

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA KARACİĞERDE OLUŞTURULAN
HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
HYPERİCUM PERFORATUM'UN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Altan AYDIN

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr.Ömer ŞAKRAK

ANKARA

NİSAN 2009

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA KARACİĞERDE OLUŞTURULAN
HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
HYPERİCUM PERFORATUM'UN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Altan AYDIN

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr.Ömer ŞAKRAK

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2009-36
proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

NİSAN 2009

TEŞEKKÜR

Başta Gazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Mustafa ŞARE olmak üzere;

Bu çalışmanın planlanması ve sürdürülmesinde her aşamada rehberlik eden ve hiçbir desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof.Dr.Ömer ŞAKRAK'a;

Çalışmanın başlangıcından bitimine kadar her türlü konuda eleştiri ve önerileriyle katkıda bulunan Doç.Dr.Mustafa KEREM'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca engin bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan Anabilim Dalında görev yapan diğer saygıdeğer hocalarıma;

Biyokimyasal çalışmaları yürüten Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Hatice PAŞAOĞLU ve Araştırma Görevlisi Canan YILMAZ DEMİRTAŞ'a;

Çalışmada kullanılan bitki ekstresini hazırlayan Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr.Esra KÜPELİ AKKOL'a;

Histopatolojik İnceleme ve değerlendirmeleri yapan Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 2.Patoloji Kliniği Öğretim Üyesi Doç.Dr.Murat ALPER ve Uzm.Dr.Aynur ALBAYRAK SÖNMEZ'e;

Sonsuz saygı ve teşekkürler.....

Dr.Altan AYDIN

İÇİNDEKİLER	Sayfa
Resim Ve Şekiller	6
Tablo Ve Grafikler	7
Kısaltmalar	8
1. GİRİŞ	12
2. GENEL BİLGİLER	15
2.1. Karaciğer histolojisi ve kanlanması	15
2.2. İskemi reperfüzyon hasarı	18
2.2.1. Reaktif oksijen türleri	19
2.2.2. Nitrik oksit	22
2.2.3. Endotelin-1	23
2.2.4. Sitokin ve kemokinler	24
2.3. Karaciğer rejenerasyonu	33
2.4. <i>Hypericum perforatum</i> (sarı kantaron)	35
2.4.1. Naftodiantronlar	39
2.4.2. Floroglusinoller	39
2.4.3. Flavonoidler	42
2.4.4. Ksantonlar ve fenilpropanlar	43
2.4.5. Diğer bileşikler	44
2.5. Karboksimetil selüloz	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Deney hayvanları	45

3.2. Kullanılan kimyasal madde ve malzemeler	46
3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler	46
3.2.2. Kullanılan malzemeler	47
3.3. Bitkilerin toplanması ve ekstraksiyonu	48
3.4. Hayvanları deneye hazırlama	49
3.4.1. Anestezi	50
3.5. Uygulanan cerrahi işlem	50
3.6. Serum AST, ALT ve LDH seviyelerinin ölçümü	53
3.7. Serum TNF-α ve IL-6 seviyelerinin ölçümü	54
3.8. Doku MDA seviyesinin ölçümü	54
3.9. Serum MDA seviyesinin ölçümü	55
3.10. Doku ve serum İOPÜ seviyelerinin ölçümü	56
3.11. Histopatolojik değerlendirme	57
3.12. İstatistiksel analizler	58
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ	93
7. KAYNAKLAR	97
8. ÖZET	115
9. SUMMARY	117
10. EKLER	120
11. ÖZGEÇMİŞ	121

RESİM VE ŞEKİLLER	Sayfa
Resim 2.1. <i>Hypericum perforatum</i> (<i>St.john's Wort</i>)	36
Resim 3.1. Uygun anestezi sonrasında sırt üstü pozisyon verilen rat	51
Resim 3.2. Hepatik pediküle konulan vasküler klips ile oluşturulan karaciğer iskemisi	52
Resim 4.1. Sham grubu, karaciğer normal görünüm(H&E X 100)	70
Resim 4.2. Sham grubu, karaciğer normal görünüm(H&E X 200)	71
Resim 4.3. İR grubu, grade-1 karaciğer hasarı(H&E X 200)	71
Resim 4.4. İR grubu, grade-1 karaciğer hasarı(H&E X 400)	72
Resim 4.5. İR grubu, grade-2 karaciğer hasarı(H&E X 400)	72
Şekil 2.1. Hepatik iskemi reperfüzyon hasarında inflamatuvar süreç	32
Şekil 2.2. Hiperforinin kimyasal yapısı	38
Şekil 2.3. Hiperisinin kimyasal yapısı	38

TABLO VE GRAFİKLER**Sayfa**

Tablo 2.1. <i>Hypericum perforatum</i> 'un içerdği biyoaktif bileşikler	38
Tablo 3.1. Karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirme skalası	58
Tablo 4.1. sMDA, dMDA, sİOPÜ ve dİOPÜ ortalama $\pm$ SD seviyeleri	59
Tablo 4.2. AST, ALT, LDH ve TNF- α ortalama $\pm$ SD seviyeleri	60
Tablo 4.3. IL-6, Karaciğer doku hasar skor seviyesi ve SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL ortalama $\pm$ SD seviyeleri	60
Grafik 4.1. sMDA ortalamaları	61
Grafik 4.2. dMDA ortalamaları	62
Grafik 4.3. sİOPÜ ortalamaları	63
Grafik 4.4. dİOPÜ ortalamaları	64
Grafik 4.5. Serum AST ortalamaları	65
Grafik 4.6. Serum ALT ortalamaları	66
Grafik 4.7. Serum LDH ortalamaları	67
Grafik 4.8. Serum TNF- α ortalamaları	68
Grafik 4.9. Serum IL-6 ortalamaları	69
Grafik 4.10. Histopatolojik doku hasarı grade ortalamaları	73
Grafik 4.11. SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL ortalamaları	74

KISALTMALAR:

ATP	:	Adenozin trifosfat
Ca²⁺	:	Kalsiyum
CO₂	:	Karbondioksit
COX	:	Siklooksijenaz
ÇOY	:	Çoklu organ yetmezliği
DAG	:	Diaçil gliserol
dİOPÜ:		Doku ileri oksidasyon protein ürünleri
dMDA:		Doku malondialdehit
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
EGF	:	Epidermal growth faktör
ENA-78:		Epitelyal nötrofil aktive edici protein yetmiş sekiz
eNOS(NOS-3):		Endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz
ET	:	Endotelin
FGF	:	Fibroblast growth faktör
GIS	:	Gastrointestinal sistem
GLP	:	Glutasyon peroksidaz
GPBR:		G-protein bağlı reseptör
GSH	:	Glutasyon
HAM	:	Hücrel adezyon molekülü
HAAM:		Hücreler arası adezyon molekülü

H₂CO₃:	Karbonik asit
H₂O₂ :	Hidrojen peroksit
HGF :	Hepatosit growth faktör
HİRH :	Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı
HOCl :	Hipoklorik asit
HP :	<i>Hypericum perforatum</i>
HSV :	Herpes simplex virüs
IL :	İnter lökin
InsP₃ :	İnozitol-3 fosfat
İNOS(NOS-2):	Uyarılabilir(inflamatuvar) nitrik oksit sentaz
İOPÜ :	İleri oksidasyon protein ürünleri
İR :	İskemi reperfüzyon
İRH :	İskemi reperfüzyon hasarı
KI :	Potasyum iyodür
KMS :	Karboksimetil selüloz
LO :	Lipooksijenaz
LT :	Lökotrien
MAO :	Mono amino oksidaz
MÇK :	Monosit çekici kemokin
MDA :	Malondialdehit
MNL :	Mono nükleer lökosit
MİP :	Makrofaj İnflamatuvar Protein

NaCl	:	Sodyum klorür
NÇK	:	Nötrofil çekici kemokin
NFκB	:	Nükleer faktör kappa-B
NL	:	Nötrofil lökosit
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
NSAİİ	:	Non steroid antiinflamatuvar ilaç
O₂⁻	:	Süperoksit anyonu
OH	:	Hidroksil radikali
ONOO⁻	:	Peroksinitrit radikali
PBS	:	Fosfat buffer salin
PG	:	Prostaglandin
PNL	:	Polimorf nüveli lökosit
RH	:	Reperfüzyon hasarı
ROT	:	Reaktif oksijen türleri
SAOŞM	:	Splanknik arter oklüzyon şok modeli
SDS	:	Sodyum dodesil sülfat
SEH	:	Sinuzoidal endotel hücreleri.
sİOPÜ	:	Serum ileri oksidasyon protein ürünleri
SiYS	:	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
sMDA	:	Serum malondialdehit
SOD	:	Süperoksit dismutaz

STAT-3:	Signal transduction and activatörs of transcription-3
TAF :	Trombosit aktive edici faktör
TBA :	Tiyobarbitürük asit
TF :	Trombosit faktör
TGF-β:	Transforming growth faktör beta
TGF-α:	Transforming growth faktör alfa
TNF-α:	Tümör nekrozis faktör alfa
Tx :	Tromboksan
XO :	Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Herhangi bir nedenle doku ve organlara giden kan akımının azalması ya da tamamen kesilmesi iskemi; bir süre sonra kan akımının yeniden başlaması ise reperfüzyon olarak tanımlanır. İskemi sonucu enerji seviyesindeki azalma oksidatif stresin artmasına, lokal ve sistemik bir inflamatuvar yanıtın tetiklenmesinde temel nedendir. Reperfüzyon sonrasında daha fazla olmak üzere, iskemi reperfüzyon(İR) süreci boyunca dokularda çeşitli boyutlarda hasarlanma olur ki tüm süreç iskemi reperfüzyon hasarı(İRH) olarak bilinir. Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı(HİRH) ise, karaciğer kan akımının azalması veya tamamen kesilmesi sonrasında, kan akımının tekrar sağlanması ile gelişen olayları içerir. Bu olay klinikte karaciğer transplantasyonu ve karaciğer rezeksiyonları sonrası, hemorajik şok, ciddi travma sonrası ve sepsisin geç evresinde karşımıza çıkabilmektedir(1). Reperfüzyon sonrasında karaciğerde oluşan bu hasarı ilk kez 1975’de Toledo-Pereyra ve ark., gerçekleştirdikleri bir karaciğer transplantasyonunda tespit etmişlerdir. Transplante edilen karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler organ yetmezliği ile sonuçlanmıştır(2). İskemi ve bunu takiben gelişen reperfüzyon hasarı, karaciğerde önemli biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere sebep olur. Bu değişikliklerin fizyopatolojisinde; tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökin altı(IL-6) gibi çeşitli sitokinlerin salınımı, reaktif oksijen türleri(ROT) üretiminin artması ve aynı zamanda artan bu ROT’ların ortamdaki uzaklaştırılmasının yavaşlaması, nitrik oksit(NO) ve endotelin

(ET)-1 seviyeleri arasında bulunan ve organizmanın lehine olan dengenin bozulması, mitokondrial geçirgenliğin değişikliğe uğraması, kalsiyumun(Ca^{+2}) hücre içerisine kontrolsüz geçişi, Kupffer hücre aktivasyonu, sistemik polimorf nüveli lökosit(PNL) akımı, CD4+ T hücre aktivasyonu gibi birbiriyle bağlantılı birçok kompleks mekanizma rol almaktadır. Sözü edilen ROT'lar hücrelerde birçok fizyolojik olay sırasında üretilir ve antioksidan savunma mekanizmaları tarafından ortamdaki uzaklaştırılır. Bazı patolojik olaylar sırasında ise ROT'lar fazla miktarda üretilir. Üretilen bu fazla miktardaki ROT'lar; hücrelerin antioksidan savunma sistemleri ve ROT'lar arasında var olan dengenin bozulmasına sebep olur. Bozulan denge lipid peroksidasyonuna ve oksidatif hasara sebep olur. Oluşan ROT'lar hücre hasarını esas olarak; hücre membran peroksidasyonu, deoksiribonükleik asit(DNA) zincirlerinin kırılması ve hücresel proteinlerin denatüre edilmesi yoluyla uyarırlar(3). Açığa çıkan ROT'lar ve salınan çeşitli mediatörler aracılığıyla oluşan İRH'ı önlemek veya İRH'a bağlı oluşacak fizyopatolojik değişiklikleri en alt seviyeye indirebilmek için sayısız çalışmalar yapılmıştır. Reperfüzyon hasarının oluşumunda rol alan mekanizmaları bloke edeceği düşünülen birçok hepatoprotektif ajan denenmiştir. Bunlara örnek olarak; allopürinol, glukagon, melatonin, α - tokoferol, mannitol, dopamin, prostoglandin, karnitin, trombosit aktive edici faktör antagonistleri, ubiquinon, siklosporin, verapamil, nifedipin, süperoksit dismutaz, klorpromazin, aprotonin, metil prednizolon, aspartik asit ve adenozin

trifosfat(ATP) sayılabilir. Bunların İRH üzerine olan etkileri deneysel İR modellerinde araştırılmıştır(4).

Halk arasında yara otu, sarı kantaron, kan otu olarak da bilinen *Hypericum Perforatum*, *Hipericum* sınıfının bir üyesidir. Sıklıkla Avrupa ve Asya'da yetişmekle birlikte Türkiye'de de geniş bir alanda yetişmektedir. Nisan- Eylül aylarında çiçek açan, çok yıllık bir bitkidir. *Hipericum* sınıfı, medikal alanda kullanılan bitkiler içerisinde, özellikleri oldukça iyi bilinen bir sınıfı oluşturur. Bu sınıfın bir üyesi olan ve popüler ismiyle St.John's Wort olarak ta bilinen *H. perforatum*'un, Ortaçağ döneminde birtakım mistik güçlere sahip olduğuna inanılırdı. Bu özelliğinden dolayı çeşitli amaçlarda kullanılan *H. perforatum*'un yaralar üzerine olan iyileştirici etkisi eski Yunan ve Roma'lılardan beri bilinmektedir. Bu özelliğinden yola çıkarak çok eski zamanlardan beri cilt yaralarında, ekzemalarda, yanıklarda, gastrointestinal hastalıklarda, uyku bozukluklarında ve çeşitli mental bozukluklarda kullanılmıştır(5). *Hipericum* cinslerinin, yakın zamanlarda yapılan birçok çalışmada antimikrobial, antifungal ve antioksidan özelliklerinin de olduğu gösterilmiştir(6). Alkaloidler, flavanoidler ve polifenol içeren bitkilerin, antioksidan etkisi yanı sıra farklı bir çok biyolojik özellikleri de mevcuttur (7). Bu kapsamda yapılan çalışmalarda, *Hipericum* cinslerinin flavonoid, ksanton ve fenolik bileşikler gibi antioksidan özellik gösteren moleküller içerdiği tespit edilmiştir(8). *Hypericum* ekstresi rutin, quercetin ve quercitrin gibi flavonoid çeşitlerini içermektedir. Bu flavonoidlerin rat beyin membranlarındaki otooksidasyon modelinde ROT tutucu özellikleri

olduğu tespit edilmiştir(9). Hipericum cinsleri, sahip oldukları aktif moleküller sayesinde sadece oluşan ROT'ları yok etmeyip, bunların oluşmasını da engellerler. *H. perforatum*un bu özellikleri yanında doku lipit peroksidasyonunu inhibe edici, epitelizan, mikrosirkülasyonu artırıcı, antiinflamatuvar ve antikoagülan gibi birçok etkisinin de olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı; *H. perforatum*'un yukarıda belirtilen antioksidan, antiinflamatuvar, antikoagülan, epitelizan ve membran stabilizatörü gibi özelliklerine dayanarak, HİRH'a olan etkinliğini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Histolojisi ve Kanlanması

Karaciğer, gastrointestinal sistem(GİS)'den emilen besinlerin işlendiği, depolandığı ve gerektiğinde bir kısmının tekrar dolaşıma verildiği ortalama 1.5-2 kg ağırlığında bir organdır. Organın kanlanması portal ven ve hepatik arter tarafından sağlanır. Kardiyak outputun %25'i karaciğer kan akımını oluşturmaktadır. Organa gelen kanın %70-80'i portal ven yoluyla geri kalan kısmı ise hepatik arter yoluyla gelir. Oksijenasyonunun ise %50-60 ını portal ven geri kalanını ise hepatik arter karşılar. Bazı küçük peri hepatik arterler inferiyor frenik ve gastroduodenal arterlerden dallanırlar. Bu damarlar özellikle ana hepatik arter akımında herhangi bir tıkanıklık oluştuğunda kolleteral kan akımı için

gereklidir(10). Hepatik kan akımı çok sayıda faktör tarafından etkilenir. Gerek sinüzoidlerin çevresindeki myoepitelial hücreler, gerek afferent ve efferent damar basıncındaki değişiklikler ve gerekse bradikinin, nitrik oksit, sekretin, histamin, prostaglandin ve gastrin gibi endojen faktörler karaciğer kan akımını etkiler. Portal basınç genelde 6 -10 mmHg arasındadır. Karaciğer hilusundan portal ven, hepatik arter ve sinirler girer; sağ ve sol ana safra kanalları ve lenfatikler ise çıkar(11). Karaciğere plexus hepatikustan gelen sempatik ve parasempatik sinir liflerinin çok az bir kısmı hücreler arasına yönelirken genel olarak kan damarları ve safra kanallarını izleyerek dağılırlar.

Karaciğer; diafram ve karaciğer arasındaki küçük bir alan dışında her yandan visseral periton ile örtülüdür. Bu periton altında bağ dokusundan yapılmış bir kapsül (Glisson Kapsülü) bulunur. Karaciğerdeki hücrelerin yaklaşık olarak %60-70'ini hepatosit adı verilen, 20-30 µm çapındaki altıgen şekilli hücreler oluşturur. Bu hücreler tek sıralı kordonlar halinde dizilerek(Remark hücre kordonları), karaciğerin en küçük fonsiyonel ünitesi olan hepatik lobülü oluştururlar. Her bir hücrenin üç yüzü bulunmaktadır(perisinüzoidal mesafeye bakan yüz, komşu hepatosit ile sıkı temas halindeki yüz ve safra kanallarını oluşturan yüz).

Hepatik lobül kendi içerisinde üç zona ayrılır:

1- Periportal zon(1. bölge): Lobülün periferindeki hepatositler tarafından oluşturulur.

2- Santral zon(3. bölge): Vena sentralis etrafındaki hepatositler tarafından oluşturulur.

3- Ara zon(2. bölge): Santral ve periferik zonlar arasındaki hepatositler tarafından oluşturulur(12).

Sinuzoidler; hepatositler arasında bulunan, fenestralı endotel hücrelerinden oluşmuş boşluklardır. Bu boşluklar, kan kapillerlerinden daha geniş boşluklardır. Sinuzoidler içerisine vena porta ve arteriya hepatikadan gelen kan boşalır. Sinüzoidlerin lümenleri yer yer genişleme ve daralma gösterirler. Duvarlarında “Kupffer hücreleri” adı verilen, karaciğerdeki fagositik işlemlerden sorumlu olan hücreler bulunur. Sinuzoitleri meydana getiren endotel hücreleri, komşu hepatositlerden “perisinuzoidal aralık” veya “Disse aralığı” adı verilen boşluk ile ayrılırlar. Bu aralıkta hepatositlerin mikrovillusları, çeşitli retikulin lifleri, İto hücreleri adı verilen yağ depolayan yıldızsı hücreler ve plazma sıvısı bulunmaktadır. Bu aralık hepatik lobülün merkezinde bulunan vena sentralisten, lobülün periferine doğru ilerledikçe “Moll aralığı” adını alır. Daha sonra hepatik lobüllerin arasında bulunan ve “Glisson üçgeni” veya “portal aralık” adı verilen mesafeye doğru uzanır. Portal aralık; hepatik lobüller arasında bulunan, içerisinde vena porta ve hepatik arterin bir dalı ile bir interlobüler safra kanalcığının bulunduğu alandır. Moll aralığı portal mesafede bu damarların ve safra kanallarının etrafını sarar. Daha sonra bu aralığın devamında, karaciğerdeki lenf damarları oluşmaya başlar ve karaciğer parankiminden uzaklaştıkça çapları da giderek büyür.

Safra kanalları da hepatik lobüller içerisinde başlarlar. Safra kanallarının bu başlangıç kısmı, hepatositlerin membranları tarafından oluşturulur ve safra içeriğini hepatik lobülün merkezinden periferine doğru taşıma görevini üstlenirler. Hepatik lobülün periferine doğru ilerleyen intralobüler safra kanalları, lobülün periferinde “Hering kanalları” adını alır ve Glisson üçgeni içerisindeki interlobüler safra kanalları ile devam ederler. Hering kanallarının duvarı, kübik hücreler tarafından oluşturulur. Hering kanallarını oluşturan bu kübik hücreler, safra kanallarının başlangıcını oluşturan hepatositlerin, hepatik lobülün periferine doğru ilerledikçe organelce fakirleşmesinden oluşur. Glisson üçgenindeki bir safra kanalına, safra drenajını gerçekleştiren hepatositler portal lobülü oluşturur. Kesitlerde, üç hepatik lobülün vena sentralislerinin birleştirilmesiyle oluşan bölge olarak tanımlanır.

2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi, dokulardaki hücre zedelenmesinin en sık görülen nedenidir. Dokuya giden kan akımının azalması veya tamamen durması neticesinde meydana gelir. İRH ise, dokuda iskemiye sebep olan durumun düzeltilmesinden sonra, yani perfüzyonun tekrar sağlanmasıyla oluşan hasardır. Bu durum çeşitli travmalar, kontrollü veya kontrolsüz olarak birçok cerrahi girişim esnasında veya herhangi bir cerrahi girişim olmaksızın hemodinamik veya kardiyojenik şok peryodunu takiben oluşabilmektedir. Nedeni ne olursa olsun iskemi neticesinde dokularda bir

dizi fizyopatolojik değişiklikler meydana gelir. İskemi, öncelikle dokularda inflamatuvar bir reaksiyonun başlamasına sebep olur. Başlayan bu inflamatuvar yanıt, nötrofil aktivasyonu ve kemotaksisi uyarmasının yanında, çeşitli toksik metabolitlerin ve ROT'ların oluşmasına sebep olur. Oluşan bu ROT'lar, dokunun tekrar reperfüze olmasıyla daha da artar. Ortama salınan bu ROT'ların esas kaynağı aktive olmuş nötrofillerdir. Artmış nötrofil aktivasyonu ve kemotaksisi, nötrofillerin degranülasyonuna sebep olur. Degranülasyon, nötrofillerden ROT'ların yanında çeşitli proteazların da ortama salıverilmesine sebep olur. Bu süreç esnasında dokudaki NO ve ET-1 arasındaki denge de bozulur. Bozulan bu denge, inflamatuvar yanıtla beraber başlayan doku hasarının daha da artmasına sebep olur. İskemiyle başlayan bu inflamatuvar yanıt, aynı zamanda birçok sitokin dolaşıma salıverilmesine de sebep olur. Salınan bu sitokinler, İRH'daki patolojik değişikliklerin oluşmasında majör rol oynayan nötrofillerin aktivasyon ve kemotaksisinde önemli rol oynarlar.

2.2.1. Reaktif oksijen türleri

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir adet çiftleşmemiş elektron bulunduran ve etraflarında bulunan kimyasal bileşiklerle hızlı bir şekilde reaksiyona geçerek onların yapısını bozabilen bileşiklerdir. Bunlar esas olarak hücrelerde oluşan bir dizi patolojik olaylar neticesinde meydana gelse de; hücre içerisinde gerçekleşen normal fizyolojik olaylar sırasında az da olsa üretilirler.

Mitokondriler, taşıdıkları elektron transport zincirlerinden dolayı bu üretimin esas olarak gerçekleştiği organellerdir. Oluşan bu ROT'ların hücrelere olan toksik etkisi normalde hücrelerde var olan antioksidan ve savunma mekanizmaları sayesinde engellenir. Bu savunma sistemleri; kendileri enzimatik özellik göstermeyen moleküller(A,E ve C vitaminleri) ile süperoksit dismutaz(SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz(GLP) gibi enzimatik reaksiyonlardan oluşur(13). Başlıca ROT'lar süperoksit anyonu(O_2^-), hidrojen peroksit(H_2O_2), peroksinitrit($ONOO^-$) ve hidroksil radikali($OH^\cdot$)'dır. Bu serbest radikallerden biri olan H_2O_2 , aynı zamanda bir çok değişik ROT'un oluşmasına öncülük eder. Meydana gelen serbest radikallerin küçük bir bölümü, spontan olarak etkisiz hale dönüştürülür(süperoksit radikalının suyun varlığında H_2O_2 ve oksijene dönüşmesi gibi). Açığa çıkan ROT'ların, hücre membranlarında bulunan lipid moleküllerini oksidasyonu ile başlayan hücre hasarı bazı protein moleküllerinin oksidasyonu ile devam eder.

Hücre ve organel membranları çok miktarda poliansatüre yağ asidi içermektedir. Oksidatif hücrel hasarının oluşmasını sağlayan temel olaylardan biri de sözü edilen bu membran lipidlerinin oksidasyonudur. Ortamda mevcut olan ROT'lar membran lipidleri ile bir dizi zincirleme reaksiyona girerler. Bu reaksiyonlar sonucunda oldukça güçlü okside edici ajanlar olan lipid peroksit radikalleri ve lipid hidroperoksitleri oluşur(14). Oluşan bu peroksit radikallerinin membranlardaki diğer yağ asitleri ile reaksiyona girmesiyle membran permeabilitesi iyice artar. Peroksidasyon reaksiyonları, aynı zamanda

malondialdehit(MDA) gibi lipid peroksidasyon son ürünlerinin oluşmasına da sebep olur. Bu nedenle bir lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA oksidatif hasarın önemli bir göstergesi olarak kabul edilir(15).

Oluşan ROT'ların proteinlerdeki peptit bağları veya amino asit yan zincirleri ile reaksiyona girmesiyle de protein oksidasyonu oluşur. Oluşan protein oksidasyonu çeşitli proteaz inhibitörlerinin aktivitelerinde kayıp, birçok enzim aktivitesinde azalma, reseptör aracılı endositozda bozulma, protein agregasyonu ve artmış proteoliz eğilimiyle kendini gösterir(16). Açığa çıkan ROT'lar tarafından oluşturulan protein oksidasyonunun derecesini belirlemede, nitrotirozin ve ileri oksidasyon protein ürünleri(İOPÜ) gibi protein oksidasyon son ürünleri kullanılmaktadır. Nitrotirozin, oldukça güçlü bir serbest radikal olan ONOO⁻ 'nın protein oksidasyon son ürünüdür. Bu özelliğinden dolayı, NO'ya bağlı oluşan doku oksidasyon hasarının tespitinde oldukça kullanışlı bir markırdır(17). Diğer bir protein oksidasyon son ürünü olan İOPÜ'ler ise yapısında ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleridir. Oluşan bu İOPÜ'ler de meydana gelen protein oksidasyonunun derecesini belirlemede sıkça kullanılan, oldukça duyarlı markırlardır(18).

Lipid peroksidasyonu ile başlayan ve hücre ölümüne kadar uzanan karmaşık İRH fizyopatolojisinde ROT'lar önemli bir rol üstlenirler. Yapılan çalışmalarda antioksidanlarla ROT'ların uzaklaştırılması veya sentezlerinin inhibe edilmesi, oksidatif hücre ölümünün engellenmesiyle sonuçlanmıştır(19).

2.2.2. Nitrik oksit

Prokürsörü L-Arginin olan pluripotent gaz formunda bir serbest radikaldır. Karaciğerde hücre hasarının oluşması için güçlü bir mediatör özelliği gösterebileceği gibi, tam tersi olarak oluşacak hücre hasarına karşı güçlü bir koruyucu etki de gösterebilir. Karaciğerde nitrik oksit sentaz(NOS)'ın 3 izoformu bulunur. Bunlardan uyarılabilir(İnflamatuvar) NOS(İNOS,NOS-2) ve endotel kaynaklı NOS(eNOS,NOS-3) önemli olanlarıdır(20). İskemiye maruz kalan hücrelerdeki azalan NADPH ve oksijen seviyesi, NOS aktivitesinin azalmasına yol açar. Yapılan çalışmalarda eNOS inhibisyonu yapmak suretiyle, doku perfüzyonunu artıran NO miktarının azaldığı ve buna paralel olarak İRH'ın arttığı tespit edilmiştir(21). Bu yönde yapılan birçok çalışmada NO'nın HIRH'a karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir(22). Adenozin kaynaklı vazodilatasyonun majör mediatörü NO'dır. Güçlü bir vazodilatatör olan NO'nın HIRH'a karşı koruyucu etkisi sadece vazodilatatör etkisine bağlı değildir. Karaciğerde meydana gelen İRH ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, NO'nın p-selektin ve hücreler arası adezyon molekülü(HAAM)-1'in sentezini de azalttığı görülmüştür. Hücrel adezyon molekülleri(HAM)'inde meydana gelen azalma, NL'lerin vasküler endotele olan adezyonunu ve buna bağlı olarak da transendotelial migrasyonunu engeller. Sözü edilen etkiye sahip olan NO'nın bu özelliğiyle, NL'lere bağlı olarak oluşan doku hasarını azalttığı tespit edilmiştir(23).

Bu yararlı etkilerinin yanında, kendisi de bir serbest radikal olan NO değişik serbest radikallerin oluşmasına da sebep olabilir. Oldukça güçlü oksidan ve sitotoksik özelliği olan ONOO⁻ radikali, NO'nın O₂⁻ ile girdiği reaksiyon sonucunda oluşur(24).

Aktivasyonu hücre içi Ca⁺² seviyesine bağlı olan eNOS, sinuzoidal endotel hücreleri(SEH)'nden salınır. Aktivasyonu hücre içi Ca⁺² seviyesine bağlı olmayan İNOS ise, Kupffer hücreleri ve nötrofil lökosit(NL)'ler gibi inflamatuvar hücrelerin yanında, hepatositlerden de salınır(25). Yapılan alışmalarda İNOS enzimatik aktivitesinin, reperfüzyondan 90 dakika sonra önemli derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir(26). Bu artış NFκB aktivitesi ve buna bağlı olarak da İNOS mRNA ekspresyonundaki artış ile paralellik gösterir. Reperfüzyondan bir saat sonra artmaya başlayan İNOS mRNA ekspresyonu, beş saat boyunca artarak devam eder. Reperfüzyonla birlikte iskemik dokudan yoğun olarak salınan arginaz, L-arginini hızlı bir şekilde parçalar. Azalan L-arginin seviyesi de, NO sentezinin geç başlamasında bir etkendir.

2.2.3. Endotelin-1

Fizyolojik şartlar altında hepatik mikrosirkülasyon, NO ve ET-1 arasında var olan denge ile sağlanır(27). Hepatik reperfüzyonun erken döneminde ET-1 ve NO arasında var olan bu dengenin bozulması sonucunda mikrosirkülasyon da bozulur(28). Yapılan çalışmalarda hepatik reperfüzyonun erken safhasında,

plazma ve hepatik parankim ET-1 seviyelerinin yükseldiği görülmüştür. Sözü edilen ET-1 sevitesindeki bu yükselme, karaciğer kan akımının azalmasıyla paralellik gösterir(29). Güçlü ve uzun etkili bir vazokonstriktör olan ET-1, asidik vasıfta ve 21 aminoasitten oluşan bir peptit olup; endotelin ailesinin(ET-1, 2, 3) bir üyesidir(30).

2.2.4. Sitokin ve kemokinler

İskemi sonucunda karaciğerde oluşan hasar, birçok medyatörün rol aldığı, karmaşık bir mekanizmayla oluşur. Sitokinler, reperfüzyon hasarını oluşturan inflamatuvar cevabın başlaması ve sürdürülmesini sağlarlar. Kemokinler ise, inflamatuvar cevabın oluşmasında rol alan NL'ler için güçlü kemotaksik özelliğe sahip olan düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir. Karaciğerde oluşan hasarın temel etkenlerinden olan TNF- α ve IL-1, çok güçlü birer sitokindir. Bu sitokinlerden biri olan IL-1, Kupffer hücrelerini aktive ederek TNF- α üretimini artırırken; NL'leri aktive etmek suretiyle de ROT'ların üretimini artırır(31). Bir diğer sitokin, seviyesi TNF- α ve IL-1'e göre daha geç olarak yükselen IL-6'dır. Bu sitokin, çoğunluğu Kupffer hücrelerinden olmak üzere SEH'den de salınır. Hepatositlerden fibrinojen ve α -1 antitripsin gibi akut faz reaktanlarının salınımını artırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda hipoksinin lenfosit, endotel ve myozit hücre kültürlerinde, NF κ B aktivasyonu ile IL-6 salınımını artırdığı gösterilmiştir(32). Sitokin ailesinin bir diğer üyesi olan IL-10 ise, antiinflamatuvar

bir sitokindir. Bu antiinflamatuvar özelliğini, NFκB üzerine olan inhibitör etkisiyle gösterir. Bu inhibitör etkiyle, başta TNF-α olmak üzere birçok kemokin ve intersellüler adezyon molekülünün sentezini inhibe eder(33). Sıcak İRH sırasında TNF-α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi, kemokin ailesinin bir üyesi olan nötrofil çekici kemokin(NÇK) üretimini artırır(34). Artan NÇK miktarı, TNF-α'ya bağlı olarak meydana gelen gerek lokal gerekse uzak organ hasarının oluşmasında etkin bir rol üstlenir. Endotelial kemokin üretimi, nötrofillerin aktivasyonu ve SEH'lere adezyonuna sebep olur. Oluşan bu adezyonun artmasında, TNF-α'nın SEH'deki adhezyon moleküllerini artırmasının etkisi de büyüktür. Tüm bunlar, nötrofillerin yanında trombositlerin de SEH'ler ile olan etkileşimlerini artırır. Trombositlerin selektin aracılığı ile SEH'lere bağlanması ise endotelial apoptozis ile sonuçlanır(35). Bu olayların oluşmasında rolü olan kemokinlerden biri de epitelyal nötrofil aktive edici protein-78(ENA-78)'dir. Kemokin ailesinin güçlü bir üyesi olan ENA-78'in üretimi TNF-α tarafından artırılır. Salınımı artan ENA-78 ise, nötrofil kemotaksisi ve Kupffer hücre aktivasyonunu artırmak suretiyle ROT'ların üretimini artırır(36). Yapılan çalışmalarda, gerek anti TNF-α antikorları ve gerekse anti ENA-78 antikorlarının kullanılması ile, nötrofil sekestrasyonu ve serum aminotransferaz seviyelerinin azaldığı görülmüştür(37). Kemokin ailesinin diğer üyeleri ise, trombosit faktör-4(TF-4), makrofaj inflamatuvar protein(MİP-1, 2) ve monosit çekici kemokin(MÇK1, 2, 3)'dir(38). Karaciğerde oluşan parankimal kemokin üretimi, kemotaktik bir gradient

oluşmasına sebep olur. Oluşan bu kemokin gradienti ise, nötrofillerin hasarlanmış doku içerisine migrasyonuna sebep olur.

İskeminin ilk etkisi, etkilenen hücre mitokondrilerindeki oksidatif fosforilasyon üzerinedir. Bu etkiden dolayı, hücrelerdeki ATP üretimi hızlı bir şekilde azalır. Hücreler, azalan ATP miktarını anaerobik glikolizle karşılamaya çalışırlar. Bunun sonucunda hücrelerdeki laktik asit miktarı artar ve asidoz oluşur. Gerek laktik asit miktarının giderek artması ve gerekse de hücrelerde biriken karbondioksit(CO_2)'in, karbonik asit(H_2CO_3)'e dönüşmesinden dolayı asidoz artar. Dolayısı ile, iskemi sırasında artan anaerobik glikoliz ve ATP hidrolizi nedeniyle hücre içi PH düşer(39). Düşen bu hücre içi PH'ı, iskemiye bağlı hücre ölümlerinin başlamasına karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. Fakat reperfüzyonla beraber PH'ın tekrar yükselmesi, bir çok enzimatik sistemi aktive etmek suretiyle hücre ölümlerini artırır. Bu durum "PH paradoksu" olarak adlandırılır. Eğer iskemiye maruz kalan hücrelerin reperfüzyonu asidotik PH'ta sağlanırsa, PH paradoksuna bağlı olabilecek hücre ölümleri engellenebilir(40,41). Hücrelerdeki ATP üretiminin azalmasıyla, hücre membranlarında bulunan ATP enerjili "sodyum-potasyum pompası"nın aktivitesi de azalır. Azalan bu aktivite nedeniyle sodyumun hücre dışına atılması giderek zorlaşır. Sodyum ve beraberindeki su giderek kontrolsüz şekilde hücre içerisine girer. Bunun sonucunda hücreler hidropik hale gelir ve şişerler. Bu şişme laktik asit, çeşitli fosfat bileşikleri ve diğer birçok metabolitlerin birikimi ile artan osmotik yük ile iyice artar. Tüm bunların sonucunda iyice hidropik hale gelen hücreler, bir süre sonra hücre

bütünlüğünü koruyamaz duruma gelirler. Biyomembran bütünlüğünü koruyamayan hücrelerden ortama fosfolipit A₂ ve poliansatüre yağ asitleri salınır. Reperfüzyon sırasında ortama yeniden giren oksijen, ortamda bulunan bu poliansatüre yağ asitleriyle reaksiyona girer. Bu reaksiyona, lipid peroksidasyon reaksiyonu adı verilir. Bu reaksiyon sonrasında O₂⁻, hipoklorik asit(HOCl) ve H₂O₂ gibi ROT'lar oluşur. Açığa çıkan bu ROT'lar hücre hasarının daha da artmasına sebep olurlar. Hücre membranında bulunan, hücre içi ve hücre dışı Ca⁺² miktarını dengeleyen pompa da ATP bağımlı olarak çalışır. İskemi sırasında azalan ATP nedeniyle bu pompanın çalışmasında efektif olmaz. Bunun sonucunda, özellikle dokuların reperfüzyonu esnasında hücre içi Ca⁺² miktarı hızlı bir şekilde artar. Hücre içi Ca⁺² artışı birçok proteolitik enzimi ve fosfolipazları aktive eder. Aktive olan fosfolipazlar subsellüler hasarı ve buna bağlı olarak da araşidonik asit miktarını artırır. Artan araşidonik asit miktarı ise, hem ROT'ların oluşumunu artırır hem de mitokondrial enzimleri inhibe eder. Böylece kontrolsüz olarak artan hücre içi Ca⁺² iyonları, ROT'ların başlattığı hücre hasarını iyice artırır.

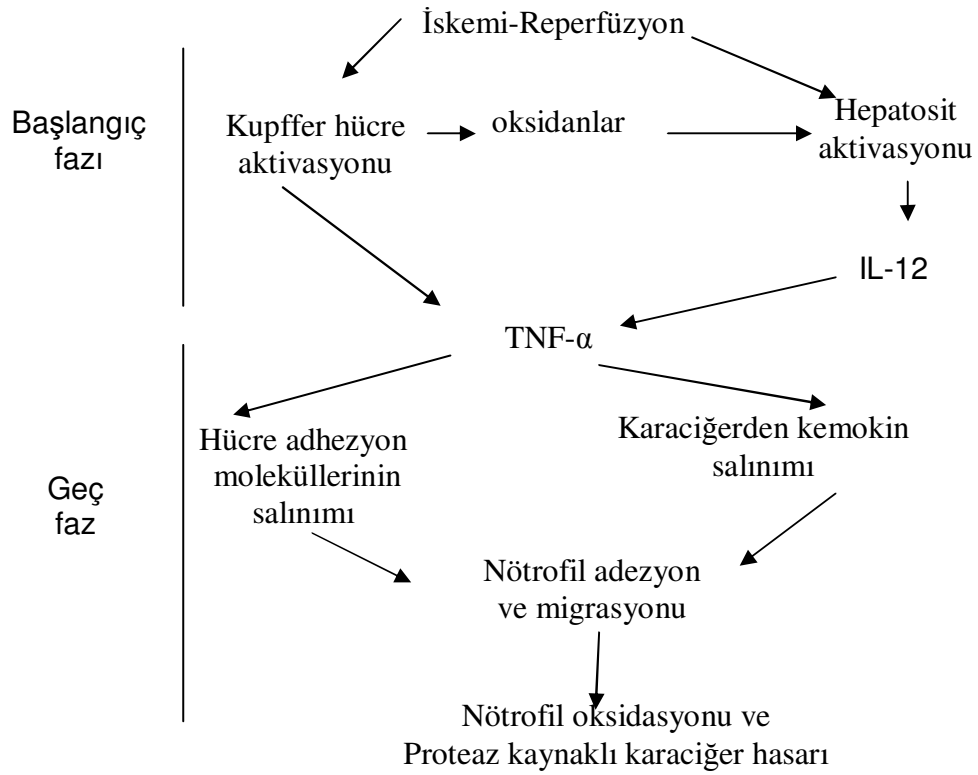
Gerek yüksek kan akımına ve gerekse yüksek anaerobik metabolizma kapasitesine sahip olmasına rağmen karaciğerde de İRH oluşabilmektedir. Karaciğerde oluşan İRH'ı ilk kez 1975'de Toledo-Pereyra ve arkadaşları, gerçekleştirdikleri bir karaciğer transplantasyonunda göstermişlerdir. Transplante edilen karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler organ yetmezliği ile sonuçlanmıştır(2). Karaciğer iskemisi transplantasyondan başka, karaciğer ve safra yollarına yönelik cerrahi girişimler esnasında veya hiçbir cerrahi girişim

olmaksızın hemodinamik yetmezliğe yol açan patolojik süreç esnasında da oluşabilir. Transplantasyon sırasında portal ven ve hepatik arterin klemplenmesi “Pringle manevrası” olarak adlandırılır. Pringle manevrası; karaciğer travmalarının cerrahi tedavisi esnasında, karaciğer ve safra yollarına yönelik cerrahi girişimler sırasında veya karaciğer transplantasyonunda sıkça başvurulmuş bir yöntemdir. Bu klemplenme süresiyle orantılı olarak, işlem sonrasında çeşitli derecelerde HİRH meydana gelir. Hepatik İRH, sıcak İRH ve soğuk-depolama İRH’ı olarak iki şekilde sınıflandırılır. Sıcak İRH klinik olarak karaciğer cerrahisi, karaciğer transplantasyonu, hipovolemik şok, toksik karaciğer hastalıklarının bazı tipleri, vena-oklüziv hastalıklar ve Budd-Chiari Sendromu gibi durumlarla ilgilidir. Soğuk depolama reperfüzyon hasarı ise transplantasyon öncesinde organ muhafazası sırasında oluşmaktadır(42). Sıcak İR sonrasında oluşan karaciğer hasarı iki farklı fazdan oluşur. Başlangıç fazı, reperfüzyondan sonraki 2 saate kadar olan süreyi kapsar. Bu faz, Kupffer hücrelerince oluşturulan oksidatif stresle karakterizedir. Bu fazda meydana gelen ve serbestleştirilen ROT’lar direkt olarak hepatosellüler hasara yol açar(43). Böylece, karaciğer hasarının başlangıç fazındaki bu Kupffer hücre aktivasyonu ile inflamatuvar bir süreç başlatılmış olur. Bu süreç, NL’lerin karaciğere olan infiltrasyonu ile kompleks bir hal alır(44). Karaciğer hasarının geç fazı ise, hepatik reperfüzyondan sonraki 6 ila 48 saat arasındaki dönemi kapsar. Bu dönemde meydana gelen ve inflamatuvar reaksiyona bağlı olarak oluşan hasarlanma, toplanan NL’ler nedeniyle oluşmaktadır(42). Kupffer hücrelerinin ve NL’lerin aktive olması, HİRH’ın oluşmasında önemli rol

oynayan TNF- α ve IL-1 β gibi birçok proinflamatuvar sitokin ve ROT'ların ortaya çıkmasına sebep olur(45). Salınan bu sitokinlerin, çevredeki hepatositler üzerinde çeşitli etkilerinin olması yanında, diğer birçok sitokin ve kemokin üretimini de artırır. Güçlü bir sitokin olan TNF- α , karaciğerin İR'ya vereceği yanıtta esas mediatördür. Etkisini sadece lokal olarak karaciğerde değil, vücudun bir çok uzak organında da gösterir. Gerek TNF- α ve gerekse IL-1, bir kemokin olan IL-8 sentezini artırır(46). Çeşitli sitokin ve kemokinlerin yanında, lökotrien(LT) ve trombosit aktive edici faktör(TAF) gibi bazı lipid yapılı mediyatörler de İRH'nin oluşmasında etkilidir. Bu mediatörlerden TAF, reperfüzyon hasarından etkilenmiş endotel hücreleri tarafından salınır. Trombosit agregasyonuna neden olmasının yanında, ROT'ların salınımını da artırma özelliğine sahiptir. Reperfüzyondan 12 saat sonra önemli derecede artan TAF seviyesi, reperfüzyondan 24 saat sonra pik seviyesine ulaşır. Bu sırada hepatik hasar da en üst seviyededir(47). Bir diğer lipid yapılı mediatör olan LT'ler, NL'lerden salınır ve çok güçlü kemotaktik özelliği olan ajanlardır. Bu özelliklerinden dolayı, İRH'a neden olacak inflamatuvar yanıtın artmasına sebep olurlar. Bir sitokin olan IL-12 ise, iskemi ve erken reperfüzyon fazında hepatositlerden salınır. Salınan bu sitokin, TNF- α ve IL-1 β 'den daha önce salınır ve hepatik inflamatuvar yanıtın başlamasında kritik bir öneme sahiptir(48). Bu konu ile ilgili, gerek nötralizan antikor kullanılmak suretiyle IL-12'nin uzaklaştırıldığı fareler gerekse IL-12'den yoksun farelerle birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda endojen IL-12 üretiminin, karaciğerde TNF- α üretimi ve takip eden inflamatuvar yanıt için gerekli olduğu gösterilmiştir(43).

Sıcak İRH'nin başlangıç fazında, kompleman aktivasyon ürünlerinin Kupffer hücre aktivasyonunda önemli bir rolü vardır. Kompleman aktivasyon ürünlerinin azalmasıyla, Kupffer hücrelerinin indüklediği oksidatif stresin azaldığı gösterilmiştir(49). Dolayısı ile Kupffer hücre aktivasyonunun engellenmesi, İR sonrasında oluşacak olan hücre hasarının önlenmesinde önemli bir etkidir. Bu amaçla, Kupffer hücre aktivasyonunu engelleyen gadolinium klorür kullanarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda Kupffer hücrelerinin gadolinium klorür ile inhibisyonunun, İR sonrasında serum NÇK seviyesinin yükselmesini önlediği gösterilmiştir(50). Gadolinium kullanılmasının, hepatik TNF- α salınımını ise azaltmadığı tespit edilmiştir(51). Reperfüzyonun erken evresinde endotel hücrelerinin şişmesi, vazokonstriksiyon, lökositlerin toplanması ve sinüzoidlerde trombosit birikimiyle mikrosirkülasyon durur ve sinüzoidal lümen iyice daralır. Sinüzoidal lümenin daralmasıyla NL'lerin hızı yavaşlar ve dolayısı ile NL'in endotel ile temas süresi artar ve lökostazis gelişir(52). Gelişen lokostazis sinüzoidal lümeni tam olarak oklüze etmemesine rağmen, hepatik mikrosirkülasyonun iyice engellenmesine neden olur(53). Endotel ile NL'lerin etkileşimini artıran bir diğer faktör de hem TNF- α ve hem de IL-1'in, endotel adhezyon moleküllerinden olan selektin ve β -integrin'in sentezini artırmalarıdır(54). Oluşan İR sürecinde lipid mediatörler, sitokinler ve çeşitli kemokinler tarafından NL ve SEH'lerin yüzeyindeki HAM'lar aktive olmaktadır. Selektinler, integrinler ve immünglobülin benzeri moleküller sözü edilen HAM'lara örnek olarak verilebilir(55). Selektinler endotel hücrelerinde(e-

selektin,p-selektin), trombositlerde(p-selektin) ve NL'lerde(L-selektin) sentez edilir. İntegrinler ise daha çok NL'lerden salınır. İmmünglobülin benzeri edezyon molekülleri ise endotel hücreleri başta olmak üzere birçok hücrede sentez edilmektedir. Adezyon moleküllerinin seviyesindeki artış, nötrofil ve trombositlerin SEH'lere olan adezyonunu artırır(56). Artan NL ve SEH etkileşimi, daha fazla sitokin üretimi ile sinuzoidlerdeki endotel hücre hasarı ve permeabilitenin artmasına neden olur. Tüm bunların neticesinde, SEH'e adhezyonu gerçekleşmiş ve burda toplanmış olan NL'ler, vasküler lümeninden hepatik interstisyuma doğru migrate olurlar(43)(Şekil 2.1). İnterstisyuma ulaşan NL'lerden açığa çıkan çeşitli proteaz(elastaz, kathepsin G, kollegenaz) ve hidrolitik enzimler, hepatositler üzerine sitotoksik etki gösterirler(57). Hepatositlerin sitotoksik etkiye maruz kalması ise parankimal karaciğer hasarının oluşması ile sonuçlanır.



Şekil 2.1. Hepatik İRH'da inflammatuar süreç

Bu arada karaciğerde oluşan İRH, her zaman olumsuzluk olarak yorumlanmamalıdır(52). İnoperabl karaciğer tümörlerine uygulanan radyofrekans(RF) ablasyon tedavisinin, Pringle manevrası sırasında uygulanmasının çok daha etkili olduğu gösterilmiştir(58). Bu sonuç, RF ablasyon tedavisi sırasında oluşturulan ısının, Pringle manevrasıyla dağılımının engellenmesine bağlanmıştır. Bu sonuca ayrıca, İR sonrasında oluşan inflammatuar yanıtın da tümör nekrozunu artırmak suretiyle katkıda bulunduğu aşıkardır.

Günümüzde vasküler hemostatik stapler, argon-beam koagülatör ve ultrasonik karaciğer makaslarının kullanımı ile daha güvenli karaciğer

rezeksiyonları yapılabilir. Bu teknikler, karaciğer rezeksiyonlarında bir HİRH nedeni olan Pringle manevrasına olan ihtiyacı azaltmıştır(42). Fakat HİRH’da hücre ölümünün esas nedeni apoptozis olduğu için, oluşacak doku hasarının en aza indirgenmesinde apoptozisin engellenmesi çok daha etkili olacaktır(59). Günümüzde bu amaçla birçok değişik maddenin kullanılması ile çeşitli araştırmalar yapılmaktadır.

2.3. Karaciğer Rejenerasyonu

Normalde yetişkin insanlarda hepatositler minimal replikatif özellik gösterir ve her 20,000 hepatositte birinde mitozla rastlanır. Fakat cerrahi girişimler gibi karaciğer doku kitlesinde azalmaya sebep olan durumlar veya çeşitli nedenlerle oluşan masif hepatosit nekrozu karaciğer rejenerasyonunu başlatır. Gerçekleştirilen %70’lik parsiyel hepatik rezeksiyonlardan sonra ilk 24-48 saat içerisinde hepatositlerin çoğunun en az bir kere replike oldukları görülmüştür(12). Karaciğerin bu rejenerasyon kapasitesi nedeniyle insanların %80’lere varan karaciğer rezeksiyonunu tolere ettiği gösterilmiştir. Rezeksiyon sonrasında kalan karaciğer dokusu 6-12 ay içerisinde eski boyutuna ulaşır(60). Rejenerasyon, hepatektomi veya karaciğer hasarı sonrasında dolaşımda artış gösteren TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin etkisiyle başlar. Rejenerasyon sırasında kullanılan esas enerji kaynağı ATP olup başlayan rejenerasyon bazı hormonlar(insülin, glukagon, adrenalin, tiroid hormonları..vb) ve çeşitli büyüme faktörlerinin etkisiyle artarak

devam eder. Hepatosit growth faktör(HGF), epidermal growth faktör(EGF), transforming growth faktör- α (TGF- α) ve fibroblast growth faktör(FGF) bu büyüme faktörlerinden bazılarıdır(61,62).

Parsiyel hepatektomi sonrasında birçok gen ekspresyonunda da artış saptanmıştır. Ekspersyonunda artış saptanan bu genler, hepatosit replikasyonunda ve buna bağlı olarak da hepatik rejenerasyonda görev alırlar. Hepatik rezeksiyonlardan sonra gen üretiminin gerçekleştiği ilk faz acil erken faz olarak adlandırılır. Rezeksiyonlardan hemen sonra başlayan bu faz yaklaşık olarak 4 saat sürer. Bu fazda ilk artan gen grubunda c-myc, c-jun ve c-fos gibi proto-onkogenler bulunmaktadır(63). Gen üretiminde ikinci faz gecikmiş erken gen yanıtı olarak bilinen fazdır. Bu fazda ekspresyonu artan genler arasında en iyi bilineni Bcl-2 ailesinin bir üyesi olan Bcl-X_L'dir. Bu gen karaciğerdeki esas anti-apoptotik gen olup karaciğer rejenerasyonun erken döneminde hepatositleri apoptozise karşı korur(64). Rejenerasyon öncesinde ayrıca nükleer faktör kappa-B(NF κ B) ve signal transduction and activatörs of transcription(STAT3) gibi transkripsiyon faktörleri de aktive olur. Transkripsiyon faktörlerinden NF κ B aktivasyonu rezeksiyon sonrasında 30 dakika içerisinde, STAT3 aktivasyonu ise rezeksiyondan 1-2 saat sonra gerçekleşir(65). Her iki transkripsiyon faktörü de rejenerasyonda görev alan çok sayıda genin üretimini regüle etmektedir. Bir transkripsiyon faktörü olan NF κ B, aynı zamanda İNOS gen ekspresyonun regülasyonunda da görev alır(20).

Tanımı yapılan bu biyolojik süreçten anlaşıldığı üzere karaciğer rejenerasyonu salınan birçok sitokin, büyüme faktörü ve çeşitli hormonların etkisiyle başlar ve gelişir. Bu süreçte önemli olan, başlayan ve gelişen bu rejenerasyonun ne zaman ve nasıl sonlandığıdır. Yapılan çalışmalarda inhibitör özellik gösteren bazı gen ve protein ürünlerinin ekspresyonunda rejenerasyon sırasında artış tespit edilmiştir. Bunlar arasında en önemli olanları Transforming Growth Faktör- β (TGF- β), Aktivin A, IL-1 β ile p21 ve p53 genleridir(60). İşte bu hücre siklus inhibitörleri sayesinde oluşan karaciğer rejenerasyonunun belli bir noktada durduğu düşünülmektedir(64).

2.4. *Hypericum Perforatum*(Sarı kantaron)

Hypericum perforatum L.(St.John's Wort), *Clusiaceae*(*Guttiferae*) familyasına bağlı, sarı çiçekli, uzun ömürlü otsu bir bitkidir(Resim 2.1). Sıklıkla Kuzey Amerika, Avrupa ve Asyada yetişir(66). Hipericum kelimesi, Yunanca hyper(üst) ve eikon(resim,şekil) kelimelerinden gelir. Eski Yunan ve Roma'da, bu bitkinin mistik güçlere sahip olduğuna inanıldığı için evlerindeki resim ve heykellerin üzerine konurdu. Perforatum kelimesi ise, bitkinin yapraklarında noktacıklar halinde yerleşmiş olan dış salgı bezlerinin oluşturduğu görüntüden dolayı verilmiştir. Yapraklarda delik varmış gibi bir görünüm oluşturan bu şeffaf noktacıklar, eğer yapraklar ışığa tutulacak olursa iyice belirginleşir. Bitkiye St.John's ismi, çiçeklerini St.John's günü(24 Haziran) olarak adlandırılan güne

yakın olarak açmasından dolayı verilmiştir. Kendisinde bulunan kırmızı pigmentin ise, St.John'un kanını sembolize ettiğine inanılır. Dünyada *Hypericum* sınıfında, 370'den fazla bitki cinsi bulunmaktadır. Bu sınıfın bir üyesi olan *H. perforatum*, görünüş ve kimyasal yapısı ile farklı özellikler gösterir(67). Sarı kantaron, kan otu, kılıç otu, kuzukıran, binbirdelik otu, mayasıl otu olarakta bilinen bu bitki ülkemizde de yaygın olarak nehir kıyıları, tarla, yol ve orman kenarlarında bulunmaktadır. Ortalama uzunluğu 10-100 cm arasındadır. Türkiye'de *Hypericum* cinslerinden 70'den fazlası tespit edilmiştir.



Resim 2.1. *Hypericum perforatum*(St.John's Wort)

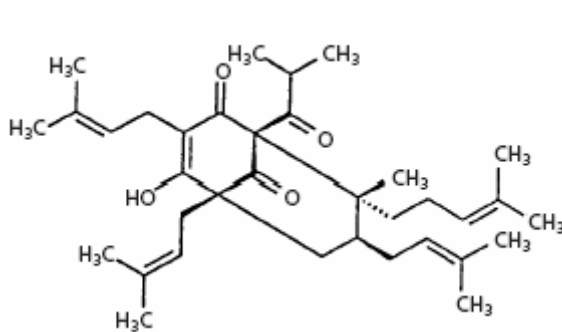
H. perforatum'un yüzyıllar boyunca yanıklarda, doku ezilmelerinde, ödem, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, inflamasyon ve anksiete gibi durumlarda kullanılagelmiştir(68). Günümüzde de *Hypericum* preparatları, depresyon

tedavisinde Birleşik Devletlerde en sık kullanılan antidepresanlardan biridir. Almaya'da ise, fluoksetinden 20 kat daha fazla reçete edilecek kadar fazla kullanılmaktadır. Bu arada *Hipericum* yağ preperatları günümüzde harici olarak küçük yanıklar, yaralar, cilt inflamasyonları ve sinir ağrılarında kullanılmaktadır(69).

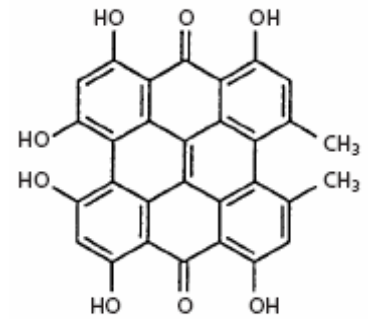
H. perforatum en az 10 sınıf biyoaktif bileşik içermektedir. Bu biyoaktif bileşenler bitki özütünün yaklaşık olarak %20'sini oluşturmaktadır(70). Bu biyoaktif bileşenlerin her bir *Hipericum* türünde bulunma oranları değişik bir çok faktöre bağlıdır. Ekolojik büyüme şartları, örneklerin toplandığı tarih ve bölge, bitkinin yetiştiği bölgedeki güneş ışığının durumu, depolama koşulları bu faktörlere örnek verilebilir(71). Bu biyoaktif bileşiklerden başlıcaları; flavonoidler, prosiyanidler, tanninler, naftodiantron türevleri, floroglusinoller, esansiyel yağlar, amino asitler, ksantonlar, fenilpropanlar ve suda çözünen(organik asitler, peptitler) bileşiklerden oluşur(Tablo 2.1)(72). Bu bileşikler, *H. perforatum*'un yapısında değişik oranlarda bulunurlar. Floroglusinol türevleri olan hiperforin %2-4.5, adhiperforin %2-1.9 (73) ve flavonoidlerden rutin %1.6, hiperosid %0.9, izoquersitrin ise %0.3 oranında bulunur(74). *H. perforatum*'un yapısında birçok biyoaktif molekül bulunmasına rağmen, bunlar içerisinde en aktif olanlar hiperforin(Şekil 2.2) ve hiperisindir(Şekil 2.3)(70).

Tablo 2.1. *H. perforatum*'un içerdği biyoaktif bileşikler.

Naftodiantronlar hiperisin psödohiperisin izohiperisin protohiperisin siklopsödohiperisin	Flavonoidler rutin hiperosid quersetin quersitrin mangiferin mirisetin luteolin hiperosid izoquersitrin
Biflavonlar ve ksantonlar 13, 118-biapigenin amentoflavon tetrahidroksi ksanton	Floroglusinoller hiperforin adhiperforin
Prosiyanidler Prosiyanidin B ₂ Katekin epikatekin	Amino asitler glutamin lösin prolin
Fenilpropanlar kafeik asit klorogenik asit	Tanninler tannik asit
Esansiyel yağlar terpineoller	Diğer bileşikler organik asitler, peptidler polisakkaritler, alkoller



Şekil 2.2. Hiperforinin kimyasal yapısı



Şekil 2.3. Hiperisinin kimyasal yapısı

2.4.1. Naftodiantronlar

Naftodiantronlardan hiperisin ve psödohiperisin, bitkinin çiçek ve yapraklarında bulunur. Bunlar *H. perforatum* özütünün %0.03-%0.3'ünü oluştururlar(75). Hiperisin güneş ışığına olan duyarlılığı artırır(76). Bitki özütü içerisindeki psödohiperisin miktarı, hiperisin miktarının 2 ile 4 katı arasında değişir(77). Hiperisinin, in vitro olarak mono amino oksidaz(MAO) inhibisyon özelliği, başlangıçta rat beyin mitokondrilerinde gösterilmiştir(78). Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda ise, MAO inhibisyon özelliğinin zayıf ve hatta hiç olmadığı tespit edilmiştir(79). Hiperisin ve psödohiperisinin in vitro olarak, *Herpes simplex virüs tip-1 ve 2* (HSV-1,2) gibi birkaç tip zarfsız virüsü de inaktive ettiği gösterilmiştir(80).

2.4.2. Floroglusinoller

Bitkinin özellikle çiçek ve tomurcuklarında bulunmaktadır(69). Hiperforin ve adhiperforinin serotonin(5-HT), nörepinefrin(NE), dopamin ve kolin reuptake inhibisyon özellikleri, kullanılagelen antidepresanlar kadar güçlü ve hatta onlardan daha fazladır(81). Hiperforin, *H. perforatum*'un böyle güçlü antidepresan özellik göstermesini sağlayan en önemli biyoaktif moleküllerinden biridir(82). Hiperforin, birçok ilaca karşı rezistan gelişmiş olan *Staphylococcus aureus* ve gram(+) bakterilerden *Streptococcus pyogenes* ile *Corynebacterium*

diphtheriae'ye karşı da etkin bulunmuştur(83). Bu arada hiperforinin, çeşitli kanser hücrelerinde apoptozisi uyarak sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir(84).

H. perforatum'un en aktif moleküllerinden biri olan hiperforin, aynı zamanda antiinflamatuvar ve anti oksidan etki de göstermektedir. Hiperforin, periferel kan dolaşımındaki mono nükleer lökosit(MNL)'lerin proliferasyonunu inhibe ederken, bir taraftan da bu hücrelerin apoptozislerini stimule eder(85). Yine bu molekülün, siklooksijenaz(COX)-1 ve 5-lipooksijenaz(5-LO) enzim inhibisyonu yaparak, prostanoidler ve LT'ler gibi eikozanoidler sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir(86). Araşidonik asitten; bir taraftan COX enzimi ile Prostaglandin(PG), prostasiklin ve tromboksan(Tx)'lar gibi prostanoidler oluşurken, diğer taraftan 5-LO enzimi ile de LT'ler meydana gelir(87). Prostanoidler sentezini gerçekleştiren COX enziminin iki izoformu vardır. Bu enzimlerden COX-1, başta böbrekler ve mide olmak üzere bir çok organdaki fizyolojik olaylarda görev alan prostanoidler sentezini sağlar. Diğer bir izoformu olan COX-2 ise, inflamatuvar dokularda bulunur ve proinflamatuvar prostanoidler sentezinden sorumludur(88). Bu nedenle prostanoidler genel inhibisyonu, birtakım yan etkilerin ortaya çıkmasına sebep olur. Olabilecek bu yan etkileri en aza indirebilmek için de, selektif COX-2 inhibisyonu yapan ajanlar tercih edilmelidir. Fakat güvenli non steroid anti inflamatuvar ilaçlar(NSAİİ) ve güçlü 5-LO sentez inhibitörü ajanların olmayışı yeni arayışlara sebep olmuştur. Bu arayışlar sonucunda da, kombine enzim(COX/5-LO) inhibisyonu yapan çeşitli

inhibitör ajanlar ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda bu kombine enzim inhibitörlerinin, mide yan etkileri olmadan çok daha geniş bir antiinflamatuvar etkiye sahip oldukları görülmüştür(89). Hiperforin de, bir çok etkisinin yanı sıra güçlü bir kombine(COX/5-LO) enzim inhibitör özelliğine sahiptir. Bu etkiyi gösterirken ortaya çıkan mide yan etkileri de; spesifik COX ve 5-LO enzim inhibitörlerine göre oldukça azdır(86). Allerjik ve inflamatuvar hastalıkların başlangıç ve devamında, çeşitli prostanoidler ile LT'ler önemli rol üstlenirler. Bu sebepten dolayı, astma ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde prostanoid ve LT'lerin inhibisyonu, tedavide önemli bir yere sahiptir. Hiperforinin, COX-1 ve 5-LO enzim inhibisyonu ile gösterdiği antiinflamatuvar etki nedeniyle, atopik dermatit tedavisinde topikal olarak kullanılmaktadır(90).

İnflamatuvar hücrelerin birçoğu, dışardan gelen sinyallerin hücre içersine iletmede G-protein bağlı reseptör(GPBR)'leri kullanmaktadır. Bu reseptörlerin uyarılması inositol-3 fosfat(InsP3) ve diaçilgliserol(DAG) gibi hücre içi ikincil habercilerin oluşmasına sebep olur(91). Bir ikincil haberci olan InsP3, hücre içi Ca^{+2} 'nın serbestleşmesine yol açar. Serbestleşen hücre içi Ca^{+2} ise, protein kinaz-C'yi aktive ederek hücrel cevabın oluşmasını sağlar. Adı geçen ve GPBR aktivasyonu ile üretilen bu ikincil haberciler, NL'lerin kemotaksisi, degranülasyonu, ROT'ların üretimi ve araşidonik asit salınımını regüle ederler. Yapılan çalışmalarda hiperforinin, GPBR sinyal ileti sistemi ile etkileşime girerek, yukarıda bahsedilen reseptör kaynaklı Ca^{+2} mobilizasyonunu engellediği görülmüştür. Hücre içi Ca^{+2} mobilizasyonunun engellenmesi ise, NL'lerden

elastaz ve ROT'ların salınım inhibisyonu temelinde antiinflamatuvar etkiyle sonuçlanır(92).

2.4.3. Flavonoidler

Bitkinin kökleri hariç yaprak, çiçek, sap gibi kısımlarında bulunurlar. Flavonoller(quersetin, kamferol), glikozidler(quersitrin, izoquersitrin, rutin), flavonlar(luteolin), biflavonoidler(biapigenin ve amentoflavon) gibi flavonoid bileşikleri mevcuttur(93). Doğal flavonoidlerin; et, balık yağı ve domuz yağı gibi yiyecekler içerisindeki lipidlerin oksidasyonunu inhibe ettikleri gösterilmiştir(94). Yapılan çalışmalarda flavonoidlerin de, *H. perforatum*'un birçok biyoaktif molekülünde olduğu gibi antidepresan aktiviteleri tespit edilmiştir(95).

Flavonoidler çeşitli mekanizmalarla antinflatuar etki gösterirler. Düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunu inhibe etme, ROT'ların salınımını baskılamak ve COX inhibisyonu bu mekanizmalardan bir kaçıdır(72). Antiinflamatuvar etkileri açısından quersetin ve apigenin oldukça aktif bileşiklerdir. Apigenin, araşidonik asit metabolizmasını direkt olarak inhibe etme özeliğine sahiptir(96). Yine yapılan çalışmalarda quersetinin, İNOS inhibisyonunun yanında; makrofajların TNF- α üretimini de inhibe ettiği görülmüştür(97). Yine aynı biyoaktif molekül fosfodiesteraz enzim inhibisyonu yaparak, cAMP miktarının artmasına sebep olur. Artan cAMP miktarı antiagregan ve buna bağlı olarak da antikoagülan etkiden sorumludur(98).

Flavonoidler, değişik mekanizmalarla hücreleri oksidatif strese karşı koruma etkisine de sahiptirler. Bu mekanizmalardan başlıcaları; antioksidan bir ajan olan glutatyon(GSH) miktarının artırılması, ROT'ların sentez inhibisyonu ve hücre içi Ca^{+2} mobilizasyonunun engellenmesidir(99). Quersetin, ksantin oksidaz(XO) enzimini inhibe ederek ROT'ların oluşumunu kısmen inhibe eder(100). Quersetinin ayrıca, antioksidan bir enzim olan glutatyon peroksidaz(GP_x)'ın seviyesini de artırdığı tespit edilmiştir(101). Bu şekilde başta quersetin olmak üzere flavonoidlerin birçoğu OH, O₂⁻ gibi serbest radikal oluşumunu engellemek suretiyle lipid peroksidasyonunu da inhibe ederler. Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ise MDA seviyesinin azalması ile kendini gösterir(102). Bu nedenle lipid peroksidasyonunu değerlendirmede, tiyobarbit r k asit(TBA) kullanarak serum veya doku MDA düzey tayini yapmak sıkça kullanılan bir yöntemdir. Flavonoidler ayrıca demir ve bakır gibi iyonlar ile şelat oluşturarak, oldukça potent bir radikal olan H₂O₂'den, OH radikalinin oluşmasını da inhibe ederler(103).

Flavonoidler bu özelliklerinin yanında, birçok hayvan modelinde gösterilen antitümöral aktiviteye de sahiptirler. Bazı bitki flavonoidlerinin GIS'den karsinojenlerin emilimini azalttığı gösterilmiştir(104).

2.4.4. Ksantonlar ve fenilpropanlar

Başlıca ksanton bileşikleri kielkorin ve noratiriol'dır. Bu bileşikler esas olarak *H. perforatum*'un köklerinde yer alır. Yapılan çalışmalarda MAO inhibisyonu yaptıkları tespit edilmiştir(69). Fenoller ise, genellikle fenolik asit ve fenilpropanoid esterleri şeklinde bulunurlar ve antioksidan aktivite gösterirler(72).

2.4.5. Diğer bileşikler

Bitki özütü içerisinde ayrıca tanin(proantosiyaniid)'ler, çeşitli asitler(nikotiniik asit, palmitik asit), peptidler, karotenoidler, kolin, nikotinamid, pektin ve alkoller gibi bir çok bileşik bulunur(5). Bu bileşiklerin belirgin bir antidepresan aktivitelere rastlanmamıştır. Bu bileşiklerden özellikle taninlerin GİS'de çeşitli protektif etkileri mevcuttur.

2.5. Karboksimetil Selüloz

Karboksimetil selüloz(KMS) bütün bitki yapılarının temel polisakkaridi olan selülozun, sodyum monoklor asetat ile girdiği reaksiyon sonucunda oluşur. Selülozun polimer yapısından dolayı suda çözünme özelliği bulunmamasına rağmen KMS'nin suda çözünme özelliği mevcuttur. Fizyolojik olarak inert, tatsız, kokusuz, su tutma kapasitesi yüksek, sıcak-soğuk suda çözünerek berrak ve viskoz çözelti oluşturan bir maddedir. Sıklıkla besin, kozmetik ve farmasötik endüstride kullanılır(105). Bu endüstrilerde su tutucu özelliğinden dolayı gerek

jelleştirme ajanı, süspansiyon ve emülsiyon stabilizatörü olarak ve gerekse birçok kimyasal maddenin sudaki çözünürlüğünün artırılmasında, bağlayıcı özelliğinden dolayı kristallenmenin önlenmesi ve bazı farmakolojik ajanların sistemik dolaşıma geçişinin engellenmesinde, su tutarak hacim genişletici özelliğinden dolayı düşük kalorili diyet eldesinde, yapıştırıcı ve bir arada tutucu özelliğinden dolayı ise dolgu maddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Önemsenececek derecede GİS absorpsiyonu olan KMS'nin %10 gibi yüksek bir oranda diyetle ilavesi yalnızca laksatif etki ortaya çıkarmış olup herhangi bir toksik etkisine rastlanmamıştır(106)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden elde edilen, ağırlıkları 200-275 gr arasında değişen 62 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Ratlar deney öncesinde 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık oda koşullarında ve 21 C°'de barındırıldı. Hayvanlar standart rat yemi ile beslenmiş ve çeşme suyu içirilmiştir. Çalışma, hayvan etik kurul onayı alındıktan sonra yapıldı. Hayvan etik kurul onay tarih ve sayısı: 27.10. 2008 / B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/100-16415.

3.2. Kullanılan Kimyasal Madde Ve Malzemeler

3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler:

1. Ketalar(ketamin HCl, 50mg/ml, Pfizer, Türkiye)
2. Alfazyne(Ksilazin HCl, 20mg/ml, Hollanda)
3. Formaldehit(Merck, Almanya)
4. Bender Med Systems rat IL-6 eliza kiti(BMS625)
5. Biosource rat TNF- α eliza kiti(KRC3011)
6. Absolü alkol
7. *H. perforatum* özütü(Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi; Doç.Dr. Esra KÜPELİ AKKOL)
8. İzotonik sodyum klorür(NaCl)(Polifarma, Türkiye)
9. Distile su
10. Polyod antiseptik solüsyon(Drogsan, Türkiye)
11. Sıvı azot
12. Abbott Architect ci 16200 otoanalizör sistemine uygun enzimatik-kolorimetrik aspartat transaminaz(AST), alanin transaminaz(ALT) ve laktat dehidrogenaz(LDH) kitleri
13. Etanol(Tekel)
14. Metanol

3.2.2. Kullanılan malzemeler:

1. Çeşitli operasyon alet ve gereçleri(F.S.T, Almanya)
 - Bistürü
 - Hemostatik pensler
 - Eğri uçlu doku makası
 - Sivri uçlu forsepsler
 - Atravmatik vasküler klipsler
2. Masa Lambası(Üzümcü, Türkiye)
3. Plastik saklama kapları(100 ml'lik)
4. Enjektörler(2.5 ve 5 ml'lik)
5. Elektronik hassas terazi(AFA-210LC, ADAM)
6. Vorteks(Heidolf Reax 200)
7. Benmari(Heto)
8. Kronometre
9. Mikrotom(Leica RM 2255)
10. Işık mikroskobu(Olympus BX51, Japonya)
11. Santrifüj(Hermle Z 380K)
12. Soğutmalı santrifüj(Damon IEC, B-20A soğutmalı, Hermle Z 323K)
13. Elektronik hayvan tartım terazisi(BJ2100D, Precisa)
14. Buzdolabı(Arçelik, Türkiye)
15. Eldiven(Hayat, Türkiye)

16. Termos
17. PH metre(Jenway)
18. Lam ve lameller(Cat no: 7101, Sail Brand, Çin)
19. Hayvan traş makinesi(5-50C, Oster, ABD)
20. Derin dondurucu(MDF-U6086S, Sanyo, Japonya)
21. Otoanalizör(Abbott Architect ci 16200)
22. Eliza okuyucu ve yıkayıcısı(Tecan)
23. Spektrofotometre(Schimadzu, UV1601)
24. Homojenizatör(Virtis-Virtisheur)

3.3. Bitkilerin Toplanması Ve Ekstraksiyonu

H. perforatum bitkisi 2006 yılının Haziran ayında, Ankara'nın Beypazarı İlçesi'nin Gürsöğüt Köyü'ne 5 km mesafede dere kenarlarından toplanmıştır. Toplanan bitki örnekleri daha sonra, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr. Mecit VURAL tarafından teşhis edilmiştir. Eşörnekleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır(GUE No: 2462). Bitki örnekleri çiçekli iken toplanmış ve gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirilmiştir. Kurutularak toz haline getirilmiş bitki örnekleri 100'er gramlık bölümler halinde, 2'şer litre %96'lık etanol ile oda ısısında manyetik karıştırıcıyla günde yarım saat karıştırıldı. Bu şekilde 4'er gün ara ile 3 defa ekstre edildi. Oluşturulan etanollü ekstreler daha sonra kendi

aralarında birleştirildi. Birleştirilen etanollü ekstreler alçak basınç altında, rotavaporda 50 C°'de yoğunlaştırıldı ve vakumlu desikatörde alçak basınç altında kurutuldu. Bu şekilde bitkinin etanol ekstresi elde edilmiş oldu.

3.4. Hayvanları Deneye Hazırlama

Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezindeki 200-275 gr ağırlığındaki 62 adet Wistar-Albino erkek rat seçilerek, gruplar halinde ayrı ayrı kafeslere alındı. Ratlar ilk grupta 8, diğer 3 grubun her birinde 18 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

1. Grup(Sham): Uygun anestezi ve laparotomi işleminden sonra hepatik pedikül serbestleştirilmesi yapıldı. Daha sonra kan ve karaciğer örnekleme yapılarak sakrifikasyonu gerçekleştirilen grup.

2. Grup(İR yapılan grup): Hepatik pedikül serbestleştirilme işlemini takiben kan ve karaciğer örnekleme yapıldı. Daha sonra %70'lik parsiyel karaciğer iskemisi yapılan ve iskemi sonrasında reperfüzyon uygulanan grup.

3. Grup(KMS+İR): Bu grubu oluşturan ratlara, işlemden önce 1 hafta süreyle 4ml/kg/gün olacak şekilde %0.5'lik KMS verildi. Bir hafta sonra ise İR işlemine tabii tutuldular.

4. Grup(KMS+*H.perforatum*+İR): Bu gruptaki ratlara işlemden önce 1 hafta süreyle 400mgr/kg/gün olacak şekilde *H.perforatum* özütü verildi. Bunun için *H.perforatum* özütünün %0.5'lik KMS içerisinde çözülerek hazırlanmış

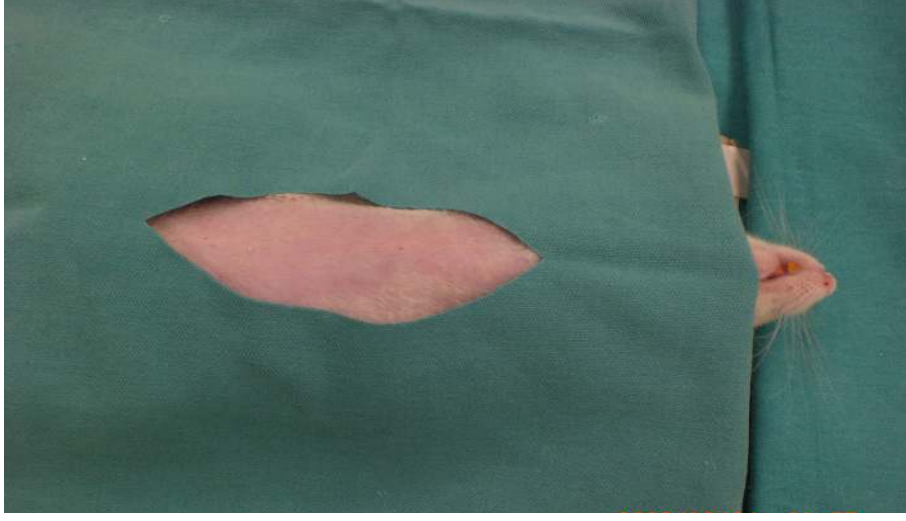
%10'luk süspansiyonu kullanıldı. Bu süspansiyondan her bir rata 1 hafta süreyle 4 ml/kg/gün olacak şekilde verildi. Ratlar daha sonra İR işlemine tabii tutuldular.

3.4.1. Anestezi

İşleme tabii tutulacak olan ratların anestezisi; intramusküler(i.m) olarak verilen 45 mg/kg ketamin HCl ve 5 mg/kg xylazin ile sağlandı.

3.5. Uygulanan Cerrahi İşlem

Deney hayvanları, uygulanacak cerrahi işlemin 1 gece öncesinden 12 saat süreyle aç bırakıldı. Sadece su içmelerine izin verildi. Çalışmaya sham grubu ile başlandı. Bu gruptaki ratların önce uygun şekilde anestezisi sağlandı. Anestezisi sağlanan hayvanların daha sonra karın duvarları tıraş edildi ve sırt üstü pozisyonları verildi(Resim 3.1).

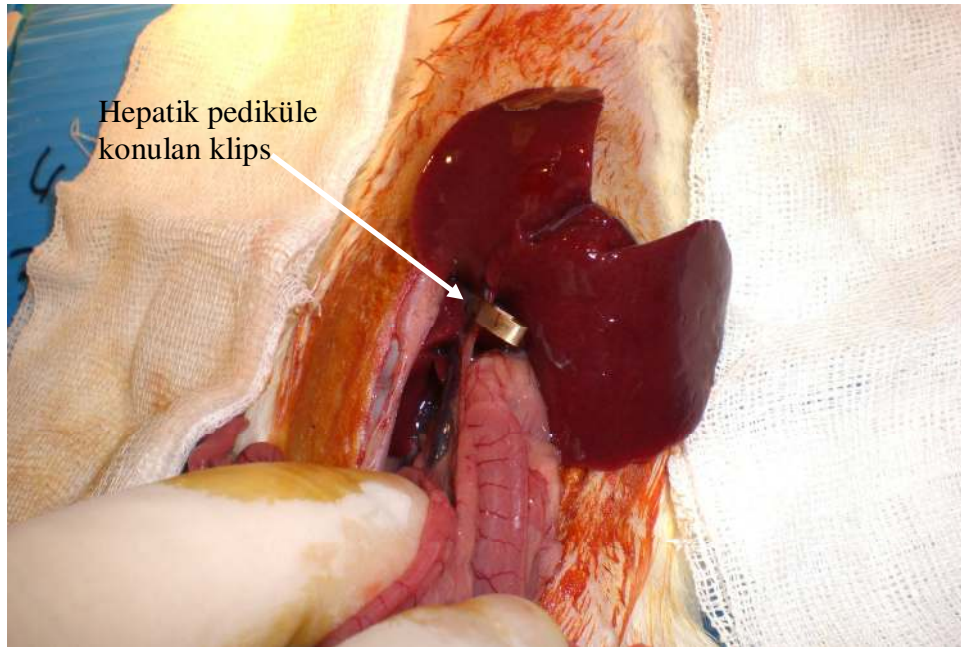


Resim 3.1. Uygun anestezi sonrasında sırt üstü pozisyonu verilen rat.

Pozisyon verilen ratlara daha sonra steril şartlar altında median laparotomi yapıldı. Karına girildikten sonra falsiform ligaman ile hepatogastrik ligaman kesilerek karaciğer serbestleştirildi. Daha sonra portal ven, hepatik arter ve safra duktusu görülecek şekilde hepatik pedikül serbestleştirildi. Bu aşamadan sonra, gruptaki 8 adet ratın her birinin vena kavalardan 4 ml kan alındı. Kanlar düz biyokimya tüpüne alındı. Kan örneği alınan ratların aynı zamanda her birinin karaciğer sol loblarından 3cm³ doku örneği alındı. Alınan doku örnekleri, gerek doku MDA ve İOPÜ seviyesini ölçmek gerekse histopatolojik incelemeler için iki eşit parçaya ayrıldı. Doku MDA ve İOPÜ seviyesi ölçmek için ayrılan doku örnekleri, alminyum folyo ile paketleni. Folyo ile paketlenen doku örnekleri, bu dokuların naklinde kullanılan ve içerisinde sıvı azot bulunan termos içine koyuldu. Histopatolojik inceleme için ayrılan doku örnekleri ise %10'luk

formaldehit içerisinde fikse edildi. İşlemi tamamlanan ratlar hemorajik şok ile sakrifiye edildi.

Çalışmaya daha sonra 2. grup(İR) ile devam edildi. Her bir ratın uygun anestezi sonrası laparatomisi yapıp hepatik pedikülleri serbestleştirildi. Hepatik pedikülleri serbestleştirilen 18 adet ratın her birinin vena kavalardan 1 ml kan ve eş zamanlı karaciğer sol loblarından 2 cm³ doku örneği alındı. Alınan kan ve karaciğer doku örnekleri Sham grubunda tarif edildiği gibi muhafaza edildi. Daha sonra, kan ve karaciğer örnekleri alınan ratların her birine %70'lik hepatik iskemi yapmak için vasküler klipsler hazırlandı. Vasküler klipsler, karaciğer medial ve sol loblarına giden hepatik arter,portal ven ve safra duktusunu içeren pediküllere yerleştirildi. Böylece %70'lik karaciğer iskemisi oluşturuldu(Resim 3.2).



Resim3.2. Hepatik pediküle konulan vasküler klips ile oluşturulan karaciğer iskemisi

Karaciğer iskemisi başlayan tüm ratların karın içersine 1 ml ılık NaCl verildi. Daha sonra laparotomi yapılan alanın üzeri, ılık %0.9'luk NaCl ile ıslatılmış steril spançlar ile örtüldü. Beklemeye alınan ratlarda oluşturulan iskemi süresi 45 dakika ile sınırlı tutuldu. Pediküllere yerleştirilen klipslerin 45 dakika bitiminde çıkarılması, beraberinde hepatik reperfüzyonu da başlatmış oldu. Hepatik reperfüzyonun başlamasından 1 saat sonra gruptaki 6 adet rat tekrar doku ve kan örneklemesine tabii tutuldu. Bu amaçla bu 6 adet ratın her birinin vena kavasından 4 ml kan ve eş zamanlı olarak karaciğer sol loblarından 3 cm³ doku örneği alındı. Alınan kan ve karaciğer örnekleri Sham grubunda tarif edildiği gibi muhafaza edildi. Reperfüzyonun 1. saatinde tekrar örnekleme yapılan bu 6 adet rat, daha sonra hemorajik şok ile sakrifiye edildi. Reperfüzyonun 2 ve 4. saatlerinde de, her birinde 6 adet olmak üzere 2. grupta kalan 12 adet rat tekrar örnekleme tabii tutuldu. Bu örnekleme işlemi ve sakrifikasyon da, reperfüzyonun 1. saatinde yapılan işlemde olduğu gibi yapıldı.

Ratların 3 ve 4. gruplarına uygulanan cerrahi prosedür, yukarıda anlatılan ve 2. gruba uygulanan cerrahi işlem ile aynı özellikleri taşımaktadır.

3.6. Serum AST, ALT ve LDH Seviyelerinin Ölçümü

Serum AST, ALT ve LDH için alınan kan örnekleri 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen serum örneklerindeki AST, ALT ve LDH aktiviteleri aynı gün, GÜTF Biyokimya

Laboratuvarındaki Abbott Architect ci 16200 otoanalizör sisteminde ölçüldü. Ölçüm işleminde, otoanalizöre uygun enzimatik-kolorimetrik kitler kullanıldı.

3.7. Serum TNF- α ve IL-6 Seviyelerinin Ölçümü

Serum TNF- α ve IL-6 seviyesi için ayrılan kan örnekleri 1500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen serum örnekleri çalışma gününe kadar -80 C°’de muhafaza edildi. Serum TNF- α ve IL-6 seviyeleri, GÜTF Biyokimya Laboratuvarındaki Eliza okuyucu ve yıkayıcısında ölçüldü. Serum IL-6 seviyesi ölçümünde Bender Med Systems rat IL-6 Eliza kiti(BMS625) kullanıldı. Serum TNF- α seviyesi ölçümünde ise Biosource rat TNF- α Eliza kiti(KRC3011) kullanıldı.

3.8. Doku MDA Seviyesinin Ölçümü

Doku MDA seviyelerinin ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının tarifledikleri yönteme göre yapıldı(107). Bu yöntemin ilkesi; homojenattaki proteinlerin sodyum dodesil sülfat(SDS) ile bağlanmasıyla, ortam PH’ı 3,5 olduğu durumda örnekte bulunan MDA’nın TBA ile oluşturduğu komplekse bağlı oluşan kırmızı rengin spektrofotometrik ölçümüne dayanır.

Kullanılan reaktifler:

- Distile su içinde hazırlanan %0.8’lik TBA

- Distile su içinde hazırlanan %20'lik Asetik asit, (NaOH ile pH:3,5'a ayarlandı.
- n-butanol/piridin(15:1 v/v)
- Distile su içinde hazırlanan %8.1'lik SDS

Doku örnekleri 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl(pH: 7.4) tamponda, buz içinde ve soğukta homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlardan 50 µL alınarak üzerine 50 µL %8.1 SDS eklendi. Ardından 375 µL %0.8 TBA, 375 µL %20 asetik asit(pH:3.5) ve 150 µl distile su eklendi. Elde edilen karışım su banyosunda 95 C°'de 60 dakika süreyle kaynatıldı. Daha sonra karışım soğutularak üzerine 250 µl distile su ve 1, 250 ml n-butanol/ piridin(15: 1 v/v) eklenerek vortekslendi. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip üst faz 532 nm'de n-butanole karşı okundu. Okunma işleminden sonra, MDA standardı olarak 1, 1, 3, 3 tetrametoksi propan kullanılarak standart grafik elde edildi. Bu grafik yardımı ile örneklerin absorbens değerlerinin nmol cinsinden MDA miktarı saptandı. Sonuçlar “nmol/gr yaş doku” cinsinden belirlendi.

3.9. Serum MDA Seviyesinin Ölçümü

Yoshioka ve arkadaşlarının tarifledikleri yöntemle göre analiz edildi(108). Yöntemin temel ilkesi serumdaki proteinlerin trikloroasetik asit(TCA) ile

çöktürülmesinden sonra MDA'nın TBA ile oluşturduğu kompleksin kolorimetrik olarak ölçümüne dayanır.

Kullanılan reaktifler:

- Distile su içinde hazırlanan %20'lik TCA
- Distile su içinde hazırlanan %0,67'lik TBA
- n-butanol

Serum MDA tayini için serum örneklerinden 250 µl alınarak üzerlerine 1,250 ml %20'lik TCA ve 0,5 ml %0,67'lik TBA eklenerek 30 dakika sıcak su banyosunda kaynatıldı. Sonra hemen soğutulularak tüm tüplere 2 ml n-butanol eklendi ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst faz 532 nm'de n-butanole karşı okundu. Daha sonra MDA standardı olarak 1, 1, 3, 3 tetrametoksi propan kullanılarak standart grafik elde edildi. Bu grafik yardımı ile örneklerin absorbans değerlerinin "nmol/ml" cinsinden MDA miktarı saptandı.

3.10. Doku Ve Serum İOPÜ Seviyelerinin Ölçümü

Doku ve serum İOPÜ seviyeleri Witko-Sarsat ve arkadaşlarının tanımladığı spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür(109).

Kullanılan reaktifler:

- Fosfat tampon solüsyonu(PBS, pH: 7,4)
- 1, 16 M KI
- Asetik asit(%100'lük)

- Kloramin T(0-100 μ M arasındaki konsantrasyonlarda standart olarak hazırlandı).
- Tris-HCl, 20 mM, pH: 7,4

Doku örnekleri 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl(pH: 7.4) tamponunda, buz içinde ve soğukta homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek doku süpernatantları elde edildi. Bu yöntemde 200 μ l serum veya doku süpernatantı 1:5 oranında fosfat buffer salin(PBS) ile dilüe edildi. Üzerine 10 μ l potasyum iyodür(KI) ve 20 μ l asetik asit eklenerek numuneler 340 nm absorbansta PBS'e karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yöntemde 0-100 μ M kloramin T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak serumda μ mol/L, karaciğer dokusunda ise mmol/gr doku olacak şekilde ifade edildi.

3.11. Histopatolojik Değerlendirme

Karaciğer örnekleri, Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında incelendi. Karaciğer örnekleri %10'luk formalin içerisinde fikse edildikten sonra parafine gömme prosedürü uygulandı. Daha sonra parafine gömülmüş karaciğer örneklerinden 5 μ m'lik kesitler alınarak Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Boyanan preperatlar deney gruplarından habersiz patolog tarafından ışık mikroskopunda değerlendirildi. Değerlendirmede karaciğer örneklerindeki reperfüzyon hasarı ve SEH'lere olan

PNL adezyon derecesi ele alındı. Reperfüzyon hasarı; hepatositlerdeki sitoplazmik vakuolizasyon, nükleer piknoz ve sitoplazmadaki hipereozinofilinin yanı sıra hepatik kordonlarda bozulma, PNL infiltrasyonu ve hemoraji ile karakterli nekroz mevcudiyeti açısından incelendi(Tablo 3.1). Oluşan İRH sırasında SEH'lere olan PNL adezyon derecesinin değerlendirilmesi ise, her biri 1mm^2 ve bir birine uzak 10-15 kadar alandaki PNL'ler sayılarak yapıldı(110).

Tablo 3.1. Karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirme skalası

Grade	Histopatoloji
0	Hasar minimal veya yok
1	Hafif hasar(Sitoplazmik vakuolizasyon, fokal nükleer piknoz)
2	Orta derecede hasar(Yaygın nükleer piknoz, sitoplazmik hipereozinofili, intersellüler sınırlarda kayıp)
3	Şiddetli hasar(PNL infiltrasyonu, hemoraji ve hepatositlerin oluşturduğu hücre kordonlarının bütünlüğünde bozulma ile karakterli şiddetli nekroz)

3.12. İstatistiksel Analizler

Tüm veriler Statistica 13.0 istatistik paket programına yüklendi ve istatistiksel analizler bu programla yapıldı. Bütün sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Gruplardaki parametrik değerler arasında fark olup olmadığının tespitinde, tek yönlü varyans analiz testi(One Way ANOVA) kullanıldı. Farklılık

tespit edildiğinde, hangi grupların birbirinden farklı olduğunun tespitinde ise Post-Hoc Scheffe testi kullanıldı. Histopatolojik verilerden biri olan grade açısından gruplar arasında herhangi bir farklılık olup olmadığının tespitinde, non parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Farklılık tespit edilen grupların ikili olarak karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı ve $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Sham, İR, KMS ve *H. Perforatum*(HP) gruplarındaki parametrelerin One Way ANOVA testi tüm parametreler açısından gruplar arasında farklılıklar olduğunu gösterdi($P<0,05$).

Tablo 4.1. sMDA, dMDA, sİOPÜ ve dİOPÜ ortalama $\pm$ SD seviyeleri

Gruplar	sMDA	dMDA	sİOPÜ	dİOPÜ
Sham	3,82 $\pm$ 0,69	84 $\pm$ 7,59	86,12 $\pm$ 10,64	1,81 $\pm$ 0,75
İR	8,08 $\pm$ 1,79	153,12 $\pm$ 19,42	351,95 $\pm$ 206,86	5,19 $\pm$ 1,58
KMS	9,64 $\pm$ 2,90	126,91 $\pm$ 22,74	471,54 $\pm$ 198,84	6,14 $\pm$ 1,59
HP	5,35 $\pm$ 1,15	94,08 $\pm$ 18,82	270,72 $\pm$ 74,69	3,70 $\pm$ 0,92

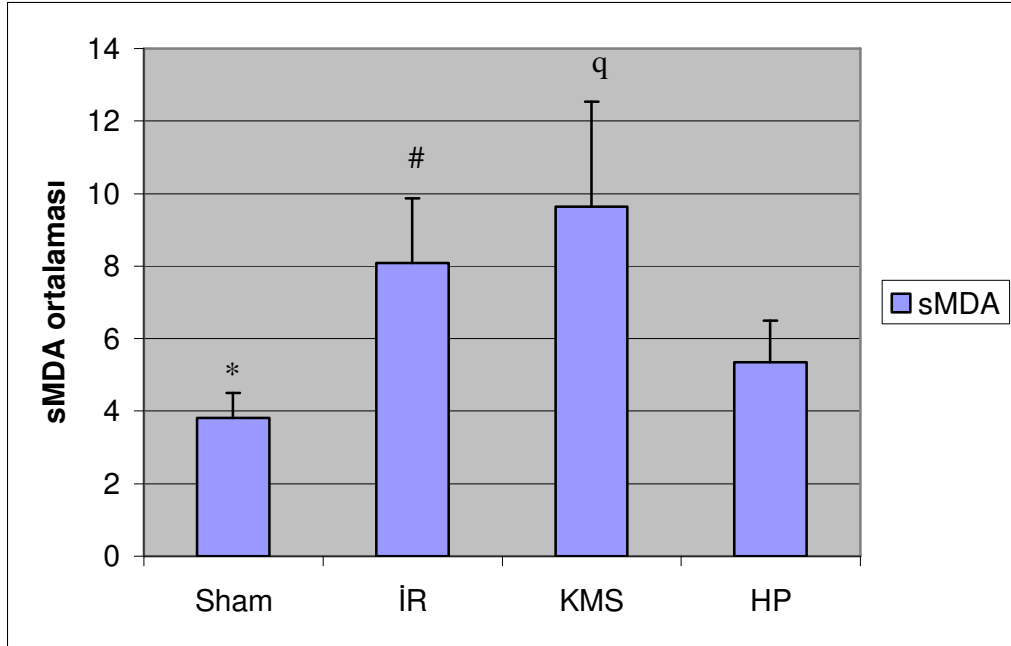
Tablo 4.2. AST, ALT, LDH ve TNF- α ortalama $\pm$ SD seviyeleri

Gruplar	AST	ALT	LDH	TNF- α
Sham	124,87 $\pm$ 12,17	63,0 $\pm$ 10,71	790,75 $\pm$ 203,09	27,31 $\pm$ 10,52
İR	572,20 $\pm$ 283,6	750,31 $\pm$ 430,6	1862,7 $\pm$ 634,8	120,16 $\pm$ 52,22
KMS	660,41 $\pm$ 358,6	798,49 $\pm$ 694,7	2237,1 $\pm$ 1001,2	106,0 $\pm$ 30,40
HP	414,32 $\pm$ 179,0	286,73 $\pm$ 161,6	2231,7 $\pm$ 1089,3	48,1 $\pm$ 22,02

Tablo 4.3. IL-6, Karaciğer doku hasar skor seviyesi ve SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL ortalama $\pm$ SD seviyeleri

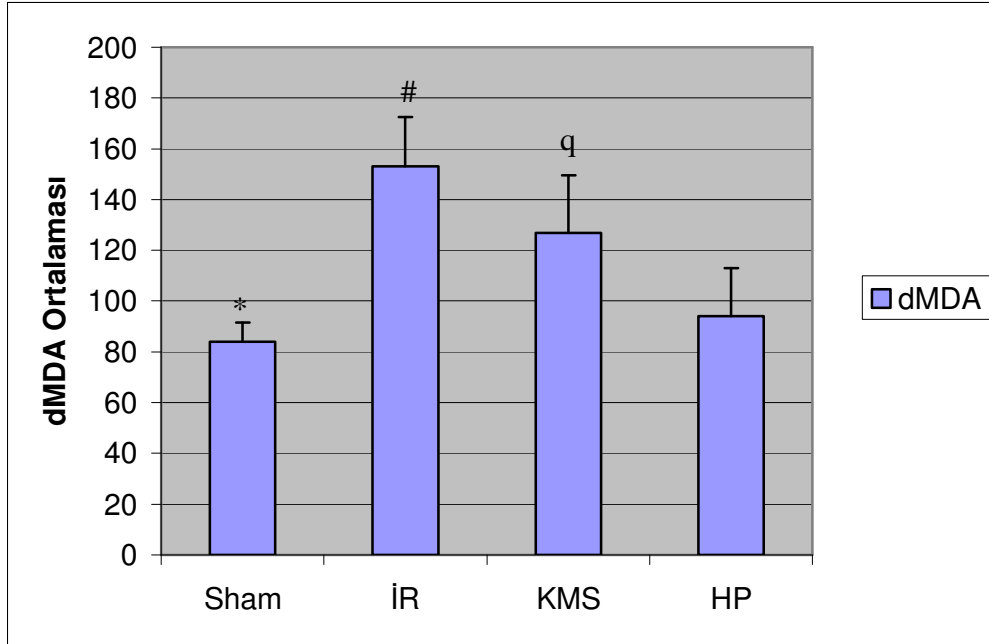
Gruplar	IL-6	Karaciğer doku hasar skor seviyesi	SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL ortalaması
Sham	14,75 $\pm$ 4,77	0,25 $\pm$ 0,46	1,37 $\pm$ 0,51
İR	35,64 $\pm$ 8,72	1,20 $\pm$ 0,72	6,41 $\pm$ 3,38
KMS	31,39 $\pm$ 6,94	1,16 $\pm$ 0,63	5,45 $\pm$ 3,24
HP	19,38 $\pm$ 7,20	0,58 $\pm$ 0,58	2,58 $\pm$ 1,55

Yapılan değerlendirilmelerde serum MDA(sMDA) değerlerinin Sham grubunda, İR ve KMS gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük seviyede olduğu tespit edildi($P<0,05$). Ölçülen sMDA değerleri açısından Sham grubu ile HP grubu arasında ise anlamlı bir fark tespit edilemedi($P>0,05$). Yine sMDA değerleri açısından İR grubu ile KMS grubu arasında da anlamlı bir farkın olmadığı görüldü($P>0,05$). Fakat İR grubundaki sMDA değerlerinin HP grubundaki sMDA değerlerine göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edildi($P<0,05$). Yapılan diğer bir değerlendirmede KMS grubundaki sMDA değerlerinin de HP grubundaki sMDA değerlerine göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü($P<0,05$).



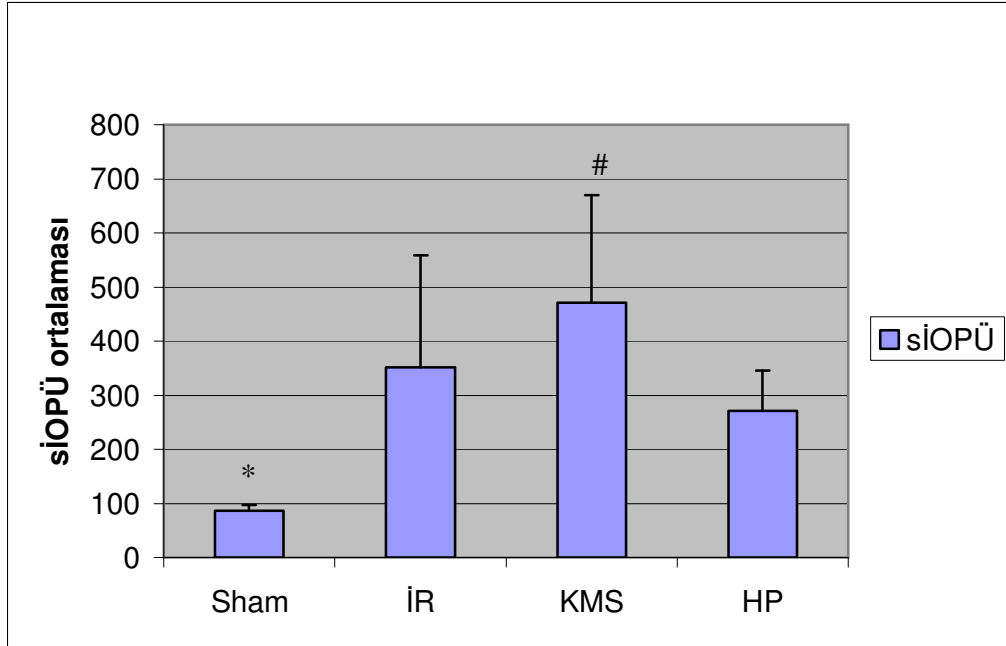
Grafik 4.1. sMDA ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ HP ile karşılaştırıldığında, q: $P<0,05$ HP ile karşılaştırıldığında

Doku MDA(dMDA) değerlerinin karşılaştırılmasında; Sham grubu dMDA değerlerinin, İR ve KMS grubuna göre anlamlı olarak düşük düzeyde olduğu tespit edildi($P<0,05$). Benzer şekilde Sham grubundaki dMDA değerleri HP grubundaki dMDA değerlerinden daha düşük düzeyde olsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi($P>0,05$). Çalışmada, İR grubundaki dMDA düzeyleri KMS ve HP grubundaki dMDA düzeylerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu($P<0,05$). Aynı şekilde KMS grubundaki dMDA düzeyleri de HP grubundaki dMDA düzeylerine göre anlamlı olarak yüksek ölçüldü($P<0,05$).



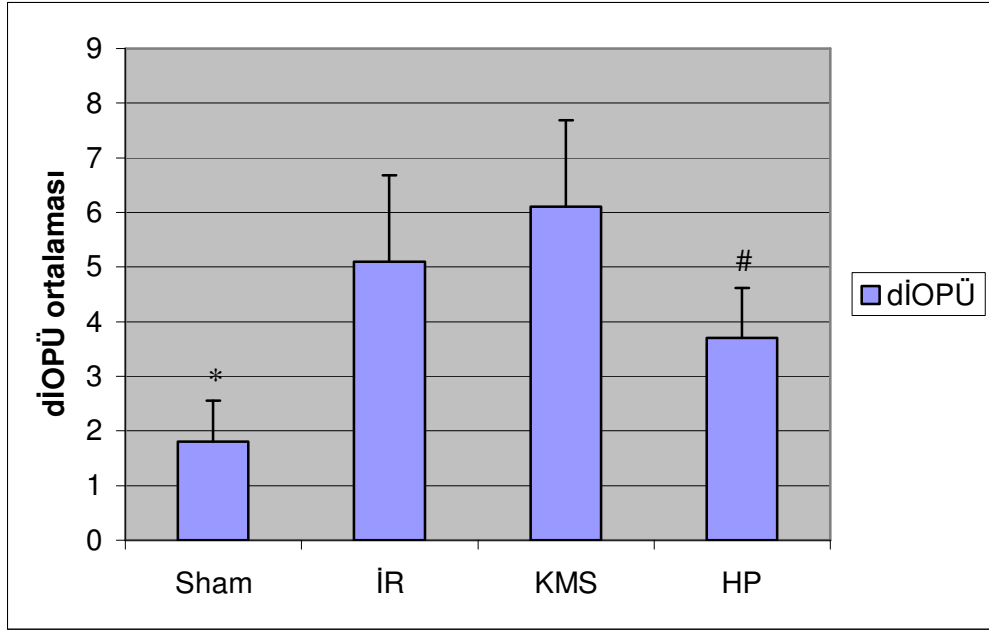
Grafik 4.2. dMDA ortalamaları. *: $P < 0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P < 0,05$ KMS ve HP ile karşılaştırıldığında, q: $P < 0,05$ HP ile karşılaştırıldığında.

Serum İOPÜ(sİOPÜ) seviyeleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, grupları arasında anlamlı farklar olduğu görüldü. Sham grubundaki sİOPÜ seviyelerinin, İR ve KMS gruplarındaki sİOPÜ seviyelerine göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü($P < 0,05$). Sham grubundaki sİOPÜ seviyeleri ile HP grubundaki sİOPÜ seviyeleri arasında ise anlamlı bir fark yoktu($P > 0,05$). Aynı şekilde İR grubundaki sİOPÜ seviyeleri ile KMS grubundaki sİOPÜ seviyeleri arasında da anlamlı bir fark olmadığı görüldü($P > 0,05$). Öte yandan, İR grubundaki sİOPÜ seviyeleri HP grubundaki sİOPÜ seviyelerinden yüksek olduğu görülse de bu farklılığın istatistiksel bir anlamı yoktu($P > 0,05$). Buna karşılık KMS grubundaki sİOPÜ seviyeleri HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek idi($P < 0,05$).



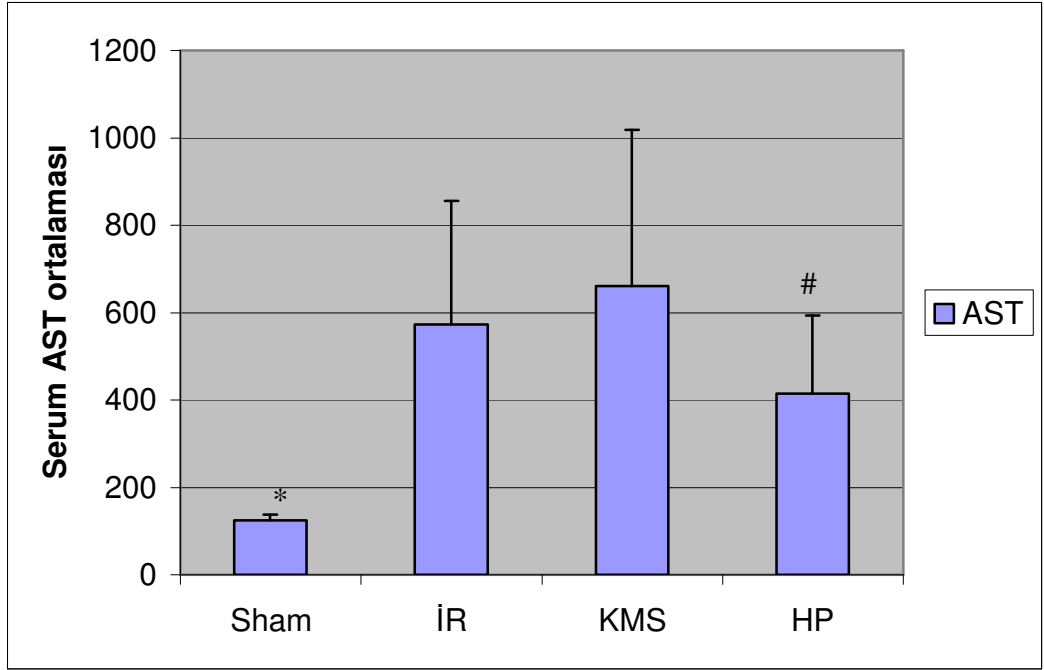
Grafik 4.3. sIOPÜ ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ HP ile karşılaştırıldığında.

Gruplardaki doku İOPÜ(dİOPÜ) değerlerinin karşılaştırılması ile gruplar arasında farklılıklar olduğu gözlemlendi. Sham grubundaki dİOPÜ seviyeleri diğer gruplardaki dİOPÜ seviyelerine göre anlamlı olarak düşük bulundu($P<0,05$). Gruplardan, İR'deki dİOPÜ değerlerinde KMS grubuna göre anlamlı bir fark tespit edilmedi($P>0,05$). Bu arada gerek İR ve gerekse KMS grubundaki dİOPÜ seviyeleri, HP grubundaki dİOPÜ seviyelerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu($P<0,05$).



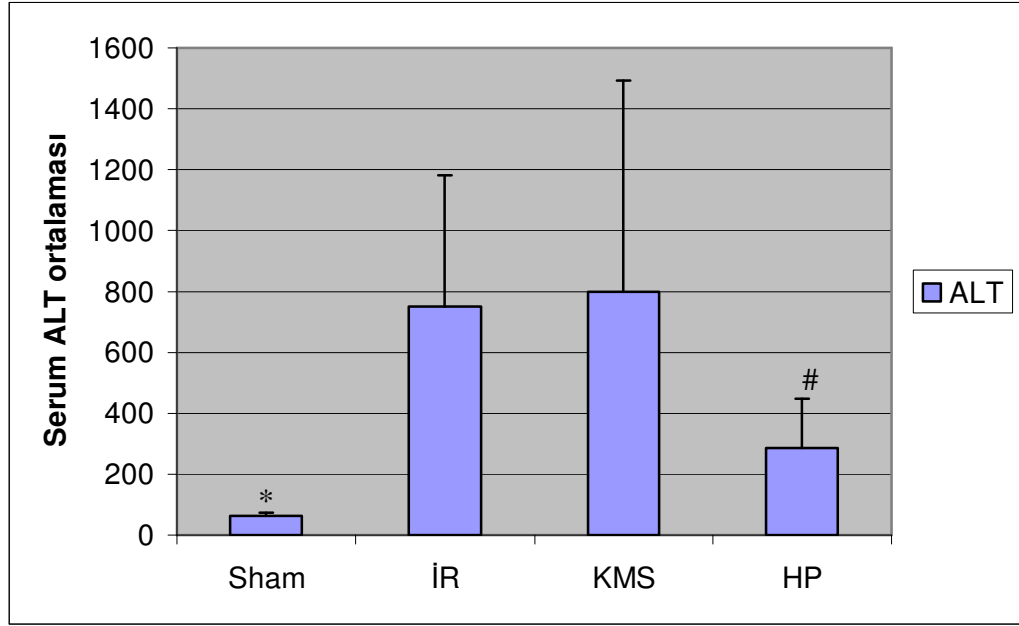
Grafik 4.4. diOPÜ ortalamaları. *: $P < 0,05$ İR, KMS ve HP ile karşılaştırıldığında, #: $P < 0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında.

Sham grubundaki serum AST seviyelerinin ise İR ve KMS grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi ($P < 0,05$). Öte yandan, HP grubundaki serum AST seviyelerinin Sham grubuna göre daha yüksek olduğu görülse de bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P > 0,05$). Keza, İR grubu ile KMS grubu arasında serum AST seviyeleri açısından anlamlı bir fark görülmedi ($P > 0,05$). Ölçülen serum AST değerleri, HP grubunda İR grubuna göre daha düşük düzeyde tespit edilse de bunun istatistiksel bir önemi yoktu ($P > 0,05$). Bununla birlikte, HP grubundaki serum AST değerlerinin KMS grubuna göre belirgin olarak daha düşük düzeyde olduğu görüldü ($P < 0,05$).



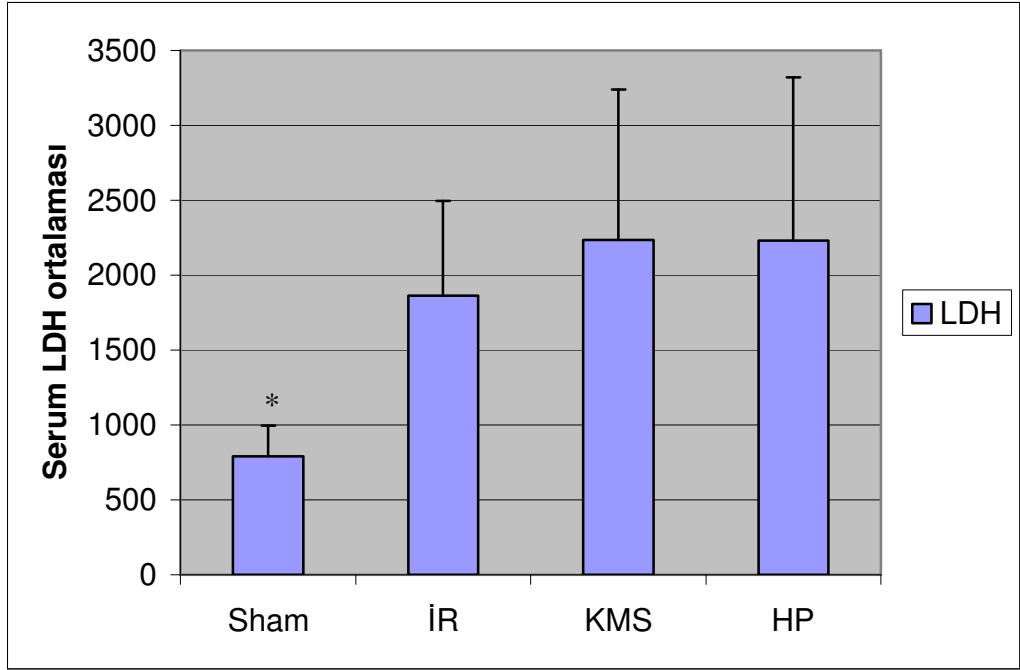
Grafik 4.5. Serum AST ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ KMS ile karşılaştırıldığında

Sham grubundaki serum ALT seviyelerinin, İR ve KMS gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ($P<0,05$). Bu arada HP grubundaki serum ALT seviyeleri Sham grubuna göre daha yüksek olarak tespit edilse de bunun istatistiksel olarak bir anlamı yoktu ($P>0,05$). Serum ALT seviyeleri açısından İR ve KMS grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($P>0,05$). Elde edilen sonuçlara göre, İR grubundaki serum ALT seviyelerinin HP grubundaki serum ALT seviyelerinden daha yüksek olduğu görüldü ($P<0,05$). Benzer şekilde, KMS grubundaki serum ALT seviyeleri de HP grubundaki serum ALT seviyelerinden anlamlı olarak yüksek bulundu ($P<0,05$).



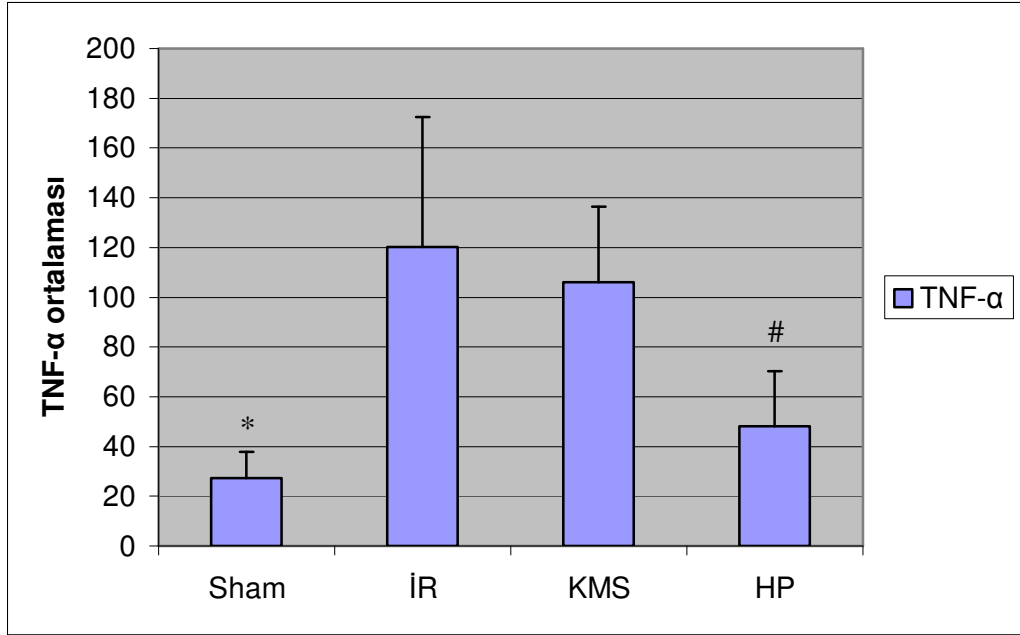
Grafik 4.6. Serum ALT ortalamaları. *: $P < 0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P < 0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında.

Sham grubundaki serum LDH seviyeleri İR, KMS ve HP gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu($P < 0,05$). Buna karşın serum LDH seviyeleri açısından İR ve KMS grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi($P > 0,05$). Benzer şekilde İR ve KMS gruplarındaki serum LDH seviyeleri ile HP grubundaki serum LDH seviyeleri arasında da anlamlı bir fark görülmedi($P > 0,05$).



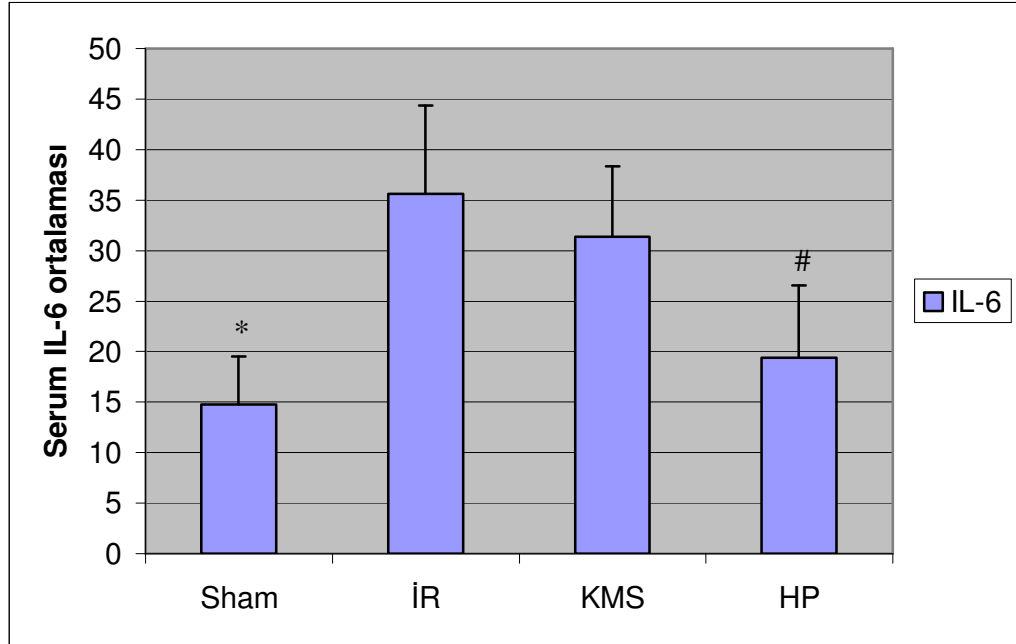
Grafik 4.7. Serum LDH ortalamaları. *: $P<0,05$ İR, KMS ve HP ile karşılaştırıldığında.

Yapılan değerlendirmelerde Sham grubundaki TNF- α seviyelerinin İR ve KMS grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü($P<0,05$). Bunun yanında TNF- α seviyeleri açısından Sham grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi($P>0,05$). Benzer şekilde İR ve KMS grupları arasında da TNF- α seviyeleri açısından anlamlı bir fark görülmedi($P>0,05$). Buna karşın İR ve KMS grubundaki TNF- α seviyelerinin HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi($P<0,05$).



Grafik 4.8. Serum TNF- α ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında.

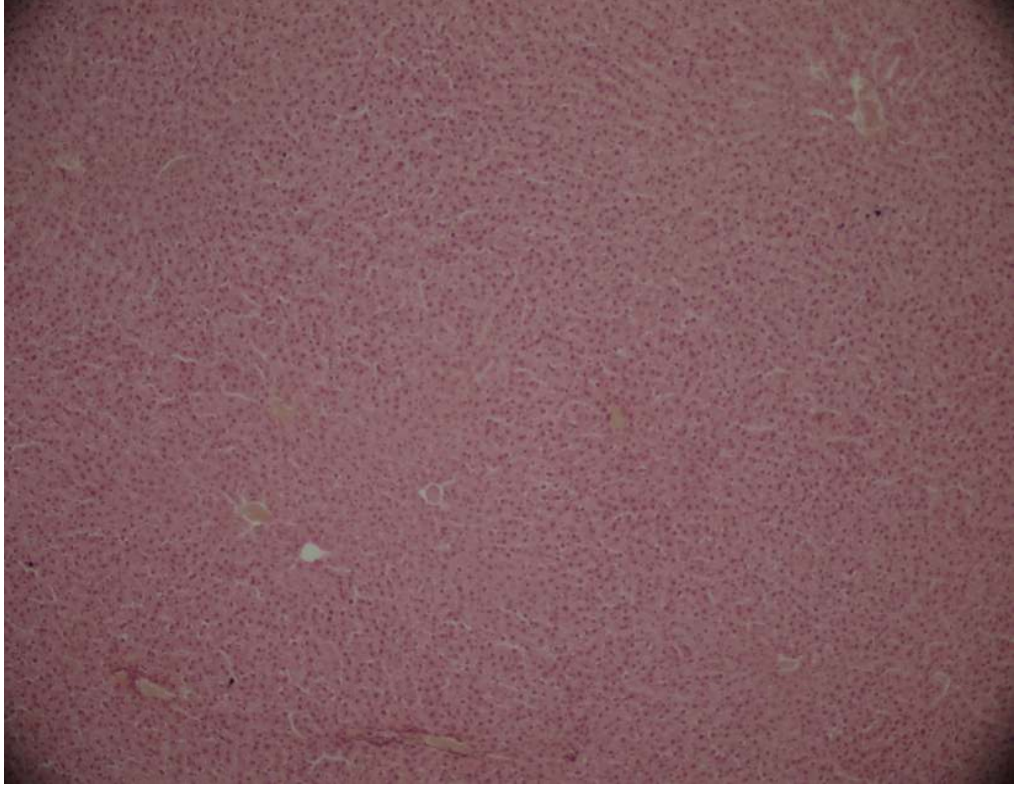
Sham grubundaki serum IL-6 seviyeleri İR ve KMS grubundaki serum IL-6 seviyelerinden anlamlı olarak düşük bulundu($P<0,05$). Değerlendirmelerde, HP grubundaki serum IL-6 seviyelerinin Sham grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilse de bunun istatistiksel bir anlamı yoktu($P>0,05$). Bu arada, serum IL-6 seviyeleri açısından İR ve KMS grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi($P>0,05$). Buna karşın HP grubundaki serum IL-6 seviyeleri, İR ve KMS gruplarındaki serum IL-6 seviyelerine göre anlamlı olarak düşük bulundu($P<0,05$).



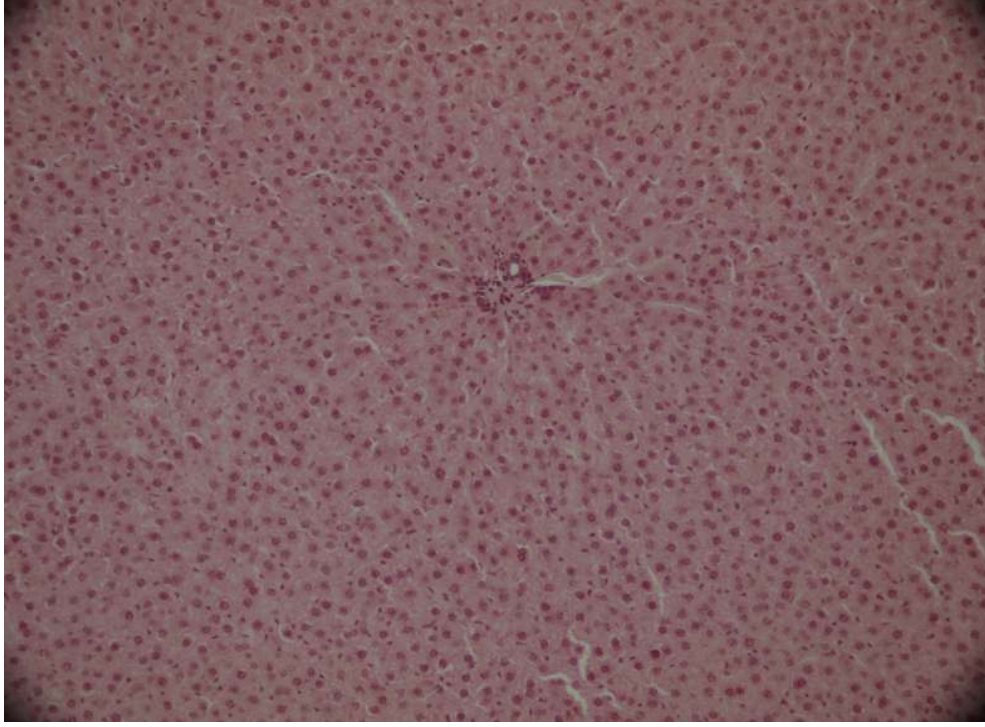
Grafik 4.9. Serum IL-6 ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında.

Doku örneklerinin histopatolojik değerlendirilmesi ile, hasar derecesi açısından gruplar arasında farklılıklar olduğu görüldü. Sham grubundaki doku örneklerinin hasar dereceleri İR ve KMS grubuna göre anlamlı olarak düşük çıktı($P<0,05$). Sham grubundaki doku örnekleri histopatolojik olarak genellikle normal olarak izlendi(Resim 4.1, Resim 4.2). Sham grubundaki doku hasar dereceleri ile HP grubundaki doku hasar dereceleri arasında anlamlı bir fark görülmedi($P>0,05$). Değerlendirmelerde İR ve KMS grupları arasında doku hasar dereceleri açısından, anlamlı bir fark görülmedi($P>0,05$). Buna karşın İR ve KMS gruplarındaki doku hasar dereceleri, HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu($P<0,05$). Gerek İR ve gerekse KMS gruplarının her ikisinde, yaygın

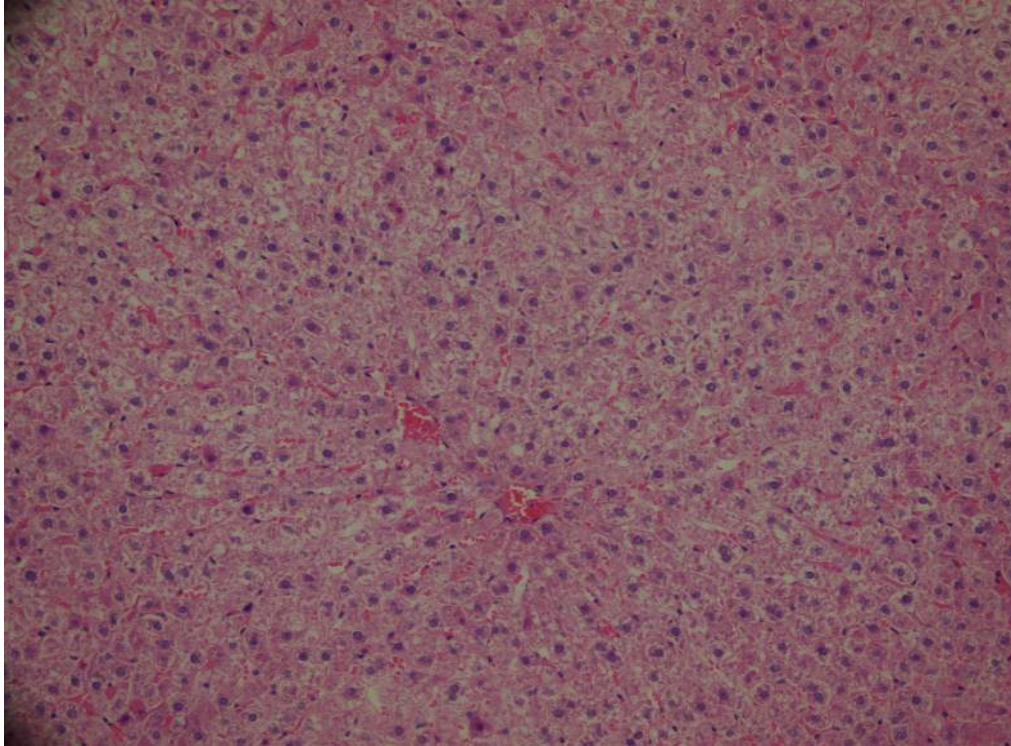
olarak grade-1 ve yer yer grade-2 doku hasarı izlendi(Resim 4.3, Resim 4.4 ve Resim 4.5).



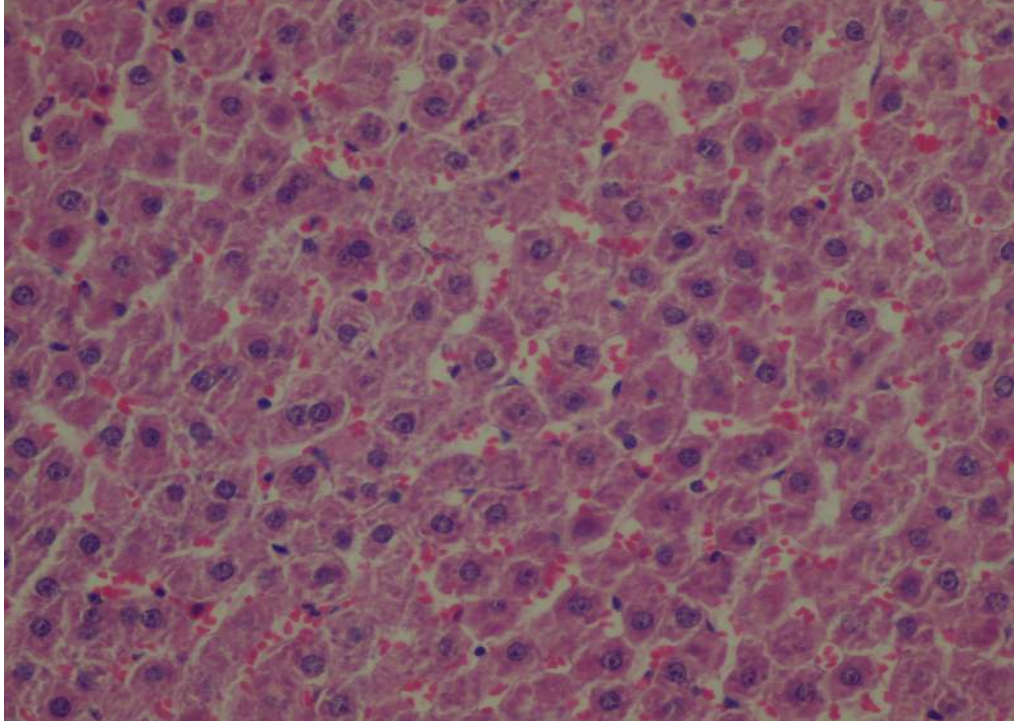
Resim 4.1. Sham grubu, karaciğer normal görünüm(H&E X 100)



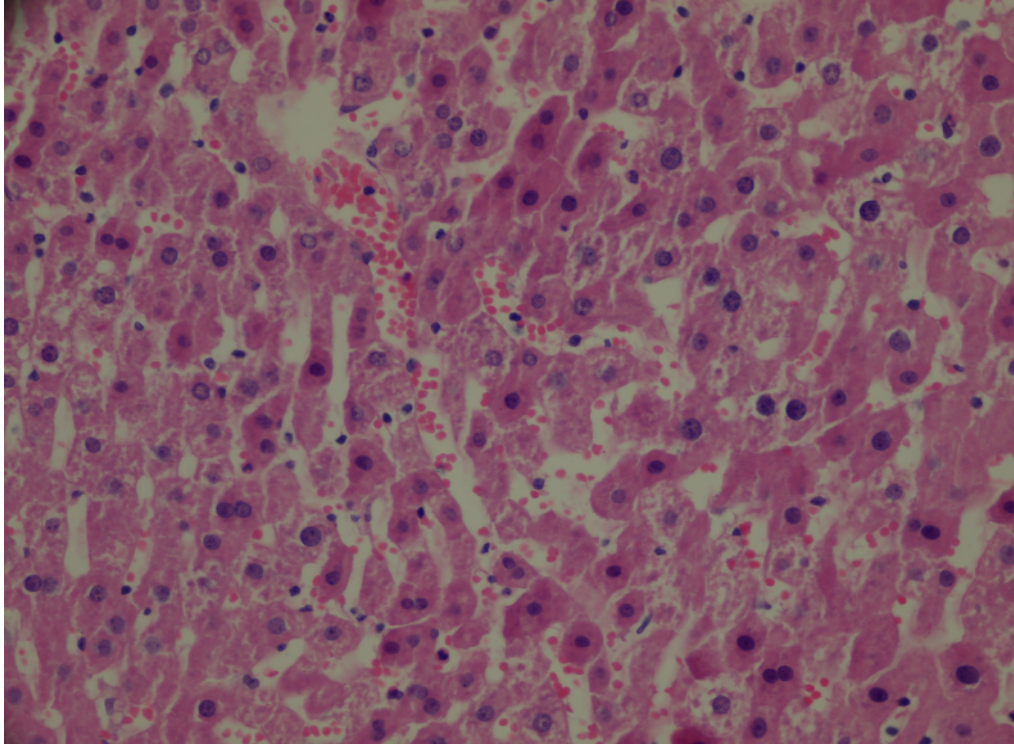
Resim 4.2. Sham grubu, karaciğer normal görünüm(H&E X 200)



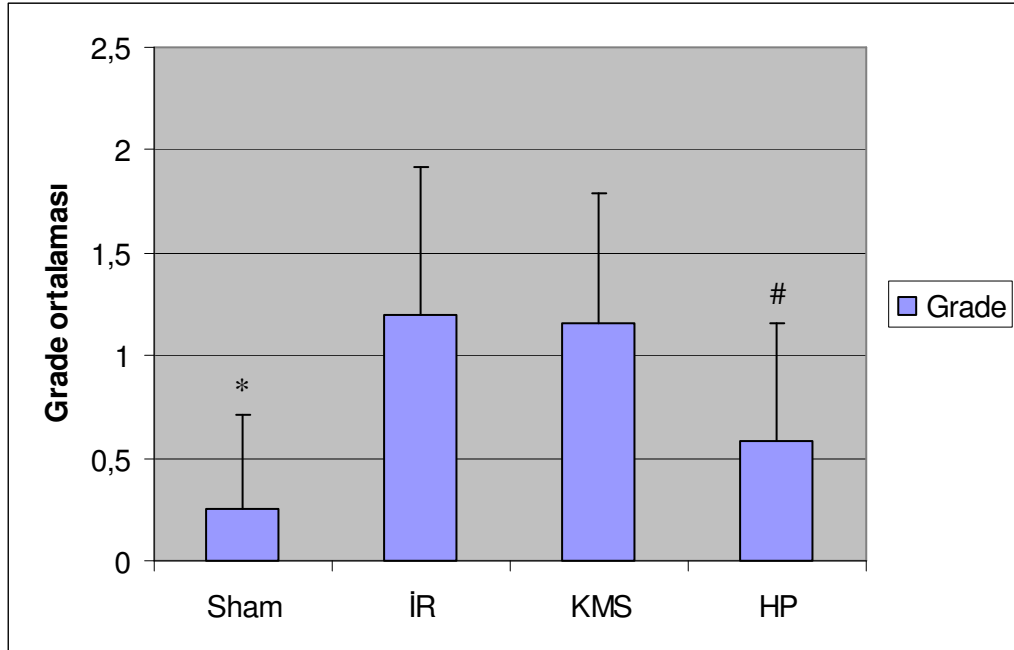
Resim 4.3. İR grubu, grade-1 karaciğer hasarı(H&E X 200)



Resim 4.4. İR grubu, grade-1 karaciğer hasarı(H&E X 400)

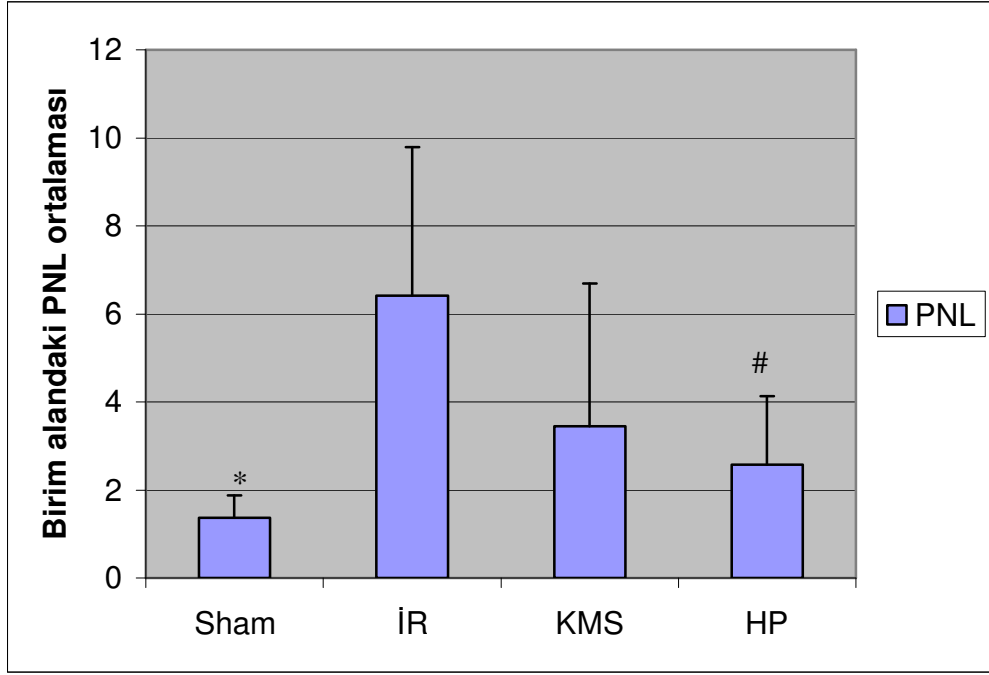


Resim 4.5. İR grubu, grade-2 karaciğer hasarı(H&E X 400)



Grafik 4.10. Histopatolojik doku hasarı grade ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında.

Doku kesitleri, SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alana düşen PNL sayıları açısından incelendiğinde gruplar arasında farklılıklar olduğu görüldü. Sham grubundaki doku kesitlerinde birim alana düşen PNL sayısı, İR ve KMS grubuna göre anlamlı olarak düşüktü($P<0,05$). Bunun yanında, HP grubundaki doku kesitlerinde birim alana düşen PNL sayısının Sham grubundan daha fazla olduğu görüldü. Fakat bu fazlalığın istatistiksel bir önemi yoktu($P>0,05$). Doku kesitlerindeki birim alana düşen PNL sayısı açısından, İR ve KMS grupları arasında da anlamlı bir fark gözlenmedi($P>0,05$). Yapılan diğer bir değerlendirmede, HP grubundaki doku kesitlerinde birim alana düşen PNL sayısının İR ve KMS gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü($P<0,05$).



Grafik 4.11. SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL ortalamaları. *: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında, #: $P<0,05$ İR ve KMS ile karşılaştırıldığında.

5. TARTIŞMA

Herhangi bir organa giden kan akımının azalması veya tamamen durması ve daha sonra oluşan reperfüzyon süreci akut bir inflamatuvar cevabın oluşmasına sebep olur. Oluşan bu inflamatuvar cevap önemli derecede hücre hasarına ve dolayısı ile de organda fonksiyon bozukluğuna sebep olur. Bu biyolojik süreç İRH olarak tanımlanır. Söz konusu hasarın insan vücudunda en sık olarak olduğu organlardan biri de karaciğerdir. Hemorajik şok, karaciğer transplantasyonları ve karaciğer rezeksiyonlarından sonra çeşitli derecelerde HİRH görülmektedir(111).

Reperfüzyon sonrası postiskemik dokuda oluşan inflamatuvar reaksiyon uzak organları etkileyecek kadar şiddetli olabilir. Uzak organ etkileri sıklıkla solunum ve kardiyovasküler sistemde görülür. Öyle ki oluşan inflamatuvar cevap sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SİYS) veya çoklu organ yetmezliğine(ÇOY) de sebep olabilir(11).

Oluşan HİRH, başta karaciğer hasarı için yüksek risk profiline sahip hastalarda olmak üzere birçok hastada ciddi organ bozukluklarına yol açabilir. Yağlı karaciğer, ileri yaş ve kemoterapi alan hasta grubu HİRH oluşumunda yüksek risk grubunda olan hastalardır(112). Karaciğerde sıcak ve soğuk iskemi sonrasında oluşan HİRH'in oluşum mekanizması iki grup arasında farklılıklar gösterir(113). Mekanizmalar farklı olsa da her iki grupta oluşan hasardan kandaki O_2 türevlerinin yanında sitokin ve kemokin gibi bazı maddelerin hepatositler ile olan etkileşimi sorumludur. Reperfüzyon sırasında artan kan akımı ile birlikte karaciğer dokusunda artan O_2 miktarı O_2^- , H_2O_2 , OH ve $ONOO^-$ gibi ROT' ların oluşumunu artırır(114). Hepatositlerin, birçok karaciğer hastalığının patogenezinde önemli bir yer tutan ROT' larla karşı karşıya kalması oksidatif stresin oluşmasına neden olur. Oluşan oksidatif stres ise geri dönüşümsüz hasar oluşturarak hücre ölümüne veya çeşitli mekanizmalarla hücre fonksiyonlarının bozulmasına sebep olur. Çeşitli genlerin ekspresyonlarını artırarak sitokin, kemokin ve HAM sentezinde artış, hücre ve hücre organel membranlarındaki permeabilite artışı, protein ve DNA oksidasyonu oksidatif stresin oluşturduğu hücre hasar mekanizmalarından birkaçıdır(115).

Hücre membranlarında oluşan permeabilite artışı, ROT'ların oluşturduğu membran lipid peroksidasyonu neticesinde oluşur. Oluşan lipid peroksidasyonu sonucunda oldukça güçlü okside edici ajanlar olan lipid peroksit radikalleri ve lipid hidroperoksitleri oluşur(14). Açığa çıkan bu serbest radikaller hücre membran hasarının iyice artmasına neden olur. Lipid peroksidasyonu neticesinde peroksit radikallerinin yanında, MDA ve dien bileşikler gibi peroksidasyon son ürünleri de açığa çıkar(116). Bu nedenle bir son ürün olarak açığa çıkan bileşiklerden biri olan MDA, lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olarak sıkça kullanılır(15).

Açığa çıkan ROT'ların sebep olduğu protein oksidasyonu neticesinde ise, nitro tirozin ve İOPÜ gibi çeşitli protein oksidasyon son ürünleri oluşur. Yapılan çalışmalarda, oluşan bu protein oksidasyon son ürünlerinin çeşitli oksidatif stres durumlarında serum ve doku seviyelerinde çeşitli derecelerde artışlar olduğu görülmüştür. Bu nedenle, oluşan bu oksidasyon son ürünleri protein oksidasyonunun bir göstergesi olarak sıkça kullanılırlar(17,18). Tüm bu etkiler sonucunda çeşitli derecelerde oluşan hepatosit hasarı veya gerçekleşen hepatosit ölümü karaciğer fonksiyon bozukluğu ile kendini gösterir(117). Oluşan hepatosit ölümü apoptozis veya nekroz yolu ile gerçekleşir. Gerçekleşen hücre ölümünde hangi yolun kullanılacağı ise çeşitli faktörlere bağlıdır. Hücre tipi, hücre ölümüne sebebiyet veren faktörün etki gücü, hücrenin metabolik durumu bu faktörlerden bazılarıdır(118).

Çeşitli durumlarda karaciğerde meydana gelen HİRH üzerine değişik birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmalarda, oluşacak İRH'nin şiddetini azaltmaya yönelik farklı yöntem ve ajanlar kullanılmıştır. Bu amaçla süperoksit dismutaz, allopürinol, α - tokoferol, N-asetil sisteyin, glutatyon, desferoksamin, karnozin ve melatonin gibi antioksidan özelliği olan ajanların kullanımı ile oluşan HİRH şiddetininin azaldığı gösterilmiştir(52, 119). Yapılan bazı çalışmalarda ise, İRH'a karşı koruyucu etkisi ilk önce myokardda gösterilen(120) iskemik önkoşullama tekniği kullanılmıştır. Bu teknik, uzun bir iskemi peryodundan önce kısa süreli olarak uygulanan İR peryotlarını içerir. Amaç, uzun süren iskemi peryodundan sonra oluşacak hücre hasarını azaltmaktır(121). Karaciğerin çeşitli cerrahi girişimleri esnasında kan kaybını azaltmak amacı ile portal triadın belirli sürelerde klempe edilmesi sıkça uygulanan bir işlemdir. Bu işlemde sonra karaciğerde çeşitli derecelerde İRH'a rastlanmıştır. Yapılan araştırmalarda portal triadın kısa süreli ve aralıklı olarak klempe edilmesiyle oluşan İRH şiddetinin azaldığı görülmüştür(122). Ratlarda transplante edilecek karaciğere uygulanan iskemik önkoşullama ile serum AST, ALT ve TNF- α seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Bu da yaşam süresinde artış olarak kendini göstermiştir(123). Yine yapılan bir çalışmada hemihepatektomi yapılan hastalara uygulanan iskemik önkoşullama ile serum transaminaz seviyelerinde iki kat azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca iskemik önkoşullama uygulanan hasta gruplarında SEH'lerdeki apoptozis oranlarında da azalma olduğu tespit edilmiştir(124). İskemik önkoşullamanın HİRH'a karşı olan bu koruyucu etkisinde adenosin, adenosin A₂ reseptörleri ve

NO seviyesindeki artış, TNF- α salınımının inhibisyonu ve enerji metabolizmasında oluşan değişikliklerin etkili olduğu bilinmektedir(42).

H. perforatum bitki ekstresi çok eski zamanlardan beri cilt yaraları, mental bozukluklar, yanıklar, GİS rahatsızlıkları ve uykusuzluk gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır(5). Belirgin antioksidan etkisinin yanında değişik birçok özelliği de bulunan *H. Perforatum* özütünün antioksidan özelliğini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu etkiden yola çıkarak *H. perforatum* ekstresinin İRH üzerine olan etkisi araştırılmıştır. PubMed veri tarama sisteminde yaptığımız araştırmada *H. perforatum*'un İRH üzerine etkisini araştıran tek bir çalışmaya rastlandı(125). PubMed veri tarama sisteminde *H. Perforatum*'un HİRH üzerine olan etkisini araştıran bir çalışmaya ise rastlanmamıştır. Bilindiği gibi reperfüzyon sonrasında doku ve kan seviyeleri hızla yükselen ROT'lar iskemiyle oluşan karaciğer hasarını iyice artırır(52). Dolayısı ile de oluşan bu ROT'ların çeşitli şekillerde inhibisyonu ise HİRH şiddetinin azalması ile sonuçlanacaktır. *H. perforatum*'un içerdiği çeşitli bileşiklerin de değişik derecelerde antioksidan aktivite gösterdikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Özellikle başta quersetin olmak üzere *H. perforatum*'un içerdiği flavonoidlerin birçoğunun ROT'ların oluşumunu inhibe ettikleri bilinmektedir(9). Oluşan ROT sentezinin inhibisyonu ise lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna neden olur. Meydana gelen lipid peroksidasyon inhibisyonu da doku fosfolipid içeriğinin artışına karşın MDA seviyesinin azalması ile kendini gösterir. Antioksidan özelliğe sahip olan ve *H. perforatum* ekstresinde de oldukça yüksek bir oranda bulunan quersetinin, rat

beyin membranlarındaki lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği azalan dMDA seviyesi ile gösterilmiştir(102). Buradan yola çıkarak, *H. perforatum* ekstresinin içerdiği birçok antioksidan bileşikten dolayı hücre membranlarındaki oksidasyon hasarını ve dolayısı ile de İRH şiddetini azaltacağı aşikardır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, ratlarda splenik arter oklüzyon şok modeli(SAOŞM) oluşturulmuştur. Oluşturulan SAOŞM’de ratların superior mezenterik arter ve çölyak trunkusları 45 dakika süreyle klemplenmiş. Ardından klempler çıkarılarak 1 saatlik reperfüzyon peryodu uygulanmıştır. Oluşturulan SAOŞM’de, reperfüzyon sonrasında kan basıncında oluşan ani düşme *H. perforatum* ekstresi verilen grupta daha sınırlı bir şekilde olmuştur. Kontrol grubunda ise kan basıncı ani ve belirgin olarak düşme göstermiştir. Oluşturulan SAOŞM sırasında İR işlemine tabii tutulan ileum dokularındaki histopatolojik doku hasar skoru, *H. perforatum* ekstresi verilen grupta daha düşük çıkmıştır. Buna paralel olarak, İR işlemine tabii tutulan ileum dokularındaki PNL infiltrasyon derecesinin de *H. perforatum* ekstresi verilen ratlarda daha düşük olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada *H. perforatum* ekstresi verilen grupta serum TNF- α ve IL-1 β seviyeleri de kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük çıkmıştır. Bu arada, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan ileumdaki dMDA seviyelerinin de *H. perforatum* ekstresi verilen grupta belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada aynı zamanda *H. perforatum* ekstresinin ROT’larla oluşan protein oksidasyonu üzerine olan etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla immünohistokimyasal yöntemlerle ileum dokusundaki nitrotirozin seviyelerine bakılmıştır. Bir protein

oksidasyon ürünü olarak ileum dokusunda oluşan nitrotirozin seviyeleri, *H. perforatum* ekstresi verilen grupta anlamlı olarak düşük çıkmıştır(125). Bilindiği gibi reperfüzyon hasarının oluşmasındaki önemli basamaklardan biri de p-selektin ve HAAM-1 gibi HAM'ların oluşmasıdır. Oluşan HAM'lar PNL'lerin SEH'lere olan adezyonunu artırır. Artış gösteren PNL adezyonu ise SEH hasarı, vasküler permeabilitede artış ve parankimal hücre hasarı ile kendini gösterir(43, 56). Oluşturulan SAOŞM'de, İRH'nin fizyopatolojisinde önemli rol oynayan p-selektin ve HAAM-1 sentezinin de *H. perforatum* ekstresi verilen grupta belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir(125). Çalışmada ortaya çıkan tüm bu sonuçlara bakıldığında, *H. perforatum* ekstresinin İRH'a karşı koruyucu bir etki gösterdiği çok açıktır. Yapılan diğer birçok çalışmanın incelenmesiyle de, başta flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere birçok bitki ekstresinde bulunan bu biyoaktif moleküllerin İRH'nin oluşmasında rol oynayan mekanizmaları değişik şekillerde etkilediği görüldü. Tüm bu çalışmalardan ortaya çıkan sonuçlar da bizi; *H. perforatum* ekstresinin İRH'a karşı ne ölçüde bir koruyucu etkisinin olabileceği sorusuna cevap aramaya teşvik etti. Yaptığımız çalışmada oluşturulan gruplar dMDA, sMDA, dİOPÜ, sİOPÜ, AST, ALT, LDH, TNF- α , IL-6 ve histopatolojik parametreler açısından karşılaştırıldı.

Hepatositlerde yaygın olarak bulunan AST, ALT ve LDH'nin serum seviyelerinde, oluşan hepatosit hasarının şiddetine bağlı olarak çeşitli derecelerde artışlar görülür. Oluşan İRH sırasında, karaciğer enzimlerinin serum seviyelerinde artış olurken hepatositlerde de bir takım histopatolojik değişiklikler

oluşur. Bu nedenle oluşan hepatik İRH'nin değerlendirilmesinde serum bilirubin, AST, ALT ve LDH seviyeleri ile histopatolojik incelemeler sıkça kullanılan parametrelerdir(124). Sözü edilen histopatolojik değişikliklerin tespitinde, değişik yöntemler kullanılmaktadır. Zhang ve ark. yaptıkları bir çalışmada antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik aktivite gösteren taurinin HİRH üzerine olan etkilerini araştırmışlar. Yapılan çalışmada, karaciğerde oluşturulan İR periyodu sırasında taurin verilen ratlarda serum AST, ALT, LDH, TNF- α ve dMDA seviyeleri anlamlı bir şekilde azalmıştır. Söz edilen bu çalışmada, karaciğerde oluşan hasarın histopatolojik olarak değerlendirmesinde apoptotik indeks baz olarak alınmıştır. Hepatosit hasarının bir göstergesi olarak kabul edilen apoptotik indeks de, taurin verilen ratlarda anlamlı bir şekilde düşük olarak izlenmiştir(126). Yapılan diğer bir çalışmada Chang ve ark. tetrandrine verildikten sonra HİRH oluşturulan farelerde, karaciğer enzimlerinin serum seviyelerinde oluşan değişimleri incelemişler. Tetrandrine, özellikle Çin'de yaygın olarak kullanılan bitkisel bir bileşiktir. Bu bileşik, ROT oluşumunun engellenmesi yanında lipid peroksidasyonunu inhibe edici özelliğe de sahiptir. Çalışmada, tetrandrine kullanıldıktan sonra HİRH oluşturulan farelerde serum AST, ALT, LDH ve TNF- α seviyeleri yanında dMDA seviyelerinin de anlamlı bir şekilde düştüğü görülmüştür(127). Saidi ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada metilprednizolonun HİRH üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Metilprednizolon verilen grupla kontrol grubu arasındaki karşılaştırma, serum AST ve IL-6 seviyeleri ile oluşan histopatolojik değişikliklere göre yapılmıştır. Oluşan

histopatolojik değişiklikler, bizim de çalışmamızda kullandığımız karaciğer hasar skorlama sistemine göre sınıflandırılmıştır. Çalışma sonucunda metilprednizolon verilen grupta serum AST ve IL-6 seviyelerinin bariz olarak azaldığı görülmüş, aynı grupta karaciğer doku hasar skorunun da daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır(128). Camargo ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise rekombinant IL-6 tedavisi verilen ratlarda oluşan HİRH şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir. Verilen rekombinant IL-6 tedavisi ile ratlardaki serum TNF- α , C-reaktif protein, AST ve ALT değerleri yanında karaciğer hasar skor seviyelerinin de azaldığı grlmştir. Oluşan bu sonuçlar IL-6'nın, başta TNF- α salınım inhibisyonu olmak üzere gösterdiği bir takım antiinflamatuvar etkilerine bağlanmıştır. Sözü edilen çalışmadaki histopatolojik değişiklikler, bizim de çalışmamızda kullandığımız karaciğer hasar skorlama sistemine göre yapılmıştır(110). şehirli ve ark. da antioksidan, PNL g ve sitokin salınımını inhibe edici özellikler gösteren zm çekirdeği ekstresinin HİRH zerine olan etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla karaciğerde İR peryodu oluşturmadan önce 15 gün süreyle çalışma grubundaki ratlara zm çekirdeği ekstresi verilmiş, çalışma grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılmasında serum AST, ALT, LDH, TNF- α ve IL-1 β seviyeleri ile oluşan histopatolojik değişiklikler baz alınmıştır. Çalışma sonucunda zm çekirdeği ekstresi verilen grupta serum AST, ALT, LDH, TNF- α ve IL-1 β seviyeleri yanında dMDA seviyelerinin de anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiş, benzer şekilde zm çekirdeği ekstresi verilen grupta oluşan histopatolojik değişikliklerin Sham grubu ile benzerlik gösterdiği sonucuna

varılmıştır(129). Bülbüller ve ark. ise yaptıkları bir çalışmada melatonin ve PGE₁ benzerlerinin H RH  zerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, antioksidan etki gösteren melatoninin sMDA ve dMDA seviyelerini anlamlı olarak düşürdüğü saptanırken, PGE₁ benzerlerinin sMDA seviyesi üzerinde belirgin etkilerinin olmadığı dMDA seviyelerini ise azalttığı gösterilmiştir. Serum AST ve ALT seviyeleri ise, dMDA seviyelerini azaltırken sMDA seviyeleri üzerinde belirgin bir etki göstermeyen PGE₁ benzerlerinin kullanıldığı grupta anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Gerek melatonin ve gerekse melatonin+PGE₁ kullanılan gruptaki serum AST ve ALT seviyelerindeki azalma ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır(130). Başka bir çalışmada Ito ve ark., karaciğerde  R peryodu oluşturmadan önce splenik arterin bağlanmasıyla H RH şiddetinde oluşan değişikleri incelemişlerdir. Çalışmada, uygulanacak  R işleminden 3 ve 7. günler ve hemen önce olmak üzere splenik arter parsiyel olarak bağlanmıştır. Çalışmada,  R işleminden 3 gün ve hemen önce splenik arter ligasyonu yapılan grupta H RH şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu gruptaki ratların gerek serum AST, ALT ve IL-6 seviyelerinin ve gerekse histopatolojik hepatik hasar skor seviyelerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (131). Sözü edilen bu çalışmaların tümünde, hepatosit hasarının bir göstergesi olarak kabul edilen serum AST, ALT ve LDH seviyelerinde H RH sırasında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Yine bu çalışmalarda, oluşturulan  R peryodu sırasındaki karaciğer hasarının meydana gelmesinde etkin rol oynayan TNF-  ve IL-6 gibi sitokinlerin serum seviyelerinde belirgin bir artış olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmaların

bazılarında, HİRH sırasında oluşan lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilen MDA'nın doku ve serum seviyelerinde artışlar olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara bakıldığında, oluşan İR peryodu sırasında antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapopitotik özelliklere sahip ajanların kullanılması ile HİRH şiddetinin azaldığı görülmektedir. Azalan HİRH şiddeti ise serum MDA, AST, ALT, LDH, TNF- α ve IL-6 ile dMDA seviyelerinde oluşan azalma ile kendini göstermiştir. Aynı şekilde, azalan HİRH şiddetinin bir göstergesi de azalmış karaciğer doku hasar skor seviyesidir.

PumMed veri tarama sistemine baktığımızda daha önce HİRH'daki dİOPÜ ve sİOPÜ üzerine yapılmış başka bir çalışmaya rastlamadık. Bunun üzerine bize yön göstereceğini düşündüğümüz, çeşitli oksidatif stres durumlarındaki dİOPÜ ve sİOPÜ seviyeleri üzerine yapılan diğer çalışmaları inceledik. Vücuttaki birçok hastalığın doğal seyri esnasında İOPÜ seviyelerinde artış olduğu bilinmektedir. Bu artış, hastalığın seyri esnasında mevcut olan oksidatif stresin şiddeti ile ilgili olarak değişik derecelerde oluşur. Bu yönde yapılan çalışmalarda Kaneda ve ark., koroner arter hastalığı olan hastaların sİOPÜ seviyelerinin normal insanlara göre oldukça yüksek olduğunu tespit etmişlerdir(132). Etiyopatogenezinde, mevcut olan oksidatif stresin önemli rol oynadığı hastalıklardan birisi de diyabettir. Bu amaçla Ardestani ve ark. antioksidan etkiye sahip olan *Teucrium Polium* ekstresinin diyabet üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, streptozotosinin sitimulasyonu sonucu diyabet hastalığı oluşturulan ratlar kullanılmış olup sonuçta, *T. polium* ekstresi kullanılan gruptaki ratların pankreasındaki dMDA ve dİOPÜ

seviyelerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Buna paralel olarak bu gruptaki ratlarda kan glikoz düzeylerinin de daha iyi seyrettiği görölmüştür(133). Diğer bir çalışmada Eskiocak ve ark., antioksidan etki gösteren melatoninin hipoksiye maruz bırakılan rat beyindeki dİOPÜ seviyesini düşürdüğünü tespit etmişlerdir(134). Yani mevcut olan oksidatif stresin dİOPÜ ve sİOPÜ seviyelerinde çeşitli derecelerde artışa sebep olduğu görölmektedir. Yine bu çalışmalara bakıldığında, oksidatif stresin mevcut olduğu durumlarda antioksidan özellik gösteren çeşitli ajanların kullanılmasıyla dİOPÜ ve sİOPÜ seviyelerinin azaldığı aşikârdır.

Bizde çalışmamızda ROT salınımının inhibisyonu ve oluşan ROT'ların ortamdaki uzaklaştırılması(72), GSH miktarının artırılması(99), XO enzim inhibisyonu(100), GP_x aktivasyonu(101) ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu(102) ile antioksidan aktivite; PNL proliferasyonunun engellenmesi(85), bazı sitokinlerin salınımında inhibisyon(97), kombine COX/5-LO enzim inhibisyonu(86), PNL degranülasyonunun(92) ve araşidonik asit metabolizmasının direkt olarak inhibisyonu(96) ile antiinflamatuvar aktivite; fosfodiesteraz enzim inhibisyonu ile antiagregan aktivite(98); hücre içi Ca⁺² mobilizasyonunun engellenmesi suretiyle de inflamatuvar cevaba bağlı oluşan doku hasarını engelleyici(92) özelliklere sahip değişik birçok biyoaktif molekülü yapısında barındıran *H. perforatum* ekstresini çalışmamızda kullandık. Elde edilen sonuçların yukarıda kısaca bahsedilen HİRH modellerindeki sonuçlar ile büyük ölçüde benzerlik gösterdiğini gördük. Daha önceden de belirttiğimiz gibi,

çalışmamızda kullanılan *H. perforatum* ekstresinin HİRH üzerine olan etkisini gösteren literatürde başka bir çalışmaya rastlamadık. Bu nedenle çalışmamızda ortaya çıkan serum MDA, AST, ALT, LDH, TNF- α , IL-6 ve dMDA sonuçlarını, değişik antioksidanların HİRH modelleri üzerine olan etkilerini gösteren çalışma sonuçlarıyla karşılaştırarak bir genellemeye varmaya çalıştık.

Çalışmamızda ortaya çıkan AST, ALT ve LDH sonuçlarına baktığımızda, özellikle ALT enzimi açısından ortaya çıkan sonuçların daha önceki HİRH sonuçlarıyla benzer özellikte olduğunu gördük. Çalışmamızda, *H. perforatum* ekstresi kullanılan HP grubunda ortaya çıkan serum ALT değerlerinin, HİRH'a karşı hiçbir koruyucu ajan kullanılmayan İR ve KMS gruplarında ortaya çıkan serum ALT değerlerine göre anlamlı olarak düşük çıktığı görülmüştür. Hatta HP grubundaki serum ALT değerleri ile hiçbir İR işlemi uygulanmayan Sham grubundaki serum ALT değerleri arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Çalışmamızdaki serum AST değerleri açısından da Sham grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. Oluşturulan HİRH'a karşı hiçbir koruyucu ajanın kullanılmadığı KMS grubundaki serum AST değerlerinin ise HP grubundaki serum AST değerlerine göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Gerek tüm gruplarda oluşan serum ALT değerleri ve gerekse serum AST değerleri açısından ortaya çıkan ve yukarıda bahsedilen iki sonuç; antioksidan(100), antiinflamatuvar(86) ve Ca^{+2} mobilizasyonunu engelleyici(92) özelliklere sahip moleküller içeren *H. perforatum* ekstresinin HİRH'a karşı koruyucu bir etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda yer alan ve

HİRH'a karşı hiçbir koruyucu ajanın kullanılmadığı İR grubunda ortaya çıkan AST değerleri ile HP grubundaki AST değerleri arasında anlamlı bir farkın olmaması ise düşündürücüdür. Çalışmamızda dikkat çeken diğer bir sonuç ise, serum LDH seviyeleri açısından İR, KMS ve *H. perforatum* ekstresi verilen HP grubu arasında anlamlı bir farkın olmamasıdır. Yapılan çalışmalara baktığımızda oluşturulan HİRH modellerindeki serum ALT, AST ve LDH seviyelerinin, oluşan karaciğer hasarının bir sonucu olarak yükseldiğini görmekteyiz(126, 127, 129). Aynı çalışmalarda, antioksidan özellikleri başta olmak üzere çeşitli özelliklere sahip ajanların kullanılmasıyla serum AST, ALT ve LDH seviyelerinin yükselmesinin engellendiği gösterilmiştir. Dolayısı ile de HİRH'a karşı koruyucu özellik gösteren ajanların, İR periyodu sırasında karaciğerde parankim hasarının oluşmasını engelleyerek serum ALT, AST ve LDH seviyelerini düşürdüğü açıktır. Çalışmamızda ortaya çıkan gerek serum AST seviyeleri açısından İR ve HP grupları arasında, gerekse LDH seviyeleri açısından İR, KMS ve HP grupları arasında anlamlı bir farkın olmaması ise bu sonuçlarla çelişmektedir. Dahası bu çalışmanın *H. perforatum*'un HİRH üzerine olan etkisini gösteren ilk çalışma olduğu unutulmamalıdır. Bu bağlamda, ortaya çıkan çelişkili sonuçların *H. perforatum*'un HİRH üzerine olan etkisini gösteren başka çalışmalarla birlikte aydınlatılabileceğini düşünmekteyiz.

Oluşturulan HİRH modeli sırasında İRH'a karşı hiçbir koruyucu ajanın kullanılmadığı İR ve KMS gruplarında, serum TNF- α seviyeleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Fakat her iki gruptaki TNF- α seviyelerinin de HP grubuna

göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Hatta HP grubundaki serum TNF- α seviyeleri ile Sham grubundaki serum TNF- α seviyeleri arasında anlamlı bir farkın olmadığı da görüldü. Aynı şekilde, oluşturulan HIRH modeli sırasında İRH'a karşı hiçbir koruyucu ajanın kullanılmadığı İR ve KMS gruplarında, serum IL-6 seviyeleri açısından da anlamlı bir fark görülmedi. Fakat her iki gruptaki serum IL-6 seviyelerinin de HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Karaciğerde oluşan İRH üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, HIRH sırasında IL-6 ve TNF- α seviyelerinin yükseldiği görülmüştür(126, 127, 128, 129). Aynı çalışmalarda, HIRH sırasında serum TNF- α ve IL-6 seviyelerinde oluşan bu yükselmenin antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik özellik gösteren değişik birçok ajanın kullanılmasıyla engellenebildiği gösterilmiştir. Serum TNF- α ve IL-6 seviyelerinde oluşan bu azalma aslında azalan karaciğer hasarının bir göstergesidir. Çünkü bilindiği gibi karaciğerde gelişen İR sürecinde meydana gelen inflamatuvar yanıtın şiddeti, aynı zamanda oluşacak hepatosit hasarının bir göstergesidir. İnflamatuvar yanıtın oluşmasında ise TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin rolü büyüktür(45, 46, 54). Karaciğerdeki İR peryodu sırasında serum TNF- α ve IL-6 seviyelerinde meydana gelen azalma, inflamatuvar yanıtın ve buna bağlı olarak oluşacak hepatosit hasarının azalması ile sonuçlanacaktır. Bilindiği gibi *H. perforatum* ekstresi antiinflamatuvar(85, 86, 96, 97) ve antioksidan(72, 100, 101, 102) özelliklere sahip birçok moleküllü yapısında barındırır. *H. perforatum*'un, bu özelliği sayesinde karaciğerdeki İR peryodu sırasında oluşan inflamatuvar yanıtı azalttığını düşünmekteyiz. Çalışmamızda yer

alan HP grubundaki serum TNF- α ve IL-6 seviyelerinde görülen azalma da bu açıdan destekleyici sayılmalıdır.

Çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşan doku hipoksisi, değişik derecelerde lipid peroksidasyonunun oluşmasıyla sonuçlanır. Lipid peroksidasyonu ise, bir lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA seviyesinde oluşan artış ile kendini gösterir(15). Yapılan çalışmalarda, karaciğerde oluşturulan İR peryodu sonrasında dMDA ve sMDA seviyelerinde çeşitli derecelerde artışlar olduğu tespit edilmiştir(126, 127, 129, 130). Sözü edilen bu çalışmalarda ayrıca, HİRH sırasında dMDA ve sMDA seviyelerinde oluşan bu yükselmenin antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik özellik gösteren değişik birçok ajanın kullanılmasıyla engellendiği gösterilmiştir. Bir HİRH modeli olmasa da yapılan başka bir çalışmada ise, *H. perforatum* ekstresinde bulunan flavonoidlerden biri olan quersetinin rat beyin membranlarındaki lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, azalan dMDA seviyesi ile tespit edilmiştir(102). Çalışmamızdaki dMDA ve sMDA seviyeleri de; HİRH'a karşı hiçbir koruyucu ajanın kullanılmadığı İR ve KMS gruplarında anlamlı olarak yüksek, *H. perforatum* ekstresi kullanılan HP grubunda ise anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu da bize antiinflamatuvar(85, 86, 96, 97) ve antioksidan(72, 100, 101, 102) özelliklere sahip birçok molekülü yapısında barındıran *H. perforatum* ekstresinin, karaciğerde İRH sırasında oluşan inflamatuvar yanıtı inhibe ettiğini göstermektedir. Çünkü azalan inflamatuvar yanıt ROT sentezinin ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ile sonuçlanmış; buda dMDA ve sMDA seviyelerinde oluşan azalma ile kendini

göstermiştir. Bütün bu veriler, dMDA ve sMDA seviyeleri açısından çalışmamızda ortaya çıkan sonuçların yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda ortaya çıkan dİOPÜ seviyelerinin, Sham grubuna kıyasla İR ve KMS gruplarında oldukça yüksek olduğu tespit edildi. Oluşan dİOPÜ'lerin HP grubundaki seviyelerinin ise, İR ve KMS gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. PubMed veri tarama sisteminde yaptığımız araştırmalarda *H. perforatum*'un İRH üzerine olan etkisini gösteren tek bir çalışmaya rastlandı. Bu çalışma da, *H. perforatum*'un barsaklarda oluşturulan İRH üzerine olan etkileri hakkında yapılmış bir çalışma idi. Sözü edilen bu çalışmaya protein oksidasyon ürünleri açısından baktığımızda, bir protein oksidasyon ürünü olan doku nitrotirozin seviyelerinin(17) *H. perforatum* ekstresi verilen ratlarda anlamlı olarak düşük çıktığı rapor edilmişti(125). Bizim çalışmamızda da, bir diğer protein oksidasyon ürünü olan dİOPÜ seviyelerinin(18) HP grubunda anlamlı olarak düşük çıktığı görüldü. Öte yandan kendileri birer HİRH modeli olmasa da, oksidatif hasar durumunda dİOPÜ seviyelerinde oluşan değişiklikler üzerine yapılan bazı araştırmaları da inceledik. Bu araştırmalarda, oksidatif stresin söz konusu olduğu birçok patolojik durumda dİOPÜ seviyelerinin yükseldiğine dair bulgular rapor edilmiştir. Buna karşın aynı çalışmalarda, antioksidan ve antiinflamatuvar özellik gösteren çeşitli ajanların kullanılmasıyla dİOPÜ seviyelerindeki bu yükselmenin önüne geçildiğini işaret eden bilgiler de göze çarpmaktadır(133, 134). Bizim çalışmamızda ise yukarıda da belirttiğimiz gibi,

H. perforatum ekstresinin kullanıldığı HP grubundaki dİOPÜ seviyelerinin İR ve KMS gruplarına göre anlamlı olarak düşük çıktığını gördük. Tüm bu sonuçlara bakarak, antiinflamatuvar(85, 86, 96, 97) ve antioksidan(72, 100, 101, 102) özelliklere sahip *H. perforatum* ekstresinin HİRH sırasında oluşan protein oksidasyonunu inhibe ettiğini söyleyebiliriz. Çünkü inhibe olan protein oksidasyonu, HP grubunda azalan dİOPÜ seviyesi olarak kendini göstermiştir. Çalışmamızda yer alan İR, KMS ve HP gruplarındaki sİOPÜ seviyelerinin Sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıktığı görüldü. Ayrıca sİOPÜ seviyeleri açısından İR ve KMS grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı da görüldü. Çalışmamızdaki KMS grubunda ortaya çıkan sİOPÜ seviyelerinin ise, HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Bu sonuç *H. perforatum* ekstresinin protein oksidasyonunu inhibe ederek HP grubundaki sİOPÜ seviyelerini düşürdüğünü göstermektedir. Fakat sİOPÜ seviyeleri açısından İR ve HP grupları arasında anlamlı bir farkın olmaması ise, bu düşüncemizle çelişmektedir. Daha ileri çalışmalarda bu çelişkilerin ve çeşitli limitasyonların giderilebileceğini ümit etmekteyiz.

Çalışmamızda, histopatolojik doku hasar skor seviyeleri ve SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayıları açısından benzer sonuçlar elde edildi. Çalışmamızda yer alan gerek İR ve gerekse KMS gruplarında ortaya çıkan histopatolojik doku hasar skor seviyelerinin Sham ve HP gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Histopatolojik doku hasar skor seviyeleri açısından Sham ve HP grupları arasında ise anlamlı bir farkın olmadığı görüldü.

Histopatolojik değerlendirmeler açısından, gerek bizim çalışmamızda kullandığımız hepatik hasar skora sisteminin(110, 128) gerekse farklı hepatik hasar skora sistemlerinin kullanıldığı(126, 129, 131) HİRH ile ilgili çalışmaları inceledik. İncelemelerimizde membran stabilizatörü, antiapoptotik, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip ajanların kullanılmasıyla karaciğerde İR sırasında oluşan parankim hasarının azaldığını gördük. Azalan parankim hasarı ise gerek hepatik hasar skor seviyelerinde(110, 126, 128, 129, 131) gerekse SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayılarında oluşan azalmayla(110, 128) kendini göstermiştir. Çalışmamızda da, gerek karaciğer doku hasar skor seviyelerinin gerekse SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayılarının HP grubunda, İR ve KMS gruplarına göre anlamlı olarak düşük çıktığı görüldü. Karaciğer doku hasar skor seviyeleri ve SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayılarında oluşan bu azalma, *H. perforatum* ekstresinin HİRH üzerine olan koruyucu etkisinin açık bir göstergesidir.

Tüm bulgular göz önüne alındığında da antiinflamatuvar, antioksidan ve antiagregan özelliklere sahip birçok molekölü yapısında barındıran *H. perforatum* ekstresinin HİRH'a karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu açıktır. *H. perforatum*'un HİRH üzerine olan bu etkisi, çalışmamızda ortaya çıkan biyokimyasal ve histopatolojik verilerle büyük ölçüde desteklenmiştir. Karaciğerde oluşan İRH'da *H. perforatum*'un ilk defa kullanılıyor olması ve ortaya çıkan sonuçların biyokimyasal ve histopatolojik verilerle büyük ölçüde

desteklenmiş olması nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara yol göstereceği inancındayız. Ancak *H. perforatum*'un klinikte HİRH'ı önlemek amacıyla kullanılabilmesi için, çok sayıda ve daha ileri çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç olduğu da bir gerçektir.

6. SONUÇ

■ Her hangi bir organa giden kan akımının azalması veya tamamen durması ve daha sonra oluşan reperfüzyon süreci akut bir inflamatuvar cevabın oluşmasına sebep olur.

- Oluşan bu inflamatuvar cevap ile başlayan ve doku hasarı ile sonuçlanan tabloya İRH denir.
- İnsan vücudunda başlıca kalp, böbrek, akciğer, karaciğer gibi organlarda sıklıkla oluşur.

■ Postiskemik dokuda oluşan inflamatuvar cevap solunum ve kardiyovasküler sistemleri etkileyecek kadar şiddetli olabilir.

- Hatta oluşan bu cevap ÇOY ve SİYS'a neden olabilir.

■ Meydana gelen İRH'da çeşitli ROT'lar, sitokinler, kemokinler, HAM'lar ve PNL'ler aktif olarak rol alırlar.

■ Oluşan ROT'lar hepatosit hasarına yol açarak İRH sırasında oluşan karaciğer fonksiyon bozukluğunun artışına sebep olurlar.

■ Oksidatif stresin mevcudiyeti hücre döngüsünde bir takım bozukluklar oluşturarak apoptozisi başlatır.

■ Amacımız oluşan İRH'ı önlemek veya İRH'ın organ ve sistemler üzerinde oluşturduğu olumsuz etkileri en aza indirebilmektir.

- Bu amaçla çeşitli prosedür ve ajanlar denenmiştir.
- Uygulanan prosedürlerden biri iskemik önkoşullama olup, prosedür uzun bir iskemi periyodundan önce kısa süreli olarak uygulanan İR periyotlarını içerir.
- Süperoksit dismutaz, melatonin, allopürinol, α - tokoferol, N-asetil sisteyin, glutatyon ve desferoksamin gibi antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler gösteren ajanların kullanımı da HİRH şiddetini azaltır.

■ Bizde çalışmamızda antiagregan, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip birçok molekülü yapısında barındıran *H. perforatum* ekstresini kullandık.

■ Karaciğerde oluşan İRH'ın değerlendirilmesinde AST, ALT, LDH, TNF- α , IL-6 ve MDA seviyeleri ile histopatolojik incelemeler sıkça kullanılan parametrelerdir.

■ Yaptığımız çalışmada bu parametrelere ek olarak HİRH sırasındaki dİOPÜ ve sİOPÜseviyelerini de değerlendirmeye aldık.

■ Çalışmamızda oluşan serum AST değerleri açısından Sham grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Aynı şekilde serum AST değerleri açısından gerek İR ve KMS grupları arasında, gerekse İR ve HP grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü.

- Serum AST seviyeleri açısından KMS grubu ile HP grubu karşılaştırıldığında, KMS grubundaki serum AST seviyelerinin HP grubundaki serum AST seviyelerine göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü.
- Serum ALT seviyeleri açısından gerek Sham grubu ile HP grubu arasında, gerekse İR grubu ile KMS grubu arasında anlamlı bir fark yoktu. Buna karşın İR ve KMS gruplarındaki serum ALT seviyelerinin HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.
- Serum LDH seviyeleri açısından İR, KMS ve HP grupları arasında anlamlı bir fark yoktu. Fakat bu üç gruptaki serum LDH seviyelerinin Sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü.
- Serum TNF- α ve IL-6 seviyeleri açısından gerek İR grubu ile KMS grubu arasında, gerekse Sham grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir fark yoktu. Fakat İR ve KMS gruplarındaki Serum TNF- α ve IL-6 seviyeleri HP grubuna göre anlamlı olarak yüksekti.
- Ortaya çıkan sMDA seviyeleri açısından gerek Sham grubu ile HP grubu arasında, gerekse İR grubu ile KMS grubu arasında anlamlı bir fark yoktu. Buna karşın, İR ve KMS gruplarındaki sMDA seviyeleri HP grubuna göre anlamlı olarak yüksekti.
- Oluşan dMDA seviyeleri açısından Sham grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Fakat gerek İR ve gerekse KMS gruplarındaki dMDA seviyeleri, HP grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Aynı şekilde, İR

grubundaki dMDA seviyelerinin de KMS grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

■ Gerek sİOPÜ gerekse dİOPÜ seviyeleri açısından İR grubu ile KMS grubu arasında anlamlı bir fark yoktu. Aynı şekilde sİOPÜ seviyeleri açısından Sham grubu ile HP grubu arasında da anlamlı bir fark yoktu. Fakat HP grubundaki dİOPÜ seviyelerinin Sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

■ Gerek İR ve gerekse KMS gruplarındaki dİOPÜ seviyeleri, HP grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Aynı şekilde KMS grubundaki sİOPÜ seviyeleri de HP grubundan anlamlı olarak yüksekti. Buna karşın, sİOPÜ seviyeleri açısından İR grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü.

■ Karaciğer doku hasar skor seviyeleri ve SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayıları açısından gerek İR grubu ile KMS grubu arasında, gerekse Sham grubu ile HP grubu arasında anlamlı bir fark yoktu. Buna karşın her iki parametre değerlerinin, İR ve KMS gruplarında HP grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü.

■ Tüm bulgular göz önüne alındığında da antiinflamatuvar, antioksidan ve antiagregan özelliklere sahip birçok moleküllü yapısında barındıran *H. perforatum* ekstresinin HİRH'a karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu açıktır.

■ Ancak *H. perforatum*'un klinikte HİRH'ı önlemek amacıyla kullanılabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunduğu da bir gerçektir.

7. KAYNAKLAR

1. Ferrari R. Oxygen free radicals at myocardial level: effects of ischemia and reperfusion. In: Armstramg D, Editör, Free radicals in diagnostic medicine, New York: Plenum Pres, 1994, 99-11.
2. Toledo-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. American Journal Of Surgery. 1975; 129: 513-517
- 3- Halliwell B and Gutteridge J.M.C. 1985, Oxygen free radicals and the nervous system, Trends In Neurosciences, 8, 22-26.
4. Tredger JM. İschemia reperfusion injury of the liver: Treatment in theory and practice. Biofactors. 1998; 8(1-2); 161-164.
5. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD: St John's Wort(*Hypericum perforatum* L.): a review of it's chemistry, pharmacology and clinical properties. J Pharm Pharmacol. 2001; 53: 583-600.
6. Rocha L, Marston A, Potterat O, et al. Antibacterial phloroglucinols and flavonoids from *Hypericum brasiliense*. Phytochemistry. 1995; 40 :1447-1452.
7. Ajaikumar K.B, Asheef M, Babu B.H and Padikkala J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. Methanolic extract. J Ethnopharm, 2005; 96, 171-176.

8. Silva BA, Ferreres F, Malva JO, Dias CP. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hpericum perforatum* alcoholic extracts. Food Chem. 2005; 90: 157-167.
9. Saija A, Scalese M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F: Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. Free Radical Biol Med. 1995; 19 :481-486.
10. Bilgin Ö. Lipopolisakkarit ile uyarılmış hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan deneklerde, melatonin uygulanmasının doku (karaciğer ve böbrek) NF- κ B ekspresyonu ile kan ve doku lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi. Mersin: Mersin Üniversitesi, 2007.
11. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. Journal Of Pathology. 2000; 190:255-266.
12. Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control. FASEB J 1991; 4: 176-187.
13. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism oxidative stress and signaling transduction. Annual Review Of Plant Biology. Health & Medical Complete. 2004; 55:373-399.
14. Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato K. Membrane damage due to lipid oxidation. American Journal Clinical Nutrition 1991; 53: 201-205.
15. Youn YK, Suh GJ, Jung SE, Oh SK, Demling R. Recombinant human growth hormone decreases lung and liver lipid peroxidation and increases antioxidant activity after thermal injury in rats. J Burn Care Rehabil 1998; 19: 542-548.

16. Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radical Biology & Medicine* 1999; 27: 1151-1163.
17. Ter Steege JCA, Koster Kamphuis L, Van Straaten EA, Forget PP, Buurman WA. Nitrotyrosine in plasma of celiac disease patients as detected by a new sandwich ELISA. *Free Radical Biology & Medicine* 1998; 25: 953-963.
18. Alderman CJJ, Shah S, Foreman JC, Chain BM, Katz DR. The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radical Biology & Medicine* 2002; 32: 377-385.
19. Benedi J, Arroyo R, Romero C, Martin- Aragon S and Villar A.M. Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC 12 cells , *Life sciences* .2004. 75; 1263- 1276.
20. Clemens MG. Nitric oxide in liver injury. *Hepatology* .1999.30:1-5.
21. Pannen BHJ, Al Adili F, Bauer M. Role of endothelins and nitric oxide in hepatic reperfusion injury in the rat . *Hepatology*.1998.27:755-764.
22. Yanagida H, Kaibori M, Yoshida H, et al. Hepatic ischemia reperfusion upregulates the susceptibility of hepatocytes to confer the induction of inducible nitric oxide synthase gene expression. *Shock* 2006; 26: 162-168.
23. Liu P, Xu B, Hock CE, Nagele R, Sun FF, Wong PY. NO modulates p-selectin and ICAM-I mRNA expression and hemodynamic alterations in hepatic ischemia/reperfusion. *Am J Physiol* 1998; 275: 2191-2198.

- 24.** Koppenol WH. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 385-391.
- 25.** Shah V, Haddad FG, Garcia –Cardena G. Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *Journal Of Clinical Investigation*.1997;100:2923-2930.
- 26.** Cottart CH, Do L, Blanc MC. Hepatoprotective effect of endogenous nitric oxide during ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology*.1999.29:809-813.
- 27.** Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension : stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide.1997. *Hepatology*. 25: 2-5
- 28.** Ramalho FS, Fernandez-Monteiro I, Rosello-Catafau J, Peralta C. Hepatic microcirculatory failure. *Acta cir Bras* 2006; 21: 48-53.
- 29.** Pannen BHJ, Bauer M, Noldge-Schömburg GFE, et al. Regulation of hepatic blood flow during resuscitation from hemorrhagic shock: role of NO and endothelins. *American Journal Of Physiology*.1997;272:2736-2745.
- 30.** Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415.
- 31.** Shito M, Wakabayashi G, Ueda M, et al. Interleukin 1 receptor blockade reduces tumour necrosis factor production, tissue injury, and mortality after hepatic ischemia reperfusion in the rat. *Transplantation*. 1997;63:143-148.
- 32.** Muraoka KI, Shimizu K, Sun X. Hypoxia, but not reoxygenation, induces IL-6 gene expression through NFκB activation. *Transplantation*. 1997. 63; 466-470.

- 33.** Yoshidome H, Kato A, Edwards MJ, Lentsch AB. Interleukin-10 suppresses hepatic ischemia reperfusion injury in mice: implications of a central role for nuclear factor κ B. *Hepatology*. 1999; 30: 203-208.
- 34.** Hisama N, Yamaguchi Y, Miyanari N, Ichiguchi O, Goto M, Mori K, Ogawa M. Ischemia reperfusion injury: the role of kupffer cells in the production of cytokine induced neutrophil chemoattractant, a member of the interleukin-8 family. *Transplantation Proceedings*. 1995; 27:1604-1606.
- 35.** Sindram D, Porte RJ, Hoffman MR, Bentley RC, Clavien PA. Platelets induced sinusoidal endothelial cell apoptosis upon reperfusion of the cold ischemic rat liver. *Gastroenterology* 2000; 118: 183-191.
- 36.** Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, Satomi S. Tumor necrosis factor induced, superoxide mediated neutrophil accumulation in cold ischemia reperfusion in rat liver. *Hepatology*. 1997; 26: 113-120.
- 37.** Colletti LM, Kunkel SL, Walz A. The role of cytokine Networks in the local liver injury following hepatic ischemia reperfusion in the rat. *Hepatology*. 1996;23:506-514.
- 38.** Lichtman SN, Lemasters JJ. Role of cytokines and cytokine-producing cells in reperfusion injury to the liver. *Sem. Liver Dis*. 1999;19: 171-187.
- 39.** Xia ZF, Horton JW, Zhao PY. Effects of ischemia on intra-cellular sodium and phosphates in the in vivo rat liver. *Appl. Physiol*. 1996; 81: 1395-403.

- 40.** Bond JM, Chacon E, Herman B. Intracellular PH and calcium homeostasis during the PH paradox of reperfusion injury to cultured neonatal rat cardiac myocytes. *American Journal Of Physiology*. 1993;265:129-137.
- 41.** Currin RT, Gores GJ, Thurman RG. Protection by acidotic PH against anoxic cell killing in perfused rat liver: evidence for a PH paradox. *FASEB J*.1991;5:207-210.
- 42.** Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia-reperfusion injury: Pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *Journal of Gastroenterology And Hepatology*(2003) 18, 891-902.
- 43.** Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM and Edwards MJ. inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32: 169-73.
- 44.** Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia-reperfusion injury in rat liver in vivo. *Faseb J*. 1990; 4: 3355-3359.
- 45.** Wanner GA, Ertel W, Muller P, Hofer Y, Leiderer R, Menger MD, et al. Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation. *Shock*. 1996; 5: 34-40.
- 46.** Thornton AJ, Strieter RM, Lindley I, et al. Cytokine-induced gene expression of a neutrophil chemotactic factor/IL-8 in human hepatocytes. *Journal Immunol*.1990;144:2609-2613.

- 47.** Minor T, Isselhard W, Yamaguchi T. Involvement of platelet activating factor in microcirculatory disturbances after global hepatic ischemia. *Jornal Of Surgical Research*.1995. 58: 536-540.
- 48.** Lentsch AB, Yoshidome H, Kato A, Warner RL, Cheadle WG, Warda PA, Edwards MJ. Requirement for interleukin-12 in the pathogenesis of warm hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Hepatology*. 1999.30:1448-1453.
- 49.** Jaeschke H, Farhood A, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *American Journal Of Physiology*. 1993; 264: G801-G809.
- 50.** Hisama N, Yamaguchi Y, Ishiko T. Kupffer cell production of cytokine induced neutrophil chemoattractant following ischemia reperfusion injury in rats. *Hepatology*. 1996; 24; 1193-1198.
- 51.** Rai RM, Loffreda S, Karp CL, Yang SQ, Lin HZ, Diehl AM. Kupffer cell depletion abolishes induction of IL-10 and permits sustained overexpression of TNF- α Messenger RNA in the regenerating rat liver. *Hepatology*. 1997. 25; 889-895.
- 52.** Inglott FS, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *The American Journal Of Surgery* 2001; 181: 160-166.
- 53.** Vollmar B, Richter S, Menger MD. Leukocyte stasis in hepatic sinusoids. *American Journal Of Physiology*. 1996;270: G798-803.
- 54.** Pober JS. Cytokine-mediated activation of vascular endothelium: physiology and pathology. *American Journal Of Pathology*. 1998; 133:426-433.

- 55.** Martinez-Mier G, Toledo-Pereyra LH, Ward PA. Adhesion molecules in liver ischemia and reperfusion. *J Surg Res* 2000; 94:185-194.
- 56.** Yadav SS, Howell DN, Steeber DA, Harland RC, Tedder TF, Clavien PA. P-selectin mediates reperfusion injury through neutrophil and platelet sequestration in the warm ischemic Mouse liver. *Hepatology*.1999;29:1494-1502.
- 57.** Li XK, Matin AFM, Suzuki H, Uno T, Yamaguchi T, Harada Y. Effect of protease inhibitor on ischemia reperfusion injury of the rat liver. *Transplantation*.1993.56: 1331-1336.
- 58.** Jiao LR, Hansen PD, Havlik R, et al. Clinical short-term results of radiofrequency ablation in primary and secondary liver tumours. *Am J Surg* 1999; 177: 303-6.
- 59.** Gujral J, Bucci T, Farhood A, Jaeschke H. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? *Hepatology* 2001; 33: 397-405.
- 60.** Fausto N. Liver regeneration. *Journal Of Hepatology* 2000; 32: 19-31.
- 61.** Ankoma-Sey V. Hepatic regeneration-revisiting the myth of prometheus. *News In Physiological Sciences* 1999; 14: 149-155.
- 62.** Fausto N, Laird AD, Webber EM. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *FASEB J* 1995; 9: 1527-1536.
- 63.** Alcorn J, Feitelberg MJ, Brenner D. Transient induction of c-jun during hepatic regeneration. *Hepatology* 1990; 11: 909-915.

64. Tzung SP, Fausto N, Hockenbery DM. Expression of Bcl-2 family during liver regeneration and identification of Bcl-x as a delayed early response gene. *Am J Pathol* 1997; 150: 1985-1995.
65. Haber AH, Mohn KL, Diamond RH. Induction patterns of 70 genes during nine days after hepatectomy define the temporal course of liver regeneration. *J Clin Invest* 1993; 91: 1319-1326.
66. Carlo GD, Borrelli F, Ernst E and Izzo AA. *St John's wort*: Prozac from the plant kingdom. *Trends In Pharmacological Sciences*. Vol: 22. No: 6. june 2001.
67. Miller AL. St. John's Wort(*Hypericum perforatum*): Clinical Effects on Depression and Other Conditions. *Alternative Medicine Review*. 1998;3(1):18-26.
68. Hunt EJ, Lester CE, Lester EA, Tackett RL. Effect of St.John's wort on free radical production. *Life Sciences* 69(2001) 181-190.
69. Greeson JM, Sanford B, Monti DA. St.John's wort(*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. *Psychopharmacology* 2001; 153:402-414.
70. Nahrstedt A, Butterweck V. Biologically active and other chemical constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*; 2: 129-134.
71. Murch SJ, Haq K, Rupasinghe V, Saxena PK. Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of st.john's wort. *Enviromental and Experimental Botany*. 2003; 49: 251-257.

72. Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras AR, Simoncic M. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 2005; 89: 191-198.
73. Ollivier B, Balansard G, Maillard C, Vical E. Separation et identification des acides phenols par chromatographie liquide haute performance et spectroscopie ultra-violette. Application a la parieaire(*Parietaria officinalis L*) et au millepertuis(*Hypericum perforatum L.*). *J. Pharm. Belg.* 1985; 40: 173-177.
74. Dorossiev I. Determination of flavonoids in *Hypericum perforatum*. *Pharmazie*. 1985; 40: 585-586.
75. Cellarova E, Daxnerowa Z, Kimakowa K, Haluskowa J. The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*. *Acta Biotechnologica*. 1994; 14: 267-274.
76. Miccoli L, Beurdeley –Thomas A, De Pinieux G, Sureau F, Oudard S, Dutrillaux B, et al. Light induced photoactivation of hypericin affects the energy metabolism of human glioma cells by inhibiting hexokinase bound to mitochondria. *Cancer Res*. 1998; 58: 5777-5786.
77. Brantner A, Kartnig TH, Quehenberger F. Vergleichende phytochemische Untersuchungen an *Hypericum perforatum L.* and *Hypericum maculatum Crantz*. 1994; 62: 261-276.
78. Cott JM. In vitro receptor binding and enzyme inhibition by *Hypericum perforatum* extract. *Pharmacopsychiatry*. 1997. 30(2); 108-112.

- 79.** Yu PH. Effect of the *Hypericum perforatum* extract on serotonin turnover in the Mouse brain. *Pharmacopsychiatry*. 2000; 33: 60-65.
- 80.** Weber ND, Murray BK, North JA, Wood SG. The antiviral agent hypericin has in vitro activity against HSV-1 through non specific association with viral and cellular membranes. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*. 1994; 5: 83-90.
- 81.** Jensen AG, Hansen SH, Nielsen EO. Adhyperforin as a contributor to the effect of *Hypericum perforatum* L. in biochemical models of antidepressant activity. *Life Sci*. 2001; 68: 1593-1605.
- 82.** Laakmann G, Schüle C, Baghai T, Kieser M. St john's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. *Pharmacopsychiatry*. 1998; 31: 54-59.
- 83.** Schempp C, Pelz K, Wittmer A, Schopf E, Simon JC. Antibacterial activity of hyperforin from St.john's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram positive bacteria. *Lancet*. 1999; 353: 2129.
- 84.** Martarelli D, Martarelli B, Pediconi D, Nabissi MI, Perfumi M, Pompei P, et al. *Hypericum perforatum* methanolic extract inhibits growth of human prostatic carcinoma cell line orthotopically implanted in nude mice. *Cancer Lett*. 2004; 210: 27-33.
- 85.** Schempp CM, Winghofer B, Ludtke R, Simon-Haarhaus B, Schopf E, Simon JC. Topical application of st.john's wort(*Hypericum perforatum* L.) and of it's metabolite hyperforin inhibits the allostimulatory capacity of epidermal cells. *Br J Dermatol*. 2000; 142(5): 979-984.

- 86.** Albert D, Zündorf I, Dingermann T, Müller WE, Steinhilber D, Werz O. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*. 2002;64: 1767-1775.
- 87.** Otto JC, Smith WL. Prostaglandin endoperoxide synthases-1 and 2. *J Lipid Mediators Cell Signal*. 1995; 12(2/3): 139-156.
- 88.** Parente L. Pros and cons of selective inhibition of cyclooxygenase-2 versus dual lipoxygenase/cyclooxygenase inhibition: is two better than one? *J Rheumatol*. 2001; 28(11): 2375-2382.
- 89.** Celotti F, Laufer S. Antiinflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept. *Pharmacol Res*. 2001; 43(5):429-436.
- 90.** Schempp M, Hezel S, Simon C. Topical treatment of atopic dermatitis with *Hypericum* cream randomised, placebo controlled, double-blind half-side comparison study. *Hautarzt*. 2003; 54(3): 248-253.
- 91.** Rhee SG, Regulation of phosphoinositide specific phospholipase C. *Annu Rev Biochem*. 2001; 70: 281-312.
- 92.** Feißt C, Werz O. Suppression of receptor mediated Ca^{+2} mobilization and functional leukocyte responses by hyperforin. 2004; 67: 1531-1539.
- 93.** Hoelzl J, Ostrowski E. St.john's wort (*Hypericum perforatum* L.). HPLC analysis of the main components and their variability in a population. *Deutsch Apoth Ztg*. 1987; 127:1227-1230.

- 94.** Chen ZY, Chan PT, Ho KY, Fung KP & Wang J. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. *Chemistry and Physics of Lipids*. 1999; 79: 157-163.
- 95.** Butterweck V, Jurgensliemk G, Nahrstedt A, Winterhoff H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med*. 2000; 66: 3-6.
- 96.** Della Loggia R, Tubaro A, Dri P, Zilli C, Del Negro P. The role of flavonoids in the antiinflammatory activity of *Chamomilla recutita*. *Prog Clin Biol Res*. 1986; 213: 481-484.
- 97.** Menjeet KR, Ghosh B. Quercetin inhibits LPS- induced nitric oxide and tumor necrosis factor- α production in murine macrophages. *Int J Immunopharmacol*. 1999; 21: 435-443.
- 98.** Formica JV and Regeison W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chemical Toxicology*. 1995; 33: 1061-1080.
- 99.** Ishige K, Schubert D and Sagara Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radic Biol Med*. 2001; 30: 433-446.
- 100.** Terao J, Piskula M and Yao Q. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Arch Biochem Biophys*. 1994; 308: 278-284.

- 101.** İnal ME, Kahraman A and Köken T. Beneficial effects of quercetin on oxidative stress induced by ultraviolet A. *Experimental Dermatology*. 2001; 26: 536-539.
- 102.** Abd El-Gawad HM, Khalifa AE: Quercetin, Coenzyme Q10, and L-canavanine as protective agents against lipid peroxidation and nitric oxide generation in endotoxin-induced shock in rat brain. *Pharmacol Res*. 2001; 43: 257-263.
- 103.** Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med*. 1997; 22: 749-760.
- 104.** Merken HM & Beecher G. Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: A review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2000; 48: 577-599.
- 105.** Diamond MP. Reduction of adhesions after uterine myomectomy by seprafilm membrane(HAL-F). Seprafilm adhesion study group. *Fertility And Sterility* 1996; 66(6): 904-910.
- 106.** Salarifar B. Karboksümetil selüloz üretimi ve üretimdeki gelişmeler. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 1992.
- 107.** Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979; 95: 351-358.

- 108.** Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood 1979; 135(3): 372-376
- 109.** Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International* 1996; 49: 1304-1313.
- 110.** Camargo CA, Madden JF, Gao W, Selvan RS and Clavien PA. Interleukin-6 protects liver against warm ischemia reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent. *Hepatology* 1997; 26(6): 1513-1520.
- 111.** Huguet C, Gavelli A, Bona S. Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour. *J Am Coll Surg* 1994; 178: 454-458.
- 112.** Serafin A, Rosello-Catafau J, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Peralta C: Ischemic preconditioning increases the tolerance of fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *American Journal Of Pathology* 2002; 161: 587-601.
- 113.** Selzner N, Rudiger H, Graf R, Clavien PA: Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003; 125: 917-936.
- 114.** Vali L, Taba G, Szentmihalyi K, Febel H, Kurucz T, Pallai Z, et al. Reduced antioxidant level and increased oxidative damage in intact liver lobes during ischaemia reperfusion. *World J Gastroenterol* 2006; 12(7): 1086-1091.
- 115.** Kplowitz N, Tsukamoto H. Oxidative stress and liver disease. *Prog Liver Dis* 1996; 14: 131-159.

- 116.** Molina MF, Sanchez-Reus I, Iglesias I, Benedi J. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol induced oxidative stress in mouse liver. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 1398-1402.
- 117.** Jaeschke H: Molecular mechanisms of hepatic ischemia reperfusion injury and preconditioning. *American Journal Of Physiology* 2003; 284: 15-26.
- 118.** Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury. *Journal Of Hepatology* 2000; 32: 39-47.
- 119.** Baykara B, Tekmen I, Pekcetin C, Ulukus C, Tuncel P, Sagol O, et al. The protective effects of carnosine and melatonin in ischemia reperfusion injury in the rat liver. *Acta Histochemica* 2009; 111: 42-51.
- 120.** Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay in lethal cell injury in ischaemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136.
- 121.** Fernandez L, Heredia N, Peralta C, Xaus C, Rosello-Catafau J, Rimola A, et al. Role of ischemic preconditioning and the portosystemic shunt in the prevention of liver and lung damage after rat liver transplantation. *Transplantation* 2003; 76: 282-289.
- 122.** Hardy KJ, Tancheroen S, Shulkes A. Comparison of continuous versus intermittent ischemia reperfusion during liver resection in an experimental model. *Br J Surg* 1995; 82: 833-836.
- 123.** Yin DP, Sankary HN, Chong AS, Ma LL, Shen J, Foster P, et al. Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation reperfusion injury in rats. *Transplantation* 1998; 66: 152-157.

- 124.** Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann.Surg* 2000; 232: 155-162.
- 125.** Paola RD, Muia C, Mazzon E, Genovese T, Crisafulli C, Menegazzi M, et al. Effects of hypericum perforatum extract in a rat model of ischemia and reperfusion injury. *Shock* 2005; 24: 255-263.
- 126.** Zhang F, Mao Y, Qiao H, Jiang H, Zhao H, Chen X, et al. Protective effects of taurine against endotoxin-induced acute liver injury after hepatic ischemia reperfusion. *Amino Acids*; 2009: mar 5[Epub Ahead Of Print]
- 127.** Cheng F, Li Y, Feng L, Li S. Effects of tetrandrine on ischemia reperfusion injury in Mouse liver. *Transplantation Proceedings* 2008; 40: 2163-2166.
- 128.** Saidi RF, Chang J, Verb S, Brooks S, Nalbantoğlu I, Adsay V, et al. The effect of methylprednisolone on warm ischemia-reperfusion injury in the liver. *The American Journal Of Surgery* 2007; 193: 345-348.
- 129.** Şehirli Ö, Ozel Y, Dulundu E, Topaloğlu U, Ercan F, Şener G. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Phytotherapy research* 2008; 22: 43-48.
- 130.** Bülbüller N, Cetinkaya Z, Akkuş MA, Cifter C, Ilhan YS, Dogru O, et al. The effects of melatonin and prostaglandin E1 analogue on experimental hepatic ischaemia reperfusion damage. *Int J Clin Pract* 2003; 57(10): 857-860.

- 131.** Ito K, Ozasa H, Noda Y, Horikawa S. Splenic artery ligation ameliorates hepatic ischemia and reperfusion injury in rats. *Liver International* 2006; 26: 254-260.
- 132.** Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002; 162: 221-225.
- 133.** Ardestani A, Yazdanparast R, Jamshidi S. Therapeutic effects of *Teucrium polium* extract on oxidative stress in pancreas of streptozotocin induced diabetic rats. *J Med Food* 2008; 11(3): 525-532.
- 134.** Eskiocak S, Tutunculer F, Basaran UN, Taskiran A, Cakir E. The effect of melatonin on protein oxidation and nitric oxide in the brain tissue of hypoxic neonatal rats. *Brain & Development* 2007; 29: 19-24.

8. ÖZET

Ratlarda karaciğerde oluşturulan hepatik iskemi reperfüzyon hasarı üzerine *Hypericum perforatum*'un etkileri.

İskemi reperfüzyon hasarı(İRH), cerrahi ve travma hastalarının metabolik olarak aktif dokularında oluşturduğu zarardan dolayı önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu süreç karaciğerde, transplantasyon ve rezeksiyonlar sırasında kan akımının kesilmesi sonucunda oluşur. Söz konusu durum ayrıca, hipovolemik ve septik şok sırasında sistemik dolaşımda oluşan kollaps sonucunda da oluşabilir. Karaciğerde oluşan reperfüzyon hasarını önlemek veya etkisini en aza indirebilmek için süperoksit dismutaz, melatonin, allopürinol, α -tokoferol, N-asetil sisteyin, glutatyon ve desferoksamin gibi çeşitli antioksidan ve antiinflamatuvar ajanlar kullanılmıştır. Bizde çalışmamızda, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip çeşitli bileşikler içeren *Hypericum perforatum* ekstresinin, karaciğerde oluşan iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan etkilerini inceledik.

Çalışmamızda 200-275 gr ağırlığında 62 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Hayvanlar dört gruba ayrıldı. Birinci grup(Sham, n: 8), standart laboratuvar yemi verildi ve daha sonra portal diseksiyon yapıldı; ikinci grup (İR, n: 18), standart laboratuvar yemi verildi ve daha sonra 45 dakika süreyle % 70'lik parsiyel karaciğer iskemisi uygulandı; üçüncü grup(KMS+İR, n: 18), 1 hafta süreyle %0,5'lik karboksimetil selüloz verildi ve daha sonra ikinci gruptaki gibi

İR işlemi uygulandı; dördüncü grup(KMS+HP+İR, n: 18), 1 hafta süreyle %0.5'lik KMS içerisinde hazırlanmış H. Perforatum ekstresi 400mgr/kg/gün olacak şekilde verildi ve daha sonra İR işlemi uygulandı. Son üç gruptaki hayvanlardan iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası 1, 2 ve 4. saatlerde kan örnekleri alınmasına karşın Sham grubundan sadece 1 defa kan örneği alındı. Karaciğer doku örnekleri de benzer şekilde alındı. Alınan kan örneklerinde serum AST, ALT, LDH, TNF- α , IL-6, MDA ve İOPÜ seviyelerine, doku örneklerinde ise MDA, İOPÜ ve doku hasar skor seviyeleri ile SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayılarına bakıldı.

İncelenen parametrelerden serum ALT, TNF- α , IL-6 ve MDA seviyelerinin HP grubunda, İR ve KMS grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. Bu parametreler açısından İR ve KMS grupları arasında ise anlamlı bir fark yoktu. Aynı şekilde karaciğer doku hasar skor seviyeleri ve SEH'lere adezyonu gerçekleşmiş birim alandaki PNL sayıları açısından İR ve KMS grupları arasında fark yoktu. Söz edilen her iki parametre sonuçlarının da HP grubunda, İR ve KMS grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi.

Bu sonuçlar, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip H. perforatum ekstresinin karaciğerdeki iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan koruyucu etkisinin bir göstergesidir. Fakat gerek serum AST değerleri açısından İR ve HP grupları arasında; gerekse serum LDH seviyeleri açısından İR, KMS ve HP grupları arasında anlamlı bir farkın olmaması ise düşündürücüdür. Sonuç

olarak, *H. perforatum*'un HİRH üzerine olan etkisinin tam olarak aydınlatılabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: İskemi, Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı, *Hypericum perforatum*.

9. SUMMARY

The Effects of *Hypericum perforatum* on Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats.

Ischemia-reperfusion injury (IRI) which damages metabolically active tissues is associated with a high morbidity and mortality in both surgical and trauma patients. This process is of importance in situations such as interruption of blood flow to the liver as in transplantation, or resection of it. It can also occur as a consequence of collapse of systemic circulation as in hypovolemic and septic shock situations. A variety of agents such as superoxide dismutase, melatonin, allopurinol, α -tocopherol, N-acetyl cysteine, glutathione and desferoxamine, which are known as having antioxidant and antiinflammatory properties have been used to prevent or to minimize the liver damage after ischemia-reperfusion injury. We also investigated the effects of the crude extract of *Hypericum perforatum*

including some compounds with antioxidant and antiinflammatory features on ischemia-reperfusion injury of the liver.

In our study, a total of 62 wistar-albino male rats weighing from 200 to 275 g were used. The animals were divided into four groups. First group(Sham, n: 8) given Standard laboratory chow followed by sham operation(minimal portal dissection); Second group(IR, n: 18) given standart laboratory chow followed by partially liver ischemia(70%) for 45 minutes; Third group(CMC+IR, n: 18) given 0,5% carboxymethyl cellulose for a week followed by IR just like the second group; Fourth group(CMC+HP+IR, n: 18) given 0,5% carboxymethyl cellulose supplemental the extract of *Hypericum perforatum*(400mg/kg/d) for a week followed by IR. Blood samples were obtained from the last three group animals before ischemia and 1, 2 and 4 hours after reperfusion, otherwise, one time from the Sham group animals. In addition, liver tissue sampling was also performed similarly. When aspartate aminotransferase(AST),alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydrogenase(LDH), tumor necrosis factor alpha(TNF- α), interleukin-6(IL-6), malondialdehyde(MDA) and advanced oxidation protein products(AOPP) levels were determined in blood samples; MDA, AOPP and tissue damage grades and number of polymorphonuclear leucocyte(PNL) adherent to sinusoidal endothelial cells(SEC) in the per target field were studied.

Blood levels of ALT, TNF- α , IL-6 and MDA were significantly low in HP group compared with IR and CMC groups. No difference existed between IR and CMC groups. Similarly, there was no difference between IR and CMC groups

with respect to liver injury scores and number of PNL adherent to SEC in the per target field. The results were significantly low in HP group compared with IR and CMC groups, respectively.

These results indicate that *H. perforatum* having antioxidant and antiinflammatory properties can protect the liver against IRI. However, no significant difference between IR and HP groups with respect to blood AST levels, and similarly, among IR, CMC and HP groups for blood LDH levels is unclear. In conclusion further studies need to be carried out to exactly explain the effect of *H. perforatum* on hepatic IRI.

Key Words: Ischemia, Hepatic ischemia reperfusion injury, *Hypericum perforatum*.

10. EKLER



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ**
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

22.12.2008

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/100-16415
KONU:

Sayın
Prof.Dr.Ömer ŞAKRAK
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

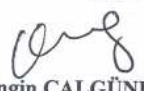
G.Ü.ET-08.052 kod numaralı ve “*Ratlarda, karaciğerde oluşturulan hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine Hypericum perforatum’un Etkileri*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

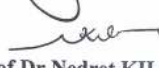
Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-08.052 and entitled “*Effect Of Hypericum Perforatum On Hepatic Damage In Hepatic İschaemia-Reperfusion Injury In Rats*” is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

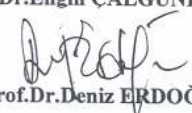
With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkan V.
Chairman (Ed Hoc)
Gazi University Animal Experiments Ethics Committee


Prof.Dr.Engin CALGÜNER


Prof.Dr.Nedret KILIÇ


Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN


Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN


Prof.Dr.Deniz ERBAŞ


Prof.Dr.Fatma AKAR


Prof.Dr.Altan DOĞAN


Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU


Uzman Dr.Şeyda DİKER


Vet.Hek.Dr.Osman İÇ


Ayşen KAÇMAZ

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Altan

Soyadı: AYDIN

Doğum Yeri Ve Tarihi: TRABZON-03.07.1976

Eğitimi: Uzmanlık: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2004-2009. Ankara.

Yüksek Öğrenim: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1992-1998, Trabzon.

Orta Öğretim: Trabzon Lisesi, 1989-1992, Trabzon.

Kömürcü Orta Okulu, 1986-1989, Trabzon.

İlk Öğretim: Kömürcü İlkokulu, 1981-1986, Trabzon.

Yabancı Dili: İngilizce

Uluslararası Dergide Yayımlanan Çalışmalar

1. Yüksel O, Kurukahvecioğlu O, Ege B, Ekinci O, Aydın A, Poyraz A, Tezel E, Taneri F. The relation between pure papillary and follicular variant in papillary thyroid carcinoma. Endocr Regul 2008; 42(1): 29-33.

2. Kurukahvecioğlu O, Taneri F, Yüksel O, Aydın A, Tezel E, Onuk E. Total thyroidectomy for the treatment of Hashimoto's thyroiditis coexisting with papillary thyroid carcinoma. Adv Ther 2007; 24(3): 510-516.

3. Menteş BB, Yüksel O, Aydın A, Tezcaner T, Leventoğlu A, Aytaç B.

Posterior tibial nerve stimulation for faecal incontinence after partial spinal injury: preliminary report. Tech Coloproctol 2007; 11(2): 115-119.