedenle SOD'dan sonra tepkime katalaz ya da glutatyon redüktaz ile devam etmelidir (116).

2.5.1.2.Katalaz :



H_2O_2 'i suya ve oksijene dönüştürerek süpüren bir diğer enzim katalazdır. Tetramerik

yapıda olan katalaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. En yüksek oranda karaciğer ve eritrositlerin peroksizomlarında lokalize olmuştur. Özellikle karaciğerde olmak üzere, kan, kemik iliği, böbrek ve müköz membranlarda da yüksek miktarda bulunmaktadır (116).

2.5.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px):

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), H_2O_2 ve lipid peroksitleri suya ve lipid alkollere etkili bir şekilde indirgeyen vepek çok hücrede sitozollerde bulunan tetramerik yapıda bir enzimdir ve sırasıyla glutasyonu glutasyon disülfite okside eder. Glutasyon, biyolojik olarak iki önemli yapıyı (tiyol grubu ve γ -glutamin bağı) bulundurur. Yapısındaki sisteinin tiyol grubundan ve yüksek konsantrasyonundan dolayı hücre içinde önemli bir antioksidan olan glutasyonun %99'dan fazlası indirgenmiş formda bulunur. Yapısında İndirgenmiş glutasyon birçok biyokimyasal yollar için indirgeyici eşdeğerleri sağlayarak vasküler hücrelerin hücre içi redoks halinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Yeterli GPx aktivitesi veya glutasyon seviyelerinin olmaması durumunda, hidrojen peroksit ve lipid peroksitler detoksize değildir ve sırasıyla geçiş metalleri (Fe^{2+}) ile OH $\cdot$ radikallerine ve lipid peroksil radikallerine dönüştürülebilir. GSH-Px / glutasyon sisteminin, düşük seviyeli oksidatif stresde önemli bir savunma olduğu düşünülmektedir (118).

Enzim aktivitesinin %60-75'i hücrelerin sitoplazmasında, %25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesi eritrositler ve hepatositlerde çok yüksektir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır (102).



Tepkime sonucunda oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktazın (GSSG-R) etkisi ile tekrar glutatyonla dönüştürülür. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını

sağlar (102).

Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (102).

2.5.2.Total Antioksidan Seviyesi (TAS):

Reaktif oksijen türleri (ROS), metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif mekanizmalar yoluyla onları uzaklaştıran organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir. Bazı koşullar altında oksidanların artışı ve antioksidanlardaki azalma önlenemez ve oksidatif veya antioksidan denge oksidatif duruma doğru kayar. Sonuç olarak, 100'den fazla bozuklukta temel rol oynayan oksidatif stres gelişir (119).

Farklı antioksidan moleküllerin ayrı olarak ölçülmesi pratik değildir ve antioksidan etkileri ilâve olduğundan, bir numunenin toplam antioksidan kapasitesi ölçülür ve buna total antioksidan kapasite denir. TAS'yi ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde, genellikle, deneyde bir tür radikal üretilir ve radikale karşı antioksidan aktivitesi ölçülür. En yaygın olarak kullanılan kolorimetrik yöntemler ABTS (3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat) molekülünün spektrofotometrik ölçümleri ile antioksidan numunenin bileşenleri tarafından temizlenmesine dayanır. Kontrol antioksidanı, hidrofilik vitamin E analogu olan Trolox'dur (120).

Plazmadaki antioksidan moleküllertotal antioksidan kapasiteye en büyük katkıyı sunar. Plazmada bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır (121).

Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutasyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır (119, 121).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu

maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatında tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (119, 121).

2.5.3.Total Oksidan Seviye (TOS)

Bilinen pek çok metodla serum ya da plazmadaki oksidan moleküllerin konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Oksidan stresin arttığı durumlarda artan bu moleküllerin oksidan etkileri birbiri üzerine eklenebilir. Ayrıca tek tek ölçümden ziyade total ölçümün daha pratik olacağı düşünülerek tüm oksidanların durumunu yansıtabilecek bir yöntem geliştirilmiştir. Bu metodla in vitro TOS ölçümü yapılabilmektedir (122).

2.5.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total oksidanların, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSI'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir.

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi (OSI)} = \frac{\text{Total Oksidatif Stres (TOS)}}{\text{Total Antioksidan Seviye (TAS)}}$$

2.6. Magnezyum Farmakokinetiği

Magnezyum vücutta en sık bulunan dördüncü, intrasellüler alanda en sık bulunan ikinci katyondur (123). Magnezyumun absorpsiyonu esas olarak ince barsaklarda olur. Absorpsiyon ya aktif transport ya da sadece yüksek konsantrasyon durumunda difüzyonla gerçekleşir. Enteral absorpsiyondan sonra serumda yarılanma ömrü 4-5 saattir. İntravenöz uygulamadan sonra plazma yarılanma ömrü 5 –10 dakika olarak bildirilmiştir. Magnezyum atılımı büyük oranda böbreklerden olur. Safra yolu ve ter bezleri ile atılım oranı azdır. Total vücut magnezyumunun %1'inden daha azı serum ve eritrositlerde bulunur. %53'ü kemiklerde, %27'si kasların intrasellüler komponentlerinde ve %19 kadarı da yumuşak dokulardadır.

Serum magnezyumu total vücut magnezyumunun yaklaşık %0,3'ünü içerir ve üç farklı durumda bulunabilir. %62'si iyonize, %33'ü proteine; özellikle albumine bağlı ve %5'i sitrat ve fosfat gibi anyonlarla kompleks haldedir (124).

Magnezyum hemoostazisinin hormonal regülasyonu net değildir. Magnezyum metabolizmasının regülasyonundan paratiroid hormon (PTH), kalsitonin, D vitamini, insülin, glukagon, epinefrin, antidiüretik hormon (ADH), aldosteron ve seks hormonlara etkilidir. PTH ve D vitamini intestinal absorpsiyonu artırır. PTH renal reabsorpsiyonu ve kemiğe geri alımı kolaylaştırır. İnsülin magnezyumun sellüler alımını artırır, glukagon renal reabsorpsiyona yardım eder (125). Klinik çalışmalar vücuttaki magnezyum miktarının yaş ile değiştiğini göstermiştir. Dokulardaki magnezyum oranı bebeklikten erişkin döneme geçişte iki katına çıkmaktadır. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) günlük magnezyum ihtiyacını 300 mg olarak belirlemiştir. Bu ihtiyaç hamilelik, emzirme ve şiddetli stres altındaki kişilerde artmaktadır(124). Referans Değerler: Serumda Erişkinlerde: 1,8 -2,6 mg/dl, Çocuklarda: 1,7 – 2,1 mg/dl, Yenidoğanlarda: 1,5 – 2,2 mg/dl.

2.6.1. Magnezyum Farmakodinamiği

Magnezyumun hücresel fizyolojik özelliklerinin başında enerji metabolizması ve nükleik asit sentezini de içeren 300'den fazla enzimatik reaksiyonda kofaktör olarak önemli rol oynaması gelir (124). Membran ve membran pompasındaki hareketi magnezyum membran Ca^{2+} ATP'az ve Na^+-K^+ ATP'azın aktivasyonuna katılarak depolarizasyon ve repolarizasyon fazlarında transmembranal iyon değişimine katılarak sağlar. Magnezyum eksikliği ATP'az pompasının aktivitesinin bozulmasına neden olarak intrasellüler ATP'nin azalmasını ve hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} 'un yükselmesini ve K^+ 'unda düşmesini sağlar. İntrastoplazmik organellerde ve hücre membranında stabilizasyonda rol alır. İyon kanallarındaki rolü farklı iyon kanallarında düzenleyici olmasıdır. Düşük intrasellüler magnezyum konsantrasyonları potasyumun hücreyi terketmesine izin verip, kondüksiyon ve hücresel metabolizmayı değiştirir. Magnezyum ayrıca sarkoplazmik retikulum ve potansiyel 'L tipi' Ca^{2+} kanallarını etkiler. Kompetitif antagonist hareket Ca^{2+} çıkışına karşı gerçekleşir. Sarkoplazmik kanala dayalı Ca^{2+} aktivasyonunu inhibe ederek Ca^{2+} un sarkoplazmik kanaldan kaçmasını engeller. Burası, Ca^{2+} 'un esas intrasellüler depo yeridir. Magnezyum, kalsiyum kanal blokeri olup, Ca^{2+} kanal aktivitesini düzenler ve modüle

eder. Bu özellikleri hipomagnezemi sırasında hücre içi Ca^{2+} 'unda belirlenen yükselmeyi açıklar. Enzimatik aktivasyon için hücre içi serbest magnezyum fosforilasyon ve adenosin trifosfat (ATP)'yi içeren yüzlerce enzimatik reaksiyonda gerekli bir mineraldir. Hücre içindeki inorganik fosfat ve ATP serbest magnezyumu azaltır, ATP'nin adenosin difosfat (ADP)'ye dönüşmesini ise artırır. Aslında magnezyum ATP'nin dıştaki iki fosfat grubuyla etkileşip, enzimatik substrat oluşturur. Hücre içi magnezyum eksikliği, yüksek enerjili fosfat bağlarını ve glukoz metabolizmasını ilgilendiren pek çok enzimin fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Magnezyumun NMDA(N-Metil-D-Aspartat) reseptörleri üzerindeki inhibitör etkisi ve vazodilatatör prostoglandinlerin üretimini arttırması serebral vazodilatasyon sağlar ve bu şekilde hastalarda antikonvülzan etkinlik gelişir (125, 126).

2.6.2. Magnezyumun Sistemler Üzerindeki Etkileri

Magnezyumun Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

Magnezyumun sinir sistemi iletiminde önemli rol oynadığı; bunu da esas olarak N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerindeki voltaja bağımlı kapılarda antagonist etki ile yaptığı düşünülmektedir. Son zamanlarda NMDA reseptör antagonizmasının, santral sinir sistemini iskemik hasardan koruduğu üzerinde durulmaktadır. Düşük serum Mg^{2+} değerleri migren, depresyon ve epilepsi gibi nörolojik hastalıklarla ilişkilidir. Nöronal Mg^{2+} konsantrasyonları, NMDA reseptörü eksitabilitesinin düzenlenmesinde büyük önem taşımaktadır. NMDA reseptörleri eksitator sinaptik iletim ve nöronal plastisite için gereklidir ve bu nedenle gelişimsel plastisite, öğrenme ve hafızada önemli bir rol oynamaktadır (127). İnhibitör nörotransmitter GABA da Mg^{2+} ile regüle edilir. Ekstraselüler Mg^{2+} , hiperpolarize nöronal hücrelerde oluşan GABA A reseptörlerini uyarır. Santral sinir sistemindeki Mg^{2+} konsantrasyonları düşük olduğunda, GABA A reseptörleri daha az uyarılır (128). Travmatik beyin hasarı (TBI) ve spinal kord yaralanması (SKY) olan hastalarda Mg^{2+} eksikliği düzenli olarak bulunur. Azalmış BOS Mg^{2+} seviyeleri hem TBI şiddetine katkıda bulunan oksidatif stres (ROS, NO) ve lipid peroksidasyonunu artırır (126). Hayvan deneylerinde, Mg^{2+} algılayıcı fonksiyonun yanı sıra sensorimotor/motor işlevini geliştirdiği görülmüştür (129). Birçok hayvan çalışmasında, iskemik hasarın, hasarlanmaya yakın zamanda verilen magnezyum ile azaldığı gösterilmiştir (130). Şüpheli inmede 12 saat içinde $MgSO_4$ verilmesi ile

belirgin bir yarar izlenmemiştir. Benzer olarak $MgSO_4$ tedavisinin kardiyak arrest sonrası nörolojik sonuçlar ve yaşam süresini değiştirmediği gösterilmiştir. Son çalışmalarda NMDA reseptör antagonistlerinin postoperatif ağrı tedavisinde rolü olduğu, NMDA reseptör antagonizmasının nosiseptif uyarı sonrası santral sensitizasyonu inhibe ettiği üzerinde durulmaktadır (125).

Magnezyumun Periferik Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

Kalsiyum ve magnezyumun kaslar üzerinde zıt etkisi vardır. Hipomagnezemi kontraksiyonu stimüle ederken, hipokalsemi relaksasyonu indükler. Magnezyum nöromusküler bileşkede presinaptik alanda kalsiyumun girişini bloke eder ve postsinaptik alanda asetilkolinin etkisini azaltır. Magnezyum primer olarak periferik sinirlerde sinaptik alanda nörotransmitterlerin salınımını etkiler; böylece lokal anestetiklerin etkisini potansiyelize ettiği düşünülmektedir (131, 132).

Motor Son Plak

Magnezyumun 2,5 mmol/L'den yüksek seviyelerinde doza bağlı olarak periferik sinir sisteminde nörotransmitter salınımının presinaptik inhibisyonu gelişir. Bu etkinlik presinaptik uçta membran kanallarında Ca^{2+} ile yarışmasına bağlıdır. Nöromusküler kavşakta magnezyumun 5 mmol/L ve üzerinde olması ile önemli derecede presinaptik nöromusküler blokaj ortaya çıkar. Sonuçta, magnezyum nondepolarizan kas gevşeticilerin etkisini arttırmaktadır ve 'Lambert-Eaton Sendromu' ya da 'Myastenia Gravis' gibi hastalıklarda ağır kas güçsüzlüğünün gelişimine neden olabilmektedir. Bununla beraber magnezyum nondepolarizan kas gevşeticilerin etki başlama sürelerinde belirgin bir azalmaya neden olmamaktadır. Magnezyum ve depolarizan kas gevşeticiler arasındaki etkileşim ise daha az nettir. $MgSO_4$ ile tedavi edilen hastalarda fasikülasyon gelişmemiş ve genellikle magnezyum nondepolarizan grupta olduğu gibi depolarizan kas gevşeticilerin de aktivitesinin artmasına neden olmuştur. Magnezyum ile uzun süreli tedavi görenlerde süksinilkolin blokajında artma izlenebilmekle beraber, akut hipermağnezemi durumlarında aynı durum söz konusu değildir. Preeklampatik hastalarda kolinesteraz seviyelerinde azalma, süksinilkolin aktivitesinin artmasına yol açabilir ancak magnezyumun, bu fenomen üzerinde etkisi bulunmamaktadır. Magnezyum, süksinilkoline bağlı kas ağrılarının insidansında ve ağırlığında azalma sağlayabilir (131, 133).

Otonom Sinir Uçları

Magnezyumun vagal sinir uç ve otonomik ganglionlardaki etkileri tam bilinmemektedir. Magnezyum konsantrasyonu 2.5 mmol/L nin üzerine çıktığında adrenerjik sinir uçlarından ve adrenal medulladan katekolaminlerin salınımında progresif bir inhibisyon ortaya çıkar. Daha yüksek seviyelerde de ganglionik blokaj gelişir (131).

Magnezyumun Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Kalp ve damar sistemi işlevinde Mg^{2+} 'nin önemli bir rolü hayvan ve insan çalışmalarında bildirilen önemli bir vazodilatatör etkidir. Hayvan çalışmalarından elde edilen sonuçlar, Mg^{2+} ile indüklenen vazodilatasyonun NO sentezinin düzenlenmesinden kaynaklanmasına rağmen insan faaliyeti NO aktivitesinden bağımsız olarak gösteriyor (134, 135). Dahası, Mg^{2+} eksikliği, endotel hücrelerinde özellikle oksidatif strese neden olur ve reaktif oksijen türlerinde (ROS) artışa ve sitotoksositeye neden olur (136). Miyokardiyal aksiyon potansiyelinin 2. ve 3. evrelerinde esas olarak önemlidir, bu etki K ve Ca^{2+} kanallarına etki eder. Faz2'de, Mg^{2+} Ca^{2+} aşırı yüklenmesini ve hücre toksisitesini önlemek için L-tipi Ca^{2+} kanallarını inhibe eder (137).

Hücredeki yüksek Mg^{2+} eNOS aktivitesini artırır ve vazokonstriktör endotelin-1'in sentezini azaltır. Düşük Mg^{2+} ile indüklenen oksidatif stres koşullarında, endotel NFkB aktivitesinin artmasıyla belirginleşen sürekli bir inflamasyon hali geliştirir. NFkB, IL-1 de dahil olmak üzere sitokinler ve proinflamatuvar transkripsiyonunun ana regülatörüdür. Bu inflamanın bir sonucu olarak, damar duvarları monositleri ve vasküler düz kas hücrelerinde çoğalmasını ve taşınmasını sağlar. Bu işlemler düşük Mg^{2+} koşullarında matris metalloproteaz 2 ve 9'un artan ekspresyonu ile kolaylaştırılır. Sonuç olarak düşük Mg^{2+} konsantrasyonları bu nedenle ateroskleroz, vasküler bulgular veya tromboz ile sonuçlanabilir (126). Magnezyum, Ca^{2+} antagonizması ile myokardiyal kasılma gücünün azalmasına neden olur. İzole edilmiş kalplerde ekstraselüler magnezyumun artması kasılma gücünde azalmaya neden olurken; hayvan ve insanlarda hipermagnezemi ve kardiyak depresyonun kliniği arasındaki ilişki daha az nettir. İzole kalplerde, magnezyum bradikardiye sebep olur. Bununla beraber, 'invivo' ortamda magnezyum ile vagal asetilkolin salınımının inhibisyonu ile sıklıkla hafif bir taşikardi ortaya çıkabilir. Magnezyum

antiaritmik ajanlara dirençli ventriküler aritmileri içeren ciddi aritmilerde etkilidir. Magnezyum adrenalin uygulanması ile ilişkili aritmilerin kontrolünde propranolol ile eşdeğer, verapamilden ise daha güçlü etkilidir. Bupivakaine bağlı gelişen aritmilerde de etkili olabilmektedir (131).

Magnezyumun Solunum Sistemi Üzerine Etkileri

Akciğer fonksiyonundaki Mg^{2+} rolü üç seviyede açıklanabilir: 1) Mg^{2+} güçlü bir vazodilatör ve bronkodilatör etkiye sahiptir; 2) Mg^{2+} asetilkolin (ACh) ve histamin salınımını düzenler; ve 3) Mg^{2+} anti-inhalatör ajan olarak görev yapar (126). Astımlılarda magnezyumun bronkodilatör etki mekanizması muhtemelen birden fazla farklı mekanizma ile olmaktadır. Bunlar; magnezyum iyonunun düz kas kasılmalarında inhibitör bir etkiye sahip olması mast hücrelerinden histamin salınması ve kolinerjik sinir uçlarından asetilkolin salınmasına aracılık eder (138, 139). Mg^{2+} , kronik obstrüktif akciğer bozukluğu (KOAH) ve kistik fibroz gibi çeşitli akciğer hastalıklarının altında yatan hava yolu inflamasyonunu azaltabilir (140). Magnezyum hücresel seviyede kalsiyum iyon transportunun düzenlenmesiyle in vitro bronş düz kaslarında gevşemeye sebep olmuştur. Bir diğer çalışmada kalsiyum kanal blokerlerinin egzersizde bronkokonstriktör cevabı körelttiği gözlenmiştir (139). Histamin, metakolin ve magnezyumun etkisinde kalsiyum kanal blokörleriyle benzer olduğu saptanmıştır (141). Magnezyum aynı zamanda solunum kaslarının fonksiyonunu da etkilemektedir. Düşük magnezyum konsantrasyonunda solunum kaslarının gücü azalırken, magnezyum verilmesiyle solunum kaslarının gücünün artabileceği görülmüştür (142). Bazı yayınlarda da prostaglandin ve izoprenaline bağlı damar düz kas gevşemelerinin magnezyum aracılı olabileceği ifade edilmektedir (142).

2.6.2.5. Magnezyumun Genitoüriner Sistem Üzerine Etkileri

Magnezyumun gestasyonel proteinürik hipertansiyon tedavisindeki rolü iyi bilinir. Ayrıca güçlü bir tokolitik ajandır ve prematür doğumun tedavisinde kullanılmaktadır. Böbreklerde vazodilatör etkilidir ve diüretik etkinliği mevcut olmakla beraber bu amaçlarla klinikte kullanılmamaktadır (131).

Magnezyumun İskelet Kas Sistemi Üzerine Etkileri

Magnezyum majör etkisini motor son plakta gösterir, bununla beraber kasın kendisinde minör kalsiyum antagonist özellikler ortaya çıkar. Malign hiperterminin

tedavisinde bir miktar faydası olabilse de bu etkisi azdır ve klinik olarak büyük bir anlamı yoktur (131).

Magnezyumun Pıhtılaşma Mekanizması Üzerine Etkileri

Magnezyum trombosit adezyonu, agregasyonu ve tromboksan salınımını azaltır. Vasküler endotelde antiagregan etki gösterir. Trombin oluşumunu geciktirir ve pıhtılaşma zamanını uzatır. Normalin üzerindeki (3- 4 mmol/L üzerinde) magnezyum konsantrasyonlarının trombosit agregasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda serum düzeyi 3 mmol/L ise tromboelastograma yansıyan bir etkinin olmadığı, 3-7 mmol/L arası minimal bir etki görüldüğü, 7 mmol/L üzerinde ise kanama diyatezine yol açabileceği gösterilmiştir (143).

2.6.3. Magnezyum Uygulama Endikasyonları

Magnezyumun laksatif ve antiasit tedaviden organ transplantasyonunda sitoprotektif etkiye kadar pek çok yararlılığı teorik olarak mevcuttur. Magnezyumun obstetri ve kardiyolojide yararlılığının ispatlanmış olması bu alanlarda daha çok kullanımına yol açmıştır (125). Feokromasitoma cerrahisi esnasındaki hipertansiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olması, antiaritmik ve antiagregan özelliğinin olması, reperfüzyon hasarını önleyici etkisinin olması, bronkodilatör etkiye sahip olması, anestezi ve analjezik ilaçların kullanımında azalma yapması gibi nedenlerle son yıllarda anestezi ve yoğun bakımda kullanımı dikkati çekmektedir (144).

2.6.4. Magnezyumun Anestezide Kullanımı

Magnezyum son yıllarda anestezi uygulamalarında da dikkat çeken bir ajandır. Geçen yüzyılın başlarında magnezyumun santral sinir sistemindeki depresan özelliği dikkate alınarak genel anestezi etkinliğinin olabileceği gündeme gelmiştir (123). Çeşitli çalışmalarda anestezi idamesine $MgSO_4$ ' ın eklenmesi ile anestezi ilaçların potansiyelize olduğu ve kullanılan anestezi madde miktarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (145). $MgSO_4$ 'ın önemli etkisi motor sinir ucundan asetilkolin salınımını önleyerek nöromusküler ilaçların etkisini potansiyelize etmesidir (146). İndüksiyonda $MgSO_4$ uygulanmasının endotrakeal entübasyona karşı gelişen taşikardi ve hipertansiyonda hemodinamik kontrol amacıyla uygulanmakta olup adrenal medulladan katekolamin salınımını olumlu yönde

etkilediği düşünülmektedir (131). Ayrıca feokromasitoma cerrahisi esnasındaki hipertansiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olması, antiaritmik ve antiagregan özelliğinin olması, reperfüzyon hasarını önleyici etkisinin olması, bronkodilatör etkiye sahip olması, anestezi ve analjezik ilaçların kullanımında azalma yapması gibi nedenlerle son yıllarda anestezi ve yoğun bakımda kullanımı dikkati çekmektedir (144).

Obstetrik Anestezide Kullanımı:

Preeklampside ve eklampside magnezyumun tokolitik, antikonvülzan ve hipotansif özelliklerinden faydalanılır. Bu vakalarda nöromusküler monitorizasyon yapılmalıdır. Magnezyum kullanan preeklampitik hastalarda süksinilkolin ile blok süresinde uzama gelişebilir, ancak bu durum kolinesteraz azalması ile de ilişkili olabileceği için net olarak tanımlanamamaktadır (131).

Feokromositoma Cerrahisi:

Magnezyumun katekolamin salınımını inhibe etmesi, antiadrenerjik aktivitesi feokromositoma cerrahisinde giderek daha fazla kullanımına yol açmaktadır. Magnezyum özellikle katekolaminlerin indirekt olarak salgılandığı anestezi indüksiyonu, entübasyon, cerrahi stimülasyon gibi durumlarda etkili, tümör rezeksiyonunda tümörden katekolamin salgılanmasına daha az etkilidir (131).

Kardiyovasküler Anestezi:

Kardiyak cerrahi sonrasında hipomagnezemi oranı yüksektir ve düşük serum magnezyum seviyeleri artmış atriyal fibrilasyon ile ilişkilidir. Magnezyumun membranlar üzerindeki stabilizan etkisi kardiyak ritm bozukluklarında kullanılabilirliğini sağlar. En önemli endikasyonu torsades de pointes'tir. Fakat digital toksisitesine bağlı ventriküler aritmilerde de endikedir. Kritik hastalarda magnezyum, akut atriyal taşiaritmilerde amiodarondan daha etkilidir (125). Magnezyum fazla miktarda Ca^{2+} 'un hücreye girişini inhibe ederek negatif kronotropik etki ile sinus frekansını azaltarak kalp atım hızını düşürür. Magnezyum, kalp yükünü ve kardiyak oksijen tüketiminin azalmasını periferik dirençte azalma ve sinus frekansında azalma ile sağlarken, oksijen sunumunu artırır (koroner dilatasyon). Magnezyum, sinus düğümünün ritmik refrakter periyodunun uzamasına neden olarak ritmik uyarıları inhibe eder. Ayrıca atriyoventriküler ileti zamanını uzatır. Dijital kullanımında hipomagnezemi sık izlenir (146). Magnezyum, kardiyak

operasyonlarda uzun yıllardır kardiyoplejik solüsyonların komponenti içinde yer almaktadır ve özellikle reperfüzyon sırasında iskemik myokardiyumu koruduğu düşünülmektedir. Magnezyumun vazodilatör ve antiaritmik özellikleri ile majör vasküler operasyonlarda aortaya kros-klemp konulduğu sırada kullanılabilirliği düşünülmektedir. Ayrıca iskemi sonrası normal dokularda patolojik olaylara aracılık eden NMDA reseptörlerini antagonize ederek suparenal aortik anevrizmaların onarımı sırasında spinal kordu koruyucu etki gösterebilir (131).

Yoğun Bakım:

Kardiyak aritmiler, solunum yetmezliği, neonatal pulmoner hipertansiyon ve tetanoz tedavisinde yeri bulunmaktadır (124). Magnezyum insülin için ikincil haberci gibi fonksiyon gördüğünden serum magnezyum konsantrasyonunun azaldığı durumlarda insülin rezistansı artar. Tetanozda kardiyovasküler instabilitiyi azaltmak ve katekolamin salınımını inhibe etmek amacıyla yüksek doz $MgSO_4$ infüzyonu önerilmektedir. Ancak tek başına yetersiz kaldığında sedasyon ile birlikte uygulanmalıdır (144).

Perioperatif Analjezi:

Postoperatif analjezi amaçlı magnezyum adjuvan olarak kullanılmaktadır (132). Analjezik etkinin temeli magnezyum tarafından Ca^{2+} kanallarının bloke edilmesi ve NMDA reseptörlerinin inhibisyonu ile olmaktadır. Kalsiyum kanal blokerlerinin hayvanlarda antinosiseptif etkileri olduğu bilinmektedir. NMDA reseptör antagonistleri de periferik nosiseptif stimülasyona bağlı santral sensitizasyonun indüksiyonunu önleyebilir. Magnezyum opioid türü analjeziklerin kullanımlarını ve yan etkilerini azaltmaktadır (125). Ayrıca değişik cerrahi, medikal ve kronik ağrılı durumlarda, ağrının şiddeti ile magnezyum konsantrasyonu arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir (147). Yapılan çalışmalarda magnezyumun indüksiyon öncesi 30-60 mg/kg dozlarında bolus ve intraoperatif dönemde 8-20 mg/kg/saat dozlarında infüzyon şeklinde verilmesi ile daha iyi bir hemodinamik stabilite sağladığı, perioperatif dönemde anestezi, analjezik ve nöromusküler bloker ihtiyacını azalttığı ve daha konforlu bir derlenme dönemi sağladığı gösterilmiştir (146).

2.6.4.Magnezyumun anti-inflamatuvar etkisi

Magnezyum, doğal bir kalsiyum antagonisti ve güçlü bir L-tipi kalsiyum

kanalı inhibitörüdür (11). Dahası, $MgSO_4$ 'ün belirli anti-inflamatuvar kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin, endotoksin verilmesinden sonra inflamatuvar sitokinlerin üretimi, magnezyum eksikliği diyeti ile beslenen sıçanlarda önemli derecede artmıştır (148). $MgSO_4$, aynı zamanda, endotoksin ile tedavi edilen hücrelerdeki inflamatuvar yanıtları bastırmıştır (149). Ek olarak, $MgSO_4$ 'ün NF- κ B aktivasyonu bastırdığı bildirilmiştir. $MgSO_4$ 'ün in vitro endotel hücresi aktivasyonunu inhibe ettiği ve $MgSO_4$ 'ün nükleer faktör kappa B'nin (NF κ B) nükleer translokasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (149). NF κ B, IL-1 de dahil olmak üzere sitokinler ve proinflamatuvar transkripsiyonunun ana regülatörüdür. Düşük Mg^{2+} ile indüklenen oksidatif stres koşullarında, endotel NF κ B aktivitesinin artmasıyla belirginleşen sürekli bir inflamasyon hali geliştirir (126).

Magnezyum doğal bir kalsiyum nantagonisti olarak hareket ettiği için, hücre dışı magnezyum miktarının azalması, hücre içi kalsiyumun artmasına ve hücre dışı magnezyumdaki bir artışın zıt etkiye sahip olmasının olasılığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle, magnezyumun hücre dışı konsantrasyonunun arttırılması yararlı anti-inflamatuvar etkiye sahip olabilirken, hücre dışı magnezyum konsantrasyonundaki bir azalma ile fagositik hücre aktivasyonuna katılabilir (150).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Deney; Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi (AİBÜ) Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulundan alınan izin ile gerçekleştirildi. Çalışmamız 32 adet erişkin dişi Wistar-Albino rat (250–350 gr) kullanılarak AİBÜ Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları, çalışma başlangıcına kadar adaptasyonlarının sağlanması için 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık ortamda tutulmuş, standart yiyecek ve suyla beslenmişlerdir. Cerrahi işlemden önceki 12 saat boyunca sadece su içmelerine izin verilmiştir.

Ratların hepsinin ağırlığı hassas tartı ile tespit edildi ve kullanılacak ilaçlar ağırlıklarına göre hazırlandı. Anestezi, intraperitoneal 90 mg/kg vücut ağırlığına ketamin (Ketalar®, Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg xylazine hidrokloride (Alfazine®, % 2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) ile sağlandı, gerektiğinde dozlar tekrarlandı. İlaç enjeksiyonundan 15 dakika sonra karın ön duvarındaki tüyler traş edildi. Ratlar 4 gruba ayrılarak incelendi:

Grup 1 (kontrol grubu (K) n=8):

Laparotomi sonrası hepatik pedikül görüldükten sonra müdahale yapılmadan Grup 3 ve 4 süresi kadar (140 dk) anestezi altında bekletildi.

Grup 2 (Magnezyum (M) grubu n=8)

Anestezi sonrası 200 mg/kg magnezyum sülfat intraperitoneal uygulandı. 20 dakika beklendikten sonra batın açıldı. Laparotomi sonrası hepatik pedikül görüldükten sonra müdahale yapılmadan Grup 3 ve 4 süresi kadar (140 dk) anestezi altında bekletildi.

Grup 3 (İskemi-reperfüzyon (IR) n=8):

Anestezi sonrası 20 dakika beklendikten sonra batın açıldı. Laparotomi sonrasında karaciğere 60 dakika total iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon uygulandı.

Grup 4 (İskemi-reperfüzyon+magnezyum grubu (IR+M) n=8):

Anestezi sonrası 200 mg/kg magnezyum sülfat intraperitoneal uygulandı. 20 dakika beklendikten sonra batın açıldı. Laparotomi sonrasında karaciğere 60 dakika iskemi sonrası 60 dakika reperfüzyon uygulandı.

Deney grupları ve Protokol

Magnezyum gruplarına batın açılmadan 20 dakika önce 200 mg/kg

magnezyum sülfat intraperitoneal uygulandı. Orta hattan yaklaşık 3-4 cm'lik insizyon ile laparotomi yapıldı. Karın içindeki organlar görünür hale geldikten sonra, kontrol grubu ve magnezyum grubu dışındaki gruplarda portal ven ve hepatik arter eksplere edilerek atravmatik vasküler klemp ile karaciğere giden kan akımı kesildi. Atravmatik vasküler klemp yardımı ile 60 dakika iskemi uygulandı. Yeterli oklüzyon hepatik arterde pulsasyon olmaması ve dokunun soluklaşması ile doğrulandı. 60 dakika sonunda klempler alındı ve iskemi sonlandırıldı. 60 dakika reperfüzyon sağlandı. Daha sonra ratın sağ atriyumundan intrakardiyak kan örneği alındı Kan örnekleri ile aspartataminotransferaz (AST) ve alaninamino transferaz, protrombin zamanı (PT,INR) troponin I, total antioksidan kapasite (TAS), total oksidan kapasite (TOS) çalışılması için santrifüj edildi. Karaciğer çıkarılarak histopatolojik inceleme için örnek alındı. Hemotoksilen eozin boyası ile boyandı ve karaciğer hasar skoru değerlendirildi.

Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Kan alımını takiben serum örneği, kan pıhtılaştıktan sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüje edilmesiyle elde edildi. Serum örnekleri ölçümler yapılana kadar - 20 C°'de saklandı. Serum AST, ALT, troponin ve INR seviyeleri, AİBÜ Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda ölçüldü ve değerler ALT ,AST U/L; Troponin pg/ml olarak AİBÜ Architect C8000 ile çalışıldı. INR AİBÜ KOAG SYMEX ile ölçüldü.

Total Oksidan Status (TOS) analizi

Total Oksidan Status analizi için, Total Oksidan Status kiti (Rel Assay Diagnostics) ve Olympus AU 400 biyokimya oto analizörü kullanıldı. Birimi $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. / L dir.

Total Antioksidan Status (TAS) analizi

Total Antioksidan Status analizi için, Total antioksidan ticari kiti (Rel Assay) ve Olympus AU 400 biyokimya otoanalizörü kullanıldı. Birimi Trolox equivalent/L dir.

OSI (Oksidatif stres indeksi) hesaplanması:

Organizmadaki oksidan/antioksidan dengesi gösteren değer hesaplanırken numunelerin total oksidatif stres değerleri yüzde cinsinden total antioksidan status değerlerine oranlandı ve OSI değeri elde edildi. $OSI = 100 * TOS (\mu\text{mol/ L H}_2\text{O}_2)$

/ TAS ($\mu\text{Mol/L}$ Trolox) hesaplandı.

Karaciğer Hücre Histolojisinin Değerlendirilmesi

Histomorfolojik İncelemeler

Karaciğer dokusu ışık mikroskopik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edilip 24 saat bekletildi. Doku takip serilerinden geçirilmesi için trimleme yapılarak kasetlendikten sonra fiksatifin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon için sırasıyla %70, %80 %96'lık ve %100 lük etil alkol serilerinde birer saat tutuldu. Şeffaflaştırma amacıyla birer saat iki farklı ksilene tabi tutulduktan sonra 2-3'er saatlik süre de 2 kez parafin ile immersiyonu sağlandı. Daha sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile $4\mu\text{m}$ 'lik (Feather S35) parafin kesitler alındı.

Hematoksilen-Eozin Boyaması

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 45 dk. 60°C 'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 20 dk. (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için 2 değişim absolü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirdi, kesitler distle su ile çalkalandıktan sonra 5 dk. Hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dk akarsuda yıkanan kesitler, 2 dk. Eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri Absolü alkol serilerinden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dk üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

HE ile boyanan karaciğer doku örnekleri hepatosit hasarı yönünden ışık mikroskobu ile 40x objektiflerle en az 10 alan incelendi. Hücre histolojisindeki değişimler yönünden ışık mikroskobunda değerlendirildi. Dokular skorlama tablosundan yararlanılarak sitoplazmik vakuolizasyon, sinozoidal dilatasyon ve hücre nekrozu yönünden her biri 0-4 arası puanlama yapıldı (26). Skorlama tüm gruplarda sekiz örnek üzerinden yapıldı.

Tablo 3.1.Karaciğer histopatolojik hasar skorlaması

Karaciğer hasarı histopatolojik göstergesi	Puanlama	Puanlamanın Yorumlanması
Sitoplazmik vakuolizasyon	0	Yok
	1	Nadiren
	2	Bazı lobüllerde
	3	Pek çok lobülde
	4	Yaygın
Sinusoidal dilatasyon	0	Yok
	1	Nadiren
	2	Sık-perivenüler
	3	Sık-perivenüler midzonal
	4	Yaygın panlobüle
Hücre nekrozu	0	Yok
	1	1-2 apopitotik hücre
	2	>3 apopitotik hücre
	3	1-2 fokal nekroz alanı
	4	>3 fokal nekroz alanı

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için Statistical Package of Social Sciences 24(SPSS 24.0,Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Verilerin normallik testleri Shapiro-Wilks analizi ile yapıldı. ALT, OSİ normal dağılımı olduğundan One Way Anova testi uygulandı. Diğer verilerin analizinde Kruskal-Wallis varyans analizi uygulandı. Grupların ikili karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanılarak tüm veriler ortalama $\pm$ standart sapma (ort $\pm$ ss) olarak gösterildi. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları

Grupların birbirlerine göre istatistiksel olarak p değerleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Gruplar arası p değerleri,

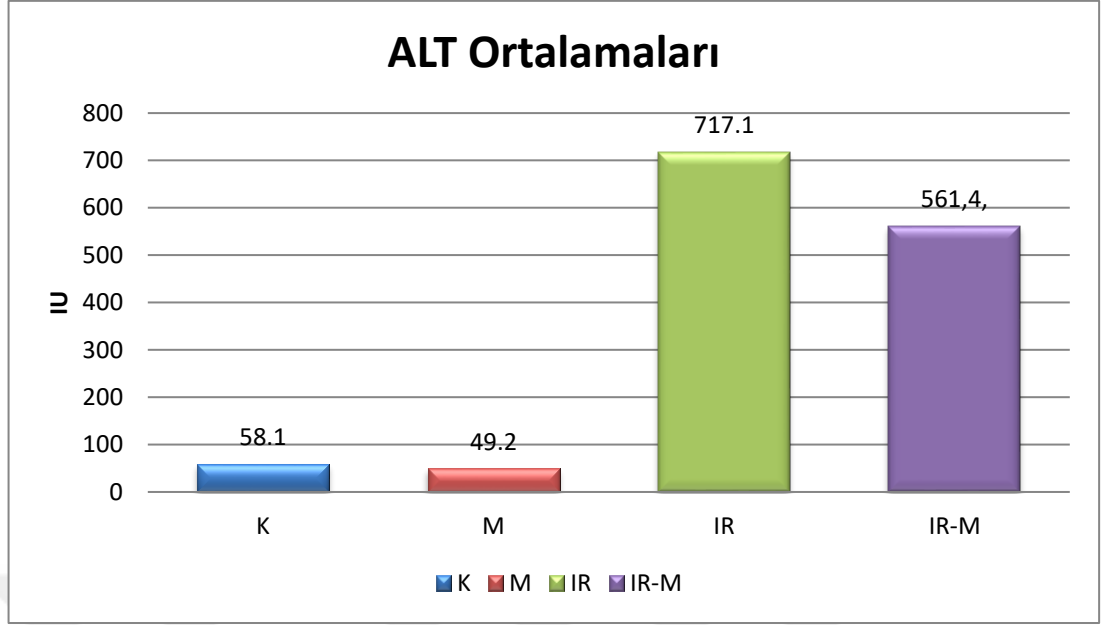
	ALT	AST	TROPONİN	INR	TAS	TOS	OSİ
K-M	0,306	0,250	0,749	0,248	0,142	0,949	0,949
K – IR	0,002	0,002	0,003	0,003	0,002	0,002	0,003
K – IR+M	0,002	0,002	0,009	0,063	0,085	0,002	0,002
M – IR	0,002	0,002	0,003	0,004	0,009	0,004	0,004
M – IR+M	0,002	0,002	0,013	0,245	0,338	0,009	0,006
IR – IR+M	0,406	0,035*	0,064	0,009*	0,259	0,565	0,565

K: kontrol M: magnezyum IR: iskemi- reperfüzyon IR+M: iskemi reperfüzyon ve magnezyum
*:IR+M grubunun IR grubuna göre p<0,05

K ve M grupları iskemi reperfüzyon uygulanmadığı için IR ve IR+M gruplarıyla birebir karşılaştırıldığında anlamlı fark çıkması beklediğimiz bir tablodur. K ve M deney gruplarının uygun şekilde yapıldığını da göstermektedir. IR+M grubunu IR grubuna göre karşılaştırdığımızda AST ve INR biokimya değerlerinde anlamlı fark görülmüştür.

Ortalama ALT Değerleri

Ortalama serum ALT düzeyleri K grubunda 58,1±13,3 IU, M grubunda 49.2 ±12,7 IU, IR grubunda 717,1±344,9 IU, Grup IR+M de 561,4±307,1 IU olarak ölçüldü. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı(p>0,05). Hesaplanan istatistiki değer p;0,406’dır.



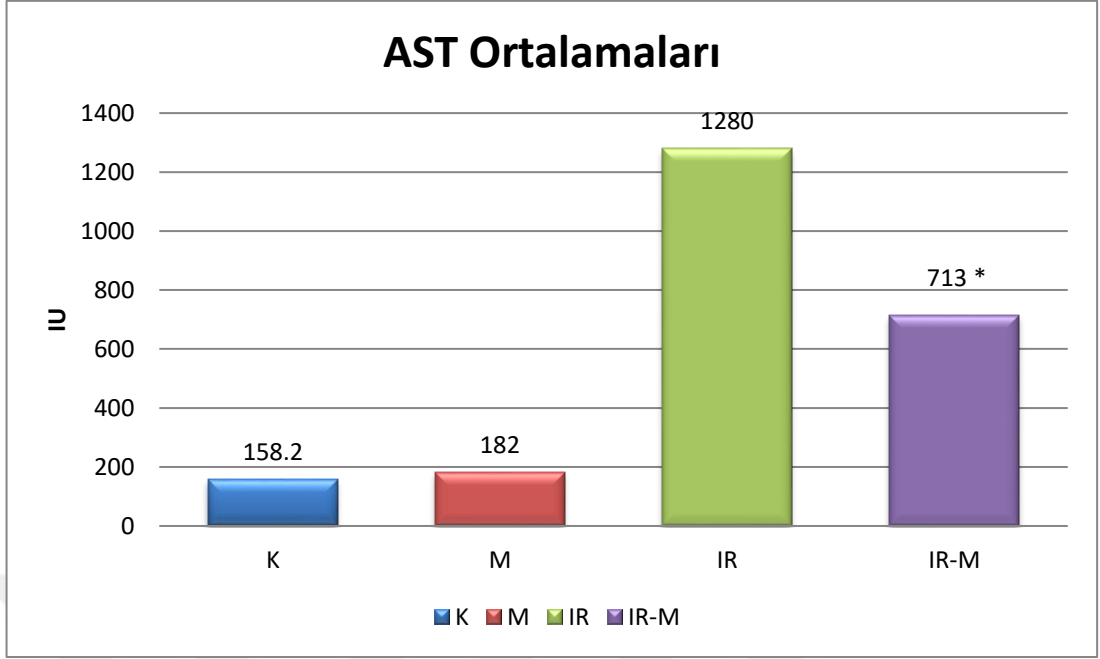
K:kontrol, Mg: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-Mg: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

Şekil 4.1.ALT Ortalamaları

Ortalama AST Değerleri

Ortalama serum ALT düzeyleri K grubunda $158,2 \pm 25,2$ IU, M grubunda $182,2 \pm 42,7$ IU, IR grubunda $1280,3 \pm 666,2$ IU, Grup IR+M de $713 \pm 309,8$ IU olarak ölçüldü. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. ($p < 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,035$ 'tir.



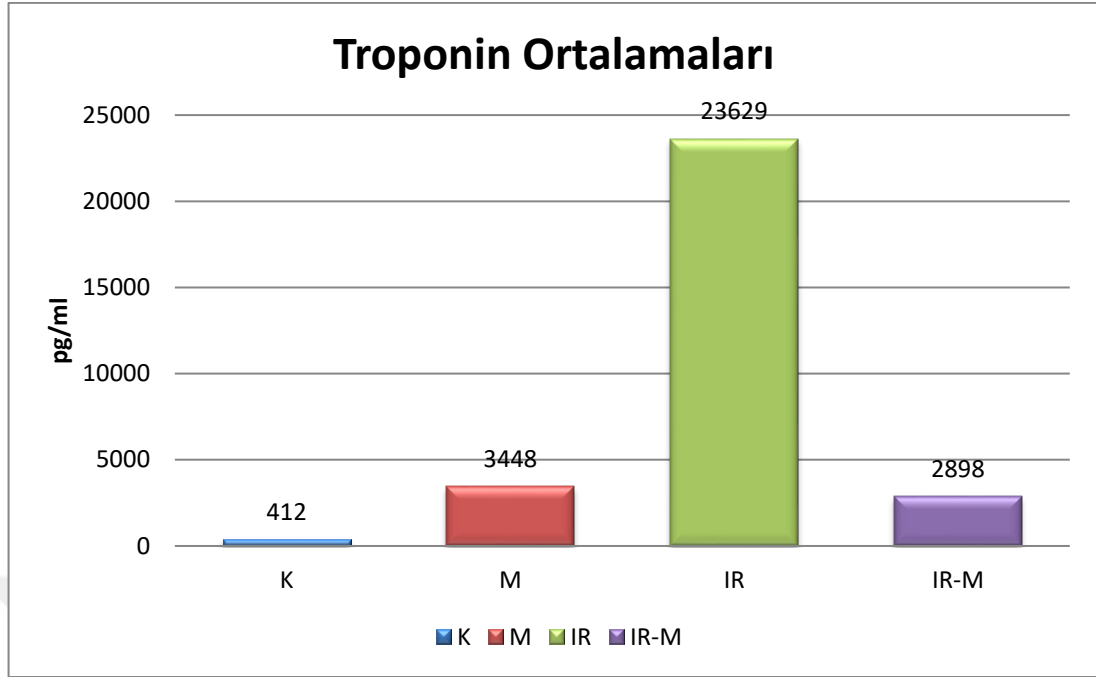
K:kontrol, M: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-M: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

Şekil 4.2.AST Ortalamaları

Ortalama Troponin I değerleri

Ortalama serum troponin I düzeyleri K grubunda $412,8 \pm 488,6$ pg/ml, M grubunda $483,69 \pm 429,8$ pg/ml, IR grubunda $23629,51 \pm 21716,27$ pg/ml, Grup İR+M de $2898,9 \pm 2946,0$ pg/ml olarak ölçüldü. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,064$ dür.



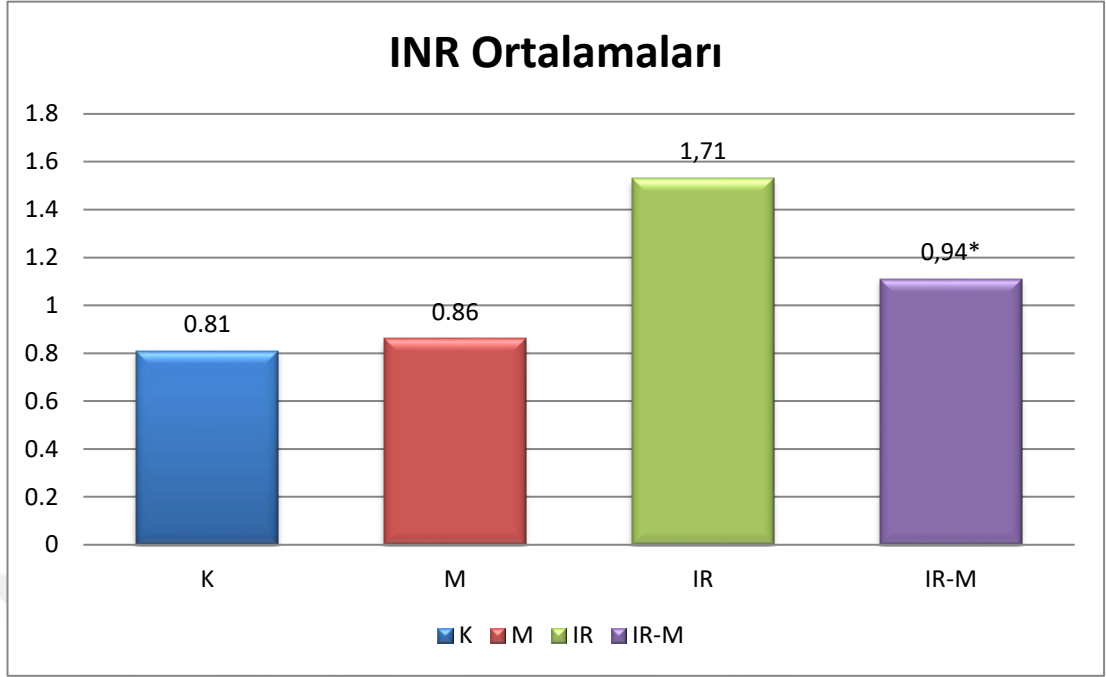
K:kontrol, M: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-M: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

Şekil 4.3.Troponin Ortalamaları

Ortalama INR değerleri

Ortalama serum INR düzeyleri kontrol grubunda $0,81 \pm 0,77$, M grubunda $0,86 \pm 0,76$, IR grubunda $1,71 \pm 0,55$, Grup IR+M de $0,94 \pm 0,17$ olarak ölçüldü. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,009$ dur.



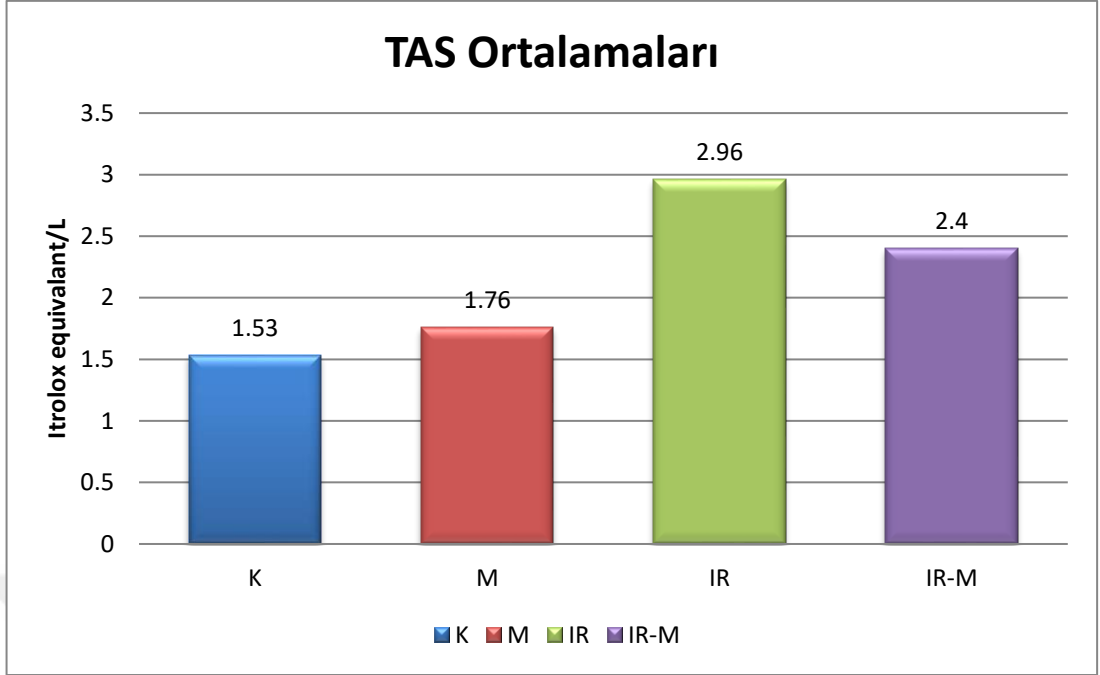
K:kontrol, M: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-M: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

Şekil 4.4.INR Ortalamaları

Ortalama TAS değerleri

Ortalama serum TAS düzeyleri K grubunda $1,53 \pm 0,47$ Trolox equivalent/L , M grubunda $1,76 \pm 0,46$ Trolox equivalent/L, IR grubunda $2,96 \pm 0,92$ Trolox equivalent/L, Grup IR+M de $2,40 \pm 1,09$ Trolox equivalent/L olarak ölçüldü . IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı($p > 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,225$ dir.



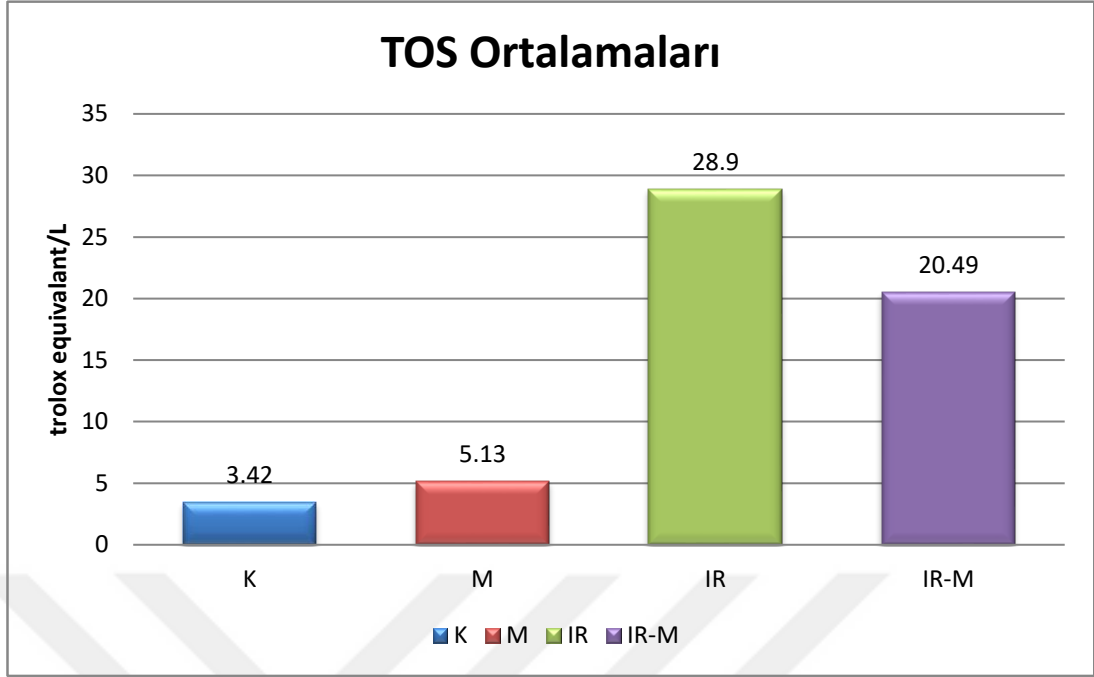
K:kontrol, M: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-M: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

Şekil 4.5.TAS Ortalamaları

Ortalama TOS değerleri

Ortalama serum TOS düzeyleri kontrol grubunda $3,42 \pm 1,34$ Trolox equivalent/L, M grubunda $5,13 \pm 5,43$ Trolox equivalent/L, IR grubunda $28,90 \pm 16,14$ Trolox equivalent/L ,Grup IR+M de $20,49 \pm 13,51$ Trolox equivalent/L olarak ölçüldü. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı($p > 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,565$ 'tir.



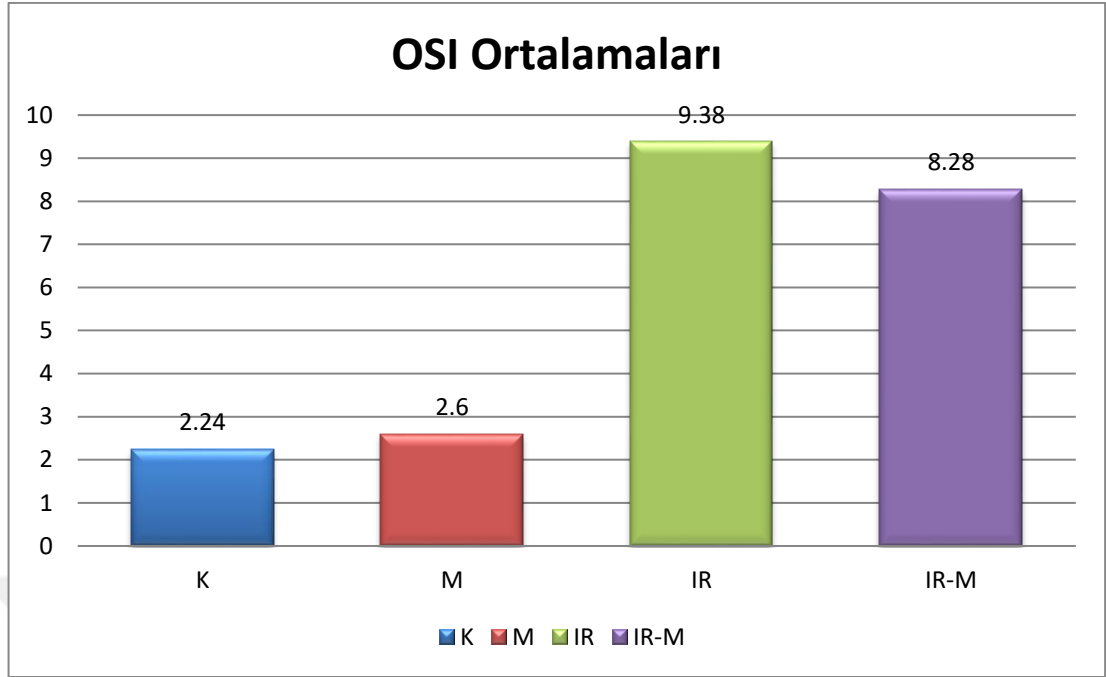
K:kontrol, Mg: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-Mg: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

Şekil 4.6.TOS Ortalamaları

Ortalama OSİ değerleri

Ortalama serum OSİ düzeyleri K grubunda $2,24 \pm 0,87$, M grubunda $2,60 \pm 1,88$, IR grubunda $9,38 \pm 3,99$, Grup IR+M de $8,28 \pm 3,68$ olarak ölçüldü. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,565$ dir.



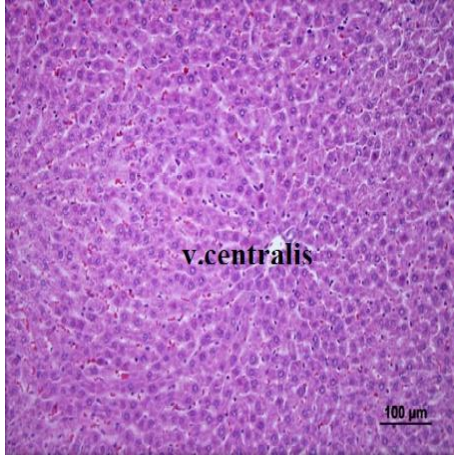
K:kontrol, Mg: Magnezyum, IR: İskemi Reperfüzyon IR-M: İskemi reperfüzyon Magnezyum

*Gruplar arası karşılaştırma $p < 0.05$

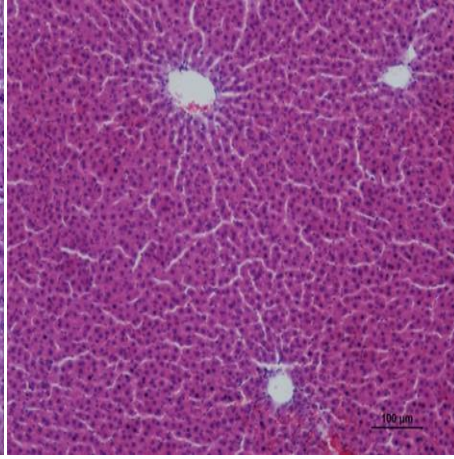
Şekil 4.6.OSİ Ortalamaları

Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

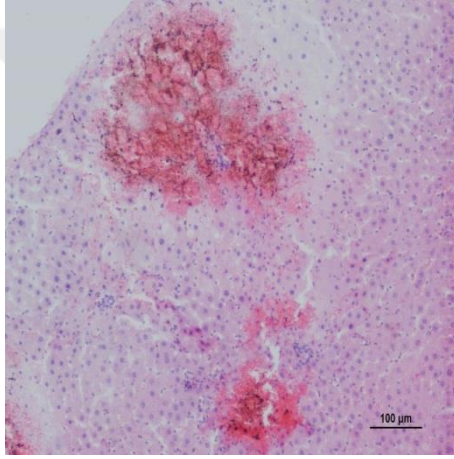
Histopatolojik incelemelerde tüm gruplarda vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon, apoptoz ve nekroza bakıldı. Kontrol grubunda normale yakın histopatolojik görünüm elde edildi M grubunda sinüzoidal dilatasyon izlendi. IR grubunda sitoplazmik vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon, apoptoz ve hücre nekrozu gözlemlendi. IR +M grubunda da apoptoz ve hücre nekrozu ve sinüzoidal dilatasyon izlendi.



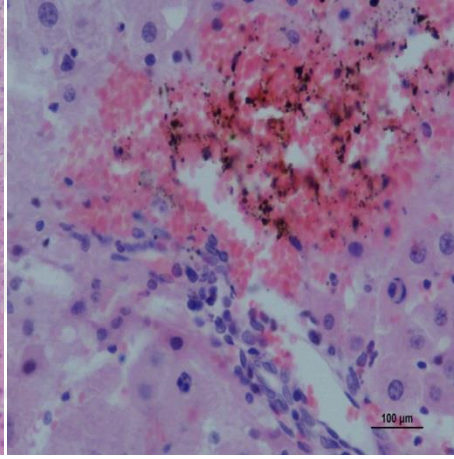
A



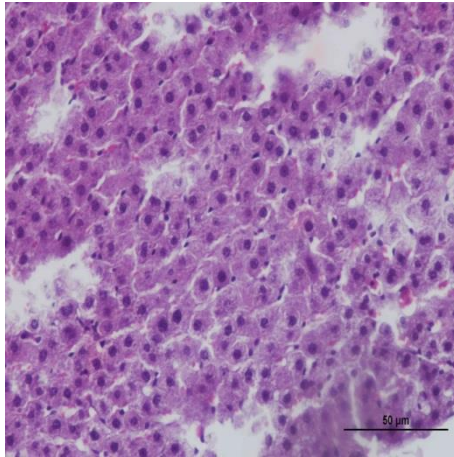
B



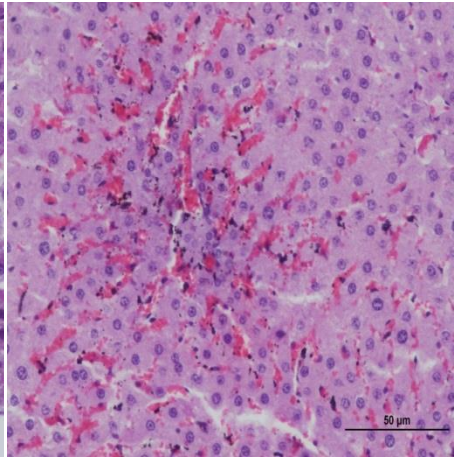
C



D



E



F

Şekil 4.7. Karaciğer hasarının mikroskopik görünümü; A; Normal karaciğer parankimi (10X, H&E) (K grubu), B; Sinozoidal dilatasyon (10X, H&E) (M grubu),

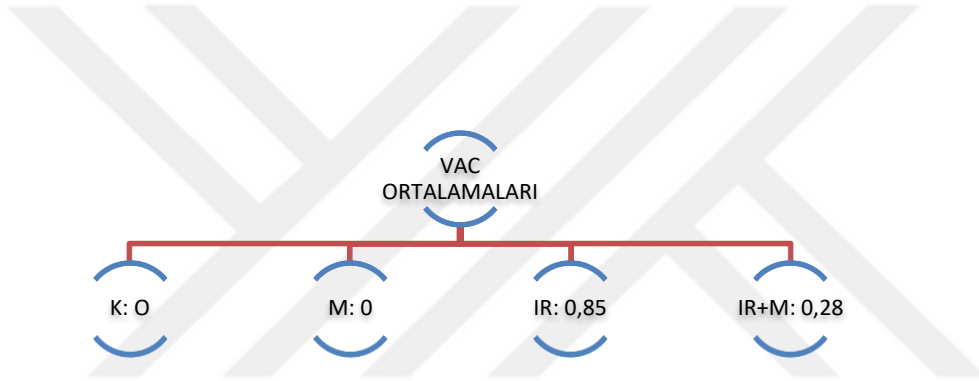
C; Apoptoz (10X, H&E) (IR grubu), D; Sinozoidal dilatasyon (20X, H&E) (IR grubu) E; Nekroz (20X, H&E) (IR grubu), F; Sinozoidal dilatasyon (20X, H&E) (IR-M grubu)

Vakuolizasyon :

Nonparametrik olan VAC değerleri ortanca olarak hesaplandı.

Ortalama serum VAC değerleri K grubunda ($0,0\pm0,0$), M grubunda ($0,0\pm0,00$), IR grubunda($0,850\pm,89$), Grup IR+M de ($0,28\pm0,48$) olarak hesaplandı IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı($p>0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,196$ 'dır.

şekil 4.8.VAC Ortalamaları

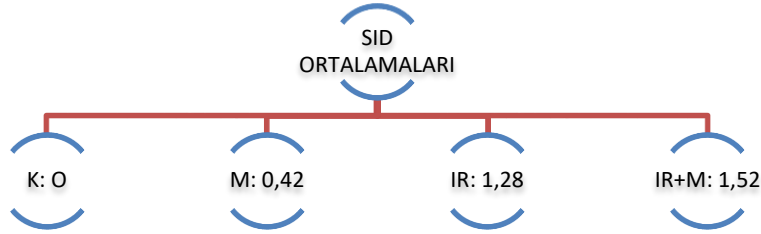


Sinüzoidal Dilatasyon :

Nonparametrik olan Sid değerleri ortanca olarak hesaplandı.

Ortalama Sid değerleri K grubunda ($0,0\pm0,0$), M grubunda ($0,42\pm0,52$), IR grubunda ($1,520\pm,48$), Grup IR+M de ($1,52\pm1,25$) olarak hesaplandı. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı($p>0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p:0,774$ dr.

Şekil 4.9.SID Ortalamaları



Nekroz ve Apoptoz:

Nonparametrik olan nekroz apoptoz değerleri ortanca olarak hesaplandı. Ortalama Nekroz Apoptoz değerleri K grubunda ($0,0 \pm 0,0$), M grubunda ($0,0 \pm 0,0$), IR grubunda ($3,850 \pm 3,7$), Grup IR+M de ($2,14 \pm 1,34$), olarak hesaplandı. IR+M grubu IR grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Hesaplanan istatistiki değer $p: 0.19$ dur.

Şekil 4.10.Nekroz ve Apoptoz Ortalamaları



5.TARTIŞMA

Karaciğerde iskemi-reperfüzyon sonucunda aspartataminotransferaz ve alaninaminotransferaz düzeyleri artar. Bu artışın iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasara bağlı olabileceği kabul edilmiştir (4).

Dufour ve ark (151)'nın karaciğer hasarının tanısında ve monitörizasyonunda laboratuvar testlerinin önemini gösteren çalışmasında, transaminazların (AST, ALT) hepatosit hasarını göstermedeki duyarlılığı vurgulanmıştır. Seeto ve ark. (152) yaptıkları çalışmada, aminotransferaz düzeylerinin en fazla iskemik ve toksik karaciğer hasarında yükseldiğini tespit etmişler. Hemostatik parametrelerdeki değişiklikler, major hepatik rezeksiyon sonrasında sık karşılaşılan bir durumdur. İskemi reperfüzyonu takiben düzenleyici proteinlerin ve inflamatuvar mediatörlerin sentezinin bozulması nedeniyle, pıhtılaşma dengesi bozulmaktadır (153). Bizim çalışmamızda da karaciğerde hücre hasarı ve yıkımını gösteren en güvenilir parametrelerden olan serum ALT, AST ve INR 'ye bakıldı. AST ve INR değerlerinin IR+M grubunda İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı görüldü. ALT değerinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı

Parekh ve ark nın yaptığı bir çalışmada, akut karaciğer yetersizliği gelişen hastaların %74'ünde serum troponin I'nın yükseldiğini tespit etmişler (154). Çalışmamızda Troponin I değerine de bakıldı. IR+M grubunun İR grubuna göre Troponin I değerinin istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Kandis ve ark.(155) yaptıkları çalışmada karaciğer IR hasarında TAS düzeylerinde düşüş ve TOS düzeyinde artış olduğunu tespit etmişler. Tüfek ve ark. (156) da; karaciğer, akciğer ve böbrek dokularının karşılaştırdıkları çalışmalarında, IR grubunda daha yüksek TOS değerleri ve daha düşük TAS değerleri bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da, oksidatif stres seviyesini belirlemek için TAS ve TOS değerleri ölçüldü ve OSI hesaplandı. Çalışmamızda IR+M grubunun IR grubuna göre karşılaştırıldığında TAS değeri çalışmaların tersine düşük bulunmuştur. TOS değeri ise diğer çalışmalardaki sonuçlara uygun olarak daha düşük bulunmuştur. Buna bağlı olarak OSI değerleri, IR+M grubunun IR grubuna göre karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Bu da oksidatif stresin orantısal olarak IR+M grubunda daha az

olduğunu gösterir.

Karaciğer cerrahisinin en önemli komplikasyonlarından biri intraoperatif kanamadır. Bu problemin çözümünde çeşitli vasküler oklüzyon teknikleri kullanılmaktadır. Nakajima Y ve ark.(157) nın karaciğer rezeksiyonunda kanama kontrolünde kullanılan cerrahi tekniklerini ve Bilt ve ark.(158)nın ise karaciğer cerrahisindeki vasküler klemp tekniklerini araştırdığı retrospektif çalışmalarda, vasküler oklüzyon tekniklerinin kullanım sıklıkları gösterilmektedir. Bu tekniklerden hepatik vasküler klemp tekniği, karaciğere giren ve çıkan kan akımının total oklüzyonuna dayanırken, Pringle manevrası karaciğere giren kan akımının engellenmesi amacıyla portal triada uygulanmakta ve bu teknik daha fazla önerilmektedir. Yine Gurusamy ve ark.(159) elektif karaciğer rezeksiyonu için vasküler oklüzyon metodlarını komplikasyonları yönünden karşılaştırmış ve hepatik vasküler klemp tekniğinin, portal triad klemp tekniğine göre hemodinamik göstergelerde daha tahrip edici değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir. Bizde deneysel çalışmamızda, karaciğerde iskemi oluşturmak için portal triad klempleme tekniğini kullandık.

Deneysel karaciğer İR modellerinde, total veya parsiyel iskemi yöntemleri kullanılabilir. Hemodinamik stabilite bozulmadan hasar oluşturulan total karaciğer iskemi süresi en az 25 dk olarak saptanmıştır. Deneysel çalışmalarda belirtilen en uzun sıcak iskemi süresi 90 dakika iken kabul edilebilir sıcak iskemi süresi yaklaşık 60 dakikadır (29). Çalışmamızda klinik uygulamalara yakınlığı nedeniyle 60 dk'lık total iskemi süresi seçilmiştir.

Magnezyum sülfat ($MgSO_4$) güçlü bir anti-inflamatuar etkiye sahiptir ve güçlü bir antioksidandır. Endotoksin bağımlı inflamatuvar molekül upregülasyonunu inhibe eder. Magnezyum, L-tipi bir kalsiyum kanal blokeridir ve L-tipi kalsiyum kanalı bloke etme, doku hasarıyla ilgili kalsiyum aşırı yükünü azaltarak İR hasarını önlemede etkili olabileceği düşünülmüştür(8-11). Magnezyum sülfatın farklı organ İR hasarı tedavilerinde farklı dozlarda kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Ming-Chang ve ark.(10) bilateral alt ekstremitte İR hasarına bağlı akciğer zedelenmesinde reperfüzyondan hemen sonra 100 mg/kg intravenöz magnezyum sülfat vermişler ve İR hasarına bağlı akut akciğer hasarının azaldığını göstermişlerdir. Kaptanoğlu ve ark.(9) intrauterin İR hasarında magnezyum sülfatın fetal deride koruyucu etkilerini

araştırdıkları çalışmalarında, ratlara İR hasarından 20 dakika önce 600 mg/kg magnezyum sülfat intraperitoneal olarak vermişler ve magnezyum sülfatın koruyucu etkisini göstermişlerdir. Hwang ve ark.(160) spinal kord iskemik hasarında magnezyum sülfatın koruyucu etkisini araştırmışlardır. Ratlar 3 gruba ayrılmış, 30 mg/kg, 100 mg/kg ve 300 mg/kg magnezyum sülfat cerrahiden 30 dk önce ve 10 dk süreyle infüzyon şeklinde verilmiştir. Magnezyum sülfatın bu dozlarda spinal kord iskemisinde koruyucu etkisi gösterilememiştir. Akan ve ark.(8) 200mg/kg magnezyum sülfat intraperitoneal verilmiştir. Bizim çalışmamızda magnezyum sülfat iskemiden 20 dakika önce 200 mg/ kg intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

İskemi-reperfüzyon hasarının tespiti ve hasar seviyesinin ölçümü için çeşitli histopatolojik hasar skorum sistemleri tanımlanmıştır. Bu skorum sistemleri, hücre hasar safhalarındaki doku değişikliklerini incelemekte ve bulgunun seviyesine göre puanlamaktadır. Selzner ve ark.(87) hücrenin oksijensiz kalmasıyla meydana gelen ATP eksikliğinin, hücre membranındaki Na-K pompa yetmezliğine neden olduğunu ve hücre içi Na birikimiyle SEC’lerde dilatasyon meydana geldiğini, kompleks mekanizmalarla hasarın ilerlediğini, sinüzoidlerde akımın kaybolduğunu ve sonuçta hücrenin apoptoz ve nekroza gittiğini göstermişlerdir. Bu nedenle pek çok araştırmacı hepatik İR hasarında meydana gelen patofizyolojik değişiklikleri ve tedavi etkinliklerini bu mekanizma üzerinden araştırmışlardır (26). Bu araştırmalarda en sık bakılan parametreler vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve apoptoz/ nekrozdur. Biz de çalışmamızda İR hasarını belirlemek ve kullandığımız ilaçların hasar üzerine etkinliklerini histopatolojik yönden araştırmak için vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve apoptoz / nekroz parametrelerini kullandık. Bu deneysel çalışmada karaciğer iskemi reperfüzyon oluşturulan ratlarda magnezyum sülfatın IR+M grubunu IR grubuyla karşılaştırdığımızda göre İR hasarının histopatolojik düzeyde vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon apoptoz ve nekroz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Histopatolojik incelemede karaciğer hasar skorunu değerlendirirken apoptoz ve nekroz ortalamalarının IR+M grubunun IR grubuna göre karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görüldü.

6.SONUÇ

Bu deneysel çalışmada karaciğer iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda, iskemiden önce verilen magnezyum sülfatın karaciğer IR hasarına etkileri, ALT, AST, INR, Troponin I, TAS, TOS değerleri ve histopatolojik incelemeyle değerlendirilmiştir. Ratların histopatolojik incelenmesinde; magnezyum sülfatın IR+M grubunda IR grubuna göre nekroz ve apoptozu azalttığı görüldü. Karaciğer hasarının değerlendirmesinde AST ve INR biokimya sonuçlarının IR+M grubunu IR grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü. İskemi-reperfüzyonun klinik tedavisinde rutin olarak yer almayan magnezyum sülfatın erken dönem uygulanmasının karaciğer hasarını azaltabilceğini düşünmekteyiz. Bu sonucun daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Daban Ugras, u.m., et al., Protective effects of escin on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Medica*, 2016. 32: p. 973.
2. Weigand, K., et al., Ischemia/Reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB Surgery*, 2012. 2012. Article ID:176723
3. Erturk, E., Ischemia-reperfusion injury and volatile anesthetics. *BioMed research international*, 2014. 2014. Article ID: 526301
4. P, M. and S. G, Inflammation and Liver Injury., in *Molecular Pathology of Liver Diseases*, M. B and S. PS, Editors. 2011, . Springer Science: New York p. 411-25.
5. Girgin, S., E. Gedik, and I. Tacyildiz, Evaluation of surgical methods in patients with blunt liver trauma. *Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi= Turkish journal of trauma & emergency surgery: TJTES*, 2006. 12(1): p. 35-42.
6. Banga, N., et al., Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *British Journal of Surgery*, 2005. 92(5): p. 528-538.
7. de Araujo, M., et al., Magnesium supplementation combined with N-acetylcysteine protects against postischemic acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2005. 16(11): p. 3339-3349.
8. Akan, M., et al., Effect of magnesium sulfate on renal ischemia-reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016. 20(8): p. 1642-1655.
9. Kaptanoglu, A.F., T. Arca, and K. Kilinc, Magnesium sulfate protects fetal skin from intrauterine ischemia reperfusion injury. *Archives of dermatological research*, 2012. 304(7): p. 529-532.
10. Kao, M.-C., et al., Magnesium sulfate mitigates lung injury induced by bilateral lower limb ischemia-reperfusion in rats. *Journal of Surgical Research*, 2011. 171(1): p. e97-e106.
11. Lin, C., et al., L-type calcium channels are involved in mediating the anti-inflammatory effects of magnesium sulphate. *British journal of anaesthesia*, 2009. 104(1): p. 44-51.
12. Mushlin, P.S. and S. Gelman, *Hepatic Physiology and Pathophysiology*, in *Miller's Anesthesia Eight Edition*, R.D. Miller, Editor. 2015, Elsevier: Philadelphia. p. 520-44.
13. Lo CM and N. KK, *Surgical anatomy of the liver and bile ducts. Fischer's mastery of surgery*, ed 6. Philadelphia, ed. F. JE. 2012: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
14. Rutkauskas, S., et al., Clinical and anatomical basis for the classification of the structural parts of liver. *Medicina*, 2006. 42(2): p. 98-106.
15. Fischer, L., et al., Limits of Couinaud's liver segment classification: a quantitative computer-based three-dimensional analysis. *Journal of computer assisted tomography*, 2002. 26(6): p. 962-967.
16. Heriot, A. and N. Karanjia, A review of techniques for liver resection. *Annals of the Royal*

- College of Surgeons of England, 2002. 84(6): p. 371.
17. John E. Hall, A.C.G., The Liver as an Organ, in Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, A.C.G. John E. Hall, Editor. 2011, saunders elseviers: University of Mississippi Medical Center Jackson, Mississippi. p. 837-843.
 18. Mescher, A.L., J. Basic Histology Text& Atlas, in Junqueira's Basic Histology, M.G. Hill, Editor. 2013. p. 329-339.
 19. Gartner, L.P. and J.L. Hiatt, Color Textbook of Histology E-Book. Elsevier Health Sciences. 2006, pp.413-37.
 20. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas (4th ed). Lippincott Williams & Wilkins, USA 2003, pp.532-48
 21. Bilzer, M., F. Roggel, and A.L. Gerbes, Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. Liver International, 2006. 26(10): p. 1175-1186.
 22. Çapan Z, Y.Ö., Karaciğer hastalıkları ve anestezi, in Organ Sistemleri ve Anestezi. 2010, Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri Ltd Şti. p. 125-142.
 23. Mitra, V. and J. Metcalf, Metabolic functions of the liver. Anaesthesia & intensive care medicine, 2009. 10(7): p. 334-335.
 24. Harvey, R.A. and D.R. Ferrier, Biochemistry. 2009, Lippincott Williams & Wilkins. p. 78-127.
 25. Clavien, P.-A., et al., Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. New England Journal of Medicine, 2007. 356(15): p. 1545-1559.
 26. Abu-Amara, M., et al., Systematic review of randomized controlled trials of pharmacological interventions to reduce ischaemia-reperfusion injury in elective liver resection with vascular occlusion. HPB, 2010. 12(1): p. 4-14.
 27. Özgün, G.S., et al., Karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında α -lipoik asit ve L-karnitin'in koruyucu etkileri. Turkish Journal of Biochemistry/Türk Biyokimya Dergisi, 2014.39(2).
 28. Zhang, W., et al. Role of reactive oxygen species in mediating hepatic ischemia-reperfusion injury and its therapeutic applications in liver transplantation. in Transplantation proceedings.Elsevier,2007.39(5): p.1332-37.
 29. Kucuk, C., et al., Effects of amrinone in an experimental model of hepatic ischemia-reperfusion injury. Journal of Surgical Research, 2009. 151(1): p. 74-79.
 30. Schwartz SI. Liver. In: Timothy S, Steven AC (39). Schwartz's Principles of Surgery. McGraw–Hill, Philadelphia2004, pp.1139-87
 31. Kaplowitz, N., Mechanisms of liver cell injury. Journal of hepatology, 2000. 32: p. 39-47.
 32. Darilmaz, G., et al. Evaluation of liver damage after application of TVE in the rat model. in Transplantation proceedings. Elsevier, 2005. 37(10):p 4550-52
 33. Teoh, N.C., Hepatic ischemia reperfusion injury: contemporary perspectives on pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection—the good, bad and deadly. Journal of gastroenterology and hepatology, 2011. 26(s1): p. 180-187.
 34. van Golen, R.F., T.M. van Gulik, and M. Heger, Mechanistic overview of reactive species-

- induced degradation of the endothelial glycocalyx during hepatic ischemia/reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 2012. 52(8): p. 1382-1402.
35. Rubio-Gayosso, I., S.H. Platts, and B.R. Duling, Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2006. 290(6): p. H2247-H2256.
 36. VanTeeffelen, J.W., et al., Endothelial glycocalyx: sweet shield of blood vessels. *Trends in cardiovascular medicine*, 2007. 17(3): p. 101-105.
 37. Vollmar, B. and M.D. Menger, The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiological reviews*, 2009. 89(4): p. 1269-1339.
 38. Yokoyama, Y., et al., Role of thromboxane in producing hepatic injury during hepatic stress. *Archives of Surgery*, 2005. 140(8): p. 801-807.
 39. Smedsrød, B., et al., Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut*, 1994. 35(11): p. 1509.
 40. Bamboat, Z.M., et al., Conventional DCs reduce liver ischemia/reperfusion injury in mice via IL-10 secretion. *The Journal of clinical investigation*, 2010. 120(2): p. 559.
 41. Smith, M.L., et al., Near-wall μ -PIV reveals a hydrodynamically relevant endothelial surface layer in venules in vivo. *Biophysical journal*, 2003. 85(1): p. 637-645.
 42. Reitsma, S., et al., The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2007. 454(3): p. 345-359.
 43. Khandoga, A., et al., Platelet adhesion mediated by fibrinogen–intercellular adhesion molecule-1 binding induces tissue injury in the postischemic liver in vivo¹. *Transplantation*, 2002. 74(5): p. 681-688.
 44. McDonald, B., et al., Intravascular danger signals guide neutrophils to sites of sterile inflammation. *Science*, 2010. 330(6002): p. 362-366.
 45. Mulivor, A.W. and H.H. Lipowsky, Inflammation-and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2004. 286(5): p. H1672-H1680.
 46. Henry, C.B. and B.R. Duling, Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1999. 277(2): p. H508-H514.
 47. van den Berg, B.M., H. Vink, and J.A. Spaan, The endothelial glycocalyx protects against myocardial edema. *Circulation research*, 2003. 92(6): p. 592-594.
 48. Levick, J.R. and C.C. Michel, Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovascular research*, 2010. 87(2): p. 198-210.
 49. Chappell, D., et al., Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 2007. 107(5): p. 776-784.
 50. Ott, I., et al., Reversible regulation of tissue factor–induced coagulation by glycosyl

- phosphatidylinositol-anchored tissue factor pathway inhibitor. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2000. 20(3): p. 874-882.
51. Chappell, D., et al., Antithrombin reduces shedding of the endothelial glycocalyx following ischaemia/reperfusion. *Cardiovascular research*, 2009. 83(2): p. 388-396.
 52. Nieuwdorp, M., et al., Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes*, 2006. 55(2): p. 480-486.
 53. Wilsie, L.C. and R.A. Orlando, The low density lipoprotein receptor-related protein complexes with cell surface heparan sulfate proteoglycans to regulate proteoglycan-mediated lipoprotein catabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 2003. 278(18): p. 15758-15764.
 54. Jaeschke, H., Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2003. 284(1): p. G15-G26.
 55. Jaeschke, H., et al., Superoxide generation by neutrophils and Kupffer cells during in vivo reperfusion after hepatic ischemia in rats. *Journal of leukocyte biology*, 1992. 52(4): p. 377-382.
 56. Turrens, J.F., Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of physiology*, 2003. 552(2): p. 335-344.
 57. Caraceni, P., et al., Source of oxygen free radicals produced by rat hepatocytes during postanoxic reoxygenation. *Biochimica et Biophysica Acta (113)-Molecular Cell Research*, 1995. 1268(3): p. 249-254.
 58. Shiva, S., et al., Nitrite augments tolerance to ischemia/reperfusion injury via the modulation of mitochondrial electron transfer. *Journal of Experimental Medicine*, 2007. 204(9): p. 2089-2102.
 59. Wang, W., et al., Superoxide flashes in single mitochondria. *Cell*, 2008. 134(2): p. 279-290.
 60. Poyton, R.O., K.A. Ball, and P.R. Castello, Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2009. 20(7): p. 332-340.
 61. Ghafourifar, P. and C.K. Sen, Mitochondrial nitric oxide synthase. *Front Biosci*, 2007. 12(1): p. 1072-1078.
 62. Castello, P.R., et al., Mitochondrial cytochrome oxidase produces nitric oxide under hypoxic conditions: implications for oxygen sensing and hypoxic signaling in eukaryotes. *Cell metabolism*, 2006. 3(4): p. 277-287.
 63. Pearce, L.L., et al., Identification of respiratory complexes I and III as mitochondrial sites of damage following exposure to ionizing radiation and nitric oxide. *Nitric oxide*, 2001. 5(2): p. 128-136.
 64. Radi, R., A. Cassina, and R. Hodara, Nitric oxide and peroxynitrite interactions with mitochondria. *Biological chemistry*, 2002. 383(3-4): p. 401-409.

65. Dirmeier, R., et al., Exposure of yeast cells to anoxia induces transient oxidative stress implications for the induction of hypoxic genes. *Journal of Biological Chemistry*, 2002. 277(38): p. 34773-34784.
66. Guidarelli, A., et al., Peroxynitrite mobilizes calcium ions from ryanodine-sensitive stores, a process associated with the mitochondrial accumulation of the cation and the enforced formation of species mediating cleavage of genomic DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006. 41(1): p. 154-164.
67. Redondo-Horcajo, M., et al., Cyclosporine A-induced nitration of tyrosine 34 MnSOD in endothelial cells: role of mitochondrial superoxide. *Cardiovascular research*, 2010. 87(2): p. 356-365.
68. Baines, C.P., et al., Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature*, 2005. 434(7033): p. 658-662.
69. Jaeschke, H. and J.J. Lemasters, Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Gastroenterology*, 2003. 125(4): p. 1246-1257.
70. Kohli, V., et al., Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver1, 2. *Transplantation*, 1999. 67(8): p. 1099-1105.
71. Gujral, J.S., et al., Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: Apoptosis or necrosis? *Hepatology*, 2001. 33(2): p. 397-405.
72. Kono, H. and K.L. Rock, How dying cells alert the immune system to danger. *Nature Reviews Immunology*, 2008. 8(4): p. 279-289.
73. Diepenhorst, G.M., T.M. van Gulik, and C.E. Hack, Complement-mediated ischemia-reperfusion injury: lessons learned from animal and clinical studies. *Annals of surgery*, 2009. 249(6): p. 889-899.
74. Zhai, Y., et al., Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *The Journal of Immunology*, 2004. 173(12): p. 7115-7119.
75. Bamboat, Z.M., et al., Toll-like receptor 9 inhibition confers protection from liver ischemia-reperfusion injury. *Hepatology*, 2010. 51(2): p. 621-632.
76. Zeng, S., et al., Blockade of receptor for advanced glycation end product (RAGE) attenuates ischemia and reperfusion injury to the liver in mice. *Hepatology*, 2004. 39(2): p. 422-432.
77. Lentsch, A.B., et al., Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology*, 2000. 32(2): p. 169-173.
78. Hanschen, M., et al., Reciprocal activation between CD4+ T cells and Kupffer cells during hepatic ischemia-reperfusion. *Transplantation*, 2008. 86(5): p. 710-718.
79. Colletti, L.M. and M. Green, Lung and liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat is increased by exogenous lipopolysaccharide which also increases hepatic TNF production in vivo and in vitro. *Shock*, 2001. 16(4): p. 312-319.
80. Menger, M.D. and B. Vollmar, Role of microcirculation in transplantation. *Microcirculation*, 2000. 7(5): p. 291-306.

81. Thomas, S.R., P.K. Witting, and G.R. Drummond, Redox control of endothelial function and dysfunction: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 2008. 10(10): p. 1713-1766.
82. Teoh, N.C. and G.C. Farrell, Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2003. 18(8): p. 891-902.
83. Baykara B, T.I., Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı, in *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005. p. 185-194.
84. Arumugam, T.V., et al., The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *shock*, 2004. 21(5): p. 401-409.
85. Jiang, N., et al., Effects of Ca²⁺ channel blockers on store-operated Ca²⁺ channel currents of Kupffer cells after hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *World journal of gastroenterology: WJG*, 2006. 12(29): p. 4694.
86. Kim, J.-S., et al., Nitric oxide: a signaling molecule against mitochondrial permeability transition-and pH-dependent cell death after reperfusion. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004. 37(12): p. 1943-1950.
87. Selzner, M., et al., Increased ischemic injury in old mouse liver: An ATP-dependent mechanism. *Liver transplantation*, 2007. 13(3): p. 382-390.
88. Phillips, L., et al., Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *Journal of Investigative Surgery*, 2009. 22(1): p. 46-55.
89. Montalvo-Jave, E.E., et al., Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 2008. 147(1): p. 153-159.
90. Caban A, Oczkiewicz G, Abdel-Samad O, Cierpka L. Influence of Kupffer cells on the early phase of liver reperfusion. *Transplant Proc* 2002;34:694-7.
91. Llacuna, L., et al., Reactive oxygen species mediate liver injury through parenchymal nuclear factor- κ B inactivation in prolonged ischemia/reperfusion. *The American journal of pathology*, 2009. 174(5): p. 1776-1785.
92. Taniai, H., et al., Susceptibility of murine periportal hepatocytes to hypoxia-reoxygenation: Role for NO and Kupffer cell-derived oxidants. *Hepatology*, 2004. 39(6): p. 1544-1552.
93. Nakano, Y., et al., Platelet dynamics in the early phase of postischemic liver in vivo. *Journal of surgical research*, 2008. 149(2): p. 192-198.
94. Caldwell, C.C., J. Tschoep, and A.B. Lentsch, Lymphocyte function during hepatic ischemia/reperfusion injury. *Journal of leukocyte biology*, 2007. 82(3): p. 457-464.
95. Kuboki, S., et al., Distinct contributions of CD4⁺ T cell subsets in hepatic ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2009. 296(5): p. G1054-G1059.
96. Jaeschke H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*.

- 2006;290(6):G1083-G8.
97. Vardanian, A.J., R.W. Busuttil, and J.W. Kupiec-Weglinski, Molecular mediators of liver ischemia and reperfusion injury: a brief review. *Molecular Medicine*, 2008. 14(5-6): p. 337.
 98. Caldwell, C.C., et al., Divergent functions of CD4⁺ T lymphocytes in acute liver inflammation and injury after ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2005. 289(5): p. G969-G976.
 99. Okaya, T., et al., Age-dependent responses to hepatic ischemia/reperfusion injury. *Shock*, 2005. 24(5): p. 421-427.
 100. Khandoga, A., et al., Matrix metalloproteinase-9 promotes neutrophil and T cell recruitment and migration in the postischemic liver. *Journal of leukocyte biology*, 2006. 79(6): p. 1295-1305.
 101. Lappas, C.M., et al., Adenosine A2A receptor activation reduces hepatic ischemia reperfusion injury by inhibiting CD1d-dependent NKT cell activation. *Journal of Experimental Medicine*, 2006. 203(12): p. 2639-2648.
 102. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 2015: Oxford University Press, USA.
 103. Jaeschke, H., *Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury*. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2000. 15(7): p. 718-724.
 104. Nohl, H., et al., Are mitochondria a spontaneous and permanent source of reactive oxygen species? *Redox report*, 2003. 8(3): p. 135-141.
 105. Sutton, H.C. and C.C. Winterbourn, On the participation of higher oxidation states of iron and copper in Fenton reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 1989. 6(1): p. 53-60.
 106. Moncada, S. and A. Higgs, *The L-arginine-nitric oxide pathway*. *New England Journal of Medicine*, 1993. 329(27): p. 2002-2012.
 107. Vásquez-Vivar, J., et al., Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998. 95(16): p. 9220-9225.
 108. Hon, W.M., K.H. Lee, and H.E. Khoo, Nitric oxide in liver diseases. *Annals of the New York Academy of sciences*, 2002. 962(1): p. 275-295.
 109. Szabo, C., Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicology letters*, 2003. 140: p. 105-112.
 110. Weitzberg, E., M. Hezel, and J.O. Lundberg, Nitrate-Nitrite-Nitric Oxide Pathway Implications for Anesthesiology and Intensive Care. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 2010. 113(6): p. 1460-1475.
 111. Pryor, W.A. and K. Stone, Oxidants in cigarette smoke radicals, hydrogen peroxide, peroxynitrate, and peroxynitrite. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1993. 686(1): p. 12-27.
 112. Esterbauer, H., G. Wäg, and H. Puhl, Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *British Medical Bulletin*, 1993. 49(3): p. 566-576.

113. Akhgari, M., et al., Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human & experimental toxicology*, 2003. 22(4): p. 205-211.
114. Halliwell, B., Commentary: vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free radical research*, 1996. 25(5): p. 439-454.
115. Cadenas, E. and K.J. Davies, Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000. 29(3): p. 222-230.
116. Glantzounis, G.K., et al., The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: a review. *Liver Transplantation*, 2005. 11(9): p. 1031-1047.
117. Zelko, I.N., T.J. Mariani, and R.J. Folz, Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002. 33(3): p. 337-349.
118. Bilzer, M., G. Paumgartner, and A.L. Gerbes, Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after hypothermic preservation. *Gastroenterology*, 1999. 117(1): p. 200-210.
119. Erel, O., A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 2004. 37(4): p. 277-285.
120. Kusano C, and Ferrari B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol*. 2008;7(1):1-15
121. Benzie, I.F. and J. Strain, [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*, 1999. 299: p. 15-27.
122. Erel, O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 2005. 38(12): p. 1103-1111.
123. Telci, L., et al., Evaluation of effects of magnesium sulphate in reducing intraoperative anaesthetic requirements. *British journal of anaesthesia*, 2002. 89(4): p. 594-598.
124. Fawcett, W., E. Haxby, and D. Male, Magnesium: physiology and pharmacology. *British journal of anaesthesia*, 1999. 83(2): p. 302-320.
125. Dubé, L. and J.-C. Granry, The therapeutic use of magnesium in anesthesiology, intensive care and emergency medicine: a review. *Canadian journal of anaesthesia*, 2003. 50(7): p. 732-746.
126. De Baaij, J.H., J.G. Hoenderop, and R.J. Bindels, Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiological reviews*, 2015. 95(1): p. 1-46.
127. Paoletti, P., C. Bellone, and Q. Zhou, NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 2013. 14(6): p. 383-400.

128. Möykkynen, T., et al., Magnesium potentiation of the function of native and recombinant GABAA receptors. *Neuroreport*, 2001. 12(10): p. 2175-2179.
129. Hoane, M.R., Assessment of cognitive function following magnesium therapy in the traumatically injured brain. *Magnesium research*, 2007. 20(4): p. 229-236.
130. Yang, Y., et al., Survival and histological evaluation of therapeutic window of post-ischemia treatment with magnesium sulfate in embolic stroke model of rat. *Neuroscience letters*, 2000. 285(2): p. 119-122.
131. James, M.F., Clinical use of magnesium infusions in anesthesia. *Anesthesia & Analgesia*, 1992. 74(1): p. 129-136.
132. Lee, A.R., et al., Magnesium added to bupivacaine prolongs the duration of analgesia after interscalene nerve block. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*, 2012. 59(1): p. 21-27.
133. Širvinskas, E. and R. Laurinaitis, Use of magnesium sulfate in anesthesiology. *Medicina (Kaunas)*, 2002. 38(7): p. 695-698.
134. Teragawa, H., et al., Magnesium causes nitric oxide independent coronary artery vasodilation in humans. *Heart*, 2001.86(2): p. 212-216.
135. Teragawa, H., et al., Mechanisms responsible for vasodilation upon magnesium infusion in vivo: clinical evidence. *Magnesium research*, 2002. 15(3-4): p. 241-246.
136. Wiles, M.E., T.L. Wagner, and W.B. Weglicki, Effect of acute magnesium deficiency (MgD) on aortic endothelial cell (EC) oxidant production. *Life sciences*, 1996. 60(3): p. 221-236.
137. White, R.E. and H.C. Hartzell, Effects of intracellular free magnesium on calcium current in isolated cardiac myocytes. *Science*, 1988. 239(4841): p. 778-780.
138. Gourgoulanis, K., et al., Magnesium as a relaxing factor of airway smooth muscles. *Journal of aerosol medicine*, 2001. 14(3): p. 301-307.
139. Rolla, G., et al., Reduction of histamine-induced bronchoconstriction by magnesium in asthmatic subjects. *Allergy*, 1987. 42(3): p. 186-188.
140. Bednarek, A., K. Pasternak, and M. Karska, Evaluation of blood serum, erythrocyte and urine magnesium concentrations in babies with pneumonia or bronchial obstructive bronchitis. *Magnesium research*, 2003. 16(4): p. 271-280.
141. Malik, S., O'Reilly, J., and Sudlow, M.F., Effects of sub-lingual nifedipine on inhaled histamine and methacholine-induced bronchoconstriction in atopic subjects. *Thorax*, 1982. 32: p. 230
142. Molloy, D., et al., Hypomagnesemia and respiratory muscle power. *American Review of Respiratory Disease*, 1984. 129(3): p. 497-498.
143. James M, and Neil G. Effect of magnesium on coagulation as measured by thrombelastography. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 1995;74(1):92-4.
144. Yıldız H.: Magnezyum'un Anesteziye Kullanımı. *Ankara Üniv. Tıp Dergisi*, 2006, 38: 29-32.

145. Choi, J.C., et al., Intravenous Magnesium Sulfate Administration Reduces Propofol Infusion Requirements during Maintenance of Propofol–N₂O AnesthesiaPart I: Comparing Propofol Requirements According to Hemodynamic Responses. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 2002. 97(5): p. 1137-1141.
146. Montazeri, K. and M. Fallah, A Dose “Response Study of Magnesium Sulfate in Suppressing Cardiovascular Responses to Laryngoscopy & Endotracheal Intubation. *Journal of Research in Medical Sciences*, 2005. 10(2): p. 82-86.
147. Kara, H., et al., Magnesium infusion reduces perioperative pain. *European Journal of Anaesthesiology*, 2002. 19(1): p. 52-56.
148. Chmielinska, J.J., et al., Intestinal and cardiac inflammatory response shows enhanced endotoxin receptor (CD14) expression in magnesium deficiency. *Molecular and cellular biochemistry*, 2005. 278(1-2): p. 53-57.
149. Rochelson, B., et al., Magnesium sulfate suppresses inflammatory responses by human umbilical vein endothelial cells (HuVECs) through the NFκB pathway. *Journal of reproductive immunology*, 2007. 73(2): p. 101-107.
150. Mazur, A., et al., Magnesium and the inflammatory response: potential physiopathological implications. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2007. 458(1): p. 48-56.
151. Dufour, D.R., et al., Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clinical chemistry*, 2000. 46(12): p. 2027-2049.
152. Seeto, R.K., B. Fenn, and D.C. Rockey, Ischemic hepatitis: clinical presentation and pathogenesis. *The American journal of medicine*, 2000. 109(2): p. 109-113.
153. Shimada, M., et al., Changes in regulating blood coagulation in hepatic resection with special references to soluble thrombomodulin and protein C. *Journal of the American College of Surgeons*, 1994. 178(1): p. 65-68.
154. Parekh, N.K., et al., Elevated troponin I levels in acute liver failure: is myocardial injury an integral part of acute liver failure? *Hepatology*, 2007. 45(6): p. 1489-1495.
155. Kandis H, Karapolat S, Yildirim U, Saritas A, Gezer S, and Memisogullari R. Effects of *Urtica dioica* on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Clinics*. 2010;65(12):1357-61.
156. Tüfek A, Tokgöz O, Aliosmanoglu İ, Alabalik U, Evliyaoglu O, Çiftçi T, Güzel A, and Yıldırım ZB. The protective effects of dexmedetomidine on the liver and remote organs against hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *International journal of surgery*. 2013;11(1):96-100.
157. Nakajima, Y., et al., Control of intraoperative bleeding during liver resection: analysis of a questionnaire sent to 231 Japanese hospitals. *Surgery today*, 2002. 32(1): p. 48-52.
158. van der Bilt, J.D., et al., European survey on the application of vascular clamping in liver surgery. *Digestive surgery*, 2007. 24(6): p. 423-435.
159. Gurusamy, K.S., et al., Methods of vascular occlusion for elective liver resections. *The Cochrane Library*, 2009.

160. Hwang, J., et al., Magnesium sulfate does not protect spinal cord against ischemic injury. *Journal of Investigative Surgery*, 2011. 24(6): p. 250-256.

