

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

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI
OLUŞTURULAN RATLARDA SUGAMMADEKSİN FARKLI
DOZLARININ KARACİĞER ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Atakan GENÇ

UZMANLIK TEZİ

Haziran 2018

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

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI
OLUŞTURULAN RATLARDA SUGAMMADEKSİN FARKLI
DOZLARININ KARACİĞER ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Atakan GENÇ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KARAGÖZ

Haziran 2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve klinik tecrübesiyle desteğini esirgemeyen anabilim dalı başkanımız saygıdeğer hocam sayın Doç. Dr. Abdullah DEMİRHAN'a,

Mesleki ve hayat tecrübelerinden faydalandığım, tezimin belirlenmesi ve tamamlanması süresince emek, yardım, hoşgörü ve desteğini esirgmeden bana destek olan değerli tez hocam Dr. Öğrt. Üyesi İbrahim KARAGÖZ'e

Eğitimim süresince benimle bilgi ve deneyimlerini paylaşan, her zaman destek sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Murat BİLGİ'ye, Doç. Dr. Akcan AKKAYA'ya, Doç. Dr. İsa YILDIZ'a, Dr. Öğrt. Üyesi Hamit YOLDAŞ'a,

Uzmanlık öğrenciliği sürecinde destek olan tüm asistan arkadaşlarıma,

Ameliyathane ve yoğun bakımda birlikte çalıştığım tüm anestezi teknisyen, tekniker, hemşire, sağlık memuru, sekreter personele ve hastane çalışanlarına,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen, bugünlere gelmem için büyük emek harcayan ve her zaman yanımda olan annem ve babama,

Zorlu ihtisas sürecinde destek ve ilgisini eksik etmeyip, olağanüstü sabır, anlayış ve hoşgörüsüyle her zaman yanımda olan sevgili eşim Esra'ya,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Atakan GENÇ

BOLU-2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
SUMMARY	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Karaciğer Anatomisi	4
2.1.1. Karaciğerin lobları	4
2.1.2. Karaciğer kan akımı.....	5
2.2. Karaciğer Histolojisi	6
2.2.1. Karaciğer lobülü	6
2.2.2. Hepatositler	7
2.2.3. Kupffer hücreleri	7
2.3. Karaciğerin Biyokimyasal ve Fizyolojik Fonksiyonları.....	8
2.3.1. Kan depo işlevi	8
2.3.2. Lenfoid doku olarak işlevi.....	8
2.3.3. Kan temizleme işlevi	8
2.3.4. Karaciğerin metabolik işlevleri	9
2.4. İskemi Reperfüzyon	11
2.4.1. İskemi reperfüzyon tanımı.....	11
2.4.2. Karaciğer iskemi reperfüzyonu.....	12
2.5. Serbest Radikaller	16
2.5.1. Süperoksit radikali (O ₂ ⁻)	18
2.5.2. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	19
2.5.3. Hidroksil (OH ⁻)	20
2.5.4. Singlet oksijen (¹ O ₂).....	21
2.5.5. NO (Nitrik oksit)	21
2.5.6. Serbest radikallerin yararları.....	22

2.5.7. Serbest radikallerin zararları	22
2.6. Antioksidanlar ve Savunma Mekanizmaları	24
2.6.1. Enzimatik endojen antioksidanlar	25
2.6.2. Nonenzimatik endojen antioksidanlar	27
2.7. Total Antioksidan Kapasite (TAS)	29
2.8. Total Oksidatif Stres (TOS).....	30
2.9. Tiyoller	30
2.10. Çalışmada Kullanılan Etken Maddeler	31
2.10.1. Ksilazin	31
2.10.2. Ketamin.....	31
2.10.3. Ketamin ve ksilazin.....	32
2.10.4. Sugammadeks.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi	36
3.2. Anestezi Uygulaması	36
3.3. Deney Grupları.....	36
3.4. Deneyin Yapılışı ve Örneklerin Alınması.....	37
3.5. Histolojik değerlendirme	38
3.6. Biyokimyasal Değerlendirme	39
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	40
4. BULGULAR	41
4.1. Biyokimyasal Değerlendirme Bulguları	41
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ.....	67
7. KAYNAKLAR	68

ÖZET

Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Oluşturulan Ratlarda Sugammadexin Farklı Dozlarının Karaciğer Üzerine Etkisi

Amaç: Bu çalışmanın amacı karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda sugammadexin farklı dozlarının karaciğer üzerine etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılmasıdır.

Materyal metod: Bu çalışmada 36 adet Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar randomize şekilde her grupta 6 hayvan olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Gruplar sham, kontrol, iskemi reperfüzyon (İ/R)-sugammadex 16mg/kg, İ/R-sugammadex 96mg/kg, İ/R+sugammadex 16mg/kg ve İ/R+ sugammadex 96mg/kg olarak düzenlendi. Karaciğer (İ/R) modeli hepatik pedikülün klempleneşmesi ile oluşturuldu. Bütün ratlara anestezi sonrası kuyruk veninden 24G intraket ile damar yolu açıldı. Sham grubunda laparotomi sonrası 30 dk beklendi ve sonrasında 1ml intravenöz (IV) serum fizyolojik (%0,9'luk NaCl) uygulandı. Kontrol grubu, İ/R+sugammadex 16mg/kg ve İ/R+sugammadex 96mg/kg gruplarına 30 dk iskemi sonrası 240 dk reperfüzyon uygulandı. Bu gruplara iskemi süresi sonunda toplam volem 1ml olacak şekilde sırasıyla %0,9'luk NaCl, 16mg/kg ve 96mg/kg sugammadex IV olarak uygulandı. İ/R-sugammadex 16mg/kg ve 96 mg/kg gruplarında laparotomi sonrası 30 dk beklendi. Bu gruplara toplam volem 1ml olacak şekilde sugammadex sırasıyla 16mg/kg ve 96mg/kg IV olacak şekilde uygulandı. İlaç uygulamasından 240 dk sonra karaciğerden doku örnekleri ve intrakardiyak kan örneği alındı. Kan örneklerinden biyokimya laboratuvarında AST, ALT, TAS, TOS, OSİ, serum native tiyol ve serum total tiyol düzeyleri çalışıldı. Doku örnekleri histoloji laboratuvarında hematoksilin eozin, VEGF ve TUNEL boyama ile değerlendirildi ve karaciğer hasarı Suzuki skorlaması ile değerlendirildi. Ayrıca TUNEL ve VEGF değerlendirmelerinde x40 objektif ile 20 alandaki + boyanan hücreler sayıldı. Buna göre ortalama değerler elde edildi ve istatistiksel olarak incelendi.

Bulgular: Gruplar histopatolojik olarak değerlendirildiğinde İ/R+sugammadex 16mg/kg ve 96mg/kg grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hematoksilin eozin ile boyanmada vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon, apoptoz, nekrozda azalma; VEGF ile boyanmada ekspresyonda azalma ve TUNEL ile boyanmada apoptozda azalma saptanmıştır. Bu azalma

İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubunda İ/R+sugammadeks 16mg/kg grubuna göre anlamlıdır ($p<0,05$). Suzuki skorlamasına göre İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Suzuki skorlaması açısından İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubunda İ/R+sugammadeks 16mg/kg grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük skorlar elde edildi ($p<0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg gruplarında kontrol grubuna göre VEGF ve TUNEL ekspresyonu anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p<0,05$). Ayrıca sugammadeks 96mg/kg grubunda sugammadeks 16mg/kg grubuna göre ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p<0,05$).

İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg gruplarında kontrol grubu ile serum ALT düzeyi açısından karşılaştırıldığında sayısal olarak daha düşük bulunmasına rağmen anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Gruplar serum AST düzeyi İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg gruplarında kontrol grubu ile TAS düzeyi açısından karşılaştırıldığında sayısal olarak daha yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). TOS düzeyi İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg gruplarında kontrol grubuna göre beklenenin aksine sayısal olarak yüksek ölçülmüştür ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). OSİ düzeyi İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Sugammadeksin 16mg/kg uygulandığı grupta İ/R hasarı üzerine serum native tiyol değerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düşürmüştür ($p<0,05$). Sugammadeksin 96mg/kg uygulandığı grupta ise serum native tiyol değerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş bulunmamıştır ($p>0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile kontrol grubu arasında serum total tiyol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda ratların histopatolojik incelenmesinde; iskemi sonrası uygulanan sugammadeksin 16mg/kg ve 96mg/kg dozlarının HE, VEGF VE TUNEL boyamada vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve apoptoz/nekrozu

azalttığı; TUNEL, VEGF boyamalarda apopitotik hücre sayısı ve Suzuki skorlaması ile değerlendirildiğinde iskemi sonrası sugammadeksin 16mg/kg ve 96mg/kg dozlarında düşük hasar skorları elde edildiği ve histopatolojik olarak sugammadeksin 96mg/kg uygulanması ile daha olumlu sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz biyokimyasal parametrelerde sugammadeksin anlamlı değerliğiğe yol açmadığı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: İskemi/reperfüzyon, VEGF, TUNEL, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, total oksidan seviye, total antioksidan seviye, oksidatif stres indeksi, native tiyol, total tiyol, sugammadeks



SUMMARY

Liver Ischemia Reperfusion Effect of Different Doses of Sugammadex on Hepatic Damage in Rat-Produced Rats

Objective: The aim of this study is to investigate biochemically and histopathologically the effect of different doses of sugammadex on the liver on rat liver ischemia reperfusion injury induced rats.

Materials and Methods: In this study, 36 Wistar Albino rats were used. Rats were randomly assigned 6 groups of 6 animals per group. Groups were treated with sham, control, ischemia reperfusion (I/R)-sugammadex 16mg/kg, I/R-sugammadex 96mg/kg, I/R+sugammadex 16mg/kg and I/R+sugammadex 96mg/kg. The liver (I/R) model was created by clamping the hepatic pedicle. All rats were anesthetized and the vein was opened via a 24 G intrauterine route from the tail vein. Sham group was waited for 30 minutes after laparotomy and 1 ml of intravenous (IV) saline (0,9% NaCl) was applied. The control group received 240 min reperfusion after 30 minutes of ischemia with I/R+sugammadex 16mg/kg and I/R+sugammadex 96mg/kg groups. These groups were given 0,9% NaCl, 16mg/kg and 96mg/kg sugammadex IV, respectively, with a total volume of 1ml at the end of the ischemic period. I/R-sugammadex 16 mg/kg and 96 mg/kg groups were waited for 30 minutes after laparotomy. These groups were administered as sugammadex 16mg/kg and 96mg/kg IV, respectively, with a total volume of 1ml. Tissue specimens from liver and intracardiac blood samples were taken 240 min after drug administration. AST, ALT, TAS, TOS, OSI, serum native thiol and serum total thiol levels were studied in the biochemical laboratory from blood samples. Tissue specimens were evaluated by hematoxylin eosin, VEGF and TUNEL staining in the histology laboratory and liver damage was assessed by Suzuki scoring. Also in the TUNEL and VEGF evaluations, x40 lens and 20 dots + stained cells were counted. Accordingly, mean values were obtained and analyzed statistically.

Data: When histopathologically evaluated, I/R+sugammadex 16mg/kg and 96mg/kg groups showed less vacuolization, sinusoidal dilatation, apoptosis, necrosis in the staining with hematoxylin eosin compared with the control group; Decrease in

expression by VEGF and decrease in apoptosis by TUNEL were detected. This decrease was significant in the group of I/R + sugammadex 96mg/kg compared to that of I/R+sugammadex 16mg/kg group ($p < 0.05$). According to the Suzuki score, I/R+sugammadex was significantly lower in the 16mg/kg and 96mg/kg groups than the control group ($p < 0.05$). In terms of Suzuki scoring, I/R+sugammadex 96mg/kg group was statistically lower than I/R+sugammadex 16mg/kg group ($p < 0.05$). VEGF and TUNEL expression was significantly lower in the I/R+sugammadex 16 mg/kg and 96 mg/kg groups than the control group ($p < 0.05$). In addition, there was a statistically significant decrease in expressive statistical significance ($p < 0.05$) in the group of sugammadex 96mg/kg compared to the group of sugammadex 16mg/kg.

There was no statistically significant difference between groups I/R+sugammadex 16mg/kg and 96mg/kg compared to the control group in terms of serum ALT level even though it was found to be numerically lower ($p > 0.05$). There was no significant difference between groups in serum AST level I/R+sugammadex 16mg/kg and I/R+sugammadex 96mg/kg groups ($p > 0.05$).

There was no statistically significant difference between groups I/R+sugammadex 16mg/kg and 96mg/kg compared to the control group in terms of TAS levels, although it was found to be higher numerically ($p > 0.05$). TOS levels were measured quantitatively higher than the control group in the I/R+sugammadex 16 mg/kg and 96 mg/kg groups and there was no statistically significant difference ($p > 0.05$). There was no statistically significant difference in the OSI level of I/R+sugammadex 16mg/kg and 96mg/kg groups compared to the control group ($p > 0.05$).

In the group where sugammadex 16mg/kg was applied, it decreased statistically significant serum native thiol value on I/R injury ($p < 0.05$). There was no statistically significant decrease in the serum native thiol value in the group receiving sugammadex 96mg/kg ($p > 0.05$). There was no statistically significant difference between groups of I/R+sugammadex 16mg/kg and 96mg/kg and control group in terms of serum total thiol level ($p > 0.05$).

Conclusion: In the histopathological examination of rats in our study; doses of sugammadex 16 mg/kg and 96 mg/kg administered post-ischemically reduced vacuolization, sinusoidal dilatation and apoptosis/necrosis in HE, VEGF and TUNEL

staining; when TUNEL was assessed by the number of apoptotic cells in VEGF staining and Suzuki score, it was shown that low damage scores of sugammadex at 16mg/kg and 96mg/kg doses after ischemia were obtained and histopatologic application of sugammadex at 96mg/kg resulted in more positive results. It has been observed that the biochemical parameters we assessed in our study did not lead to significant changes in sugammadex.

Keywords: Ischemia/reperfusion, VEGF, TUNEL aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, total antioxidant level, total oxidant level, oxidative stress index, native thiol, total thiol, sugammadex



SİMGELER ve KISALTMALAR

ADP:	Adenozin Monofosfat
AIDS:	Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu
aPTT:	Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
Asetil-CoA:	Asetil Koenzim A
ATP:	Adenozin Trifosfat
BMI:	Beden Kitle İndeksi
Ca⁺²:	Kalsiyum İyonu
CAT:	Katalaz
cm:	Santimetre
ÇDYA:	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
dk:	Dakika
dl:	Desilitre
DNA:	Deksiribo Nükleik Asit
DM:	Diyabetes Mellitus
gr:	Gram
GSH-Px:	Glutatyon Peroksidaz
GSH-R:	Glutatyon Redüktaz
GSH:	Glutatyon
H⁺	Hidrojen İyonu
HE:	Hematoksilen Eozin
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit

HOCl:	Hipokloröz Asit
H₂O:	Su
HPLC:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IVC:	İnferior Vena Cava
IL-1:	İnterlökin 1
IV:	İntravenöz
IM:	İntramuskuler
İ/R:	İskemi/reperfüzyon
K⁺:	Potasyum İyonu
kg:	Kilogram
lig:	Ligamentum
lt:	Litre
LOO:	Lipit Peroksit Radikali
MDA:	Malon Dialdehit
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
MR:	Manyetik Rezonans
m²:	Metrekare
Na⁺:	Sodyum İyonu
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO:	Nitrik Oksit

NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
NAP+:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NMDA:	N-metil D-aspartat
OH⁻:	Hidroksil Radikali
OSi:	Oksidatif Stres İndeksi
O₂:	Oksijen
O₂⁻:	Süperoksit Radikali
¹O₂:	Singlet Oksijeni
Örn:	Örneğin
PMNL:	Polimorf Nüveli Lökosit
RBC:	Kırmızı Kan Hücresi (eritrosit)
RNA:	Ribonükleik Asit
RNS:	Reaktif Nitrojen Türleri
ROO:	Peroкси Radikali
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
SOD:	Süperoksit Dismutaz
-SH:	Sülhidril
SVO:	Serebrovasküler Olay
TNF-α:	Tümör Nekrotizan Faktör alfa
TAS:	Total Antioksidan Seviye
TOS:	Total Oksidan Seviye
TUNEL:	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP

	Nick end Labeling
UV:	Ultraviole
VEGF:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
γ:	Gama
μm:	Mikrogram



TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Serbest radikal kaynakları	22
Tablo 2.2.	Antioksidan maddelerin sınıflandırılması	25
Tablo 3.1.	Hepatik iskemi/reperfüzyon hasarının değerlendirilmesi için Suzuki skorlaması	40
Tablo 4.1.	Grupların ortalama ALT değerleri	41
Tablo 4.2.	Grupların ortalama AST değerleri	43
Tablo 4.3.	Grupların ortalama TAS değerleri	44
Tablo 4.4.	Grupların ortalama TOS değerleri	46
Tablo 4.5.	Grupların ortalama OSİ değerleri	47
Tablo 4.6.	Grupların serum native tiyol ortalamaları	49
Tablo 4.7.	Grupların serum total tiyol ortalamaları	50
Tablo 4.8.	Grupların Suzuki skoru ortalamaları	52
Tablo 4.9.	Grupların TUNEL ile + boyanmasına göre ortalama değerleri	55
Tablo 4.10.	Grupların VEGF ile + boyanmasına göre ortalama değerleri	58

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Couinaud Segmental Anatomisi	5
Şekil 2.2.	Karaciğer hepatik lobül histolojisi	7
Şekil 2.3.	Karaciğer iskemi reperfüzyonunda inflamatuvar yolak	16
Şekil 2.4.	Serbest radikallerin dönüşüm reaksiyonları	21
Şekil 4.1.	ALT değerlerinin gruplara göre dağılımı	42
Şekil 4.2.	AST değerlerinin gruplara göre dağılımı	43
Şekil 4.3.	TAS değerlerinin gruplara göre dağılımı	45
Şekil 4.4.	TOS değerlerinin gruplara göre dağılımı	46
Şekil 4.5.	OSİ değerlerinin gruplara göre dağılımı	48
Şekil 4.6.	Serum native tiyol değerlerinin gruplara göre dağılımı	49
Şekil 4.7.	Serum total tiyol değerlerinin gruplara göre dağılımı	55
Şekil 4.8.	Suzuki skorunun gruplara göre dağılımı	51
Şekil 4.9.	Gruplara ait HE ile boyanan dokuların kesitleri	54
Şekil 4.10.	TUNEL + boyanma değerlerinin gruplara göre dağılımı	56
Şekil 4.11.	Gruplara ait TUNEL + boyanan dokuların kesitleri	57
Şekil 4.12.	Gruplara ait VEGF + boyanan dokuların kesitleri	59
Şekil 4.13.	VEGF + boyanma değerlerinin gruplara göre dağılımı	60

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Arter veya venöz kan akımının azalması ya da tamamen durmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu, doku veya organların oksijenden yoksun kalması durumu iskemi olarak tanımlanır. İskemi organ ve dokuların yetersiz perfüzyonu sonucu dokuların ihtiyacı olan oksijen ve metabolik ürünlerin karşılanamadığı; geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan patolojik bir durumdur (1). Reperfüzyon ise bu iskemik dokudaki kan dolaşımının tekrar sağlanmasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması; dokunun oksijen ve diğer metabolik gereksinimlerini karşılarken dokulara iskemik hasardan daha fazla zarar verebilmektedir. Bu olay iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı olarak adlandırılmaktadır (2). İskemi reperfüzyon hasarı; travma, organ transplantasyonu, myokard infarktüsü, inme, hipovolemik şok, sepsis gibi durumlarda meydana gelir (3).

İskemi sonucu oksijenin azalması, Krebs döngüsüyle aerobik oksidasyonda azalmaya ve hücrede bulunan adenzin trifosfat (ATP) miktarında düşüşe neden olur. Bu durum adenzin difosfat (ADP) ile fosfat birikimine ve Embden Meyerhoff yolundaki anaerobik glikolizde artmayla sonuçlanır. Laktik asit ve pirüvik asit birikir. Laktat artışı ve H^+ birikimi doku pH'sında düşmeye neden olur. Laktik asit ve düşük pH, protein parçalanması, enzim fonksiyonlarında kayıp, nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH) rejenerasyonunun engellenmesi ve serbest radikal oluşumu gibi iskemik hasar oluşturan etkenlerin gelişimini artırır (4).

ATP seviyesindeki azalma ile birlikte fosfolipit, protein, polisakkarit ve nükleik asitlerin kendiliğinden veya enzim kaynaklı parçalanmalarının ardından bu yapı taşlarının yeniden sentezlenememesi nedeniyle hücre bütünlüğü bozulmaya başlar. Aynı zamanda hücre içi Ca^{+2} artmasına bağlı fosforilaz, lipaz, proteaz ve endonükleaz enzim aktivasyonları da bu parçalanmaya katkıda bulunur (4).

İskeminin ciddiyetine ve süresine göre hücre membranının fizyolojik bütünlüğü bozulmaya başlar. İskeminin ilk etkilediği yer mitokondridir. ATP miktarındaki net azalma Na^+/K^+ ATPaz enzimini inhibe eder. Buna bağlı olarak hücre içi Na^+ ve su artışı ile hücrede şişme meydana gelir. Hücre dışı K^+ miktarı artar. Na^+ 'un hücre içi artışı ile Na^+/Ca^{+2} ve Na^+/H^+ değişim sistemleri aktive olur.

Sonuçta hücre içine Ca^{+2} ve H^+ akışı başlar. Hücre içi Na^+ artışı membranda depolarizasyon yaparak, geçici voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının açılmasına ve hücre içi Ca^{+2} miktarının artmasına neden olur. Hücre içinde Ca^{+2} artması fosfolipazı aktive eder ve fosfolipidlerin parçalanmasına neden olur Araşidonik asit ortaya çıkar ve böylece serbest radikal oluşturan siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolları aktive olur (5).

Sitoplazmada artan serbest Ca^{+2} , Ca^{+2} 'a bağımlı ATPaz enzimini aktive eder ve hücre içi ATP daha hızlı tüketilir. Yüksek Ca^{+2} seviyeleri mitokondri iç zarına etki ederek oksidatif fosforilasyonu ve ATP yapımını azaltır. Yüksek Ca^{+2} seviyelerinin, proteaz aktivasyonu sonucu ksantin oksidaz enziminin iskemik dokuda ortaya çıkmasında, nötral proteazlar ve lizozomal proteazların aktivasyonu ile hücre iskeletini oluşturan protein yapıların yıkılması sonucu geri dönüşümsüz hasarda rol oynadıkları ortaya konmuştur (4).

Karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarı ilk kez 1975'te Toledo-Pereyra ve arkadaşlarının deneysel olarak gerçekleştirdikleri karaciğer naklinde gözlenmiştir. Nakledilmiş karaciğerde konjesyon, ilerleyici tromboz, organ yetmezliği ile sonuçlanan greft nekrozu gelişmiştir. Karaciğer iskemisi transplant cerrahisinden başka, travma, kanser, safra yolu tıkanmaları ve darlıkları nedeniyle ameliyat edilen hastalarda; ayrıca cerrahi girişim olmaksızın bir hemodinamik veya kardiyojenik şok periyodunu takiben de oluşabilmektedir. Karaciğer İ/R hasarı patofizyolojisi, karaciğer hasarına yol açan birçok mekanizmanın katılımından meydana gelir. Kupffer hücre aktivasyonu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu, sitokin ve kemokin salgılanması, vazokonstrüksiyon, nitrik oksit ve endotelin dengesindeki bozulma, nötrofil lökositlerin toplanması, mitokondriyal geçirgenliğin değişikliğe uğraması, kalsiyumun hücre içine dengelenmemiş geçişi ve pH paradoksu gibi çeşitli hücrel ve moleküler etkileşimler söz konusudur. Bu kompleks mekanizmalar hücre ölümüne, organ fonksiyon bozukluğuna ve en sonunda da organ kaybına neden olmaktadır (6).

Karaciğer İ/R hasarının mekanizmalarının bilinmesi ve hasarı azaltan önlemlerin ve ilaçların araştırılması, karaciğer cerrahisinin başarısını artırmak ve

kronik karaciğer hastalıklarının hasarını azaltabilmek açısından büyük önem taşımaktadır (7).

Bir siklodekstrin analogu olan sugammadexsin de nondepolarizan bloğu ortadan kaldırmada hızlı ve güvenli bir ajan olduğu yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur (8). Yeni bir ilaç olması nedeniyle İ/R hasarından koruma dahil birçok çalışmaya konu olmuştur. Serebral İ/R hasarı uygulanan ratlarda sugammadexsin nöroprotektif etkili olduğu ve iskemik hasarı azalttığı gösterilmiştir (9).

Bu tez çalışmasının amacı; rat karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı modelinde sugammadexsin farklı dozlarının koruyucu etkinliğinin araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer vücuttaki en büyük bezdir ve cildin ardından en büyük organdır. Yaklaşık 1500gr ağırlığındadır ve yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %2,5'ini oluşturmaktadır (1). Karaciğer çok damarsal bir organdır ve yüksek kan akımı ve düşük vasküler dirence sahiptir (10, 11). İstirahat halindeyken toplam kalp debisinin %25'ini alır. Süngerimsi yapıda olması ile beraber travmalara duyarlıdır (10). Alt kaburgaların kırıkları veya göğüs veya üst karın delici yaralanmaları karaciğer hasarının genel nedenidir (11).

Karaciğer esas olarak karın sağ üst kadranda bulunur ve burada göğüs kafesi ve diyafram tarafından korunur. Karaciğer, sağdaki 7-11. kostaların arasındadır. Karaciğer, sağ hipokondriyumun ve üst epigastriumun çoğunu kaplar ve sol hipokondriuma da uzanır (11).

Karaciğer, sağ kostal marjı takip eden keskin alt sınırıyla öne doğru ayrılmış, dışbükey bir diyafram yüzeyi (anterior, superior ve bazı posterior) ve nispeten düz veya içbükey bir iç organ yüzeyine (posteroinferior) sahiptir (10).

Karaciğerin büyük kısmı sağ kostal marjininin altında bulunur ve sağ diyafram, plevra, akciğerler, perikard ve kalpten ayrılır. Karaciğerin dışbükey üst yüzeyi, diyaframın kubbelerinin alt yüzeyine oturur. Posteroinferior veya visseral olan içbükey yüzeyi bitişik iç organlara oturur ve bu nedenle içbükey yüzeyde şekil düzensizdir; özefagusun karındaki kısmı, mide, duodenum, sağ kolik flexura, sağ böbrek ve böbrek üstü bezi ve safra kesesi ile temastadır (10).

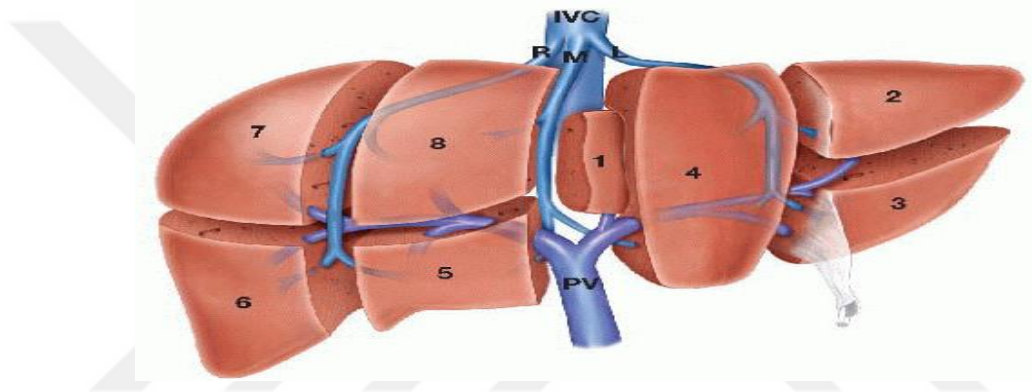
Karaciğer lig. falciforme ile anterior abdominal duvara bağlanır ve diyaframa yapışık bölümü haricinde, karaciğer neredeyse tamamen visseral peritonla çevrilidir. Ek olarak lig. hepatogastricum ile mideye, lig. hepatoduodenale ile duodenuma tutunur (12).

Portal damardan dakikada 1050 ml kan akışı her dakikada karaciğer sinüzoidlerine ve ayrıca 300 ml hepatositlere hepatik arterden gelir, toplamda yaklaşık 1350 ml/dk, geri kalan kalp debisinin %25'idir (13).

2.1.1. Karaciğerin lobları

Karaciğer anatomik olarak sağ ve sol lob olarak 2 ana ve sağ loba dahil olan kaudat ve kuadrat olarak 2 aksesuar loba ayrılmıştır (10). Karaciğer cerrahi olarak ise

8 loba ayrılmıştır. Couinaud tarafından tanımlanan karaciğerin segmental anatomisi portal ve hepatik damarların dağılımına dayanır. Her segmentin ortasında portal damarın bir dalı (veya bir grup dalları) ve çevresindeki bir hepatik ven bulunur. Karaciğerin her lobu dört bölümden oluşur. Segmentler, soldaki lobda ters-dört yönlü-1-4 ve sağda 5-8 olarak numaralandırılmıştır. Segment 1 kaudat veya Spiget lobudur. Sağ ve sol loblar safra kesesi ve inferior vena cava (IVC)'nin sol tarafını birbirine bağlayan ana hepatik fissür ile ayrılır (14). Sınıflama 1957 yılında yapılmış olmasına rağmen önemini korumasının nedeni tariflenen lobların ayrı ayrı rezeke edilebiliyor olmasıdır (15).



Şekil 2.1. Couinaud Segmental Anatomisi

2.1.2. Karaciğer kan akımı

Karaciğer, akciğerler gibi çift kan kaynağına sahiptir. Karaciğere kan taşıyan kan damarları hepatik arter (%30) ve portal ven (%70) şeklindedir. Hepatik arter karaciğere oksijenlenmiş kan getirir. Portal ven ise gastrointestinal sistemden emilen sindirim ürünlerinden zengin venöz kan getirir. Arteriyel ve portal kan hepatik venöz sistem yoluyla sistemik dolaşıma boşalmadan önce hepatik sinüzoidlerde karışır (10).

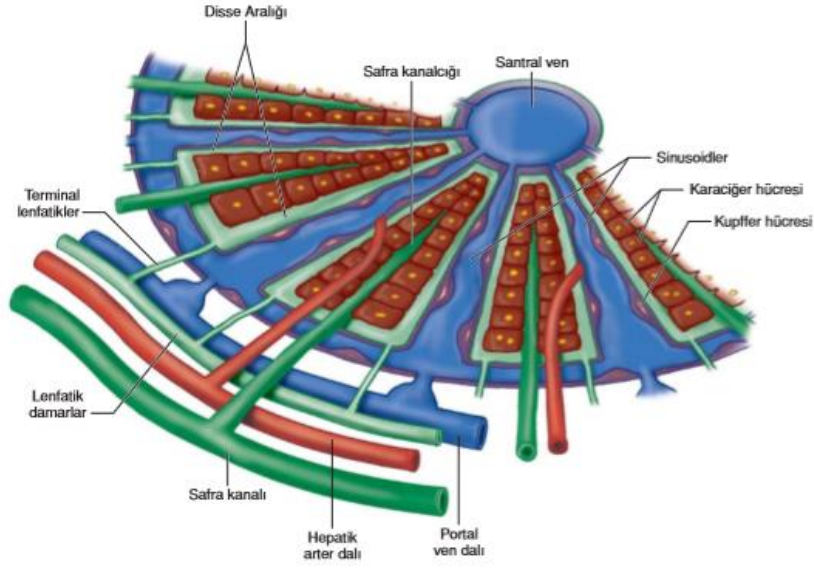
Arteriyel ve venöz kan, karaciğer sinüzoidleri vasıtasıyla her bir karaciğer lobülünün orta damarına iletilir. Santral damarlar sağ ve sol karaciğer damarlarına akar ve bunlar karaciğerin arka yüzeyini terk eder ve IVC içine açılır (10).

2.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) ile örtülüdür. Hilumda organa portal ven ve hepatik arter girer. Sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar. Bu damarlar ve kanallar klasik karaciğer lobülleri arasında sonlandıkları portal alanlara dek bağ dokusu ile çevrilidir. Kapsülden köken alan ince, bağ dokusu duvarları (septumlar) porta hepatiste karaciğere giderek organı lob ve lobüllere ayırır (16).

2.2.1. Karaciğer lobülü

Karaciğerin temel işlevsel birimi karaciğer lobülü olup, bu silindirik yapı birkaç milimetre uzunluğunda ve 0,8 ila 2 mm çapında poligonal yapılardır. İnsan karaciğeri 50.000 ila 100.000 lobül içerir. Lobül yapısı esas olarak hepatositlerden meydana gelir. Lobüller birleşerek lobları meydana getirir. Karaciğer lobüllerinin sınırlarını belirleyen, hilustan organ içine giren ve parankimi odacıklar şeklinde bölen Glisson kapsülüdür. Segmentler ise içinde birden çok lobül barındıran, sınırlarını vasküler ana dalların belirlediği, cerrahi prosedür için önemli olan ve karaciğeri topografik olarak alanlara bölen ünitelerdir. Lobüller arasındaki yakın komşuluğa rağmen her bir lobülün çevresinde bir portal boşluk bulunur. Bu boşlukta her bir lobül için 3–6 adet portal triad yer alır. Her bir portal alanda bir venül (portal venin dalı) bir arteriyol (hepatik arterin dalı) bir kanal (safra kanalının bir dalı) ve lenfatikler bulunur (16, 17).



Şekil 2.2. Karaciğer hepatik lobül histolojisi

2.2.2. Hepatositler

Karaciğer hücrelerinin %60-70'ini oluşturur. Polihedral 6 ya da daha fazla hücreli ve 20-30 mikrometre çapındadır. Sitoplazması eozinofiliktir. Portal triadlardan farklı uzaklıklarda bulunan hepatositler yapısal, histolojik ve biyokimyasal olarak farklılıklar gösterirler. Fonksiyonu itibari ile bol miktarda endoplazmik retikulum, ribozom ve golgi cisimcikleri mevcuttur. Oldukça fazla sayıda mitokondri bulundurmaktadırlar. Her bir hepatositin yüzeyi diğer hepatositlerin yüzeyi ve Disse aralığı boyunca sinüzoidlerin duvarı ile temas halindedir. İki hepatositin bitişik olduğu her yerde, hücrelerin arasında safra kanalikülü olarak bilinen tübüler bir aralık vardır. Hepatosit plazma proteinleri (albümin, protrombin, fibrinojen, lipoprotein) sentezler, detoksifikasyon, safra salgılanması, konjugasyon ve glukoneogenezde rol alır (16, 17).

2.2.3. Kupffer hücreleri

Karaciğer hücrelerinin %15'ini oluştururlar. Endotel hücrelerinin lümenine bakan yüzeyinde bulunan doku makrofajlarıdır. Başlıca fonksiyonları yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek, immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamak ve kalın barsaktan portal kana geçen bakterileri ortadan kaldırmaktır. Bu hücrelerin çoğu fagositozda çok aktif oldukları periportal lobül bölümlerinde yerleşmiştir (16, 17).

Disse aralığında (perisinüzoidal aralık) İto hücreleri olarak da bilinen yağ depolayıcı hücreler yer alır. Bu hücrelerde A vitamininden zengin lipid çökeltileri bulunur. Sağlıklı karaciğerde bu hücreler retinoidlerin alınması, depolanması ve salınması; bazı ekstrasellüler matriks proteinlerinin ve proteoglikanların sentezi ve salgılanması; büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanması ve çeşitli düzenleyici maddelere (örn. Prostaglandinler tromboksan A₂) yanıt olarak sinüzoid lümen çapının düzenlenmesi gibi işlevler görür (16, 17).

2.3. Karaciğerin Biyokimyasal ve Fizyolojik Fonksiyonları

Karaciğer, metabolizma oranının yüksek olduğu kimyasal olarak tepkimeye giren büyük bir hücre havuzudur. Bu hücreler, bir metabolik sistemden diğerine substratları ve enerjiyi paylaşır, vücudun diğer alanlarına taşınan çoklu maddeleri işler ve sentezler ve sayısız diğer metabolik işlevleri yerine getirir (17).

2.3.1. Kan depo işlevi

Kan hacmi yaklaşık 450 ml ile vücudun kan hacminin yaklaşık %10'udur. Sağ atriyumdaki yüksek basınç karaciğerde basınç oluşturduğunda, karaciğer genişler ve hepatik damarlarda ve sinüslerde 0,5 ila 1 lt ekstra kan depolanır. Karaciğer gerçekte, hipervolemi durumunda değerli bir kan rezervuarı olarak hareket edebilen geniş, genişletilebilir, venöz bir organdır ve kan hacminin azaldığı durumlarda fazladan kan temin edebilme yeteneğine sahiptir (17).

2.3.2. Lenfoid doku olarak işlevi

Karaciğer sinüzoidlerindeki gözenekler diğer dokulardaki kılcal damarlara kıyasla çok geçirgen olduğu için hem sıvı hem de proteinlerin Disse boşluklarına geçmesine izin verirler. Bu nedenle, karaciğerden alınan lenf drenajı genellikle plazma protein konsantrasyonundan biraz daha düşük olan yaklaşık 6 gr/dl'lik bir protein konsantrasyonuna sahiptir. Buna ek olarak, karaciğer sinüzoid epitelyumunun yüksek permeabilitesi, büyük miktarlarda lenf oluşturmasına izin verir. Bu nedenle, dinlenme koşullarında vücutta oluşan tüm lenflerin yaklaşık yarısı karaciğerde ortaya çıkar (17).

2.3.3. Kan temizleme işlevi

Karaciğer makrofaj sistemi, kan temizleme fonksiyonuna hizmet eder. Barsak kılcal damarlarında akan kan barsaklardan birçok bakteri alır. Hepatik venöz sinüsleri birleştiren büyük fagositik makrofajlar olan Kupffer hücreleri bu bakterileri

sinüslerden geçerken etkili bir biçimde kandan temizler. Barsaklardan portal kana giren bakterilerin yüzde 1'inden azı karaciğeri sistemik dolaşıma geçirmeyi başarır (12).

2.3.4. Karaciğerin metabolik işlevleri

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

a) Karbonhidrat metabolizması

1. Glikojen depolanması
2. Galaktoz ve fruktozun glikoza çevrilmesi
3. Açlık durumunda glukojenoliz ile postprandiyal dönemde ise glukoneogenez ile kan glukoz düzeyinin ayarlanması
4. Karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden birçok kimyasal bileşiğin oluşumu

b) Yağ metabolizması

Vücudun çoğu hücresi yağ metabolize etmesine rağmen, yağ metabolizmasının belirli yönleri esas olarak karaciğerde görülür.

1. Diğer vücut fonksiyonları için enerji tedarik etmek için yağlı asitlerin oksidasyonu: Nötr yağlardan enerji elde etmek için yağ ilk önce gliserol ve yağ asitlerine ayrılır. Yağ asitleri daha sonra beta oksidasyon ile asetil koenzim A (asetil-CoA) oluşturan iki karbonlu asetil köklerine ayrılır. Asetil-CoA sitrik asit döngüsüne girebilir ve yüksek miktarda enerjiyi serbest bırakmak için oksitlenebilir. Karaciğer, oluşan asetil-CoA'nın tümünü kullanamaz; bunun yerine, iki asetil-CoA molekülünün yoğunlaşmasıyla asetoasetik asit, hepatik hücrelerden hücre dışı sıvıya geçer ve daha sonra diğer dokular tarafından absorbe edilmek üzere vücuda taşınan oldukça çözünür bir asit haline dönüştürülür. Bu dokular, asetoasetik asidi asetil-CoA'ya dönüştürür ve onu olağan şekilde oksitleştirir. Böylece karaciğer, yağların metabolizmasının büyük bir bölümünden sorumludur (17).

2. Büyük miktarlarda kolesterol, fosfolipidler ve çoğu lipoprotein sentezi: Karaciğerde sentezlenen kolesterolün yaklaşık yüzde 80'i safra içine salınan safra tuzlarına dönüştürülür; geri kalan kısım lipoproteinlerde taşınır ve kanda vücudun doku hücrelerine taşınır. Fosfolipidler aynı şekilde karaciğerde sentezlenir ve esas olarak lipoproteinler içine taşınır (17).

3. Proteinler ve karbonhidratlardan yağ sentezi: Karbonhidratlardan ve proteinlerden vücudun hemen hemen tüm yağ sentezi karaciğerde de gerçekleşir. Karaciğerde yağ sentezinden sonra, lipoproteinler içinde depolanacak yağ dokusuna taşınır (17).

c) Protein Metabolizması

1. Amino asitlerin deaminasyonu: Amino asitlerin deaminasyonu, enerji için kullanılmadan veya karbonhidratlara veya katı yağlara dönüştürülmeden önce gereklidir. Vücudun diğer dokularında, özellikle de böbreklerde az miktarda deaminasyon meydana gelebilir; ancak amino asitlerin karaciğer tarafından deaminasyonundan çok daha az önemlidir (17).

2. Vücut sıvılarından amonyak uzaklaştırmak için üre oluşumu: Ürenin karaciğer yoluyla oluşması vücut sıvılarından amonyak giderir. Deaminasyon süreci ile büyük miktarda amonyak oluşur ve barsaklarda bakteriler tarafından sürekli olarak ilave miktarlar oluşur ve sonra kan içine emilir. Bu nedenle karaciğer üre oluşturmazsa, plazma amonyak konsantrasyonu hızla yükselir ve hepatik koma ve ölümle sonuçlanır (17).

3. Plazma proteinlerinin oluşumu: Esasen tüm plazma proteinleri, gama globulinleri dışında, hepatik hücreler tarafından oluşturulur ve tüm plazma proteinlerinin yaklaşık yüzde 90'ını oluştururlar (17).

4. Çeşitli amino asitlerin birbirine dönüşümü ve diğer bileşiklerin amino asitlerden sentezi (17)

d) Karaciğerin diğer işlevleri

Vitamin depolanması: Karaciğerde en çok miktarda depolanan vitamin A vitamindir; fakat büyük miktarlarda D vitamini ve B12 vitamini de depolanır (17).

Ferritin depolanması: Kan hemoglobindeki demir haricinde vücuttaki demirin en büyük oranı ferritin şeklinde karaciğerde depolanır. Karaciğer hücreleri apoferritin adı verilen ve demir ile ters çevrilebilir şekilde birleşebilen büyük miktarda protein içerir. Dolayısıyla vücut sıvılarında fazla miktarda demir elde edildiğinde, ferritin oluşturmak üzere apoferritin ile birleşir ve başka bir yere ihtiyaç duyulana kadar hepatik hücrelerde bu şekilde depolanır. Dolaşan vücut sıvılarındaki demir düşük bir seviyeye ulaştığında ferritin demirleri serbest bırakır. Böylece,

karaciğerin apoferritin-ferritin sistemi bir demir depolama ortamının yanı sıra bir kan demir tamponu gibi davranır (17).

Koagülasyon maddelerinin sentezi: Pıhtılaşma sürecinde kullanılan karaciğerde oluşan maddeler fibrinojen, protrombin, hızlandırıcı globulin, faktör VII ve birkaç başka önemli faktörü içerir. Bu maddelerin birçoğu, özellikle protrombin ve faktörler VII, IX ve X'in oluşumu için karaciğerin metabolik süreçleri için K vitamini gerektirir. K vitamininin yokluğunda, tüm bu maddelerin konsantrasyonları belirgin bir şekilde azalır (17).

İlaç detoksifikasyonu: Karaciğer ilaçları, hormonları ve diğer maddeleri metabolize eder veya atılımını sağlar. Benzer şekilde, endokrin bezler tarafından salgılanan hormonların birçoğu karaciğer tarafından kimyasal olarak değiştirilir ya da karaciğer tarafından atılır (17).

Bilirubin metabolizması: Vücuttaki bilirubinin çoğu dokularda hemoglobinin parçalanmasıyla oluşur. Bilirubin dolaşımında albümine bağlanır. Bilirubin karaciğerde plazma albümininden ayrılıp yaklaşık %80'i glukuronik asitle, %10'u sülfatla birleşerek bilirubin glukuronat ve bilirubin sülfat oluşurken geri kalan %10'u çeşitli maddelerle birleşir. Bilirubin glukuronidin çoğu, safra kanallarından barsağa geçer. Konjuge bilirubinin yaklaşık %50'si suda eriyen ürobilinojene çevrilir. Ürobilinojenin bir kısmı barsak mukozasından kana emilir. Kana emilen ürobilinojenin büyük kısmı karaciğerden tekrar barsağa atılırken yaklaşık yüzde 5'i de böbreklerden geçip idrar ile atılır (17).

2.4. İskemi Reperfüzyon

2.4.1. İskemi reperfüzyon tanımı

İskemi; arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden ve diğer metabolitlerden yoksun kalması şeklinde tanımlanır (18). Trombolitik tedavi, organ nakli, koroner anjioplasti ve kardiyopulmoner bypass gibi çeşitli tıbbi ve cerrahi girişimler sırasında görülebilir (19). İskemi, organı perfüze eden kan akımındaki azalmaya bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre hasarına yol açabilir. Yine iskemi sonucu hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikimi sonucu hücre ölümü meydana gelebilir (20, 21).

Lokalize bir hücrel metabolik bozukluk proçesi olan iskemik hasar; glikojen tüketimi, oksijen temininin eksikliği ve adenosin trifosfat (ATP) tükenmesinden kaynaklanır. Öte yandan, reperfüzyon hasarı doğrudan ve dolaylı sitotoksik mekanizmaları içerir (22).

İskemik periyod süresince dokuda toksik serbest oksijen radikalleri üretilir. Reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikalleri ve süperoksit radikalleri endotelyal hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemeine neden olmaktadır. Ayrıca, aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik inflamatuvar yanıtı başlatabilir. Bu olay “İ/R hasarı” olarak adlandırılmaktadır. İ/R hasarı hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir (23).

Reperfüzyon dönemi, iskemik olayın ortadan kalkmasından sonra kan akımının yeniden başlaması olarak tanımlanır. Bu dönemde hücreye yeniden sağlanan yüksek O₂ konsantrasyonu, dokuda bir inflamatuvar yanıtı başlatır. Hücre içi ve hücre dışı kompleks bir dizi olay, geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz hücre hasarına katkıda bulunur (24).

2.4.2. Karaciğer iskemi reperfüzyonu

Şok, hipovolemi gibi düşük kan akımı durumlarıyla, karaciğer ile ilgili cerrahi girişimler (Pringle manevrası: Hepatik arter ve portal venin klempajı) çeşitli cerrahi prosedürlerle ilişkili veya nakil için organ alımı sırasında olduğu gibi bazı klinik durumlarda ortaya çıkabilir (23, 25). Karaciğerde İ/R yaralanması, transplantasyon sonucunu etkileyen önemli bir problemdir. Erken organ yetmezliğinin %10'una neden olur ve hem akut hem de kronik rejeksiyon insidansını arttırır. Ayrıca, İ/R hasarı, marjinal karaciğerlerin iskemik hasara daha duyarlı olması nedeniyle transplantasyon için mevcut olan karaciğer yetersizliğine katkıda bulunur. İ/R hasarının olumsuz etkilerini asgariye indirmek, karaciğer transplantasyonuna başarılı bir şekilde geçebilecek hasta sayısını önemli ölçüde artırabilir. Bununla birlikte, řu anda karaciğer İ/R hasarını önlemek için mevcut herhangi bir tedavi yoktur (25).

Karaciğer İ/R süreci, nihai karaciğer yetmezliğine yol açan bir olay kaskadı üreten birbiriyle ilişkili birçok faktörü birleştirir. Kupffer hücrelerinin, PMNL'nin,

endotel hücrelerinin ve reaktif oksijen türlerinin aktivasyonunun İ/R hasarının patogeneğinde kritik olduğu öne sürülmektedir. Bu birbiriyle ilişkili süreçlerin nihai sonuçları, hepatosellüler disfonksiyona neden olan yapısal doku değişiklikleridir (25).

Reperfüzyondan sonra iskemik karaciğerde görülen histopatolojik değişiklikler hücresel şişme, vakuolizasyon, endotel hücre parçalanması ve PMNL infiltrasyonunu içerir. Organ perfüzyonunu azaltan anlamlı mikrosirkülatuar değişiklikler oluşur ve reperfüzyonun 48 saati içinde maksimum seviyelere ulaşır. İ/R hasarından kurtulabilen canlı organlarda bu değişiklikler azalır ve karaciğer mimarisinin normalleşmesi reperfüzyondan sonraki 2 hafta içinde görülür (25).

İ/R hasarının ilk sonucu, hücre içi enerji metabolizmasını ve enzim fonksiyonunu bozan doku anoksisi; ATP'nin tükenmesine, hücre içi sodyum birikimine ve hücre ödemeine neden olur. Reperfüzyonda hücrenin enerji durumu, hücre geri kazanımı için önemlidir. Reperfüzyon hücrenin kurtarılmasına neden olabilir; ancak RBC, PMNL ve trombositlerin ekstrasellüler matrikse ve sinüzoidlere yapışması ile ortaya çıkan, mikrodolaşım bozuklukları gibi daha fazla yaralanmaya neden olur (25).

2.4.2.1. Karaciğer iskemi reperfüzyon fazları

Karaciğer İ/R hasarı, sıcak ve soğuk iskemi olarak kategorize edilebilir. Sıcak iskemi, karaciğer kan akımının geçici olarak kesildiği transplantasyon, travma, şok ve elektif karaciğer cerrahisi gibi durumlarda ortaya çıkar. Soğuk iskemi ise transplantasyon öncesi organ korunması sırasında oluşur (26).

2.4.2.1.1. Sıcak iskemi reperfüzyon yaralanması

Sıcak İ/R hasarı süreci, immün yolların aktivasyonunu içerir ve hepatosellüler hasar baskındır. Sıcak İ/R hasarı erken ve geç olarak 2 faza ayrılır (26).

Erken faz: Reperfüzyonun ilk 2 saati içindeki fazdır ve Kupffer hücre kaynaklı oksidan stres ile karakterizedir.

Geç faz: Reperfüzyondan sonraki 6 ila 48 saati kapsar ve nötrofil birikimi ve hepatosellüler hasar ile ilişkilidir (26). Kupffer hücre kaynaklı oksidanların katkısına rağmen, bu başlangıç fazı sırasında hasar derecesi, daha sonra gözlemlenenden çok daha azdır. Kupffer hücrelerinin aktivasyonu dahil olmak üzere, karaciğer hasarının ilk fazı sırasında meydana gelen olaylar, nötrofillerin hepatik birikimi ile sonuçlanan

karmaşık bir inflamatuvar yolağı başlatır. Nötrofiller; oksidanlar ve proteazları serbest bırakarak hepatositlere doğrudan zarar verir (27).

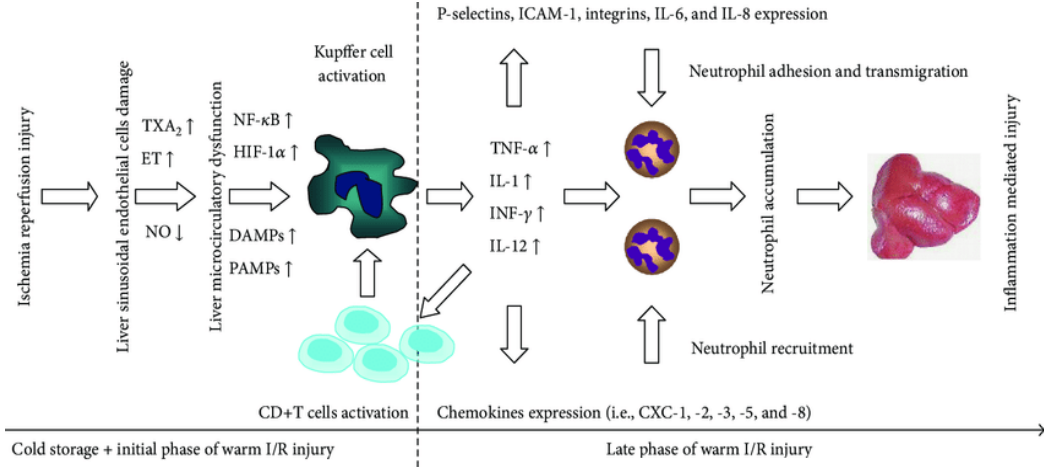
Kupffer hücreleri, karaciğerin yerleşik makrofajlarıdır ve İ/R hasarının en erken aşamalarında yer alan anahtar hücre tipleridir. Kupffer hücre üretimi ve süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınması, akut hepatoselüler hasara yol açar. Oksidatif stres sırasında üretilen ROS, hücre içi sinyal yollarına aracılık eden moleküller olarak da işlev görebilir. Yaralanmanın bu erken fazında oksidan strese bağlı hasar meydana gelse de, ROS karaciğerde nötrofil birikmesine yol açan inflamatuvar yolları aktive eder. Stresli karaciğere diğer bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu, sonuçta, hasarın daha büyük bir kısmının, erken oksidatif stresin kendisinden daha fazla olmasına katkıda bulunur (26).

Oksidan aracılı hasarlara ek olarak, sitokinlerin ve kemokinlerin üretimi de İ/R hasarının lokal ve sistemik olarak patogenezinde önemli bir rol oynar. Kupffer hücreleri, ROS'un erken üretimindeki rollerine ek olarak, bu araçları da serbest bırakırlar. Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF α) ve interlökin-1 (IL-1), İ/R'de sistemik olarak artmış olan en erken sitokinler arasındadır ve artmış seviyeler karaciğer reperfüzyonunun dakikaları içinde meydana gelir. Karaciğer parankim hücreleri (hepatositler) iskemik stres sırasında bu sitokinlerin salınımını düzenleyebilir. Sonuç olarak, serum TNF α ve IL-1'deki artış, İ/R hasarının nihai modeline ve lokal ve uzak organ yaralanmasına katkıda bulunur. TNF α ve IL-1 inflamatuvar sitokinlerin ek salınımını teşvik ederler ve İ/R sonrası hasarı artıran pozitif bir geri besleme döngüsü yaratırlar. Buna ek olarak, TNF α ve IL-1 ayrıca, hasarın sonraki safhalarından sorumlu olan, karaciğere nötrofilleri çeken kemokinlerin ve adhezyon moleküllerinin üretimini regüle ederler (26).

Karaciğerdeki kemokinler ve adezyon moleküllerinin üretimi, nötrofiller gibi diğer bağışıklık hücresi tiplerini yaralanma bölgesine çeker. Bu moleküllerin salınması hasarlı organ içindeki bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunun neden olduğu bir proinflamatuvar duruma yol açar. Bu moleküller ayrıca, sistemik TNF α seviyelerine cevap olarak akciğerler gibi uzak organlarda da üretilir ve bu bölgelerde benzer bir mekanizma ile yaralanmaya katkıda bulunur (26).

Kemokinler, karaciğer dokusunda bir kemokin gradyanı yoluyla yaralanmanın iskemik alanlarına nötrofilleri çekmeye hizmet etse de, nötrofiller için kan akışından yaralanma bölgelerine transmigrasyon için 20 adhezyon molekülü gereklidir. Kan dolaşımındaki nötrofiller ve trombositler ile karaciğerdeki endotel hücreler arasındaki ilk etkileşme, dolaşımdaki kanda bu hücrelerle etkileşime giren endotel hücre yüzeyi üzerindeki selektinler tarafından aracılık edilir. Trombositlerin selektinler yoluyla endotel hücrelere yapışması, sonuçta trombosit sekestrasyonuna ve karaciğer hasarına katkıda bulunur. Bununla birlikte, nötrofiller; integrinlerin (nötrofiller ve diğer lökositler üzerinde eksprese edilen) ve immünglobülinlerin (endotel hücreler üzerinde eksprese edilen), daha önemli hücre-hücre etkileşimlerine, nötrofil yapışmasına ve iskemik yaralanma bölgelerinde hepatik parankime ekstrasvazyona yol açar. Karaciğerdeki bu nötrofil birikimi, İ/R hasarının geç fazını işaret eder (26).

Sıcak İ/R'de nötrofil aracılı yaralanma, oksidan ve proteazlaşmış mekanizmalarla gerçekleşir. Nötrofiller, proteazları ve diğer sitotoksik enzimleri ekzositoz ile salıverir. Bu enzimler hücrel membranları ve matris bileşenlerini bozar. Hücre dışı matrisin tahrip edilmesinden sorumlu enzimlerden biri olan nötrofil elastazın inhibisyonu, karaciğer hasarının azalmasına yol açar. Ek olarak, büyük ölçüde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) oksidaz bağımlı yoldan ROS üreten aktive edilmiş nötrofillerden hepatik parankimde önemli bir ROS salımı vardır. NADPH oksidaz aktivasyonu büyük ölçüde süperoksit üretimine neden olur; bu da daha sonra başka birçok reaktif oksijen molekülü haline dönüştürülür. Bu oksijen radikalleri, parankimal hasara neden olur ve doğal antiproteazların deaktive edilmesi yoluyla proteazlaşmış yaralanmayı kolaylaştırır.



Şekil 2.3. Karaciğer iskemi reperfüzyonunda inflamatuvar yolak

2.4.2.1.2. Soğuk iskemi reperfüzyon yaralanması

Soğuk iskemi, sıcak iskemiyin aksine, sinüzoidal endotelial hücrelerin zarar görmesi ve hepatositlere zarar vermektense ziyade mikrodolaşımın bozulması ile karakterizedir. Soğuk İ/R hasarı, özellikle bir donör greftinin saklandığı ve soğuk depolamadan önce bir koruma çözeltisi ile perfüze edildiği transplantasyon ortamında meydana gelir (26).

Soğuk ve sıcak İ/R yaralanması arasındaki en önemli fark, soğuk İ/R'nin karaciğer greftindeki çeşitli hücresel alt kümeler üzerinde belirli etkilere sahip olmasıdır. Spesifik olarak, endotel hücreleri soğuk İ/R hasarına daha duyarlıdır. Bu soğuk saklamaya bağlı yaralanma, apoptoz ve pıhtılaşma nekrozu ile ortaya çıkmaktadır. Endotel hasarının derecesi, reperfüzyondan sonra karaciğerde fonksiyonel bozulma ile korelasyon gösterir. Geri kalan canlı endotel hücreleri, daha önce belirtildiği gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonu ile İ/R hasarına katkıda bulunur. Ek olarak, artan soğuk iskemi süreleri, reperfüzyonda Kupffer hücre aktivasyonunun artmasıyla ilişkilidir ve ROS ve sitokin üretiminin artmasına neden olur (26).

2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (28, 29). Serbest radikaller

eşlenmemiş elektron bulundurduklarından dolayı diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Elektronlarını çiftler halinde (eşlenik) bulunduran atomlar veya moleküller ise kararlı bir yapıya sahip olduklarından, başka moleküller ile reaksiyonlara girme eğilimleri serbest radikaller kadar yüksek değildir. Bu yüzden kararlı yapıda bulunan, eşlenmemiş elektronu bulunmayan ve diğer maddeler ile radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren moleküller nonradikaller olarak tanımlanır. Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilir. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak isimlendirilir (29).

Oksijen serbest radikalleri veya daha genel olarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS), normal hücrel metabolizma ürünüdür. ROS ve RNS, hem zararlı hem de yararlı türler olarak ikili bir rol oynamaktadırlar. ROS'un yararlı etkileri, düşük/orta konsantrasyonlarda ortaya çıkar ve örneğin bulaşıcı ajanlara karşı savunmada ve bir dizi hücrel sinyal sisteminin işlevinde olduğu gibi, enfeksiyona karşı hücrel tepkilerde fizyolojik rolleri içerir. Düşük/orta konsantrasyonlarda ROS'un faydalı bir diğer örneği, mitojenik yanıtın indüklenmesidir (30).

Serbest radikaller, organizmada aerobik solunum gibi fizyolojik durumlarda oluşabildikleri gibi, hava kirliliği (azot oksitler, ozon, kükürt dioksit, sigara dumanı), çeşitli intoksikasyonlar (karbon monoksit, alkol, insektisitler, çeşitli ilaçlar), hemorajik ve iskemik durumlar, alerji, enfeksiyonlar, radyoaktiviteye maruz kalma, yaşlanma ve stres gibi değişik birçok nedenle de meydana gelebilmektedirler (31).

Potansiyel biyolojik hasara neden olan serbest radikallerin zararlı etkisi, oksidatif stres ve nitrosatif stres olarak adlandırılır. Bir tarafta ROS/RNS aşırı üretimi ve diğer tarafta enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan eksikliği olduğunda, bu biyolojik sistemlerde meydana gelir. Diğer bir deyişle, oksidatif stres, oksijen kullanan metabolik reaksiyonlardan kaynaklanır ve canlılardaki prooksidan/antioksidan reaksiyonların denge durumundaki bozulmayı temsil eder. Aşırı ROS, hücrel lipitlere, proteinlere veya DNA'ya normal işlevlerini engelleyecek şekilde hasar verebilir. Bu nedenle, oksidatif stres yaşlanma sürecinin yanı sıra bir takım hastalıklarda da rol oynar. Serbest radikallerin faydalı ve zararlı etkileri arasındaki hassas denge, canlı organizmaların çok önemli bir unsurudur ve

"redoks regülasyonu" adı verilen mekanizmalarla başarılır. "Redoks regülasyonu" süreci, canlı organizmaları çeşitli oksidatif streslerden korur ve redoks durumunu in vivo kontrol ederek "redoks homeostazisini" korur (30).

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (28).

Serbest radikaller hücrelerin protein, DNA, karbonhidrat, lipitler, enzimler ve diğer molekül grupları ile reaksiyona girerek onların metabolizmalarını etkilerler. Ekstrasellüler matrikste hyaluronik asit ve kollajen yapısında değişiklik meydana getirerek dokularda hasara neden olurlar. Membran yapısında yer alan fosfolipitlerdeki poliansature yağ asitlerinin peroksidasyonu ile doğrudan hücrelere zarar vermektedirler. Ayrıca lizozom ve mitokondrileri çevreleyen zarların permeabilitesini artırarak parçalamaktadırlar. Vücutta her şey düzenli çalışırsa düşük düzeyde ortaya çıkan bu etkiler temizleyici enzimler ve antioksidan maddelerle etkisiz kılınırlar. Bunların üretimleri organizmanın temizleme olanaklarını aştığında dokuda yıkım başlar (32).

Başlıca serbest radikaller ;

1. O_2^- (Süperoksit Radikali)
2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)
3. OH^- (Hidroksil Radikali)
4. 1O_2 (Singlet Oksijen)
5. Serbest Nitrojen Radikalleri

2.5.1. Süperoksit radikali (O_2^-)

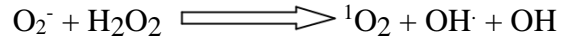
Oksijen molekülüne bir elektron ilavesiyle O_2^- oluşur. Serbest radikal olmasına rağmen yüksek derecede reaktif değildir. Süperoksitin üretimi çoğunlukla hücrenin mitokondrisi içinde gerçekleşir. Mitokondrideki enerji dönüşümü sırasında az miktarda elektron kaçakları oksijenin O_2^- serbest radikaline dönüşümüne neden olur ve çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde rol oynar. Normalde oksijenin suya dönüştürülmesi gerekirken, toplam elektronların %1-3'ü O_2^- oluşturmak üzere sızdığı submitokondriyal parçacıklar üzerindeki ölçümlerde gösterilmektedir.

Süperoksit radikali, elektron transport sisteminde hem kompleks I hem de kompleks III'te üretilir (29).

Süperoksit radikali, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H₂O₂)'e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir (33).

Süperoksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir.

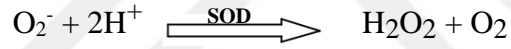
1. H₂O₂ ile tepkimeye girerek hidroksil radikali (OH[•]) ve singlet oksijen (¹O₂) oluşturabilir.



2. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen yapımına neden olur.



3. SOD aracılığı ile hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümü meydana gelir.



2.5.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Kendisi bir serbest radikal olmayan fakat kararsız yapısı nedeniyle süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali türevi olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilen H₂O₂'in üretimi, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi katalizörlüğünde olmaktadır (34).

Hidrojen peroksit (H₂O₂), suya indirgenebilir veya kısmen hidroksil(OH[•]) radikaline indirgenebilir. OH[•] oluşumu, indirgenmiş geçiş metalleri ile katalize edilir ve bu süreç O₂⁻ ile azaltılır ve bu süreç yayılır. Buna ek olarak, O₂⁻, her iki radikalın difüzyon hızı ile kontrol edilen bir reaksiyonda nitrik oksit (NO) içeren diğer radikallerle reaksiyona girebilir. Ürün, peroksinitrit, aynı zamanda çok güçlü bir oksidandır. NO'dan türetilen oksidanlar son zamanlarda reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılmaktadır (35).

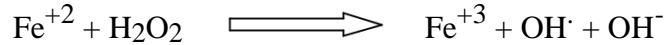
Hidrojen peroksit, nötrofillerin fagozomlarında bulunan bir enzim olan miyeloperoksidaz tarafından hipokloröz asite (HOCl) dönüştürülür. Bu sırada geçiş metallere oksidasyonu yoluyla da OH^- oluşmasına neden olarak ROS moleküllerinin üretilmesinde bir aracı olarak rol oynar. Hidrojen peroksitin bir diğer önemli fonksiyonu da hücre içi sinyal molekülü rolünü yerine getirmektir. Hidrojen peroksit, O_2^- 'ye bir elektron ilavesiyle ya da O_2 'ye iki elektron eklenmesiyle de doğrudan meydana gelir. Yukarıda adı geçen mekanizmalar tarafından üretilen hidrojen peroksit; katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler olarak adlandırılan antioksidan enzim sistemleri tarafından ortadan kaldırılır (29).

Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir.

1. H_2O_2 , katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür:

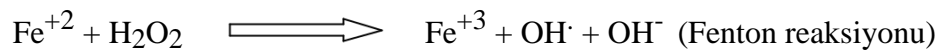


2. H_2O_2 geçiş metallere varlığında toksik OH^- radikale dönüşür.

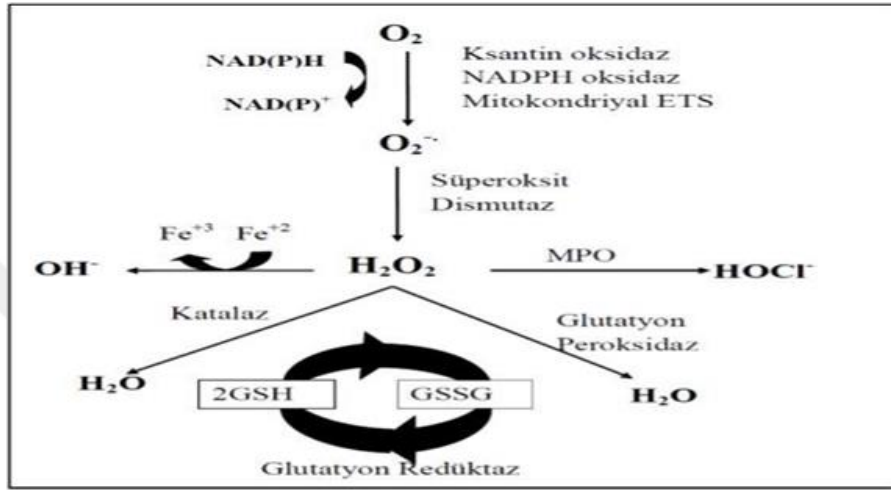


2.5.3. Hidroksil (OH^-)

Hidroksil radikali, biyomoleküller ile daha güçlü reaksiyona girmesinden dolayı biyolojik sistemlere diğer ROS'lardan daha fazla zarar verebilir. Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldir. Hidrojen peroksit, Fe^{+2} ve Cu^+ veya diğer geçiş elementleri varlığında indirgenerek OH^- 'ye dönüştürülür. Bu reaksiyona "Fenton reaksiyonu" denir. Süperoksit radikali Fenton reaksiyonu ile bağlantı kurarak oluşan metal iyonlarının yeniden kullanılmasında önemli bir rol oynar. Bu iki reaksiyona "Haber-Weiss reaksiyonu" adı verilir. Geçiş metalleri böylelikle OH^- oluşmasında önemli bir rol oynarlar (29, 36).



Oksidatif strete en olası toksik reaktandır. Yarılanma ömrü çok kısadır. Aşırı derecede reaktif olup sadece difüzyon ile sınırlandırılabilirdiğinden çok hızlı bir şekilde hem düşük hem de yüksek molekül ağırlıklı bileşikleri hasara uğratabilir veya değiştirebilir (33). Hidroksil radikali büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur (37).



Şekil 2.4. Serbest radikallerin dönüşüm reaksiyonları

2.5.4. Singlet oksijen (1O_2)

Oksijenin eşleşmemiş elektronlarından birinin enerji alarak var olduğu orbitalden başka bir orbitale geçiş yapması veya kendi dönüş yönünün aksi yönünde yer değiştirmesi sonucu meydana gelmektedir. Yapısında 2 adet çiftlenmemiş elektron taşır. Yüksek reaktiviteye sahiptir. Singlet oksijen, doymamış yağ asitleri ile direkt olarak tepkimeye girmekte ve peroksi radikalinin ($ROO\cdot$) oluşmasına da neden olmaktadır (38, 39).

2.5.5. NO (Nitrik oksit)

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Vasküler tonusun regülasyonunda, guanilat siklazı aktive eden NO major rol oynar. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif olarak bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücre solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve hücreyi lipid peroksidasyonundan korur. Bununla

birlikte süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (36).

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları

Endojen kaynaklar	Ekzojen kaynaklar
Mitokondriyal ve endoplazmik retikulum elektron transport zinciri	İyonizan radyasyon (X-ışını)
Nötrofil ve makrofaj fagositoz sistemi	UV ışınları, sigara
Ksantin oksidaz sistemi	Hepatotoksinler (Karbon tetraklorür)
Araşidonik asit metabolizması	Ksenobiyotikler
Enzimatik olmayan reaksiyonlar	Redoks siklusu yapan maddeler
Lenfosit, fibroblast ve endotelden düzenleyici moleküller olarak salgılanma	Kemoterapötikler
Diğer oksidazlar	Asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirleticiler, kimyasal maddeler

Organizmadaki serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklar tarafından meydana getirilebilir. Serbest radikaller hücrede ve çevrede sürekli olarak üretilir (29).

2.5.6. Serbest radikallerin yararları

Serbest radikaller düşük yoğunlukta olduğu zaman yararlı etkilerinden söz edilebilmektedir. Düşük yoğunluktaki serbest radikaller enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerinin öldürülmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi savunma fonksiyonlarıyla birlikte intrasellüler depolardan kalsiyum salınımı, tirozin amino asidini fosfatlama aktivasyonu ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücrel sinyallerin aktivasyonunda rol oynamaktadır (29).

2.5.7. Serbest radikallerin zararları

2.5.7.1. Lipitlere zararları

Lipitler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin (ÇDYA) oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır (40, 41).

Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri ve lipit peroksit radikallerinin (LOO-) oluşması, ROS'un neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir. Oluşan lipit peroksit radikali bir başka ÇDYA ile reaksiyona girerek kendisi lipit hidroperoksite dönüşürken ürün olarak bir başka lipit radikali oluşur. Peroksit radikalleri zincir reaksiyonunu devam ettirir. Oluşan lipit hidroperoksit geçiş metallerinin katalizi ile yıkılıp çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. Lipit peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal'dir. MDA ölçümü ile lipit peroksidasyonunun değerlendirilmesi yapılabilmektedir (40, 41).

2.5.7.2. Proteinlere zararları

Serbest radikaller proteinleri doğrudan etkilerken proteinlerin etkilenme derecesini amino asit içerikleri belirler. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikaller ile daha yüksek reaktiviteye sahip olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girer. Serbest radikaller, yapısal proteinlerin fonksiyonunu ve enzim aktivitesini engelleyerek birçok proteinin hasarına neden olabilir. ROS ve RNS'nin neden olduğu protein oksidasyonu neticesinde, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler meydana gelir. Bu ürünler ile geçiş metal iyonlarının etkileşimi sonucunda da radikaller oluşabilir. Bununla beraber oksitlenmiş proteinlerin birçoğu, fonksiyonel olarak doğada inaktiftir ve hızlı bir şekilde uzaklaştırılır. Fakat zaman ile kademeli olarak bir miktar birikebilir. Böylece çeşitli hastalıkların yanı sıra yaşlılık ile ilişkili hasarlara da sebep olur (29).

2.5.7.3. Karbonhidratlara zararları

Hidroksil gibi serbest radikaller, karbonhidratlar ile reaksiyona girer ve karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu çıkararak karbon merkezli radikal üretirler. Bunlar hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına yol açar (29).

2.5.7.4. DNA'ya zararları

Reaktif oksijen türleri ve RNS, DNA ile etkileşime geçerek oksidatif hasara yol açar. DNA, OH⁻ gibi serbest radikaller tarafından kolaylıkla hasara uğratılabilir. Bu serbest radikaller DNA ile reaksiyona girerek şeker parçasından hidrojen atomlarının kaybına veya ilavesine sebep olabilir. Özellikle, pirimidinin C4-C5 çift bağı hidroksil radikalının saldırılarına karşı çok hassastır. Bu saldırılar sonucunda timin glikol, urasil glikol, üre kalıntısı, 5-hidroksideoksiüridin, 5-hidroksideoksisitidin ve hidantoin gibi oksidatif pirimidin hasar ürünleri meydana gelir. Benzer şekilde pürinler, hidroksil radikal saldırılarına karşı hassastır. Serbest radikal saldırıları ayrıca poli sentetaz enziminin (ADP-riboz) aktivasyonuna neden olur. Bu enzimin aktivasyonu programlanmış hücre ölümüne ve DNA'nın parçalanmasına yol açar. Bu işlemler, elektron transport zincir fonksiyonlarını bozarak NAD⁺ seviyelerini hücresel düzeyde tüketir (29).

2.6. Antioksidanlar ve Savunma Mekanizmaları

Biyolojik sistemlerde elektron alıcı moleküller serbest oksijen radikalleridir. Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine oksidanlar denir. Oksidanlar hedef moleküllerin yapılarını ve işlevlerini onlardan elektron alıp değiştirirler. Oksidanlar hücre zarlarını ve DNA, RNA gibi genetik materyali ve çeşitli enzimatik olayları da etkiler ve iskemi ve reperfüzyon sırasında hücre hasarına yol açarlar. Çeşitli antioksidanlar, organizmayı oksidanların zarar verici etkilerinden korur. Organizmada oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengesizlik, aşırı miktarda serbest oksijen üretilmesinden kaynaklanır. Oksidan ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması ile oksidatif stres oluşur. Oksidatif stresin, birçok lokal ve çevresel materyalin oluşumunda ve ilerlemesinde rolü olduğu gösterilmiştir (42).

Fizyolojik koşullar altında, ROS üretimi çok sayıda anti-serbest radikal sistemi tarafından kontrol edilir koruyucu mekanizmalar gibi davranırlar (43).

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler, mikromoleküller, trakeobronşial mukus bu yolla etki eder.

2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidana bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.

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

4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (44, 45).

Tablo 2.2. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması

Endojen antioksidanlar			Ekzojen antioksidanlar	
Enzimatik antioksidanlar	Nonenzimatik antioksidanlar			
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q10	α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
Katalaz	<u>Bilirubin</u>	Selenyum	β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Glutasyon peroksidaz	Melatonin	α -lipoik asit	Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Glutasyon redüktaz	Ürik asit	Transferrin	Folik asit (Vitamin B9)	Nötrofil adezyon inhibitörleri
	Albumin	Seruloplazmin	Barbitüratlar	Sitokinler (TNF ve IL-1)

2.6.1. Enzimatik endojen antioksidanlar

2.6.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

İlk olarak McCord ve Fridovich tarafından 1969'da keşfedilmiştir (46). Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Yüksek derecede reaktif süperoksit anyonun O₂'ye ve daha az reaktif tür H₂O₂'ye bozunmasını katalize eder. Metalloprotein yapısındadır ve insanlarda hücre içi, mitokondriyal ve sitozolik olmak üzere üç şekilde bulunur (36).

SOD süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür (47).

Süperoksit dismutazın diğer bir fonksiyonu dehidratazları (dihidroksi asit dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglukonat dehidrataz ve fumarazlar A ve B) serbest radikal süperoksitle inaktivasyona karşı korumaktır (47).



2.6.1.2. Katalaz (CAT)

Sumer ve Dounce tarafından 1937'de kristalize halde saflaştırıldı. Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe⁺³ bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir (36).

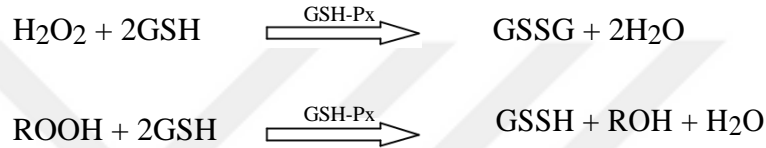
Katalaz, esas olarak hücrel peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomda bulunan ve iki aşamalı bir reaksiyonla hidrojen peroksitin suya ve moleküler oksijene reaksiyonunu katalize eden bir hücre içi antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksiti çıkararak dolaylı olarak SOD ile hidrojen peroksit haline getirilen süperoksit radikallerini detoksifiye eder. Enzim ayrıca peroksidaz aktivitesine sahiptir ve organik peroksitler ve hidrojen vericileriyle suya ve organik alkollere tepki verir. Katalaz yüksek düzeyde oksidatif stres için çok etkilidir ve hücreleri, hücrede üretilen hidrojen peroksitten korur. Enzim, sınırlı glutatyon içeriği veya azalmış GPX aktivitesi durumunda özellikle önemlidir ve hücrelerin oksidatif strese karşı toleransın gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur (36, 48, 49).



2.6.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur. Redükte glutatyonu yükseltirken H₂O₂'i de suya çevirir ve böylece membran lipitlerini ve hemoglobini

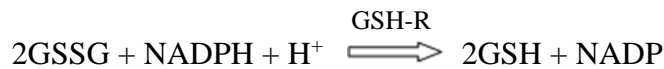
oksidan strese karşı korur (30). Glutasyon peroksidaz enziminin iki ana tipi saptanmıştır. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenyum içeren selenyuma bağımlı glutasyon peroksidazdır. Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz, H₂O₂ ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde faaliyet gösterir (21-25). Bu metabolize etme reaksiyonları sırasında glutasyon (GSH), hidrojen verici olarak hareket ettiğinden dolayı H₂O₂ ve hidroperoksitler indirgenirken glutasyon okside olur (25). Okside glutasyon, glutasyon disülfittir (GSSG). Glutasyon redüktaz enzimi varlığında okside glutasyon redükte glutasyon haline geri indirgenir



GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal etkisi ile fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır GSH-Px, E vitamini yetersizliğinde membranı peroksidasyona karşı korur (37, 50, 51).

2.6.1.4. Glutasyon redüktaz (GSH-R)

Glutasyon redüktaz, GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder. Enzim NADPH bağımlıdır. Hem sitoplazmada hemde mitokondride bulunur (52, 53).



2.6.2. Nonenzimatik endojen antioksidanlar

2.6.2.1. Glutasyon (GSH)

GSH, hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içindeki en önemli antioksidan bileşiktir. Hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. Karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Sentezde γ -glutamil

sistein sentaz ve GSH sentaz enzimleri katalizördür. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur; böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. GSH eritrositleri, lökositleri ve irisi oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Spermatogenez ve sperm olgunlaşmasında önemli rol oynadığı, influenza enfeksiyonunu inhibe ettiği, T lenfositlerin, PMNL'lerin ve sitokinlerin aktivasyonu için gerekli olduğu ve immün sistemin önemli bir elemanı olarak fonksiyon gösterdiği ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalar GSH eksikliğinin oksidatif strese yol açtığını ve Alzheimer, Parkinson, epilepsi, karaciğer hastalıkları, kistik fibrozis, orak hücreli anemi, AIDS, kanser, koroner arter hastalığı, SVO, diyabet gibi pek çok hastalığın nedeni olabileceğini ortaya koymaktadır (37, 54).

2.6.2.2. Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E yağda eriyen çok güçlü bir antioksidandır; hücre zarı fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır. Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve vitamin E ile diğer antioksidanların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği gösterilmiştir (37, 39).

2.6.2.3. Vitamin C (Askorbik asit)

Vitamin C (askorbik asit) suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. İnsanlarda sentez edilmediğinden diyetle alınması gerekir. Organizmada kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenebilir. O_2^- , HO^- , singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Yeşil renkli taze sebze, meyve ve turunçgiller önemli C vitamini kaynaklarıdır (37, 39).

C vitamini antioksidan etkisi yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferrik demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali oluşturmaya uygun ferröz demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C,

serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir. Vitamin C'nin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir (37, 39).



2.6.2.4. Karotenoidler

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve OH^- , alkoksil ve peroksil radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü ve lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunu önleyebildiği saptanmıştır. (37, 39).

2.6.2.5. Ürik asit

Ürik asit; singlet oksijen, peroksil radikalleri, ozon ve HOCl için güçlü bir temizleyicidir ve endojen bir antioksidan olarak kabul edilir (37, 39).

2.6.2.6. Melatonin

Melatonin, memelilerde başta pineal bezde sentezlenip salgılanan bir hormondur. Sentezinin düzenlenmesi primer olarak geceye, diğer bir deyişle karanlığa bağlıdır. Jetlagda tedavi olarak kullanılmakla beraber melatoninin kanseri önleyici etkileri, hücrel hasarın onarımındaki rolü ve bağışıklık sistemini destekleyici etkileri olduğu da gösterilmiştir (37, 39).

Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O_2^- radikalini H_2O_2 'ye kataliz eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek, antioksidan etki göstermektedir. Oksidatif hasarın rol oynadığı İ/R dahil pek çok deneysel modelde (yanık hasarı, ülser ve ilaç toksisiteleri, tümör oluşumu gibi) melatoninin olumlu etkileri gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimini azalması yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde artan oksidan hasarın ve melatonin yetersizliğinin önemli rolü olduğunu göstermektedir (37, 39).

2.7. Total Antioksidan Kapasite (TAS)

Dokular enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar tarafından oksidatif mücadeleye karşı korunmaktadır. Oksidatif stres prooksidanlar ve antioksidanlar

arasındaki denge prooksidanlar lehine değiştiğinde ortaya çıkmaktadır (55). Plazmada antioksidanlar birbiri ile etkileşim içinde bulunurlar ve genel olarak bu maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir (56-58).

Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşturulmuş olur ve bu da total antioksidan kapasite (TAS)'yi oluşturur. Farklı antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuarlarda ayrı ayrı ölçülebilir; ancak ölçümler zaman alıcı, masraflı ve karmaşık teknikler gerektirir. Bu sebepten dolayı, bir numunenin toplam antioksidan yanıtı ölçülür ve bu toplam antioksidan kapasite (TAS), toplam antioksidan aktivite, toplam antioksidan güç, toplam antioksidan durum olarak da adlandırılabilir (57).

2.8. Total Oksidatif Stres (TOS)

Farklı oksidan türlerinin serum (veya plazma) konsantrasyonları laboratuarlarda ayrı ayrı ölçülebilir; ancak ölçümler zaman alıcı, emek gerektiren, masraflı ve karmaşık teknikler gerektirir. Farklı oksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçülmesi pratik değildir ve oksidatif etkileri birbirine eklenebildiğinden bir numunenin toplam oksidan etkisi ölçülebilir. Buna total oksidatif stres veya total oksidan status/seviye denir (59).

2.9. Tiyoller

Civaya bağlandıkları için merkaptanlar olarak da adlandırılan tiyoller karbon atomuna sülfür ve hidrojen atomunun bağlanması ile oluşan sülfidril (-SH) grubunu içeren organik bileşiklerdir. Plazma tiyol havuzunun çok büyük bir kısmını temel olarak albümin ve diğer proteinlerden oluşurken, küçük bir kısmını da sistein, sisteinil glisin, glutatyon, homosistein ve gama-glutamilsistein gibi düşük moleköl ağırlıklı tiyollerden oluşmaktadır (60). Tiyoller oksidanlar tarafından oksidasyon reaksiyonuna uğrayabilir ve disülfid bağları oluşur. Oluşan disülfid bağları tekrar tiyol gruplarına redüklenebilir, böylece dinamik tiyol/disülfid hemoztazisi sürdürülür. Dinamik tiyol/disülfid denge durumu, antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptozis, enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde transkripsiyon ve hücrel sinyal iletimi mekanizmalarında (reseptörler, taşıyıcılar, Na⁺-K⁺ kanalı) kritik rollere sahiptir. Tiyol grupları antioksidan olarak, disülfid bağları ise oksidan olarak değerlendirilmektedir ve normal şartlarda tiyol grupları azalırken disülfid bağlarının

miktarının artması beklenmektedir. Anormal tiyol/disülfid denge düzeyleri DM, kardiyovasküler hastalık, kanser, romatoid artrit, kronik böbrek yetmezliği, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, multiple skleroz, karaciğer hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde yer almaktadır. Tiyol ve disülfid metabolitlerinin ölçümü HPLC, kütle spektrometre, immünoessey, miseller elektrokinetik kapiller elektroforezis, MR spektroskopisi ile yapılmaktadır (61).

Günümüzde tiyol ve disülfid metabolitlerinin ölçümünde kullanılan HPLC, kütle spektrometre, immünoessey, miseller elektrokinetik kapiller elektroforez, MR spektroskopisi gibi yöntemler klinik uygulaması zor ve uzun süren yöntemlerdir. Yaşamsal öneme sahip olan tiyol/disülfid dengesinde, Erel ve Neşelioğlu'nun geliştirdiği yeni otomatik ölçüm yöntemiyle her iki değişken düzeyi, ayrı ayrı ve toplam olarak ölçülebilmekte ve hem bireysel hem de bütünsel olarak değerlendirilebilmektedir. Geliştirdikleri bu yöntem kolay, ucuz, pratik, tam otomatik ve aynı zamanda opsiyonel olarak manuel spektrofotometrik bir tahlil olarak kullanılmış ve plazma tiyol/disülfid homeostazını göstermiştir (60).

2.10. Çalışmada Kullanılan Etken Maddeler

2.10.1. Ksilazin

Ksilazin merkezi sinir sistemindeki α_2 adrenerjik reseptörleri uyarıp, norepinefrin salınımını bloke ederek sedasyon, analjezi ve kas gevşemesi sağlar. Antihipertansif olarak 1962 yılında Almanya'da sentezlenmiştir; ancak günümüzde daha çok sedasyon amacıyla kullanılmaktadır (62, 63).

Sempatik etkiyi azaltıp parasempatik etkiyi artırması kalp hızında %50-60 azalma, kalp debisi, kan basıncı ve solunum frekansında düşmeye neden olur. Ayrıca ksilazinin kalp bloğu, bulantı, kusma, gastrointestinal sistemde atoni ve gaz birikmesi gibi yan etkileri bulunmaktadır (63).

Suda eriyebilir ve presipite olmadan ketamin solüsyonu ile karıştırılabilir. Sıklıkla deney hayvanlarının anestezisinde IV veya IM olarak ketamin ile birlikte yaygın olarak kullanılır (63).

2.10.2. Ketamin

Tüm santral sinir sisteminde spinal korddaki polisınaptik refleksleri ve beyin seçilmiş bölgelerinde eksitör nörotransmitterlerin etkilerini inhibe eden pek çok etkisi vardır. Fonksiyonel olarak talamusu (duyusal impulsları retiküler aktive edici

sistemden serebral kortekse iletir) limbik korteksten (duyuların farkında olunması ile ilişkilidir) disosiyate eder. Beynin bazı nöronları inhibe olsa da diğerleri eksite olur. Klinik olarak bu disosiyatif anestezi durumu hastaların şuurlu gibi görünmesine ancak duyuşsal inputu değerlendirememesine ve buna yanıt verememesine yol açar. Ketamin bir NMDA reseptör antagonistidir (64).

Ketamin fensiklidin analogudur. Ketamin özellikle sempatik stimulyasyon yapma eğiliminin yararlı olduğu durumlarda (hipovolemi, travma) intravenöz anestezi indüksiyonu için kullanılır. İntravenöz yol bulunamadığında, ketamin çocuklarda ve koopere olmayan erişkinlerde intramuskuler genel anestezi indüksiyonu için yararlıdır. Ketaminin subterapotik dozları bile halusinojenik etki yapabilir; fakat klinik uygulamada böyle olmaz. Çünkü birçok hasta amnezi ve sedasyon için küçük bir doz midazolam almış olacaktır (64).

Ketamin oral, nazal, rektal, subkutan ve epidural olarak uygulanabilir; fakat klinik pratikte IV veya IM olarak uygulanır. Dağılım yarılanma ömrü 10-15 dakikadır (64).

Ketamin karaciğerde birçok metabolite dönüşür. Bunlardan norketaminin anestezik aktivitesi mevcuttur. Karaciğer tarafından yüksek oranda alınması ketaminin göreceli olarak kısa eliminasyon yarı ömrünü açıklar (2 saat). Biyotransformasyon ürünleri ise böbreklerden atılır (64).

Diğer çoğu anestezikten farklı olarak ketamin özellikle hızlı bolus uygulamadan sonra arteriyel kan basıncı, kalp hızı ve kalp debisini artırır. Bronkodilatör etkilidir. Serebral oksijen tüketimi serebral kan akımı ve kafa içi basıncını artırır (64).

2.10.3. Ketamin ve ksilazin

Ketamin/ksilazin, laboratuvar hayvanlarında cerrahi anestezi için yaygın olarak kullanılan bir ilaç kombinasyonudur. Ratlarda ketamin/ksilazin karışımı intraperitoneal 80/12mg/kg verildiğinde 2-4 dk içerisinde mükemmel sedasyon ve gevşeme sağlar ama analjezi tutarsızdır, kas gevşemesi sağlamaz. Başlıca avantajı kardiyopulmoner fonksiyonu artırmasıdır, geniş bir emniyet marjı ile IM verilebilir. Başlıca dezavantajları; kas tonusunu arttırması, titreme ve hatta tonik klonik konvülsiyonlara, salivasyonda belirgin bir artışa neden olmasıdır. Türler ve bireyler arasında cevapta geniş varyasyonlara neden olması yine dezavantajlarındanadır (63).

2.10.4. Sugammadeks

Modifiye γ -siklodekstrin olan sugammadeks, cerrahi prosedürleri kolaylaştırmak için genel anestezi sırasında indüklenen nöromusküler blokajın tersine çevrilmesi için belirtilen ilk selektif nöromusküler blokör bağlayıcı ajandır. Sugammadeksin etki mekanizması, neostigmin ve edrofonyum gibi yaygın olarak kullanılan reversal ajanlardan farklıdır (65).

Sugammadeks molekül bağlayıcı bir ajandır ve asetilkolinesteraz veya başka bir reseptör sistemi üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Bu nedenle rezidüel nöromusküler blokajın geri çevrilmesi amacıyla antikolinergik ilaç kullanımına gerek kalmamakta ve bu ilaçların yan etki olasılıkları ortadan kalkmış olmaktadır (66).

γ -siklodekstrin lipofilik iç yüz ve hidrofilik dış yüze sahiptir; dolayısıyla suda çözünebilir ve hidrofobik ilaçlar için hidrofilik taşıma ayrıca hidrofilik ilaçların geçirgenliğini artırarak etki gösterebilmektedir. Siklodekstrinler siklik oligosakkaritlerdir ve steroidler gibi lipofilik molekülleri enkapsüle edebilirler. Böylece enkapsüle ettikleri maddeleri suda eriyebilir hale getirip hızlıca idrar yoluyla atılabilmelerini sağlarlar (67).

Sugammadeks etkisini steroid yapıları nöromusküler blokör ajanlarla 1:1 oranında çok sıkı kompleksler oluşturarak gösterir. (roküronyum>veküronyum>panküronyum). Sugammadeks, süksinilkolin ve benzilizokinolon grubu nondepolarizan nöromusküler blokörlere karşı etkisizdir; çünkü bu ilaçlar ile birleşme kompleksleri oluşturamaz. Bu yüzden, eğer nöromusküler blok sugammadeks ile geri döndürülmüşse ve yeniden bir nöromusküler blokaj sağlanması ihtiyacı ortaya çıkmışsa, benzilizokinolon grubu bir blokör kullanılması önerilir (68, 69).

Sugammadeks, roküronyumu içine alıp sararak inaktive eder. Bu olaya “enkapsülasyon” adı verilir. Serbest roküronyum moleküllerini 1:1 oranda yüksek affinite ile selektif olarak bağlar. Her bir yan zincirin sonundaki negatif yüklü karboksil grupları, roküronyumun pozitif yüklü nitrojen atomları ile ilişkisi elektrostatik bağlanmayı artırır. İçerdiği polar hidroksil grupları nedeniyle hidrofobik kavitesi ve hidrofilik bir dış yüzü vardır. Hidrofobik etkileşimle siklodekstrin kavitede ilacı hapseder, hidrofilik dış yüzeyi sayesinde suda çözünebilir bir kompleks oluşturur. Roküronyum ile oluşturulan nöromusküler blok sırasında,

sugammadexin IV uygulanması serbest roküronyum moleküllerinin plazmadan hızla uzaklaştırılması ile sonuçlanır. Bu durum, kalan roküronyum moleküllerinin nöromusküler kavşaktan plazmaya hareketine sebep olan bir konsantrasyon gradiyentine yol açar. Sonuçta roküronyumun nöromusküler kavşakta azalmasıyla nöromusküler blokaj sonlanır. Böylece sugammadex, bağlayıcı bir ajan görevi görür (70, 71).

Roküronyum sugammadex kompleksinin stabilitesinde moleküller arası kuvvetlerin etkileşimleri (Van der Waals bağları), termodinamik (hidrojen bağları) ve hidrofobik etkileşmeler rol oynar (71).

Sugammadex, 1-16 mg/kg doz aralığında doğrusal farmakokinetik özellikleri gösterir. Tek doz sonrası sabit durum dağılım hacmi 1-14lt'dir. Sugammadex ve sugammadex roküronyum kompleksi, plazma proteinlerine veya eritrositlere bağlanmaz. Sugammadex esasen idrarla değişmeden ilaç olarak atılır; eliminasyon yarılanma ömrü 1,8 saattir. Roküronyumdan sonra sugammadex uygulaması, roküronyumun plazma konsantrasyonunu artırır, eliminasyon yarılanma ömrünü %30 kısaltır ve idrar atılımını 2-3 kat artırır. Bununla birlikte bu değişiklikler nöromusküler blok seviyesinde bir artış ile bağlantılı değildir (72).

Nöromusküler blokajın tersine dönme zamanı, yaşlı hastalarda genç erişkin hastalardan daha yavaştır; Bununla birlikte, yaşlı hastaların çoğunluğunda (%75,5) <4 dk içerisinde geri dönüşüm sağlanmıştır. 0,6 mg/kg roküronyumunu takiben 2 mg/kg dozda sugammadex alan bebekler, çocuklar, ergenler ve erişkinlerde nöromusküler blokajın ortadan kalkması için ortalama süre <1,9 dakika idi. Normal böbrek fonksiyonu olan hastalar ile ciddi böbrek yetmezliği olan hastalar arasında, 2 mg/kg dozunda sugammadexin etkinliği farklı değildi. Altta yatan kalp veya akciğer hastalığının, sugammadexin etkinliği üzerinde herhangi bir etkisi yoktur (72).

Sugammadexin hemodinamik parametreleri, solunumu, kan pıhtılaşmasını veya termoregülasyonu etkilediği gösterilmemişti. Yüksek dozlardan sonra metalik acı tat, ağız kuruluğu, aPTT'de kısa süreli ancak klinik olarak anlamsız uzama görülmüştür (73, 74).

Morbid obez ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) hastalarda sugammadex, ayarlanmış veya hatta ideal bir vücut ağırlığına göre hesaplanmalıdır (74).

Sugammadeks, serotonin tip 3 reseptörlerini (ondansetron ve bu gruptaki diğer ilaçları) doğrudan etkileyen ilaçlarla, ranitidin ve verapamille uyumsuz. Bu nedenle, bu ilaçlar karıştırılmamalı, intravenöz hattın durulanmasından sonra uygulanmalıdır (74).

Kreatin klerensi <30ml/dk yapılan çalışmalarda 2mg/kg ve 4mg/kg dozlarda sugammadeks kullanılmış olup sugammadeks ya da sugammadeks-roküronyum kompleksinin atılımı gecikmiştir; bununla birlikte bu hastalarda nöromüsküler bloğun yeniden oluşmasına dair herhangi bir işaret görülmemiştir (75, 76).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi

Bu çalışmada Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen, ağırlıkları 220–260 gr arasında değişen 36 adet erişkin Wistar Albino tipi dişi rat kullanıldı. Deney hayvanları, çalışma başlangıcına kadar adaptasyonlarının sağlanması için 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutulmuş; standart rat yemi ve suyla beslenmişlerdir. Cerrahi işlemden önceki 12 saat boyunca sadece su içmelerine izin verilmiştir. Deneklere yapılacak işlemler konusunda Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'nun 15.11.2017 tarih ve 2017/48 sayılı onayı alındı. Deneyler Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Anestezi Uygulaması

Çalışmaya dahil edilen bütün ratlara deneye başlangıç aşamasında aynı anestezi indüksiyonu uygulandı. Anestezi 90mg/kg ketamin (*Ketalar*®, *Pfizer Pharma GMBH, Germany*) ve 10mg/kg ksilazin HCl (*Alfazyme*®, %2, *Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland*) ile IM enjeksiyon yolu kullanılarak sağlandı.

3.3. Deney Grupları

Grup 1 (sham grubu n=6): Bu gruptaki ratlara ketamin-ksilazin anestezisi sonrası sadece laparotomi uygulandı ve hepatik pedikül diseksiyonu yapıldı. 30 dk sonra, 1ml %0,9'luk NaCl IV olarak uygulandı. Sonrasında 240 dk anestezi altında bekletildi. Sonrasında karaciğer dokusu örneği alındı ve torakotomi yapılarak intrakardiyak kan alındı. Ratlar bu yöntemle kurban edildi.

Grup 2 (kontrol grubu n=6): Bu gruptaki ratlara ketamin-ksilazin anestezisi sonrası laparotomi uygulandı ve hepatik pedikül diseksiyonu yapıldı. Atravmatik buldog klemp ile hepatik pedikül sıkıştırılarak karaciğer iskemisi oluşturuldu. 30 dk iskemi sonrası, buldog klemp kaldırıldı ve 1ml %0,9'luk NaCl IV olarak uygulandı. 240 dk reperfüzyon sonrası karaciğer dokusu örneği alındı ve torakotomi yapılarak intrakardiyak kan alındı. Ratlar bu yöntemle kurban edildi.

Grup 3 (İ/R-sugammadeks 16mg/kg n=6): Bu gruptaki ratlara ketamin-ksilazin anestezisi sonrası laparotomi uygulandı ve hepatik pedikül diseksiyonu

yapıldı. Hepatik pedikül diseke edildikten 30 dakika sonra sugammadeks 16mg/kg IV olarak uygulandı. 240 dakika sonra karaciğer doku örneği alındı ve torakotomi yapılarak intrakardiyak kan alındı. Ratlar bu yöntemle sakrifiye edildi.

Grup 4 (İ/R-sugammadeks 96mg/kg n=6): Bu gruptaki ratlara ketamin-ksilazin anestezisi sonrası laparotomi uygulandı ve hepatik pedikül diseksiyonu yapıldı. Hepatik pedikül diseke edildikten 30 dakika sonra sugammadeks 96mg/kg IV olarak uygulandı. 240 dakika sonra karaciğer dokusu örneği alındı ve torakotomi yapılarak intrakardiyak kan alındı. Ratlar bu yöntemle sakrifiye edildi.

Grup 5 (İ/R+sugammadeks 16mg/kg n=6): Bu gruptaki ratlara ketamin-ksilazin anestezisi sonrası laparotomi uygulandı ve hepatik pedikül diseksiyonu yapıldı. Atravmatik buldog klemp ile hepatik pedikül sıkıştırılarak karaciğer iskemisi oluşturuldu. 30 dk iskemi sonrası, buldog klemp kaldırıldı ve sugammadeks 16mg/kg IV olarak uygulandı. 240 dk reperfüzyon sonrası karaciğer dokusu örneği alındı ve torakotomi yapılarak intrakardiyak kan alındı. Ratlar bu yöntemle sakrifiye edildi.

Grup 6 (İ/R+sugammadeks 96mg/kg n=6): Bu gruptaki ratlara ketamin-ksilazin anestezisi sonrası laparotomi uygulandı ve hepatik pedikül diseksiyonu yapıldı. Atravmatik buldog klemp ile hepatik pedikül sıkıştırılarak karaciğer iskemisi oluşturuldu. 30 dk iskemi sonrası, buldog klemp kaldırıldı ve sugammadeks 96mg/kg IV olarak uygulandı. 240 dk reperfüzyon sonrası karaciğer dokusu örneği alındı ve torakotomi yapılarak intrakardiyak kan alındı. Ratlar bu yöntemle sakrifiye edildi.

3.4. Deneyin Yapılışı ve Örneklerin Alınması

Bu çalışmada, 36 adet Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Hayvanlar, rastgele ve her grupta 6 rat bulunacak şekilde 6 eşit gruba ayrıldı. Anestezi indüksiyonu yapılan ratlar gruplarına göre tek tek cerrahi işleme hazırlandı. Her rat, supin pozisyonda cerrahi düzeneğe sabitlendi, karın ön duvarı tüylerden arındırıldı ve batikonla silindi. Yaklaşık 3cm'lik insizyon sonrası batın organları görünür hale geldi ve hepatik pedikül diseke edildi. İlgili gruplarda atravmatik vasküler klemp ile hepatik pedikül sıkıştırılarak 30 dk iskemi uygulandı. Karaciğer iskemisi hepatik arterde pulsasyon olmaması ve dokunun soluklaşması ile doğrulandı. İskemi uygulanan gruplara 30 dk iskemi sonrası; iskemi uygulanmayan gruplara ise hepatik pedikül diseke edildikten 30 dk sonra gruplara göre toplam hacim 1ml olacak şekilde önceden belirlenmiş ilaçlar (16mg/kg sugammadeks, 96 mg/kg sugammadeks ve %0,9'luk NaCl) kuyruk

veninden yerleştirilmiş olan 24G intraket ile uygulandı. Sonrasında ratlar 240 dk boyunca gözlemlendi. Gereken ratlarda tekrar anestezi uygulandı. Bekleme süreleri boyunca batin ıslak steril tamponlar ile kapatıldı.

240 dk bekleme süresi sonrasında tüm hayvanlara göğüs ön duvarı orta hat insizyonu ile torakotomi yapıldı. Açığa çıkan kalpten 5cc enjektör ve 21 Gauge enjektör iğnesi kullanılarak intrakardiyak kan alındı. Deney sonunda hayvanlar eksanguinasyon yöntemi ile sakrifiye edildi.

İşlem sonunda alınan kan örnekleri santrifuj edilerek serumlarına ayrıldı ve bu serum örnekleri daha sonra alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, total oksidatif stres, total antioksidan kapasite, oksidatif stres indeksi, total tiyol ve native tiyol çalışılmak üzere biyokimya laboratuvarında -80°C'de saklandı.

Alınan karaciğer doku örnekleri histopatolojik olarak incelenmek amacıyla histoloji laboratuvarına %10 formalin solüsyonu içerisinde teslim edildi.

3.5. Histolojik değerlendirme

Alınan karaciğer dokuları %10'luk formalin ile 24 saat fikse edildi ve rutin doku takibi sonrası parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlere dokunun histolojik yapısı hakkında bilgi edinilebilmesi ve skorlama yapılması için Mayers'in hematoksilin-eozin (HE) boyaması uygulandı. HE uygulanan kesitlerde bir histoloji uzmanı tarafından Suzuki skorlaması yapıldı. (Tablo 3.1). Apoptotik hücrelerde DNA fragmantasyonunu tespit etmek için, TUNEL (Millipore "ApopTag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit) metodu uygulandı. Hematoksilin ile zıt boyama uygulanan kesitlerde ve ışık mikroskobu kullanılarak x40 objektif ile 20 alandaki boyanan hücreler sayıldı. İncelemelerde Nikon eclipse 80i ışık mikroskobu ve NIS-Elements D3.2 programı kullanıldı. İmmunohistokimyasal olarak vasküler endotelial büyüme faktörünün ekspresyonunu değerlendirmek için VEGF (1:250 dilution; Abcam, Cambridge, UK, ab46154) kullanıldı. İmmunohistokimyasal VEGF ve TUNEL değerlendirmelerinde x40 objektif ile 20 alandaki + boyanan hücreler sayıldı. VEGF'i eksprese eden hücrelerin yüzdesi, immünohistokimyasal boyamanın yoğunluğuna ve boyanan hücrelerin yüzdesine bağlı olarak semikantitatif olarak sınıflandırıldı.

Bu sınıflandırmaya göre;

Grade 0; hücrelerin %0-24'ünde düşük yoğunluklu boyanması,

Grade 1; hücrelerin %25-49'unda düşük veya orta yoğunlukta boyama,

Grade 2; hücrelerin %50-74'ünde orta veya güçlü boyanma

Grade 3; hücrelerin %75-100'ünde kuvvetli yoğunluklu boyama olarak değerlendirildi.

Tablo 3.1. Hepatik iskemi/reperfüzyon hasarının değerlendirilmesi için Suzuki skorlaması

Skor	Sinüzoidal konjesyon	Vakuolizasyon	Nekroz
0	Yok	Yok	Yok
1	Hafif	Hafif	Tek hücre nekrozu
2	Orta	Orta	%0-30
3	Yüksek	Yüksek	%30-60
4	Ciddi	Ciddi	>%60

3.6. Biyokimyasal Değerlendirme

Deney sonunda intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri 4000 rpm'de santrifüj edilip serumlarına ayrıldı. Serum örnekleri daha sonra çalışılmak üzere -80°C'de muhafaza edildi. Uygun laboratuvar kitleri elde edildiğinde dondurulmuş serum örnekleri aşamalı olarak çözündürüldü. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri Architect c4000 (Abbott, Chicago, IL, ABD) otoanalizöründe ölçüldü. Serum Total Antioksidan Seviyesi (TAS) ve serum Total Oksidan Seviyesi (TOS) düzeyi, ticari kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak Architect c4000 (Abbott, Chicago, IL, ABD) otoanalizöründe ölçüldü. Total Oksidan Seviyesi(TOS)/Total Antioksidan Seviyesi(TAS) şeklinde bölünerek oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı. Serum native tiyol düzeyi (-SH) ve total tiyol düzeyi (-SH + -S-S-), ticari kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep,

Türkiye) kullanılarak Architect c4000 (Abbott, Chicago, IL, ABD) otoanalizöründe ölçüldü.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için Statistical Package of Social Sciences 24(SPSS 24.0, Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Verilerin normallik testleri Shapiro Wilks analizi ile yapıldı. Normal dağılım gösteren serum native tiyol ve serum total tiyol için One Way Anova testi uygulandı. Dağılımı homojen gruplar için Tukey testi, heterojen gruplar için Games-Howel testi yapıldı. Biyokimyasal incelemede ALT, AST, TAS, TOS, OSİ, total ve native tiyol düzeyi; histolojik incelemede VEGF, TUNEL ve Suzuki skoru normal dağılmadığından Kruskal Wallis varyans analizi yapıldı. Grupların ikili karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanılarak tüm veriler ortalama \pm standart sapma (ort \pm ss) olarak gösterildi. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Değerlendirme Bulguları

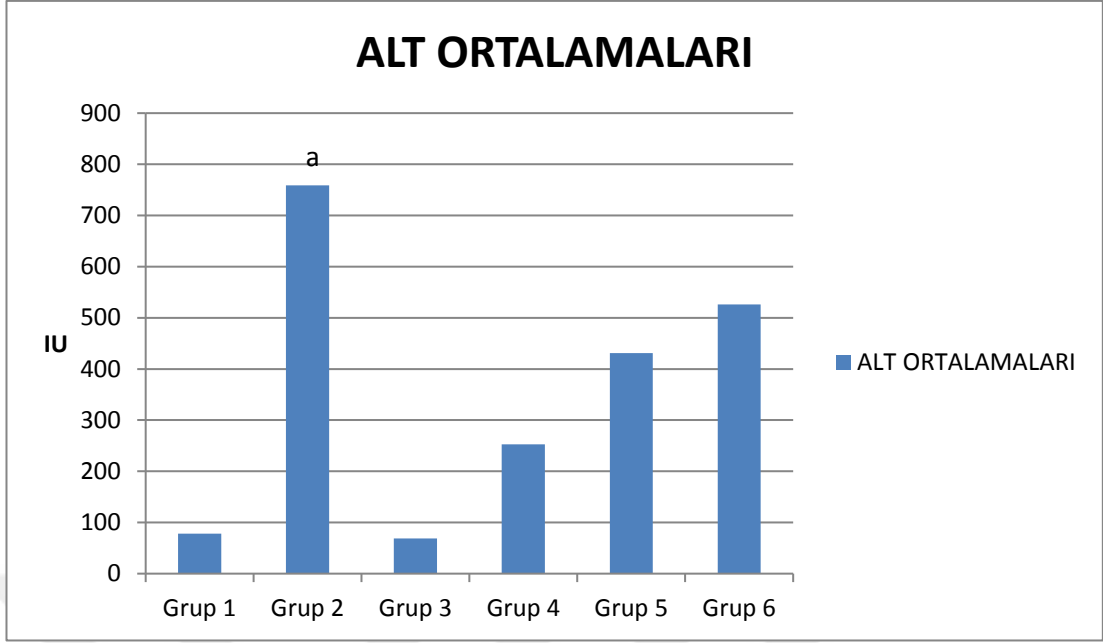
Gruplar ALT değeri açısından değerlendirildiğinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında her iki grup ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg grubu ile İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak sugammadeks uygulanmasının ALT değerinde düşüşe yol açtığı görülmüştür (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Grupların ortalama ALT değerleri

Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler \pm SS
Sham	6	78,1 \pm 16,2
Kontrol	6	758,8 \pm 682,1 ^a
İ/R-Sugammadeks 16mg/kg	6	68,2 \pm 25,9
İ/R-Sugammadeks 96mg/kg	6	252,5 \pm 43
İ/R+Sugammadeks 16mg/kg	6	431,1 \pm 417,9
İ/R+Sugammadeks 96mg/kg	6	525,8 \pm 565,6

n:hayvan sayısı, değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

Şekil 4.1. ALT değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ortalama AST değerleri

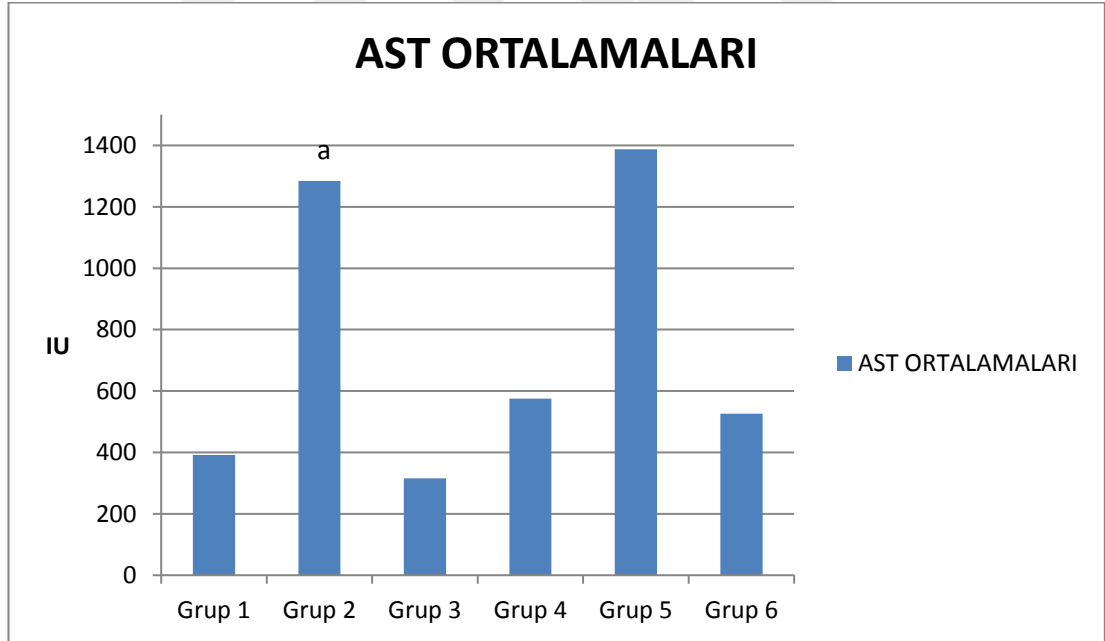
Gruplar AST değeri açısından karşılaştırıldığında sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubu İ/R+sugammadex 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında her iki grup ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). İ/R+sugammadex 16mg/kg ve İ/R+sugammadex 96mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo4.2, Şekil 4.2).

Tablo 4.2. Grupların ortalama AST değerleri

Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler \pm SS
Sham	6	392 \pm 79
Kontrol	6	1284,3 \pm 904,7 ^a
İ/R-Sugammadeks 16mg/kg	6	316 \pm 136,3
İ/R-Sugammadeks 96mg/kg	6	575,5 \pm 438,7
İ/R+Sugammadeks 16mg/kg	6	1388 \pm 1203,3
İ/R+Sugammadeks 96mg/kg	6	771,3 \pm 663,6

n:hayvan sayısı, değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

şekil 4.2. AST değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ortalama TAS Değerleri

Gruplar TAS değeri açısından değerlendirildiğinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu

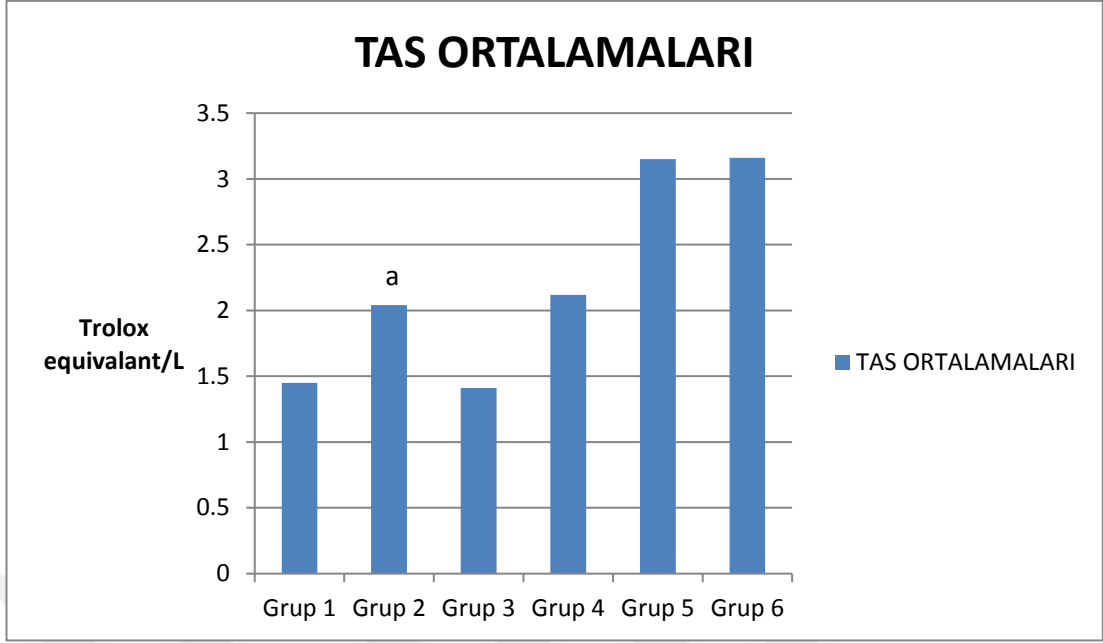
ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak sugammadeksin TAS değerinde artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4.3. Grupların ortalama TAS değerleri

Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler \pm SS
Sham	6	1,45 \pm 0,07
Kontrol	6	2,04 \pm 0,75 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	1,41 \pm 0,34
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	2,12 \pm 1,21
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	3,15 \pm 1,03
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	3,16 \pm 0,93

n:hayvan sayısı, değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

Şekil 4.3. TAS değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ortalama TOS Değerleri

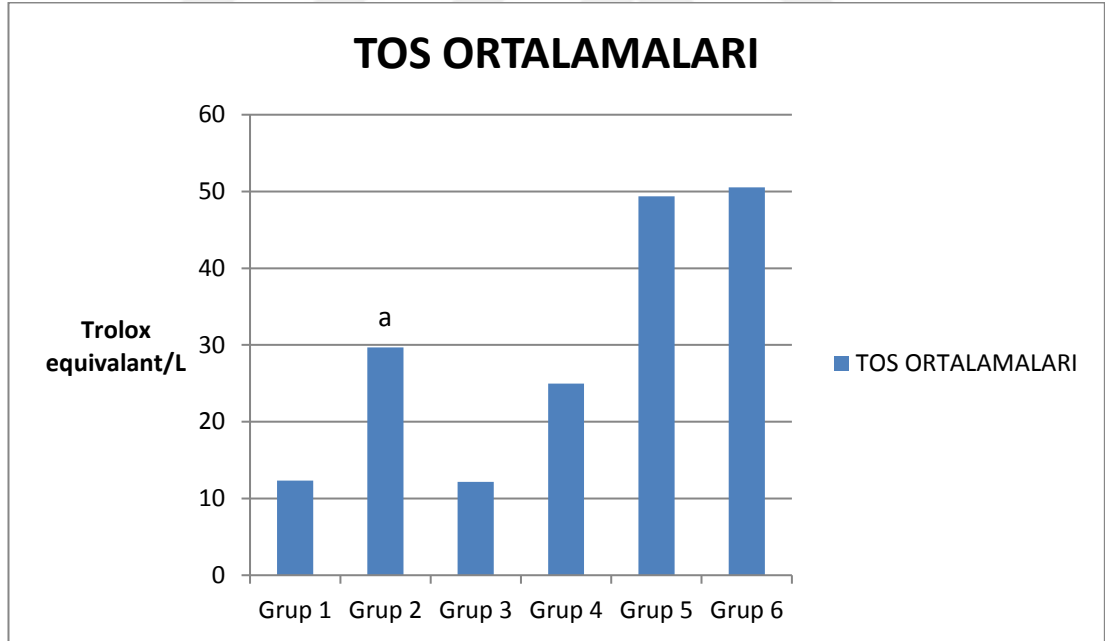
Gruplar TOS değeri açısından karşılaştırıldığında sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile İ/R+sugammadex 16mg/kg ve 96 mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). İ/R+sugammadex 16mg/kg ve İ/R+sugammadex 96mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca sugammadexin TOS değerinde beklenenin aksine yükselmeye neden olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Tablo 4.4. Grupların ortalama TOS değerleri

Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	12,3±5,1
Kontrol	6	29,6±10 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	12,1±3,9
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	24,9±20
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	49,3±31,5
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	50,5±11,4

n:hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut (p<0,05).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut (p<0,05).

şekil 4.4. TOS değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ortalama OSİ Değerleri

Gruplar OSİ değeri açısından değerlendirildiğinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Kontrol grubu

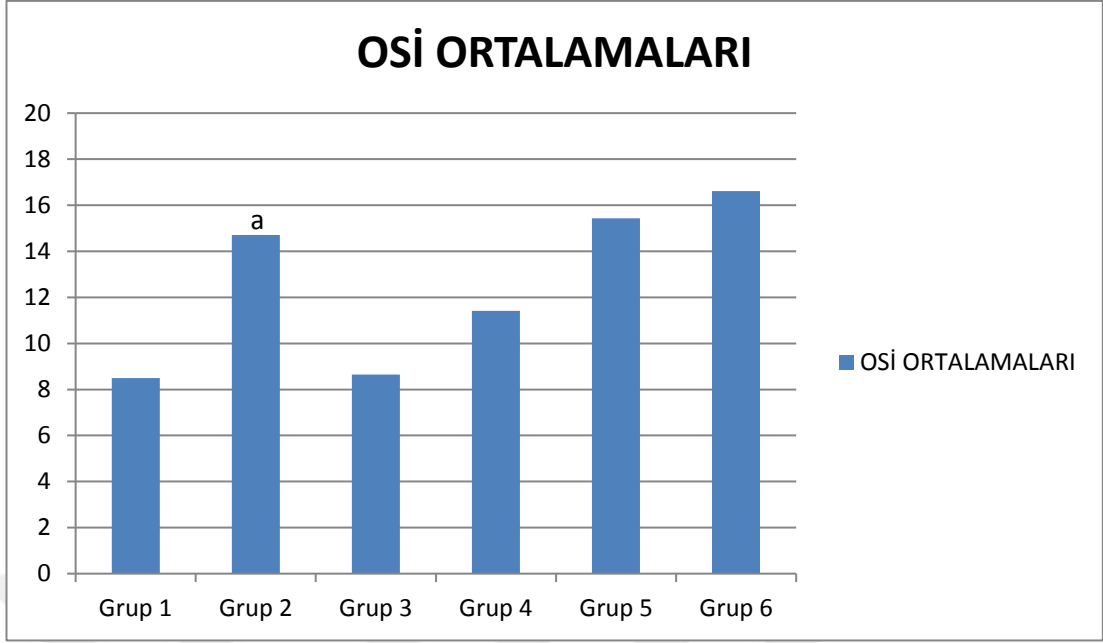
ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca sugammadeksin 16mg/kg ve 96mg/kg dozlarının da OSİ değerinde beklenenin aksine artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4.5. Grupların ortalama OSİ değerleri

Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	8,5±3,4
Kontrol	6	14,7±2,2 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	8,6±2,8
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	11,4±6,8
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	15,4±9
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	16,6±4,1

n: hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

Şekil 4.5. OSİ değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ortalama serum native tiyol değerleri

Gruplar serum native tiyol değeri açısından karşılaştırıldığında sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubu, İ/R+sugammadexs 16mg/kg grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). İ/R+sugammadexs 96mg/kg grubu ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). İ/R+sugammadexs 16mg/kg grubu ile İ/R+sugammadexs 96mg/kg grubunun kendi arasında karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 4.6, Şekil 4.6).

Tablo 4.6. Grupların serum native tiyol ortalamaları

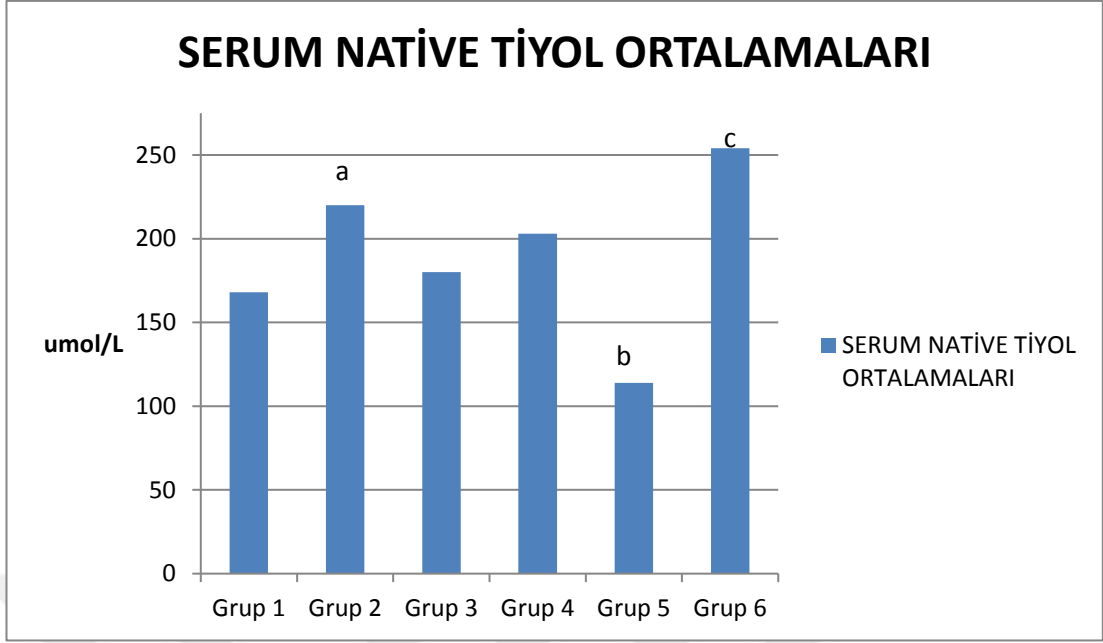
Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	168,5±34
Kontrol	6	220,7±57,5 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	180,6±15,6
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	203,1±22,9
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	114,3±33,2 ^b
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	253,6±45,2 ^c

n: hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

c: İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

b: kontrol grubu ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

c: İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

Şekil 4.6. Serum native tiyol değerlerinin gruplara göre dağılımı

Ortalama serum total tiyol değerleri

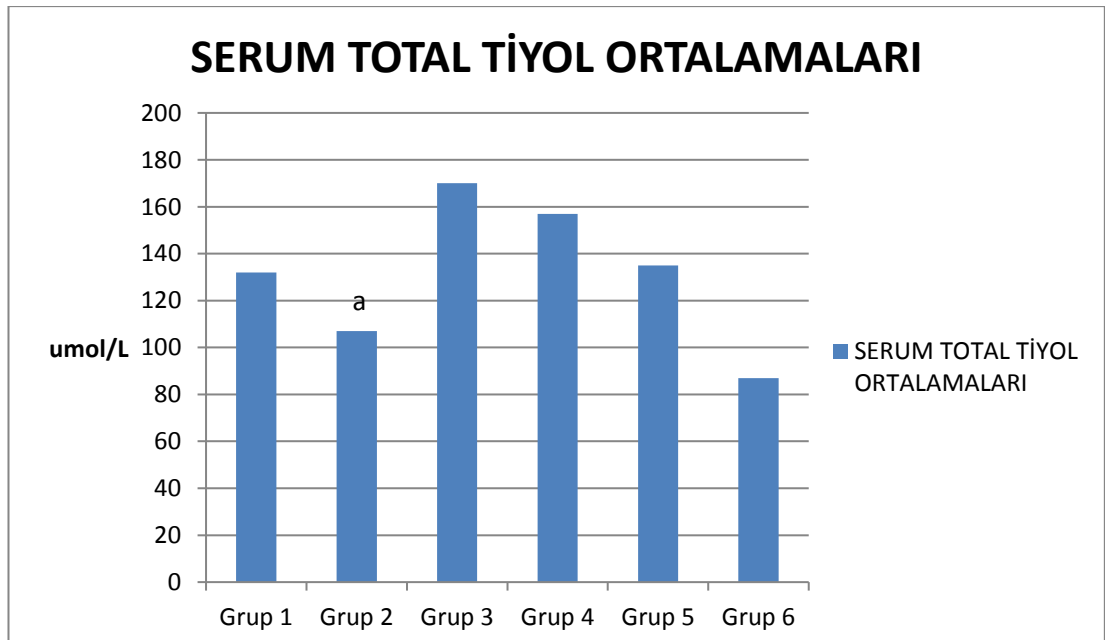
Gruplar serum total tiyol değeri açısından değerlendirildiğinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubunun İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg grupları ile karşılaştırılmasında her iki grupla da arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg ile İ/R+sugammadeks 96mg/kg gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.7, Şekil 4.7).

Tablo 4.7. Grupların serum total tiyol ortalamaları

Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	132,8±52,7
Kontrol	6	107,1±71,3 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	170±28,5
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	157,4±26,9
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	135,3±56,5
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	87±51,3

n: hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut (p<0,05).



a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut (p<0,05).

Şekil 4.7. Serum total tiyol değerlerinin gruplara göre dağılımı

Histolojik Değerlendirme Bulguları

Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında, sham grubunun Suzuki skor ortalama değeri, diğer tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur (Her grup için $p<0,05$). Dolayısıyla sham grubunda en az beklenen Suzuki skoru istatistiksel olarak da gösterilmiştir. Kontrol grubunun Suzuki skorlama değeri İ/R+sugammadeks 96mg/kg ve 16mg/kg grupları ile karşılaştırıldığında her iki grupla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Sugammadeks 96mg/kg grubu ile sugammadeks 16mg/kg grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında Suzuki skorlaması değerinde azalma sugammadeks 96mg/kg grubunda istatistiksel olarak daha fazla olarak değerlendirildi ($p<0,05$) (Tablo 4.8, Şekil 4.8).

Tablo 4.8. Grupların Suzuki skoru ortalamaları

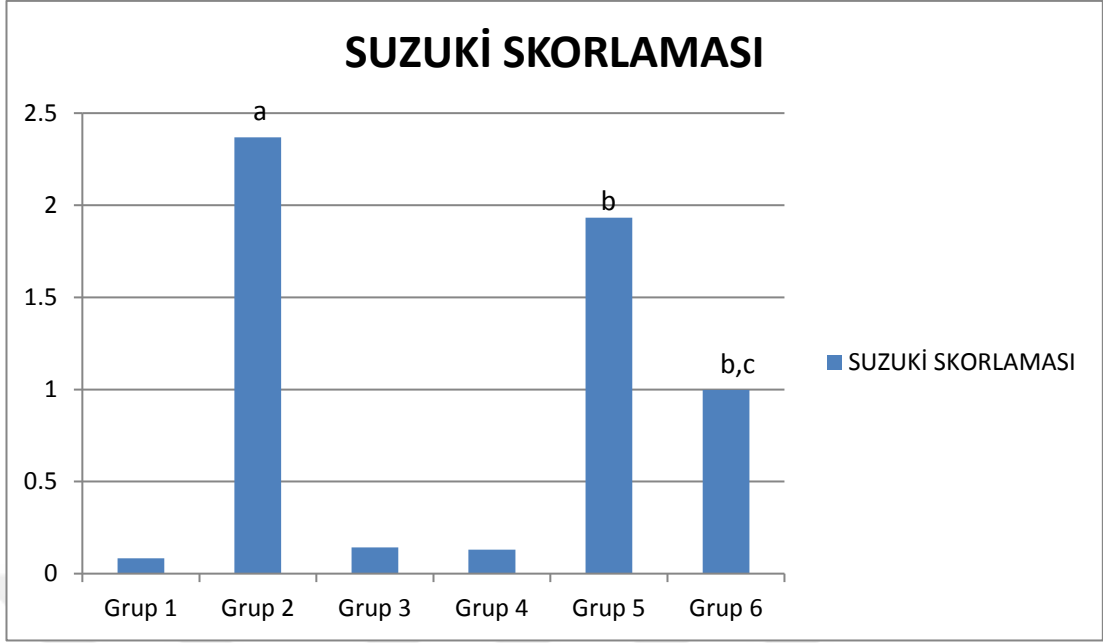
Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	0,08±0,1
Kontrol	6	2,3±0,2 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	0,1±0,1
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	0,1±0,1
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	1,9±0,3 ^b
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	1,3±0,2 ^{b,c}

n: hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

c: İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).



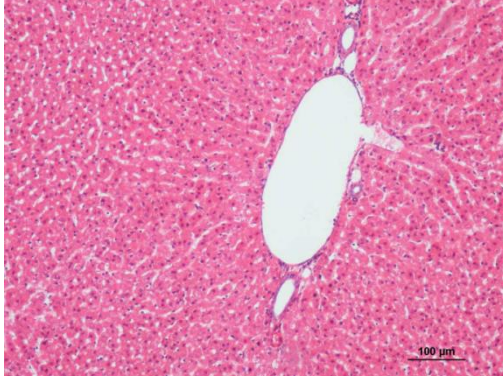
a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadex 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

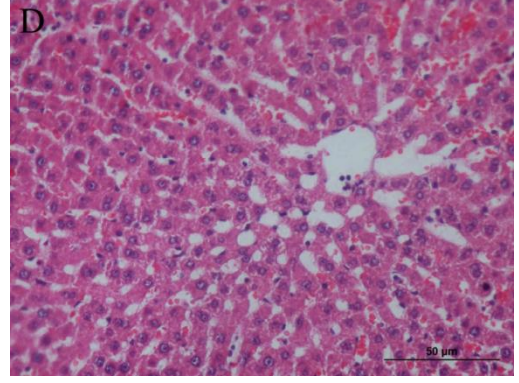
c: İ/R+sugammadex 16mg/kg ve 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

Şekil 4.8. Suzuki skorunun gruplara göre dağılımı

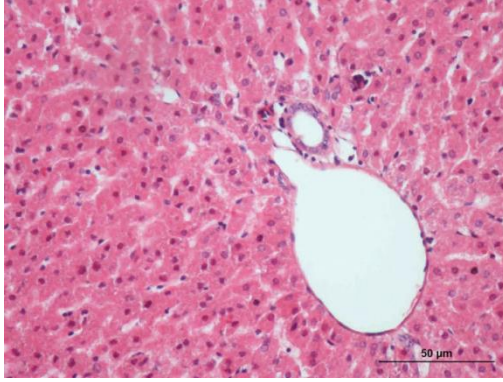
Hematoksilen Eozin ile boyama



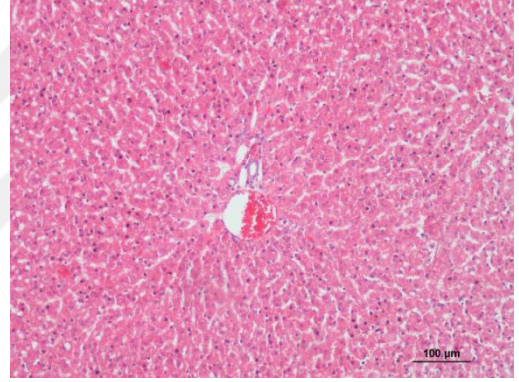
A



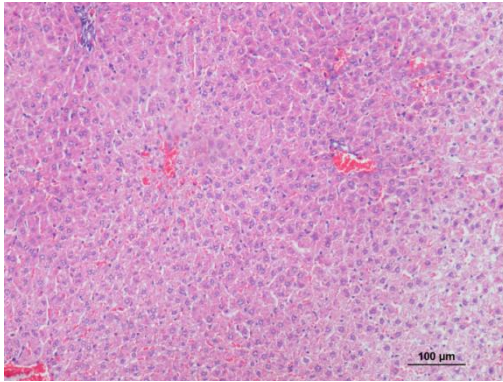
B



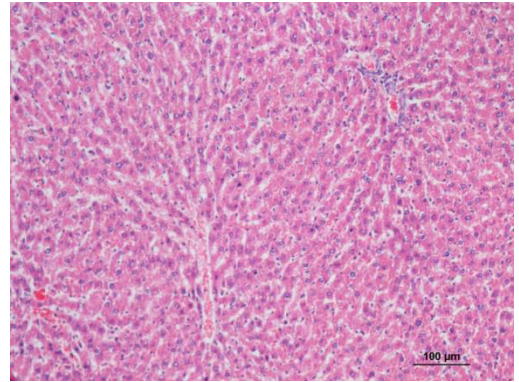
C



D



E



F

A) Sham grubu (HE x scale bar 100 µm), B) Kontrol grubu (HE, scale bar 50 µm), C) İ/R-Sugammadex 16mg/kg (HE x scale bar 100 µm), D) İ/R- Sugammadex 96mg/kg (HE x scale bar 100 µm), E) İ/R+ Sugammadex 16mg/kg (HE, scale bar 100 µm), F) İ/R+ Sugammadex 96mg/kg (HE scale bar 100 µm)

Şekil 4.9. Gruplara ait HE ile boyanan dokuların kesitleri

HE boyama sonucunda elde edilen kesitlerde sham grubunda karaciğer dokusuna ait görüntüler genel olarak normal izlendi. Kontrol grubunda ise yaygın olarak orta derecede konjesyonla beraber sinüzoidlerde dilatasyon, bazı alanlarda polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunda artış, nekrotik hepatositler ve vakuolizasyon mevcuttu. İ/R-sugammadeks 16mg/kg ve İ/R-sugammadeks 96mg/kg gruplarına ait kesitlerde nadir alanlarda hafif derecede lökosit birikimi görülse de genel olarak sham grubuna benzer normal histolojik yapı izlendi. İ/R+sugammadeks 16mg/kg grubunda kontrol grubuna göre daha düzenli hepatosit kordonları, azalmış dilatasyon, konjesyon ve nadir nekroz görüldü. İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubunda ise iskemi ve reperfüzyon hasarının daha fazla gerilediğini ve beraberinde düşük skorlama değeri görüldü. Bu durumda HE boyamada sugammadeksin İ/R hasarında iyileştirici etkinliği olduğu histopatolojik açıdan gösterilmiştir. İskemi sonrası uygulanan 96mg/kg sugammadeksin etkinliği 16mg/kg'a göre daha fazla bulunmuştur.

TUNEL metodu ile boyama

TUNEL değerlendirmelerinde x40 objektif ile 20 alandaki + boyanan hücreler sayıldı. Buna göre ortalama değerler elde edildi.

Gruplar TUNEL boyama açısından değerlendirildiğinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında TUNEL + boyanma oranı istatistiksel olarak İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubunda daha az olarak bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.9. Grupların TUNEL ile + boyanmasına göre ortalama değerleri

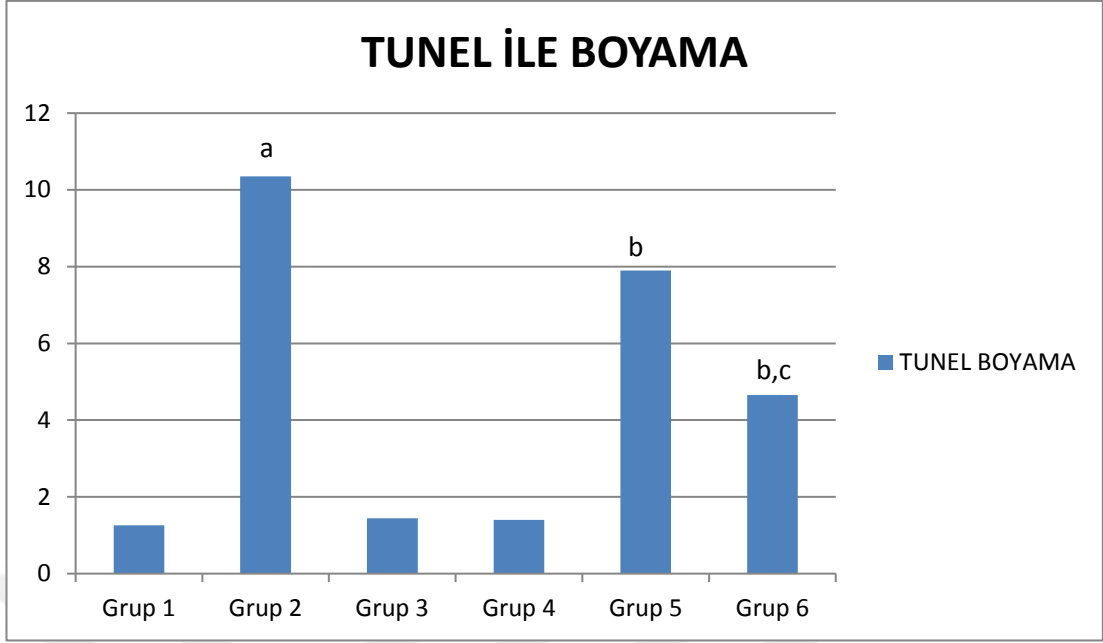
Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	1,2±0,2
Kontrol	6	10,3±0,5 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	1,4±0,4
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	1,4±0,6
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	7,9±0,7 ^b
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	4,6±0,6 ^{b,c}

n: hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

c: İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

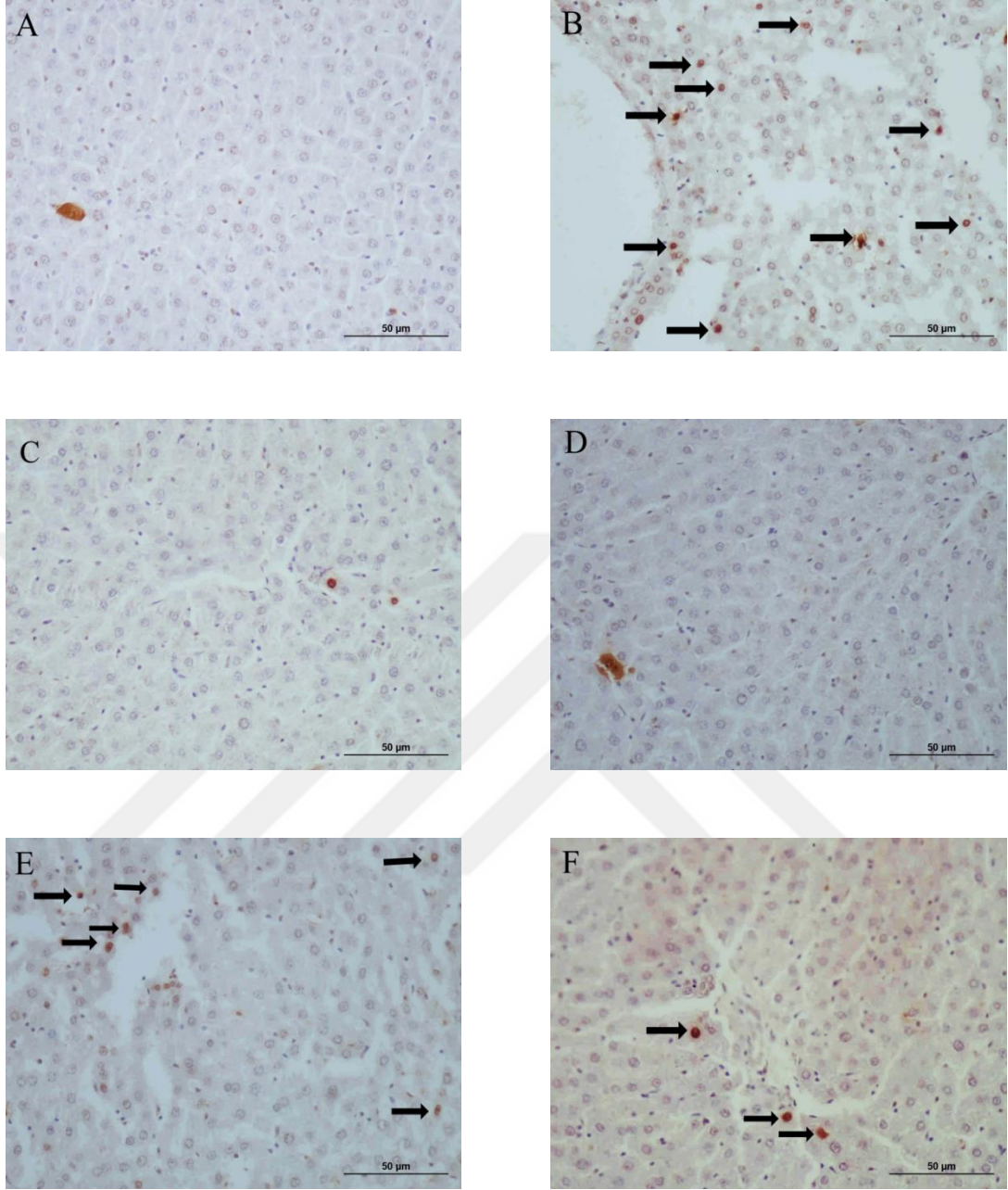


a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadexs 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

c: İ/R+sugammadexs 16mg/kg ve 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$).

Şekil 4.10. TUNEL + boyanma değerlerinin gruplara göre dağılımı



A) Sham grubuna ait + boyanma, B) Kontrol grubunda + boyanan hücre sayısında artış(ok), C) İ/R-sugammadexs 16mg/kg ve D) İ/R- sugammadexs 96mg/kg gruplarında az sayıda + boyanma, E) İ/R+ sugammadexs 16mg/kg ve F) İ/R+ sugammadexs 96mg/kg grubuna ait azalmış + boyanma görülmekte (ok)(scale bar 50 µm).

Şekil 4.11. Gruplara ait TUNEL + boyanan dokuların kesitleri

İmmünohistokimyasal olarak TUNEL metodu uygulanan kesitlerde; kontrol grubunda + boyanan apoptotik hücre sayısında sham grubuna göre artış görüldü. İ/R-sugammadexs 16mg/kg ve İ/R-sugammadexs 96mg/kg gruplarında ise apoptotik

hücre oranı sham grubuna benzer değerlerde izlendi. Ayrıca İ/R sonrası sugammadeks uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre + boyanan apoptotik hücre sayısında azalma olduğu ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg grubunda bu azalmanın daha fazla olduğu tespit edildi. Bu durumda TUNEL boyamada sugammadeksin İ/R hasarında iyileştirici etkinliği olduğu histopatolojik açıdan gösterilmiştir.

VEGF ile boyama

VEGF değerlendirmelerinde x40 objektif ile 20 alandaki + boyanan hücreler sayıldı. Buna göre ortalama değerler elde edildi.

Tablo 4.10. Grupların VEGF ile + boyanmasına göre ortalama değerler

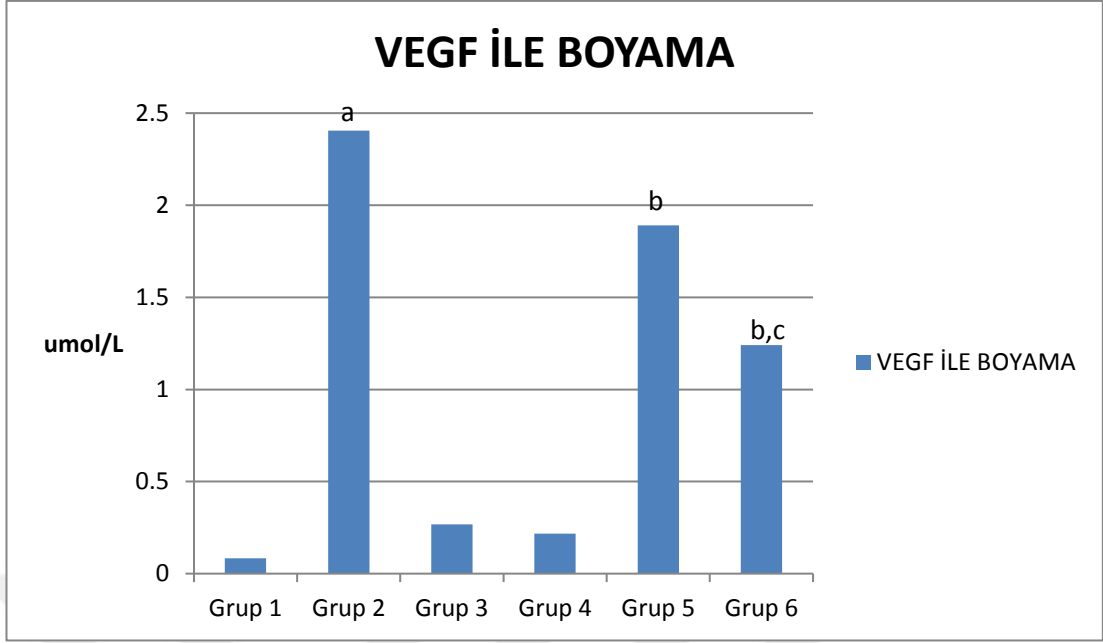
Gruplar	Hayvan sayısı(n)	Ortalama değerler±SS
Sham	6	0,008±0,01
Kontrol	6	2,4±0,3 ^a
İ/R- Sugammadeks 16mg/kg	6	0,02±0,05
İ/R- Sugammadeks 96mg/kg	6	0,02±0,03
İ/R+ Sugammadeks 16mg/kg	6	1,8±0,09 ^b
İ/R+ Sugammadeks 96mg/kg	6	1,2±1,7 ^{b,c}

n: hayvan sayısı, değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

c: İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).



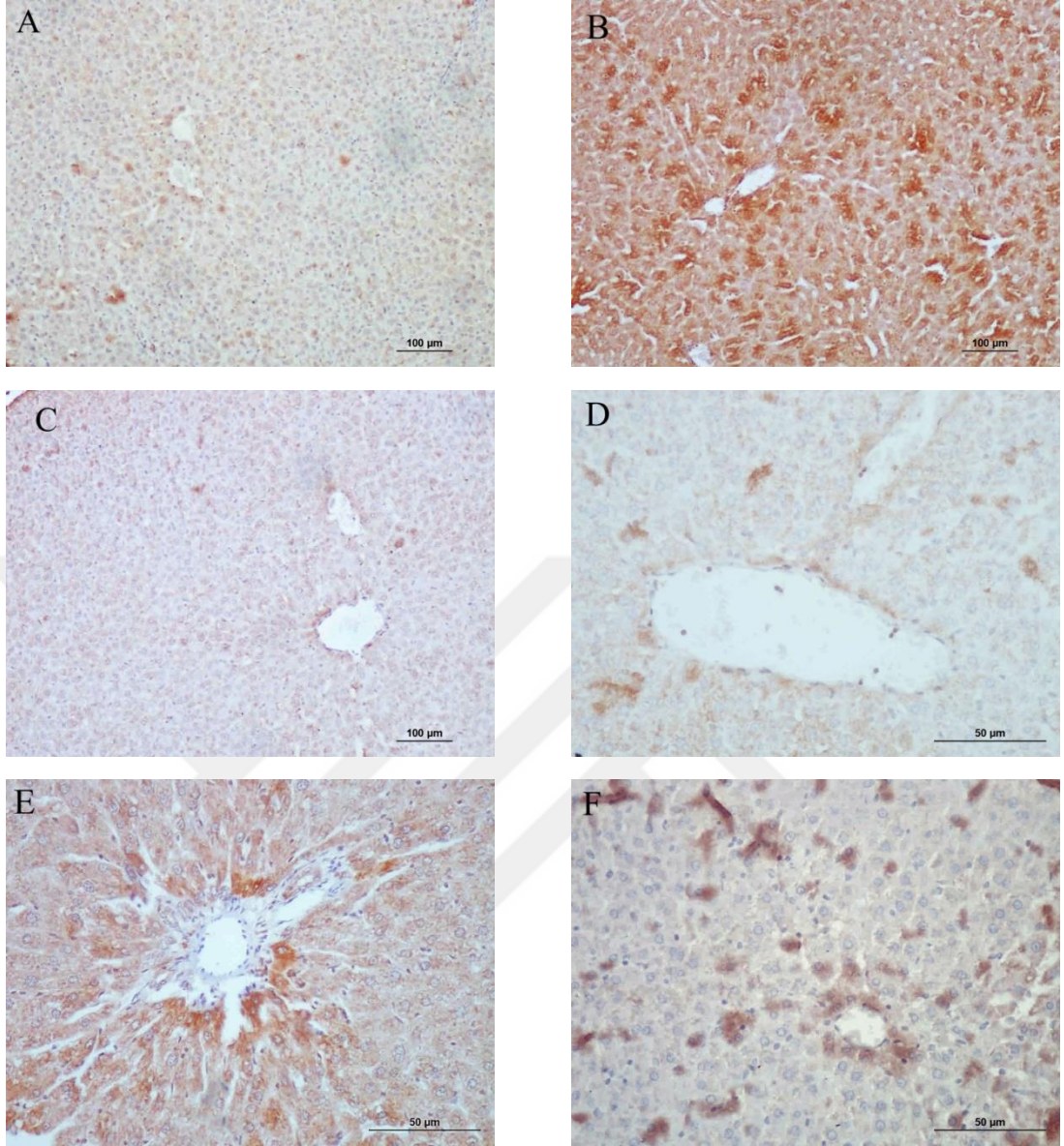
a: Sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

b: Kontrol grubu ile İ/R+sugammadexs 16mg/kg ve 96mg/kg grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

c: İ/R+sugammadexs 16mg/kg ve 96mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut ($p<0,05$).

Şekil 4.12. VEGF + boyanma değerlerinin gruplara göre dağılımı

Gruplar VEGF boyama açısından değerlendirildiğinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu ile de İ/R+sugammadexs 16mg/kg ve İ/R+sugammadexs 96mg/kg grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). İ/R+sugammadexs 16mg/kg ve İ/R+sugammadexs 96mg/kg grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında VEGF + boyanma oranı istatistiksel olarak İ/R+sugammadexs 96mg/kg grubunda daha az olarak bulunmuştur ($p<0,05$).



A) Sham grubu (scale bar 100 µm), (B) Kontrol grubunda + boyanma yoğunluğunda artış (scale bar 100 µm), (C) İ/R- sugammadex 16mg/kg (scale bar 100 µm) ve D) İ/R- sugammadex 96mg/kg (scale bar 50 µm) uygulanan gruplarda sham grubuna benzer olarak düşük oranda + boyanma, (E) İ/R+ sugammadex 16mg/kg ve F) İ/R+ sugammadex 96mg/kg ait azalmış + boyanma görülmekte (scale bar 50 µm).

Şekil 4.13. Gruplara ait VEGF + boyanan dokuların kesitleri

İmmünohistokimyasal olarak VEGF uygulanan gruplarda; genel olarak hepatik triad ve santral ven çevresindeki hücrelerde eksprese edildiği görüldü. Kontrol grubunda yaygın olarak VEGF ile + boyanmanın artmış olduğu görüldü. Bununla beraber İ/R-sugammadex 16mg/kg ve İ/R-sugammadex 96mg/kg uygulanan gruplarda ise VEGF ekspresyonunun sham grubuna yakın olduğu görüldü.

İ/R+sugammadeks 16mg/kg ve İ/R+sugammadeks 96mg/kg uygulanan gruplarda belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. Bu azalma İ/R+sugammadeks 96mg/kg uygulanan grupta daha fazlaydı.



5. TARTIŞMA

Şok, hipovolemi gibi düşük kan akımı durumlarıyla, karaciğer ile ilgili cerrahi girişimler, çeşitli cerrahi prosedürlerle ilişkili veya nakil için organ alımı sırasında olduğu gibi bazı klinik durumlarda karaciğerde İ/R hasarı ortaya çıkabilir (23). Bu hasarın mekanizmalarının bilinmesi ve hasarı azaltan önlemler ve ilaçların araştırılması karaciğer cerrahisinin başarısını artırmak, kronik karaciğer hastalıklarının hasarını azaltabilmek açısından büyük önem taşımaktadır. İ/R hasarını azaltmak amacıyla birçok ajan ve yöntem ile birçok çalışma yapılmıştır. Antioksidanlar, serbest radikal ve nötrofil inhibitörleri, iskemik önkoşullanma, hipotermi gibi fizyolojik, farmakolojik ve yapısal tedavi prensipleri karaciğer hasarını azaltmak veya önlemek için denenmiştir (77, 78). Ancak halen ideal bir yöntem bulunamamıştır.

Karaciğer hasarının tanısı ve takibinde karaciğer fonksiyon testleri önem arz etmektedir. Yabe ve ark. (79) karaciğerde İ/R sonucunda AST ve ALT düzeylerinin arttığını ve bu artışın İ/R sonucu oluşan serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasara bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Küçük ve ark. (77) 60 dk karaciğer iskemisi sonrası 120 dk reperfüzyon modelinde amrinon uygulamasının serum AST, ALT ve LDH değerlerini düşürdüğünü ve histopatolojik olarak hasarı azalttığını belirtmişlerdir. Aslan ve ark. (80) yaptıkları çalışmada pentoksifilin İ/R hasarında serum transaminaz seviyelerini düşürdüğünü göstermişlerdir. Ayganim ve ark. (81) ise karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında levosimendanın etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında AST ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptamamışlardır. Bizim çalışmamızda sugammadexin her iki dozunun da ALT değerinde düşüğe yol açtığı; ancak bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. AST değerinde ise sayısal olarak düşüğe yol açmadığı ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

Yildiz ve ark. (82) yaptıkları çalışmada nigella sativa (çörek otu) nın karaciğer İ/R hasarında oksidatif stresi belirgin derecede azalttığını bulmuşlardır. Vali ve ark. karaciğer İ/R modelinde beta vulgaris rubra (pancar) nın TAS değerinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir (83). Kandis ve ark. (84) yaptıkları çalışmada karaciğer İ/R hasarında urtica dioica (ısırgan otu) nun TAS düzeylerinde düşüş ve TOS düzeyinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Sağlık A. ve ark. ratlarda

hepatik iskemi oluşturmuş ve N-asetilsistein, flumazenil ve deksmedetomidin oksidatif hasar üzerine etkilerini araştırmışlardır. Histopatolojik olarak iyileşme sağladıklarını istatistiksel olarak kanıtladıkları ilaç gruplarında TAS, TOS ve OSİ açısından anlamlı bir fark saptamamışlardır. Bu sonucu İ/R hasarında inflamatuvar süreçlerin daha etkili olabileceğine ve ölçüm tekniklerinin zorluğuna bağlamışlardır (85). Bizim çalışmamızda da sugammadexin her iki dozunun da TAS değerini artırdığı; ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. TOS ve OSİ değeri de beklenenin aksine yüksek ölçülmüş olup bu değerler de istatistiksel olarak anlamlı değildi.

İvanov ve ark. yaptıkları çalışmada tiyol disülfid düzeyi ile serebral iskemi arasında korelasyon saptamışlardır (86). Venkataiah ve ark (87) diyabetik ratlar üzerine yaptıkları çalışmalarında alloxanın tiyol disülfid seviyelerinde anlamlı artışa yol açtığını gözlemlemişlerdir. Chroni ve ark. (88) tıkanma sarılığının beyin üzerine etkisini inceledikleri bir çalışmada tiyol disülfid seviyelerini kullanarak oksidatif stresi gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da sugammadexin serum native tiyol ve total tiyol seviyeleri üzerine anlamlı etkisi gözlenmemiştir.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde karaciğer İ/R modellerinde genel olarak 30- 60 dk iskemi ve sonrasında da 30-60 dk reperfüzyon yapıldığı görülmektedir (79). Gonul ve ark. yaptıkları çalışmada, karaciğer iskemi süresini 1 saat ve reperfüzyon süresinin de 4 saat şeklinde uygulamışlardır (89). Zhou ve ark. (90) 30 dk karaciğer iskemisi, 24 saat reperfüzyon uyguladıkları karaciğer İ/R çalışmalarında; böbrek ve akciğerde deksametazonun koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak; TNF-a ve IL-1 β düzeylerinde sham grubuna göre İ/R grubunda artma, İ/R+deksametazon grubunda ise İ/R grubuna göre azalma olduğunu görmüşlerdir. Kapan ve ark. çalışmalarında ratlarda 30 dk karaciğer iskemisi, 30 dk reperfüzyon uygulamışlardır. Bu çalışmada böbrek dokusunda TAS düzeyinin; İ/R grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak arttığını gözlemlemişlerdir (91). Biz de çalışmamızda 30 dk iskemi sonrası 4 saat reperfüzyon uyguladık ve İ/R hasarı oluştuğunu gözlemledik.

Kip ve ark. (92) yaptıkları çalışmada sugammadexin düşük (16mg/kg) ve yüksek (96mg/kg) olarak iki farklı dozda uygulamışlardır. Yüksek doz sugammadexin böbrek dokusuna zararını biyokimyasal ve histopatolojik olarak

göstermişlerdir. Ozbilgin ve ark. (9) sugammadexin serebral iskemi reperfüzyon hasarındaki etkinliğini araştırmışlar ve sugammadexi 16mg/kg ve 100mg/kg olarak iki farklı dozda uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda her iki dozun da nöroprotektif etkili olduğunu göstermişlerdir. Biz de literatürdeki bu çalışmalarını göz önünde bulundurarak çalışmamızda sugammadexi 16mg/kg ve 96mg/kg dozlarında uyguladık.

İ/R hasarının tespiti ve hasar seviyesinin değerlendirilmesinde çeşitli immünohistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Selzner ve ark. (93) çalışmalarında İ/R hasarı olan ratlardaki karaciğer kesitlerinde HE boyama ile vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon, apoptoz ve nekrozda artış tespit etmişlerdir. Eryılmaz ve ark. (94) neupogenin karaciğer dokusu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında HE boyama ile neupogenin fokal nekroz, portal inflamasyon, apoptozda ve nekrozda azalmaya yol açtığını göstermişlerdir.

HE ile yapılan bu incelemeden farklı olarak Kasahara ve ark. (95) insan karaciğer dokusunda TUNEL yöntemini kullanarak boyama yapmışlardır. Karaciğer hasarı ile TUNEL + boyama arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Shi ve ark. (96) da karbon tetraklorürün karaciğer hücre DNA'sına yaptığı hasarı araştırdıkları çalışmalarında TUNEL yöntemi ile, karbontetraklorür uygulanan ratlarda karaciğer hücresinde apoptozisin arttığını göstermişlerdir.

Güreş ve ark. (97) karaciğer İ/R hasarında papaverinin etkisini inceledikleri bir çalışmada Suzuki skorlaması kullanarak papaverin uygulanan grupta karaciğer hasarının anlamlı olarak daha düşük olduğunu göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda da HE boyamada sugammadexin vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon, apoptoz ve nekrozda azalmaya yol açtığı; bu azalmanın sugammadexin uygulandığı her iki dozda da daha fazla olduğu gözlenmiştir. Sugammadex uygulanmasının İ/R hasarında VEGF ile boyamada DNA ekspresyonunda azalma ve TUNEL ile boyamada da apoptoziste azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Her iki boyama yöntemlerinde de sugammadexin 96mg/kg etkinliği 16mg/kg'a göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Sugammadexin daha düşük Suzuki skorlarına neden olduğu ve 96mg/kg uygulanan dozunun daha etkin olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda sugammadeksin İ/R hasarı üzerindeki histopatolojik iyileştirici etkisinin biyokimyasal parametrelere göre daha net bir şekilde tespit edilmiş olması, İ/R hasarında inflamatuvar süreçlerin daha yaygın ve etkin olduğunu gösterebilir. Bununla birlikte histolojik inceleme yöntemlerine kıyasla biyokimyasal ölçümlerin daha komplike ve zor olması, oksidatif stres, antioksidan kapasite, native tiyol ve total tiyol seviyelerinin, iskemi ve reperfüzyonunun süresine ve canlı organizmanın metabolizmasına doğrudan bağlı olmasının sonuçları etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ

Çalışmamızda ratların histopatolojik incelenmesinde; iskemi sonrası uygulanan sugammadexsin 16mg/kg ve 96mg/kg dozlarının HE, VEGF VE TUNEL boyamada vakuolizasyon, sinüzoidal dilatasyon ve apoptoz/nekrozu azalttığı; TUNEL, VEGF boyamalarda apoptotik hücre sayısı ve Suzuki skorlaması ile değerlendirildiğinde iskemi sonrası sugammadexsin 16mg/kg ve 96mg/kg dozlarında düşük hasar skorları elde edildiği ve histopatolojik olarak sugammadexsin 96mg/kg uygulanması ile daha olumlu sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz biyokimyasal parametrelerde sugammadexsin anlamlı değişikliğe yol açmadığı gözlenmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Toledo-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. *The American Journal of Surgery*. 1975;129(5):513-517.
2. Daban UGRAS UM, Oguzhan O, Mehmet Y, SEÇKIN A, Gazi OO, Cem O, et al. Protective Effects Of Escin On Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury In Rats. *Acta Medica*. 2016;32:973.
3. Chamoun F, Burne M, O'Donnell M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front Biosci*. 2000;5(1):103-109.
4. Özkaya FC, Koçdor H. İskemi-Reperfüzyon ve Kanser Metastazı: Biyokimyasal Bakış. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2008;22(2):89-98.
5. Mathes SJ, Nahai F. *Reconstructive surgery: principles, anatomy & technique*: Churchill Livingstone; 1997.
6. Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury. *Journal of hepatology*. 2000;32:39-47.
7. Banga N, Homer- Vanniasinkam S, Graham A, Al- Mukhtar A, White S, Prasad K. Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *British Journal of Surgery*. 2005;92(5):528-538.
8. Miller RD. Sugammadex: an opportunity to change the practice of anesthesiology? : *Anesthesia & Analgesia*: March 2007 - Volume 104 - Issue 3 - p 477-478
9. Ozbilgin S, Yilmaz O, Ergur BU, Hanci V, Ozbal S, Yurtlu S, et al. Effectiveness of sugammadex for cerebral ischemia/reperfusion injury. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2016;32(6):292-301.
10. S.Snell R. *Snell Clinical Anatomy By Regions*. 2012;Ninth Edition:pp. 196-9.
11. Moore KL, Doley AF, Agur AMR. *Abdomen. Moore Clinically Oriented Anatomy*. 2014;Seventh Edition:pp.268-277.
12. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. *Gray's Anatomy For Students*. 2010;Second Edition:pp. 316-319.
13. Barrett K, Brooks H, Boitano S, Barman S. *Ganong's Review of Medical Physiology*. 2010;Twenty-Third Edition:pp.479-482.
14. Lafortune M, Madore F, Patriquin H, Breton G. Segmental anatomy of the liver: a sonographic approach to the Couinaud nomenclature. *Radiology*. 1991;181(2):443-448.
15. Rutkauskas S, Gedrimas V, Pundzius J, Barauskas G, Basevicius A. Clinical and anatomical basis for the classification of the structural parts of liver. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2006;42(2):98-106.
16. Yıldırım M. *Topografik Anatomi*. 2. baskı. Bursa: Nobel Tıp Kitabevleri. 2004:25-33.
17. Hall A, John E. Guyton, Guyton And Hall *Texbook Of Medical Physiology*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016.
18. Ross S, Foex P. Protective effects of anaesthetics in reversible and irreversible ischaemia-reperfusion injury. *British journal of anaesthesia*. 1999;82(4):622-632.

19. Al-Gamrah AH, Al Eryani R, Petersen C. [Intermittent ischemia of the left leg after gunshot injury to the thorax]. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizen*. 2015;86(10):985-988.
20. Gasbarrini A, Borle AB, Farghali H, Bender C, Francavilla A, Van Thiel D. Effect of anoxia on intracellular ATP, Na⁺, Ca²⁺, and Mg²⁺, and cytotoxicity in rat hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 1992;267(10):6654-6663.
21. Rosser BG, Gores GJ. Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications. *Gastroenterology*. 1995;108(1):252-275.
22. Zhai Y, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Liver ischemia and reperfusion injury: new insights into mechanisms of innate-adaptive immune-mediated tissue inflammation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011;11(8):1563-1569.
23. ŞAHİN E, OLGUNER Ç, BODUR HA, KOCA U, TUNCEL P, ÖRMEN M, et al. Uzak ve doğrudan iskemik önkoşullamanın karaciğerin reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2009;29(2):381-387.
24. Jones RT, Toledo-Pereyra LH, Quesnelle KM. Selectins in Liver Ischemia and Reperfusion Injury. *Journal of investigative surgery : the official journal of the Academy of Surgical Research*. 2015;28(5):292-300.
25. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury--a fresh look. *Experimental and molecular pathology*. 2003;74(2):86-93.
26. Klune JR, Tsung A. Molecular biology of liver ischemia/reperfusion injury: established mechanisms and recent advancements. *Surgical Clinics*. 2010;90(4):665-677.
27. Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology*. 2000;32(2):169-173.
28. MERCAN U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2004;15(1):91-96.
29. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2016;4(1):50-59
30. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44-84.
31. Oflu Ö. Farklı miktarlarda kükürt içeren ve gün kurusu kayısıyla beslenen sıçanların serum ve karaciğer oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması. *İnönü Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi* 2016.
32. Durmuş A, Radikalleri ÜESO. Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*. 2005.
33. ERENEL G, ERBAŞ D, ARICIOĞLU A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi medical journal*. 1992;3(4).
34. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Annals of Internal Medicine*. 1980;93(3):480-489.
35. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of physiology*. 2003;552(Pt 2):335-344.
36. MEMİŞOĞULLARI R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3: 30-39
37. ŞENER G, YEĞEN BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Derg*, 2009 pp:5-11
38. GÜNER S. Acantua Hirsutus'un Aseton Özütünün Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. *TC Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. 2014:pp. 14-15.
39. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 1997;3(4):92-95.

40. Esterbauer H, Wäg G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *British Medical Bulletin*. 1993;49(3):566-576.
41. Akhgari M, Abdollahi M, Kebryaezadeh A, Hosseini R, Sabzevari O. Biochemical evidence for free radicalinduced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human & experimental toxicology*. 2003;22(4):205-211.
42. Icme F, Erel O, Avci A, Satar S, Gulen M, Acehan S. The relation between oxidative stress parameters, ischemic stroke, and hemorrhagic stroke. *Turkish journal of medical sciences*. 2015;45(4):947-953.
43. Komosinska-Vassev K, Olczyk K, Kucharz EJ, Marcisz C, Winsz-Szczotka K, Kotulska A. Free radical activity and antioxidant defense mechanisms in patients with hyperthyroidism due to Graves' disease during therapy. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2000;300(1-2):107-117.
44. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*. 2006;23(1-1):85-89.
45. Altınışık M. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. ADÜ Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Aydın. 2000.
46. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*. 1990;8(6):583-599.
47. Mates J. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. 2000;153(1-3):83-104.
48. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 2004;44(4):381-386.
49. Şener G, BÇ Y. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*. 2009;22(3):5-13.
50. Chao JC-J, Huang C-H, Wu S-J, Yang SC, Chang N-C, Shieh M-J, et al. Effects of β -carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2002;13(7):427-434.
51. Karabulut H, Gülay Mş. Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2016.
52. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*: Oxford University Press, USA; 2015.
53. Champe P.C, R.A. H. Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry second edition. J B Lippincott Company P, editor1994.
54. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* Volume 18, Issue 10, October 2002, Pages 872-879
55. Pryor WA, Godber SS. Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. *Free Radical Biology and Medicine*. 1991;10(3-4):177-184.
56. Castillo C, Hernandez J, Valverde I, Pereira V, Sotillo J, Alonso ML, et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science*. 2006;80(2):133-139.
57. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Bio-Assays for Oxidative Stress Status*: Elsevier; 2001. p. 219-227.
58. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *Journal of clinical pathology*. 2001;54(5):356-361.
59. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*. 2005;38(12):1103-1111.

60. Ates I, Ozkayar N, Inan B, Yilmaz FM, Topcuoglu C, Neselioglu S, et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in patients with newly diagnosed primary hypertension. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2016;10(2):159-166.
61. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical biochemistry*. 2014;47(18):326-332.
62. KARABAĞLI M, ÖZER K, ŞAHİN I. The effects of xylazine-ketamine anesthesia on intraocular pressure in dogs. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 40(402):260-263 · January 2014
63. BÖRKÜ MK, ÖZKANLAR Y, HANEDAN B, Kerem U. Köpeklerde Xylazine Uygulamasına Bağlı Gelişen Bulantı ve Kusmanın Önlenmesinde Antihistaminik Kullanımı. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2005;24(1-2-3-4).
64. Morgan G, M. Mikhail, and M. Murray. *Lange Klinik Anesteziyoloji*. 5. Baskı. *Günes Tıp Kitabevleri* p 182-184. 2015.
65. Yang LP, Keam SJ. Sugammadex. *Drugs*. 2009;69(7):919-942.
66. Gijzenbergh F, Ramael S, Houwing N, van Iersel T. First human exposure of Org 25969, a novel agent to reverse the action of rocuronium bromide. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2005;103(4):695-703.
67. Challa R, Ahuja A, Ali J, Khar R. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *Aaps Pharmscitech*. 2005;6(2):E329-E357.
68. Zhang M-Q. Drug-specific cyclodextrins: the future of rapid neuromuscular block reversal. *Drugs Future*. 2003;28(4):347-354.
69. Bom A, Bradley M, Cameron K, Clark JK, van Egmond J, Feilden H, et al. A novel concept of reversing neuromuscular block: chemical encapsulation of rocuronium bromide by a cyclodextrin- based synthetic host. *Angewandte Chemie*. 2002;114(2):275-280.
70. Naguib M. Pharmacology of muscle relaxants and their antagonists. *Anesthesia*. 2005.
71. Caldwell J, Miller R. Clinical implications of sugammadex. *Anaesthesia*. 2009;64(s1):66-72.
72. Yang LP, Keam SJ. Sugammadex: a review of its use in anaesthetic practice. *Drugs*. 2009;69(7):919-942.
73. Tayfun E. Sugammadex. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2015;16(4).
74. Sokół-Kobielska E. Sugammadex—indications and clinical use. *Anaesthesiology intensive therapy*. 2013;45(2):106-110.
75. Panhuizen IF, Gold SJ, Buerkle C, Snoeck MM, Harper NJ, Kaspers MJ, et al. Efficacy, safety and pharmacokinetics of sugammadex 4 mg kg⁻¹ for reversal of deep neuromuscular blockade in patients with severe renal impairment. *Br J Anaesth*. 2015;114(5):777-784.
76. de Souza CM, Tardelli MA, Tedesco H, Garcia NN, Caparros MP, Alvarez-Gomez JA, et al. Efficacy and safety of sugammadex in the reversal of deep neuromuscular blockade induced by rocuronium in patients with end-stage renal disease: A comparative prospective clinical trial. *European journal of anaesthesiology*. 2015;32(10):681-686.
77. Kucuk C, Akcan A, Akyıldız H, Akgun H, Muhtaroglu S, Sozuer E. Effects of amrinone in an experimental model of hepatic ischemia-reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*. 2009;151(1):74-79.
78. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of pathology*. 2000;190(3):255-266.
79. Yabe Y, Kobayashi N, Nishihashi T, Takahashi R, Nishikawa M, Takakura Y, et al. Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia/reperfusion injury by superoxide dismutase and catalase derivatives. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2001;298(3):894-899.
80. Aslan A, Karagüzel G, Celik M, Uysal N, Yücel G, Melikoglu M. Pentoxifylline contributes to the hepatic cytoprotective process in rats undergoing hepatic ischemia and reperfusion injury. *European surgical research*. 2001;33(4):285-290.

81. Ahmetova A. Deneysel hepatik iskemi-reperfüzyon modelinde Levosimendan infüzyonun karaciğere etkilerinin araştırılması: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi; 2010.
82. Yıldız F, Coban S, Terzi A, Ates M, Aksoy N, Cakir H, et al. Nigella sativa relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. World journal of gastroenterology: WJG. 2008;14(33):5204.
83. Váli L, Stefanovits-Bányai É, Szentmihályi K, Fébel H, Sárdi É, Lugasi A, et al. Liver-protecting effects of table beet (*Beta vulgaris* var. *rubra*) during ischemia-reperfusion. Nutrition. 2007;23(2):172-178.
84. Kandis H, Karapolat S, Yildirim U, Saritas A, Gezer S, Memisogullari R. Effects of *Urtica dioica* on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Clinics. 2010;65(12):1357-1361.
85. Sağlık AaAA. Hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde Nasetilsistein, Flumazenil ve Dexmedetomidin Etkilerinin Karşılaştırılması 2011(Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi).
86. Ivanov AV, Alexandrin VV, Paltsyn AA, Nikiforova KA, Virus ED, Luzyanin BP, et al. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. Redox report : communications in free radical research. 2017;22(6):460-466.
87. Venkataiah V, Vickram, Thirumalarao KR, Raiker VG, Puttaswamy SH. Effects of Diaceto-Dipropyl-Disulphide on Plasma Sialic Acid and Renal Tissue Thiol Levels in Alloxan Diabetic Rats. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR. 2016;10(6):Bf06-8.
88. Chroni E, Patsoukis N, Karageorgos N, Konstantinou D, Georgiou C. Brain oxidative stress induced by obstructive jaundice in rats. Journal of neuropathology and experimental neurology. 2006;65(2):193-198.
89. Gonul Y, Kazandi S, Kocak A, Ahsen A, Bal A, Karavelioglu A, et al. Interleukin-18 Binding Protein Pretreatment Attenuates Kidney Injury Induced by Hepatic Ischemia Reperfusion. The American journal of the medical sciences. 2016;352(2):200-207.
90. Zhou L, Yao X, Chen Y. Dexamethasone pretreatment attenuates lung and kidney injury in cholestatic rats induced by hepatic ischemia/reperfusion. Inflammation. 2012;35(1):289-296.
91. Kapan M, Gumus M, Onder A, Firat U, Basarali M, Boyuk A, et al. The effects of ellagic acid on the liver and remote organs' oxidative stress and structure after hepatic ischemia reperfusion injury caused by pringle maneuver in rats. Bratislavske lekarske listy. 2012;113(5):274-281.
92. Kip G, Turgut H, Alkan M, Aydin M, Erbatur M, Kiraz H, et al. The effects of low and high doses of sugammadex on kidney tissue in streptozotocin-induced diabetic rats. Bratislavske lekarske listy. 2015;116(12):746-750.
93. Selzner M, Selzner N, Jochum W, Graf R, Clavien PA. Increased ischemic injury in old mouse liver: An ATP- dependent mechanism. Liver transplantation. 2007;13(3):382-90.
94. S. E, F. Y, A. Ş. Ratlarda Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Neupogen'in Karaciğer Dokusuna Koruyucu Etkisi. Dergi Park 2012. Cilt 5 pp:52-56
95. Kasahara I, Saitoh K, Nakamura K. Apoptosis in acute hepatic failure: histopathological study of human liver tissue using the tunnel method and immunohistochemistry. Journal of medical and dental sciences. 2000;47(3):167-175.
96. Shi J, Aisaki K, Ikawa Y, Wake K. Evidence of hepatocyte apoptosis in rat liver after the administration of carbon tetrachloride. The American journal of pathology. 1998;153(2):515-525.
97. Nazım GÜREŞ CT, Osman YILMAZ, Kemal ATAHAHAN, Hüsnü Alper BAĞRIYANIK, Mehmet HACIYANLI, Özlem SAYIN GÜR, Hudai GENÇ, Burhan YOLCUOĞLU. Sıçanlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında Papaverinin Etkisi. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2012. Cilt 11 Sayı 1 Pp:82-86

