



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE

N- ASETİL SİSTEİN, FLUMAZENİL VE

DEXMEDETOMİDİN ETKİLERİNİN

KARŞILAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Arzu SAĞLIK

KAYSERİ- 2011



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
N-ASETİL SİSTEİN, FLUMAZENİL VE
DEXMEDETOMİDİN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Arzu SAĞLIK

Danışman

Prof. Dr. Aynur Karayol AKIN

KAYSERİ 2011

TEŞEKKÜRLER

Tıpta Uzmanlık Eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerinden daima yararlandığım, mesleğimi öğrenmemde emeği geçen, asistanlığa başladığım ilk günden beri mesleki bilgi ve becerileri dışında, alçak gönüllü, sıcak, sevecen, anlayışlı ve sabırlı tavırlarıyla hayranlığımı kazanan, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Adem BOYACI olmak üzere tüm hocalarıma,

Asistanlığım boyunca ve tez çalışmalarım esnasında, fikirleriyle bana her zaman yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, destekleyen ve yüreklendiren, yardımlarını hiçbir zaman unutamayacağım, sevgili hocam, tez danışmanım, Prof. Dr. Aynur KARAYOL AKIN'a,

Kıymetli vakitlerini tez çalışmam için ayıran, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Gülden BAŞKOL ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Kemal DENİZ'e,

Eğitimim süresince, uyum içinde ve keyifle çalıştığım, tüm asistan arkadaşlarıma, ameliyathane, ağrı, ayılma ünitesi ve anestezi yoğun bakım ekibine,

Elimi ne zaman uzatsam yanımda olan, canlarım, fedakar Annem'e ve Babam'a,

En büyük şanslarım, eşim Lütfi, kızlarım Yaren ve Beyza'ya,

Şu anda hayatta olsaydı bu teşekkürle en çok sevinecek mükemmel insan, Babam Emin SAĞLIK'a

Hislerimi anlatmakta yetersiz kalsada,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER	i
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
GRAFİK LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KARACİĞER ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ	3
2.1.1. Karaciğerin Makroskopik Anatomisi:	3
2.1.2. Karaciğerin Mikroskopik Anatomisi	4
2.1.3. Karaciğer Kan Akımı	6
2.1.4. Karaciğer Histolojisi	7
2.2. KARACİĞERİN BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK FONKSİYONLARI	8
2.3. KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI	9
2.4. KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI PATOFİZYOLOJİSİ	11
2.4.1. Hücrel Mekanizmalar	12
2.4.2. Humoral Mekanizmalar	14
2.4.3. Serbest Oksijen ve Nitrojen radikalleri	18
2.5. ÇALIŞMAMIZDA KULLANDIĞIMIZ İLAÇLAR	28
2.5.1. N-asetil sistein	28

2.5.2. Flumazenil	29
2.5.3. Deksmetomidin	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	40
3.1.1 AST, ALT, LDH analizi	40
3.1.2 TNF- α , IL-6, IL-1 β analizi	40
3.1.3 İnterlökin-10 analizi.....	40
3.1.4 SOD analizi.....	40
3.1.5 Total Oksidan Status (TOS) analizi	41
3.1.6 Total Antioksidan Status (TAS) analizi.....	41
3.2.İSTATİSTİKSEL ANALİZ	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. BİYOKİMSASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	42
4.1.1. Ortalama AST Değerleri.....	42
4.1.2 Ortalama ALT Değerleri.....	43
4.1.3. Ortalama LDH Değerleri	44
4.1.4. Ortalama TNF- α Değerleri	45
4.1.5 Ortalama IL-6 Değerleri	46
4.1.6 Ortalama IL-1 β Değerleri	47
4.1.7 Ortalama IL-10 Değerleri	48
4.1.8 Ortalama SOD Değerleri	49
4.1.9 Ortalama TAS Değerleri.....	50
4.1.10 Ortalama TOS Değerleri.....	50
4.1.11 Ortalama OSİ Değerleri.....	51

4.2. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMEs SONUÇLARI.....	52
4.2.1 Vakuolizasyon (VAC)	55
4.2.2 Sinüzoidal Dilatasyon (Sid).....	55
4.2.3 Nekroz ve Apopitoz.....	56
TARTIŞMA	57
SONUÇLAR	67
KAYNAKLAR	68
TEZ ONAY SAYFASI	85

KISALTMALAR

ALT	:Alanin Transaminaz
AST	:Aspartat Transaminaz
ATP	:Adenozin Trifosfat
Ca⁺²	:Kalsiyum
CAT	:Katalaz
cGMP	:Siklik guanozin monofosfat
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
EH	:Endotelyal Hücre
Gp	:Glikoprotein
GSH-Px	:Glutasyon Peroksidaz
ICAM-1	:İntrasellüler adezyon molekülü- 1
IL- 1β	:İnterlökin- 1 beta
IL- 6	:İnterlökin- 6
IL- 10	:İnterlökin- 10
INF-γ	:İnterferon gama
İR	:İskemi/ Reperfüzyon
K_{ATP}	:Potasyum ilişkili adenozin trifosfat
LDH	:Laktat Dehidrogenaz
MCP	:Monosit kemoatraktan protein
MIP	:Makrofaj inflamatuvar protein
NAC	:N asetil sistein

NADPH	:Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NF-k β	:Natural faktör kappa-beta
NK	:Doğal öldürücü hücreler
NO	:Nitrik Oksid
NOS	:Nitrik Oksid Sentetaz
OSİ	:Oksidatif stres indeksi
PAF	:Platelet Aktive Edici Faktör
SEC	:Sinüzoidal Endotelyal Hücre
Sid	: Sinüzoidal dilatasyon
SOD	:Süperoksid Dismutaz
RNS	:Reaktif Nitrojen Ürünleri
ROS	:Serbest Oksijen Ürünleri
TAS	:Total antioksidan seviyesi
TNF-α	:Tümör Nekroz Faktör- alfa
TOS	:Total oksidan seviyesi
VAC	:Vakuolizasyon
VCAM-1	:Vasküler hücre adezyon molekülü

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında rol alan önemli sitokinler	18
Tablo2: Karaciğer İR hasarı puanlama sistemi	39
Tablo 3: AST, ALT, LDH düzeyleri	44
Tablo 4: TNF- α düzeyleri.....	45
Tablo 5: IL-6 düzeyleri	46
Tablo 6: IL-1 beta düzeyleri.....	47
Tablo 7: IL-10 düzeyleri	48
Tablo 8: SOD düzeyleri	49
Tablo 9: TAS, TOS, OSI düzeyleri	52
Tablo 10: VAC düzeyleri	55
Tablo 11: Sid düzeyleri	56

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Karaciğerin segmental anatomisi.....	4
Şekil 2. Karaciğer lobülü, portal lobül ve karaciğer asinusu.	5
Şekil 3. Splanknik sirkülasyon.....	6
Şekil 4: Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisinin sistematik sunumu	12
Şekil 5: NAC'in kimyasal yapısı	28
Şekil 6: Flumazenilin kimyasal yapısı.....	29
Şekil 7: Deksmedetomidinin kimyasal yapısı.	31

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: AST düzeyleri	42
Grafik 2: ALT düzeyleri	43
Grafik 3: LDH düzeyleri.....	44
Grafik 4: TNF alfa düzeyleri	45
Grafik 5: IL6 düzeyleri	46
Grafik 6: IL1 beta düzeyleri.....	47
Grafik 7: IL10 düzeyleri	48
Grafik 8: SOD düzeyleri	49
Grafik 9: TAS düzeyleri	50
Grafik 10: TOS düzeyleri	51
Grafik 11: OSI düzeyleri	51
Grafik 12: VAC düzeyi.....	55
Grafik 13: Sid düzeyi	56

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Anestezik maddelerin ve ilaçların uygulanışı	35
Resim 2: Cerrahi yöntem.....	36
Resim 3: İskemi için kullanılan klips	36
Resim 4: Portal triad	37
Resim 5: İskemi sonrası cerrahinin sonlandırılması.....	37
Resim 6: Sham grubunda histopatolojik incelemede normal görünümdeki hepatositler ve sinüzoidler	52
Resim 7: İR grubunda sinüzoidal dilatasyon	53
Resim 8: İR grubunda nekrotik hepatositler	53
Resim 9: İR grubunda sinüzoidal dilatasyon, apopitoz ve vakuolizasyon	53
Resim 10: İR+D grubunda sinüzoidal dilatasyon	54
Resim 11: İR+N grubunda sinüzoidal dilatasyon	54
Resim 12: İR+F grubunda sinüzoidal dilatasyon ve vakuolizasyon	54

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine N- asetil sistein, flumazenil ve deksmedetomidinin etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulunun (DEKAM) onayı ile gerçekleştirildi. Ağırlıkları 250–350 gr arasında değişen, Wistar -Albino türü toplam 40 erkek rat kullanıldı ve ratlar randomize olarak beş gruba ayrıldı. Denekler, genel anestezi ile uyutulduktan sonra, kuyruk veninden Sham grubu ve Grup İR’de serum fizyolojik (SF), Grup F’de Flumazenil 1mg/kg, Grup D’de deksmedetomidin 1µg/kg, Grup N’de N asetil sistein 150 mg/kg dozunda i.v uygulandı. Sham grubunda SF enjeksiyonundan 15 dk sonra laparotomi yapıldı. İskemi oluşturulmadı. Diğer gruplarda portal ven ve hepatik arter eksplere edilerek atravmatik vasküler klemp yardımı ile iskemi uygulandı. 60 dakika sonunda klempler alındı ve iskemi sonlandırıldı. Reperfüzyon safhası böylece başlayan ratların laparotomi insizyonu kapatıldı. Bu denekler 6 saat sonra, tekrar anestezi verilerek uyutuldu, laparotomi tekrar edildi. Kan örnekleri bütün gruplarda intrakardiyak alındı ve ötonazi sağlandı. Daha sonra karaciğer doku örnekleri alındı. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının ve kullandığımız ilaçların, inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlere etkisini değerlendirmek için TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, antioksidan sistemlere etkisini değerlendirmek için SOD, TAS, TOS ölçümleri yapıldı. Ayrıca AST, ALT, LDH düzeyleri ölçüldü. Karaciğer doku örneklerinden elde edilen kesitler hematoksilen eozin ile boyandı. Preparatlar deney gruplarından habersiz uzman bir histopatolog tarafından, karaciğer İR hasarı puanlama sistemi kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: İR grubunda AST, ALT, LDH, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 düzeyleri diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$). Grup F’de AST, LDH ve IL-6 değerleri Sham grubu, Grup N ve Grup D’ye göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,01$). Gruplar arasında OSI değerleri arasında anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). Histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre, İR grubunda vacuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon, nekroz ve apopitoz, Sham grubu, Grup D, Grup F ve Grup N’den anlamlı olarak daha fazlaydı ($p < 0,05$). Sham grubunda Sinüzoidal dilatasyon Grup N, Grup D ve Grup F’den anlamlı olarak daha azdı ($p < 0,05$).

Sonuç: Bu çalışmada, karaciğerde meydana gelen iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde inflamatuvar mekanizmaların önemli bir rol oynadığı görülmektedir.

Biyokimyasal veriler ışığında, deksmedetomidinin ve NAC'in hasar üzerine etkili olduğu, flumazenilin ise deksmedetomidin ve NAC'e göre daha az etkin olduğu gösterilmiştir. Histopatolojik veriler, her üç ilacın da İR hasarına olan etkisini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Deksmetomidin, Flumazenil, İskemi/ reperfüzyon, Karaciğer, N-asetil sistein.

SUMMARY

Aims: In this study, we aimed to investigate and compare the impacts of N-acetyl cysteine, flumazenil and dexmedetomidine on the hepatic ischemia reperfusion injury.

Materials and Methods: This study was performed with the approval of DEKAM. Ranging in weight 250-350 g, Wistar-Albino type rats were used and a total of 40 male rats were divided randomly into five groups. After general anesthesia, normal saline to Sham group and the group IR also Flumazenil 1mg/kg to GrupF, dexmedetomidine 1µg/kg to Group D, N acetyl cysteine 150 mg / kg to Group N dose was given from the tail vein. Laparotomy was performed 15 min after injection of saline in the Sham group. Ischemia didn't occurred in this group. Portal vein and hepatic artery were explored, and ischemia applied with atraumatic vascular clamp. And clamps were terminated after 60 minutes of ischemia. Laparotomy incision was closed so that the starting phase of reperfusion of rats. Anesthesia was given again to these rats after 6 hours and laparotomy was repeated. Intracardiac blood samples were taken in all groups and autenasia provided. Then, liver tissue samples were taken. We evaluated the effects of hepatic ischemia reperfusion injury and the using drugs to the inflammatory and anti-inflammatory cytokines. We measured the values of TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 for this purpose. Hepatic ischemia reperfusion injury and the use of drugs, to evaluate the effect of antioxidant systems, SOD, TAS, TOS was measured. AST, ALT, LDH levels were measured. The liver tissue samples were stained with hematoxylin and eosin. Preparations of the experimental groups were assessed by an unaware expert histopatolog by using the scoring systemfor hepatic IR injury.

Results: Biochemical results are examined. AST, ALT, LDH, TNF- α , IL-6 and IL-10 levels in the Group IR were significantly higher then the other groups($p < 0.05$). The value of AST, ALT, IL-6 were to be significantly higher in Group F than Group D and Group N ($p < 0.01$). There were no significant differences between the OSI values at all groups ($p > 0.05$). According to the results of histopathological evaluation, vacuolization, sinusoidal dilatation, necrosis and apopitosis in Group IR were to be significantly higher than the Sham group, Group D, Group N and Group F ($p < 0.05$). Sinusoidal dilatation of the Sham group was significantly lower than Group D, Group F

and Group N ($p < 0.05$). Grade of in IR group was to be significantly higher than the Sham group, Group D, Group F and Group N ($P < 0.05$).

Conclusion:

In this study, inflammatory mechanisms seems to play an important role in the pathophysiology of ischemia reperfusion injury occurring in the liver. Biochemical data shows that dexmedetomidine was as effective as NAC in IR injury, flumazenil been shown to be less effective than dexmedetomidine and NAC. Histopathological data clearly shows the effect of both drugs at IR injury.

Key words: Dexmedetomidine, Flumazenil, ischemia / reperfusion, Liver, N-acetyl cysteine.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kan akımının azalması ya da kesilmesi ile organın veya dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu meydana gelen iskemi ve normal dolaşım sağlandıktan sonra oluşan reperfüzyon, günümüzde pek çok ciddi klinik durumun nedenidir. İskemi-reperfüzyon (İR) hasarı travma, organ transplantasyonu, myokard infarktüsü, inme, hipovolemik şok, sepsis gibi sık karşılaşılan ciddi klinik tablolarda meydana gelir. Dolayısıyla, beyin, kalp, böbrekler, kas dokusu ve karaciğer olmak üzere pek çok dokuda ve organda hayatı tehdit eden problemlere neden olur (1).

İskemik dönemde, oksijensiz kalan hücrede çeşitli metabolik değişiklikler meydana gelir. Kan akımının kesilmesi ya da azalması ile birlikte oksidatif fosforilasyon azalır. Adenozin tri fosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi hücrenin bütün organellerinin enerji kaynağı olarak kullandığı yüksek enerjili fosfatların sentezi azalır, anaerobik metabolitler hücrede birikir. Hücre membranındaki ATP bağımlı Na^+/K^+ ve Ca^{+2} pompalarının çalışmamasına bağlı hücre içi serbest Ca^{+2} , K^+ , Na^+ artışı, fosfolipaz aktivasyonu, hücre membran hasarı, mitokondrial disfonksiyon ve iskemik sürecin uzamasıyla birlikte lizozomal enzim aktivasyonu ve sonuçta apoptozis ile birlikte hücre ölümü meydana gelir (2).

İskemik süreçten sonra, kan akımı yeniden sağlanmasıyla reperfüzyon dönemi başlar. Bu dönemde yüksek O_2 konsantrasyonu ile birlikte dokudaki ve hücredeki iskemik dönemde oluşan hasar derinleşir. Reaktif Oksijen Ürünleri (ROS) ve Reaktif Nitrojen Ürünleri (RNS)'e bağlı lipid peroksidasyonu, membran hasarı, deoksiribonükleik asid

(DNA) hasarı, protein denatürasyonu ve mitokondrial hasar meydana gelir. İnflamatuvar sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin sentez ve aktivasyonu artar. Zincirleme inflamatuvar reaksiyonlar devam eder ve lökosit ilişkili hücre hasarını mikrosirkülasyon bozukluğu izler. Kan akımı tekrar sağlanmasına rağmen, sirkülasyon bozukluğu ve hücre hasarı devam eder (3).

Karaciğer İR hasarı, hipovolemik şok, kronik karaciğer hastalıkları, büyük tümör rezeksiyonları, hepatik travmaya cerrahi müdahale, vasküler rekonstrüksiyonlar ve hepatik transplantasyon sırasında ve sonrasında meydana gelebilir. Bu hasarın mekanizmalarının bilinmesi ve hasarı azaltan önlemler ve ilaçların araştırılması karaciğer cerrahisinin başarısını artırmak, kronik karaciğer hastalıklarının hasarını azaltabilmek açısından büyük önem taşımaktadır (1).

Bu amaçla, N- asetilsistein (NAC)'in hepatik İR hasarı üzerine olan etkileri de pek çok kez araştırılmış ve olumlu sonuçlara ulaşılmıştır (4).

Deksmedetomidin, medetomidin'in D-enantiomeri olan yüksek selektif, spesifik ve güçlü bir α_2 adrenoreseptör agonistidir. Alfa- 2 adrenoreseptörlerinin uyarılmasının bazı hayvan ve insan çalışmalarında antiinflamatuvar etki gösterdiği, inflamasyon kontrolünü artırabildiği, immunitiyi uyarabildiği bulunmuştur. Ayrıca deksmedetomidin'in serebral, kardiyak ve renal İR hasarına karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir. Fakat literatürde henüz hepatik İR hasarına karşı etkileri konusunda bilgi mevcut değildir (5-8).

Flumazenil, klinik kullanım için onaylanmış ilk benzodiazepin antagonistidir. Benzodiazepin reseptörlerine, agonistlere benzer bir şekilde ve konsantrasyona bağımlı olarak bağlanır. Parsiyel agonist etkili bir antagonisttir. Flumazenil, K^+ ilişkili ATP (K_{ATP}) kanalları üzerinden oksidatif hasara karşı etkilidir. Literatürde, nöronal ve kardiyak iskemi reperfüzyon hasarına karşı bu yolla olan etkisi gösterilmiştir. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında K_{ATP} kanallarının önemi bilinmektedir (9,10). Fakat Flumazenilin karaciğer üzerindeki muhtemel iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkisi literatürde henüz mevcut değildir.

Bizim amacımız, karaciğer cerrahisi ve transplantasyonunda başarıyı etkileyen ciddi bir problem olan İR hasarı üzerine, NAC, deksmedetomidin ve flumazenilin etkilerini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

2.1.1. Karaciğerin Makroskopik Anatomisi:

Karaciğer, kahverengi kırmızımsı renktedir, yaklaşık olarak 1.500 gr ağırlığındadır ve bu da vücut ağırlığının 1/ 35-40'ını oluşturmaktadır. Anatomik olarak; abdomende, sağ hipokondriumu, epigastriumun büyük kısmını kaplayan ve çeşitli varyasyonlarda sol hipogastriuma da uzanan insan vücudunun en büyük glandıdır. Diyaframa yaslanmış olarak bulunur. Sağ orta aksiller çizgide 7–11. kostalar arasında yer alır. Yüksek vaskülariteye sahip, kolayca lasere olabilen, süngerimsi bir yapıya sahiptir. Komşu olduğu organların sınırlarına uyum gösterir. Makroskopik olarak, superior, inferior ve posterior olmak üzere üç yüze sahip prizma şeklindedir (11).

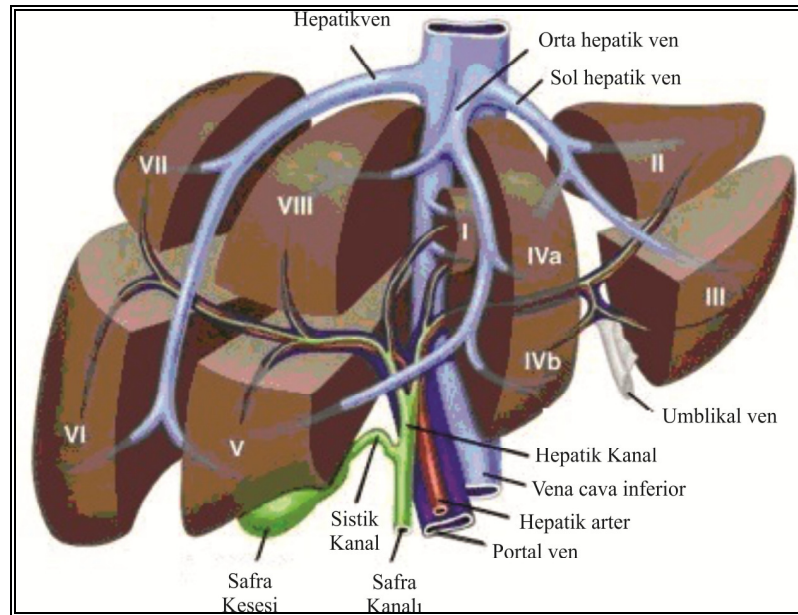
Karaciğeri çevresindeki dokulara bağlayan konnektif doku bantları hepatik ligamentlerdir. Bu bantların çoğu periton kıvrımlarından oluşur (membranöz ligament gibi). Bunun dışında fetal dokuların oblitere olmasıyla meydana gelen fibröz kordlar; umbilikal ven (ligamentum teres ve round ligament) ve duktus venosus (ligamentum venosum) mevcuttur. Bütün bu ligamentler karaciğeri komşu doku ve organlara (hepatogastrik ve hepatoduedonal ligamentler gibi) bağladığı gibi, karın ön duvarı ve diaframa da bağlarlar (11).

Geleneksel ya da klasik anatomide, karaciğeri dört ana loba “ sağ lob, sol lob, kaudat ve quadrat loblara” ayıran topolojik simgeler kullanılır. Superior yüzeyde karaciğer falsiform ligamentle sağ ve sol loba ayrılır. Postero inferior yüzeyde ise portal ven, safra

kesesi, ligamentum venosum ve inferior vena cava karaciğeri, sağ, sol, kaudat ve quadrat loblara bölen anatomik yapılardır (12).

Karaciğerin fizyolojik anatomisi ise fonksiyonel, segmentel, modern ya da cerrahi anatomi olarak adlandırılır. Burada sınıflandırılan her bir segmentin kendi afferent kan akımı, venöz ve bilier drenajı mevcuttur. Her bir segmentin, hepatik arter, portal ven ve bilier kanalı, çeşitli varyasyonlar gösterebilmekle birlikte ayrıdır (12).

Fizyolojik anatomi, karaciğer cerrahisinin planlanmasını kolaylaştırır ve cerrahi başarıyı artırır. Cerrahi insizyonun, portal triadı (portal ven, hepatik arter ve hepatik safra kanalı) yaralamasını büyük olasılıkla önler, mortalite ve morbiditeyi azaltır. En çok kabul gören “Couinaud’ın segmentel anatomisi”dir. Burada karaciğer sekiz segmente ayrılmıştır. Bütün bu anatomik sınıflamalara rağmen karaciğer pek çok anatomik varyasyon gösteren bir organdır. Günümüzde görüntüleme tekniklerinin gelişmesiyle birlikte Couinaud’ın segmentel anatomisi gerçeğe yakın bir şekilde ameliyat öncesi ortaya koyulabilmektedir (13).



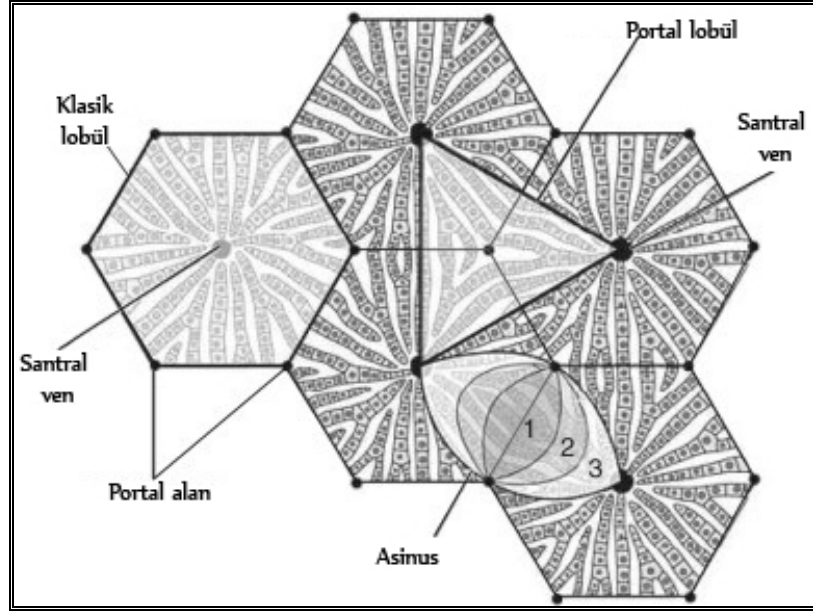
Şekil 1. Karaciğerin segmental anatomisi (11).

2.1.2. Karaciğerin Mikroskopik Anatomisi

Karaciğer lobülü: Karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi lobüldür ve lobülün asıl yapısını oluşturan hücreler ise hepatositlerdir. İlk olarak 1954 yılında Rappaport tarafından tanımlanmıştır. Karaciğer lobüllerinin sınırlarını, hilustan organ içine giren ve parankimi odacıklar şeklinde bölen glisson kapsülü oluşturmaktadır. Segmentler ise

içinde birden çok lobül barındıran, sınırlarını vasküler ana dalların belirlediği, karaciğer cerrahisi için önemli olan ve karaciğeri topografik olarak alanlara bölen ünitelerdir (14).

Altıgen şeklindeki lobülün her köşesinde portal triad adı verilen, portal ven, hepatik arter ve safra kanalikülünden oluşan bir ünite, merkezde ise vena centralis bulunmaktadır. Glisson kapsülünün merkeze doğru ışınal şekilde uzanım göstermesiyle asinüsler oluşur (14).



Şekil 2. Karaciğer lobülü, portal lobül ve karaciğer asinusu (11).

Mikrosirkülasyon: Karaciğerde asinuslar üç heterojen dolaşım bölgesi içerir. Zon 1: periportal, zon 2: orta ve zon 3: perisentral zonlardır. Zon 1: Sinuzoidlerin başlangıç bölgesidir. Oksijen ve besin açısından zengindir. Zon 3: Oksijenden en fakir bölgedir, kan akımı zon 1 ve 2 den sonra buraya ulaşır (14).

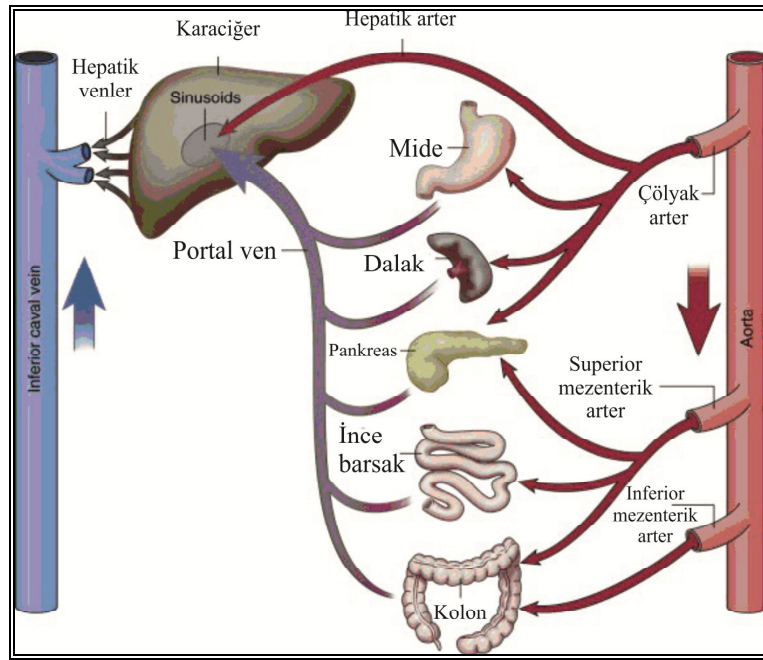
Karaciğerin substratları kullanımı ve atık ürünlerin ekskresyonu asinus ve onun mikrovasküler mimarisi ile ilişkilidir. Üre siklus enzimleri zon 1 ve 2 de lokalizedir.

Amonyak detoksifikasyonunda görevli en önemli enzimlerden glutamin sentetaz ise Zon 3 de lokalizedir. Amonyak detoksifikasyonunda, karaciğer asinusu içerisinde yeterli kan akımının bulunması bu açıdan çok önemlidir (14).

2.1.3. Karaciğer Kan Akımı

Karaciğer splanknik kan akımının merkezindedir ve ayrılmaz bir şekilde bağlıdır. Splanknik vaskülaritede meydana gelen herhangi bir değişiklik hepatik kan akımını etkiler. Hepatik arter ve portal ven yoluyla karaciğer kardiyak outputun yaklaşık %25'ini (1 gr karaciğer dokusu için 1ml kan volümü) alır (14).

Karaciğer'e kan akımını sağlayan iki ana vasküler yapı portal ven ve hepatik arterdir. Portal ven karaciğer kan akımının %75-80'ini, hepatik arter ise %20-25'ini karşılamaktadır. Hepatik arterdeki kanın oksijen saturasyonu normal insanda %96-98 civarında olmasına rağmen, debisinin portal vene göre düşük olması sebebi ile karaciğer oksijenasyonundaki payı portal vene göre daha düşüktür. Bu nedenle karaciğer oksijenasyonunun %60-70'inden portal ven, %30-40'ından ise hepatik arter sorumludur (14,15).



Şekil 3. Splanknik sirkülasyon (11).

Hepatik fonksiyonel ünitenin dolaşımında ise ana yollar portal triadlardaki hepatik arter ve portal venin dallarıdır. Glisson kapsülünün hemen altında sinüzoidlere dal verirler. Portal ven basıncı yaklaşık olarak 6–10 mmHg, sinüzoidlerdeki basınç ise 2–4 mm Hg'dır. Bu nedenle karaciğerde kan akımı, basınç farkına göre portal venden sinüzoidlere doğru devam etmektedir (11).

2.1.4. Karaciğer Histolojisi

Hepatositler: Hepatositler polihedral şekilli, 6–8 yüzeyli, yaklaşık olarak 20–30 µm çaplı hücrelerdir. Merkezinde 1 ya da 2 nukleolusa sahip olan merkezi yerleşimli nukleusu mevcuttur. Fonksiyonu itibarı ile bol miktarda mitokondri, endoplazmik retikulum, ribozom ve golgi cisimciğine sahiptir (16).

Hepatositler karaciğerin ana fonksiyonel hücreleridir. Karaciğer hücrelerinin % 60-70'ini oluşturmaktadır. Bu hücreler, karaciğerin fonksiyonel ünitesi içerisinde periferden santrale doğru ışınsal bir dizilim gösterirler. Bu dizilime 'remark kordonları' adı verilmektedir (16).

Sinüsoidal Endotelial Hücreler (SEC): Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %20-30'unu oluşturmaktadır. Karaciğer fonksiyonel ünitesindeki sinüzoidler, endotel hücrelerinin bir araya gelerek bağlanmasıyla oluşturdukları tubuler yapılardır. Endotel hücrelerinin arasındaki bağlantılar geniş porlar içermektedir. Disse aralığındaki mayi, endotel hücreleri arasından süzülerek ya da primer endotel hücrelerinin aktif transportu ile protein ve elektrolit transferiyle oluşturulmaktadır (16).

Kupffer Hücreleri: Kupffer hücreleri, ilk olarak histopatolog C. Von Kupffer tarafından tanımlanmış doku makrofajlarıdır. Doğal katil hücreleri, dendritik hücreler, akut faz proteinleri ve kompleman faktörleri ile birlikte doğal bağışıklığın önemli bir bileşenidir. Non parankimal karaciğer hücrelerinin yaklaşık %35'ini oluşturan bu retiküloendotelial sistem hücreleri, kan damarlarının endotelial hücrelerine ve karaciğer sinüzoidlerinin lümenine yapışık olarak bulunurlar. Vücudun bakteri, bakteriyel endotoksin ve mikrobiyal artıklarla temas etmesiyle ve bunların portal ven ya da gastrointestinal sistem yoluyla karaciğere ulaşmasıyla ilk olarak kupffer hücreleri aktive olur (16).

Kupffer hücreleri, iskemi-reperfüzyon hasarı, asetaminofen toksisitesi, karaciğer fibrozu, portal hipertansiyon, non-alkolik yağlı karaciğer ve alkolik karaciğer hasarı gibi pek çok karaciğer hasar ve hastalığının patogeneğinde yer alır (17).

Presinüzoidal Hücreler (İto Hücreleri): Sinüzoidleri oluşturan endotel hücrelerinin hemen altında yer almaktadırlar. Sinüzoidlerin kan akımının düzenlenmesine katkıda bulunmaktadırlar. Bu hücreler A vitamini deposudur aynı zamanda kollajen üretimi ve depolanmasından sorumludur. Bu sebeple hepatit zemininde gelişen fibrozisten sorumlu tutulmaktadır (18).

Karaciğer Sinüzoidleri ve Disse Aralığı: Sinüzoidleri oluşturan endotel hücreleri ile hepatik lobüldeki ırsal dizilimli hepatositler arasındaki interstisyel boşluğa disse aralığı adı verilmektedir. Sinüzoidlerden kanın geçişi esnasında disse aralığına plazma difüze olmaktadır. Hepatik lobül köşelerindeki bağı dokudan zengin “kiernan aralığı”nda portal triadın yanında lenfatik damarlar mevcuttur. Disse aralığına geçen plazma sıvısı, hepatositlerin metabolik artıkları, yüksek molekül ağırlıklı proteinler, kolesterol ve yağ asitleri bu lenfatiklere drene olur (19).

2.2.KARACİĞERİN BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK FONKSİYONLARI

Karaciğer, insan sağığı ile mutlak ilişkili pek çok biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmada rol alır. Oniki major ve 70 parsiyel fonksiyon ile karaciğer insan metabolizmasında kritik bir öneme sahiptir (20).

Karaciğerin major fonksiyonları; karbonhidrat metabolizması, lipid ve lipoprotein metabolizması, amino asit ve protein metabolizması, bilirubin metabolizması, safra asitlerinin metabolizması, biyotransformasyon ve detoksifikasyon, asit-baz dengesi, alkol metabolizması, hormon metabolizması, porfirin metabolizması, eser elementlerin metabolizması ve vitamin metabolizmasıdır (20).

Karbonhidat metabolizması ile ilgili fonksiyonları glikojenin depo edilmesi ve glikojenoliz, glukoneogenez, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkımı, galaktoz ve fruktozun glukozla dönüştürülmesi, glukozun diğeri monosakkaritlere ve yağa dönüştürülmesidir. Lipidler üzerinde, yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, fosfolipid, lipoprotein, keton cisimleri ve kolesterol sentezi, safra asitlerinin ve tuzlarının oluşturulmasından sorumludur. Aminoasit metabolizması ile ilgili fonksiyonları, deaminasyon, transaminasyon, endojen aminoasitlerin ve plazma proteinlerinin sentezi ve oleik asit, kreatinin, porfirin ve safra asidi sentezidir. Bilirubin metabolizması ile ilgili fonksiyonları; bilirubinin oluşturulması, hücreye alınması, konjugasyonu ve atılmasıdır. Karaciğer, mikrozomal oksidazlar ve sitokrom p450 sistemi ile ilaç metabolizması ve biyotransformasyonun da en önemli merkezidir. Ayrıca steroid yapıdaki hormonlar karaciğerde metabolize edilir (20).

2.3 KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

İR hasarı, arteryal ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı uzamış iskemiye maruz kalan dokularda ve organlarda, kan akımının yeniden sağlanması ile meydana gelir. Doku ve hücre zararına yol açan kan akımının azalması ya da kesilmesi en çok oksijene hassas dokuları etkiler. Bu aerobik hücreler enerji kaynağı olarak mitokondrial oksidatif fosforilasyonu kullanırlar. Dolayısıyla aerobik metabolizmaya sahip tüm doku ve organlar İR hasarı için potansiyel hedeftir (2).

Kan akımının bozulduğu iskemik dönemde hücrede apoptozise kadar ilerleyebilen değişiklikler meydana gelir. Beyin, kalp, böbrek ve karaciğer başta olmak üzere pek çok doku ve organ bu hasarın hedefindedir. Hepatik İR hasarı, karaciğer nakli, büyük karaciğer rezeksiyonu, abdominal travma cerrahisi ve hemorajik şok gibi sık karşılaşılan klinik durumlarda, mortalite ve morbiditeyi etkileyen önemli bir komplikasyondur (1).

On dokuzuncu yüzyılda yaşamış olan ünlü cerrah Dr. James Hogarth Pringle, abdominal cerrahi sırasında ve karaciğer travması ile ilişkili kanamada hemostaz elde etmek için teknik geliştirmiştir. Hepatik arter ve portal veni klempe ederek kan akımını engelleyen bu teknik günümüzde de yaygın olarak kullanılmakta ve “Pringle manevrası” olarak bilinmektedir. Karaciğer cerrahisi sırasında, kanama kontrolü için acil ya da planlanmış cerrahi prosedür uygulanır ve portal triad klemplenir. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra klempin kaldırılması ile birlikte kan akımı tekrar sağlanır. Uzamış iskemi ve arkasından reperfüzyon ile karaciğerde İR hasarı meydana gelir (1,3).

Hepatobiliyer cerrahi alanındaki gelişmeler ile karaciğer nakli, büyük karaciğer rezeksiyonları, onarılmadığı taktirde ölüme neden olabilen masif hepatik kanamalara müdahale gibi karmaşık işlemleri gerçekleştirmek için cerrahlar bu yöntemi sıklıkla kullanırlar. Fakat İR hasarının önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olması kullanımını kısıtlar (1).

Karaciğer transplantasyonunda ise, donörden alınan karaciğer dokusunun saklanması aşamasında soğuk, alıcıya nakledilmesi sırasında ve sonrasında ise sıcak İR hasarı görülür (21).

Sadece intraoperatif kanama kontrolü için uygulanan pringle manevrası değil, sistemik kan basıncının düşmesi, hipoksi, konjestif kalp yetmezliği, sepsis, kanama, travma ve solunum yetmezliği de karaciğerde İR hasarına yol açabilir (22,23).

İskemi süresi, ameliyat sırasında karaciğerin oksijensiz ve besinsiz kalabilme süresi ile sınırlanır. Uzun süreli karaciğer iskemisi sonucunda oksidatif stres ve reperfüzyon hasarının inflamatuvar komponentleri meydana gelir. Bu komponentler hepatosellüler hasara neden olur. Yakın ve uzak organ disfonksiyonu, transplantasyon cerrahisi sonrası greftin fonksiyon azlığı ve ölümüne de neden olabilir. Karaciğerin metabolik fonksiyonları düşünülecek olursa, yaralanmanın klinik etkileri, mortalite ve morbiditesi tahmin edilebilir. Bu nedenle hepatik İR hasarının, hücresel ve moleküler yolları daha iyi anlaşılmalı çalışılmış ve bu yönde yoğunlaşmıştır (1).

Bu konuda yapılan bütün çalışmalar mekanizmayı anlamaya ve hasarı azaltabilmek veya önlemek için bir çözüm bulmaya yöneliktir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, karaciğer cerrahisi sırasında uygulanan iskeminin metodunun ve süresinin uzunluğunun, İR hasarının derecesi ile ilişkili olduğu görülmüştür. İskeminin kısa ve intermittant uygulanması, sürekli uygulamaya göre daha az karaciğer disfonksiyonuna neden olmaktadır. Bu durum özellikle kronik karaciğer hastalıklarındaki hasarı açıklamak ve önlem almak açısından önemlidir (24).

İR hasarına tolerans derecesi, karaciğer parankiminin önceki durumu ile de yakından ilişkilidir. Kronik hastalığı mevcut olan karaciğer, normal olanlara göre iskemi reperfüzyon hasarına daha duyarlıdır. İskemi reperfüzyon hasarına karaciğerin duyarlılığını belirleyen diğer faktörler ise yaş ve cinsiyettir. Yaşlı karaciğerler genç olanlara göre daha hassastır. Hayvan modellerinde erkek cinsin iskemiye daha hassas olduğu gösterilmiştir (25,26).

Karaciğer İR hasarının klinik önemi sadece hasarın ilerlemesi ile birlikte görülebilen karaciğer fonksiyon bozukluğu ve ilerleyici karaciğer yetmezliği değildir. Splanknik dolaşımın merkezinde olması, biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlarının hayati önemi nedeniyle, karaciğerde meydana gelen İR hasarı akciğer, kalp, böbrekler ve kan hücrelerinde uzak organ disfonksiyonuna neden olabilir. Karaciğer transplantasyonu sırasındaki İR hasarı, primer greftin fonksiyon görmemesine, primer greft disfonksiyonuna ve safra striktürlerine neden olabilir (27- 29).

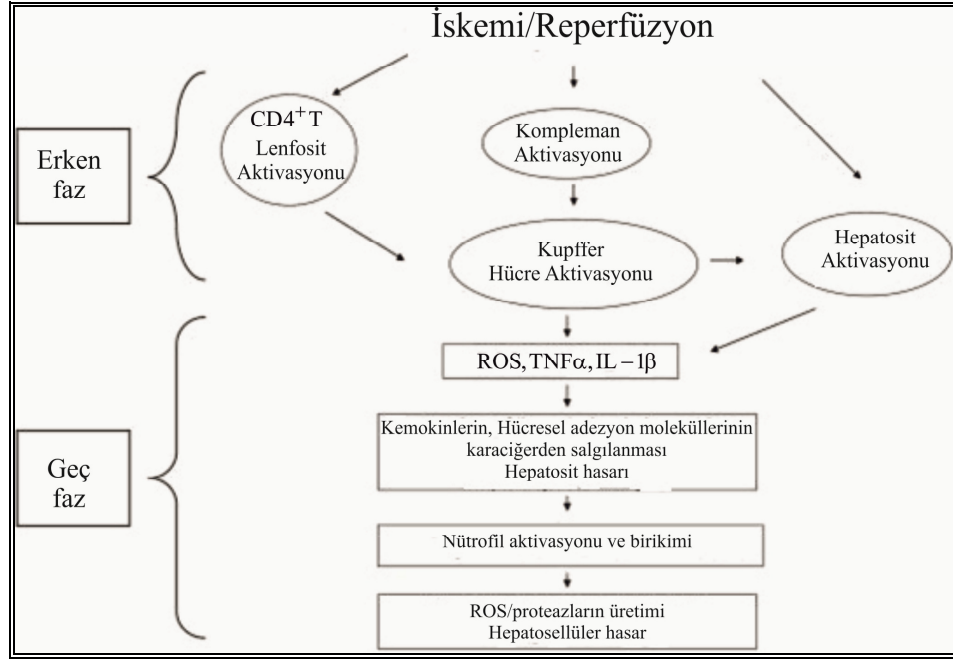
2.4. KARACİĞERDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI PATOFİZYOLOJİSİ

Karaciğer İR hasarı ile birlikte çeşitli hücre tiplerini ve moleküler mediatörlerini ilgilendiren kompleks inflamatuvar süreç başlar. İskemik dönemde, kan akımının kesilmesi ya da azalması ile birlikte oksidatif fosforilasyon azalır. ATP ve fosfokreatin gibi hücrenin bütün organellerinin enerji kaynağı olarak kullandığı yüksek enerjili fosfatların sentezi azalır, anaerobik metabolitler hücrede birikir. Hücre membranındaki ATP bağımlı Na^+/K^+ ve Ca^{+2} pompalarının çalışmamasına bağlı hücre içi serbest Ca^{+2} , K^+ , Na^+ artışı, fosfolipaz aktivasyonu, hücre membran hasarı, mitokondrial disfonksiyon ve iskemik sürecin uzamasıyla birlikte lizozomal enzim aktivasyonu ve sonuçta apoptozis ile birlikte hücre ölümü meydana gelir (1).

Karaciğerde iskemik hasardan sonra meydana gelen reperfüzyon hasarı akut ve subakut faz olmak üzere bifazik patern gösterir. Akut faz; reperfüzyon sonrası 3- 6 saatlerde serbest radikal oluşumu, T-lenfosit ve Kupffer hücre aktivasyonu, sinüzoidal konjesyon, hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon ile karakterize hepatoselüler hasar ile ilişkilidir. Subakut faz ise 18- 24. saatler arasındadır ve masif nötrofil infiltrasyonu sonrasında geniş nekrozla kendini gösteren geri dönüşümsüz hasar oluşur (30,31).

Bu nedenle tedavi edici girişimlerde, nötrofil aracılı inflamasyon, doku nekrozu, organ disfonksiyonunu önlemek amacıyla, iskemi reperfüzyon hasarının moleküler ve hücresel basamağında erken dönemler yani akut faz hedef alınmalıdır (31).

Hücresel hasar iskemik süreçte başlar, reperfüzyonla birlikte artarak devam eder, sonuçta nekroz ve apoptozis ile birlikte hücreyi ölüme götürür. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı inflamatuvar bir süreçtir ve buna aracılık eden hücresel mekanizmalar, moleküler mediatörler, reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri mevcuttur (3).



Şekil 4: Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisinin sistematik sunumu

2.4.1. Hücresel Mekanizmalar

İskemi aşamasında; Oksijen kaynağının kesilmesi ve glikojen tüketimi sonucu kupffer hücreleri, SEC ve hepatositlerde ATP üretim eksikliği meydana gelir. Bunun sonucunda ATP bağımlı Na^+ - K^+ plazma membran pompası çalışamaz ve hücre içi Na^+ birikimini hücrel ödem ve şişlik takip eder. Kupffer hücreleri ve SEC deki şişlik, endotelin ve tromboksan A2 gibi vazokonstriktörlerdeki artış ve nitrik oksit gibi vazodilatörlerde azalma ile birlikte. Bu değişiklikler sonucunda sinüzoidler daralır (32,33).

İskemi sonrasında, reperfüzyon ile birlikte daralmış olan sinüzoidlerde nötrofil ve trombosit agregasyonu artar ve kan akımı başlamasına rağmen mikrosirkülatuar kan akımı bozulur, hatta bazı alanlarda "no-reflow" meydana gelir, kan akışı olmaz (34).

Kupffer Hücreleri:

Kupffer hücreleri sinüzoidlerde dağınık olarak bulunan retikuloendotelial sisteme ait önemli bir hücre grubudur. Karaciğerde bulunan bu makrofajlar, İR ile birlikte hücrel hasarın başlatılmasında ve yayılmasında kilit rol oynayan hücrelerdir (35).

Kupffer hücreleri iskemik fazda ve daha çok da reperfüzyon sırasında aktive olurlar. Aktivasyonları ile birlikte, hasarda önemli rol oynayan çeşitli aracı moleküllerin sentez ve aktivasyonunu artırır. Reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri, tümör nekroz faktör-

α (TNF- α), interlökin- 1 β (IL- 1 β) ve interlökin- 6 (IL- 6) gibi proinflamatuvar sitokinler ve antiinflamatuvar (IL-10, IL-13) sitokinler bunlardan bazılarıdır (36).

Kupffer hücreleri, karaciğerde doğrudan veya uzak İR hasarını meydana getiren kompleman sistemini, CD₄ + T hücreleri tarafından interferon gama (IFN- γ) ve natural killer (NK) hücrelerinin üretimini aktive ederler (37).

Yapılan çalışmalar ile reperfüzyonun erken evrelerinde belirgin bir şekilde oluşan kupffer hücre aktivasyonu, morfolojik kanıtlar ile gösterilmiştir. Benzer şekilde karaciğerde reperfüzyon hasarının kupffer hücre aktivitesini baskılayan gadolinyum klorid ve karbonmonoksit ile azaldığı ve tersine kupffer hücre aktivitesini arttıran lateks partikülleri ile de arttığı bilinmektedir (38).

Kupffer hücreleri, hepatik transplantasyon sonrası yaşanan İR hasarında da önemli rol oynar. Soğuk iskemik süreçte bekler ve reperfüzyon ile birlikte aktive olurlar. Reperfüzyon gerçekleşikten sonra kupffer hücrelerinde progresif olarak meydana gelen patolojik değişiklikler iskemi-reperfüzyon hasarındaki büyük rolünü desteklemektedir (39).

Nötrofiller ve Sinüzoidal Endotelial Hücreler:

İskemik reperfüzyon hasarında önemli bir role sahip olan nötrofiller reperfüzyonun erken döneminde birikmeye başlarlar ve subakut dönemde önem kazanırlar (40).

Karaciğerde İR hasarı ile birlikte sinusoidlerde nötrofil birikimi başlar ve bunun sonucunda SEC de şişme, platelet adezyonu ve sinusoidlerde tıkanma meydana gelir. ROS nin salınması, NADPH oksidaz enzim aktivasyonu ve sitoplazmik veziküllerde bulunan bazı enzimlerinde ortama salgılanması ile birlikte hepatositlerde minimal hasardan ölüme kadar giden mekanizma ilerler (40).

Bu kaskadı başlatan nötrofillerin, SEC'e yapışması adezyon molekülleri aracılığı ile gerçekleşmektedir. Nötrofillerin yüzeyinde L-selektin ve β 2-integrinler (CD11b/CD18), SEC ve hepatositlerin yüzeyinde intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler adezyon molekülü -1 (VCAM-1) bulunur. L-Selektin, kan akımı kesildiğinde hücreyi ölüme götürebilecek nötrofiller üzerinde bulunan bir reseptördür, nötrofiller aktive olduğunda beta-integrin reseptörleri artar ve L-Selektinler membrana yayılır. Hepatositler, SEC ve nötrofillerin hücre yüzey adezyon moleküllerinin aktive olmasıyla birlikte hasar derinleşmeye başlar (40).

ICAM-1, endotelial hücreler üzerinde bulunan immünglobulin ailesinden bir moleküldür ve beta-integrinlerin önemli bir parçasıdır. Nötrofillerin yapıştığı bu molekül, nötrofil aracılı hasarın bir göstergesidir. ICAM-1 düzeyindeki artış TNF- α ve IL-1 gibi proinflatuar ve immunoreglatuar sitokinler tarafından sağlanmaktadır. Dolayısı ile İR hasarında karaciğerde TNF- α ve IL-1 ile birlikte ICAM-1 salınımında artış gözlenmesi beklenen bir sonuçtur (41).

ICAM-1'i hedef alan antikorlarla yapılan çalışmalarda sinüzoidal venüllere lökositlerin yapışmasının azaldığı ve hepatik hasarın düzeldiği gösterilmiştir. Yine L-Selektin ve ICAM-1 düzeyleri eksik ratlarda daha az İR hasarı olduğu gösterilmiştir. Tersine, anti ICAM-1 antikor verilen ratlarda ortotopik karaciğer transplantasyonunda ve yağlı karaciğerde İR hasarında azalma gözlenmiştir (41).

Ayrıca karaciğer transplantasyonunda, reperfüzyonun erken evrelerinde salınan ICAM-1'in düzeyi ile akut rejeksiyon arasında da bir ilişki olduğu bilinmektedir (42).

Plateletler:

Plateletler karaciğer rejenerasyonunda rol oynadıkları gibi İR hasarında da hepatik sinüzoidlere yapışarak transplante organda reperfüzyon sürecinde programlı endotelial hücre ölümünü gerçekleştirirler (43).

2.4.2. Humoral Mekanizmalar

Karaciğer İR hasarında etkili humoral faktörler iki ana gruptan oluşur. Bunlar; Komplemanlar ve Sitokinlerdir.

Komplemanlar:

Kompleman sistemi, membrana bağlı ve çözünür durumda bulunan proteinlerden oluşur. Kompleman sisteminin üç farklı yolla aktive olduğu bilinmektedir. Bunlar; klasik, alternatif ve mannoz-bağlayıcı lektin yollarıdır. Her 3 yol da karaciğerde İR hasarında aktive olur (44).

İskemi reperfüzyon hasarıyla birlikte kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflatuar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anafatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF- α , IL- 1 ve IL-6 üretimini uyarak inflamatuvar yanıtı aktive eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit

adhezyon molekülleri; VCAM-1, ICAM-1, E-selektin ve P-selektindir. C5b-9 ise endotelde IL-1, IL-8 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı (cGMP) azaltarak vasküler tonusu bozar (45).

Dolayısıyla komplemanlar; karaciğerde iskemi reperfüzyonla birlikte, plazma membranında “membran atak kompleks” oluşumunu artırarak, kemotaktik ajanların ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyararak ya da nötrofil ve kupffer hücre aktivasyonu ile hasar meydana getirirler (31,34).

Sitokinler:

Sitokinler, insan vücudunda değişik hücreler tarafından sentezlenen, multi fonksiyonel polipeptidlerdir. Hastalıkların fizyopatolojisinde etkili ve terapötik potansiyele sahip olan bir protein grubudur. İmmün sistem hücreleri arasındaki ilişkileri kontrol ederek, inflamatuvar cevapları destekleyerek ve hematopoez olayını düzenleyerek birçok fizyolojik cevapta önemli rol oynarlar (46).

Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır (47).

Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır (47):

1) Doğal immünite mediatörleri olan sitokinler;

- a) Tip 1 interferonlar
- b) TNF (Tümör nekroz faktör)
- c) İnterlökin-1 (IL-1)
- d) İnterlökin-6 (IL-6)
- e) Kemokinler

2) Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;

- a) İnterlökin-2 (IL-2)
- b) İnterlökin-4 (IL-4)
- c) Transforming Growth faktör (TGF)

3) İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;

- a) İnterferon-gama (IFN- γ)
- b) Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü)
- c) İnterlökin-12 (IL-12)
- d) İnterlökin-10 (IL-10)

Sitokinler İR hasarında inflamatuvar yanıtın başlatılması ve sürdürülmesinde önemli role sahiptirler. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında sitokinler proinflamatuvar ya da antiinflamatuvar rol oynarlar (46).

Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α):

İnflamasyon ve apoptozisde rol oynayan TNF- α , makrofaj/monosit, nötrofil, aktive T hücreleri, NK (Natural killer), endotel hücreleri ve mast hücreleri tarafından üretilmektedir. TNF- α kan akımını ve vasküler endotel hücrelerinin adhezyon molekül ekspresyonunu arttırarak nötrofil ve monositlerin inflamasyon sahasına göçünü ve makrofajların kemokin salgılamasını sağlar. Hipotalamus üzerindeki etkisiyle ateş, karaciğerden akut faz proteinlerinin yapımında artış, kas ve yağ dokusunda katabolik aktivite artışına yol açar. Yüksek konsantrasyonda kanda trombozise yol açar, miyokard kontraktilitesini azaltır, vasodilatasyona neden olur ve kan basıncını düşürür (48).

TNF- α , hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerine bağlanması ile hücre içinde yer alan çok sayıda sinyal ileti mekanizmasını tetikler ve sonuçta apoptoz, nekroz, anjiyogenez, immün hücre aktivasyonu, diferansiyasyonu ve hücre migrasyonunu uyarır (49).

Farklı hücre tiplerinden inflamatuvar ve immunmodulator uyarıya yanıt olarak salınan TNF- α , karaciğer İR hasarında da proinflamatuvar sitokinlerin santral komponentidir. Kupffer hücreleri tarafından üretilir, parakrin ve endokrin etkileri mevcuttur. Ayrıca karaciğer İR hasarı ile ilişkili uzak organ hasarından sorumludur (46).

TNF- α nın düzeyinin artışı karaciğer hasarını birlikte getirir. Endojen proinflamatuvar ve antiinflamatuvar moleküller TNF- α salınımını artırır ya da azaltırlar. IL- 10, IL-6, NO TNF- α salınımını azaltırken, PAF ve ROS ise artırır. Üretimi artan TNF- α , epitelyal nötrofil aktive protein 78 (ENA 78) olarak adlandırılan ve nötrofil kemotaksisi ile aktivasyonunda önemli rol oynayan kemokini ve kupffer hücrelerinin ROS üretimini

uyarır, ICAM-1, VCAM-1 ve P-selektin gibi adezyon moleküllerini aktive eder (50,51).

İnterlökin- 1, İnterlökin- 6 ve İnterlökin- 10:

IL-1, hemen hemen tüm doku ve organ sistemlerinde etkili olan polipeptid yapıda bir sitokindir. IL-1 endojen pirojen, lökositik endojen medyatör, lenfosit aktive edici faktör, katabolin, mononükleer aktive edici faktör, hemopoietin-1, osteoklast aktivatör faktörü gibi çeşitli isimler ile anılmaktadır (52).

Temel olarak monositler, makrofajlar, trombositler ve hasarlanmış endotel tarafından salınır. IL-1 akut ve kronik inflamasyonu indükleyen pro-inflamatuar sitokinlerin prototipi olup “prototipik alarm sitokini” olarak da adlandırılır. İmmünolojik ve hematolojik yanıtlarda ve çeşitli savunma mekanizmalarında görev alır (53).

IL- 1, kupffer kaynaklı bir sitokindir. Karaciğerde meydana gelen İR hasarındaki etkisi kanıtlanmıştır. Hepatik İR hasarında ROS üretimini, nötrofil göçü ve adezyonunu artırır. IL- 1, ROS üretiminin başlatıcısı olarak bilinir ki; IL- 1 reseptör antagonistleri, TNF- α düzeyini düşürür ve hepatik İR hasarını azaltır (54,55).

IL-6, geniş biyolojik faaliyetlere sahip pleiotropik bir sitokindir. Lenfoid ve non-lenfoid hücreler tarafından üretilir ve akut faz reaksiyonları, inflamasyon, onkogenezis ve hematopoezisde rol alır. IL-6, IL-1 gibi adrenokortikotropik hormon sentezini uyarır ve nöronal büyüme sentezini indükler. Aynı zamanda hematopoetik hücrelerin ve embriyonik kök hücrelerin gelişimini düzenler. IL- 6 eksik ratlarda lökositlerin inflamasyon alanına göçlerinin engellendiği ve kronik mononükleer hücre infiltrasyonunun yeterli olmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, oksidatif stres göstergelerini azaltır, hepatik iskemi reperfüzyon hasarını azaltır, hepatoprotektiftir (50,56,57).

IL- 10, başlangıçta ki adı "sitokin sentezi inhibitör faktör" olan protein günümüzde IL-10 olarak isimlendirilmiştir. En önemli kaynakları T helper hücreler, monositler ve makrofajlardır. Ayrıca, dendritik hücreler, B hücreleri, sitotoksik T hücreleri, NK hücreleri, mast hücrelerinin yanı sıra nötrofilik ve eozinofilik granüositler de IL-10 sentez ederler. Kupffer hücreleri ve T lenfosit kaynaklı bir sitokindir. INF- γ , IL- 1 β düzeyini azaltır, sitokin ilişkili nötrofil göçünü ve birikimini engeller ve antiinflamatuvar etki gösterir (58,59).

IL-10'un inhibitör etkilerinin asıl hedef hücreleri monosit / makrofajlardır. IL-10, monosit/ makrofajların üç önemli fonksiyonunu etkiler. Bunlar; immün mediatörlerin salınımı, antijen sunumu ve fagositozudur (60,61).

Aslında, IL-10, monosit / makrofajlardan proinflamatuvar mediatörlerin salınımını ve lipopolisakkarit ve IFN- γ tarafından indüklenen TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, G-CSF ve GM-CSF salgılanmasını inhibe eder. Buna ek olarak, anti-inflamatuvar salınımını artırır (60)

Karaciğerde, bütün bu etkileri sonucunda İR hasarını azaltırlar, hepatosit proliferasyonunu düzenlerler (58).

Tablo 1. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında rol alan önemli sitokinler

Sitokinler	Kaynak Hücresi	Mediatör Etkileri	Karaciğere Etkileri
IL- 1β	Kupffer hücreleri	Hepatosit NO, iNOS üretimini $\uparrow$ ROS üretimini $\uparrow$ Lökosit adezyon ve aktivasyonunu $\uparrow$	Hepatik İR hasarını $\uparrow$
IL-6	Kupffer hücreleri	GSH üretimini $\uparrow$ Oksidatif stres göstergelerini $\downarrow$	Hepatik İR hasarını $\downarrow$ Pro-proliferatif etkilidir.
IL-10	Kupffer hücreleri T lenfositler	IL-1 β $\downarrow$ Sitokin ilişkili nötrofil göçünü $\downarrow$ Nötrofil birikimini $\downarrow$	Hepatik İR hasarını $\downarrow$ Pro- proliferatif etkilidir.

2.4.3. Serbest Oksijen ve Nitrojen radikalleri

Atom, proton ve nötronlardan oluşan çekirdek ve çekirdeğin etrafında dönen elektronlardan oluşur. Elektronlar enerji seviyelerine göre orbitallere yerleşmişlerdir. Her bir orbitalde spinleri zıt yönde iki elektron bulunmalıdır. Serbest radikaller, bir ya

da daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü veya yüksüz olabilirler, yarı ömürleri oldukça kısadır. Bu tür maddeler ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek (redükte veya okside ederek) yeni radikal oluşumuna yol açabilirler ve böylelikle zincir reaksiyonunu başlatırlar (62).

İskemi reperfüzyonla ilişkili karaciğer hasarının mekanizmasında kısmen ROS ve RNS rol alır. ROS ve RNS nin üretiminin ve salınımının artmasıyla birlikte endojen antioksidanların tükenmesi apoptotik ve nekrotik hücre ölümünü hızlandırır (63).

Serbest oksijen radikalleri

Hücrel yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal tepkimelerin denge içinde yürütmesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan endojen ve/veya eksojen kaynaklı faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif stress farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde araştırma yapmaya yöneltmektedir (62).

Oksijen, aerobik yaşam için hayati öneme sahiptir. Bununla birlikte inhale edilen O_2 'in yaklaşık %1-3'ü veya daha fazlası, kimyasal bağda meydana gelen bir değişiklik ile $O_2^{\cdot-}$ gibi, H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ ROS'e dönüştürülür. Bu nedenle aerobik koşullarda hücreler her zaman ROS'in tehditi altındadır. Ancak hücrenin sahip olduğu son derece güçlü antioksidan sistemleri, herhangi bir istenmeyen etkisi başlamadan ROS' ni tehlikesiz ürünlere dönüştürür (64).

ROS üretiminin artışı veya antioksidan savunma sistemlerinin fonksiyon azlığı ile birlikte bu hassas denge bozulur , “oksidatif stres” meydana gelir. Sellüler fonksiyonlar bozulur, membran lipoproteinlerinin ve DNA'nın oksidasyonu ile birlikte hücre ölümüne kadar giden reaksiyonlar ilerler. Kardiyovasküler disfonksiyon, nörodejeneratif hastalıklar, gastroduodenal patolojiler, vital organların metabolik disfonksiyonları, kanser ve erken yaşlanma gibi ciddi patolojik durumlara neden olur (62).

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır: (64)

1. $O_2^{\cdot-}$ (Süperoksit) Radikali
2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)
3. $OH^{\cdot}$ (Hidroksil Radikali)
4. Singlet Oksijen ($O_2 \uparrow\downarrow$)

Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit, H_2O_2 kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Bazı biyolojik moleküller aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olmaktadır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve bulundukları ortama verilmektedir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (64).

Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (64).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasındandır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile ya da bakır ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir. Bu tepkimeye Fenton reaksiyonu denir ve sonuçta $OH^{\cdot}$ radikali oluşur (65).

Hidroksil Radikali (OH⁻)

Çok reaktif bir ajandır. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (62).

Singlet Oksijen (O₂^{↑↓})

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (62).

Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (62).

Serbest Nitrojen Radikalleri

Serbest nitrojen radikallerinden organizma için en önemlileri nitrik oksit (NO) ve peroksinitritdir (ONOO⁻). Nitrik oksit (NO) karaciğerde önemli sinyal molekül işlevi gören pluripotent gaz formunda bir serbest radikaldır. Bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda çözünür. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir birçok dokuda fizyolojik süreçlerin kontrolünde yer alan önemli bir sinyal molekülüdür. Nörotransmisyon, immün direnç, apoptozis kontrolü gibi birçok süreçte rol alır. Biyolojik etkilerini hem grupları, sülfidril grupları, demir ve çinko gibi hedef moleküllerde gösterir. NO endotel hücresi, sinir hücresi, makrofaj, trombosit, düz kas hücresi ve birçok hücrede L-Argininden nitrik oksit sentetazlar (NOS) olarak adlandırılan bir dizi enzim tarafından sentezlenir (66).

Karaciğerde Nitrik Oksit Sentazın (NOS) 3 izoformu bulunmaktadır. Bunların içinde uyarılabilen inflamatuvar NOS (iNOS, NOS-2) ve endotelial yapısal NOS (eNOS, NOS-3) en önemli olanlarıdır. iNOS, genellikle inflamatuvar mediatörlere yanıt olarak, hepatositler ve Kupffer hücreleri ve NL'ler gibi inflamatuvar hücrelerden eksprese edilir. eNOS, SEH içinde eksprese edilir, aktivitesi intrasellüler kalsiyum seviyelerine bağlıdır (67).

Peroksinitrit (ONOO^-) ise nitrik oksit ve superoksit anyonunun tepkimesi sonucu meydana gelir. NO'nin toksik etkileri peroksinitrit üretimi ile bağlantılıdır. Peroksinitrit birden fazla yolla hücre hasarına neden olabilir. Bunlar; hücrede lipid peroksidasyonunun başlaması, doğrudan mitokondriyal solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu ve membran Na / K ATPaz aktivitesi inhibisyonudur (68,69)

Reperfüzyonun erken safhalarında endotelin, hem plazma hem de karaciğer parankiminde artar. Bu karaciğere olan kan akımının azalması ile orantılıdır. Mikrodolaşımdaki bozukluğa oldukça güçlü bir vazokonstriktör olması nedeniyle de katkıda bulunur. Bunun yanı sıra reperfüzyondaki ilk birkaç saat NO miktarı düşüktür. Bunun nedeni iskeminin ardından hücre içi NADPH ve O_2 (ki bunlar NO sentez kofaktörleridir) düzeylerinin düşük olmasıdır. Bu sırada bol miktarda, L-arginin'i yıkan enzim olan arginaz salgınır. L-arginin, NO biyosentezinin aminoasit substratıdır (70).

Hepatik reperfüzyondan hemen sonra, greftten yüksek miktarda arginaz salgınır. Yeterli NOS uyarımı 4–6 saati bulur. Daha sonraki dönemlerde artmış endojen NO üretimi, koruyucu role sahip olmaktadır. İskemi reperfüzyon modeli uygulanan ratlara dışarıdan L-Arginin verilmesi İR hasarını azaltmış, L-NAME (NOS'un spesifik olmayan inhibitörü) verilmesi ise hücresel hasarı ve mikrodolaşımın bozulmasını şiddetlendirmiştir (70).

Serbest Radikaller ve İskemi reperfüzyon hasarı

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A2'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır.

Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (65).

Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca^{+2} girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu ise atelektazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açabilmektedir (65).

Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkilemektedirler. Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve aminoasitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır (65).

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler. Serbest radikaller, polipeptit zincirlerinde fragmentasyona yol açabilirler. Bu şekilde oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler. Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olabilmektedir. Radikaller, enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına da neden olabilmektedirler (63).

DNA üzerine etkileri; nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine sebep olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksosite ile sonuçlanır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir. Oksijen radikalleri, oksidatif yarılma ile de DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinler (timin) en hassas yapılardır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede

mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir (63).

İskemi reperfüzyon hasarında, reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri, proinflatuar gen ekspresyonu yaparak, TNF- α , IL-1, IL-8 ve sellüler adezyon moleküllerinin sentez ve salınımını artırır. Protein, lipid ve DNA hasarının yanında, direk etkisi ile apoptotik ve nekrotik hücre ölümüne neden olabilirler (63,71).

Antioksidanlar ve etki mekanizmaları

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu, reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerini inhibe ederek lipid peroksidasyonunu önlerler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar, naturel ya da sentetik, enzimatik yada nonenzimatik, hidrofilik yada lipofilik olarak yada mekanizmalarına göre ve aktivasyon gösterdikleri hücre bölgesine göre sınıflandırılabilirler (72).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar serbest radikallere karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (72).

Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (72).

Enzimatik Antioksidanlar:

Süperoksit Dismutaz (SOD):

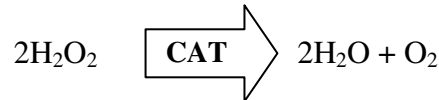


SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren, intrasellüler bir metalloenzimdir. Memeli hücrelerinde SOD'ın bakır-çinko ve manganer içeren iki formu vardır. Enzimin Cu-Zn içeren formu mitokondri iç membranı ve sitozolde, Mn içeren formu ise mitokondriyal matrikste bulunur (73).

SOD, “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılan tepkimeyi oluşturur. Çünkü, süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Fakat son ürünü olan H_2O_2 fenton reaksiyonu ile OH radikaline dönüşebilir. Bu nedenle SOD dan sonra tepkime katalaz yada glutatyon redüktaz ile devam etmelidir (72).

Hepatik iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi yanında, lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda da koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (74).

Katalaz (CAT):



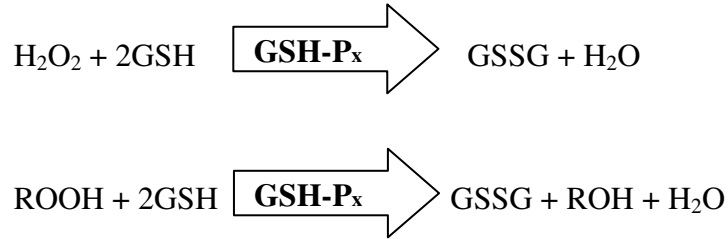
Katalaz peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayrıştırmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Özellikle karaciğerde olmak üzere, kan, kemik iliği, böbrek ve muköz membranlarda da yüksek

miktarda bulunmaktadır. Hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştüren tepkimeyi katalizler (72).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px):

Glutasyon, biyolojik olarak iki önemli yapıyı (tiyol grubu ve γ -glutamin bağı) bulundurur. Yapısındaki sisteinin tiyol grubundan ve yüksek konsantrasyonundan dolayı hücre içinde önemli bir antioksidan olan glutasyonun %99'dan fazlası indirgenmiş formda bulunur (75).

GSH-Px, pek çok hücrede sitozollerde bulunan tetramerik yapıda bir enzimdir. Enzim aktivitesinin %60-75'i hücrelerin sitoplazmasında, %25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesi eritrositler ve hepatositlerde çok yüksektir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır (62).



Tepkime sonucunda oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktazın (GSSG-R) etkisi ile tekrar glutasyona dönüştürülür. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (62).

Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (75).

Total Antioksidan Seviyesi (TAS):

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile m¼cadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. V¼cudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks dengesini s¼rd¼rebilmesinde kan dolaşımı ¼ok ¼onemlidir. ¼¼nk¼ antioksidanların v¼cudun t¼m b¼l¼mlerine taşınmasını ve dağıtımını ger¼ekleřtirmektedir (76).

Total antioksidan kapasiteye en b¼y¼k katkı plazmadaki antioksidan molek¼llerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ¼rik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır (77).

Albumin, ¼rik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ¼rik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır (76,77).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim i¼inde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak ¼alıřmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme ¼rnek glutatyonun askorbatı, askorbatında tokoferol¼n yeniden aktifleşmesini sağlaması g¼sterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Total antioksidan kapasitenin ¼l¼¼m¼, antioksidanların tek tek ¼l¼¼m¼nden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu y¼zden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan ¼ok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ¼l¼¼m¼ yaygınlaşmaktadır (76,77).

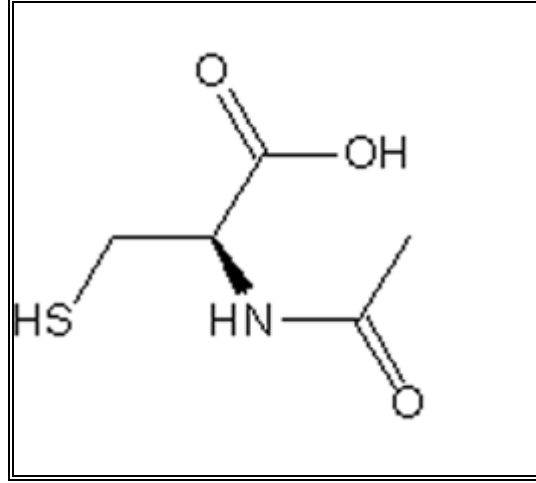
Total Oksidan Seviye (TOS)

Bilinen pek ¼ok metodla serum ya da plazmadaki oksidan molek¼llerin konsantrasyonları ayrı ayrı ¼l¼¼lebilmektedir. Oksidan stresin arttığı durumlarda artan bu molek¼llerin oksidan etkileri birbiri ¼zerine eklenebilir. Ayrıca tek tek ¼l¼¼m¼den ziyade total ¼l¼¼m¼n daha pratik olacağı d¼ř¼n¼lerek t¼m oksidanların durumunu yansıtabilecek bir y¼ntem geliştirilmiştir. Bu metodla in vitro TOS ¼l¼¼m¼ yapılabilmektedir (78).

2.5. ÇALIŞMAMIZDA KULLANDIĞIMIZ İLAÇLAR

2.5.1. N-asetil sistein

N-Asetilsistein (NAC), tiol molekülü mukolitik bir ajan olup, esansiyel bir aminoasit olan L-sisteinin N-asetillenmiş türevidir. Glutatyon (GSH) ve L-sisteinin prokürsörüdür (79).



Şekil 5: NACin kimyasal yapısı

Moleküler yapısı nedeniyle hücre içine hızla giren NAC, absorpsiyonundan sonra yine hızla metabolize olur ve intrasellüler GSH sentezinin doğrudan öncüsü olan sistein meydana gelir. Bu şekilde oksidatif stres ve inflamasyon ile tüketilmiş intrasellüler GSH havuzunu restore ederek bir antioksidan işlevi görür (80). Diğer taraftan hücrelerde ve hücre dışı ortamda sülfidril kaynağıdır. Bu sayede nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesini ve dolayısıyla nitrik oksit düzeyini artırır. OH⁻, H₂O₂ ve O₂⁻ gibi reaktif oksijen radikallerinin direkt eliminasyonu ile de antioksidan etki gösterir (81).

NAC, antioksidan özelliği ve SH grubu içermesi sonucu Nükleer Faktör-kB (NF-kB) gibi çeşitli proinflamatuvar genlerin ve p38, ERK1 / 2, SAPK / JNK, c-Jun ve c- Fos gibi çeşitli inflamatuvar yolların hücre lehine düzenlenmesini sağlar, TNF-α ve IL-8'in salınımını, bu sitokinlerin gen ekspresyonunun transkripsiyonel safhasına müdahale ederek azaltır, oksidatif hücre hasarını ve inflamasyonu önler (82-84).

N-asetilsistein (NAC) asetaminofen zehirlenmelerinde yaygın kullanılan bir antidotdur. Antioksidan olan NAC, asetaminofen intoksikasyonu dışında meydana gelen karaciğer hasarlarında da etkilidir. SiklosporinA, Paraquat, kadmiyum ve sisplatin gibi ajanların karaciğer de dahil pek çok dokuda sitotoksik etkilerini önler (85-88).

Karaciğer transplantasyonunda reperfüzyon ile gelişen oksidan hasar da N-asetil sistein ile anlamlı derecede azaltılabilmektedir. Mevcut bilinen etkinlikleriyle N-asetil sistein, karaciğerde transplantasyon hasarı, alkolizm, metal toksisitesi ve fibrozda oksidatif strese karşı tedavi edici rol oynayabilir (4). Karaciğer transplantasyonunda görülen oksidatif stres ve reperfüzyona bağlı hasar NAC tedavisi ile önemli biçimde azalmıştır (89).

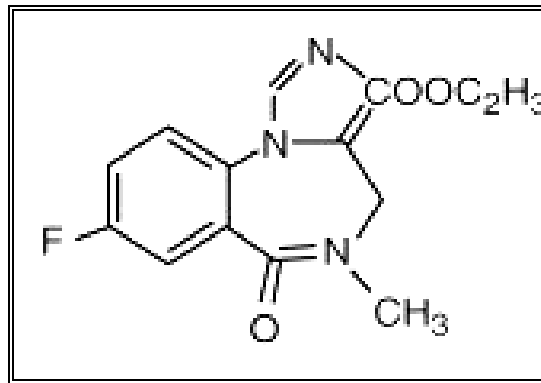
Karaciğer transplantasyonunun soğuk evresinde NAC tedavisi hepatosit apoptozunu, yeniden ısınma öncesinde, önemli biçimde azaltır. Bu da transplantasyon başarısını olumlu yönde etkiler (90).

Hepatit C virusu ve Hepatit B virusu karaciğerde oksidatif stres oluşturur ve NF-kB ve STAT3 transkripsiyon faktörlerini aktive eder. NAC ise bu faktörleri elimine edebilir (91,92).

NAC, sepsiste femoral, renal ve mezenterik alanda kan akımını düzeltir, vücut oksijen ekstraksiyon yeteneğini geliştirir, karaciğer kan akımını ve fonksiyonlarını düzeltir (93). TNF- α üretimini ve kan laktat düzeyini azaltır (94). Septik şoklu hastalarda NAC, kardiyak indeksi düzelterek hepatosplanik kan akımını artırır, IL- 8 düzeyini azaltır ve yoğun bakım kalış sürelerini kısaltır (95).

NAC'in antioksidan etki mekanizmalarından bir diğeri, doku ve organlarda yaygın olarak bulunan endotel hücreleri üzerine anti-apoptotik etki göstermesidir. Ayrıca, TNF- α ve trombin ile ilişkili hepatosit ölümünü de azaltır (96,97).

2.5.2. Flumazenil



Şekil 6: Flumazenilin kimyasal yapısı

Flumazenil (Anexate, Romazicon), klinik kullanım için onaylanmış ilk benzodiazepin antagonistidir. 1979 yılında sentezlenmiştir, midazolam ve diğer klasik benzodiazepinlerden moleköl yapısı olarak tek farkı fenil grubunun yokluğu ve yerine karbonil grubunun gelmiş olmasıdır. pH 7.4 'de orta lipid çözünürlük gösterir. Flumazenil ile yapılan klinik öncesi farmakolojik çalışmalarda benzodiazepin reseptör ligandlarına yüksek afinite, büyük özgülük ile bağlanabildiği saptanmıştır. Flumazenil, benzodiazepin reseptörlerine, agonistlere benzer bir şekilde ve konsantrasyona bağımlı olarak bağlanır. Parsiyel agonist etkili bir antagonisttir. Flumazenil minimal intrinsik aktiviteye sahiptir yani benzodiazepin reseptör agonist etkileride vardır fakat çok zayıftır. Doza bağımlı olarak merkezi sinir sistemi depresyonu (bilinç kaybı, solunum depresyonu), uyku hali ve unutkanlık yapabilir (98).

Diğer benzodiazepinler gibi karaciğerde metabolize olur; hızla plazmadan temizlenir. Bilinen metabolitleri, N-desmetilflumazenil, N-desmetilflumazenil asit ve flumazenil asittir. Metabolitleri idrarla atılır (98).

Benzodiazepin reseptörleri santral ve periferik olmak üzere ikiye ayrılır.

Santral benzodiazepin reseptörleri, santral sinir sisteminde GABA-A reseptörlerinin alfa subünitine bağlıdır. Benzodiazepin agonistlerinin anksiyolitik, antikonvulsan, antispazmodik, sedatif-hipnotik özellikleri vardır ve bu özellikler çoğunlukla santral benzodiazepin reseptörleri ile ilişkilidir (99).

Periferik benzodiazepin reseptörleri (PBR) farmakolojik, anatomik, striktürel ve fizyolojik olarak santral benzodiazepin reseptörlerinden ayrılır (99). PBR içeren dokular; pineal bez, adrenal bezler, tükürük bezleri gibi glandular ve sekretuar dokular, böbrekler, myokard dokusu, beyin ve karaciğerdir. PBR çoğunlukla mitokondri dış membranında bulunur, bunun dışında bazı hücrelerin plazma membranında, bazı kanser hücrelerinin çevresinde tespit edilmiştir(O'Beirneet al., 1990 Hardwick et al., 1999) PBR, hücrede kritik roller oynar. Bunlardan bazıları, immunomodulasyon, stereroid üretimi ve apoptozdur (99,100).

Sedasyon ve genel anestezide kullanılan benzodiazepinlerin etkilerinin geri döndürülmesinde, yüksek dozda benzodiazepin kullanıldığında antagonist olarak kullanılan Flumazenil, IV uygulamayı takiben 1- 5 dakika içinde etki gösterir. Bununla birlikte eliminasyon yarı ömrü 1 saat civarındadır. Benzodiazepin aşırı dozuyla komaya girmiş olgularda 10 mg IV dozunun 1- 2 dakika içinde etki gösterdiği saptanmıştır. Kısa

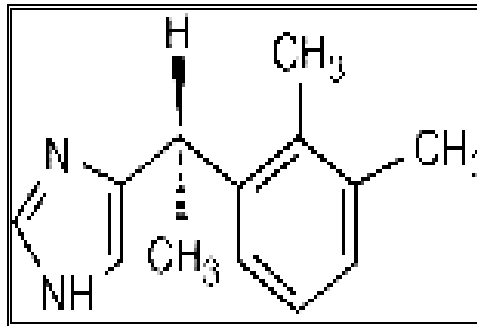
etki sürelidir; etkisi 3- 5 saat sürer. Benzodiazepin zehirlenmelerinde tekrarlayan dozlarda verilmesi gerekebilir (98).

Flumazenil, akut ve kronik karaciğer disfonksiyonu ile ilişkili, beyin fonksiyonlarındaki bozukluk olan hepatik ensefalopatide etkindir. Hepatik ensefalopatide oksidatif stresin rolü yadsınamaz. Hayvan çalışmaları, amonyum asetatı maruz kalan ratlarda, beyin ve karaciğerde glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimlerinin aktivitelerinin önemli biçimde azaldığı görülmüştür. Amonyuma maruz kalan ratlarda submitokondrial partiküllerde süperoksit düzeyleri yüksek bulunmuştur. Lipid peroksidasyonundaki artışta gösterilmesi ile hiperamonyeminin oksidatif hasara yol açtığı gösterilmiştir (101,102).

Flumazenil, K_{ATP} kanalları üzerinden oksidatif hasara karşı etkilidir. Literatürde, nöronal ve kardiyak iskemi reperfüzyon hasarına karşı bu yolla olan etkisi gösterilmiştir ve karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında K_{ATP} kanallarının önemi bilinmektedir (103-105). Fakat Flumazenilin karaciğer üzerindeki muhtemel iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkisi literatürde henüz mevcut değildir.

2.5.3. Deksmetomidin

Deksmetomidin (4-[1-(2,3-dimethyl phenyl) ethyl]-3Himidazole), medetomidin'in D-enantiomeri olan yüksek selektif, spesifik ve güçlü bir α -2 adrenoreseptör agonistidir. α 2 adrenoreseptör agonistlerin prototipi olan klonidin, anestezi ve analjezik ilaçların gereksinimini azaltır. Ancak α -2 adrenoreseptörlere karşı orta derecede selektif ve parsiyel agonist olması, yarılanma ömrünün uzun olması ikinci kuşak agonistlerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur (106).



Şekil 7: Dexmedetomidinin kimyasal yapısı.

Dexmedetomidin vücutta hızlı bir şekilde dağılıma uğrar, karaciğerde konjugasyon (% 41), n-metilasyon (% 21) veya konjugasyonu takip eden hidroksilasyon ile metabolize

olur. İdrar ve feçes ile atılır. Deksmetomidin % 94 oranında proteine bağlanır, kan ve plazma arasındaki konsantrasyon oranı 0.66dır. Dağılım yarı ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık 6 dk, eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) ortalama 2 saat ve kararlı durum dağılım hacmi ortalama 118 litredir. Klirensinin tahmini değeri yaklaşık 39 L/saat' tir (106).

Alfa-2 adreno reseptörler membrana G proteinleri aracılığı ile bağlanırlar. Hücre içinde adenilat siklaz enziminin inhibisyonu ve iyon kanallarında meydana getirdikleri değişiklikler üzerinden etki gösterirler. İnsan vücudunda α_2 adreno reseptörlerin üç subtipi bulunur. Bunlar; α_2A , α_2B , α_2C dir. α_2A adreno reseptörler genellikle periferik dokularda, α_2B ve α_2C ise beyin ve omurilikte bulunurlar (106).

Deksmetomidin, terapötik dozlarda, respiratuar sisteme önemli bir depresif etki yapmadan, anksiyolitik, hipnotik, sedatif, analjezik ve anesteziye destek özellikleri olan bir ajandır. İntraoperatif ve yoğun bakım ünitesinde anestezi ve sedatif amaçla kullanılır. Dexmedetomidin ile sedasyon elektroensefalogram ve serebral kan akım paternine göre doğal uyku ile büyük benzerlik taşır (107-109).

Dexmedetomidin, sempatik ganglionlardaki α_2 agonistik etkisi ve buna bağlı sempatolitik etkileri sonucu doza bağımlı olarak kan basıncını azaltır (110).

Alfa- 2 adreno reseptörlerinin uyarılmasının bazı hayvan ve insan çalışmalarında antiinflamatuvar etki gösterdiği bulunmuştur (111,112). Periferik α_2 adreno reseptör agonistleri immunitiyi uyarabilir (113,114). Merkezi sempatolitik ve kısmi parasempatik etkileri inflamasyonun kontrolünü artırabilir (115).

Sedatiflerin immun sistem üzerine olan etkilerinin bilinmesi, bağışıklık sisteminin terapötik manüplasyonuna olanak sağlar. Otonom sinir sisteminin stimülasyonu, immun yanıtı baskılar; eldeki veriler sempatik sinir sisteminin aktivasyonunun immun disfonksiyon ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Dexmedetomidin gibi sempatolitik bir sedasyon ajanı ile sempatik sinir sistemi suprese edilir, immun sistem desteklenir (116).

Dexmedetomidin, sempatik uyarıyı azaltır ve N-metil-d-aspartat (NMDA) reseptörleri ile ilişkili iyon kanallarını inhibe ederek nekrotik hücre ölümünü azaltır, antiapoptotik proteinler olan bcl-2 ve Mdm-2 konsantrasyonlarını artırır. Aynı zamanda makrofaj ve monositler tarafından üretilen sitokinlerin yol açtığı endotokseminde oluşan inflamatuvar yanıtı baskılayıcı özellik gösterirler (113,117).

Alfa- 2 adrenoseptör uyarısı inflamasyonun kendisi ile birleştğinde antiinflamatuvar etki daha artar. Ratlarda yapılan kapsamlı çalışmalarda, α - 2 adrenoseptör agonisti olan dexmedetomidinin, güçlü antiinflamatuvar etkisi ile TNF- α ve IL-6 seviyesini düşürdüğü ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Nitekim dexmedetomidin ve midazolam, dexmedetomidin ve propofol kombinasyonları kullanılan yoğunbakım hastalarında inflamatuvar sitokin düzeylerinde azalma görülmüştür (5,111,112,118).

Dexmedetomidinin invivo ve invitro çalışmalarda serebral iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir. Nöroprotektif etkisini, α -2A reseptörlerinin aktivasyonu yolu ile göstermektedir. Çalışmalar dexmedetomidinin nöroprotektif etkisinin proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki dengenin modülasyonu veya iskemik hasara karşı önleyici etkileri ile olabileceğini göstermektedir. α -2A adrenoseptörlerin stimülasyonu ile plazma katekolamin düzeylerini azaltır, vasodilatasyon ve nöral koruma meydana getirirler, travmatik beyin hasarında intrakranial basınç ve serebral kan akımı üzerine olumlu etkileri vardır (118- 122).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulunun 08.12.2010 tarihli ve 10/98 sayılı onayı ile Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yapıldı. Biyokimyasal analizler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, patolojik incelemeler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmada ağırlıkları 250–350 gr arasında değişen, Wistar -Albino türü toplam 40 erkek rat kullanıldı. Standart plastik kafeslerde aynı ortamda tutulan ratlar, standart rat yemi ve su ile beslendi. Ratların bulunduğu ortam, ortalama $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde ısıtıldı ve klima ile havalandırıldı. Ratların bulundukları oda 12 saat aydınlık (07°° - 19°°) ve 12 saat karanlık (19°° - 07°°) olacak şekilde sirkadien ritimde tutuldu.

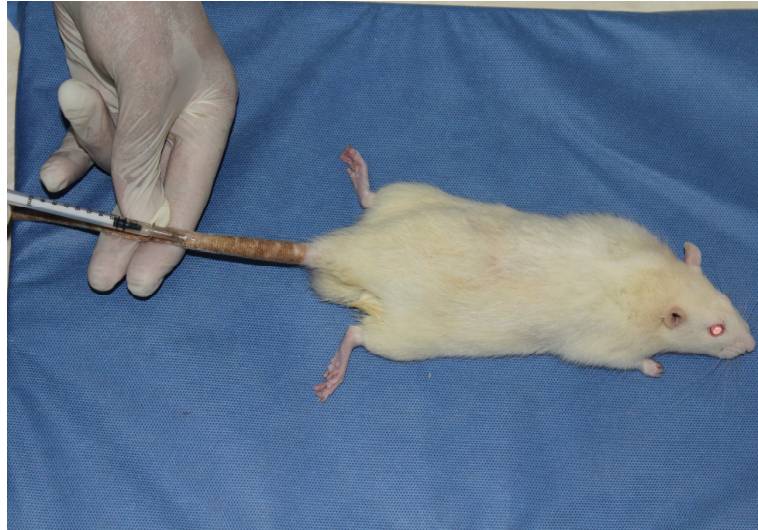
Çalışmada kullanılacak 40 rat randomize olarak beş gruba ayrıldı. Ratların hepsinin ağırlığı hassas tartı ile tespit edildi ve kullanılacak ilaçlar ağırlıklarına göre hazırlandı.

Çalışmada kullanılan Wistar -Albino türü erkek ratlara laparatomiler öncesi anestezi için, intraperitoneal olarak 90 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar) ve 10 mg/kg xylazin (Rompun) kombinasyonu kullanıldı.

Bu çalışmada deneklere, genel anestezi ile uyutulduktan sonra, iskemi uygulanmadan önce, kuyruk veninden serum fizyolojik ya da çalışmada kullanılacak uygun dozda ilaç enjekte edildi (Şekil 8).

İlaç enjeksiyonundan 15 dakika sonra karın ön duvarındaki tüyler traş edildi. Daha sonra orta hattan yaklaşık 3-4 cm'lik insizyon ile laparotomi yapıldı (Şekil 9). Karın

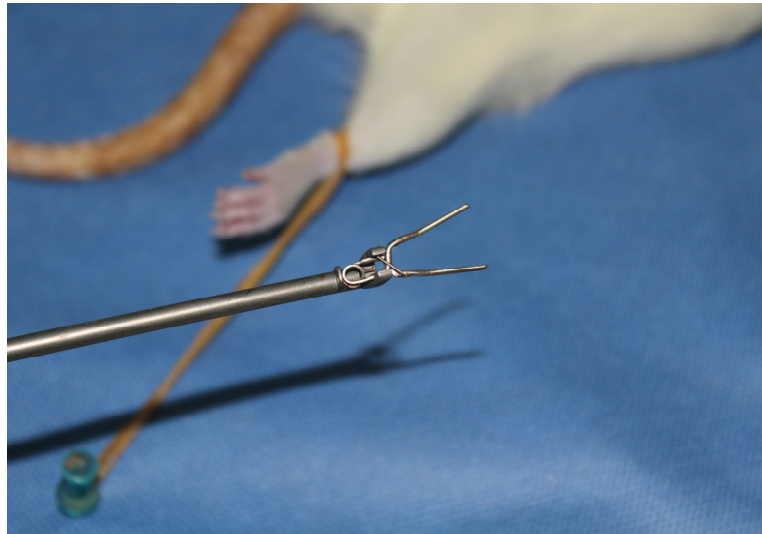
içindeki organlar görünür hale geldikten sonra, kontrol grubu dışındaki gruplarda Portal ven ve Hepatik arter eksplere edildi ve atravmatik vasküler klemp ile karaciğerin sol ve orta lobuna giden kan akımı kesildi. Böylece segmental (70%) ve non-lethal hepatik iskemi meydana getirildi (Şekil 10,11). Atravmatik vasküler klemp yardımı ile 60 dakika iskemi uygulandı. Bu sırada açıkta kalan abdomen ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç ile örtüldü. 60 dakika sonunda klempler alındı ve iskemi sonlandırıldı (Şekil 12).



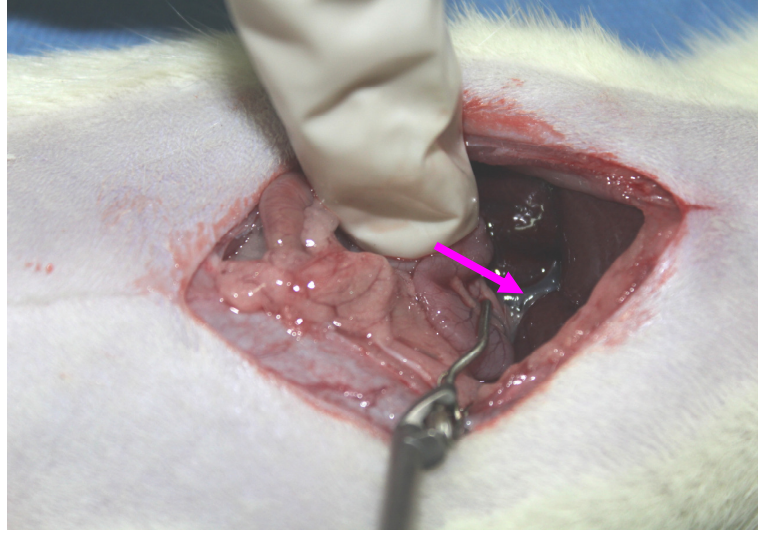
Resim 1: Anestezik maddelerin ve ilaçların uygulanışı



Resim 2: Cerrahi yöntem



Resim 3: İskemi için kullanılan klips



Resim 4: Portal triad



Resim 5: İskemi sonrası cerrahinin sonlandırılması

Reperfüzyon safhası böylece başlayan ratların laparotomi insizyonu 3/0 atravmatik ipek sütün ile kapatıldı.

Bu denekler 6 saat sonra, tekrar anestezi verilerek uyutuldu, laparotomi tekrar edildi. Kan örneği intrakardiyak alındı ve ötonazi sağlandı. Daha sonra karaciğerden sol lobdan doku örneği alındı.

Alınan kan örneği, çalışılacak olan biyokimyasal parametreler için, serum ve plazma elde etmek üzere CBC ve biyokimya tüplerine alındı. 3000 rpm’de 10 dakika santrifüje

edildi, serum ve plazma örnekleri epandorf tüplere alındı. Ölçümler yapılana kadar -20 C°’de saklandı.

Çalışmada, ratlar her grupta 8 denek olacak şekilde, rasgele 5 gruba ayrıldı.

Sham GRUBU: Bu gruptaki ratlara genel anestezi altında sadece laparotomi yapıldı. İskemi oluşturulmadı. Diğer gruplarda uygulanan iskemi süresi gözönüne alınarak 60 dakika sonra laparotomi kapatıldı ve bu gruptaki ratlarda da 6 saat sonra genel anestezi uygulaması tekrarlandı. Kan ve karaciğer doku örneği alındı.

GRUP İR: Bu gruptaki ratlara genel anestezi altında laparotomi yapıldı. Karaciğerin sol ve median lobuna giden portal ven ve hepatik arter görüldü. Atravmatik vasküler klemp ile 60 dakika iskemi uygulandı. İskemi sonlandırıldıktan sonra batın kapatıldı. 6 saat sonra tekrar genel anestezi uygulanan ratlardan kan ve karaciğer doku örnekleri alındı.

GRUP F: Bu gruptaki ratlara genel anestezi sonrası kuyruk veninden Flumazenil 1mg/kg dozunda verildi. 15 dakika sonra laparotomi yapılan ratlarda, portal ven ve hepatik artere avasküler klemp kullanılarak, 60 dakika karaciğer iskemisi oluşturuldu. İskemi sonlandırıldıktan sonra batın kapatıldı. 6 saat sonra tekrar genel anestezi uygulanan ratlardan kan ve karaciğer doku örnekleri alındı.

GRUP D: Bu gruptaki ratlara genel anestezi sonrası kuyruk veninden dexmedetomidin 1µg/kg dozunda verildi. 15 dakika sonra laparotomi yapılan ratlarda, portal ven ve hepatik artere avasküler klemp kullanılarak, 60 dakika karaciğer iskemisi oluşturuldu. İskemi sonlandırıldıktan sonra batın kapatıldı. 6 saat sonra tekrar genel anestezi uygulanan ratlardan kan ve karaciğer doku örnekleri alındı.

GRUP N: Bu gruptaki ratlara genel anestezi sonrası kuyruk veninden N asetil sistein 150 mg/kg dozunda verildi. 15 dakika sonra laparotomi yapılan ratlarda, portal ven ve hepatik artere avasküler klemp kullanılarak, 60 dakika karaciğer iskemisi oluşturuldu. İskemi sonlandırıldıktan sonra batın kapatıldı. 6 saat sonra tekrar genel anestezi uygulanan ratlardan kan ve karaciğer doku örnekleri alındı.

Karaciğer doku örnekleri sol lobdan, %10’ luk formalin içeren kaplara alındı. Dokulardan alınan kesitler, parafin bloklara gömüldü ve bu örneklerden 4-5 µm’lik kesitler alınarak, hematoksilin eozin ile boyandı. Preparatlar deney gruplarından habersiz uzman bir histopatolog tarafından, 50-100 büyütmede ışık mikroskopunda

incelendi. Karaciğer İR hasarı puanlama sistemi kullanılarak sitoplazmik vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve hücre nekrozu değerlendirildi (123). (Tablo 2)

Tablo2: Karaciğer İR hasarı puanlama sistemi

Karaciğer hasarı histopatolojik özellikleri	Puanlama	Puanlanmanın yorumlanması
Sitoplazmik vakuolizasyon	0	Yok
	1	Nadiren
	2	Bazı lobüllerde
	3	Pek çok lobulde
	4	Yaygın
Sinusoidal dilatasyon	0	Yok
	1	Nadiren
	2	Sık- perivenüler
	3	Sık- perivenüler midzonal
	4	Yaygın- panlobule
Hücre nekrozu	0	Yok
	1	1-2 apoptotik hücre
	2	≥3 apoptotik hücre
	3	1-2 fokal nekroz alanı
	4	≥3 fokal nekroz alanı

3.1 KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

3.1.1 AST, ALT, LDH analizi

Serum AST, ALT ve LDH düzeyleri hazır kitler kullanılarak kalorimetrik yöntemle ölçülmüştür.

3.1.2 TNF- α , IL-6, IL-1 β analizi

TNF- α tayini için Biosource İnvitrogen İmmunoassay Rat TNF- α elisa kit (Katalog no: KRC3011, USA), IL-6 tayini için Biosource İnvitrogen İmmunoassay Rat IL-6 elisa kit (Katalog no: KRC 0061, USA), IL-1 β tayini için Biosource İnvitrogen İmmunoassay Rat IL-1 β elisa kit (Katalog no: KRC0012, USA) kullanıldı. TNF- α , IL-6, IL-1 β ölçümü için birim pg/ml kabul edildi.

Rengin şiddeti test ve standarttaki TNF- α , IL-6 ve IL-1 β 'nin konsantrasyonuna bağlıdır.

3.1.3 İnterlökin- 10 analizi

Serum IL-10 analizi RayBio rat IL-10 elisa kit (Katalog no: ELR-IL10-001) kullanılarak ölçüldü. ELISA pleytlerinde IL-10'a spesifik poliklonal antikorlarla kaplı kuyucuklara konsantrasyonu bilinen IL-10 standartları ve serum örnekleri konuldu. Birinci inkübasyondan sonra, pleyt yıkanarak, biyotin konjugat eklendi. İkinci inkübasyondan sonra bağlanmayan biyotin konjugatlar yıkama ile uzaklaştırıldı. Yıkamadan sonra streptavidin- HRP enzimi eklendi. Bağlanmayan enzimde inkübasyon ve yıkamadan sonra ayrıştırıldı. Daha sonra, substrat solusyonu renk reaksiyonu oluşturmak için eklendi. IL-10 bulunan örneklerde yoğunluğa bağlı olarak renk değişimi gözlemlendi. Örnekler ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu, standart yardımıyla hesaplama yapıp sonuçlar pg/ml cinsinden verildi.

3.1.4 SOD analizi

Superoksit dismutaz düzeyi CAYMAN ticari kiti ile (CAYMAN, Chemical Company, USA) çalışıldı. Analizin prensibi, ksantin oksidaz tarafından oluşturulan süperoksit radikallerinin tetrazolium tuzlarıyla ölçülmesi esasına dayanır. SOD'nin Cu/Zn, Mn ve Fe içeren her üç tipini de ölçebilir.

3.1.5 Total Oksidan Status (TOS) analizi

Total Oksidan Status analizi için, Total Oksidan Status kiti (Rel Assay Diagnostics) ve Olympus AU 400 biyokimya otoanalizörü kullanıldı.

Birimi $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. / L dir.

3.1.6 Total Antioksidan Status (TAS) analizi

Total Antioksidan Status analizi için, Total antioksidan ticari kiti (Rel Assay) ve Olympus AU 400 biyokimya otoanalizörü kullanıldı.

Birimi Trolox equivalent/L dir.

OSI (Oksidatif stres indeksi) hesaplanması:

Organizmadaki oksidan/antioksidan dengeyi gösteren değer hesaplanırken numunelerin total oksidatif stres değerleri yüzde cinsinden total antioksidan status değerlerine oranlandı ve OSI değerleri elde edildi.

$\text{OSI} = 100 * \text{TOS } (\mu\text{mol/ L H}_2\text{O}_2) / \text{TAS } (\mu\text{Mol/L Trolox})$ hesaplandı.

3.2.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın güç analizi için “Baykara B, Tekmen I, Pekcetin C, Ulukus C, Tuncel P, Sagol O, Ormen M, Ozogul C. The protective effects of carnosine and melatonin in ischemia-reperfusion injury in the rat liver. Acta Histochem 2008; 111:42–51.”

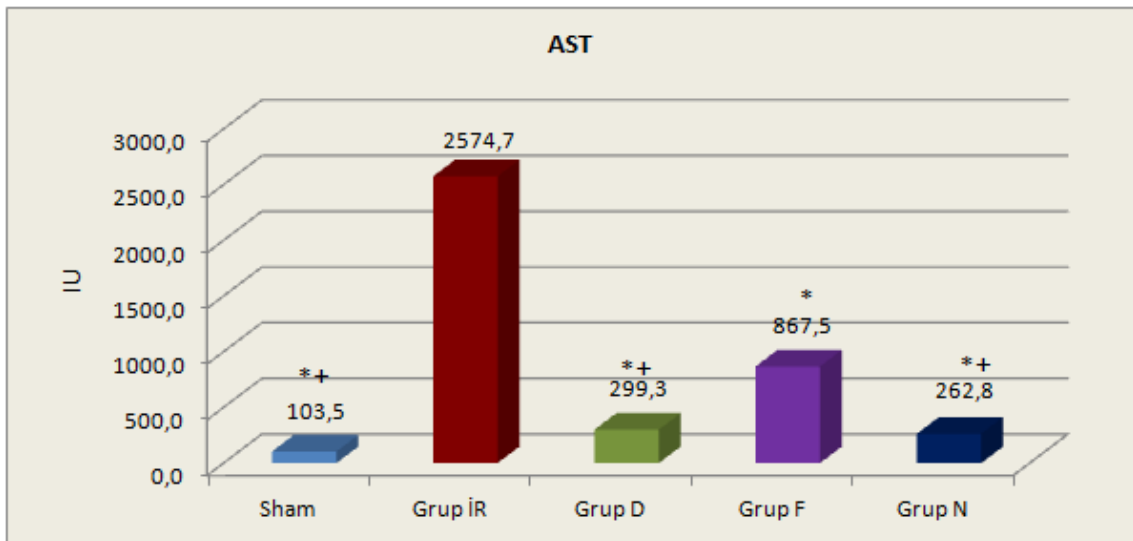
kullanıldı. $\alpha=0,05$, güç: %80 olacak şekilde her bir grupta 8'er rat bulunması uygun görüldü. Araştırmadan elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences for Windows) ve SigmaStat 3.5 istatistik paket programı ile analiz edildi. Verilerin normallik testleri Shapiro-Wilks analizi ile yapıldı. İki'den fazla nicel değişkenlerin karşılaştırmasında Tek Yönlü Varyans Analizi ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey, Tamhane ve Student-Newman-Keuls testleri uygulandı.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMSASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

4.1.1. Ortalama AST Değerleri

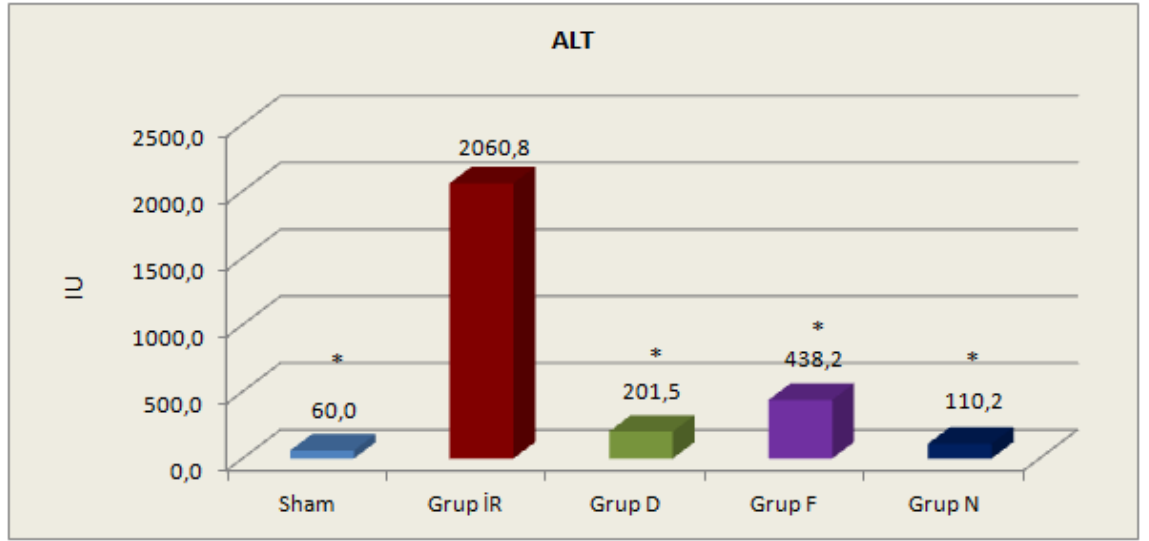
Ortalama serum AST düzeyleri kontrol grubunda $103 \pm 7,3$ IU, İR grubunda 2574 ± 418 IU, Grup D'de 299 ± 56 IU, Grup F'de 867 ± 163 IU, Grup N'de 262 ± 63 IU olarak ölçüldü (Tablo 3, Grafik 1). İR grubunun AST değeri, Sham, Grup D, Grup F, Grup N den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Grup F' nin AST değeri, Grup D, Grup N ve Sham grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p < 0,001$). Sham, D ve N grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).



Grafik 1: AST düzeyleri. * $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı. + $p < 0,01$ Grup F ile karşılaştırıldı.

4.1.2 Ortalama ALT Değerleri

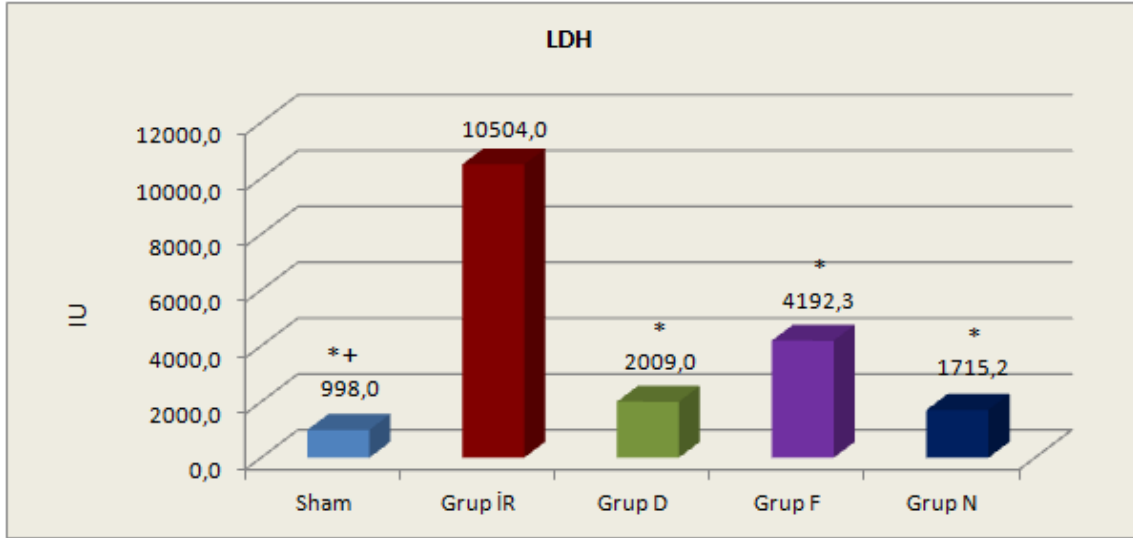
Ortalama serum ALT düzeyleri Sham grubunda 60 ± 14 IU, İR grubunda 2060 ± 576 IU, Grup D'de 201 ± 54 IU, Grup F'de 438 ± 73 IU, Grup N'de 110 ± 25 IU olarak ölçüldü (Tablo 3, Grafik 2). İR grubunun ALT değeri Sham grubu, Grup D, Grup F, Grup N'den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$).



Grafik 2: ALT düzeyleri. * $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı.

4.1.3. Ortalama LDH Değerleri

Ortalama serum LDH düzeyleri Sham grubunda 998 ± 209 IU, İR grubunda 10504 ± 3222 IU, Grup D’de 2009 ± 139 IU, Grup F’de 4192 ± 460 IU, Grup N’de 1715 ± 275 IU olarak ölçüldü (Tablo 3, Grafik 3). İR grubunun LDH değeri, Sham grubu, Grup D, Grup F, Grup N’den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Grup F’in LDH değeri Grup D, Grup N ve Sham grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p < 0,01$).



Grafik 3: LDH düzeyleri. * $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı. + $p < 0,01$ Grup F ile karşılaştırıldı.

Tablo 3: AST, ALT, LDH düzeyleri

	AST			ALT			LDH	
	Ort±s.s.			Ort±s.s.			Ort±s.s.	
Sham	103,5 ± 7,3	*+		60,0 ± 14,0	*		998,0 ± 209,8	*+
Grup İR	2574,7 ± 418,6			2060,8 ± 576,6			10504,0 ± 3222,2	
Grup D	299,3 ± 56,1	*+		201,5 ± 54,3	*		2009,0 ± 139,3	*
Grup F	867,5 ± 163,2	*		438,2 ± 73,4	*		4192,3 ± 460,1	*
Grup N	262,8 ± 63,1	*+		110,2 ± 25,0	*		1715,2 ± 275,2	*

* $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı

+ $p < 0,01$ Grup F ile karşılaştırıldı

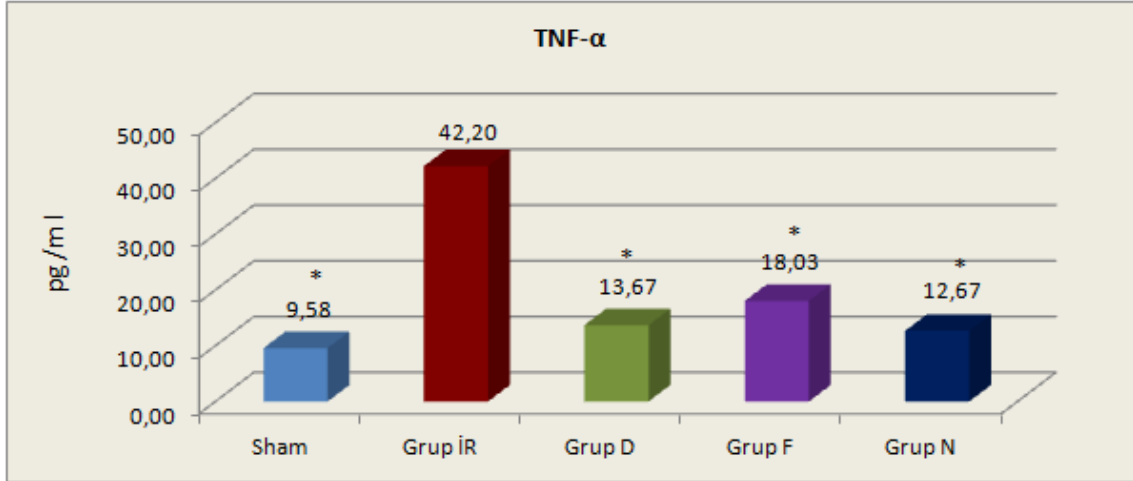
4.1.4. Ortalama TNF- α Değerleri

Ortalama serum TNF- α düzeyleri Sham grubunda $9,58 \pm 0,48$ pg/ml, İR grubunda $42,20 \pm 11,58$ pg/ml, Grup D'de $13,67 \pm 1,87$ pg/ml, Grup F'de $18,03 \pm 6,31$ pg/ml, Grup N'de $12,67 \pm 1,42$ pg/ml olarak ölçüldü (Tablo 4, Grafik 4). İR grubun TNF- α değeri, Sham grubu, Grup D, Grup F, Grup N'den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

Tablo 4: TNF- α düzeyleri

	TNF- α Ort. $\pm$ s.s.	
Sham	$9,58 \pm 0,48$	*
Grup İR	$42,20 \pm 11,58$	
Grup D	$13,67 \pm 1,87$	*
Grup F	$18,03 \pm 6,31$	*
Grup N	$12,67 \pm 1,42$	*

* $p < 0,001$ İR grup ile karşılaştırıldı



Grafik 4: TNF- α düzeyleri. * $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı.

4.1.5 Ortalama IL-6 Değerleri

Shapiro-Wilks analizine göre nonparametrik olan IL-6 değerleri ortanca olarak hesaplandı. Serum IL-6 düzeyleri Sham grubunda 10,90 (8,98- 11,49) pg/ml, İR grubunda 46,95 (37,26-51,53) pg/ml, Grup D'de 9,25 (8,98-9,64) pg/ml, Grup F'de 20,55 (15,06-24,84) pg/ml, Grup N'de 7,99(6,73-11,10) pg/ml olarak ölçüldü (Tablo 5, Grafik 5).

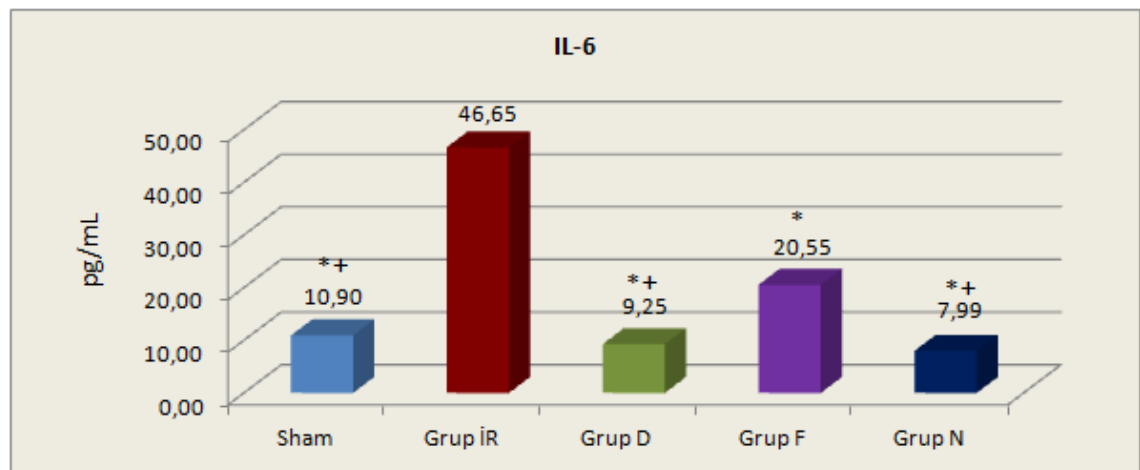
İR grubunun IL-6 değeri, Sham, Grup D, Grup F, Grup N'den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,01$). Grup F'in IL-6 değeri, Grup D ve Grup N'den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,01$).

Tablo 5: IL-6 düzeyleri

	IL-6		
	Ortanca		
Sham	10,90	(8,98-11,49)	*+
Grup İR	46,65	(37,26-51,53)	
Grup D	9,25	(8,98-9,64)	*+
Grup F	20,55	(15,06-24,84)	*
Grup N	7,99	(6,73-11,10)	*+

* $p < 0,01$ Grup İR ile karşılaştırıldı

+ $p < 0,05$ Grup F ile karşılaştırıldı



Grafik 5: IL-6 düzeyleri. * $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı. + $p < 0,01$ Grup F ile karşılaştırıldı.

4.1.6 Ortalama IL-1 β Değerleri

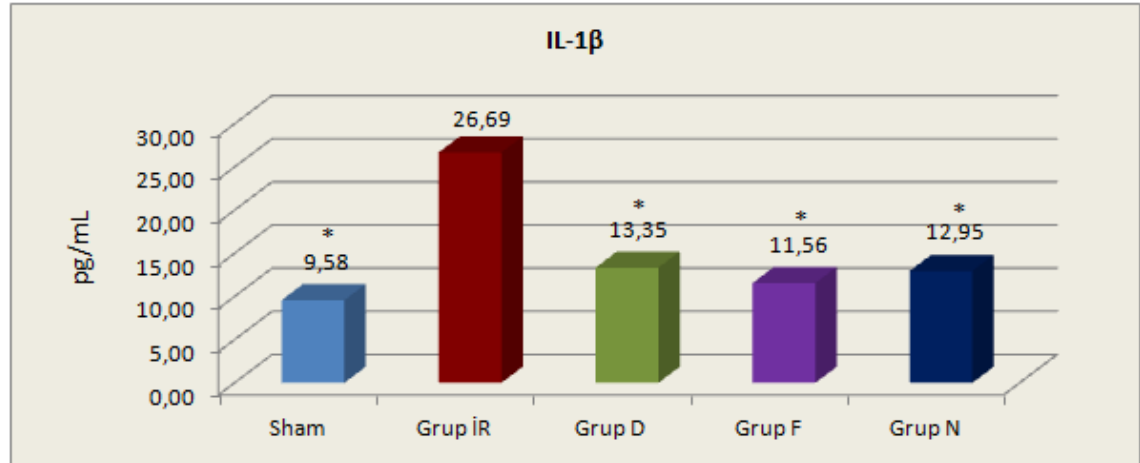
Ortalama serum IL-1 β düzeyleri Sham grubunda 9,58 $\pm$ 2,82 pg/ml, İR grubunda 26,69 $\pm$ 3,26 pg/ml, Grup D'de 13,35 $\pm$ 2,95pg/ml, Grup F'de 11,56 $\pm$ 2,18 pg/ml, Grup N'de 12,95 $\pm$ 3,11 pg/ml olarak ölçüldü (Tablo 6, Grafik 6).

İR grubunun IL-1 β değeri, Sham, Grup D, Grup F, Grup N'den anlamlı olarak daha yüksekti (p< 0,001) .

Tablo 6: IL-1 β düzeyleri

	IL-1 β	
	Ort $\pm$ s.s.	
Sham	9,58 $\pm$ 2,82	*
Grup İR	26,69 $\pm$ 3,26	
Grup D	13,35 $\pm$ 2,95	*
Grup F	11,56 $\pm$ 2,18	*
Grup N	12,95 $\pm$ 3,11	*

* p < 0,001 Grup İR ile karşılaştırıldı



Grafik 6: IL-1 β düzeyleri. * p<0,001 Grup İR ile karşılaştırıldı.

4.1.7 Ortalama IL-10 Değerleri

Shapiro-Wilks analizine göre nonparametrik olarak kabul edilen IL-10 değerleri ortanca olarak hesaplandı Ortalama serum IL-10 düzeyleri Sham grubunda 409,0 (218,81-470,22) pg/ml, İR grubunda 2208,0 (1406,50-3660,49 pg/ml, GrupD’de 1367,48 (1233,11-1718,58) pg/ml, Grup F’de 1259,12 (834,33-1484,52) pg/ml, Grup N’de 465,89 (374,86-895,01) pg/ml olarak ölçüldü (Tablo 7, Grafik 7).

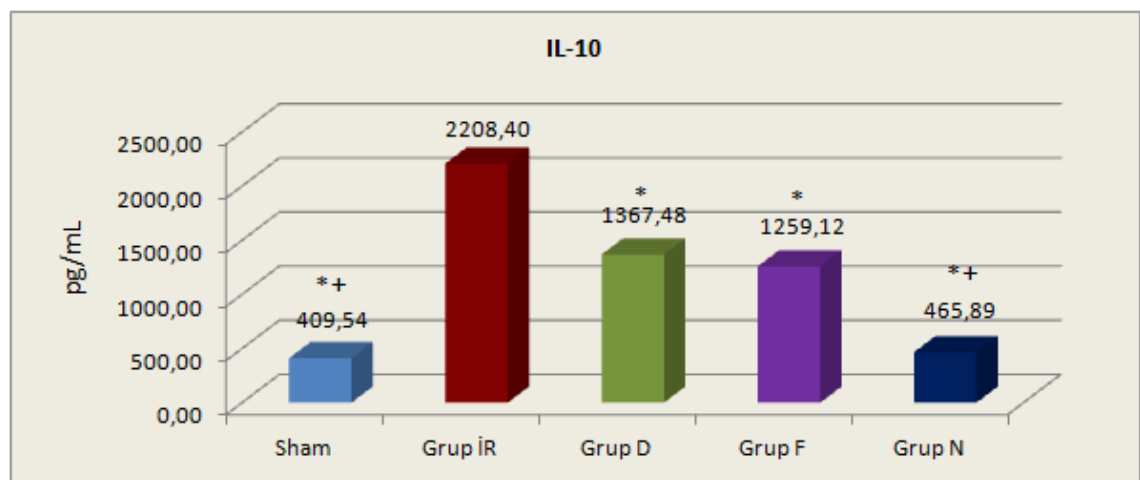
İR grubunun IL-10 değeri, Sham grubu, Grup D, Grup F, Grup N den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$). Grup D ve Grup F’de IL-10 değeri Sham grubu ve Grup N’den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,01$).

Tablo 7: IL-10 düzeyleri

	IL- 10		
	Ortanca		
Sham	409,54	(218,8-470,2)	*+
Grup İR	2208,40	(1406,5-3660,5)	
Grup D	1367,48	(1233,1-1718,6)	*
Grup F	1259,12	(834,3-1484,5)	*
Grup N	465,89	(374,9-895,0)	*+

* $p < 0,01$ Grup İR ile karşılaştırıldı

+ $p < 0,05$ Grup F ve Grup F ile karşılaştırıldı



Grafik 7: IL-10 düzeyleri. * $p < 0,001$ Grup İR ile karşılaştırıldı. + $p < 0,01$ Grup F ile karşılaştırıldı.

4.1.8 Ortalama SOD Değerleri

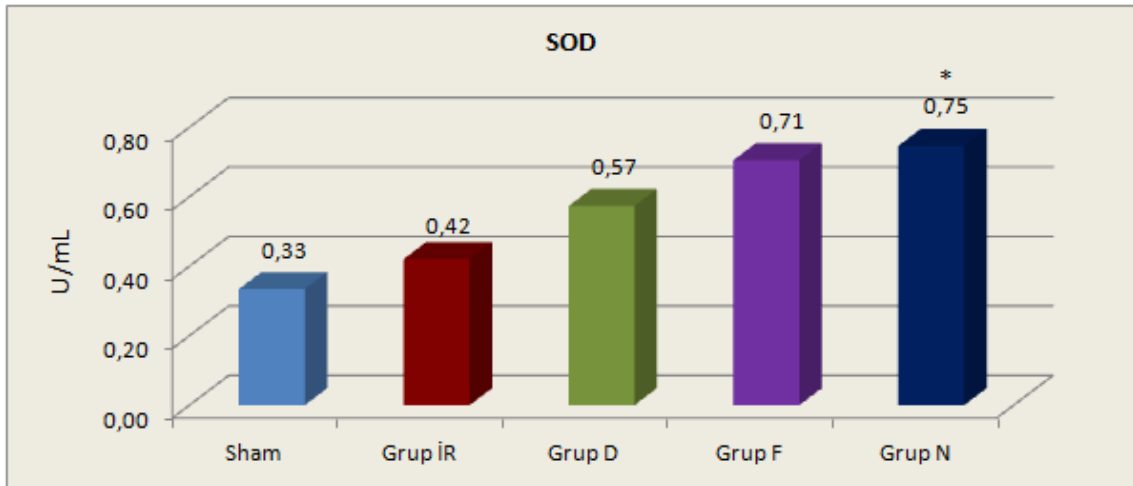
Ortalama SOD düzeyleri Sham grubunda $0,33 \pm 0,19$ U/ml, İR grubunda $0,42 \pm 0,14$ U/ml, Grup D'de $0,57 \pm 0,18$ U/ml, Grup F'de $0,71 \pm 0,32$ U/ml, Grup N'de $0,75 \pm 0,32$ U/ml olarak ölçüldü (Tablo 8, Grafik 8).

Grup N SOD değeri Sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

Tablo 8: SOD düzeyleri

	SOD	
	Ort.	s.s.
Sham	0,33	$\pm 0,19$
Grup İR	0,42	$\pm 0,14$
Grup D	0,57	$\pm 0,18$
Grup F	0,71	$\pm 0,32$
Grup N	0,75	$\pm 0,32$

* $p < 0,05$ Sham grubu ile karşılaştırıldı

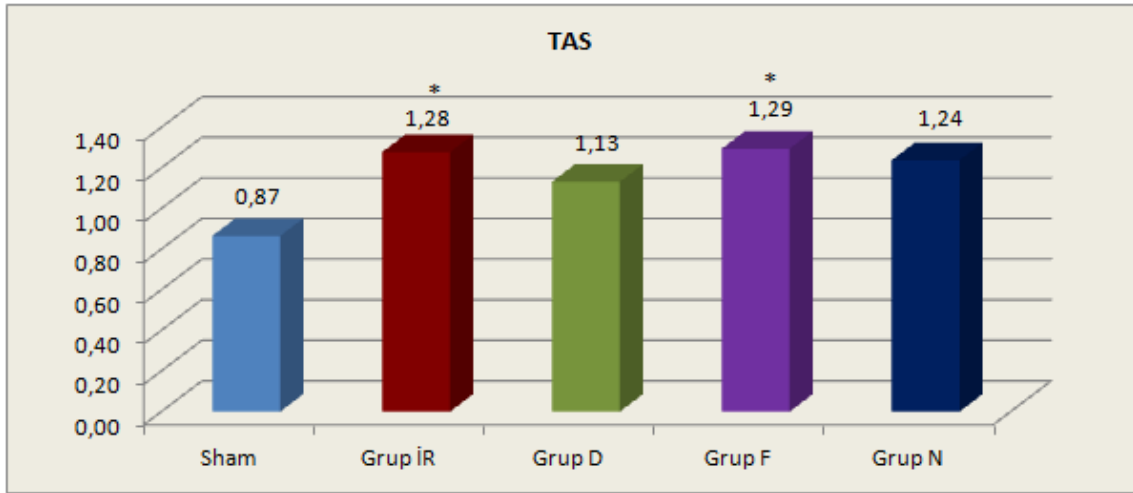


Grafik 8: SOD düzeyleri.

4.1.9 Ortalama TAS Değerleri

Ortalama TAS düzeyleri Sham grubunda $0,87 \pm 0,29$, İR grubunda $1,28 \pm 0,34$, Grup D’de $1,13 \pm 0,14$, Grup F’de $1,29 \pm 0,21$, Grup N’de $1,24 \pm 0,16$ olarak ölçüldü. Sham grubunun TAS değeri, İR ve F gruplarından anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0,05$). (Tablo 9, Grafik 9)

Birimi, Trolox equivalent/L dir.

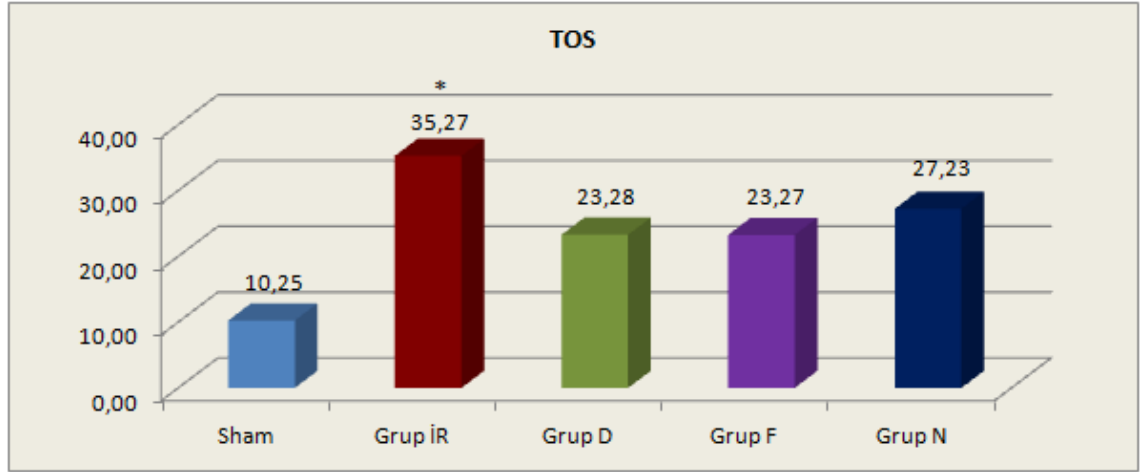


Grafik 9: TAS düzeyleri. * $p < 0,05$ Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.1.10 Ortalama TOS Değerleri

Ortalama TOS düzeyleri Sham grubunda $10,25 \pm 1,57$, İR grubunda $35,27 \pm 20,00$, Grup D’de $23,28 \pm 6,12$, Grup F’de $23,27 \pm 11,21$, Grup N’de $27,23 \pm 17,04$ olarak ölçüldü. İR grubunun TOS değeri, Sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$). (Tablo 9, Grafik 10)

Birimi $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv} / \text{L}$ dir.

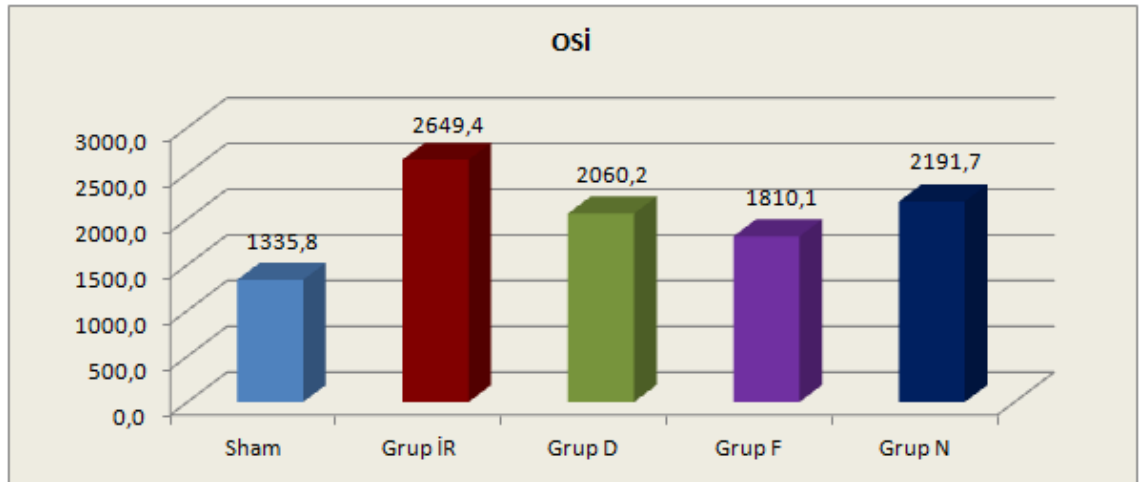


Grafik 10: TOS düzeyleri. * $p < 0,05$ Sham grubu ile karşılaştırıldı.

4.1.11 Ortalama OSİ Değerleri

Ortalama OSİ düzeyleri Sham grubunda $1335,8 \pm 572,0$, İR grubunda $2649,4 \pm 1367,0$, Grup D’de $2060,2 \pm 505,1$, Grup F’de $1810,1 \pm 744,9$, Grup N’de $2191,7 \pm 1237,3$ olarak ölçüldü. Gruplar arasında OSI değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$) .

Birimi, $\mu\text{mol/L H}_2\text{O}_2$ / $\mu\text{Mol/L Trolox}$ dur.



Grafik 11: OSİ düzeyleri.

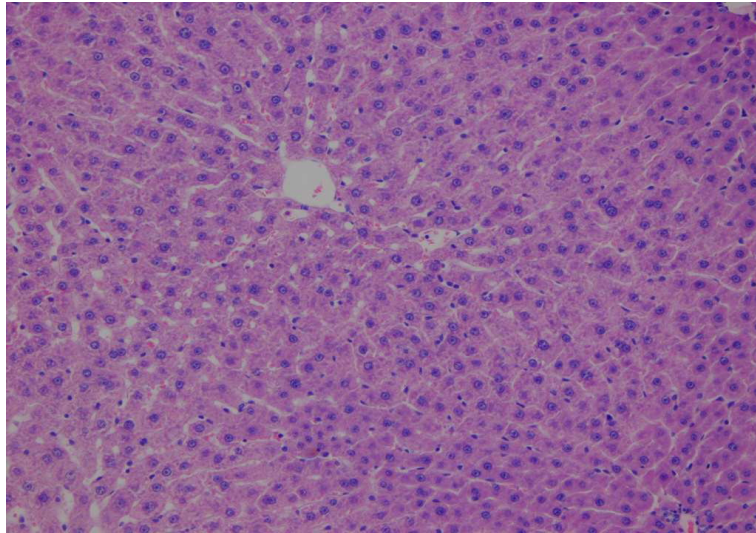
Tablo 9: TAS, TOS, OSİ düzeyleri.

	TAS	TOS	OSİ
	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.
Sham	0,87 ± 0,29	10,25 ± 1,57	1335,8 ± 572,0
Grup İR	1,28 ± 0,34 *	35,27 ± 20,00 *	2649,4 ± 1367,0
Grup D	1,13 ± 0,14	23,28 ± 6,12	2060,2 ± 505,1
Grup F	1,29 ± 0,21 *	23,27 ± 11,21	1810,1 ± 744,9
Grup N	1,24 ± 0,16	27,23 ± 17,04	2191,7 ± 1237,3

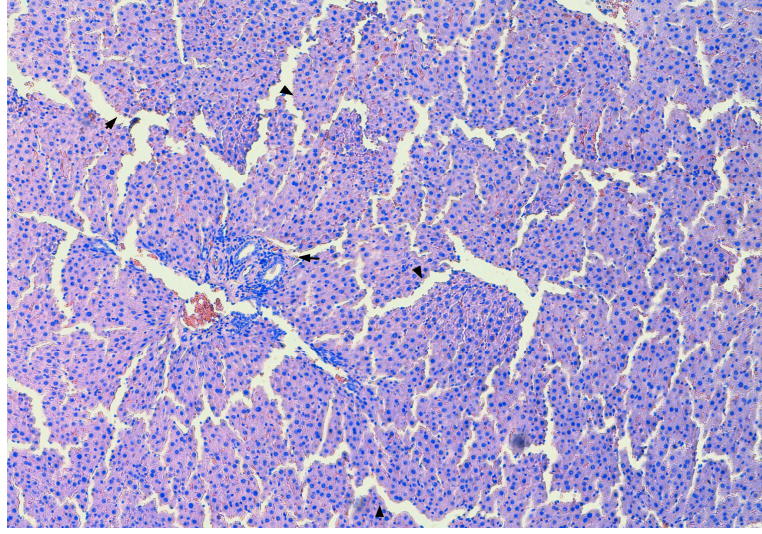
* p < 0,05 Sham grubu ile karşılaştırıldı

4.2. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

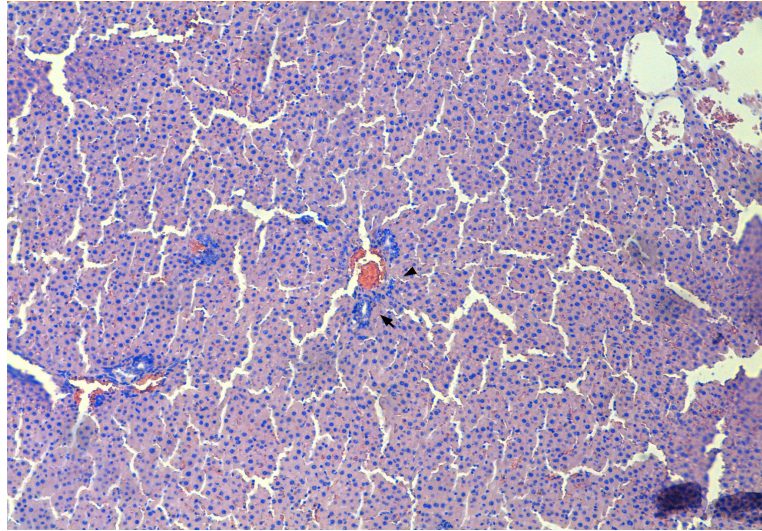
Histopatolojik incelemelerde tüm gruplarda vakuolizasyon, sinüsoidal dilatasyon, apoptoz ve nekroza bakıldı. Sham grubunda normal histopatolojik görünüm elde edildi (Resim 1). İR grubundaki ratların hepsinde vakuolizasyon ve sinüsoidal dilatasyon gözlemlendi. Nekroz ve apoptoz sadece bu grupta gözlemlendi (Resim 2, 3, 4). Grup D, Grup F, Grup N’de değişen derecelerde sinüsoidal dilatasyon görüldü (Resim 5,6,7). Vakuolizasyon ise İR grubu dışında sadece Grup D ve Grup F’de gözlemlendi (Resim 7).



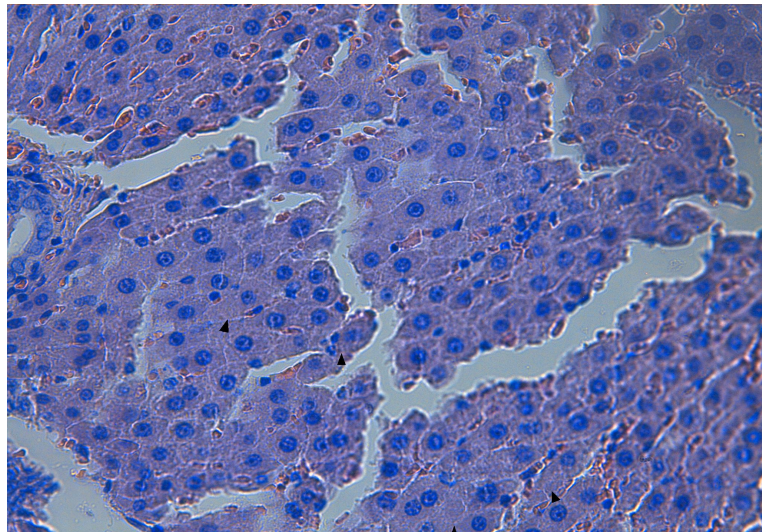
Resim 6: Sham grubunda histopatolojik incelemede normal görünümdeki hepatositler ve sinüzoidler (HE, X100).



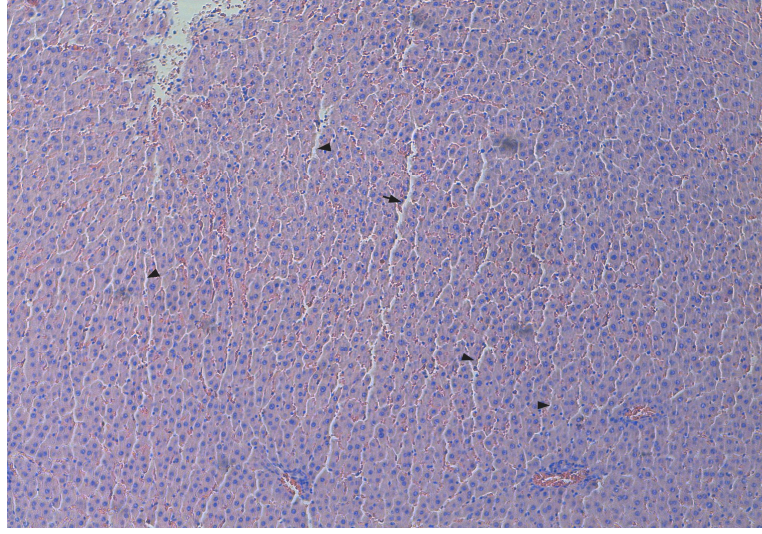
Resim 7: İR grubunda sinüzoidal dilatasyon (HE, X100).



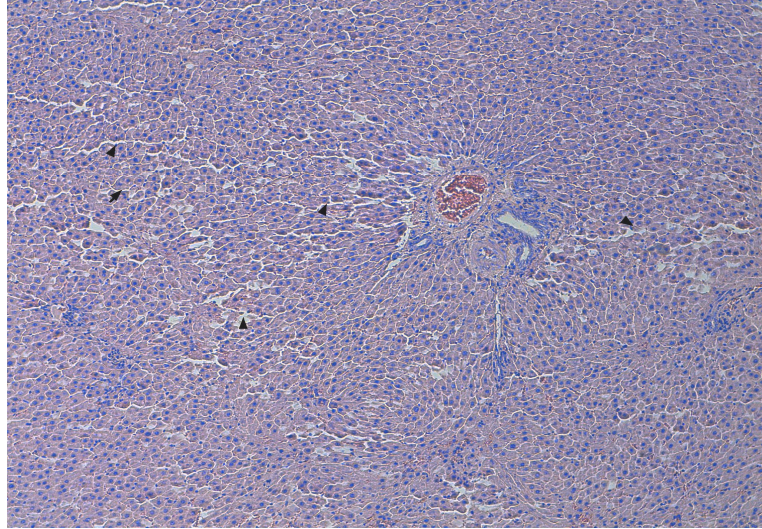
Resim 8: İR grubunda nekrotik hepatositler (HE, X100).



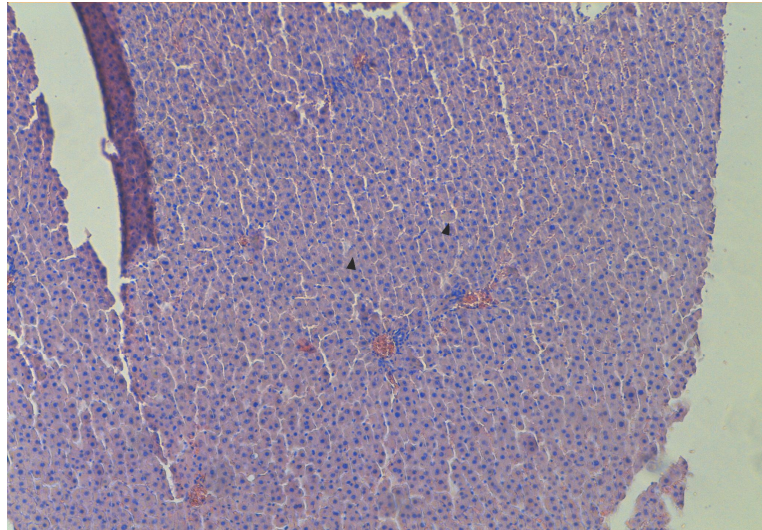
Resim 9: İR grubunda sinüzoidal dilatasyon, apoptoz ve vakuolizasyon (HE, X400).



Resim 10: İR+D grubunda sinüzoidal dilatasyon (HE, X100).



Resim 11: İR+N grubunda sinüzoidal dilatasyon (HE, X100).



Resim12: İR+F grubunda sinüzoidal dilatasyon ve vakuolizasyon (HE, X100).

4.2.1.Vakuolizasyon (VAC):

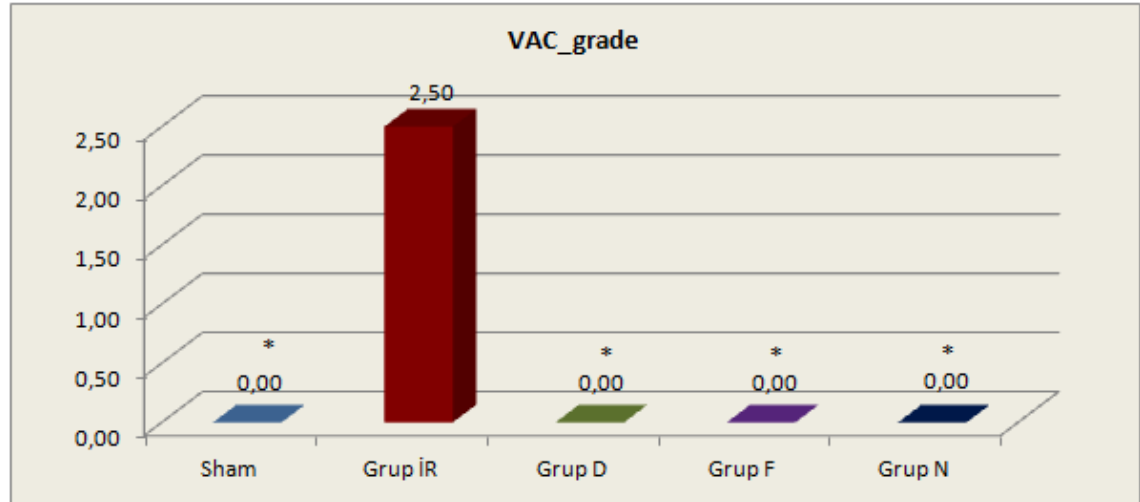
Nonparametrik olan VAC değerleri ortanca olarak hesaplandı.

İR grubunun VAC grade'i 2,5 (2-3), Sham 0,0 (0,0-0,0), Grup D 0,00 (0-1), Grup F 0,00 (0,0-1), Grup N 0,00(0,0-0,0)'den anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$). (Tablo 10, Grafik 12)

Tablo 10: VAC düzeyi

	VAC_GRADE	
	Ortanca	
Sham	0,00	(0,0-0,0) *
Grup İR	2,50	(2,0-3,0)
Grup D	0,00	(0,0-1,0) *
Grup F	0,00	(0,0-1,0) *
Grup N	0,00	(0,0-0,0) *

* $p < 0,01$ Grup İR ile karşılaştırıldı



Grafik 12: VAC düzeyi

4.2.2 Sinüzoidal Dilatasyon (Sid):

Nonparametrik olan Sid değerleri ortanca olarak hesaplandı

İR grubunun Sid Grade'i 4,0 (3,00-4,00), Sham grubu 0,0 (0,0-1,00), Grup D 1,00(1,00-1,00), Grup F 1,00(1,00-2,00), Grup N 1,50 (1,00-2,00)'den anlamlı olarak daha

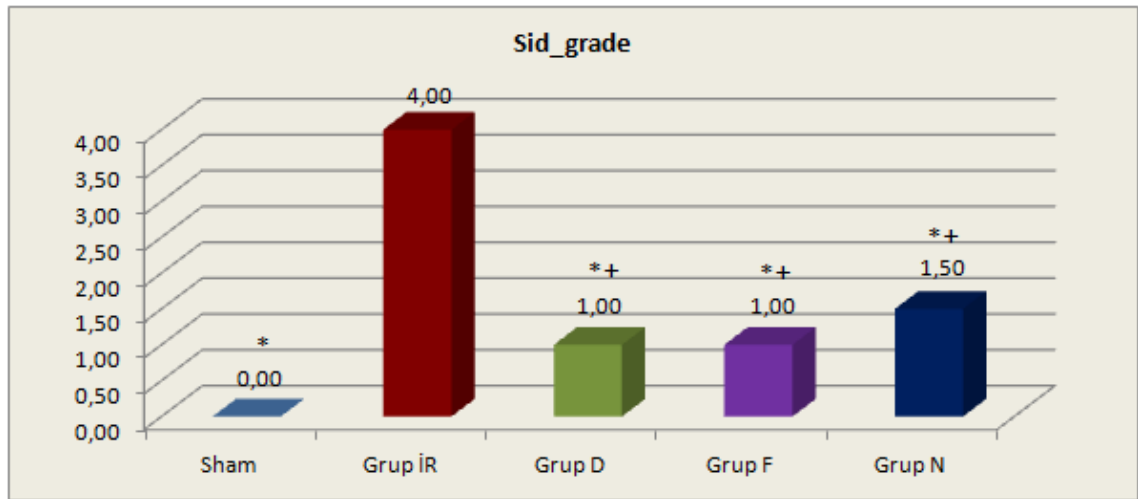
yüksekti ($p < 0,01$). Sham grubu Sid grade'i Grup D, Grup N ve Grup F'den anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0,05$). (Tablo 11, Grafik 13)

Tablo 11: Sid düzeyi

	SID_GRADE		
	Ortanca		
Sham	0,00	(0,0-1,0)	*
Grup İR	4,00	(3,0-4,0)	
Grup D	1,00	(1,0-1,0)	*+
Grup F	1,00	(1,0-2,0)	*+
Grup N	1,50	(1,0-2,0)	*+

* $p < 0,01$ İR grup ile karşılaştırıldı

+ $p < 0,01$ Sham grup ile karşılaştırıldı



Grafik 13: Sid düzeyi

4.2.3.Nekroz ve Apoptoz:

İR grubunun nekroz grade puanları ($0,83 \pm 1,17$), Sham grubunda ($0,0 \pm 0,0$), Grup D'de ($0,0 \pm 0,0$), Grup F'de ($0,0 \pm 0,0$), Grup N ($0,0 \pm 0,0$)'den anlamlı olarak daha yüksekti. ($p < 0,05$) (Tablo 5)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, NAC, flumazenil ve deksmedetomidinin, karaciğer İR hasarının inflamatuvar mekanizmasının mediatörleri olan sitokinleri azalttıkları, flumazenil ve deksmedetomidinin antiinflamatuvar olarak bilinen IL-10 düzeyini artırdıkları, dolayısı ile değişen derecelerle ve mekanizmalarla antiinflamatuvar etkinlik gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada, endojen antioksidan enzim olan SOD düzeyini, sadece NACin anlamlı bir şekilde yükseltmiş olması, TAS ve TOS arasındaki dengeyi gösteren OSI değerinin hiçbir grupta değişmemesi, hepatik İR hasarının patofizyolojisinde inflamatuvar mekanizmaların daha önemli olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan ilaçlar, histopatolojik göstergeleri anlamlı bir şekilde düzeltmiştir.

Çalışmamız, kullandığımız biyokimyasal ve histopatolojik verilere göre, NAC, flumazenil ve deksmedetomidinin hepatik İR hasarını azalttığını göstermektedir.

İR hasarı, arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı uzamış iskemiye maruz kalan dokularda ve organlarda, kan akımının yeniden sağlanması ile meydana gelir. Abu-Amara ve ark (46), kan akımının azalması ya da kesilmesinin en çok oksijene hassas dokuları etkilediğini belirtmişlerdir. Kan akımının bozulduğu iskemik dönemde, hücrede apoptozise kadar ilerleyebilen değişiklikler meydana gelir. Beyin, kalp, böbrek ve karaciğer başta olmak üzere pek çok doku ve organ bu hasarın hedefindedir.

Karaciğer cerrahisinin en önemli komplikasyonlarından biri intraoperatif kanamadır. Bu sorunun kontrolünde çeşitli vasküler oklüzyon teknikleri kullanılmaktadır. Nakajima Y ve ark (124) nın karaciğer rezeksiyonunda kanama kontrolünde kullanılan cerrahi

tekniklerini ve Bilt ve ark (125) nın ise karaciğer cerrahisindeki vasküler klemp tekniklerini araştırdığı retrospektif çalışmalarda, vasküler oklüzyon tekniklerinin kullanım sıklıkları gösterilmektedir. Bu tekniklerden hemi hepatik vasküler klemp tekniği, karaciğere giren ve çıkan kan akımının total oklüzyonuna dayanırken, Pringle manevrası karaciğere giren kan akımının engellenmesi amacıyla portal triada uygulanmakta ve bu teknik daha fazla önerilmektedir. Yine Gurusamy ve ark (126) elektif karaciğer rezeksiyonu için vasküler oklüzyon metodlarını, komplikasyonları yönünden karşılaştırmış ve hemihepatik vasküler klemp tekniğinin, portal triad klemp tekniğine göre hemodinamik göstergelerde daha tahrip edici değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir. Bizde deneysel çalışmamızda, karaciğerde iskemi oluşturmak için portal triad klempleme tekniğini kullandık.

Liacuna ve ark (127), karaciğer İR hasarında, inflamatuvar sitokinlerin üretilmesi ve koruyucu mekanizmaların stimülasyonunun pik seviyeye ulaşma süresini araştırdıkları çalışmalarında 60, 90, 120 dakika iskemi uygulamışlar ve 60. dakikada sinyal mediatörü olan nükleer faktör- $\kappa\beta$ nın pik seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Jin ve ark (128), hepatik İR hasarı sonrasında karaciğer ve akciğerde, NF- $\kappa\beta$ 'nın aktive ettiği sinyal molekülleri üzerine NAC etkilerini araştırdıkları çalışmalarında iskemi süresini 60 dakika olarak kullanmışlardır (72,129,130). Bamboat ve ark (131) karaciğer İR hasarında IL-10 sekresyonundaki değişiklikleri araştırdıkları deneysel çalışmada, Jha ve ark (132) hepatik iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan ve antiapoptotik sinyalleri araştırdıkları çalışmada 60 dk. iskemi uygulamışlardır. Bizde çalışmamızda, birbirine bağlantılı hasar mekanizmalarının çalışabilmesi, gerekli iskeminin sağlanabilmesi için 60 dakika vasküler klemp uygulamayı tercih ettik.

İskemi reperfüzyon hasarının mekanizmalarının, inflamatuvar ve hücrel yönlerinin araştırıldığı çalışmalarda reperfüzyondan sonraki erken dönemde ilk 2 saatte, kupffer hücreleri tarafından, TNF- α , IL-6, IL-1 ve eikinosoidler gibi proinflamatuvar sitokinlerin salındığı ve ROS'nin arttığı, geç fazda ise reperfüzyon sonrası 6- 48 saat arasında, nötrofil aracılı inflamatuvar mekanizmalar ile karakterize, komplemanların, sitokinlerin, kemokinlerin salınması ve bunu takiben endotelin aracılı vazokonstriksiyon ve trombosit agregasyonu ile birlikte, mikrosirkülasyon bozukluğunun şiddetlendiği, apoptoz ve nekroza giden sürecin başladığı belirtilmiştir (63,133-135). Teoh ve ark (136), hepatik İR hasarının mekanizmalarını araştırdıkları çalışmalarında, bu iki faz arasında "intermediet faz" olduğunu ve bu zaman aralığının oksidatif stres, kemokin ve

sitokinlerin pik yaptığı dönem olduğunu bildirmişlerdir. Guo ve ark (137), tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 60 dakika iskemi oluşturduktan sonra reperfüzyonun 0.5, 2, 6, 12, 24. saatlerinde hepatik mikrovasküler akımı belirlemek amacıyla tomografi kullanmışlardır. Bu çalışmada hepatik akımın en fazla 6. saatte arttığı, 12. ve 24. saatlerde ise giderek azaldığı görülmüştür. Aynı çalışmada hepatik hasarın göstergesi olarak kullanılan aminotransferaz düzeylerinin, hepatik akım indeksi ile korele olarak yükseldiği gösterilmiştir. Bizde, deneysel rat çalışmamızda iskeminin ortadan kaldırılması ile başlayan reperfüzyon süresini 6 saat olarak belirledik.

Dufour ve ark (138)'nın karaciğer hasarının tanısında ve monitörizasyonunda laboratuvar testlerinin önemini gösteren çalışmasında, transaminazların (AST, ALT) ve LDH'nin hepatosit hasarını göstermedeki duyarlılığı vurgulanmıştır. Seeto ve ark (139), aminotransferaz düzeylerinin en fazla iskemik ve toksik karaciğer hasarında yükseldiğini bildirmiştir. Aynı çalışmada iskemik ya da toksik karaciğer hasarı olan vakaların %90'ında aminotransferazlar, %80'inde ise LDH ve bilirubin düzeyi yüksek olarak ölçülmüştür. Yirmibeşoğlu ve ark (140) hepatik İR hasarı oluşturdukları ratlarda endotelin-1 inhibitörü olan lisinopril kullanmış ve karaciğer hasarını ve ilacın hasara etkisini ALT düzeyi ile değerlendirmiştir. Zeng ve ark (141), karaciğer transplantasyonunda görülen İR hasarına karşı hemoksigenaz-1 etkilerini araştırdıkları çalışmada hepatik hasar göstergesi olarak aminotransferazları kullanmıştır. Bizim çalışmamızda da karaciğerde hücre hasarı ve yıkımını gösteren en güvenilir parametrelerden olan serum ALT, AST ve LDH düzeyleri ölçülmüştür. Sham grubu ile İR grubu arasında AST, ALT, LDH düzeyleri arasındaki anlamlı fark bize deneysel modelimizde oluşturduğumuz karaciğer hasarını göstermektedir. Ancak AST,ALT, LDH hasarı gösterebilir, inflamatuvar mekanizmalar üzerine olan etkiyi göstermekte yetersizdir. Bu nedenle, Karaciğer İR hasarının inflamatuvar etkilerini ve kullanmış olduğumuz ilaçların hasarın patogenezinde önemli rol oynayan mekanizmalar üzerine olan etkilerini araştırmak için inflamatuvar sitokinlerin ve antiinflamatuvar olarak bilinen IL-10'un serum düzeylerini ölçtük. Hatano ve ark (142), viral hepatit, alkolik hepatit, İR hasarı, fulminan karaciğer yetmezliği, kolestatik karaciğer hasarı ve kanser de dahil olmak üzere pek çok karaciğer hastalığının, hepatositlerde meydana gelen apoptoz ile bağlantılı olduğunu ve apoptotik mekanizmalarda TNF- α nın önemli bir rol üstlendiğini bildirmiştir. TNF- α 'nın kronik hepatit B ve C infeksiyonlarında da rol aldığı düşünülmektedir. Osawa ve ark (143) hepatosit hücre kültürlerinde yaptıkları

çalışmada, X- ray ile indüklenen ve immediate early response factor-1 (IEF-1) olarak isimlendirdikleri proapoptotik bir genden bahsetmişlerdir. Hepatik hasarla birlikte meydana gelen TNF- α düzeyindeki artışın bu geni indüklediğini ve böylece apoptotik yolların aktive olarak hepatik hücrelerde apoptozisin arttığını göstermişlerdir. Feldstein ve ark (144), alkolik olmayan steatohepatitli hastalarla yaptığı klinik çalışmalarında TNF- α reseptörlerinin ekspresyonun arttığını ve buna bağlı olarak oksidatif stres ve artmış apoptozis reseptör aktivasyonun bu hastalıktaki hepatosellüler hasara neden olduğunu göstermişlerdir. Streetz ve ark (145) yaptıkları in-vitro bir çalışma ile TNF- α reseptörlerinin TNF- α sinyal yolları ile etkileşiminin inhibe edilmesiyle apoptozisin engellenebileceğini ve böylece karaciğer hasarının azaltılabileceğini göstermişlerdir. Veal ve ark (146), lipopolisakkaritlerle TNF- α stimülasyonunu arttırarak oluşturdukları invitro karaciğer hasarında, karaciğeri koruyucu birçok özelliği olduğu bilinen S-adenosylmethionine'in hepatik makrofajlardan TNF- α salınımını azaltarak bu etkiyi sağladığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da serumda inflamatuvar sürecin ve apoptozisin parametresi olan TNF- α düzeyinin, İR grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak yükselmiş olması oluşturulan İR hasarının, inflamatuvar ve apoptotik mekanizmaları aktive ettiğini göstermektedir. Ayrıca uyguladığımız NAC, deksmedetomidin ve flumazenil gruplarında TNF- α düzeyinin İR grubuna göre düşük olması bu ilaçların karaciğer İR hasarında etkili olabileceğini göstermektedir.

Kato ve ark (55) hepatik İR hasarında, inflamatuvar mekanizmaların ve hasarın ilerlemesinden nötrofil göçünün sorumlu olduğunu ve TNF- α ile IL-1'in bu hasar mekanizmasının mediatörü olduğunu bildirmişlerdir. Bu deneysel çalışmada IL reseptör blokörleri kullanılmış, histopatolojik incelemede karaciğer dokusunda nötrofil birikiminde azalma görülmüştür. Ayrıca IL-1 reseptör antagonisti verilen grupta, transkripsiyon faktörü, NF- κ B ve kemokinlerin azalmış ekspresyonu, makrofaj inflamatuvar protein-2'nin azalmış aktivasyonu görülmüştür. Çalışmamızda, İR grubuna göre ilaçlarımızı uyguladığımız gruplarda IL-1 β düzeylerinin daha düşük olması kullandığımız ilaçların karaciğer İR hasarında etkin olduklarını göstermektedir.

Coelho ve ark (147) hepatik İR hasarı üzerine poliansatüre yağ asitlerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, ratlarda İR hasarı oluşturmuş ve poliansatüre yağlarla zenginleştirilmiş diyet uygulanan grupta AST, ALT, TNF- α düzeylerindeki azalmaya

paralel olarak IL-6 düzeyinde de azalma tespit etmişlerdir. Tagawa ve ark (148)'nın çalışmasında "concanavalin A" adı verilen toksik maddeyle ilişkili hepatotoksistide IL-6'nın bifazik artış gösterdiği bildirilmiştir. Dinant ve ark (58) ise IL-10'un hepatik İR hasarında hepatosit proliferasyonuna etkilerini incelemişler ve histopatolojik olarak nekroz, vakuolizasyon ve inflamasyonu değerlendirilmiştir. Çalışmalarında, diğer sitokinler üzerine inhibitör etkisi bulunduğu bilinen IL-10'un, nekroz ve apoptozu belirgin bir şekilde azalttığı, parsiyel karaciğer rezeksiyonlarından sonra rejenerasyonu artırabileceğini ve hepatik İR hasarına karşı koruyucu olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda Sham grubu ile İR grubu arasında IL-1, IL-6, IL-10 düzeyleri arasındaki anlamlı farklılık, deneysel modelimizde sitokinlerle ilişkili inflamatuvar mekanizmaların çalıştığını göstermektedir. Ayrıca deksmedetomidin ve flumazenil uygulanan grupta IL-10 düzeylerinin yüksek olması karaciğer İR hasarında koruyucu etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Hepatik İR hasarının patofizyolojisini araştıran çalışmalar, hasarın tedavisi için yol gösterici olmuşlardır. Tedaviye yönelik en sık kullanılan farmakolojik stratejiler, antioksidanlar, anti-inflamatuvar ilaçlar ve vasodilatörlerdir. Glantzounis ve ark (72) antioksidan maddelerin bu amaçla kullanılmasının, ROS ve RNS'nin üretimini azaltıp endojen antioksidanların desteklenmesine yönelik olduğunu göstermişlerdir. Bu amaçla, antioksidan etkisi bilinen melatonin Rodríguez ve ark (149) tarafından hepatik İR hasarında kullanılmış ve etkili olduğu gösterilmiştir. Sener ve ark (150) melatonin ve NAC kullandıkları çalışmalarında ilaçların tek başlarına hepatik İR hasarı üzerine etkili olduklarını ve birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etki göstererek hasarda daha belirgin bir azalma meydana getirdiklerini göstermişlerdir. Bu çalışmada ilaçların etkisi antioksidan özelliklerine bağlanmıştır. Wheeler ve ark (151), antioksidan bir enzim olduğu bilinen SOD'nin hepatik İR hasarını azalttığını göstermişlerdir. Yabe ve ark (152) farelerde yaptıkları araştırmada hepatik İR oluşturmuşlar ve rekombinant SOD ve katalaz kullanmışlardır. Hepatik İR hasarında SOD'nin sadece ROS üretimini azaltmadığını aynı zamanda ICAM-1'in ekspresyonunun inhibisyonu ile nötrofil akümüülasyonunu azalttığını göstermişlerdir. Selektin, siklooksijenaz-2 ve proteaz inhibisyonu, sitokin (TNF- α ve IL-1) ve kemokin blokajı, steroidler, takrolimus ve siklosporin gibi kalsinörin inhibitörleri, m-TOR inhibitörü olan rapamisin kullanımı gibi çeşitli antiinflamatuvar stratejiler araştırılmış ve İR hasarı üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir (153-155). Mitokondriyal geçirgenliğin artışının inhibitörleri (siklosporin

A, trifluoperazin), anti-Fas ya da anti-Fas ligand antikorları, antiapoptotik proteinler (Bcl-x (L)) ve kaspaz inhibitörleri gibi çeşitli antiapoptotik stratejiler incelenmiş, faydalı etkileri görülmüş fakat, klinik kullanımı karsinojenik potansiyelleri nedeniyle sınırlanmıştır (156-158). Bütün bu çalışmalar, kullanılan ilaçların etkinliği ile beraber, etki mekanizmaları konusunda da bilgi vermektedir. Hepatik İR hasarının önlenmesinde ve tedavisinde anti-inflamatuar ve antioksidan özelliği bilinen NAC sıklıkla araştırılmış, çeşitli yöntem ve dozlarda kullanılmıştır. Hepatik İR hasarında NACin etkilerini araştıran deneysel çalışmalar, çoğunlukla ilacı iskemi öncesinde uygulamışlardır. Nakano ve ark (159) yaptıkları çalışmada, hepatik hasar oluşturmuş ve NAC'in iskemi öncesi dönemde verildiğinde sinüzoidal hücrelerde oksidatif strese karşı etkili olduğunu, fakat reperfüzyon döneminde verilen NAC'in hasar üzerine olumlu etkilerinin kaybolduğunu göstermişlerdir. Sadowska ve ark (160) araştırmalarında , NAC'in anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklerinin ilacın kullanım dozu ile ilişkili olduğunu, i.v 150 mg/kg dozda anti inflammatuar ve antioksidan etkilerinin görülebildiğini belirtmişlerdir. Glantzounis ve ark (161) ile Fusai ve ark (130) tavşanlarda NAC'i 150mg/kg i.v yolla kullanmışlar, Galhardo ve ark (162) ise farelerde oluşturdukları iskemi öncesi 150mg/kg i.v NAC kullanmışlardır. Bizde çalışmamızda NAC'i iskemi öncesinde, i.v yolla 150 mg/kg dozunda kullandık.

Çalışmamızda kullandığımız diğer ilaçlar, deksmedetomidin ve flumazenil, daha önce hepatik İR hasarı üzerine etkileri araştırılmamış ajanlardır. Dexmedetomidinin, renal, serebral ve kardiyak İR hasarında kullanımına ilişkin çalışmalar mevcuttur. Curtis ve ark (163)'nın deneysel çalışmasında, ratlarda renal İR hasarı oluşturulmuş ve dexmedetomidin ile S(+)-ketaminin renal İR hasarındaki etkileri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada dexmedetomidin i.v 1µg/kg dozunda kullanılmıştır. Gu ve ark (164) ise dexmedetomidinin İR hasarına karşı etkilerini araştırdıkları çalışmada, ilacın iskemi öncesi ya da sonrası uygulanmasının İR hasarına karşı ilacın etkinliğini değiştirmediğini göstermişlerdir. Rivo ve ark (165)'nin tavşan kalbinde oluşturdukları İR hasarına Flumazenilin etkilerini araştırdıkları çalışmada 0,05 mg/kg Flumazenil iskemi öncesi kullanılmıştır. Goulenok ve ark (166) meta-analitik çalışmalarında siroz hastalarında meydana gelen hepatik ensefalopatide i.v 1mg/kg dozunda flumazenilin elektroensefalogramda ve nörolojik skorda iyileşmeye neden olduğunu göstermişlerdir. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında daha önce kullanılmamış olan flumazenil ve dexmedetomidin, çalışmamızda iskemi öncesinde, i.v yolla uygulanmıştır. Sınırlı

literatür bilgileri ışığında flumazenilin i.v 1mg/kg, deksmedetomidinin i.v 1µg/kg dozunda kullanılmasına karar verilmiştir.

İskemi-reperfüzyon hasarının tespiti ve hasar seviyesinin ölçümü için çeşitli hasar skorlama sistemleri tanımlanmıştır. Bu skorlama sistemleri, hücre hasar safhalarındaki doku değişikliklerini incelemekte ve bulgunun seviyesine göre puanlanmaktadır. Her ne kadar göreceli de olsa, mevcut doku hasarını en somut ortaya koyan yöntem histopatolojik incelemedir. Bizim çalışmamızda da, İR hasarını ve ilaçların hasar üzerine etkilerini araştırmak histopatolojik bakı yapılmıştır. Giovanardi ve ark (167) karaciğer iskemi reperfüzyon hasarındaki temel mekanizmanın mitokondriyal hasar olduğunu göstermişlerdir. Abu-amara ve ark (46) uzaktan önkoşullamanın karaciğer İR hasarına etkilerini araştırdıkları çalışmada, mitokondrial hasarın immunohistokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri üzerine önkoşullamanın etkilerini araştırmışlardır. Pek çok çalışmada mitokondrial hasarın bir göstergesi olan vakuolizasyonun anoksik dönemde arttığı gösterilmiştir. Bunlardan Li ve ark (168) vakuolizasyon oluşumunda ikinci bir mekanizmadan söz etmişlerdir. Bu mekanizma reperfüzyonla meydana gelen yüksek sinüzoidal kan basıncıdır. Selzner ve ark (32) hücrenin oksijensiz kalmasıyla meydana gelen ATP eksikliğinin, hücre membranındaki Na-K pompa yetmezliğine neden olduğunu ve hücre içi Na birikimiyle SEClerde dilatasyon meydana geldiğini, kompleks mekanizmalarla hasarın ilerlediğini, sinüzoidlerde akımın kaybolduğunu ve sonuçta hücrenin apoptoz ve nekroza gittiğini göstermişlerdir. Bu nedenle pek çok araştırmacı hepatik İR hasarında meydana gelen patofizyolojik değişiklikleri ve tedavi etkinliklerini bu mekanizma üzerinden araştırmışlardır(123). Bu araştırmalarda en sık bakılan parametreler vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve apoptoz/ nekrozdur. Bizde çalışmamızda İR hasarını belirlemek ve kullandığımız ilaçların hasar üzerine etkinliklerini histopatolojik yönden araştırmak için bu parametreleri kullandık.

NAC'in İR hasarına etkilerini inceleyen çalışmalar, asetaminofen intoksikasyonunda kullanılan NACin, ilaca bağlı fulminan karaciğer yetmezliğinin önlenmesinde hayati role sahip olduğunun görülmesi ile birlikte karaciğer rezeksiyonu ve transplantasyonunda meydana gelen İR hasarının azaltılması ve önlenmesi için de klinik ve deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Nakano ve ark (159) rat karaciğerinde oluşturdukları iskemi reperfüzyon modelinde, NAC'in hepatosit için sistein kaynağı olduğunu ve karaciğer kupffer hücreleri üzerine koruyucu etkileri olduğunu göstermişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda NAC'in iskemi reperfüzyon hasarının

göstergeleri olan transaminazların serum düzeylerini anlamlı olarak düşürdükleri ve TNF- α gibi inflamatuvar süreçte rol alan sitokin düzeyleri üzerine faydalı etkileri gösterilmiştir(160). Tavşanlar üzerine yapılan çalışmalarda özellikle İR hasarının geç döneminde meydana gelen hepatik mikrosirkülasyon yetmezliği üzerine NAC'in olumlu etkilerini bildirilmiştir (161). Ancak NAC'ın, karaciğerde meydana gelen İR hasarında etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bunlardan Chavez- Cartaya ve ark (169)'nın oluşturduğu deneysel modelde, NAC iskemi öncesi intramusküler olarak uygulanmıştır. Belki de bu çalışmada uygulama yolunun farklı olması etkin sonuçlar almamalarına neden olabilir. Geç fazda görülen mikrosirkülasyon yetmezliği, histopatolojik değişikliklere yol açmaktadır (130,161). Çalışmamızda İR grubuna göre anlamlı olarak azalan hasar derecesi, çalışmamızda da mikrosirkülasyonun ve dolayısıyla histolojik bulguların NAC tarafından düzeltildiği sonucunu gösterir.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz ilaçlardan biri olan NAC, yıllardır hepatik İR hasarı için araştırılmış ve kullanılmış bir ilaçtır. Bizim çalışmamızda da İR hasarı üzerine olumlu etkileri histolojik ve biyokimyasal verilerle desteklenmiştir. Fakat çalışmamızın asıl önemi, karaciğer hasarında etkin olduğu görülen bu ilacın, daha önceden karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarında kullanılmamış olan dexmedetomidin ve flumazenilin etkileri ile karşılaştırılmasıdır.

Jin ve ark (170)'nın ratlar üzerinde oluşturdukları hepatik İR hasarında, antiapoptotik bcl-2'nin prognostik önemi vurgulanmıştır. Dahmani ve ark (119) dexmedetomidinin, caspaz-3 adı verilen proapoptotik molekülün ekspresyonunu azalttığını, Engelhard ve ark (117) ise tavşanlarda oluşturdukları serebral iskemi modelinde, dexmedetomidinin iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisini göstermişlerdir. Bu çalışmada, dexmedetomidinin nöroprotektif etkisinin proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki dengenin modülasyonuna veya iskemik hasara karşı önleyici etkilerine bağlı olabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda, dexmedetomidinin, karaciğer İR hasarında İR grubuna göre anlamlı bir şekilde, histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerde iyileşmeye neden olduğu görülmüştür. Dexmedetomidinin karaciğerde İR hasarı üzerine etkinlik mekanizması net olmamakla birlikte, proapoptotik ve antiapoptotik moleküller aracılığı ile etkisini göstermiş olabileceği düşünülmüştür. Gu ve ark (171) böbrek proksimal tubulus hücreleri ile yaptıkları invitro çalışmada, peroperatif meydana gelen böbrek İR hasarı üzerine dexmedetomidinin etkilerini araştırmışlardır. Histopatolojik,

immünohistokimyasal ve biyokimyasal verilere dayanılarak, dexmedetomidinin renal iskemik reperfüzyon hasarına karşı, böbrek koruması amacıyla, profilaktik ya da terapötik olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Taniguchi ve ark (5), ratlarda oluşturduğu endotoksik şok modelinde, α -2 adrenoseptör agonisti olan dexmedetomidinin, güçlü antiinflamatuvar etkisi ile TNF- α ve IL-6 seviyesini düşürdüğü ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda da dexmedetomidinin antiinflamatuvar etkisi gösterilmiş ve TNF- α ve IL-6 seviyesi İR grubuna göre düşük bulunmuştur.

Wang ve ark (172) ile Murata ve ark (173) K_{ATP} kanallarının açılmasıyla birlikte, iskemik süreçte meydana gelen, mitokondriyal Ca^{+2} birikiminin azaldığını ve iyon kanalındaki bu değişikliğin anti-apoptotik etkinlik gösterdiğini bulmuşlardır. K_{ATP} kanallarının açılması ile kardiyak iskemik hasardan korunma arasındaki ilişki gösterilmiştir. İskemik-reperfüzyon hasarının bilinen patofizyolojik mekanizmalarının dışındaki, K_{ATP} kanalları ve İR arasındaki bağlantı pek çok iskemik mekanizmanın ve ilacın, hasardaki etkinliğinin aydınlatılmasında yardımcı olmuştur. Dexmedetomidinin iskemik reperfüzyon hasarına karşı kullanıldığı bazı çalışmalarda, etki mekanizması araştırılmış ve K_{ATP} kanalları üzerinde durulmuştur. Ishiyama ve ark (174) köpeklerde yaptıkları *invivo* çalışmada, dexmedetomidinin K_{ATP} kanalları üzerine etkili olduğunu ve serebral kan akımı değişikliklerini bu kanallar üzerinden oluşturduğunu göstermişlerdir. Yamazaki ve ark (175) domuzlar üzerinde oluşturdukları karaciğer İR modelinde, K_{ATP} kanal açıcısı olarak nicorandil kullanmış ve ilacın İR hasarına karşı hepatik koruma oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki karaciğer İR hasarı üzerine dexmedetomidinin olumlu etkisinin muhtemel mekanizmalarından biride, K_{ATP} kanallarının açılması ve hepatik korumaya katkı sağlaması olabilir. Fakat daha net veri ve bilgiler için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Flumazenilin, akut ve kronik karaciğer disfonksiyonu ile ilişkili, beyin fonksiyonlarındaki bozukluk olan hepatik ensefalopatide etkin olduğunun görülmesi ve hepatik ensefalopatide oksidatif stresin rolünün bilinmesi ilacın bu yöndeki etkisinin araştırılması merakını doğurmuştur. Kosenko ve ark (102), amonyum asetat uyguladıkları ratlarda, flumazenil kullanımı ile birlikte, beyin ve karaciğerde glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimlerinin aktivitelerinin önemli biçimde azaldığını görmüşlerdir. Zhang ve Yao (9), flumazenilin kardiyomiyositlerde hücre

ölümünü azalttığını rapor etmişlerdir. Rivo ve ark (176) çalışmalarında tavşanlara uygulanan rejyonel myokardial iskemi ve sonrasında oluşturulan reperfüzyon hasarı üzerine flumazenil ve midazolamın etkileri karşılaştırılmıştır ve flumazenilin postiskemik hidroksil radikalleri oluşumunu ve infarkt sahasını azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada iskemik peryottan önce flumazenil kullanımı ile kardiyoprotektif etkiler elde edilmiştir. Flumazenilin kardiyomyositler üzerindeki bu olumlu etkileri adenosin, asetilkolin, K_{ATP} kanalları, ROS ve protein kinaz C gibi çok sayıda paralel endojen sinyal yolları ile ilgili gözükmemektedir. Benzodiazepinlerin etkileri temelde özellikle santral sinir sisteminde lokalize reseptörler üzerinde görülürken, periferik benzodiazepin reseptörleri diye anılan ve özellikle kalp ve karaciğer gibi periferik dokularda bulunan reseptörlerde görülmektedir. Leducq ve ark (177), SSR180575 diye anılan ve kalbi İR hasarına karşı koruyan bir spesifik periferik benzodiazepin antagonisti göstermişlerdir. Ayrıca, bu çalışmalarında mitokondrideki benzodiazepin reseptörlerinin identifiye edilmişlerdir. Hai ve ark (105) yaptıkları çalışmada, K_{ATP} kanalları açıcısı olarak tanımladıkları nikorandil adlı ilacı karaciğerde oluşturdukları iskemi reperfüzyon hasarına karşı kullanmışlardır. Nikorandilin karaciğerdeki olumlu etkilerini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda flumazenil, İR grubunda gösterdiğimiz hasara karşı etkin bulunmuştur. Hasarın göstergesi olarak kullandığımız aminotransferazlar ve LDH düzeylerini anlamlı bir şekilde azaltmıştır.

Çalışmamız, kullandığımız biyokimyasal ve histopatolojik verilere göre, NAC, flumazenil ve deksmedetomidinin hepatik İR hasarını azalttığını göstermektedir.

6. SONUÇLAR

1. Hepatik İR hasarında, çeşitli mekanizmalarla etkinlik gösteren NAC, bizim çalışmamızda da hasar üzerine etkili bulunmuştur.
2. Deksmetomidin, karaciğer İR hasarında ilk kez kullanılmış, biyokimyasal ve histopatolojik olarak etkin bulunmuştur.
3. Flumazenil, karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında biyokimyasal ve histopatolojik olarak etkin bulunmuştur. Fakat NAC ve deksmedetomidine göre daha az etkili olduğu söylenebilir.
4. Total antioksidan denge ile total oksidan denge arasındaki oran olan OSI'nin Sham grubu ve İR grubu arasında anlamsız olması, hepatik İR hasarında oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin patofizyolojideki önemini sorgulamamız gerektiğini göstermiştir. Bu konuda ileri çalışmalar, hepatik İR hasarının tedavisinde yol gösterici olabilir.
5. Çalışmamızda, NAC, deksmedetomidin ve flumazenil, İR grubunda ki histopatolojik hasarı (vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve apoptoz/nekroz) göre anlamlı olarak azaltmıştır.
6. Çalışmamız, kullandığımız biyokimyasal ve histopatolojik verilere göre, NAC, flumazenil ve deksmedetomidinin hepatik İR hasarını azalttığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Mandrekar P, Szabo G. Inflammation and Liver Injury. In: Monga B, Satdarshan PS (eds), Molecular Pathology of Liver Diseases. Springer Science, New York 2011, pp.411-25.
2. de GH, Rauen U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. Transplant Proc 2007;39:481-4.
3. Kim YI. Ischemia-reperfusion injury of the human liver during hepatic resection. J Hepatobiliary Pancreat Surg 2003;10:195-9.
4. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. Cell Mol Life Sci 2003;60:6-20.
5. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y, Yamamoto K. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. Crit Care Med 2004;32:1322-6.
6. Nakano T, Okamoto H. Dexmedetomidine-induced cerebral hypoperfusion exacerbates ischemic brain injury in rats. J Anesth 2009;23:378-84.
7. Okada H, Kurita T, Mochizuki T, et al. The cardioprotective effect of dexmedetomidine on global ischemia in isolated rat hearts. Resuscitation 2007;74:538-545.
8. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, Yilmaz F, Gulcu N. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. Renal Failure 2009;31:70-74.
9. Zhang Q, Yao Z. Flumazenil preconditions cardiomyocytes via oxygen radicals and KATP channels. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000;279:1858-63.
10. Wei L, Yu SP, Gottron F, Snider BJ, Zipfel GJ, Choi DW. Potassium channel blockers attenuate hypoxia- and ischemia-induced neuronal death in vitro and in vivo. Stroke 2003;34:1281-6.

- 11.** Phillip S, Gelman S. Hepatic Physiology and Pathophysiology. In: Miller RD, Eriksson LI, Fleisher LA (eds), Miller's Anesthesia (7th ed). Churchill Livingstone, Philadelphia 2010, pp.411-40.
- 12.** Rutkauskas S, Gedrimas V, Pundzius J, Barauskas G, Basevičius A. Clinical and anatomical basis for the classification of the structural parts of liver. *Medicina (Kaunas)* 2006;42:98-106.
- 13.** Heriot AG, Karanjia ND. A review of techniques for liver resection. *Ann R Coll Surg Engl.* 2002;84:371–80.
- 14.** Schwartz SI. Liver. In: Timothy S, Steven AC (eds). *Schwartz's Principles of Surgery*. McGraw–Hill, Philadelphia 2004, pp.1139-87.
- 15.** Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM. Liver. In: Meyers WC, Chan RS (eds). *Sabiston Textbook of Surgery*. WB Saunders Company, Philadelphia 2004. pp.997–1059
- 16.** Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology Text & Atlas* (10th ed). McGraw-Hill Companies, USA 2003, pp.332-44.
- 17.** Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 2006;26:1175–86.
- 18.** Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas* (4th ed). Lippincott Williams & Wilkins, USA 2003, pp.532-48.
- 19.** Sherlock S, Dooley J. Anatomy and Function. In: Sherlock S, Dooley J (eds). *Diseases of the Liver and Biliary System* (10th ed). Blackwell Science, Oxford 1997, pp.1-15.
- 20.** Kuntz E, Kuntz D. *Hepatology Text and Atlas* (3th ed). Springer, Berlin 2001, pp.36-75.
- 21.** Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. *Transplant Proc* 2005;37:1653-56.
- 22.** Rushing GD, Britt LD. Reperfusion injury after hemorrhage: a collective review. *Ann Surg* 2008;247:929-37.
- 23.** Birrer R, Takuda Y, Takara T. Hypoxic hepatopathy: pathophysiology and prognosis. *Intern Med* 2007;46:1063-70.

24. Hasegawa T, Ito Y, Wijeweera J, et al. Reduced inflammatory response and increased microcirculatory disturbances during hepatic ischemia reperfusion injury in steatotic livers of ob/ob mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:1385-95.
25. Jang JH, Kang KJ, Kang Y, Lee IS, Graf R, Clavien PA. Ischemic preconditioning and intermittent clamping confer protection against ischemic injury in the cirrhotic mouse liver. *Liver Transpl* 2008;14:980-8.
26. Yokoyama Y, Nagino M, Nimura Y. Which gender is better positioned in the process of liver surgery? Male or female? *Surg Today* 2007;37:823-30.
27. Weinbroum AA, Kidron A, Hochhauser E, Hochman A, Rudick V, Vidne BA.. Liver glutathione level influences myocardial reperfusion injury following liver ischemiareperfusion. *Med Sci Monit* 2001;7:1137-44.
28. Pine JK, Aldouri A, Young AL, et al. Liver transplantation following donation after cardiac death: an analysis using matched pairs. *Liver Transpl* 2009;15:1072-82.
29. Hirsch J, Niemann CU, Hansen KC, et al. Alterations in the proteome of pulmonary alveolar type II cells in the rat after hepatic ischemia-reperfusion. *Crit Care Med* 2008;36:1846-54.
30. Farmer DG, Amersi F, Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Current status of ischemia and reperfusion injury in the liver. *Transplant Rev* 2000;14:106-26.
31. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury - a fresh look. *Exp Mol Pathol*. 2003;74:86–93.
32. Selzner M, Selzner N, Jochum W, Graf R, Clavien PA. Increased ischemic injury in old mouse liver: an ATP-dependent mechanism. *Liver Transpl* 2007;13:382-90.
33. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009;22:46-55.
34. Montalvo EE, Escalante T, Pina E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2008;147:153-9.

35. Caban A, Oczkowicz G, Abdel-Samad O, Cierpka L. Influence of Kupffer cells on the early phase of liver reperfusion. *Transplant Proc* 2002;34:694-7.
36. Tsukamoto H. Redox regulation of cytokine expression in Kupffer cells. *Antioxid Redox Signal* 2002;4:741-8.
37. Kuboki S, Sakai N, Tschöp J, Edwards M, Lentsch A, Caldwell C. Distinct contributions of CD4+ T cell subsets in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;296:1054-9.
38. Tomiyama K, Ikeda A, Ueki S, et al. Inhibition of Kupffer cell-mediated early proinflammatory response with carbon monoxide in transplant-induced hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Hepatology* 2008;48:1608–20
39. Gujral JS, Bucci TJ, Farhood A, Jaeschke H. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? *Hepatology* 2001;33:397-405.
40. Jaeschke H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290:1083-8.
41. Burne M, Elghandour A, Haq M, et al. IL-1 and TNF independent pathways mediate ICAM-1/VCAM-1 up-regulation in ischemia reperfusion injury. *J Leukocyte Biol* 2001;70:192-8.
42. Warle MC, Metselaar HJ, Hop WCJ, et al. Early differentiation between rejection and infection in liver transplant patients by serum and biliary cytokine patterns. *Transplantation* 2003;76:146-51.
43. Esch JSA, Jurk K, Knoefel WT Platelet activation and increased tissue factor expression on monocytes in reperfusion injury following orthotopic liver transplantation. *Platelets* 2010;21:348-59.
44. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. The role of the complement system in ischemia- reperfusion injury. *Shock* 2004;21:401-9.

45. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 2007;68:1363-70.
46. Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, Fuller B, Davidson B, Seifalian A. Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review. *Liver Transpl* 2010;16:1016-32.
47. Keen LJ. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transpl Immunol* 2002;10:143-6.
48. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell. Biol* 2001;11:372–7.
49. Waterston A, Bower M. TNF and cancer: good or bad? *Cancer Therapy*. 2004;2:131-48.
50. Matsumoto T, O'Malley K, Efron PA, et al. Interleukin- 6 and STAT3 protect the liver from hepatic ischemia and reperfusion injury during ischemic preconditioning. *Surgery* 2006;140:793-802.
51. Ke B, Shen XD, Tsuchihashi S, et al. Viral interleukin-10 gene transfer prevents liver ischemia-reperfusion injury: Toll-like receptor-4 and heme oxygenase-1 signaling in innate and adaptive immunity. *Hum Gene Ther* 2007;18:355-66.
52. Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290:583-9.
53. Subramaniam S, Stansberg C, Cunningham C. The interleukin-1 receptor family. *Dev Comp Immunol* 2004;28:415–28.
54. Zhai Y, Shen XD, Gao F, et al. CXCL10 regulates liver innate immune response against ischemia and reperfusion injury. *Hepatology* 2008;47:207-14.
55. Kato A, Gabay C, Okaya T, Lentsch AB. Specific role of interleukin- 1 in hepatic neutrophil recruitment after ischemia/ reperfusion. *Am J Pathol* 2002;161:1797-803.

56. Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, et al. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001;14:705-714.
57. Tacchini L, Cairo G, De Ponti C, Massip M, Catafau M. Up regulation of IL-6 by ischemic preconditioning in normal and fatty rat livers: association with reduction of oxidative stress. *Free Radic Res* 2006;40:1206-17.
58. Dinant S, Vetelainen RL, Florquin S, van Viliet AK, van Gulik TM. IL-10 attenuates hepatic I/R injury and promotes hepatocyte proliferation. *J Surg Res* 2007;141:176-82.
59. Yagihashi A, Hirata K, Zou XM, et al. Downregulation of cytokine-induced neutrophil chemoattractants and reduction of reperfusion injury in liver allograft by interleukin- 10. *Transplant Proc* 2000;32:2310-3.
60. Sabat R. IL-10 family of cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010;2:315-24.
61. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu. Rev. Immunol* 2001;19:683–765.
62. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* (3rd ed.) Oxford University Pres, New York,1999.
63. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:718-24.
64. Nohl H, Gille L, Kozlov A, Staniek K. Are mitochondria a spontaneous and permanent source of reactive oxygen species? *Redox Rep* 2003;8:135-41.
65. Sutton HC, Winterbourn CC. On the participation of higher oxidation states of iron and copper in Fenton reactions. *Free Radic Biol Med* 1989;6:53-60.
66. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-12.
67. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, et al. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: The influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:9220-5.

68. Hon WM, Lee KH, Khoo HE. Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby? *Ann N Y Acad Sci* 2002;962:275-95.
69. Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett* 2003;140-141:105-12.
70. Weitzberg E, Hezel M, Lunderg JO. Nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: Implications for anesthesiology and intensive care. *Anesthesiology*. 2010;113:1460–75.
71. Liu TZ, Lee KT, Chern CL, Cheng JT, Stern A, Tsai LY. Free radical-triggered hepatic injury of experimental obstructive jaundice of rats involves overproduction of proinflammatory cytokines and enhanced activation of nuclear factor kappaB. *Ann Clin Lab Sci* 2001;31:383-90.
72. Glantzounis GK, Salacinski HJ, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemiareperfusion injury: a review. *Liver Transpl* 2005;11:1031–47.
73. Zelko IN, Thomas JM, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 2002;33:337-49.
74. Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superoxide dismutase applications and relevance to human diseases. *Med. Sci. Monit.* 2002;8:210–5.
75. Bizler M, Paumgartner G, Gerbes AL. Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after hypothermic preservation. *Gastroenterology* 1999;117:200-10.
76. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 2004;37:277-85.
77. Benzie I.F, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 1999;299:15-27.

78. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005;9:1-9.
79. Chyka PA, Butler AY, Holliman BJ, Herman MI. Utility of acetylcysteine in treating poisonings and adverse drug reactions. *Drug Saf* 2000;22:123–48.
80. Grinberg L, Fibach E, Amer J, et al. N-acetylcysteine amide, a novel cell-permeating thiol, restores cellular glutathione and protects human red blood cells from oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2005;38:136–45
81. Benrahmoune M, Therond P, Abedinzadeh Z. The reaction of superoxide radical with N-acetylcysteine. *Free Radic Biol Med* 2000;29:775–82.
82. Desaki M, Takizawa H, Kasama T, et al. Nuclear factor-kb activation in silica-induced interleukin 8 production by human bronchial epithelial cells. *Cytokine* 2000;12:1257–60.
83. Wuyts WA, Vanaudenaerde BM, Dupont LJ, et al. Involvement of p38 MAPK, JNK, p42/p44 ERK and NF-kB in IL-1beta-induced chemokine release in human airway smooth muscle cells. *Respir Med* 2003;97:811–7.
84. Paterson RL, Galley GF, Webster NR et al: The effect of Nacetylcysteine on nuclear factor-kB activation, IL- 6, IL- 8 and intercellular adhesion molecule- 1 expression in patients with sepsis. *Crit Care Med* 2003;31:2574-8.
85. Bajt ML, Knight TR, Lemasters JJ, et al. Acetaminophen-induced oxidant stress and cell injury in cultured mouse hepatocytes: protection by N-acetyl cysteine. *Toxicol Sci* 2004;80:343-9.
86. Shaikh ZA, Vu TT, Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;154:256–63.
87. Wu YJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. The chemoprotective agent N-acetylcysteine blocks cisplatin-induced apoptosis through caspase signaling pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;312:424–31.
88. Kaya H, Koc A, Sogut S, Duru M, Yilmaz HR, Uz E. The protective effect of N-acetylcysteine against cyclosporine A-induced hepatotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2008;28:15–20

89. Weigand MA, Plachky J, Thies JC, et al. N-acetylcysteine attenuates the increase in alpha-glutathione S-transferase and circulating ICAM- 1 and VCAM-1 after reperfusion in humans undergoing liver transplantation. *Transplantation* 2001;72:694–8.
90. Vairetti M, Griffini P, Pietrocola G, et al. Cold-induced apoptosis in isolated rat hepatocytes: protective role of glutathione. *Free Radic Biol Med* 2001;31:954–61.
91. Gong G, Waris G, Tanveer R, et al. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NFkappa B. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:9599–604.
92. Waris G, Huh KW, Siddiqui A. Mitochondrially associated hepatitis B virus X protein constitutively activates transcription factors STAT- 3 and NF-kappa B via oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2001;21:7721–30.
93. Rank N, Michel C, Haertel C, et al. *N*-acetylcysteine increases liver blood flow and improves liver function in septic shock patients: results of a prospective, randomized, double-blind study. *Crit Care Med* 2000;28:3799-807.
94. Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, et al. Protective effects of N-acetyl-L-cysteine in endotexmia. *Am J Physiol* 1994;266:1746-54.
95. Spapen H, Zhang H, Demanet C, et al. Does *N*-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest* 1998;113:1616-24.
96. San Miguel B, Alvarez M, Culebras JM, et al. N-acetyl-cysteine protects liver from apoptotic death in an animal model of fulminant hepatic failure. *Apoptosis* 2006;11:1945–57.
97. Kim YM, Kim TH, Chung HT, et al. Nitric oxide prevents tumor necrosis factor a-induced rat hepatocyte apoptosis by the interruption of mitochondrial apoptotic signaling through S-nitrosylation of caspase 8. *Hepatology* 2000;32:770-8.
98. Mourelle M, Beales D, McLean AE. Prevention of paracetamol-induced liver injury by fructose. *Biochem Pharmacol* 1991;41:1831-37.

99. Casellas P, Galiegue S, Basile AS. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function. *Neurochem Int* 2002;40:475–86.
100. A Beurdeley-Thomas, L Miccoli, S Oudard, et al. The peripheral benzodiazepine receptors. *J. Neurooncol* 2000;46:45–56.
101. Dursun M, Caliskan M, Canoruc F, ve ark. The efficacy of flumazenil in subclinical to mild hepatic encephalopathic ambulatory Patients: A prospective, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Swiss Med Wkly* 2003;133:118-23.
102. Kosenko E, Kaminski Y, Lopata O, et al. Blocking NMDA receptors prevents the oxidative stress induced by acute ammonia intoxication. *Free Radic Biol Med* 1999;26:1369-74.
103. Wei L, Yu SP, Gottron F, et al. Potassium channel blockers attenuate hypoxia- and ischemia-induced neuronal death in vitro and in vivo. *Stroke* 2003;34: 1281-6.
104. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, et al. Differential effects of anesthetics on mitochondrial KATP channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002;97:15–23.
105. Hai S, Takemura S, Minamiyama Y, et al. Mitochondrial K(ATP) channel opener prevents ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Transplant Proc* 2005;37:428- 31.
106. Reves JG, Glass SA, Lubarsky DA, McEvoy MD, Martinez-Ruiz R. Intravenous Anesthetics. In: Miller RD, Eriksson LI, Fleisher LA (eds). *Miller's Anesthesia* (7th ed). Churchill Livingstone, Philadelphia 2010, pp.751-7.
107. Nelson LE, Lu J, Guo T, et al. The alpha2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects. *Anesthesiology* 2003;98:428-36.
108. Venn RM, Hell J, Grounds RM. Respiratory effects of dexmedetomidine in the surgical patient requiring intensive care. *Crit Care* 2000;4:302–8.
109. Arain SR, Ebert TJ. The efficacy, side effects, and recovery characteristics of dexmedetomidine versus propofol when used for intraoperative sedation. *Anesth Analg* 2002;95:461– 6.

110. Talke P, Lobo E, Brown R. Systemically administered alpha2- agonist-induced peripheral vasoconstriction in humans. *Anesthesiology* 2003;99:65–70.
111. Taniguchi T, Kurita A, Kobayashi K, et al. Dose- and time-related effects of dexmedetomidine on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *J Anesth* 2008;22:221–8.
112. Venn RM, Bryant A, Hall GM, et al. Effects of dexmedetomidine on adrenocortical function, and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in post-operative patients needing sedation in the intensive care unit. *Br J Anaesth* 2001;86:650–6.
113. Weatherby KE, Zwilling BS, Lafuse WP, et al. Resistance of macrophages to *Mycobacterium avium* is induced by alpha2-adrenergic stimulation. *Infect Immun* 2003;71:22–9.
114. Gets J, Monroy FP. Effects of alpha- and beta-adrenergic agonists on *Toxoplasma gondii* infection in murine macrophages. *J Parasitol* 2005;91:193–5.
115. Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Clin Invest* 2007;117:289–96.
116. Nance DM, Sanders VM. Autonomic innervation and regulation of the immune system (1987–2007). *Brain Behav Immun* 2007;21:736–45.
117. Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, et al. The effect of the alpha 2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosisregulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg* 2003;96:524–31.
118. Sud R, Spengler RN, Nader ND, et al. Antinociception occurs with a reversal in alpha 2-adrenoceptor regulation of TNF production by peripheral monocytes/macrophages from pro- to anti-inflammatory. *Eur J Pharmacol* 2008;58:217–231.
119. Dahmani S, Rouelle D, Gressens P, Mantz J. Effects of dexmedetomidine on hippocampal focal adhesion kinase tyrosine phosphorylation in physiologic and ischemic conditions. *Anesthesiology* 2005;103:969–77.

- 120.** Ma D, Hossain M, Rajakumaraswamy N, Arshad M, Sanders RD, Franks NP, Maze M. Dexmedetomidine produces its neuroprotective effect via the alpha 2A-adrenoceptor subtype. *Eur J Pharmacol* 2004;502:87–97.
- 121.** Paris A, Mantz J, Tonner PH, Hein L, Brede M, Gressens P. The effects of dexmedetomidine on perinatal excitotoxic brain injury are mediated by the alpha2A-adrenoceptor subtype. *Anesth Analg* 2006;102:456–61.
- 122.** Drummond JC, Dao AV, Roth DM, Cheng CR, Atwater BI, Minokadeh A, Pasco LC, Patel PM. Effect of dexmedetomidine on cerebral blood flow velocity, cerebral metabolic rate, and carbon dioxide response in normal humans. *Anesthesiology* 2008;108:225–32.
- 123.** Abu-Amara M, Yang SY, Quaglia A, et al. Effect of Remote Ischemic Preconditioning on Liver Ischemia/Reperfusion Injury Using a New Mouse Model. *Liver Transpl* 2011;17:70-82.
- 124.** Nakajima Y, Shimamura T, Kamiyama T, Matsushita M, Sato N, Todo S. Control of intraoperative bleeding during liver resection: analysis of a questionnaire sent to 231 Japanese hospitals. *Surg Today* 2002;32:48–52.
- 125.** Van der Bilt JD, Livestro DP, Borren A, van Hillegersberg R, Borel Rinkes IHM. European survey on the application of vascular clamping in liver surgery. *Dig Surg* 2007;24:423-35.
- 126.** Gurusamy KS, Sheth H, Kumar Y, Sharma D, Davidson BR. Methods of vascular occlusion for elective liver resections. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(1):CD007632.
- 127.** Llacuna L, Mari M, Lluís JM, Garcia-Ruiz C, Fernandez-Checa JC, Morales A. Reactive oxygen species mediate liver injury through parenchymal nuclear factor- kappaB inactivation in prolonged ischemia/reperfusion. *Am J Pathol* 2009;174:1776-85.
- 128.** Jin X, Wang L, Wu HS, Zhang L, Wang CY, Tian Y et al. N-acetylcysteine inhibits activation of toll-like receptor 2 and 4 gene expression in the liver and lung after partial hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007;6:284–9.

129. Smyrniotis V, Arkadopoulos N, Kostopanagiotou G, Theodoropoulos T, Theodoraki K, Farantos C. Attenuation of ischemic injury by N-acetylcysteine preconditioning of the liver. *J Surg Res* 2005;129:31–7.
130. Fusai G, Glantzounis GK, Hafez T, Yang W, Quaglia A, Sheth H. N-acetylcysteine ameliorates the late phase of liver ischaemia/reperfusion injury in the rabbit with hepatic steatosis. *Clin Sci* 2005;109:465–73.
131. Bamboat ZM, Balachandran VP, Ocuin LM, Obaid H, Plitas G, DeMatteo RP. Toll-like receptor 9 inhibition confers protection from liver ischemia-reperfusion injury. *Hepatology* 2010;51:621-32.
132. Jha S, Calvert JW, Duranski MR, Ramachandran A, Lefer DJ. Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury: role of antioxidant and antiapoptotic signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:801-6.
133. 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.
134. Pannen BH, Al-Adili F, Bauer M, Clemens MG, Geiger KK. Role of endothelins and nitric oxide in hepatic reperfusion injury in the rat. *Hepatology* 1998;27:755–64.
135. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, Post S, Menger MD. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145:1421–31.
136. Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:891–902.
137. Guo CW, Shen SD, Zhang Y, Liang CH, Yi XL, Luo W. Determination of Apparent Diffusion Coefficient to Quantitatively Study Partial Hepatic Ischemia Reperfusion Injury in a Rabbit Model. *Transplant Proc* 2011;43:1474–9.
138. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem* 2000;46:2027-49.

139. Seeto RK, Fenn B, Rockey DC. Ischemic hepatitis: clinical presentation and pathogenesis. *Am J Med* 2000;109:109-13.
140. Yirmibesoglu OA, Büyükgebiz O, Ars D, Unay Ö, Çevik D. Lisinopril Inhibits Endothelin-1 in the Early Period of Hepatic Reperfusion Injury in a Partial Hepatectomy Model. *Transplant Proc* 2011;43:2524-30.
141. Zeng Z, Huang HF, Chen MQ, Song F, Zhang YJ. Contributions of Heme Oxygenase-1 in Postconditioning-Protected Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Liver Transplantation. *Transplantation Proceedings* 2011;43:2517–23.
142. Hatano E. Tumor necrosis factor signaling in hepatocyte apoptosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:43–4.
143. Osawa Y, Nagaki M, Banno Y, Brenner DA, Nozawa Y, Moriwaki H, Nakashima S. Expression of the NF-kappa B target gene X-ray-inducible immediate early response factor-1 short enhances TNF-alpha-induced hepatocyte apoptosis by inhibiting Akt activation. *J Immunol* 2003;170:4053-60.
144. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Tanai M, Burgart LJ, Lindor KD. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003;125:437–43.
145. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, et al. Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 2000;119:446–60.
146. Veal N, Hsieh CL, Xiong S, et al. Inhibition of lipopolysaccharide stimulated TNF-alpha promoter activity by S-adenosylmethionine and 5'-methylthioadenosine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;287:352–62.
147. Coelho AM, Machado MC, Takahashi HK, et al. Ischemic preconditioning-like effect of polyunsaturated Fatty Acid-rich diet on hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Gastrointest Surg* 2011;15:1679-88.
148. Tagawa Y, Matthys P, Heremans H, et al. Bimodal role of endogenous interleukin-6 in concanavalin A-induced hepatitis in mice. *J Leukoc Biol* 2000; 67:90–6.

149. Rodriguez S, Leal C, Portilla E, Olivares N, Muniz J. Effect of exogenous melatonin on hepatic energetic status during ischemia/reperfusion: possible role of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide. *J Surg Res* 2001;100:141–9.
150. Sener G, Tosun O, Sehirli AO, Kacmaz A, Arbak S, Ersoy Y, Ayanoglu-Dulger G: Melatonin and N-acetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. *Life Sci* 2003;72:2707–18.
151. Wheeler MD, Katuna M, Smutney OM, et al. Comparison of the effect of adenoviral delivery of three superoxide dismutase genes against hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hum Gene Ther* 2001;12:2167–77.
152. Yabe Y, Kobayashi N, Nishihashi T, et al. Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia/reperfusion injury by superoxide dismutase and catalase derivatives. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;298: 894–9.
153. Toledo-Pereyra LH, Lopez-Neblina F, Reuben JS, Toledo AH, Ward PA. Selectin inhibition modulates Akt/MAPK signaling and chemokine expression after liver ischemia–reperfusion. *J Invest Surg* 2004;17:303–13.
154. Takeyoshi I, Sunose Y, Iwazaki S, Tsutsumi H, Aiba M, Kasahara M et al. The effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in extended liver resection with ischemia in dogs. *J Surg Res* 2001;100:25–31.
155. Arias-Diaz J, Ildefonso JA, Munoz JJ, Zapata A, Jimenez E. Both tacrolimus and sirolimus decrease Th1/Th2 ratio, and increase regulatory T lymphocytes in the liver after ischemia/reperfusion. *Lab Invest* 2009;89:433–45.
156. Selzner N, Rudiger H, Graf H, Clavien PA. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003;125: 917–36.
157. Nakajima H, Mizuta N, Fujiwara I, Sakaguchi K, Ogata H, Magae J. Blockade of the Fas/Fas ligand interaction suppresses hepatocyte apoptosis in ischemia–reperfusion rat liver. *Apoptosis* 2008;13:1013–21.
158. Nagai S, Asoh S, Kobayashi Y, Shidara Y, Mori T, Suzuki M. Protection of hepatic cells from apoptosis induced by ischemia/reperfusion injury by protein therapeutics. *Hepatol Res* 2007;37:133–42.

159. Nakano H, Boudjema K, Jaeck D, et al. Amelioration of hepatocellular integrity and inhibition of sinusoidal oxidative stress by n-acetylcysteine pretreatment in cold ischemiareperfusion injury of rat liver. *Eur Surg Res* 1996;28:245–55.
160. Sadowska AM, Manuel YK, De Backer WA. Antioxidant and anti-inflammatory efficacy of NAC in the treatment of COPD: Discordant in vitro and in vivo dose-effects: A review. *Pulm Pharmacol Ther* 2007;20:9–22.
161. Glantzounis GK, Yang W, Koti RS, Mikhailidis DP, Seifalian AM, Davidson BR. Continuous infusion of N-acetylcysteine reduces liver warm ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 2004;91:1330–9.
162. Galhardo MA, Quireze JC, Navarro PGR, Morello RJ, Simoes MDJ, Montero EFDS. Liver and lung late alterations following hepatic reperfusion associated to ischemic preconditioning or N-acetylcysteine. *Microsurgery* 2007;27:295–9.
163. Curtis FG, Vienna PTG, Viero RM, et al. Dexmedetomidine and S(+)-ketamine in ischemia and reperfusion injury in the rat kidney. *Acta Cir Bras* 2011;26:202-6.
164. Gu J, Chen J, Xia P, Tao G, Zhao H, Ma D. Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice. *Acta Anaesthesiol Scand* 2011;55:1272-8.
165. Rivo J, Raphael J, Drenger B, Berenshtein E, Chevion M, Gozal Y. Flumazenil mimics whereas midazolam abolishes ischemic preconditioning in a rabbit heart model of ischemia-reperfusion. *Anesthesiology* 2006;105:65-71
166. Goulenok C, Bernard B, Cadranel JF, et al. Flumazenil vs. placebo in hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:361-72.
167. Giovanardi RO, Rhoden EL, Cerski CT, Salvador M, Kalil AN. Ischemic preconditioning protects the pig liver by preserving the mitochondrial structure and downregulating caspase-3 activity. *J Invest Surg* 2009;22:88-97.
168. Li X, Elwell MR, Ryan AM, Ochoa R. Morphogenesis of postmortem hepatocyte vacuolation and liver weight increases in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 2003;31:682-8.

169. Chavez-Cartaya R, Jamieson NV, Ramirez P, Marina J, Pino-Chaveza G. Free radical scavengers to prevent reperfusion injury following warm liver ischemia. *Transplant Proc* 1999;31:2439–40.
170. Jin S, Dai CL. Attenuation of Reperfusion-Induced Hepatocyte Apoptosis is Associated with Reversed bcl-2/bax Ratio in Hemi-Hepatic Artery-Preserved Portal Occlusion. *J Surg Res* 2011;165:1-7.
171. Gu J, Sun P, Zhao H, et al. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Critical Care* 2011;14:153-63.
172. Wang L, Cherednichenko G, Hernandez L, et al. Preconditioning limits mitochondrial Ca^{+2} during ischemia in rat hearts: role of KATP channels. *Am J Physiol* 2001;280:2321–8.
173. Murata M, Akao M, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATPsensitive potassium channels attenuate matrix Ca^{2+} overload during simulated ischemia and reperfusion—possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res* 2001;89:891– 8.
174. Ishiyama T, Dohi S, Lida H, Watanabe Y, Shimonaka Y. Mechanisms of dexmedetomidine-induced cerebrovascular effects in canine in vivo experiments. *Anesth Analg* 1995;8:1208-15.
175. Yamazaki H, Oshima K, Sato H, et al. The effect of nicorandil on ischemia-reperfusion injury in a porcine total hepatic vascular exclusion model. *J Surg Res* 2011;167:49-55.
176. Rivo J, Raphael J, Drenger B, Berenstein E, Cheivon M, Gozal Y. Flumazenil mimics whereas midazolam abolishes ischemic preconditioning in a rabbit heart model of ischemia-reperfusion. *Anesthesiology* 2006;105:65-71.
177. Leducq N, Bono F, Sulpice T, et al. Role of peripheral benzodiazepine receptors in mitochondrial, cellular, and cardiac damage induced by oxidative stress and ischemia-reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:828–37.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA

Dr. Arzu SAĞLIK a ait, **“HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE N- ASETİL SİSTEİN, FLUMAZENİL VE DEXMEDETOMİDİN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI”** adlı çalışma, jürimiz tarafından **ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON** Anabilim Dalı’ nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza:

Başkan İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza