

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA PLATELET ZENGİN
PLAZMA(PRP) VE SEVOFLURAN ANESTEZİSİNİN
ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. AYŞE GÜLFEM YALÇIN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. MUSTAFA ARSLAN

ANKARA

2021

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
ŞEKİLLER	III
RESİMLER	III
TABLOLAR.....	III
KISALTMALAR	IV
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KARACİĞER.....	3
2.1.1.KARACİĞER ANATOMİSİ	3
2.1.2 KARACİĞER MİKROSKOPİK YAPISI	5
2.1.3 KARACİĞER FONKSİYONLARI	8
2.1.3.1. Kan depo işlevi	8
2.1.3.2. Kan temizleme işlevi	8
2.1.3.3. Metabolik işlevleri	8
2.2 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI	12
2.2.1 KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI	16
2.2.2. KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON PATOFİZYOLOJİSİ	17
2.3 SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN MEKANİZMALAR.....	20
2.3.1 REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS).....	21
2.3.2 REAKTİF NİTROJEN TÜRLERİ	22
2.3.3ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	24
2.4. PLATELET ZENGİN PLAZMA (PRP)	28
2.5 SEVOFLURAN	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1 GRUPLAR VE KULLANILAN YÖNTEMLER	33
3.2 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	36

3.3 BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	36
3.4 İSTATİKSEL ANALİZ.....	38
4. BULGULAR	39
6. SONUÇ	59
7. KAYNAKLAR.....	60
8. ÖZET	71
9. SUMMARY	73
10. ÖZGEÇMİŞ.....	75

ŞEKİLLER

Şekil 1 Couinaud sınıflamasına göre karaciğer segmentleri	4
---	---

RESİMLER

Resim 1 Median laparotomi uygulaması	37
Resim 2 Porta hepatis disseksiyonu uygulaması	37
Resim 3 Porta hepatisin klempelenmesi	38
Resim 4 Kontrol grubu histopatolojik görüntüsü	40
Resim 5 İR grubu histopatolojik görüntüsü	41
Resim 6 İR grubu histopatolojik görüntüsü	41
Resim 7 İR-S grubu histopatolojik görüntüsü	42
Resim 8 İR-PRP grubu histopatolojik görüntüsü	42
Resim 9 İR PRP grubu histopatolojik görüntüsü	43
Resim 10 İR PRP-S grubu histopatolojik görüntüsü	43
Resim 11 İR PRP-S grubu histopatolojik görüntüsü	44
Resim 12 İR PRP-S grubu histopatolojik görüntüsü	44

TABLolar

Tablo 1 Plateletlerin alfa-granüllerinde bulunan biyoaktif moleküller	29
Tablo 2. Grupların Dağılımı	33
Tablo 3 Rat karaciğer dokusu histopatolojik bulguları	40
Tablo 4 Rat karaciğer dokusu oksidan durum parametreleri	46

KISALTMALAR

ATP: Adenozin trifosfat

Ca⁺⁺: Kalsiyum iyonu

eNOS: Endotelial NOS (eNOS)

ET: Endotelin

ETZ: Elektron Taşıma Zincirinin

F : florür

g: gram

GM-CSF : Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör

H ⁺: hidrojen iyonu

HFIP: heksafloroizopropanol

ICAM: İnterselüler hücre adezyon molekülü

IL-1: İnterlökin-1

iNOS: İndüklenebilir NOS'un (iNOS)

İR : İskemi ve reperfüzyon

K⁺: potasyum iyonu

MAK: Minimum alveolar konsantrasyon

mg: miligram

ml: mililitre

MODS: Çoklu organ disfonksiyon sendromu

Na ⁺: sodyum iyonu

NO: Nitrik oksit

NOS: NO sentaz (NOS)

PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

PRP: Platelet zengin plazma (PRP),

ROS: Reaktif oksijen türlerinin (ROS)

SIRS: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu

TGF -β1: dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) -β1

TIMP-4: Doku metalloproteaz-4 inhibitörü

TNF-α : Tümör nekroz faktörü-alfa

TNF- β : Tümör nekroz faktörü -beta

TRP: Membrandaki geçici reseptör potansiyeli

VCAM: Vasküler hücre adezyon molekülü

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)



1.GİRİŞ

İskemi ve reperfüzyon (İR), kan damarlarının kısmen veya tamamen oklüzyonu ve ardından kan akışının tekrar sağlanması ile ortaya çıkar. Bu fenomen, miyokardiyal iskemi, felç, travmatik veya hemorajik yaralanma, cerrahi ve transplantasyonu kapsadığı düşünüldüğünde insan vücudunda belki de en sık görülen patolojidir. İskemi sırasında, oksijen bulunmaması nedeniyle aerobik metabolizma azalır; aşırı serbest radikal oluşumu ile karakterize olan reperfüzyon sırasında oksidatif hücre hasarı oluşur.(1)

Karaciğer rezeksiyonu ve karaciğer transplantasyonu sırasında kaçınılmaz bir iskemi periyodu gereklidir ve total vasküler oklüzyon (Pringle manevrası) en yaygın kullanılan prosedürdür. Kan akışı tekrar sağlandığında reperfüzyon meydana gelir ve İR hasarı oluşur.(2) Karaciğer İR hasarının, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu, lökosit migrasyonu ve aktivasyonu, mikrosirkülasyon anormallikleri, sinüzoidal endotelial hücre hasarı, koagülasyon kaskat aktivasyonu, inflamatuvar sitokinlerin salınmasına bağlı Kupffer hücre aktivasyonu ve mitokondriyal disfonksiyon ile oluştuğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Ancak İR'nin tüm patofizyolojik süreci henüz aydınlatılmamıştır.(3)

Volatil anestezik olan sevofluran karaciğer cerrahisi sırasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda sevofluranın, hem insanlarda hem de laboratuvar hayvanlarında beyin, kalp, bağırsak, akciğer ve karaciğer dahil olmak üzere çeşitli organları veya dokuları İR hasarına karşı koruyabildiğini gösterilmiştir.(4) Volatil anesteziklerin sitoprotektif etkisi, iskemi öncesi (ön

koşullandırma), reperfüzyon ile birlikte (art koşullandırma) ve tüm cerrahi prosedür boyunca başlatılabilir.(5) Sevofluranın İR hasarına karşı koruma mekanizmaları henüz tamamen açıklanmış değildir.

Plateletler hücresel proliferasyonu, farklılaşmayı, kemotaksisi ve anjiyogenezi uyardığı bilinen platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) - β 1 ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi büyüme faktörlerini yüksek miktarda içerir.(6) Platelet zengin plazma (PRP), ilk olarak Marx ve ark. tarafından 1998'de tanımlanmıştır; plateletten zengin süpernatantı izole etmek için santrifüjlenen bir kan örneğinden elde edilen, büyüme faktörleri bakımından zengin otolog bir üründür.(7,8) Plateletler İR hasarının modülasyonunda anahtar bileşenlerdendir, tromboz aracılığı ile endotel hasarının artmasına neden olduklarına dair bazı çalışmalar mevcuttur.(9,10) Bu nedenle İR hasarında plateletlerin rolünün doku hasarını artırıcı yönde olduğu değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, eksojen PRP uygulamasının ROS ve mitokondriyal depolarizasyonu azalttığı in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca PRP'nin testis ve overde İR hasarını önlediğine dair çalışmalar bulunmaktadır.(6,11) PRP'nin karaciğerdeki İR hasarına etkisi ise henüz ortaya konulmamıştır.

Bu çalışmada karaciğerde İR hasarı oluşturulmuş ratlarda, sevofluran anestezisinin ve PRP uygulamasının etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER

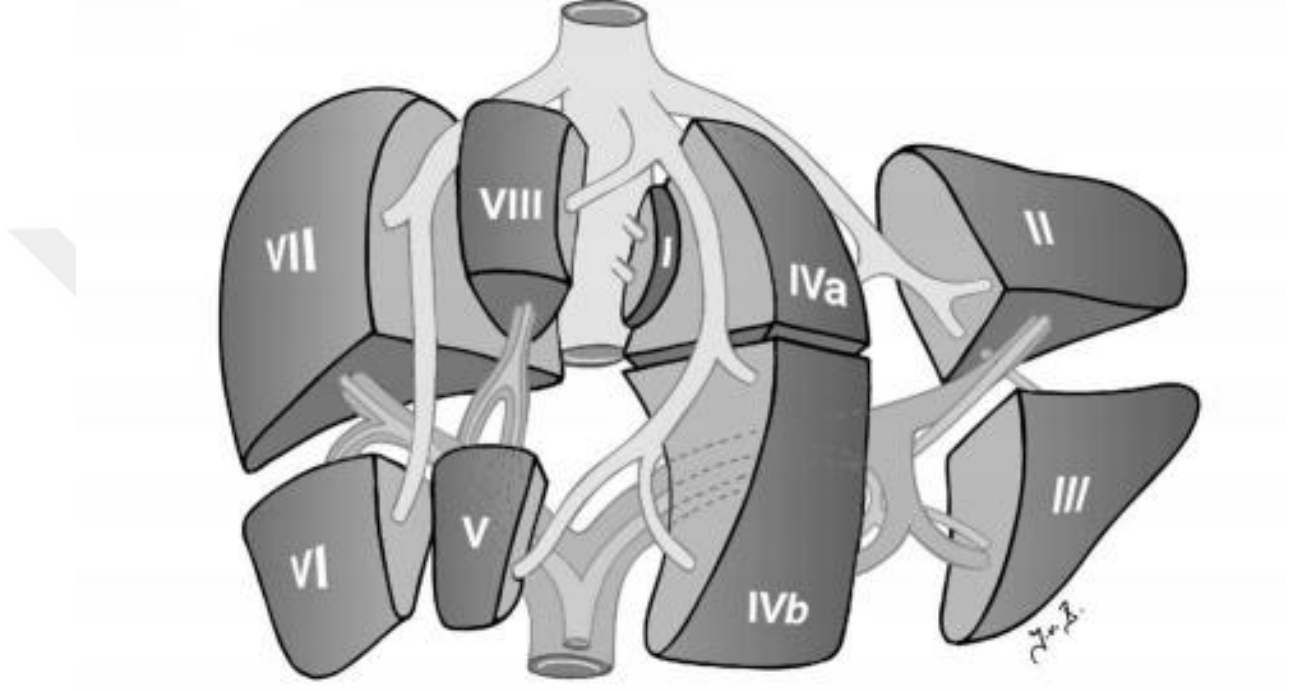
2.1.1.Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, sağlıklı yetişkinlerin toplam vücut kütlelerinin %2 'sini ve yenidoğanların vücut kütlelerinin %5'ini oluşturan, insan vücudundaki en büyük iç organdır. Erişkinde yaklaşık 1500gr ağırlığındadır. İstirahat halinde kalp debisinin %25'ini alır. Kırmızımsı kahverengi renklidir ve sağ subkostal boşluğun tamamını(7.-11. kostalar arasındadır), epigastriumun çoğunu ve sol subkostal boşluğun bir kısmını kaplar. Dışbükey üst yüzeyi diyafragma ile komşudur. İçbükey posteroinferior veya visseral yüzeyi, iç organların izleri nedeni ile düzensizdir; özofagusun abdominal kısmı, mide, duodenum, sağ kolik fleksura, sağ böbrek ve sağ sürrenal bez ve safra kesesi ile komşuluk gösterir.(12,13)

Karaciğer ligamentum(lig.)falciforme ile anterior abdominal duvara, lig. hepatogastricum ile mideye, lig. hepatoduodenale ile duodenuma tutunur. Diafragma ile komşuluğu hariç, tamamen visseral periton ile örtülüdür.(14)

Geleneksel anatomide sol, sağ, kaudat ve kuadrat olmak üzere dört loba ayrılır. Sağ ve sol loblar safra kesesi ve inferior vena kava (İVK)'nın sol tarafını birbirine bağlayan ana hepatik fissür ile ayrılmıştır. Kaudat ve kuadrat lob ise sağ lobun aksesuar lobları kabul edilir. (12) Segmental (fizyolojik/fonksiyonel) anatomi ise karaciğeri kendine yeten, bağımsız segmentlere ayırır. Her segment, afferent kan kaynağı ve parankimden kan ve safranın boşaldığı kanallara sahiptir.(15) Karaciğeri 8 segmente ayıran bu yöntem, Couinaud tarafından 1957

yılında tanımlanmış olup, segmentlerin ayrı ayrı rezekte edilebilmesi sebebiyle, günümüzde güncelliğini korumaktadır(Şekil 1).(16)



Şekil 1 Couinaud sınıflamasına göre karaciğer segmentleri(17)

Karaciğerin hilusu (porta hepatis), afferent kan damarlarının girdiği ve safra kanallarının karaciğerden çıktığı yerdir. Karaciğer dual kan akımına sahip bir organdır ve kanlanması, vena mesenterika süperior ve vena lienalis'in birleşmesi ile oluşan vena porta hepatis (%70) ve trunkus çöliakusun dalı olan arteria hepatica koministen ayrılan arteria hepatica propria(%30) tarafından sağlanır. Bu iki ana vasküler yapı, sol ve sağ portal ven ve sol ve sağ hepatik arter olmak üzere ana dallarına ayrılır. Bu vasküler dallar, hepatik stromayı art arda dallara ayrılarak geçer. Son dallar kanlarını karaciğer sinüzoidlerine (hepatik kapillerler) boşaltır.

Karaciğer parankimini perfüze ettikten sonra bu kan, merkezi hepatik venlere (terminal hepatik venüller de denir) akar. Bu küçük venüller birleşir ve sonuçta doğrudan İVK'ya bağlanan sağ ana, orta ve sol ana hepatik venleri oluştururlar.(17)

Kemirgenler, insanlardan farklı olarak loblu karaciğer yapısına sahiptir, loblar tek tek bağlanabilir ve çıkarılabilir. Rat karaciğerinin safra yolları ve vaskülaritesine göre bölümleri; İki lob, dört sektör ve sekiz segmentten oluşur. Sağ lob anterior (5. ve 8. segmentler) ve posterior (6. ve 7. segmentler) sektörlerle; sol lob lateral (2. ve 3. segmentler) ve medial (4. segment) sektörlerle ayrılır.(18)

2.1.2 Karaciğer Mikroskopik Yapısı

Karaciğer hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu olan Glisson kapsülü ile örtülüdür. Hilumda organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol duktus hepatikus ve lenfatikler çıkar. Bu damar ve kanallar, karaciğer lobülleri arasında sonlandıkları portal alanlara dek bağ dokusu ile çevrilidir. Kapsülden köken alan ince, bağ dokusu septumları oluşturarak porta hepatiste karaciğere giderek organı lob ve lobüllere ayırır.(19)

-Karaciğer Lobülü:

Karaciğerin temel anatomik birimi olan karaciğer lobülü, uçlarında dikey olarak hizalanmış altı portal kanalı ve merkezinde bir terminal hepatik venülü olan altıgen bir prizmadır. Portal kanallar, bağ dokusu matrisi, sinir lifleri, lenfatik damarlar ve bir safra kanalı ile portal ven ve hepatik arterin son dallarından oluşan

bir portal triad içerir. Her bir lobülün çevresi yaklaşık 3 mm'dir ve birkaç milimetre uzunluğundadır. İnsan karaciğeri 50.000 ila 100.000 lobül içerir.(17)

-Karaciğer Asinüsü:

Karaciğer asinüsü, karaciğerin mikrovasküler fonksiyonel birimi kabul edilir. 1950'lerde Rappaport tarafından tanımlanan asinüs, bu hepatosit grubuna kan sağlayan terminal afferent portal ve arteriyel damarların etrafındaki parankimdir. Zon 1 periportal, zon 2 orta ve zon 3 perisentraldir. Zon 1 oksijen ve besinlerden en zengin kanla perfüze olur ilen, Zon 3, Zon 1 ve 2'den geçmiş olan kan ile perfüze olur (kan Zon 1'den Zon 3'e, santral vene doğru akar). Bu tek yönlü akım düzeni sayesinde, yüksek miktarda vazoaktif metabolitler salgılasalar dahi parankimal hücreler kan akımını regüle edemezler.(17,20)

-Hepatositler :

Hepatositler, hepatik sinüzoidler arasında düzensiz plakalar halinde düzenlenmiş, yaklaşık 20 µm'ye 30 µm boyutunda, polihedral parankimal hücrelerdir. Genellikle merkezi olarak yerleştirilmiş bir küresel çekirdeğe sahiptirler ve hücrelerin %20'ye kadar iki çekirdeklidir. Hepatositin üç işlevsel yüzeyi vardır: bir kanaliküler (salgı) yüzey; Dissé boşluğuna bakan mikrovilli sinüzoidal (emici) yüzey ve bağlantı kompleksleri dışında özel yüzey özellikleri olmayan, birbirine yakın iki hücre arasında bir yüzey.(21)

-Kupffer Hücreleri:

Vücudun en büyük sabit makrofaj popülasyonu olan Kupffer hücreleri, tüm karaciğer hücrelerinin yaklaşık %15'ini oluşturur. Fenestralı endotelial hücreleriyle birlikte sinüzoid duvarını oluştururlar. Kupffer hücreleri, toksik, yabancı ve enfektif maddeleri kan dolaşımından uzaklaştırarak ve yok ederek konakçı savunmasında önemli bir rol oynar.(21)

-Hepatik Stellat Hücreler(İto Hücreleri):

Disse aralığının perisinüzoidal boşluğunda hepatositler ve endotel hücreleri arasında yer alan yıldız şekilli hücrelerdir. Normal bir karaciğerde, vücuttaki toplam A vitamininin % 80'ini sitoplazmalarında bol miktarda bulunan büyük lipid damlacıkları yoluyla depolarlar ve taşınmasını düzenlerler.(21)

-Dissé aralığı:

Sinüzoidal lümendeki plazma, endotel hücrelerindeki fenestrasyonlar ve aralarındaki boşluklar yoluyla Dissé aralığı ile iletişim kurar. Hepatositler böylece plazma ile doğrudan temas eder. Hepatosit yüzeyi çok sayıda mikrovillus ile emilim yüzeyini artırır ve sitoplazması, salgılama ve emilim için geniş bir yüzey alanına sahip birçok vezikül ve vakuole sahiptir. Eksojen A vitamini depolayan yağ içeren İto hücreleri de Dissé aralığında yer alır. Bu hücreler genellikle büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre dışı matris proteinleri salgılar. Alkolik karaciğer hastalığı gibi bazı patolojik durumlarda fibrozis gelişimine katkıda bulunabilirler. (21)

2.1.3 Karaciğer Fonksiyonları

2.1.3.1. Kan depo işlevi

Karaciğer vücutta en çok kanlanan organdır; dual kan akımı sayesinde kalp debisinin yaklaşık üçte birini(1 ml kan/1g karaciğer dokusu) alır.(17) Hepatik venler ve sinüsler de dahil olmak üzere normal kan hacmi yaklaşık 450 ml veya vücudun toplam kan hacminin neredeyse% 10'udur. Karaciğer genişleyebilen bir organ olduğu için kan damarlarında büyük miktarlarda kan depolanabilir ve rezervuar görevi görür. Sağ atriyumdaki basınç yükseldiğinde karaciğerde geri basınca neden olur ve karaciğer genişler, hepatik venlerde ve sinüslerde yaklaşık 0.5 ila 1 litre ekstra kan depolanabilir.(22)

2.1.3.2. Kan temizleme işlevi

Bağırsak duvarından kaynaklanan kan birçok bakteri barındırır. Karaciğer sinüslerinde bulunan büyük makrofajlar olan Kuppfer hücreleri aracılığı ile, portal kandaki partiküller uzaklaştırır. Portal kanda bulunan bakterilerin %1'den azı sistemik dolaşıma ulaşabilir.(22)

2.1.3.3. Metabolik işlevleri

Karaciğer, proteinleri, karbonhidratları, lipitleri ve diğer birçok bileşiği metabolize eder ve sentezler.

- Karbonhidrat metabolizması

Karbonhidrat metabolizmasında karaciğer, büyük miktarlarda glikojenin depolanması, galaktoz ve fruktozun glukoza dönüştürülmesi, glukoneojenez, karbonhidrat metabolizması ara ürünlerinden birçok kimyasal bileşiğin oluşumu işlevlerini yerine getirir.(22)

-Yağ metabolizması:

Vücudun birçok hücresi yağı metabolize etmesine rağmen, yağ metabolizmasının belirli yönleri esas olarak karaciğerde meydana gelir. Yağ metabolizmasında karaciğer, enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu, büyük miktarlarda kolesterol, fosfolipit ve çoğu lipoprotein sentezi, proteinlerden ve karbonhidratlardan yağ sentezini gerçekleştirir. Karaciğerde sentezlenen kolesterolün yaklaşık % 80'i, safraya salgılanan safra tuzlarına dönüştürülür; geri kalanı lipoproteinler ile diğer doku hücrelerine taşınır.(22)

-Protein metabolizması:

Karaciğerin protein metabolizmasındaki önemli işlevleri; aminoasitlerin deaminasyonu, vücut sıvılarından amonyağın uzaklaştırılması için üre sentezi, plazma proteinlerinin sentezi ve aminoasitlerin birbirlerine ve farklı bileşiklere

dönüştürülmesidir. Karaciğerin protein metabolizmasındaki işlevinin kısıtlanması halinde birkaç gün içerisinde ölüm meydana gelir.(22)

-Vitamin Depolanması:

Başta A vitamini olmak üzere A,D,E,K ve B12 vitaminleri ve ferritin halinde demir hepatositlerde depolanır.(17)

-Ferritin depolanması:

Hemoglobindeki demir haricinde vücuttaki demir en büyük oranda ferritin şeklinde karaciğerde depolanır. Hepatositler, demir ile tersinir şekilde birleşebilen büyük miktarda apoferritin proteinini içerir. Dolayısıyla vücut sıvılarında fazla miktarda demir bulunduğunda, ferritin oluşturmak üzere apoferritin ile birleşir ve ihtiyaç duyulana kadar hepatositlerde depolanır, gerektiğinde plazmaya salgılanır. Böylece, karaciğerin apoferritin-ferritin sistemi bir demir depolama ortamının yanı sıra bir kan demir tamponu gibi davranır. (22)

-Koagülasyon maddelerinin sentezi:

Koagülasyon kaskasında fibrinojen, protrombin, hızlandırıcı globulin, faktör VII ve diğer birkaç önemli faktör karaciğerde sentezlenir ve K vitamini, bu

maddelerin birçoğunun, özellikle protrombin ve Faktör VII, IX ve X'un oluşumu için gereklidir.(22)

-Bilirubin metabolizması:

Hemoglobin parçalanması ile oluşan Hem metabolizmasının son ürünü olan bilirubin, plazmada albümine bağlı olarak taşınır. Bilirubin, karaciğerde albüminden ayrılıp yaklaşık %80'i glukuronik asitle, %10'u sülfatla birleşerek bilirubin glukuronat ve bilirubin sülfat oluştururken, geri kalan %10'u çeşitli maddelerle birleştirilir, konjuge bilirubin oluşur. Konjuge bilirubinin yaklaşık %50'si suda eriyen ürobilinojene çevrilir ve safraya salgısı ile atılır. Ürobilinojenin bir kısmı barsak mukozasından kana geçer. Kana geçen ürobilinojenin büyük kısmı karaciğerden tekrar barsağa atılırken, yaklaşık yüzde 5'i de böbreklerden geçip idrar ile atılır.(22)

-Detoksifikasyon işlevi:

Karaciğer çok sayıda özel yolaklara sahiptir ve sitokrom p 450(CYP450) ve diğer enzimleri kullanarak sistemik ve portal kandan kaynaklanan ksenobiyotikleri, toksinleri, hormonları ve diğer maddeleri detoksifiye eder, kimyasal olarak değiştirilir ve/veya safrayla birlikte atılır.(17)

2.2 İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

İskemi ve reperfüzyon (İR), hipoksik bir dokuda oksijen dağıtımının restorasyonu ile hücresel hasarın belirginleştiği bir fenomendir.(23) İskemi sırasında doku ya da organın vasküler oklüzyon ya da hipoperfüzyon nedeni ile oksijenizasyonu bozulur, anaerobik metabolizma ortaya çıkar. Buna sebep olan nedenin ortadan kalkması ile birlikte kanlanma ve oksijenizasyon tekrar sağlanır(reperfüzyon), ancak bu durum iskemi ile meydana gelen hasarı daha çok artırır.

İskemi türleri, iskeminin derecesine göre tanımlanabilir. Daha spesifik olarak, total veya kısmi iskemi, sırasıyla, kan damarının lümeninin tam veya yalnızca küçük alanların oklüzyonu olarak tanımlanır. Bir süre oklüzyondan sonra kan akışı devam ettiğinde reperfüzyon gerçekleşir. Reperfüzyon, iskemik olayın süresi ve kapsamıyla ilişkili bir dizi patolojik değişikliği beraberinde getirir.(1)

İskemi, iskeminin gerçekleştiği sıcaklığa bağlı olarak da sıcak ve soğuk iskemi olarak sınıflandırılabilir. Genellikle 37 ° C'de sıcak iskemi ve yaklaşık 4–7 ° C'de soğuk iskemi oluşur. Klinik olarak, trombotik iskemi, travma ve cerrahi sırasında sıcak iskemi görülür, soğuk iskemi ise organ transplantasyonlarında daha yaygındır. Sıcak iskemi genellikle hücre ve moleküler yollara zarar verirken soğuk iskemi koruyucu olabilir çünkü metabolik süreçler ve hücresel adenosin trifosfat (ATP) talebi daha düşük sıcaklıklarda büyük ölçüde azalır. (1) Sıcak ve soğuk iskemi arasındaki en önemli fark, soğuk İR hasarına bazı hücre gruplarının daha duyarlı olmasıdır. Endotel hücreleri soğuk iskemiye daha duyarlıdır ve soğuk

saklamaya bağlı olarak apoptoz ve mikrosirkülasyonda bozulmalar ve trombozda artış meydana gelir. Ayrıca artan soğuk iskemi süreleri, reperfüzyonda artmış Kupffer hücre aktivasyonu ve ROS ve sitokin üretiminde artışa neden olur.(24)

İskemi ile dokuda hipoksi meydana gelir ve hücrede enerji açığı meydana gelir. Oksijen azalması ile mitokondride Elektron Taşıma Zincirinin (ETZ) işlevi bozulur ve bu ATP üretiminin azalmasına neden olur. Hücre mitokondriyal ATP üretiminin azalmasıyla anaerobik metabolizmayı artırır. Anaerobik metabolizma sırasında, hücrelerde daha düşük seviyede ATP ve antioksidatif ajanlar üretilir. Ayrıca anaerobik metabolizma ile laktik asidin retansiyonu metabolik asidozu artırır.

ATP azalması nedeniyle hücre yüzeyinde sodyum-potasyum pompaları ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ pompaları) ve kalsiyum pompaları ($\text{Ca}^{2+} - \text{ATPaz}$ pompaları) çalışamaz; hücre içinde sodyumun ve hücre dışında potasyumun tutulmasına neden olur. Hücrelerdeki daha yüksek sodyum seviyesi, sodyum-hidrojen değiştirici pompalarının ($\text{Na}^+ - \text{H}^+ - \text{pompaları}$) aktivitesini azaltır. Endoplazmik retikulum üzerindeki kalsiyum pompaları ($\text{Ca}^{2+} - \text{ATPaz}$ pompaları) da işlevsiz hale gelir ve bu da kalsiyum geri alımını sınırlar. Hücre içi Ca^{2+} artışı proteazlar, fosfolipazlar, endonükleazlar ve ATPazlar gibi çok sayıda enzimi aktif hale getirir; proteazların aktivasyonu, hücre iskeletinin ve fosfolipazların aktivasyonu hücre zarının yapısının bozulmasına, endonükleazların aktivasyonu kromatin parçalanmasına, ATPazlar ATP tüketiminin hızlanmasına sebep olur. Hücrelerde, hidrojen, sodyum ve kalsiyum iyonlarının birikmesi hiperosmolariteye neden olur, bu da sitoplazmaya su akışına ve hücre şişmesine neden olur. Hidrojenin tutulması

hücrel pH'ı düşürerek enzim aktivitesinin bozulmasına ve nükleer kromatinin kümelenmesine yol açar. Ribozomların ayrılması protein sentezini azaltır. (25)

İskemi süresi ve şiddetine bağlı olarak iki tür hücre hasarı meydana gelir: Geri dönüşlü ve geri dönüşsüz hücre hasarı.

-Geri dönüşümlü hücre hasarı:

Birkaç dakikalık iskemi sırasında yüksek enerjili fosfat olan fosfokreatinin ve ATP depoları boşalır, ve hücre iyon pompaları görevlerini yerine getiremez. Özellikle Na^+ , K^+ ve Ca^{2+} iyon dengeleri bozulur. Hücre içi Na^+ ve Ca^{2+} birikiminin sonucu olarak hücrel şişme meydana gelir. Hücrel ATP'nin azalması ile ADP(Adenozin di-fosfat) ve AMP (Adenozin mono-fosfat) birikimi meydana gelir. Artan AMP, fosforuktokinazı uyarır, anaerobik glikoliz artarak ATP sentezi sağlanır. Artan ADP ve AMP'nin yıkımı ile hipoksantin, hidrojen iyonu ve inorganik fosfat hücre içinde artış gösterir, asidoz artar. Normal şartlar altında hipoksantin, ksantin dehidrogenaz aracılığı ile ksantine ve sonra ksantin de ürik aside dönüşür. İskemi sırasında, Ca^{2+} artışı ve proteazların etkisi ile ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüşür. Ksantin dehidrogenaz substrat olarak Nikotinamid dinükleotid(NAD) kullanırken, Ksantin oksidaz substrat olarak oksijen kullanır; iskemi sırasında oksijen bulunmaması sebebiyle hücrede hipoksantin birikir. Reperfüzyonla birlikte dokuya tekrar oksijen sunumu olur ve ksantin oksidazın aktivasyonu ile dokuda ROS oluşumu gerçekleşir.(26) Serbest radikallerin oluşumu ile ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır ve protein sentezi azalır. Membran geçirgenliği artar, hücre hatları bozulur. Hücreye

oksijen sunumu sağlanır ise bu değişiklikler düzelebilir, ancak iskemi devam ederse geri dönüşsüz hasar gerçekleşir.(27)

-Geri dönüşsüz hücre hasarı:

İskeminin devam etmesi sonucu, membran geçirgenliğinin bozulması ile hücre proteinler, koenzimler ve nükleik asitleri , enerji üretimi için ihtiyaç duyduğu yüksek enerjili fosfatları yitirir.(28) Hücre içi asidoz, lizozomal membranların bozulmasına ve sitoplazmaya geçen enzimler ile hücre bileşenlerinin sindirimine sebep olur. Hücre ölümü gerçekleşir ve diğer hücrelerce fagosite edilir ya da yağ asitlerine parçalanır. Mitokondriyal işlev bozukluğunun reoksijenizasyon ile düzelmemesi ve belirgin membran işlev bozukluğu geri dönüşsüzlüğü belirleyen temel unsurlardır. Buna sebep olan en önemli unsur ise Ca^{2+} birikimidir. İskemi ile hücre içinde biriken Ca^{2+} iyonları, membran bütünlüğünün bozulmasını takiben daha çok birikir ve geri dönüşsüz hasara neden olan mekanizmaları tetikler; proteazlar ve fosfolipazları aktive eder, fosfolipaz A2 aktivasyonu ile membran fosfolipitlerinden araşidonik asit oluşur ve araşidonik asit mitokondriyal enzimleri direkt inhibe eder, serbest radikal oluşumunu artırır. Morfolojik olarak hücrede, mitokondrilerin vakuolizasyonu, mitokondri matriksinde şekilsiz yoğunlaşmalar, plazma membran yıkımı, lizozomlarda şişme gözlenir. Mitokondriyal geri dönüşü olmayan değişiklikler 30-40 dakikalık bir iskemi süresinde gözlenebilir. Membran bütünlüğünün bozulması ayrıca hücre içinde bulunan katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin kaybını artırır ve daha fazla ROS

birikimine neden olur. Bu sebeple iskemi süresinin uzaması ile reperfüzyon ile oluşacak serbest radikal hasarı doğrudan ilişkilidir. (26)

-Reperfüzyon:

Reperfüzyon aşamasında, iskemik dokuya kan akışı yeniden sağlanır ve hücrelere yeniden oksijen sunulur. Oksijen sunumu ile birlikte, iskemik hücrelerde mevcut düşük antioksidatif ajan konsantrasyonu nedeniyle ROS oluşumu artar. ROS, endotel disfonksiyonunu, DNA hasarını ve lokal inflamatuvar tepkileri teşvik eden oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres ve inflamatuvar kaskat, daha sonra bir sitokin fırtınasına neden olarak hücre ölümüne neden olabilir. Reperfüzyon aşaması dinamiktir ve birkaç gün sürebilir.(25) Dolaşımın sağlanması ile dokuda biriken proinflamatuvar sitokinler ve toksik maddeler nedeni ile reperfüzyon aşaması İR hasarında uzak organ zedelenmesine de neden olur.

2.2.1 Karaciğerde İskemi Reperfüzyon Hasarı

Karaciğer rezeksiyonu, hemorajik şok, abdominal travma ve diğer cerrahi müdahaleler esnasında uygulanan kan kaybını azaltmaya yönelik teknikler, karaciğer İR hasarına neden olabilir. Cerrahi manevraları kolaylaştırmak ve kanama kontrolü için hepatik kan akışının geçici olarak bloke edilmesi gerekebilir. 1908'de Pringle'ın önerdiği, hepatik kanamaları engellemek için hepatik pedikülün (hepatik arter, portal ven ve ana safra kanalı) tam klemplenmesi (Pringle manevrası) halen sıklıkla kullanılmaktadır.(29,30)

Karaciğer İR hasarı, iskemi aracılı hücresel hasarı ve ardından karaciğerin reperfüzyonu üzerine paradoksal bir alevlenmeyi içeren patolojik bir süreçtir. Karaciğer İR hasarı iki farklı tipte sınıflandırılabilir: sıcak ve soğuk İR hasarı. Klinik ortamda farklılıklar olsa da, altta yatan patofizyoloji benzerdir. Sıcak İR, hepatoselüler hasarla başlar ve karaciğere kan akışında geçici bir düşüş olabileceği karaciğer transplantasyonu cerrahisi, şok ve travma sırasında ortaya çıkar. Soğuk İR, karaciğer transplantasyonu ortamına özgüdür ve hepatik sinüzoidal hücreler tarafından ve mikrosirkülasyonun bozulması ile başlar. Her iki IR hasarı steril, lokal, doğal bağışıklık yanıtı ile ilişkilidir. (31)

Karaciğer İR hasarı, karaciğer enzimlerinin yükselmesine, safra darlıklarına ve greft disfonksiyonuna neden olur. Her ikisi de yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahip olan sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna (SIRS) ve çoklu organ disfonksiyon sendromuna (MODS) yol açabilir.(31)

2.2.2. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Patofizyolojisi

Karaciğer IR hasarı, birçok farklı hücre tipini, çok sayıda sinyal yolunun etkileşimini içeren karmaşık bir süreçtir ve mekanizması, son yıllarda çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen hala tam olarak anlaşılamamıştır.(31) Karaciğer İR hasarı sürecinde yer alan faktörler ve yollar arasında anaerobik metabolizma, mitokondri, oksidatif stres, hücre içi kalsiyum aşırı yüklenmesi, Kupffer hücreleri ve nötrofiller, sitokinler ve kemokinler bulunur.(2)

İskemi sırasında hepatositlerde meydana gelen hipoksi, mitokondriyal enerji azalması ve ATP tükenmesine neden olur, hücrel metabolizma aerobikten anaerobiğe geçiş yapar. ATP tükenmesi ile glikoliz artışı, laktat birikimine, H^+ , Na^+ ve Ca^{2+} homeostazında değişikliklere neden olur.(32) Ayrıca iskemi ile cAMP bağımlı protein kinaz aracılığı ile hücrede cAMP artışı meydana gelir, bu da karbonhidrat metabolizmasının kontrolünde yer alan anahtar enzimlerin fosforilasyon/deregölasyonuna yol açar.(33) Sonuç olarak, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun azalmasının eşlik ettiği laktik asit ve keton cisimcikleri gibi asidik metabolit birikimi meydana gelir ve bu, metabolik asidoza neden olarak dokular ve hücreler arasında pH değerlerinin düşmesine neden olur, hidrolitik enzimler inhibe olur. Çeşitli çalışmalarda, bu değişikliklerin karaciğer hücrelerinde iskemi hasarına karşı önemli koruyucu rol oynadığını göstermiştir. Bununla birlikte, pH paradoksu etkisi ile, pH değerleri reperfüzyondan sonra normale döner ve proteaz ve fosfolipazlar gibi pH'a bağlı enzim aktivasyonunu daha da arttırarak doku ve organlar hasarını kötüleştirir.(2)

İntraselüler asidoz(artan hücre içi H^+ konsantrasyonu), Na^+/H^+ değiştirici pompanın aktivitesini artırır ve bu hücre içi Na^+ konsantrasyonunun artmasına neden olur. ATP'ye bağımlı Na^+/K^+ değiştiricinin aktivitesinin azalması, hücre içi Na^+ konsantrasyonunu daha da arttırarak hücrel şişme ve ölüme neden olur. Bu hücrel şişme, sinüzoidal lümenin daralmasına ve mikrosirkülasyonda bozulmaya yol açar. (34) Ayrıca, intraselüler Na^+ artışı, Na^+/Ca^{++} değiştirici pompayı uyarır, Ca^{++} 'un hücre içine hareketine neden olur. ATP tükenmesi nedeni ile Ca^{++} -ATPaz kanallarının inhibe olması, endoplazmik retükulumdaki ryanodin

reseptörlerinin ve membrandaki geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanallarının aktivasyonu Ca^{++} artışına katkıda bulunur. Aşırı artan sitozolik Ca^{++} , fosfolipazlar ve kalpainler dahil Ca^{++} bağımlı enzimleri aktive eder ve apoptoza yol açar. Aynı zamanda, artmış sitozolik Ca^{++} , mitokondriyal membranda Ca^{++} uniportlarını aktive ederek mitokondriyal Ca^{++} konsantrasyonunu artırır; mitokondriyal permeabilite değişim (MPT) porlarının oluşumunu indükler ve nekroz ve apoptoza neden olur.(31)

Nitrik oksit (NO) ve Endotelin (ET) üretimi arasındaki dengesizlik de sinüzoidal lümenin daralmasına ve mikrosirkülasyon bozukluğuna katkıda bulunur.(23) NO ve ET, stellat hücrelerin kasılmasına neden olarak karaciğer sinüzoidleri içindeki kan akışını düzenlemede önemli bir role sahiptir. ET, stellat hücrelerin doza bağımlı bir şekilde kasılmasına neden olurken, NO gevşemelerine neden olur. Reperfüzyon sonrası plazma ET seviyelerinde bir artış ve buna eşlik eden NO plazma seviyelerinde bir düşüş vardır.(31,35) NO, birkaç izoformu bulunan enzim NO sentaz (NOS) tarafından L-arginin'den sentezlenir. Normal şartlarda karaciğerde endotelial NOS (eNOS) mevcuttur ve düşük miktarda bulunan NO ile hepatik mikrosirkülasyon düzenlenir. İskemi sonrasında indüklenebilir NOS'un (iNOS) uyarılması, aşırı miktarda NO üretilmesiyle, NO'dan reaktif nitrojen deriveleri oluşumuna neden olarak, karaciğer İR hasarını kötüleştirir. (36)

İR sırasında Kupffer hücreleri aktive olur, ROS ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 (IL-1) dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin salınımını gerçekleştirir. (37) Sitokinler, adezyon moleküllerinin (interselüler hücre adezyon molekülü-ICAM ve vasküler hücre adezyon molekülü-VCAM) ve

kemokinlerin indüksiyonu boyunca salınır, nötrofil aktivasyonunu ve birikimini destekler, böylece ROS ve proteazları serbest bırakarak parankimal hasarın ilerlemesine katkıda bulunur. Ek olarak IL-1 ve TNF- α , granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), interferon gama ve TNF- β üreten CD4+ T lenfositlerin dokuya göçünü sağlar ve aktive eder. Bu sitokinler, Kupffer hücre aktivasyonunu ve TNF- α ve IL-1 sekresyonunu güçlendirir ve nötrofil aktivasyonunu ve sinüzoidlere adezyonunu destekler. Platelet aktive edici faktör(PAF), nötrofilleri süperoksit oluşumu için hazırlarken, lökotrien B4, nötrofil yanıtının amplifikasyonuna katkıda bulunur.(23)

2.3 Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizmalar

Serbest radikaller, dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük atom veya moleküllerdir. (38) Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron kaynaklı kararsızlıkları nedeniyle diğer maddelerle kolayca reaksiyona girerler. Eşleşmiş elektronlu (dış orbitalinde çift halinde elektron bulunan) maddeler ise serbest elektron taşıyan maddeler kadar kolay reaksiyon eğilimi göstermezler. Serbest radikaller oksijen (reaktif oksijen türleri-(ROS)) ya da nitrojen (reaktif nitrojen türleri-(RNS)) kaynaklı olabilirler. (39)

Serbest radikaller, normal hücresel metabolizma ürünleri olmalarının yanında, ilaçlar ve intoksikasyon, radyasyon, güneş ışığı, hiperoksi ve sigara gibi dış etkenlerle de ortaya çıkabilirler. ROS ve RNS, düşük orta konsantrasyonlarda

mikroorganizmalara karşı savunma sisteminin ve çeşitli hücrel sinyal iletim sistemlerinin bir parçasıdır. Mitokondriyal ve mikrozomal elektron transport sistemleri, ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, monositler, makrofajlar, nötrofiller ve eozinofiller endojen serbest radikal kaynaklarındandır. (40,41)

Serbest radikallerin, potansiyel biyolojik hasara neden olan zararlı etkileri, oksidatif ve nitrosatif stres olarak tanımlanır. ROS/RNS aşırı üretimi ile birlikte, enziomatik ve enzimatik olmayan antioksidan etkinliğin yetersiz olduğu durumda meydana gelirler. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi çeşitli kimyasal yapılara sahiptir ve en önemlileri oksijenden oluşan, reaktif oksijen radikalleridir. Oksidatif stres altında organizmada prooksidan/antioksidan reaksiyonlarda dengesizlik meydana gelir ve aşırı ROS, hücrel lipitlerde, proteinlerde ve nükleik asitlerde hasara neden olur. Organizma bu etkileri önlemek ve oksidan/antioksidan dengesini sağlamak adına sürekli bir redoks regülasyonu sürecindedir. (41)

2.3.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

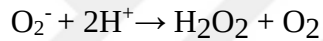
-Süperoksit radikali (O_2^-)

Oksijen molekülüne bir elektron ilavesiyle O_2^- oluşur. Genellikle mitokondriyal enerji dönüşümü sırasında, elektron transfer zincirinde, kompleks I ve kompleks III'te oluşur.(39) Süperoksit radikali, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermez ve tek başına radikal değildir.

Süperoksit radikali; H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) ve singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), $\text{OH}^\cdot$ ile tepkimeye girerek $^1\text{O}_2$ oluşturabilir.(42)

-Hidrojen Peroksit (H_2O_2) :

Hidrojen peroksit, tek başına radikal olmayıp, kararsız yapısı nedeni ile süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek, en reaktif serbest radikal olan hidroksil radikalini oluşturmaktadır. H_2O_2 , SOD enziminin katalizlediği ve süperoksit radikalinin 2H^+ ile reaksiyonu sonucu oluşur.(43)



-Hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) :

Bilinen en reaktif, biyolojik sistemlerle en güçlü reaksiyona giren ve en fazla hasara neden olan, yarı ömrü çok kısa olan oksijen radikalidir. Hidrojen peroksit, demir (Fe^{+2}) veya bakır (Cu^+) veya diğer geçiş elementleri varlığında indirgenerek $\text{OH}^\cdot$ 'ye dönüştürülür. Bu reaksiyona “Fenton reaksiyonu” denir. Süperoksit radikali, Fenton reaksiyonu ile oluşan metal iyonlarını indirger ve tekrar kullanılmasında önemlidir. Bu iki reaksiyon birlikte “Haber-Weiss reaksiyonu”nu oluşturur. Geçiş metalleri böylece $\text{OH}^\cdot$ oluşmasında önemli bir role sahiptirler.(39)

2.3.2 Reaktif Nitrojen Türleri

-Nitrik Oksit ($\text{NO}^\cdot$) :

Nitrik oksit, L-argininden NOS enzimi aracılığı ile sentezlenir. Üç farklı NOS enzimi mevcuttur: eNOS, nNOS ve normal şartlarda üretilmeyen ancak inflamasyon, enfeksiyon gibi durumlarda sitokinler ve endotoksinlerin sentezini indüklediği iNOS. eNOS ve nNOS'un katalizlediği NO üretimi kalsiyum-kalmodulin kompleksine bağımlı iken, iNOS reaksiyonu Ca^{2+} 'dan bağımsızdır. (26)

NO, vasküler tonusun regülasyonu, platelet agregasyon inhibisyonu, endotele lökosit adezyonu engellenmesi, ROS temizlenmesi, endotel hücre rejenerasyonu gibi birçok fizyolojik olayda görev alır. Ayrıca iskemik dokularda SOD enziminin aktivitesini artırarak H_2O_2 birikimini azalarak koruyucu etkiye bulunur. IR hasarı sırasında oluşan endotel hücre disfonksiyonu sonucu NO miktarı azalır. (26) NO çoğu zaman antioksidan davranmasının yanında, süperoksitin çok arttığı durumlarda süperoksit ile tepkimeye girerek prooksidan olan peroksinitriti oluşturur.(44)

Serbest radikallerin hücre ve dokularda , nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, membranların yapısında ve fonksiyonlarında bozulma, enzim aktivitelerinde, lipid metabolizmasında değişiklikler, mukopolisakkaritlerin yıkımı, hücrenin tiyol/disülfid oranının değişmesi, tiyol bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerin oksidasyonu gibi zararlı etkileri mevcuttur.(26)

2.3.3 Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller, biyolojik sistemlerde elektron alıcı/oksidan moleküllerdir. Oksidanlar hedefledikleri moleküllerden elektron alarak , moleküllerin yapılarını ve işlevlerini değiştirirler. Fizyolojik koşullar altında, serbest radikaller çok sayıda antioksidan mekanizma ile etkisiz hale getirilirler. (45)

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi (*Scavenging*): Oksidan molekülleri daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirirler. Antioksidan enzimler, mikromoleküller, trakeobronşial mukus bu yolla antioksidan etkinlik gösterir.

2. Söndürme etkisi (*Quenching*): Oksidan moleküllere, bir hidrojen aktararak inaktive ederler. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.

3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (*Chain Breaking*): Hemogloblin, seruloplazmin ve ağır metaller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.

4. Onarma etkisi (*Repair*): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar. (46)

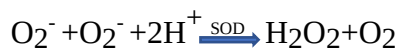
Antioksidanlar endojen ya da eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik etkinlik gösterirler. A, C, E vitaminleri, glutatyon, alfa-lipoik asit, koenzim Q-10, mineraller(bakır, çinko, selenyum), kofaktörler(folik asit, albümin, vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂) non-enzimatik antioksidan

örnekleridir. SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-s-transferaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimatik antioksidanlardır.(47)

Eksojen antioksidanlar; ilaçlar, gıdalar ve vitaminlerde doğal ve yapay olarak bulunan antioksidanlardır. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar; troloks-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (glutatyon peroksidaz aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), rekombinant SOD, NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium), sitokinler (TNF- α ve IL-1), non-enzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferoksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, barbitüratlar, demir şelatörleridir.(48)

-Süperoksit Dismutaz (SOD):

Süperoksit dismutaz, metalloprotein yapıdadır, insanlarda ekstraselüler, mitokondriyal ve sitozolik olmak üzere üç formu mevcuttur. Süperoksit anyonunun, H₂O₂ ve O₂'ye dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bu oksidatif strese karşı ilk savunma olarak kabul edilir. (44) SOD, lipid peroksidasyonunun inhibisyonunda da görev alır.(49)



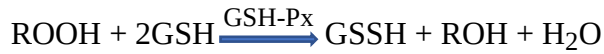
-Katalaz(CAT):

Katalaz, yapısında Fe^{+3} bulunduran ve 4 Hem grubundan oluşan bir hemoproteindir. Hücrede başlıca peroksizomlarda, daha az miktarda mikrozom ve sitozolde bulunur. İki aşamalı bir reaksiyon olan, hidrojen peroksitin, su ve moleküler oksijene dönüştürüldüğü reaksiyonun katalizörüdür. CAT, sınırlı glutatyon içeriği veya azalmış glutatyon peroksidaz aktivitesi olduğunda özellikle önemlidir ve hücrelerin oksidatif strese karşı savunmasında önemli rol oynamaktadır. CAT aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yüksektir.(44)



-Glutatyon peroksidaz(GSH-Px):

Selenosistein içeren 4 alt birimden oluşan glutatyon peroksidaz, H_2O_2 suya çevrilirken, redükte glutatyonun (GSH) yükseltgendiği tepkimenin katalizörüdür. Okside olan glutatyon, glutatyon disülfülfit (GSSG) haline gelir ve glutatyon redüktaz varlığında tekrar GSH'e indirgenir. (41) GSH-Px, fagosittik hücrelerde önemli fonksiyona sahiptir; solunum patlaması sırasında antioksidan etkinliği ile hücrenin zarar görmesini engeller. (49)



-Glutatyon-S Transferaz (GST) :

Glutasyon konjugasyonu aracılığı ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda yer alan ve endojen oksidan maddelere karşı antioksidan etkinlik gösteren enzim ailesidir. Önemli substratları arasında CYP450 enzimlerinin katalitik etkileri sonucu oluşan polisiklik aromatik hidrokarbon bileşikler ve endojen antioksidan maddeler bulunur. (50) Glutasyonun lipid peroksidasyon ürünlerine konjugasyonunda, selenyum bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi ile önemli rol oynarlar.(51) GST'ler insanda, alfa, mü, pi, teta ve zeta olmak üzere beş tipte bulunmakadır.(52)

-Paraoksonazlar(PON):

İlk olarak bir organofosfat olan paraoksonu hidroliz eden PON1 enziminin keşfi nedeni ile paraoksonaz olarak adlandırılan, PON1, PON2, ve PON3 olmak üzere üç üyesi bulunan enzim ailesidir. Esteraz aktivitesi gösteren bu enzimler, organofosfatları, aromatik esterleri hidrolize ederler.(53) PON1 ve PON3 karaciğer ve böbrekte sentezlenir ve HDL yapısında plazmaya geçer; PON2 ise hemen hemen tüm dokularda sentezlenir ve hücre içi bir enzimdir. PON enzimi en fazla karaciğerde sentezlenir. Antioksidan özelliktedirler ve HDL yapısında bulunmaları nedeni ile anti-aterojen etkinlikleri gösterilmiştir.(54) PON1, HDL yapısında, LDL ve makrofajları oksidasyona karşı korur, lipid peroksidasyonunu engeller. (55)

-Malondialdehit (MDA) :

Serbest radikallerle gelişen hücre hasarının önemli mekanizmalarından biri lipid peroksidasyonudur. Malondialdehit(MDA), poliansatüre yağ asitlerinin

peroksidasyonu sonucu meydana gelir, tiyobarbitürik asit reaktif substans (TBARS) olarak ölçülmektedir. Yağ asiti oksidasyonunun spesifik ve kantitatif belirteci olmamakla birlikte, lipid peroksidasyonu ile iyi derecede korelasyon gösterir, oksidan stres ölçümlerinde kullanılır. Plazmada kolay tespit edilir ve plazma çözünürlüğü iyi olduğu için idrarda da bulunabilmektedir.(44,56)

2.4. Platelet Zengin Plazma (PRP)

Plateletler, birincil olarak hemostazdaki rolleriyle bilinen, periferik kandaki küçük, çekirdeksiz cisimlerdir. Yara iyileşmesinin temel yönlerini başlatan ve düzenleyen bir dizi protein, sitokin ve diğer biyoaktif faktörleri içerirler.(57) Platelet zengin plazma (PRP), ilk olarak Marx ve ark.(7) tarafından 1998'de, platelet açısından zengin süpernatantı izole etmek için santrifüjlenen bir kan örneğinden elde edilen, insan ve hayvan kanından türetilen benzersiz bir otolog ajandır.(11) Spor hekimliği, diş hekimliği ve çene cerrahisi, kulak burun boğaz, ortopedi, beyin cerrahisi, oftalmoloji, üroloji, kozmetik, kardiyovasküler ve maksillofasiyal cerrahi gibi birçok alanda kullanımdadır. (57)

PRP, plateletlerin α -granüllerinde bulunan çeşitli büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salınımı ile doku iyileşmesini potansiyel olarak artırabilir. Plateletlerde tanımlanan temel sitokinler arasında dönüştürücü büyüme faktörü - β (TGF- β), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I, IGF-II), fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve endotelial hücre büyüme faktörü yer alır. Bu sitokinler, hücre proliferasyonu, kemotaksis, hücre farklılaşması ve

anjiyogenezde önemli roller oynar (tablo 1). Ayrıca plateletlerin dens granüllerinde serotonin, histamin, kalsiyum, dopamin ve adenosin gibi biyoaktif moleküller bulunmaktadır.(57)

Tablo 1 Plateletlerin alfa-granüllerinde bulunan biyoaktif moleküller (26)

Genel Aktivite Kategorileri	Spesifik moleküller	Biyolojik aktiviteler
Büyüme faktörleri	TGF- β PDGF IGF-I, II FGF EGF VEGF ECGF	Matriks sentezini destekler Kemoatraksiyon, hücre proliferasyonu Hücre çoğalması, matürasyonu, kemik matris sentezi Anjiyogenez, fibroblast proliferasyonu Hücre çoğalması Anjiyogenez Endotel hücre proliferasyonu, anjiyogenez
Adeziv proteinler	Fibrinojen Fibronektin Vitronektin Trombospondin-1	Kan pıhtılaşma kaskadı (fibrin pıhtı oluşumu) Hücre yüzey integrinlerine bağlanır, hücre yapışmasını, hücre büyümesini etkiler, göç ve farklılaşma Hücre yapışması, kemotaksis Anjiyogenezin inhibisyonu
Pıhtılaşma faktörleri	Faktör V, faktör XI, protein S, antitrombin	Hepsi trombin aktivasyonunda ve nihai fibrin pıhtı oluşumunda rol oynar
Fibrinolitik faktörler	Plazminojen Plazminojen aktivatör inhibitörü α -2 antiplazmin	Plazmin üretimi (fibrinolyze yol açar) Plazmin üretiminin düzenlenmesi Plazmin inaktivasyonu
Proteaz ve antiproteazlar	TIMP-4* Metaloproteaz-4 α 1-antitripsin	Matriks degradasyonunun düzenlenmesi Matriks degradasyonu Çeşitli proteazları ve enzimleri inhibe eder
Basit proteinler	Platelet faktör 4 β -tromboglobulin Endostatinler	Anjiyogenezin inhibisyonu Platelet aktivasyonu, anjiyogenezin inhibisyonu Endotel hücre göçü ve anjiyogenez inhibitörleri
Membran glikoproteinleri	CD40 ligand P-selektin	İnflamasyon, interlökinlerin sentezi ve integrin üretimi; platelet-endotel hücre yapışması, hücre sinyalleme, lökositler üzerinde integrin aktivasyon molekülü-1 (PECAM-1) modülasyonu Vasküler hücre adezyon molekülü, lökositlerin inflame dokuya bağlanmasına ve toplanmasına yardımcı olur

*TIMP-4, doku metalloproteaz-4 inhibitörü

Plateletler, İR hasarını modüle etmek için anahtar bileşenlerden biridir. İR hasarı sırasında plateletlerin endotele tromboz ile hasar vermekte rol oynadığına dair bazı araştırmalar vardır.(9,10) Bu nedenle İR hasarında plateletlerin rolünün doku hasarını arttırıcı yönde olduğu değerlendirilmiştir. Ancak, eksojen PRP uygulamasının ROS ve mitokondriyal depolarizasyonu azalttığı, çeşitli antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. Antioksidan özellik, temel olarak α -granüllerinde bulunan sitokinler aracılığı ile gerçekleşmektedir. (58)

2.5 Sevofluran

Sevofluran, kimyasal formülü florometil-2, 2, 2-trifloro-1-(triflorometil) etil eter olan, potent, yanıcı ve patlayıcı olmayan, hoş kokulu bir volatil anestezi ajandır.(59) 1960'larda sentezlenmiş ve 1990 yılında ilk kez Japonya'da klinik kullanım izni almıştır Sevofluran, metil izopropil eterin yüksek florürlü bir türevidir.(60) Nispeten düşük çözünürlüğü sayesinde hızlı anestezi indüksiyonu ve derlenmeye izin verir. Minimal havayolu irritasyonuna sahiptir, bu durum çocuklarda ve gerekli durumlarda erişkinlerde volatil indüksiyon ajanı olarak kullanılmasını sağlar. Minimal kardiyak depresandır, aritmojenik değildir, sempatik deşarj ve taşikardiye neden olmaz. Serebral kan akımı üzerinde minimal etkisi vardır. Güvenli doz aralığı geniştir. Yatkınlığı olan kişilerde diğer volatil anestezikler gibi malign hipertermiye neden olabilir.(61)

Sevofluranın molekül ağırlığı 200.05 g/mol, dansitesi 20°C'de 1.53 g/cm³, kaynama noktası 760 mmHg'da 58.6 °C ve doymuş buhar basıncı 20°C 'de 160 mm Hg'dir. Bu değerler halotan, enfluran ve izofluran ile benzerdir. Kan:gaz çözünürlüğü 0.69'dur. Sevofluranın minimum alveolar konsantrasyonu (MAK) %

1.71 ve %2.05 arasında bildirilmektedir. Bu deęer çocuklarda %2.6, yenidoęanlarda %3.3'tür(dięer volatil anesteziķlerde olduęu gibi eriřkin deęerlerinden yůksektir). Yařla birlikte MAK deęeri dűřer.(62)

Sevofluran, %1-5 oranında metabolize olur. Karacięerde, temel olarak sitokrom P450 (CYP) 2E1 enzimleri tarafından biyotransformasyona uęrar ve inorganik florűr iyonları (F) ve heksafloroizopropanol (HFIP) ačíęa çıkar. HFIP florlanmış űrűnlerin %82'sini oluřturur ve hızla glukuronidasyona uęrayarak űrűner ekskresyonla atılır.(63) Sevofluran anesteziđi sonrası karacięer enzimlerinde minimal yűkselme olabilir, ancak insanlarda HFIP iliřkili toksisite gűzlenmemiřtir. Tekrarlayan maruziyet sonrasında dahi insanlarda, yűkselen plazma F seviyeleri, nefrotoksisite, renal konsantrasyon fonksiyonunda bozulma, mevcut bűbrek yetmezlięinde kűtűleřme ile iliřkilendirilmemiřtir. Pentafloroizopropenil florometil eterin ('Bileřik A'- sevofluranın karbondioksit absorbanları ile reaksiyonundan kaynaklanan temel yan űrűn) neden olduęu nefrotoksisite, ratlarda gűsterilmiř olup, insanlarda bu nedenle nefrotoksisite izlenmemiřtir.(63)

Sevofluranın organ sistemlerine etkisi dięer halojenli eter inhalasyon ajanları ile benzerlik gűsterir. Sevofluran, doza baęımlı solunum depresyonu yaratır, hipoksiye yanıt olan solunum dűrtűsűnű baskılar ve karbondioksit parsiyel basıncında artmaya neden olur. Bronřiyal dűz kaslarda hafif bir relaksasyon yapar. (62)

Sevofluran periferik vaskűler dirençte azalma ile ortalama arteriyel basıncı dűřűrűr, ancak normal anestezi idamesinde kardiyak debi korunur. Daha yűksek konsantrasyonlarda, muhtemelen Ca^{++} kanalları űzerine etkisi ile, myokardiyal

depresyona sebep olabilir. (64) Katekolaminlerin kalp üzerindeki aritmojen etkilerine myokard sensitizasyonuna neden olmaz. Myokardiyal kan akımı üzerine etkisi zayıftır, minimal koroner vazodilatasyona neden olur ancak bu izofluran gibi “koroner çalma”ya sebep olmaz. Diğer halojenli ajanlara göre daha düşük kalp hızı gözlenir, myokardiyal oksijen tüketiminin daha az olmasını, dolayısıyla myokardiyal beslenmenin korunmasını sağlar.(62)

Santral sinir sistemi üzerine etkileri diğer halojenli ajanlarla benzerlik gösterir; yüksek konsantrasyonlarda intrakraniyal basıncı artırır, ancak bu 0.5-1 MAK aralığında söz konusu değildir. Sevofluran anestezisi, konvülsif aktivite ile ilişkili değildir. (65)

Renal ve hepatik kan akımı korunur ve organ toksisitesi gözlenmemiştir. Sevofluran klinik olarak faydalı olan kas gevşemesi ve kas gevşeticilerin etkisinin potansiyalizasyonunu sağlar.(62)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 01.02.2021 tarihli ve G.Ü.ET-21.003 numaralı etik kurul onayı alınarak Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapıldı.

Çalışmada ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen 36 adet, 5 aylık dişi Long Evans rat kullanıldı. Ratların 20-21°C sıcaklıkta, 12 saat gece 12 saat gündüz döngüsü sağlanarak, beslenme ve su ihtiyaçları için çalışma başlangıcına kadar serbest beslenme uygulandı.

3.1 Gruplar ve Kullanılan Yöntemler

Ratlar her grupta 6 tane olmak üzere, rastgele 6 gruba ayrıldı.(**tablo 2**)

Tablo 2. Grupların Dağılımı

Gruplar	Sayı
Donör grubu (Grup D)	6
Kontrol grubu (Grup K)	6
İskemi Reperfüzyon grubu (Grup İR)	6
İskemi Reperfüzyon Sevofluran Grubu (Grup İR-Sevo)	6
İskemi Reperfüzyon PRP Grubu (Grup İR-PRP)	6
İskemi Reperfüzyon Sevofluran PRP Grubu (Grup İR-PRP-Sevo)	6

Yapılan tüm cerrahi işlemler anestezi altında gerçekleştirildi. Anestezi uygulaması intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Alfazyne® flakon %2, Ege Vet) karışımı ile sağlandı. . İşlem, bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi. Cerrahi işlem uygulanan gruplarda, cilt asepsisi sağlanması ardından, ratlara orta hat abdominal bölge insizyonu uygulandı, ardından porta hepatis eksplore edildi.

PRP hazırlanışı: Donör grubundan alınan kan, EDTA'lı tüplere alınarak, 20 °C 1400 rpm'de 20 dakika santrifügasyon uygulandı. Elde edilen süpernatant 1 ml'lik enjektörler ile aspire edilip, İR-PRP ve İR-PRP-Sevo gruplarına intraperitoneal uygulandı.

Donör grubu (GR D): Bu gruptaki ratlardan PRP üretmek için abdominal aortadan kan alındı, işlem sonunda sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Kontrol Grubu (Gr K): Bu gruptaki ratlarda hepatik iskemi yapılmaksızın sadece orta hat abdominal laparotomi yapıp kapatıldı, işlemden dört saat sonra anestezi altında abdominal kan alınması yöntemi ile sakrifikasyon sonrasında ratların karaciğer dokusu çıkartıldı.

İskemi-Reperfüzyon Grubu (Gr İR): Bu gruptaki ratlara orta hat abdominal laparotomi yapıp porta hepatis mikrovasküler klemp konuldu, 120 dakika iskemi

ve 120 dakika reperfüzyon sonrası anestezi altında abdominal kan alınması yöntemi ile sakrifikasyon sonrasında ratların karaciğer dokusu çıkarıldı.

İskemi-Reperfüzyon-Sevofluran Grubu (Gr İR-Sevo): Saydam yapılı, gaz giriş-çıkış deliği bulunan kapalı bir fanus içinde, basınçlı oksijen tankından akımölçer ile oksijen ve standart volatil ajan vaporizatörü ile sevofluran bir hat yardımı ile fanus içinde anestezi verildi. İskemi periyodu ile birlikte minimum alveoler konsantrasyon (MAK) ratlar için 1 olacak şekilde, Sevofluran %2,3 oranında uygulandı. 120 dakika iskemi sonrasında yine anestezi altında 120 dakika reperfüzyon sonrası ratlara intraperitoneal uygulanan ketamin (50 mg/kg) ile abdominal aortadan alınan kan ile sakrifiye edilerek ratların karaciğer dokusu çıkarıldı.

İskemi-Reperfüzyon-PRP Grubu (Gr İR-PRP): Bu gruptaki ratlarda, anestezi sonrası, iskemiden 30 dakika önce PRP 1 ml intraperitoneal (İP) yolla uygulandı. Ratlarda orta hat abdominal laparotomi yapıp porta hepatis mikrovasküler klemp konuldu. 120 dakika iskemi ve 120 dakika reperfüzyon sonrası, ratlara intraperitoneal uygulanan ketamin (50 mg/kg) ile abdominal aortadan alınan kan ile sakrifiye edilerek ratların karaciğer dokusu çıkarıldı.

İskemi-Reperfüzyon-PRP-Sevofluran Grubu (Gr İR-PRP-Sevo): İntraperitoneal PRP 1 ml dozunda uygulandıktan 30 dakika sonra saydam yapılı, gaz giriş-çıkış deliği bulunan kapalı bir fanus içinde, basınçlı oksijen tankından akımölçer ile oksijen ve standart volatil ajan vaporizatörü ile sevofluran bir hat yardımı ile fanus içinde anestezi verildi. İskemi periyodu ile birlikte MAK ratlar için 1 olacak

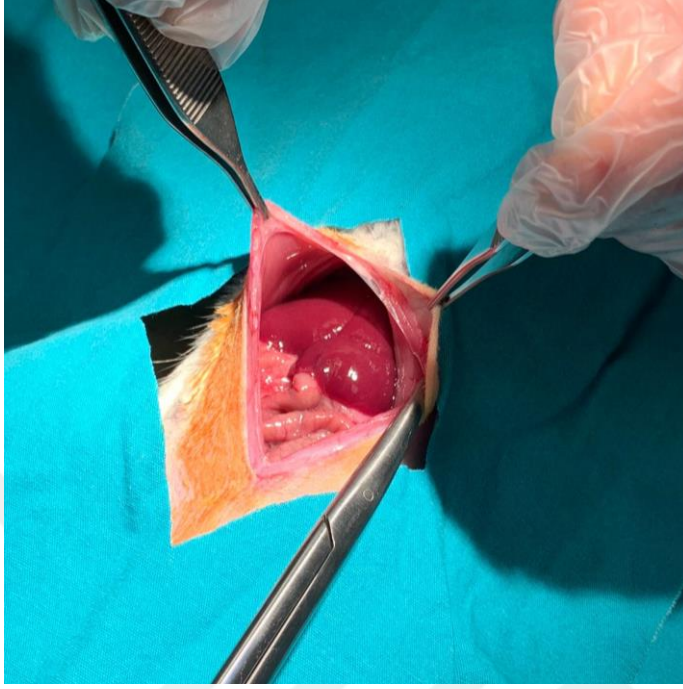
şekilde, sevofluran %2.3 oranında kullanıldı; 120 dakika iskemi sonrasında yine anestezi altında iki saatlik reperfüzyon sonrası ratlara intraperitoneal uygulanan ketamin (50 mg/kg) ile abdominal aortadan alınan kan ile sakrifiye edilerek ratların karaciğer dokusu çıkarıldı.

3.2 Histopatolojik İnceleme

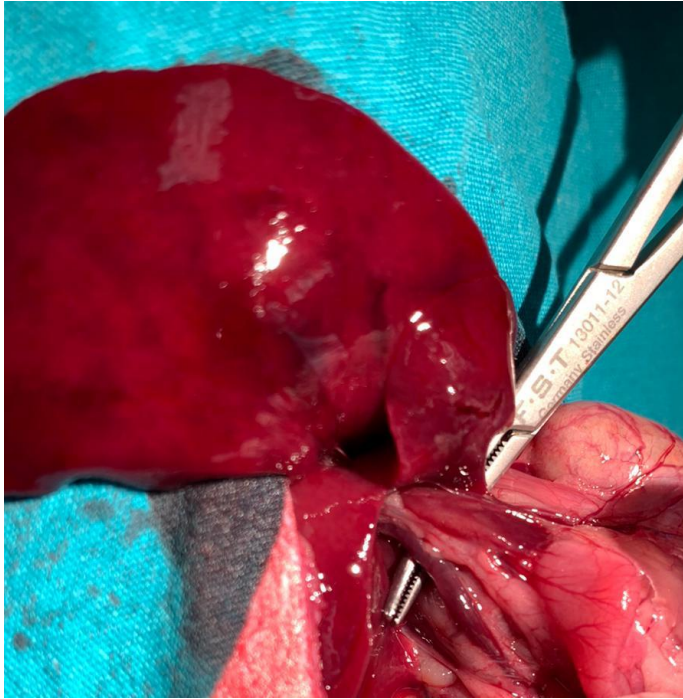
Histopatolojik inceleme Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD'nda yapıldı. Rutin tespit işlemleri yapılan karaciğer parafin bloklara alındı. 5µ'luk kesitler Hematoksilen Eozin ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi. Tüm örnekler deney gruplarından habersiz olan aynı patolog tarafından değerlendirildi.

3.3 Biyokimyasal Değerlendirme

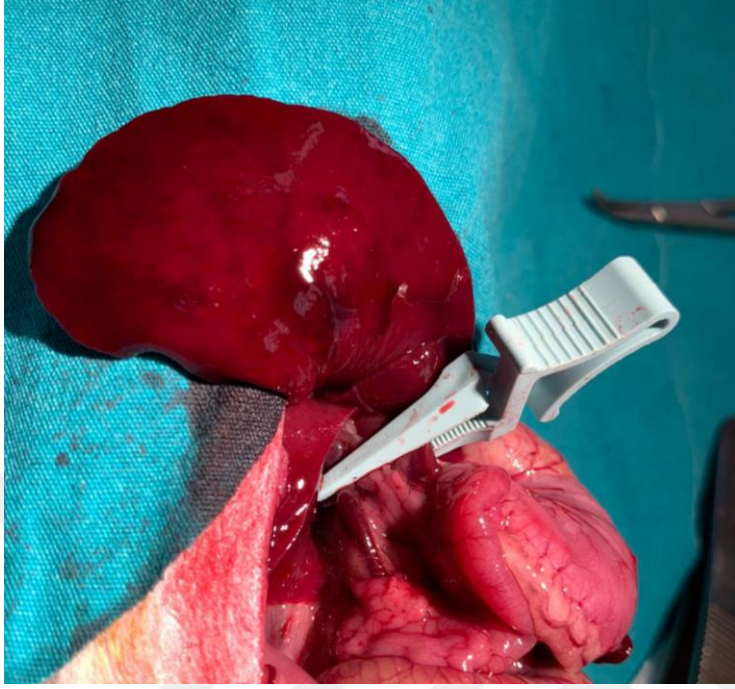
Biyokimyasal inceleme Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD'nda yapıldı. Karaciğer dokularındaki oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için MDA, Katalaz, Glutatyon-s-transferaz ve Paraoksonaz aktiviteleri ölçüldü.



Resim 1 Median laparotomi uygulaması



Resim 2 Porta hepatis disseksiyonu uygulaması



Resim 3 Porta hepatisin klempenmesi

3.4 İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20.0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Bulgular ortalama $\pm$ standart hata (SH) olarak verildi. Veriler Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlılık tespit edilen değişkenler, Bonferroni düzeltmeli Mann-Withney U testi ile değerlendirildi.

4. BULGULAR

Işık mikroskopisinde; hidropik dejenerasyon gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.008$). İR grubunda kontrol grubuna göre hidropik dejenerasyon daha fazla görülmüştür ($p=0.001$). Hidropik dejenerasyon İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında İR grubuna anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.003$, $p=0.009$, sırasıyla), (Tablo-3, Resim 4-12).

Sinüzoidal dilatasyon gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.025$). İR grubunda kontrol grubuna göre sinüzoidal dilatasyon daha fazla görülmüştür ($p=0.002$). Sinüzoidal dilatasyon İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında İR grubuna anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.019$, $p=0.019$, sırasıyla), (Tablo-3, Resim 4-12).

Nekroza giden hücre gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.015$). İR grubunda kontrol grubuna göre nekroza giden hücre daha fazla görülmüştür ($p=0.001$). Nekroza giden hücre İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında İR grubuna anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.006$, $p=0.025$, sırasıyla), (Tablo-3, Resim4-12).

Parankimde MN hücre infiltrasyonu gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.045$). İR grubunda kontrol grubuna parankimde MN hücre infiltrasyonu daha fazla görülmüştür ($p=0.005$). Parankimde MN hücre infiltrasyonu İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında İR grubuna anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.035$, $p=0.035$, sırasıyla), (Tablo-3, Resim 4-12).

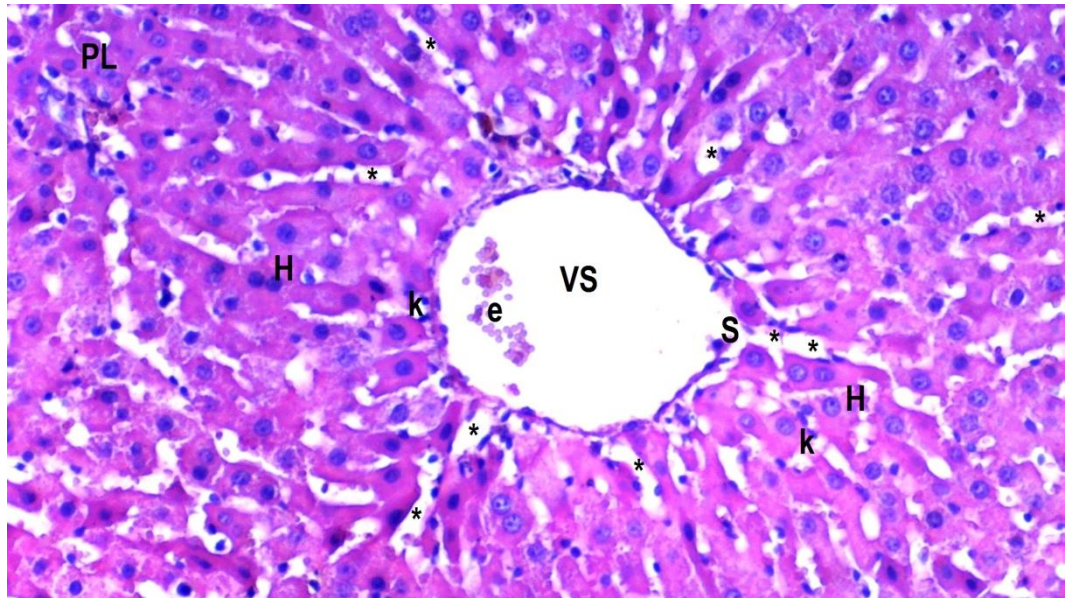
Piknotik çekirdek gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p=0.108$), (Tablo-3, Resim 4-12).

Tablo 3 Rat karaciğer dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup İR (n=6)	Grup İRS (n=6)	Grup İRPRP (n=6)	Grup İRPRPS (n=6)	P**
Hepatosit dejenerasyon	0.33 $\pm$ 0.21*	1.67 $\pm$ 0.33	1.00 $\pm$ 0.26	0.50 $\pm$ 0.22*	0.66 $\pm$ 0.21*	0.008
Sinüzoidal dilatasyon	0.33 $\pm$ 0.21*	1.50 $\pm$ 0.34	0.83 $\pm$ 0.17	0.67 $\pm$ 0.21*	0.67 $\pm$ 0.21*	0.025
Piknotik çekirdek	0.33 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.00	0.67 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21	0.50 $\pm$ 0.22	0.108
Nekroza giden hücre	0.17 $\pm$ 0.17*	1.17 $\pm$ 0.17	0.67 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21*	0.50 $\pm$ 0.22*	0.015
Parankimde MN hücre infiltrasyonu	0.17 $\pm$ 0.17*	1.33 $\pm$ 0.21	0.67 $\pm$ 0.33	0.50 $\pm$ 0.22*	0.50 $\pm$ 0.34*	0.045

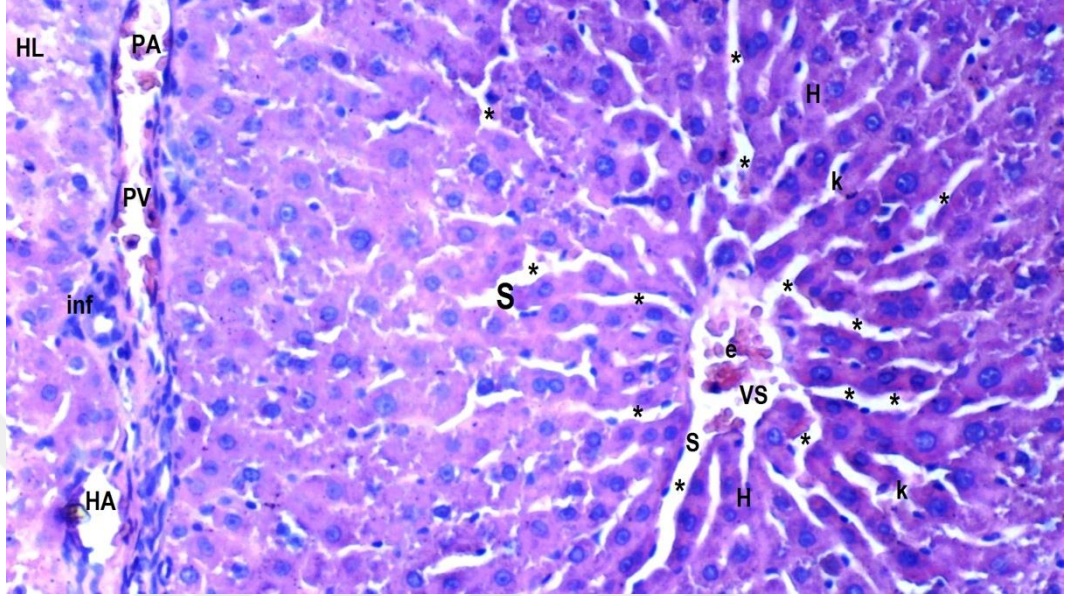
*p***: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

**p < 0.05*: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



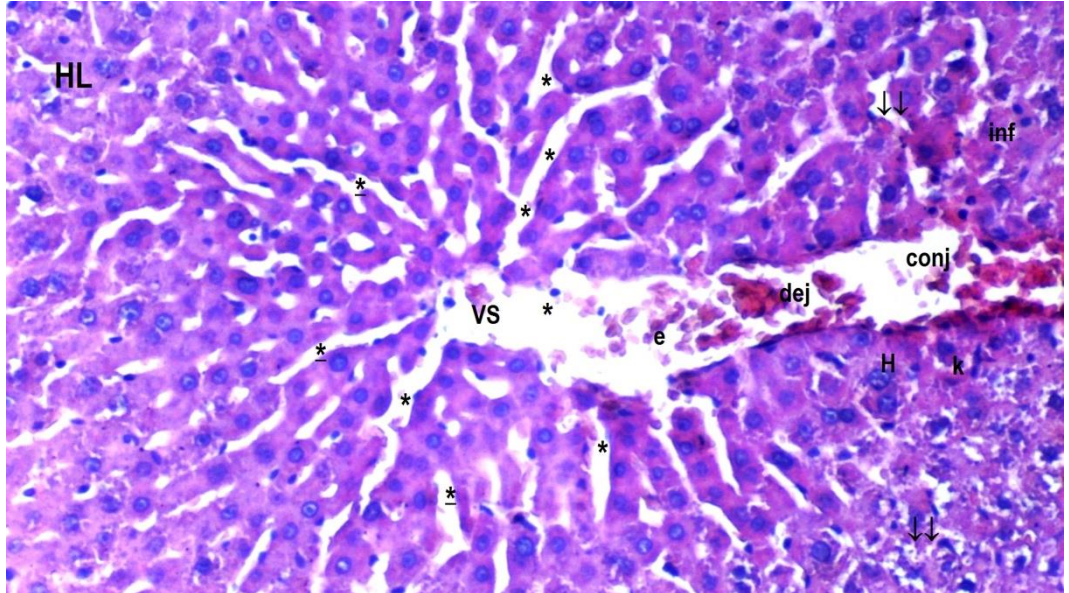
Resim 4 :Kontrol grubu histopatolojik görüntüsü

VS: Santral ven, e: endotel hücresi, H: hepatosit, k: Kupffer hücresi, S: sinüzoid



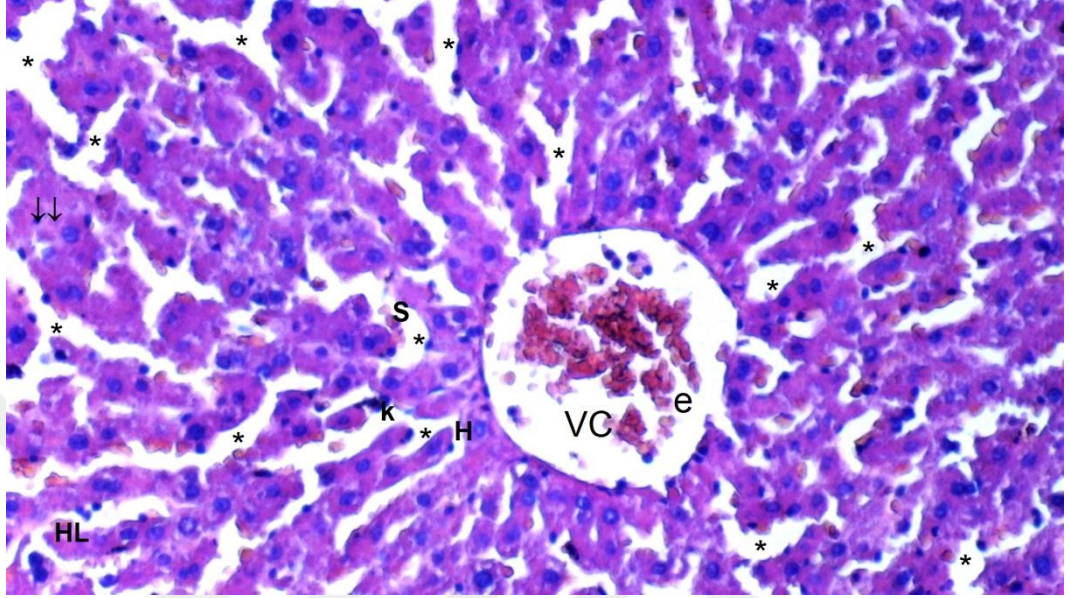
Resim 5: İR grubu histopatolojik görüntüsü

HL: hepatik lobül, HA: hepatik arter, VS: vena sentralis, PV: portal ven, H: hepatosit, k: Kupffer hücre hiperplazisi, e: endotel hücresi, S: sinüzoid, *: sinüzoid dilatasyonu



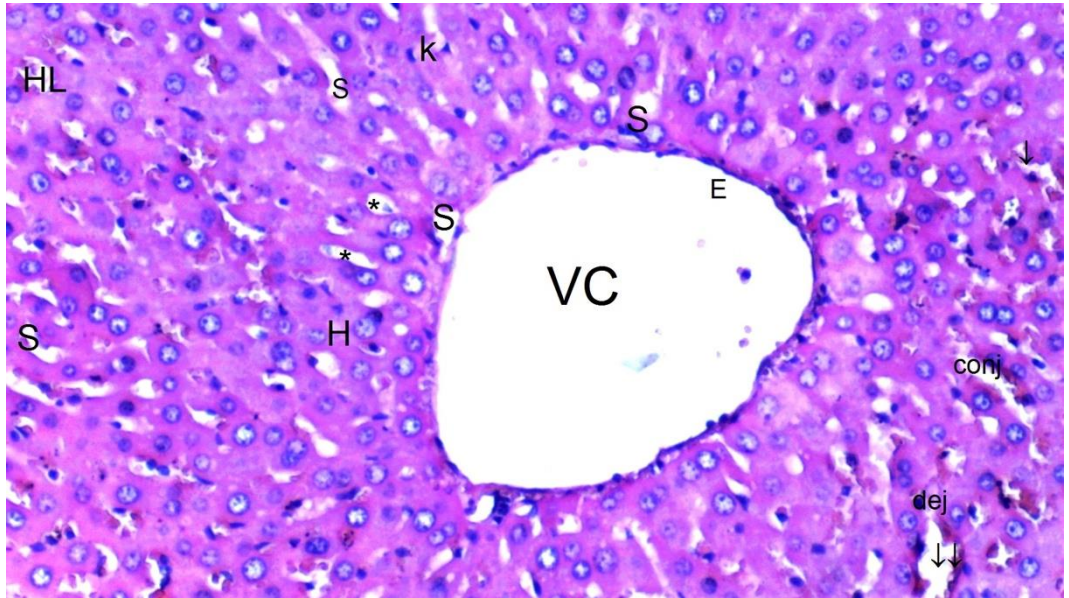
Resim 6 İR grubu histopatolojik görüntüsü

Parankimde konjesyon ve inflamasyon, sinüzoidlerde dilatasyon izlenmektedir. HL: hepatik lobül, VS: vena sentralis, *: sinüzoid dilatasyonu, H: hepatosit, k: Kupffer hücresi, e: endotel hücresi, inf: inflamasyon, conj: kapiller konjesyon, dej: hepatosit ve vena sentralis dejenerasyonu (sentrilobüler hasar), ↓↓: parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu



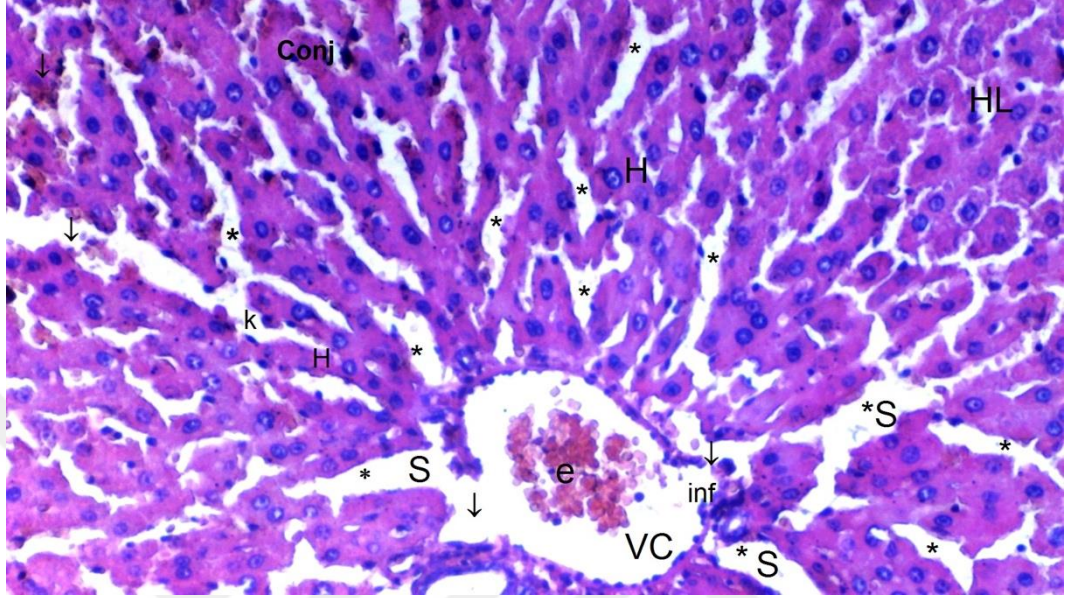
Resim 7: İR-S grubu histopatolojik görüntüsü

HL: hepatik lobül, VC: vena sentralis, H: hepatosit, k: Kupffer hücre hiperplazisi, e: endotel hücresi, S:sinüzoid, *: sinüzoid dilatasyonu, ↓↓: Parankimde mononükleer hücre infiltrasyon



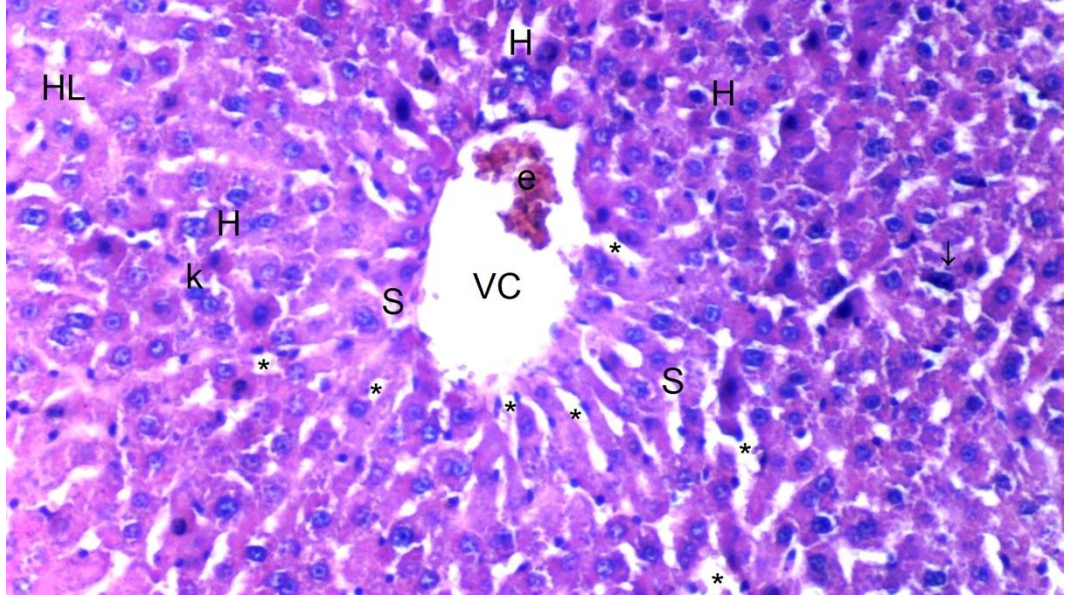
Resim 8: İR-PRP grubu histopatolojik görüntüsü

HL: hepatik lobül, VC: vena sentralis, H: hepatosit, k: Kupffer hücresi, E: endotel hücresi, S:sinüzoid, *: sinüzoid dilatasyonu, ↓↓: Parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu, conj: konjesyon, dej: hidrofilik dejenerasyon



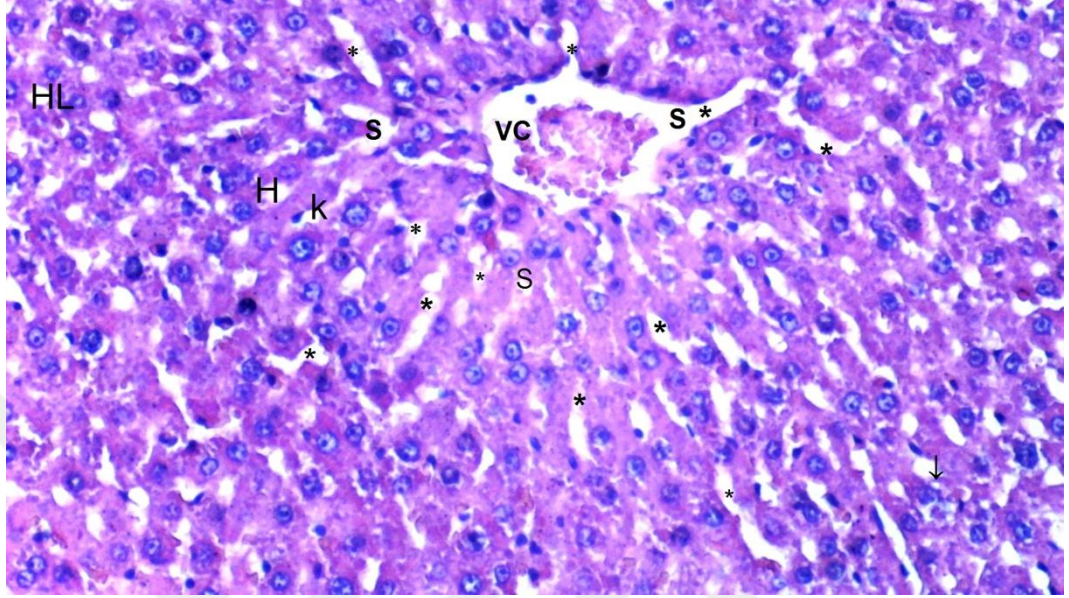
Resim 9: İR PRP grubu histopatolojik görüntüsü

HL: hepatik lobül, VC: vena sentralis, H: hepatosit, k: Kupffer hücresi, e: endotel hücresi, S:sinüzoid, *: sinüzoid dilatasyonu, ↓: Hepatositler , conj: konjesyon, inf: inflamasyon



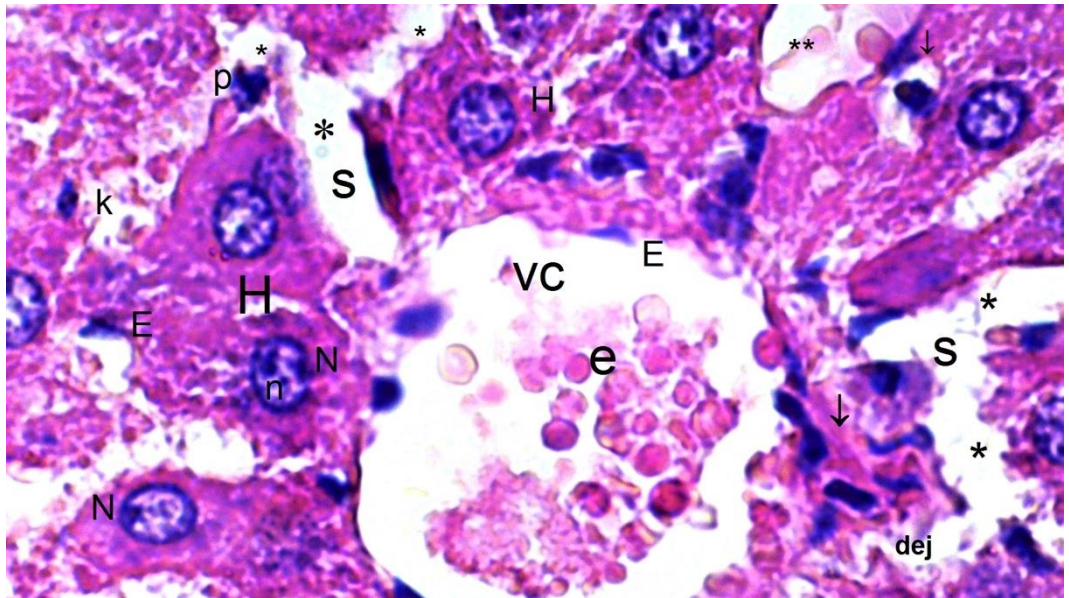
Resim 10: İR PRP-S grubu histopatolojik görüntüsü

HL: hepatik lobül, VC: vena sentralis, H: hepatosit, k: Kuppfer hücresi, e: endotel hücresi, S:sinüzoid, *: sinüzoid, ↓: Parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu



Resim 11: İR PRP-S grubu histopatolojik görüntüsü

HL: hepatik lobül, VC: vena sentralis, H: hepatosit, k: Kupffer hücresi,, S:sinüzoid, *: sinüzoid dilatasyonu, ↓: Parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu



Resim 12: İR PRP-S grubu histopatolojik görüntüsü

VC: vena sentralis, H: hepatosit, k: Kupffer hücresi, E, e: endotel hücresi, S:sinüzoid, *: sinüzoid dilatasyonu, **: Nekrotik-apoptotik görünüm, p: Piknotik ve hiperkromatik çekirdekler, N:

çekirdek, n: çekirdekçik, ↓: Parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu dej: hidrofilik dejenerasyon

Gruplar (karaciğer dokusu) MDA düzeyi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.005$). MDA düzeyi İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.001$). MDA düzeyi İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında İR grubuna anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0.001$, $p=0.020$, sırasıyla), (Tablo 4).

Gruplar (karaciğer dokusu) CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.048$). CAT enzim aktivitesi İR grubunda K grubuna göre anlamlı artmış olarak tespit edildi ($p=0.005$). CAT enzim aktivitesi İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında İR grubuna anlamlı olarak azalmış bulundu ($p=0.026$, $p=0.038$, sırasıyla), (Tablo 4).

Benzer şekilde gruplar (karaciğer dokusu) PON enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.038$). PON enzim aktivitesi İR grubunda K, İR-PRP ve İR-PRPS gruplarına göre anlamlı düşük olarak tespit edildi ($p=0.023$, $p=0.030$ $p=0.035$, sırasıyla), (Tablo 4).

GST ise gruplar arasında benzer bulundu ($p=0.$), (Tablo 4)

Tablo 4 Rat karaciğer dokusu oksidan durum parametreleri [Ort ± SH]

	Grup K (n=6)	Grup İR (n=6)	Grup İRS (n=6)	Grup İRPRP (n=6)	Grup İRPRPS (n=6)	P**
MDA (nmol/mL)	4.72±0.27*	8.24±1.30*	6.37±0.53	4.59±0.32*	5.87±0.33*	0.005
CAT (IU/mg.pro)	1105.66±379.8 8*	3085.40±793.8 2	1792.24±32 1.64	1558.98±277.7 9*	1670.34±299 .25*	0.048
GST (IU/mg.pro)	24.37±4.67*	37.24±7.85	29.85±2.12	35.06±4.85	30.62±4.67	0.460
PON (IU/mg.pro)	1.11±0.18*	2.19±0.27	1.38±0.54	1.16±0.19*	1.19±0.30	0.038

*p***: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

**p < 0.05*: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

5. TARTIŞMA

Karaciğer rezeksiyonu, hemorajik ve hipovolemik şok, travma ve diğer cerrahi müdahaleler sırasında karaciğerde İR hasarı oluşabilmektedir. (30) Karaciğer İR hasarını oluşturan mekanizmaların bilinmesi, bu hasara karşı önlemlerin ve İR hasarını azaltıcı yöntemlerin araştırılması, karaciğer cerrahisi nedeni ile oluşabilecek olası karaciğer yetmezliği, kronik karaciğer hastalıkları, uzak organ hasarlarının engellenebilmesi ve azaltılabilmesi açısından önem taşımaktadır. Bu hasarı azaltmak amacıyla iskemik ön koşullandırma, hipotermi, antioksidanlar, serbest radikal inhibitörleri, anestezi ajanları gibi farmakolojik ve fiziksel yöntemler araştırılmıştır(66,67)

Karaciğer İR hasarında, oksidatif stres ve hücre hasarının derecesi, iskemi zamanına ve iskemi yüzdesine bağlıdır. Patofizyolojik mekanizmaları, farklı morbidite, mortalite ve patoloji bulguları ile ilişkili parametreleri incelemek için, zaman ve doku genişliği ile ilişkili birçok karaciğer İR hasarı kemirgen modelleri kullanılmaktadır. Karaciğer İR hasarının incelenmesi sırasında, özellikle karaciğer transplantasyon modellerinde daha uzun soğuk iskemi süreleri ile, 30-180 dakika arasında değişen iskemi ve değişken reperfüzyon süreleri ile deney modelleri oluşturulmaktadır. İskemiye uğrayan doku genişliği ve iskemi süresinin artması ile mortalite artmakla birlikte, çoğu çalışmada belirlenen İR süresi sonrasında ötenazi uygulamaktadır. (68) Gonzales-Flecha ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada, kısa

sürelî (60 dakika) sıcak iskemi süresi sonrasında reperfüzyon sağlandığında, karaciğer oksijen tüketiminin kontrol seviyelerine döndüğü geri dönüşlü hücre hasarını gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada, uzun süreli(120-180 dakika) iskemi süreleri sonrası reperfüzyon sağlanmış ve hidrojen peroksit ve singlet oksijende kararlı durum konsantrasyonlarına göre iki kat artış ve antioksidan enzimlerin aktivitesinde %50 azalmanın eşlik ettiği geri dönüşsüz hücre hasarı gözlemlenmiştir.(69) Uzun süreli(120 dakika ve üzeri) total karaciğer iskemisi, aşırı hasarı temsil eder, iskeminin yıkıcı etkilerinin gözlemlenmesine izin verir.(70) Çalışmamızda uzun süreli iskemi süresi ile yüksek dereceli hasar oluşumunu amaçlayarak, 120 dakika iskemi-120 dakika reperfüzyon deney modelini oluşturduk ve İR hasarını gözlemledik.

Histolojik olarak endotelial hücre bozulması, hücresel şişme, vakuolizasyon, nötrofil infiltrasyonu ve hepatoselüler nekroz gibi histopatolojik değişiklikler, karaciğer İR hasarını karakterize eder.(71) Karaciğer hasarına ağırlıklı olarak nekrozun neden olduğu belirtilse de, apoptoz ve otofajiye bağlı hücre ölümü de benzer derecede hasara katkıda bulunmaktadır.(72) Obert ve ark.'nın yaptıkları, farelerde hemorajik şok ile oluşturulan karaciğer İR modelinde endoplazmik retikulum stres ön koşullandırmasını inceledikleri çalışmada; hematoksilen eozin ile boyanan preparatlarda, bazal ve kontrol gruplarında herhangi bir belirgin değişiklik mevcut değil iken, hemorajik şok uygulanan gruplarda santral venden sentrifugal yayılan hücre ölüm alanlarını gözlemlemiştir.(72) Jesus-Silva ve ark.'nın domuzlarda heparinin hipovolemik şokta karaciğer ve böbrek üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, İR hasarının

oluşturduğu mikroskobik bulgular olarak, sinüzoidlerde konjesyon ve eritrosit mevcudiyeti, heterokromatik çekirdekler gözlemlenmiştir. (73) Guo ve ark.'nın, parsiyel hepatik iskemi oluşturulan farelerde yapmış olduğu, gastrin salgılayan reseptör antagonisti RC-3095'in koruyucu etkilerini göstermeyi hedefleyen çalışmalarında, karaciğer İR'un ciddi konjesyon, lobüler ödem ve hepatoselüler nekroza neden olduğu gösterilmiştir. (74) Li ve ark. fareler üzerinde fisetin karaciğer İR hasarına karşı koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, hematoksilin-eozin ile boyalı preparatların Suzuki sınıflamasına göre incelenmesi sonucu, İR gruplarında dokunun konjesyon, hücre çekirdek boyutlarında düzensizlik ve portal alanlarda inflamatuvar infiltrasyon ile belirgin hasara uğradığını belirtmişlerdir. (75) Çalışmamızda ışık mikroskopisinde; İR grubunda kontrol grubuna kıyasla, hidropik dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon, nekroza giden hücre ve parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu gibi apoptotik ve nekrotik değişiklikler literatürle uyumlu olarak daha fazla görülmüştür. İR-PRP ve İR-PRPS gruplarında ise İR grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük görülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda histopatolojik bulgularımız, karaciğer İR hasarının etkilerini önlemede PRP ve PRP ile sevofluran uygulamasının etkili olabileceğini düşündürmektedir.

PON'lar antioksidan etkileri olan; özellikle organofosfatlar ve soman-sarin gibi nörotoksik bileşiklerin detoksifikasyonunda ve lipid peroksidasyonunun engellenmesinde görev alırlar. PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere 3 gruba ayrılan bir enzim sistemidir. PON1 ve PON3 karaciğerde sentezlenir. PON1 enzimi,

kolinesteraz inhibitörü olan paraoksonu ve diğer organofosfatları hidrolize eder. PON1'in, tüketime bağlı olarak inflamasyon ve enfeksiyon durumlarında azaldığı gösterilmiştir.(76) Oksidatif stresin arttığı hastalıkların önlenmesi ya da tedavisinde, PON enzimlerinin serum seviyelerinin artırılmasının faydalı olabileceği önerilmiştir.(77,78) Trocha ve ark. ratlarda karaciğer İR hasarı ile oluşan oksidatif stres üzerine sitagliptinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, PON aktivitesinin İR ile belirgin olarak azaldığını kaydetmişlerdir. (79)

Lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu İR hasarının patogeneğinde yer alan, membran hasarı ve geri dönüşsüz protein hasarından sorumlu mekanizmalardır. (80) Poliansatüre yağ asitleri, özellikle linoleik ve araşidonik asit, lipid peroksidasyonunun önemli hedefleridir; ROS varlığında otokatalitik bir zincir reaksiyonu oluştururlar ve lipid hidroperoksidazları oluşur. Lipid hidroperoksidazları ise geçiş metallerinin varlığında çeşitli biyolojik süreçlerde ve sinyal iletim yollarında yer alan reaktif aldehitlere dönüşürler. Reaksiyona giren lipidlerin türüne göre MDA, trans-4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) ve diğer aldehitler oluşur. (81) Wang ve ark., ratlarda karaciğer İR hasarına neferin maddesinin etkilerini incelemiş, 30 dakika iskemi ve 6 saatlik reperfüzyon uygulanan gruplarda lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA'nın kontrol grubuna göre belirgin arttığını göstermiştir.(82)

GST, insanlarda birçok dokuda bulunan ve geniş antioksidan aktiviteye sahip olan bir enzimdir. İndirgeniş glutatyonun, sülfidril grubu aracılığıyla nötralizasyonu ile detoksifikasyon gerçekleştirir ve oluşan bileşikler suda çözünür halde böbrekler aracılığı ile atılır. GST ksenobiyotikler ve elektrofilik endojen

bileşiklerin detoksifikasyonu aracılığı ile DNA, RNA ve proteinler gibi makromoleküllerin alkilasyonunu önler. (76,83) İnsan karaciğerinde, mikrozomal GST yüksek miktarda eksprese edilmektedir; in vitro rat mikrozomunda gösterilen sitozolik GST aktivitesi ise lipid peroksidasyonunun, dolayısıyla MDA düzeylerinin azalması ile sonuçlanmıştır. (84) Eren ve ark. mantar zehirlenmesi ile acil servise başvuran hastalarda oksidatif stres belirteçlerini incelemiş ve mantar zehirlenmesi olan hastalarda karaciğer hasarına eşlik eden, PON enzim aktivitesinde azalma, GST’de ise artış gözlemlemişlerdir. (76) Chouker ve ark., toplam 75 hasta üzerinde yaptıkları prospektif randomize çalışmalarında karaciğer rezeksiyonu sırasında İR hasarında, karaciğerde yüksek sitozolik konsantrasyonlara sahip olan α -GST’nin İR hasarı için erken bir belirteç olabileceğini, α -GST değerlerinin belirgin olarak Pringle manevrası süresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir.(85)

Katalaz, hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüştüğü reaksiyonu katalizleyerek hücrenin ROS’a karşı savunma sistemlerinde yer alan oksidoredüktaz enzimidir.(2) Tavşanlarda yapılan spinal kord İR hasarının araştırıldığı bir çalışmada, İR ile katalaz seviyelerinde belirgin artış olduğu gösterilmiştir.(86) Aydın ve ark., ratlarda parsiyel hepatektomi sonrası doku rejenerasyonuna PRP, dekspantenol ve timokinonun etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, PRP’nin doku rejenerasyonuna olumlu ya da olumsuz etkisi olmadığını; ancak içlerinde MDA, katalaz ve glutatyonun bulunduğu oksidasyon parametrelerinde PRP uygulanan grupta belirgin derecede azalma olduğunu göstermişlerdir.(87) Çalışmamızda İR grubunda MDA ve katalaz aktivitelerinde

artış, PON aktivitesinde azalma, GST seviyelerinde ise anlamlı değişiklik olmadığını tespit ettik. GST dışındaki biyokimyasal parametrelerde PRP ve PRP-sevofluran uygulaması ile istatistiksel anlamlı olarak düzelme kaydedildi. Bu bulgular PRP ve sevofluran uygulamalarının karaciğer İR hasarını iyileştirmede etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Halojenli volatil anesteziklerin İR hasarına karşı koruyucu oldukları önerilmektedir; ön ve ard koşullandırma ile apoptozis süreci üzerine oluştuğu düşünülen bu koruyucu etkinin mekanizmaları araştırılmış ve farklı hipotezler öne sürülmüştür.(88) Koroner sistemde postiskemik nötrofil adezyonuna, izofluran, sevofluran ve halotan anestezilerinin etkilerini araştıran bir çalışmada, volatil ajanlarla uygulanan genel anestezinin İR hasarında önemli yeri olan nötrofillerin endotele adezyonunu azalttığı ve İR hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. (89) İzole edilmiş kobay kalbi üzerinde yapılan bir başka çalışmada sevofluran ile ön koşullandırmanın mitokondriyal ATP sentezinde artışa ve ROS oluşumunda azalmaya neden olan redoks bağımlı bir mekanizma ile İR hasarında iyileşme olduğu önerilmiştir.(90) Ratlarda yapılan karaciğer İR hasarına karşı sevofluran ile ön koşullandırmanın koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise, sevofluranın hepatik endotelial glikokaliksi henüz tamamen aydınlatılamayan mekanizmalar ile koruduğu gösterilmiştir.(4) Cavalcante ve ark. sevofluranın ratlarda karaciğer İR hasarı üzerinde etkilerini araştırdıkları çalışmalarında,1 saatlik iskemi ve 4 saatlik reperfüzyon uygulamış; sevofluran uygulanan grupta mitokondriyal fonksiyonun korunduğunu, ALT, AST

seviyelerinin belirgin olarak düşük olduğunu, İR sonrası koagülatif nekrozu azalttığını; dolayısıyla sevofluranın mitokondriyal fonksiyonu koruması aracılığı ile karaciğer İR hasarında koruyucu etkisi olduğunu; ayrıca pulmonar vasküler permeabilitede de düzelme kaydedildiğini vurgulamışlardır.(91) Xu.G. ve ark., karaciğer İR ile indüklenen karaciğer ve akciğer hasarına sevofluran önkoşullandırmasının etkilerini araştırdıkları çalışmada 30 dakikalık %70 iskemi ve 60 dakikalık reperfüzyon uygulamış, sevofluran grubuna ise iskemiden 30 dakika önce sevofluran ile önkoşullandırma gerçekleştirmişlerdir. MDA seviyelerinde İR ile artma ve sevofluran uygulaması ile azalma tespit etmişlerdir. Ayrıca karaciğer ve akciğerde gerçekleşen İR'a bağlı histolojik değişikliklerde sevofluran grubunda azalma tespit etmişlerdir. (92) Xu,Z. ve ark. karaciğer İR hasarı ile oluşan değişikliklerde sevofluran ve propofolün etkilerini inceledikleri çalışmada, ratlarda 60 dakikalık %70 iskemi ve 120 dakika reperfüzyon sonrası, MDA, SOD ve NO seviyelerinde belirgin artış ve hem sevofluran (%3 sevofluran, 2l/dk, İR boyunca), hem propofol gruplarında anlamlı azalma tespit etmişlerdir.(93) Sevofluranın ayrıca karaciğerde uzak organ İR hasarının engellenmesinde de etkili olabileceği önerilmiştir; Rancan ve ark. domuzlarda yaptıkları akciğer lobar transplantasyonu uyguladıkları çalışmalarında, sevofluran uygulamasının, akciğer İR hasarına bağlı oluşan karaciğer hasarının azaltılmasında etkili olduğunu göstermişlerdir.(94) Bu çalışmaların aksine, çalışmamızda karaciğer İR hasarını önlemekte tek başına sevofluran uygulamasının histolojik ve biyokimyasal parametreler üzerinde anlamlı etkisi olmadığını saptadık.

PRP, özellikle muskuloskeletal hastalıklar, cilt hastalıkları, dental prosedürler olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde lokal olarak kullanılmaktadır. Literatürde böbrek, testis, over gibi organlarda İR hasarını araştıran çalışmalarda PRP intraperitoneal alana ya da organ kapsülüne lokal olarak uygulanmıştır. (6,11,95) Martín-Solé ve ark.'nın böbrekte İR hasarını araştırdıkları çalışmalarında, PRP subkapsüler olarak parenkime diffüz şekilde lokal uygulanmış, ancak elde edilen sonuçlarla kapsüler organa uygulanan PRP'nin iskemiye artıracaklığı fikri öne sürülmüştür.(95) Hesami ve ark. PRP'nin kronik karaciğer hasarına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında ratlara PRP'yi subkutan yolla, Aydın ve ark. ise PRP'nin karaciğer rejenerasyonu üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında PRP'yi intraperitoneal uygulamışlardır.(87,96) Bu çalışmada PRP intraperitoneal yolla uygulanmıştır.

Deney modellerinde uygulanacak PRP'nin elde edilmesinde deney hayvanı donör grupları, insan kan donörleri kullanılabilir ya da deney prosedürü uygulanacak hayvanlardan kan alınarak PRP elde edilebilir. Bir deney hayvanı kurbanı edilmeyecek ve sıvı replasmanı uygulanmayacak ise alınabilecek kan miktarı total kanının %10'u ile sınırlıdır. Alınan kan miktarı %30'u geçecek olur ise deney hayvanının hipovolemiye maruz kalmaması için özel bakım gerekmektedir. (97) Domuz ve tavşan gibi, rat ve fareye göre daha büyük hayvanlar üzerinde deney uygulanırken, deney prosedürü uygulanacak hayvanlardan aynı zamanda PRP için kan alınması tercih edilmektedir.(98,99) Toplam kan volümü erişkin hayvanda 55-70 ml/kg(97) olan ratlarda deney prosedürü oluşturulurken; deney prosedürü oluşturulacak hayvanlarda hemodinaminin bozulması,

ponksiyonun yaratacağı stres ve inflamasyon, elde edilecek PRP miktarı ve sonuçların etkilenmesi endişeleri ile donör hayvan kullanımı yaygın olarak tercih edilmektedir.(6,87,96,100) Bu çalışmada, PRP elde etmek için donör hayvan grubu oluşturulmuş ve PRP elde etmek için donör hayvanların tüm kanı alınarak sakrifikasyon uygulanmıştır.

PRP, otolog ya da allojenik kanın antikoagüle edilerek 1 ya da 2 aşamalı santrifügasyonu ya da aferez yöntemi ile elde edilmektedir. (101) Tamimi ve ark. PRP oluşturmak için uygulanan çift ve tek santrifügasyon yöntemlerini karşılaştırmış; çift santrifüj ile daha yüksek platelet konsantrasyonlarına ulaşmak mümkün iken, tek santrifüj ile de yeterli platelet sayılarına ulaşılabilirdiğini; tek santrifüj yönteminin, daha kolay uygulanabilir olması ve plateletlerin bütünlüğünün daha korunabilir olması nedeni ile daha sıklıkla uygulanan çift santrifüj yöntemine tercih edilebileceğini belirtmişlerdir. (101) Bu nedenlerle bu çalışmada PRP elde etmek için tek santrifüj yöntemi kullanılmıştır.

PRP, α -granüllerinde bulunan büyüme faktörleri ile etkinlik göstermektedir. PRP'nin eksojen aktivasyonu, PRP elde edildikten sonra, trombin, kalsiyum klorür, kollajen, dondurma/çözdürme döngüsü gibi yöntemler kullanılması ile α -granüllerin degranülasyonu sağlanarak, pıhtılaşmanın tetiklendiği ve sonucunda PRP'nin jelleşmesini sağlayan ve klinik pratikte uygulama kolaylığı sağlayabilen bir yöntemdir. Ancak α -granüllerdeki büyüme faktörlerinin dokuya ulaşmadan salınması, bu faktörlerin dokuda işlev göstermeden yıkanması endişesini birlikte getirmektedir. Bu nedenle PRP'nin

verildiği dokudaki otolog kollajen ile temasın degranülasyon sağlamasına ve dokuda daha uzun süre büyüme faktörlerinin etkinlik sağlamasına güvenilen, aktivasyon kullanılmayan PRP kullanımı mevcuttur.(102) da-Silva ve ark. yaptıkları çalışmada PRP'nin aktivasyon ya da dondurulması ile büyüme faktörlerindeki değişiklikleri araştırmışlar; PRP hazırlanması sırasındaki standart fiziksel etkilerin de degranülasyonu tetikleyerek etkinlik sağladığını, trombin, kalsiyum klorür gibi bir ajanlar ile aktivasyonun PRP uygulamasında kritik olmadığını, benzer büyüme faktörü konsantrasyonları ölçümleri ile önermişlerdir.(103) Bu çalışmada PRP uygulaması öncesi eksojen aktivasyon yöntemleri kullanılmamıştır.

PRP'nin, İR hasarı üzerine etkileri daha önce over, testis, böbrekler üzerinde çalışılmıştır. Bakacak ve ark., PRP'nin ratlarda over İR hasarına etkisini araştırdıkları çalışmada, randomize seçilen 12 rattan elde edilen kanın santrifügasyonu sonrası elde ettikleri PRP'yi 3 saatlik iskemiden 30 dakika önce intraperitoneal olarak uygulamışlardır. TOS(total oksidan durumu), TAS(total antioksidan durumu), OSI(oksidatif stres indeksi),VEGF ve histolojik veriler incelenmiş, PRP uygulanan gruplarda anlamlı olarak oksidatif stres belirteçlerinde azalma, peritoneal VEGF düzeylerinde artış gözlemlenmişler ve over torsiyonunun detorsiyon operasyonlarında lokal PRP kullanımının doku hasarına olumlu etkisi olabileceğini önermişlerdir.(6) Şekerci ve ark. ratlarda testis İR hasarına PRP'nin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 4 saatlik iskemi süresini takiben PRP'yi testis dokusuna intraparankimal uygulamış, İR hasarı ile doku MPO ve Kaspaz 3 aktivitelerinde ve MDA seviyelerinde artış, GSH seviyesi ve SOD aktivitesinde ise

azalma gözlemlenmiştir. PRP uygulaması ile GSH seviyesi dışındaki biyokimyasal parametrelerde anlamlı düzelme olduğunu, ancak MPO ve MDA'nın yine de kontrol grubuna göre yüksek olduğunu kaydetmişlerdir.(11) Martín-Solé ve ark. PRP'nin ratlarda renal İR hasarına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 45 dakikalık iskemi süresinin 30. dakikasında PRP'yi subkapsüler uygulamışlar ve reperfüzyon sonrası 7. günde sakrifikasyon ve dokularda histopatolojik, serumda biyokimyasal incelemeleri uygulamışlardır. 7 günlük süreçte renal kan akımını ultrasonografik incelemeyle değerlendirmişlerdir. Beklediklerinin aksine renal kan akımı, histopatolojik parametreler, serum kreatinin ve üre seviyeleri incelendiğinde, hepsi istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte PRP grubunda kötüleşme saptamışlardır. Bu sonucun PRP uygulama yeri, zamanı, hazırlanma yöntemi ve saklama şartları gibi parametrelerden etkilenmiş olabileceği göz önünde bulundurulduğunda, daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir.(95)

PRP'nin karaciğer İR hasarı üzerindeki etkileri ile ilgili bilinen bir çalışma henüz yapılmamıştır. Ancak PRP'nin karaciğer dokusu üzerinde iyileştirici etkileri farklı birkaç çalışmaya konu olmuştur. Saif-Elnasr ve ark., ratlarda gama-radyasyon aracılığı ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerinde PRP ve/veya düşük moleküler ağırlıklı kitosanın etkilerini incelemişler; PRP uygulaması ile, radyasyona uğramış dokuda artmış bulunan MDA seviyelerinde gerileme ile belirlenen lipid peroksidasyonunda azalma, ve antioksidan parametrelerde (GSH, TAS) düzelme saptamışlardır.(100) Hesami ve ark. ratlarda karbontetraklorür (CCl₄) ile indüklenen karaciğer hasarında PRP'nin koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, CCl₄'ün endoplazmik retikulumda membran lipidlerinin

peroksidasyonuna yol açması sonucu MDA seviyelerinde yükselme ve PRP uygulaması ile PRP uygulanan ratlarda MDA seviyelerinde belirgin azalma gözlemlenmiştir ve PRP'nin CCl₄ ile indüklenmiş karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi olabileceğini önermişlerdir. Aynı zamanda, CYP enzimleri ile detoksifiye edilen CCl₄'ün uygulanması sonucu, GSH seviyelerinde azalma olup, PRP uygulaması ile bu azalmanın önüne geçildiğini; PRP'nin, karaciğer hastalıklarında antiapoptotik, antifibrotik ve karaciğer rejenerasyonundaki etkileri sebebiyle etkili olabileceğini önermişlerdir.(96) Çalışmamızda karaciğer İR hasarı oluşturulmadan önce PRP ve PRP-sevofluran uygulanan ratlarda, İR grubuna göre biyokimyasal parametreler olan MDA miktarı ve katalaz aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı, PON aktivitesinin ise anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. GST'de ise anlamlı değişiklik gözlemlenmemiştir. Aynı zamanda mikroskopik bulgulara saptanan İR ile oluşan hücresel bozulmanın, PRP ve PRP-sevofluran uygulanan ratlarda anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bulgularımız PRP ile PRP ve sevofluran anestezisi birlikteliğinin, karaciğerde oluşabilecek İR hasarını azaltabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, ratlarda karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulmuş, uygulanan PRP'nin ve sevofluran anestezisinin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkisi araştırılmıştır. Literatürde sevofluran anestezisinin karaciğer İR hasarına etkisini araştıran çalışmalarda, sevofluran anestezisinin İR hasarını azaltıcı yönde etkileri olduğunu gösteren bulgular mevcuttur. Bu çalışmada, diğer çalışmaların aksine tek başına sevofluran anestezisi uygulamasının karaciğer İR hasarı üzerinde anlamlı etkisi saptanmamıştır. Bununla birlikte sevofluran anestezisi ve PRP'nin birlikte uygulanması ile karaciğerdeki İR hasarının anlamlı şekilde azaltılabileceği gösterilmiştir.

İskemi reperfüzyon oluşturulmadan önce uygulanan PRP'nin karaciğerde İR hasarını azaltıcı yönde etkisi olduğu gösterilmiştir. Literatürde daha önce PRP'nin karaciğerdeki İR üzerindeki etkisini araştıran başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada elde edilen bulguların daha geniş randomize kontrollü çalışma grupları ile desteklenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Quesnelle KM, Bystrom P V., Toledo-Pereyra LH. Molecular responses to ischemia and reperfusion in the liver. Vol. 89, Archives of Toxicology. 2015. p. 651–7.
2. Cannistrà M, Ruggiero M, Zullo A, Gallelli G, Serafini S, Maria M, et al. Hepatic ischemia reperfusion injury: A systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers. Int J Surg. 2016;33:S57–70.
3. Liao X, Zhou S, Zong J, Wang Z. Sevoflurane exerts protective effects on liver ischemia/reperfusion injury by regulating NFkB3 expression via miR-9-5p. Exp Ther Med. 2019;
4. Li J, Yuan T, Zhao X, Lv GY, Liu HQ. Protective effects of sevoflurane in hepatic ischemia-reperfusion injury. Int J Immunopathol Pharmacol. 2016;29(2):300–7.
5. Beck-Schimmer B, Bonvini JM, Schadde E, Dutkowski P, Oberkofler CE, Lesurtel M, et al. Conditioning with sevoflurane in liver transplantation: Results of a multicenter randomized controlled trial. Transplantation. 2015;99(8):1606–12.
6. Bakacak M, Bostanci MS, Inanc F, Yaylali A, Serin S, Attar R, et al. Protective Effect of Platelet Rich Plasma on Experimental Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Ovary. Gynecol Obstet Invest.

2016;81(3):225–31.

7. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(6):638–46.
8. Lee JW, Hyun Kwon O, Kim TK, Cho YK, Choi KY, Chung HY, et al. Platelet-rich plasma: Quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Arch Plast Surg.* 2013;40(5):530–5.
9. Tamura T, Kondo T, Pak S, Nakano Y, Murata S, Fukunaga K, et al. Interaction between Kupffer cells and platelets in the early period of hepatic ischemia-reperfusion injury - An in vivo study. *J Surg Res.* 2012;178(1):443–51.
10. Rodrigues SF, Granger DN. Role of blood cells in ischaemia-reperfusion induced endothelial barrier failure. Vol. 87, *Cardiovascular Research*. 2010. p. 291–9.
11. Sekerci CA, Tanidir Y, Sener TE, Sener G, Cevik O, Yarat A, et al. Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Urol.* 2017;13(3):317.e1-317.e9.
12. Snell RS. *Clinical Anatomy: By Regions*. 9. painos. Baltimore: Lippincott; 2012.
13. Moore KL, Dalley AF. *Clinically oriented anatomy*. Wolters kluwer india Pvt Ltd; 2018.
14. Gray's Anatomy for Students. *Ann R Coll Surg Engl.* 2006;88(5).
15. Lafortune M, Madore F, Patriquin H, Breton G. Segmental anatomy of the liver: A sonographic approach to the Couinaud nomenclature. *Radiology.* 1991;181(2):443–8.
16. Rutkauskas S, Gedrimas V, Pundzius J, Barauskas G, Basevicius A. Clinical and anatomical basis for the classification of the structural parts of liver. Vol. 42, *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2006. p. 98–106.
17. Gropper MA, Miller RD, Eriksson LI, Fleisher LA, Wiener-Kronish JP,

Cohen NH, et al. Miller's Anesthesia, 2-Volume Set E-Book. Elsevier Health Sciences; 2019.

18. Kruepunga N, Hakvoort TBM, Hikspoors JPJM, Köhler SE, Lamers WH. Anatomy of rodent and human livers: What are the differences? Vol. 1865, Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease. 2019. p. 869–78.
19. Yıldırım M. Topografik Anatomi. 2. baskı. Bursa Nobel Tıp Kitabevleri. 2004;25–33.
20. Lauth W. Hepatic Circulation: Physiology and Pharmacology. Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function. 2009.
21. Ovalle WK. Netter ' S Essential Histology With Correlated. 2021.
22. Hall, Edward J. Guyton and hall textbook of medical physiology thirteenth edition. Elsevier. 2011.
23. Mendes-Braz M, Elias-Miró M, Jiménez-Castro MB, Casillas-Ramírez A, Ramalho FS, Peralta C. The current state of knowledge of hepatic ischemia-reperfusion injury based on its study in experimental models. Vol. 2012, Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012.
24. Klune JR, Tsung A. Molecular Biology of Liver Ischemia/Reperfusion Injury: Established Mechanisms and Recent Advancements. Vol. 90, Surgical Clinics of North America. 2010. p. 665–77.
25. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai APY, Cheng YL, Cheng PW, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. Vol. 46, Cellular Physiology and Biochemistry. 2018. p. 1650–67.
26. Robbins SL and VK. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 8th ed. 2010.
27. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: Releasing power for life and unleashing the machineries of death. Vol. 112, Cell. 2003. p. 481–90.
28. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. In: Microsurgery. 2004. p. 468–75.
29. PRINGLE JH. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due To

- Trauma. *Ann Surg.* 1908;48(4):541–9.
30. Freitas SH, Dória RGS, Bueno RS, Rocha WB, Filho JRE, Moraes JRE, et al. Evaluation of potential changes in liver and lung tissue of rats in an ischemia-reperfusion injury model (modified pringle maneuver). *PLoS One.* 2017;12(6).
 31. Rampes S, Ma D. Hepatic ischemia-reperfusion injury in liver transplant setting: Mechanisms and protective strategies. Vol. 33, *Journal of Biomedical Research.* 2019. p. 221–34.
 32. Peralta C, Bartrons R, Riera L, Manzano A, Xaus C, Gelpí E, et al. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279(1 42-1).
 33. Guan Y-F. Ischemic post-conditioning to counteract intestinal ischemia/reperfusion injury. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2010;1(4):137.
 34. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Bagnati M, Bellomo G, Albano E. Alterations of Na⁺ homeostasis in hepatocyte reoxygenation injury. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2000;1500(3):297–305.
 35. KAWADA N, TRAN-THI T -A, KLEIN H, DECKER K. The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances: Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus. *Eur J Biochem.* 1993;213(2):815–23.
 36. Hamada T, Duarte S, Tsuchihashi S, Busuttil RW, Coito AJ. Inducible nitric oxide synthase deficiency impairs matrix metalloproteinase-9 activity and disrupts leukocyte migration in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Am J Pathol.* 2009;174(6):2265–77.
 37. Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology.* 2000;32(2):169–73.
 38. MERCAN U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fakültesi Derg.* 2004;15(1):91–6.
 39. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. Mehmet Akif Ersoy

Üniversitesi Sağlık Bilim Enstitüsü Derg. 2016;4(1):0–0.

40. Auten RL, Davis JM. Oxygen toxicity and reactive oxygen species: The devil is in the details. Vol. 66, Pediatric Research. 2009. p. 121–7.
41. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Vol. 39, International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 2007. p. 44–84.
42. Erenel G, Erbaş D, ARICIOĞLU A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. Gazi Med J. 2013;3(4).
43. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. Vol. 93, Annals of Internal Medicine. 1980. p. 480–9.
44. Memisogullari R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Derg. 2005;7(3):30–9.
45. İçme F, Erel Ö, Avci A, Satar S, Gülen M, Acehan S. The relation between oxidative stress parameters, ischemic stroke, and hemorrhagic stroke. Turkish J Med Sci. 2015;45(4):947–53.
46. Komosinska-Vassev K, Olczyk K, Kucharz EJ, Marcisz C, Winsz-Szczotka K, Kotulska A. Free radical activity and antioxidant defense mechanisms in patients with hyperthyroidism due to Graves' disease during therapy. Clin Chim Acta. 2000;300(1–2):107–17.
47. Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. Vol. 12, Sultan Qaboos University Medical Journal. 2012. p. 556–69.
48. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan biyokimyası. Palme yayıncılık. 2002;666.
49. Wijnberger LDE, Krediet TG, Visser GHA, Van Bel F, Egberts J. Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. Early Hum Dev. 2003;71(2):111–6.
50. Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen. 2001;482(1–2):21–6.

51. Ueda M, Hung YC, Terai Y, Saito J, Nunobiki O, Noda S, et al. Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol.* 2005;96(3):736–40.
52. Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B. Association of GSTM1, GSTT1, and GSTM3 gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(3):303.e1-303.e6.
53. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: A brief review. Vol. 369, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology.* 2004. p. 78–88.
54. Précourt LP, Amre D, Denis MC, Lavoie JC, Delvin E, Seidman E, et al. The three-gene paraoxonase family: Physiologic roles, actions and regulation. Vol. 214, *Atherosclerosis.* 2011. p. 20–36.
55. Rosenblat M, Sapir O, Aviram M. Glucose Inactivates Paraoxonase 1 (PON1) and Displaces it from High Density Lipoprotein (HDL) to a Free PON1 Form. In: *The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism.* 2007. p. 35–49.
56. I A. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. *Serbest Radikaller ve Fizyol Etkileri.* 1995;1:723.
57. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. Vol. 37, *American Journal of Sports Medicine.* 2009. p. 2259–72.
58. Rah DK, Min HJ, Kim YW, Cheon YW. Effect of platelet-rich plasma on ischemia-reperfusion injury in a skin flap mouse model. *Int J Med Sci.* 2017;14(9):829–39.
59. Wallin RF, Regan BM, Napoli MD, Stern IJ. Sevoflurane: a new inhalational anesthetic agent. *Anesth Analg.* 1975;54(6):758–66.
60. Whalen FX, Bacon DR, Smith HM. Inhaled anesthetics: An historical overview. Vol. 19, *Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology.* 2005. p. 323–30.
61. Ghatge S, Lee J, Smith I. Sevoflurane: An ideal agent for adult day-case

anesthesia? Vol. 47, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2003. p. 917–31.

62. Smith I, Nathanson M, White PF. Sevoflurane - A long-awaited volatile anaesthetic. *Br J Anaesth*. 1996;76(3):435–45.
63. Patel SS, Goa KL. Sevoflurane: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and its Clinical Use in General Anaesthesia. *Drugs*. 1996;51(4):658–700.
64. Hatakeyama N, Ito Y, Momose Y. Effects of sevoflurane, isoflurane, and halothane on mechanical and electrophysiologic properties of canine myocardium. *Anesth Analg*. 1993;76(6):1327–32.
65. Scheller MS, Tateishi A, Drummond JC, Zornow MH. The effects of sevoflurane on cerebral blood flow, cerebral metabolic rate for oxygen, intracranial pressure, and the electroencephalogram are similar to those of isoflurane in the rabbit. *Anesthesiology*. 1988;68(4):548–51.
66. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. Vol. 190, *Journal of Pathology*. 2000. p. 255–66.
67. Kucuk C, Akcan A, Akyıldız H, Akgun H, Muhtaroglu S, Sozuer E. Effects of Amrinone in an Experimental Model of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. *J Surg Res*. 2009;151(1):74–9.
68. Karatzas T, Neri AA, Baibaki ME, Dontas IA. Rodent models of hepatic ischemia-reperfusion injury: Time and percentage-related pathophysiological mechanisms. Vol. 191, *Journal of Surgical Research*. 2014. p. 399–412.
69. Gonzalez-Flecha B, Cutrin JC, Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J Clin Invest*. 1993;91(2):456–64.
70. Vajdová K, Heinrich S, Tian Y, Graf R, Clavein PA. Ischemic preconditioning and intermittent clamping improve murine hepatic microcirculation and Kupffer cell function after ischemic injury. *Liver Transplant*. 2004;10(4):520–8.
71. Magyar Z, Varga G, Mester A, Ghanem S, Somogyi V, Tanczos B, et al. Is

the early or delayed remote ischemic preconditioning the more effective from a microcirculatory and histological point of view in a rat model of partial liver ischemia-reperfusion? *Acta Cir Bras.* 2018;33(7):597–608.

72. Obert D, Wolpert A, Grimm N, Korff S. ER stress preconditioning ameliorates liver damage after hemorrhagic shock and reperfusion. *Exp Ther Med.* 2021;21(3).
73. de Jesus-Silva SG, de Moraes Silva MA, Carbonel AAF, Grillo Filho GFR, Grigório TS, Simões M de J, et al. Heparin Attenuates Visceral Apoptosis in a Swine Model of Hemorrhagic Shock and Reperfusion Injury. *Ann Vasc Surg.* 2020;67:449–60.
74. Guo L, Wu X, Zhang Y, Wang F, Li J, Zhu J. Protective effects of gastrin-releasing peptide receptor antagonist RC-3095 in an animal model of hepatic ischemia/reperfusion injury. Vol. 49, *Hepatology Research.* 2019. p. 247–55.
75. Li Z, Wang Y, Zhang Y, Wang X, Gao B, Li Y, et al. Protective Effects of Fisetin on Hepatic Ischemia-reperfusion Injury Through Alleviation of Apoptosis and Oxidative Stress. *Arch Med Res.* 2021;52(2):163–73.
76. Eren SH, Korkmaz I, Kukul Guven FM, Tekin YK, Ozdemir L. Serum paraoxonase, arylesterase, and glutathione-s-transferase activities and oxidative stress levels in patients with mushroom poisoning. *Clinics.* 2018;73.
77. Matthews GM, Howarth GS, Butler RN. Nutrient and antioxidant modulation of apoptosis in gastric and colon cancer cells. Vol. 5, *Cancer Biology and Therapy.* 2006. p. 569–72.
78. Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. Vol. 84, *Physiological Reviews.* 2004. p. 1381–478.
79. Trocha M, Krzystek-Korpacka M, Merwid-La¸d A, Nowak B, Pieśniewska M, Dzięgiel P, et al. Sitagliptin-Dependent Differences in the Intensity of Oxidative Stress in Rat Livers Subjected to Ischemia and Reperfusion. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019.
80. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers

- of oxidative damage in human disease. Vol. 52, Clinical Chemistry. 2006. p. 601–23.
81. Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, et al. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. Vol. 23, Antioxidants and Redox Signaling. 2015. p. 1144–70.
 82. Wang J, Kan Q, Li J, Zhang X, Qi Y. Effect of neferine on liver ischemia-reperfusion injury in rats. Transplant Proc. 2011;43(7):2536–9.
 83. Ketterer B. Detoxication reactions of glutathione and glutathione transferases. Xenobiotica. 1986;16(10–11):957–73.
 84. Hayes JD, Strange RC. Invited commentary potential contribution of the glutathione s-transferase supergene family to resistance to oxidative stress. Free Radic Res. 1995;22(3):193–207.
 85. Choukér A, Martignoni A, Schauer RJ, Dugas M, Schachtner T, Kaufmann I, et al. α -glutathione S-transferase as an early marker of hepatic ischemia/reperfusion injury after liver resection. World J Surg. 2005;29(4):528–34.
 86. Danková M, Domoráková I, Fagová Z, Stebnický M, Kunová A, Mechírová E. Bradykinin and noradrenaline preconditioning influences level of antioxidant enzymes SOD, CuZn-SOD, mn-SOD and catalase in the white matter of spinal cord in rabbits after ischemia/reperfusion. Eur J Histochem. 2019;63(4).
 87. Aydin O, Pehlivanli F, Karaca G, Aydin G, Altunkaya C, Bulut H, et al. May dexpanthenol, platelet-rich plasma, and thymoquinone provide new hope to maintain liver regeneration after partial hepatectomy? Turkish J Gastroenterol. 2019;30(9):826–34.
 88. Erturk E. Ischemia-reperfusion injury and volatile anesthetics. Vol. 2014, BioMed Research International. 2014.
 89. Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E, et al. Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system. Anesthesiology. 1997;86(1):188–95.
 90. Novalija E, Kevin LG, Eells JT, Henry MM, Stowe DF. Anesthetic

preconditioning improves adenosine triphosphate synthesis and reduces reactive oxygen species formation in mitochondria after ischemia by a redox dependent mechanism. *Anesthesiology*. 2003;98(5):1155–63.

91. Cavalcante FP, Coelho AMM, Machado MCC, Sampietre SN, Patzina RA, Diniz MA, et al. Mechanisms of the beneficial effect of sevoflurane in liver ischemia/reperfusion injury. *Acta Cir Bras*. 2015;30(11):749–55.
92. Xu G, Wang X, Xiong Y, Ma X, Qu L. Effect of sevoflurane pretreatment in relieving liver ischemia/reperfusion-induced pulmonary and hepatic injury. *Acta Cir Bras*. 2019;34(8).
93. Xu Z, Yu J, Wu J, Qi F, Wang H, Wang Z, et al. The effects of two anesthetics, propofol and sevoflurane, on liver ischemia/reperfusion injury. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(4):1631–42.
94. Rancan L, Huerta L, Cusati G, Erquicia I, Isea J, Paredes SD, et al. Sevoflurane prevents liver inflammatory response induced by lung ischemia-reperfusion. *Transplantation*. 2014;98(11):1151–7.
95. Martín-Solé O, Rodó J, García-Aparicio L, Blanch J, Cusí V, Albert A. Effects of platelet-rich plasma (PRP) on a model of renal ischemia-reperfusion in rats. *PLoS One*. 2016;11(8).
96. Hesami Z, Jamshidzadeh A, Ayatollahi M, Geramizadeh B, Farshad O, Vahdati A. Effect of Platelet-Rich Plasma on CCl 4 -Induced Chronic Liver Injury in Male Rats . *Int J Hepatol*. 2014;2014:1–7.
97. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010;1(2):87–93.
98. Singer AJ, Toussaint J, Chung WT, McClain S, Raut V, Rosenberg L. The effects of platelet rich plasma on healing of full thickness burns in swine. *Burns*. 2018;44(6):1543–50.
99. Kim TH, Kim SH, Sádor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol*. 2014;59(5):550–8.
100. Saif-Elnasr M, Abdel Fattah SM, Swailam HM. Treatment of hepatotoxicity induced by γ -radiation using platelet-rich plasma and/or low

molecular weight chitosan in experimental rats. *Int J Radiat Biol.* 2019;95(11):1517–28.

101. Tamimi FM, Montalvo S, Tresguerres I, Blanco Jerez L. A Comparative Study of 2 Methods for Obtaining Platelet-Rich Plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(6):1084–93.
102. Kim J Il, Bae HC, Park HJ, Lee MC, Han HS. Effect of Storage Conditions and Activation on Growth Factor Concentration in Platelet-Rich Plasma. *J Orthop Res.* 2020;38(4):777–84.
103. Silva LQ da, Huber SC, Montalvão SADL, Bassora FDS, De Paula EV, Annichino-Bizzacchi J. Platelet Activation Is Not Crucial for Platelet-Rich Plasma (PRP), When Used As Autologous Therapeutic Product, and Could be Lyophilized without Any Growth Factor Loss. *Blood.* 2016;128(22):2639–2639.

8. ÖZET

KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON OLUŞTURULMUŞ RATLARDA PLATELET ZENGİN PLAZMA(PRP) VE SEVOFLURAN ANESTEZİSİNİN ETKİLERİ

Bu çalışmanın ana amacı, karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde PRP uygulamasının ve sevofluran anestezisinin etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal parametreler ile araştırılmasıdır.

Çalışmada 36 adet Long Evans türü rat kullanıldı ve 6 gruba ayrıldı. İlk grup (grup D) donör grubu olup, PRP oluşturmak amacı ile abdominal aortadan kan alındı ve sakrifiye edildi. Kontrol grubuna (grup K) abdominal laparotomi uygulandı ve işlemiden 2 saat sonra karaciğer dokusu alındı ve ratlar sakrifiye edildi. Grup İR, Grup İR-Sevofluran, Grup-PRP, Grup İR-PRP-Sevofluran gruplarında, abdominal laparotomi sonrası porta hepatis eksplere edildi ve klemplendi; 2 saat iskemi ardından 2 saat reperfüzyon uygulandı. Grup İR-PRP ve Grup İR-PRP-Sevofluran grubuna iskemi uygulanmadan 30 dakika önce intraperitoneal PRP uygulandı; Grup İR-S ve Grup İR-PRP-S gruplarına iskemi ve reperfüzyon süresince sevofluran %2,3 Sevofluran anestezisi uygulandı. Karaciğer doku örnekleri ışık mikroskobunda Hematoksilen-Eosin (H&E) ile

boyanarak incelendi; biyokimyasal inceleme için doku örneklerinde MDA, Katalaz, Glutasyon-s-transferaz ve Paraoksonaz değerleri ölçüldü.

Histopatolojik incelemede, karaciğer parenkiminde hidropik dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon, parenkimde mononükleer hücre infiltrasyonu ve nekroza giden hücre sayısı İR-PRP ve İR-PRP-S gruplarında İR grubunda İR grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı. Piknotik çekirdek değerlendirmesinde ise gruplar arası anlamlı fark saptanmadı. Doku örneklerinde ölçülen, MDA düzeyi ve katalaz enzim aktivitesi, İR-PRP ve İR-PRP-S gruplarında İR grubuna göre anlamlı olarak daha düşük; PON enzim aktivitesi anlamlı olarak daha yüksek bulundu. GST aktivitesinde ise gruplar arası anlamlı fark bulunmadı. İR-sevofluran grubunda ise bulgulara, İR grubuna göre anlamlı fark bulunmadı.

Bu bulgular ile PRP uygulamasının, karaciğerde deneysel olarak oluşturulan İR hasarının engellenmesinde etkili olabileceği sonucuna varıldı. Klinik uygulamalara bu PRP kullanımının aktarılması amacı ile daha fazla randomize, kontrollü deney ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Karaciğer, İskemi Reperfüzyon Hasarı, Platelet Zengin Plazma (PRP), Sevofluran

9. SUMMARY

THE EFFECTS OF PLATELET-RICH PLASMA (PRP) AND SEVOFLURAN ANESTHESIA IN RATS WITH ICHEMIA REPERFUSION IN THE LIVER

The main purpose of this study is to investigate the effects of PRP application and sevoflurane anesthesia on liver ischemia-reperfusion injury with histopathological and biochemical parameters.

In the study, 36 Long Evans rats were used and divided into 6 groups. The first group (group D) is the donor group, and blood was taken from the abdominal aorta and sacrificed in order to create PRP. Abdominal laparotomy was performed in the control group (group K), liver tissue was removed and the rats were sacrificed 2 hours after the procedure. In Group IR, Group IR-Sevoflurane, Group-PRP, Group IR-PRP-Sevoflurane groups, the porta hepatis was explored and clamped after abdominal laparotomy; 2 hours of ischemia and 2 hours of reperfusion was applied afterwards. PRP was administered intraperitoneally 30 minutes prior to ischemia to IR-PRP and IR-PRP-Sevoflurane groups and 2.3% sevoflurane anesthesia was administered to IR-S and IR-PRP-S groups during ischemia and reperfusion. Liver tissue samples were examined under the light microscope by staining with Hematoxylin-Eosin (H&E); Malondialdehyde,

Catalase, Glutathione-s-transferase and Paraoxonase values were measured in tissue samples for biochemical analysis.

In the histopathological examination, hydropic degeneration, sinusoidal dilatation, mononuclear cell infiltration and necrosis in the liver parenchyma were found to be significantly lower in the IR-PRP and IR-PRP-S groups compared to the IR group. There was no significant difference between the groups in the evaluation of the pycnotic core. MDA level and catalase enzyme activity measured in tissue samples were significantly lower in IR-PRP and IR-PRP-S groups compared to IR group; PON enzyme activity was found to be significantly higher in both groups compared to IR group. There was no significant difference between the groups in GST activity. In the IR-S group, there was no significant difference in the findings compared to the IR group.

With these findings, it was concluded that PRP application may be effective in preventing experimentally induced IR damage in the liver. More randomized, controlled trials and clinical studies are needed to apply this use of PRP to clinical practice.

Key words: Liver, Ischemia Reperfusion Injury, Platelet Rich Plasma (PRP), Sevoflurane

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ayşe Gülfem Yalçın

Öğrenim Durumu

2016-GÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.

2009-2015: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

2007-2009: Ankara Gazi Anadolu Lisesi

2005-2007: İskenderun, İstiklal Makzume Anadolu Lisesi

Yabancı Dili: İngilizce

Çalıştığı Kurumlar

2016-2021: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği (TARD)

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Sivgin, V., Yalcin, G., Kucuk, A., Sezen, S. C., Afandiyeva, N., & Arslan, M. (2020). Effects of fullerenol nanoparticles on kidney tissue in sevoflurane-treated rats. *BRATISLAVA MEDICAL JOURNAL-BRATISLAVSKE LEKARSKE LISTY*, 121(2), 117-121.

Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar veya kitaplardaki bölümler: -

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Ayşe Gülfem Yalçın, Çağrı Özdemir, Berrin Işık. Post tiroidektomi stridor ve akut solunum sıkıntısı gelişen hastanın anestezi yönetimi. TARK 2018

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

1. Volkan Şıvgın, Ayşegül Küçük, Faruk Metin Comu, Ayşe Gülfem Yalçın, Mustafa Arslan (2019) EFFECT OF FULLERENOL NANOPARTICLES ON ERYTHROCYTE DEFORMABILITY IN RATS INDUCED BY SEVOFLURANE . ARUD 2019 CONGRESS ‘BALKAN STATES ANESTHESIA DAYS- VI- TRAUMA , ANESTHESIA and INTENSIVE CARE’

Çevirisine katkıda bulunulan kitaplar:

1. Anesteziyoloji Klinik Olgular Eşliğinde Sınav ve Board Sınavları, 2019 , Bölüm adı: Brakiyal Pleksus Bloğu, Çeviri: Gülay Kip, Ayşe Gülfem Yalçın, Akademisyen Kitapevi, Editörler: Ömer Kurtipek, Metin Alkan, Mustafa Arslan

Ödüller: -

Sertifikalar:

1. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 52. Ulusal Kongresi 07-11 Kasım 2018
2. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 52. Ulusal Kongresi Transplantasyon Anestezisi Kursu 07 Kasım 2018
3. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 7. Asistan Okulu Katılım Belgesi 5-7 Nisan 2019
4. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Taze Donmuş Kadavrada İleri Havayolu Yönetimi Kursu 15 Aralık 2019
5. Gazi Üniversitesi Sağlık Araştırma Ve Uygulama Merkezi Gazi Hastanesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı Anestezi Uygulamalarında Ultrasonografi Kursu Katılım Belgesi 10 Ocak 2020
6. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ‘Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi’ 25-26 Ocak 2017
7. 1’st TARD AND RAD HANDS ON REGIONAL ANESTHESIA WITH FRESH FROZEN CADAVER WORKSHOP , 17-18 MAYIS 2019

8. TARD İNTRAOPERATİF AKCİĞER KORUYUCU MEKANİK VENTİLASYON YÖNETİMİ KURSU 30 HAZİRAN-1 TEMMUZ 2018
9. Gazi Üniversitesi HADYEK Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası , 16-24 Aralık 2019
10. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 54.Ulusal Kongresi 28-30 Ekim 2020
11. Temel Sağlık Hukuku Eğitimi Atölye çalışması, 8 Mart 2021
12. Yenilenen Resüsitasyon Kılavuzları Resüsitasyon Derneği 4. E-Sempozyumu, 9-10 Nisan 2021