



T.C.

**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA 'ESCİN'İN KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. UĞRAŞ DABAN

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Mustafa UĞUR

HATAY-2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

RATLARDA KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA ‘ESCİN’İN KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. UĞRAŞ DABAN
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Mustafa UĞUR

HATAY-2015

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

Tez Adı :

**RATLARDA KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA ‘ESCİN’İN KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Tezi Hazırlayanın Adı: Dr. Uğraş DABAN

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....

Prof.Dr.....

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....

Dr.....

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....

Dr.....

Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1.(İsim ve imza).....

2.(İsim ve imza).....

3.(İsim ve imza).....

4.(İsim ve imza).....

5.(İsim ve imza).....

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	iii
TABLOLAR	v
RESİMLER.....	vi
ŞEKİLLER.....	vii
KISALTMALAR	viii
TEŞEKKÜR.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İSKEMİ-REPERFUZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ	4
2.1.1. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ROLÜ	6
2.1.2. KOMPLEMANIN ROLÜ.....	8
2.1.3. ENDOTELİN ROLÜ	9
2.1.4. LÖKOSİTLERİN ROLÜ.....	10
2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNE KARŞI DOĞAL SAVUNMA	11
MEKANİZMALARI.....	11
2.3. ESCİN	12
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1 Hayvanlar ve Tedavileri	15
3.2. Biokimya:	19
3.2.2.1. Katalaz (CAT).....	19
3.2.2.2. Glutasyon.....	19
3.2.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	20
3.3. İstatiksel Analiz	20
4. BULGULAR.....	21
4.1. Biokimyasal Bulgular	21
4.1.1. Karaciğer Homojenat Süpernatantında Protein Ölçümü.....	21
4.1.2. MDA Ölçümü	23
4.1.3. Katalaz Ölçümü	24
4.1.4. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü	25

4.1.5 Süper Oksit Dismutaz Ölçümü	27
4.1.6. ALT Ölçümü.....	28
4.1.7. AST Ölçümü	30
4.1.8. LDH Ölçümü	31
4.2. Histopatolojik Bulgular	33
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ	42
7. KAYNAKLAR	43
8. ÖZGEÇMİŞ	48

TABLULAR

Tablo 1. Hepatik hasar gradelemesi	19
Tablo 2. Grupların Karaciğer Homojenat Süpernatanında Protein Ölçümü	21
Tablo 3. Karaciğer Homojenat Süpernatanında Protein Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	22
Tablo 4. Grupların MDA Düzeylerinin Analizi	23
Tablo 5. MDA Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	24
Tablo 6. Grupların Katalaz Düzeylerinin Analizi	24
Tablo 7. Katlaz Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	25
Tablo 8. Grupların Glutayon PeroksidazDüzeylerinin Analizi	26
Tablo 9. Glutayon Peroksidaz Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	27
Tablo 10. Grupların SOD Düzeylerinin Analizi	27
Tablo 11. SOD Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	28
Tablo 12. Grupların ALT Düzeylerinin Analizi	29
Tablo 13. ALT Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	30
Tablo 14. Grupların AST Düzeylerinin Analizi	30
Tablo 15. AST Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	31
Tablo 16. Grupların LDH Düzeylerinin Analizi	32
Tablo 17. LDH Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması	33
Tablo 18. İR ve İskemi öncesi escin'nin Histopatolojik Karşılaştırması	35
Tablo 19. İR ve reperfüzyon öncesi escin 'nin Histopatolojik karşılaştırması	35
Tablo 20. İskemi öncesi ve reperfüzyon öncesi escin'nin Histopatolojik karşılaştırması	36

RESİMLER

Resim 1. Pavidon iyod ile cilt antisepsisi	15
Resim 2. Laparoti ile orta hatta girilmesi.....	16
Resim 3. Portal hilus eksplorasyonu	17
Resim 4. İntrakardiyak kan ve karaciğer doku örneği alınması.....	17
Resim 5. İskemi sonrası reperfüzyonu	18
Resim 6. Escin preparatı	18
Resim 7. İR grubu (A: Hematoksilen&Eozinx100; b: Hematoksilen&Eozinx200).	33
Resim 8. İskemi öncesi escin verilen grupta azalmış hasar bulguları (A:Hematoksilen&Eozinx100; B: Hematoksilen&Eozinx40).....	34
Resim 9. Reperfüzyon öncesi escin verilen grupta azalmış hasar bulguları (A:Hematoksilen&Eozinx100; B: Hematoksilen&Eozinx100).....	34

ŞEKİLLER

Şekil 1. Escin'in kimyasal formülü.....	13
Şekil 2. Escin'in etkileri.....	14
Şekil 3. Grupların Karaciğer Homojenat Süpernatantında Protein Grafiği	22
Şekil 4. Grupların MDA Düzeylerinin Grafiği	23
Şekil 5. Grupların Katalaz Düzeylerinin Grafiği	25
Şekil 6. Grupların Glutayon Peroksidaz Düzeylerinin Analizi.....	26
Şekil 7. Grupların SOD Düzeylerinin Analizi	28
Şekil 8. Grupların ALT Düzeylerinin Analizi.....	29
Şekil 9. Grupların AST Düzeylerinin Analizi.....	31
Şekil 10. Grupların LDH Düzeylerinin Analizi	32

KISALTMALAR

ALT	: Alaninaminotransaminaz
AST	: Aspartataminotransferaz
CAT	: Katalaz
ET	: Endotelin
GP	: Glikoprotein
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon S Transferaz
HE	: Hemotoksilen Eozin
IL	: Interlökin
İR	: İskemi Reperfüzyon
KC	: Karaciğer
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
MCP	: Monosit Kemotaktik Protein (Monocyte Chemoattractant Protein)
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate)
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
NO	: Nitrik Oksit
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökosit
SA	: Spesifik Aktivite
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikali / Radikalleri
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli öğretim üyeleri: Prof . Dr. Muhyittin TEMİZ, . Doç. Dr. İbrahim YETİM, Yrd. Doç. Dr.Akın AYDOĞAN, Yrd. Doç. Dr. Seçkin AKKÜÇÜK, Yrd. Doç. Dr. Mustafa UĞUR, Yrd. Doç. Dr. Erol KILIÇ, Yrd:Doç. Dr. Cem ORUÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım döneminde yardımlarından dolayı; Patoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Mehmet YALDIZ, Biyokimya Anabilim Dalında öğretim görevlisi Yrd. Doç.Dr. Oğuzhan ÖZCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzmanlık eğitimim süresince arkadaşlık ve aile ortamını paylaştığım çalışmama katkıda bulunan tüm araştırma görevlisi doktor arkadaşlarıma, Genel Cerrahi Anabilim dalı, Ameliyathanede görevli hemşire, teknisyen, personel arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ediyorum.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada karaciğer iskemi reperfüzyonun (İR) neden olduğu hasarın, birtakım biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerinden değerlendirilmesi ve escin uygulamasının bu parametrelerde oluşabilecek değişikliklere etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaçla Wistar Albino türü erkek sıçanlarda, karaciğer dokusunda portal ven, hepatic arter ve safra yollarına 45 dakika iskemi, hemen sonrasında 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Gruplardan birine iskemiden 30 dakika önce, başka bir gruba reperfüzyondan 30 dakika önce escin intraperitoneal olarak verildi. Deney sonunda hayvanlar dekapite edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

Bulgular: Karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla serumda aspartataminotransaminaz (AST), alaninaminotransaminaz (ALT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçüldü. Karaciğer doku örneklerinde katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH) düzeyleri ölçüldü. Alınan karaciğer doku örnekleri Hemotoksilen Eosin ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda histopatolojik olarak incelendi. Serumda ölçülen MDA değerlerinde İR sonucunda artış gözlenirken, escin verilen gruplarda bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş sağlanmıştır. AST ALT VE LDH değerlerinde İR grubu ile escin verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte escin verilen gruplarda bu değerler daha düşük izlendi.İR gruplarında doku düzeyindeki katalaz ,SOD ve GSH değerlerinde azalma gözlenmiştir. Escin verilen gruplarda ise antioksidan değerlerinde İR gruplarına göre artış gözlenmiştir, bu artış katalaz ve SOD için istatistiksel olarak anlamlıydı. Histopatolojik olarak İR hasarının göstergesi olan hepatosellüler seviyedeki hasar, escin uygulaması ile anlamlı oranda azalma göstermiştir.

Sonuç: Bu çalışmanın sonucuna dayanarak, escin tedavisinin karaciğerde İR olayları sonucu oluşabilecek serbest radikal aracılı hasarı önleyerek, morbidite ve mortaliteyi azaltabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Karaciğer, iskemi reperfüzyon, escin, antioksidanlar

ABSTRACT

Objective: Escine aims of escine current study was to assess escine hepatic ischemia reperfusion (IR)- injury by using certain biochemical and histopaescinological parameters and to explore escine effects of escin administration on escinese study parameters.

Materials and Meescinod: For escinis purpose, a 45-minute ischemia period followed by a 60-minute reperfusion period immediately following escine ischemia period were applied to portal vein, hepatic artery, and bile ducts in escine hepatic tissue of male Wistar Albino rats. Escin was administered 30 minutes before escine ischemia in one of escine groups, and 30 minutes before escine reperfusion in escine oesciner. Escine animals were anesescinetized and decapitated and blood and tissue samples were taken at escine end of escine experiment.

Results: Serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), and malondialdehyde (MDA) levels were measured. Catalase, superoxide dismutase (SOD), and glutaescinon (GSH) levels were measured from escine hepatic tissue samples. Escine hepatic tissue samples were stained wiescin hematoxylin Eosin stain and histopaescinologically examined under light microscope. IR caused an increase in serum MDS level, which was significantly reduced by escine administration of escin. Alescinoough escinere were no significant differences in escine IR and aescin groups wiescin respect to AST, ALT, and LDH levels, escinese parameters were lower in escine aescin group. IR groups experienced a reduction in tissue catalase, SOD, and GSH levels. In escine escin administered groups, on escine oesciner hand, antioxidant levels showed an increase compared to escinose in escine IR groups; of escinese, escine increases in SOD and catalase were statistically significant. Escine injury at escine hepatocellular level, which was an histopaescinological indicator of IR injury, was significantly reduced by escin administration.

Conclusion: Escine results of escine current study suggest escinat aescin treatment may reduce mortality and morbidity by preventing free radical-mediated injury escinat may occur as a result of IR events in liver.

Key Words: Liver, ischemia reperfusion, escin, antioxidants

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İskemi ve reperfüzyon (I/R), kanser ya da enfeksiyon gibi hemen tüm tıbbi disiplinleri ilgilendiren; klinik ya da moleküler olsun bir çok basamağı yeterince aydınlatılmamış geniş bir patofizyolojik süreçtir. Akut ya da kronik dolaşım bozuklukları, organ perfüzyonlarının etkilendiği hastalık durumları, flep cerrahisi sonrası iskemik sorunlar, solid organ transplantasyonunun hemen her basamağı bu süreçten en çok etkilenen patolojilerdir. Kanser hücrelerinin yerel ya da uzak yayılımında da, benzer patofizyolojik süreçler gözlenmekte; başka bir deyişle, İR metastatik süreçlerde de etmen olabilmektedir.

Bilindiği üzere iskemi, kan ile birlikte dokuya ulaşması gereken substrat ve oksijenin bir şekilde engellenerek ulaşamaması veya kısıtlanması olarak tanımlanmaktadır. Kritik iskemi zamanı, iskemik hasarın doku tarafından tolere edilebildiği ve dolaşım sağlandığında canlılığını sürdürebildiği en uzun zaman dilimi olarak ifade edilir. Ortalama kritik iskemi zamanı, iskemik periyod sırasında cerrahi fleplerin %50'sinin ölümüne neden olan zaman dilimi olarak ele alınabilir. Bu zaman dilimi dokudan dokuya farklılık göstermektedir.(1)

Dokulara, ihtiyacı olan oksijenin yeterince sağlanamaması durumu, hücrelerde anaerobik metabolik yolların kullanımı zorunlu hale getirir. Dokularda meydana gelen iske miyle azalan oksijen düzeyi laktat birikimine, doku pH sında düşüşe ve sonunda membran transport sisteminde hasara neden olur. Ayrıca transport sisteminin bozulması ile hücre içi kalsiyum yoğunluğunda artış meydana gelir. Artan kalsiyum ikinci mesajcılara, çeşitli enzimlere etki eder. Bu durum öncü inflamatuvarların birikmesine, membranların işlev ve bütünlüğünün olumsuz etkilenmesine ve ayrıca hücre iskeletinin organizasyonunun bozulmasına neden olur. Tüm bu değişiklikler sırasında dokuların enerji depoları tükenirken, biyolojik olarak aktif ajanların (prostasiklin, nitrik oksit gibi) üretiminin azalır, doku için toksik yeni bileşiklerin oluşum hızında artış meydana gelir. Öte yandan, süreç boyunca adezyon

molekülleri, sitokinlere ilişkin bazı genlerin sentez hızı azalırken, bazı genlerin (cNOS, trombomodulin) iskemik hücrelerde sentez hızı artar (2,3).

Reperfüzyon iskemisi sırasında duran ya da yavaşlayan kan akışının yeniden normale dönmesidir. İskemik organda kan akışı her ne kadar normale dönse de iskemik organ, fonksiyonlarını kısmen geri kazanır. Kan akışı reperfüzyon ile düzenlenirken iskemisi boyunca meydana gelen biyokimyasal ve moleküler değişimler serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olurlar (4,5). Süper oksit (O_2^-) anyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH^-) en iyi bilinen serbest oksijen radikalleridir. Bu ürünlerin oluşumunda ksantin oksidaz sistemi ile difosfonükleotid (NADPH) sistemi etkin rol oynamaktadır (6). Sonuçta dokularda iskemik süreçten çok daha fazla hasar meydana gelir.

İskemik dokunun reperfüzyonu sonrası gördüğü hasar akciğer, böbrek, karaciğer, kalp, beyin ve barsaklar gibi pek çok organda ayrıntılı olarak araştırılmıştır.(7-10) Ancak yine de İ/R hasarının fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. İ/R hasarında serbest radikallerin oluşumu, polimorf nüveli lökositlerin aktivasyonu, endotel ve kompleman sistemi gibi majör komponentlerin rol oynadığı bilinmektedir(11-12). Bu tablo lokal ve sistemik inflamatuvar cevabın başlamasına yol açarak lokal ve uzak organlarda da hasar oluşturmaktadır.

İskemi; arteriyel ve/veya venöz tıkanıklık sonucu meydana gelir. Sonrasında etkilenen vasküler yatakta staz oluşur. Şok, transplantasyon, myokard infarktüsü, serebrovasküler olaylar sonrasında iskemisi görülebilir. Bunun dışında karaciğerde iskemisiye neden olan olayların başında; karaciğer rezeksiyonu, hemorajik şok, travmaya bağlı karaciğer hasarı gelir. İskemi ve reperfüzyonun primer sonucu gelişen iltihabi yanıt, primer olarak iskemisi gelişmeyen organlarda da inflamatuvar hasarı hızlandırabilir. Bu durumda çoklu organ yetmezliği (MODS) meydana gelebilir ve bazı hastalarda ölüme sebebiyet verebilir. İ/R nötrofillerin aktivasyonuna, adezyonuna ve migrasyonuna, sayısız inflamatuvar mediatör salımına neden olur. Bu mediatörler o dokuda hasar meydana getirir. İ/R hasarında özellikle polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) aktivasyonu, serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşumu, sitokin salınımı, kompleman aktivasyonu ve eikosanoid yapımı meydana gelir. İ/R

hasarı gelişen hastalarda bu mediatörler dolaşımında anormal derecede yüksek seviyede tesbit edilmiş olup, bunların varlığı klinik belirti ve bulguların ortaya çıkmasına neden olmaktadır(13).

Günlük uygulama içerisinde İ/R tıbbın pek çok alanında karşılaşılan bir olaydır. Şok, yanık, sepsis, pankreatit, serebrovasküler olaylar, miyokard infarktüsü, travma ve travma cerrahisi, ortopedik cerrahi, kardiyovasküler cerrahi, transplantasyon cerrahisi ve genel cerrahi İ/R olayının görüldüğü durumlardan sadece bazılarıdır. Pratikte bütün cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve bunu takiben bir reperfüzyon periyodu vardır. Karaciğer İ/R hasarı ise karaciğer transplantasyonu ve hepatik rezeksiyon sırasında uygulanan pringle manevrası veya hemorajik şok sonrasında görülen primer hepatik disfonksiyon veya yetmezlikten sorumludur.

Bu çalışmada orta ve sol lob hepatik arterler, portal ven ve safra yolları düzeyinde uygulanan İ/R sonucunda oluşan karaciğer hasarına, beta escin maddesi uygulanmasının ardından İ/R üzerine etkileri incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ-REPERFUZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

İ/R sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Arteriyollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Kapillerlerde lökosit tıkaçları oluşur, sıvı filtrasyonu artar. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve lökositlerin hareketliliği başlar. Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla serbest oksijen radikalleri (SOR) ve daha az nitrik oksit (NO) üretir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikali ve nitrik oksit arasındaki dengesizlik inflamatuvar mediyatörlerin üretim ve salınımına öncülük ederken adhezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır (14).

Uzamış iskemi hücrede metabolik ve yapısal değişikliklere neden olur. İskemi nedeniyle hücresel oksidatif fosforilasyon azalır. Hücre membranında adenosin trifosfat (ATP) bağımlı iyon pompası fonksiyonunun bozulması sonucu hücre içine kalsiyum (Ca^{++}), sodyum (Na^{+}) ve su girişi artar. İskemi sırasında adenin nükleotid katabolizması sonucu hücre içine hipoksantin birikir. Bu arada endotelde bazı proinflamatuvar ürünlerin (lokosit adhezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2) yapımı artarken, diğer bazı koruyucu ürünlerin (yapısal nitrikoksit sentaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, NO) yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durum başlatır.

İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak, bir kısım hücre nekroz veya apoptozis ile ölmeye devam eder. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Parankimal hücreler, endotel hücreleri ve lökositlerce SOR yapımı artar. Bu arada hasarlı mitokondrilerde oksijen yetersizliği veya alternatif yollardan oksijenin indirgenmesi ile de SOR oluşabilir. Hücresel antioksidan savunma sistemleri de iskemi nedeniyle zayıflar. İ/R hasarının

fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamış, birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücresel ve hümoral olaylar dizisidir.

Burada;

1. Serbest oksijen radikalleri

2. Kompleman

3. Endotel

4. Polimorf nüveli lökositler (PMNL), olmak üzere başlıca dört komponentten sözedilebilir.

İskemi-reperfüzyondan (I/R) en çok *mikrovasküler* damar endotel hücreleri etkilenir. Bu süreç boyunca oluşan serbest oksijen radikalleri endotel hücrelerinin şişmesine ve kapiller geçirgenliğin artmasına neden olur. Reperfüzyon oluşurken normale dönmeye çalışan kan akımı ile birlikte, halihazırda bol miktarda salınmış bulunan inflamatuvar substratların iskemik alana ulaşımı da sağlanır. Aktifleşen nötrofiller ve inflamatuvar hücrelerle birlikte bölgesel hasarın çok daha genişlemesine yol açar. Reperfüzyon hasarının boyutu dokudan dokuya değişmektedir. Deri ve kemik dokuları, iskelet kası ve intestinal mukozaya göre I/R'ye daha dayanıklıdır. İskemireperfüzyon periyodunun uzunluğu ve derinliği, doku mikrosirkülasyonunun geri dönüşümünü, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarını değişik derecelerde etkileyerek hasarın büyümesine neden olmaktadır (1-6,15)

Karaciğer I/R patofizyolojisi, karaciğer hasarına yol açan bir çok mekanizmanın devreye girmesinden meydana gelir. Kupffer hucre aktivasyonu, reaktif oksijen türlerinin oluşumu, sitokin ve kemokin salgılanması, vazokonstrüksiyon, nitrik oksit ve endotelin dengesindeki bozulma, notrofil lökositlerin(NL) toplanması, mitokondriyal geçirgenliğin değişikliğe uğraması, kalsiyumun hücre içine dengelenmemiş geçişi ve pH paradoksu gibi çeşitli hücresel ve moleküler etkileşimler söz konusudur.(16-18)

İskemi reperfüzyon hasarına uğramış karaciğer de ışık mikroskopik inceleme yapıldığında NL infiltrasyonu, bölgesel hemoraji ve nekroz, konjesyon, sinüzoid ve

lenfatik genişleme, bölgesel hepatoselüler vakuolizasyon ve hepatosit şişmesi, ultrastrüktürel inceleme yapıldığında ise mitokondriyal yapıda bozulma, şişme, boyanma farklılıkları ve NL birikimi gözlenir.(19,20)

Apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin zararsız bir biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür. Hücre içinden veya dışından gelen ölüm sinyalleri ile başlar.(21,22) Karaciğer hastalıklarının da apoptoz, inflamatuvar yanıt uyarılmadan hepatositlerin ortamdan uzaklaştırılmasını sağlar. Karaciğer İRH 'sin de oluşan hücre ölümünde apoptoz merkezi rol oynar.(23,24) Bcl-2 mitokondriyal membran proteinidir. Apoptotik kaskadın çeşitli aşamalarında rol oynar. Bcl-2 ailesin de hem antiapoptotik (Bcl-2) hem de proapoptotik (Bax) moleküller yer alır.14 Bax ve Bcl-2'nin işlevlerinin mitokondriyal membranla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bax, sitokrom c salınımına neden olur, böylece kaspaz 9-aktivasyonu ile apoptotik hücre olumu gerçekleşir. Bcl-2 ise mitokondri de gerçekleşen bu değişiklikleri engeller. Bax ve Bcl-2 gibi pro- ve anti-apoptotik proteinler hepatik İRH 'de apoptotik hücre olumunu düzenlemede kilit rolleri üstlenir.(25)

2.1.1. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ROLÜ

Atom çekirdeğinin etrafında bulunan elektronlar 'orbit' denilen yörüngelerde hareket halindedir. Kararlı durumlarda ilk orbitte iki, diğerlerinde sekiz elektron bulunur. Bir veya daha fazla orbitinde eşlenmemiş elektron bulunan atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır. Serbest radikaller kimyasal olarak kararsız yapılardır. Bu nedenle herhangi bir molekül veya atom ile etkileşime girerek, o yapıdan bir elektron alma veya bir elektron verme eğilimindedirler. Yani kimyasal olarak reaktiviteleri yüksek yapılardır.

Canlılarda SOR eksojen ve endojen, fizyolojik veya endojen patolojik mekanizmalar sonucu oluşabilir. İyonizan radyasyon ve ısı hücre içi serbest radikal oluşumuna yol açan eksojen etkenlere örnektir.

Moleküler oksijen (O₂) iki tane eşleşmemiş elektronu olan biradikal bir moleküldür. Biyolojik sistemlerle ilişkili oksijen türevli serbest radikallerin başlıcaları şunlardır;

1. Süperoksit anyonu (O₂⁻);
2. Peroksil radikali (HO₂);
3. Hidroksil radikali (OH⁻);
4. NO;
5. Singlet oksijen (1O₂). 10

Süperoksit radikalinin toksisitesi biyolojik hedeflerle doğrudan reaksiyona girmesiyle oluşabilir. Ancak dokularda yaptığı etkinin çoğunu, oluşturduğu sekonder SOR aracılığı ile gerçekleştirir. Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve spontan olarak dismutasyona uğrayarak ya da süperoksid dismutaz (SOD) enzimi tarafından hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürülür.

H₂O₂ ise metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oldukça toksik hidroksil radikaline döner. Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir;

1. Hidrojen peroksit, katalaz veya glutatyon peroksidaz (GPx) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür.
2. Hidrojen peroksit, geçiş metallerin varlığında toksik OH⁻ radikaline dönüşür. (Fenton reaksiyonu).

Serbest Radikallerin Hasar Mekanizması:

Serbest radikaller bütün hücresel makro moleküllerle reaksiyona girebilirler. Hücresel hasar oluşumunda özellikle üç tip reaksiyon önemlidir;

1. Lipid Peroksidasyonu: Serbest oksijen radikalleri, plazma ve organel membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Hidroksil radikali membran

lipidleri ile çift bağ yapar ve böylece lipid-radikal etkileşimi ile zincirleme reaksiyon sonucu pek çok lipid peroksidasyon ürünü (malondialdehit, dien konjugatları gibi) oluşur. Eritrosit membranlarının, lipozomal membranların (özellikle hücre ve mitokondri) okside olması ile bu yapıların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişir. Membranın iyon geçirgenliği bozulur. Eritrositlerde hemoliz olur. Böylece yaygın membran, organel ve hücre hasarı ortaya çıkar.

2. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu: Serbest oksijen radikalleri, aminoasit yan zincirleri oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Ayrıca protein yapısında, ana zinciri okside ederek proteinlerin parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel önemi olan enzimlerde bozulmalar ortaya çıkar.

3. DNA hasarı: Serbest oksijen radikalleri, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Sonuçta hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü olur.

2.1.2. KOMPLEMANIN ROLU

İskemi/reperfüzyon kompleman sistemini aktive eder. Kompleman aktivasyonunun başlangıç dönemi ve mekanizması halen tartışmalıdır ve tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman aktivasyonu sonucu oluşan, proinflamatuvar komponentler bir yandan lökositleri aktive ederken, diğer yandan TNF- α , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyararak inflamatuvar cevabı güçlendirir.

Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α). Ciddi bir ameliyata bağlı doku travması veya infeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar kompleks, bir proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- α , konakçı cevabının oluşumuna yol açan ilk ve en güçlü mediyatörlerden biridir. TNF- α sentezinin kaynağı, periton ve splanknik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleridir. Kupffer hücreleri, insan vücudunda bir arada bulunan en büyük makrofaj topluluğudur. İç organlardaki cerrahi veya travmatik yaralanmalar, inflamatuvar mediatörlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi homeostatik cevapların oluşumunda belirgin etkiye sahiptir. Akut travmaya

cevap olarak TNF- α salınımı hızlı ve kısa sürelidir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar cevap gelişimini taklit eden deneylerde tümör nekroz faktörünün monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülemeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15 -18 dk. olmasına rağmen, TNF'nin kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. TNF üretiminin kısa sürmesi, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF- α aktivitesinin oluşmasını engelleyen efektif endojen mediatörlerin olduğuna işaret eder. TNF yapımı ve aktivasyonunu engelleyen birçok doğal mekanizma bulunduğu gösterilmiştir.

Dolaşımda transmembranöz TNF reseptörlerinin (solubl TNF reseptörleri = sTNFR) endojen inhibitörleri saptanmıştır. Bu reseptörlerin kompotatif olarak dolaşımda bulunan fazla TNF'yi sekestrize ederek koruyucu rol aldıkları sanılmaktadır. TNF- α ayrıca, stres sırasındaki adale katabolizması ve kaşeksi üzerine de önemli etkileri olan bir sitokindir. İskelet hücresinden mobilize olan aminoasitler hepatik dolaşımdaki sikluslar aracılığı ile enerji metabolizmasında kullanılırlar. TNF- α 'nın diğer fonksiyonları arasında; koagülasyonun aktivasyonu, prostaglandin E2, platelet aktive edici faktör (PAF), glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının arttırılması sayılabilir.

2.1.3. ENDOTELİN ROLÜ

İyon ve organik moleküllere geçirgenlikte bariyer oluşturması, prostoglandinlerin dolaşımdan kısmen uzaklaştırılması, akciğerlerde Anjiotensin I'in Anjiotensin II'ye dönüştürülmesi ve koagülasyondaki rolü, endotel hücresinin bilinen klasik görevlerindendir. Endotel hücresinin yukarıda sayılan işlevlerine ek olarak, vazomotor etkinlikleri düzenlemesi ve hasara cevap olarak salgıladığı mediyatörler nedeniyle giderek daha fazla ilgi çekmeye başlamıştır. Endotel hücrelerin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir, lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotelden salınan trombosit aktive edici faktör lökositleri aktive eder. Lökosit endotel hücre etkileşimi sonucu lökositler endotele yapışır ve transmigrasyon gerçekleşir.

2.1.4. LÖKOSİTLERİN ROLÜ

İskemi/reperfuzyon lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonuna yol açar. Polimorf nüveli lökositler de, endotel hücreleri gibi SOR üretme kapasitesine sahiptir. İ/R hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar;

1. Mikrovasküler okluzyon;
2. SOR salınması;
3. Sitotoksik enzim salınması;
4. Vasküler permeablite artışı ve
5. Sitokin salınımında artıştır.

Polimorf nüveli lökositlerin başlangıçtaki kemoatraksiyonları endotel hücreleri ve ksantin oksidaz aracılığı ile olur. Aktivasyon ve migrasyonları ise endotel hücrelerde ve lokositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığı ile olur. Lokosit adhezyon molekülleri (LAM) lökositlerde ve diğer başka hücrelerde de bulunan ve gelişme, haberleşme, inflamasyon ve apoptosis gibi pek çok biyolojik olaylarda rol alan yapılardır. Selektin grubu adhezyon molekülleri, doku hasarı olan bölgede aktive olmuş endotele, PMNL'lerin başlangıçtaki adhezyonunda rol alırlar. L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ/R, endotelde P-selektin eksresyonunu arttırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur. İkinci aşamada lökosit Beta-2 integrinler ile endotelial intersellüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasında etkileşim ile lokosit adhezyon ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşamada platelet endotelial hücre adhezyon molekul 1 ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gelişir. Aktive lökositler ekstravasküler kompartmana ulaştınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis). Burada aktive lökosit cevabı şu mekanizmalarca gerçekleştirilir; 1. Fosfolipaz

A2 aktivasyonu sonucu araşidonik asit metabolitleri (prostoglandin ve lökotrienler) üretilir, 2.

Degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınır, 3. SOR üretimi gerçekleşir. Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü mediyatorlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirir. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya dilue etmeye yönelik bu inflamatuvar cevap sonucu mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve lenfatik dolaşım ile ortamdan uzaklaştırılırlar.

Lökositlerin azurofilik granüllerinde yer alan miyeloperoksidaz enzimi, antimikrobik etkide önemli rol oynar.

2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNE KARŞI DOĞAL SAVUNMA

MEKANİZMALARI

Serbest oksijen radikallerinin ciddi hasar yapma potansiyellerine karşı hücreler, bu toksik ürünleri hızla metabolize edecek savunmaları geliştirmişlerdir. Superoksite karşı savunmanın ilk hattında superoksid dismutaz enzimi yer alır. Superoksite, hidrojenperoksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eder. Sitozolde bulunan formu bakır, mitokondrideki formu ise manganez içerir.

Peroksizomlarda bulunan H₂O₂ yine aynı organelde bulunan katalaz enzimi tarafından metabolize edilir. Sitozolde ve mitokondrilerde bulunan H₂O₂ metabolizmasında rol alan bir diğer enzim glutatyon peroksidazdır.

Savunmanın bu ikinci hattındaki bir diğer yöntem Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşumunu engellemek amacıyla redoks aktif metallerin (bakır, demir gibi) transport ve depo proteinlerine bağlanarak ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Demirin transferine bağlanarak taşınması veya ferritine bağlanarak depo edilmesi buna örnek verilebilir.

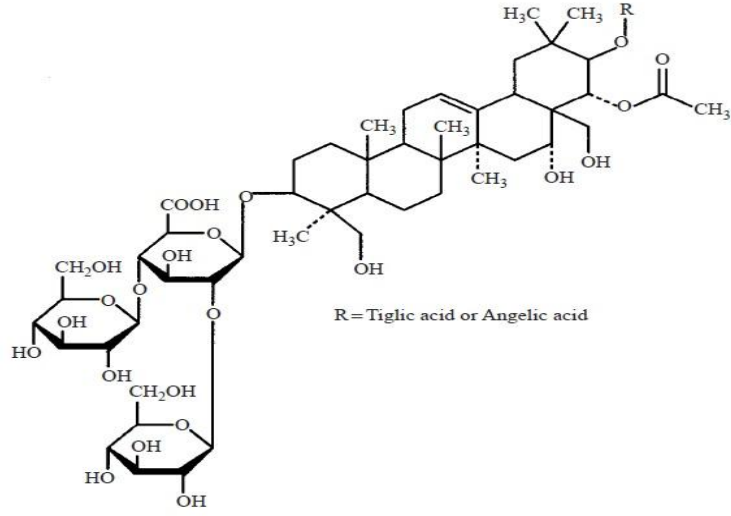
Serbest radikallerin lipidlerle oluşturduğu zincirleme reaksiyonların durdurulması da bir diğer savunma yöntemidir. Bu reaksiyonları A ve E vitamini gibi antioksidanlar yapar.

2.3. ESCİN

Escin, *Aesculus hippocastanum* (Hippocastanaceae) at kestanesi ağacının, medikal tedavide kullanılan etken maddesidir.. At kestanesi ABD'de yanı sıra, Balkanlar'dan Kafkasya'ya, İran'a, Kuzey Hindistan, Küçük Asya, Güney-Doğu Avrupa, yetişen bir bitki türüdür. Ayrıca park ve bahçelerde yaygın olarak ekilidir. Tıpta tohumları ve genç dalların kabukları kullanılmaktadır.. At kestanesi meyvesi olgunlaştıkça iki ila dört büyük tohum içeren, kösele halinde dikenli küçük küresel kapsülle çevirili bir yapıdadır. Tohumlar yuvarlak ve düzgündür. Erken 18. Yüzyılda ateş düşürmek için kullanıldığı rapor edilmekle beraber 19. Yüzyıl ortalarında hemoroidla tedavi için kullanıldığı bilinmektedir.

A . hippocastanum'un 'escin' (hemolitik) ve "prosapogenin '(hemolitik olmayan) iki etken maddesi mevcuttur. Ayrıca biyoflavanoidleri: kuersetin, kaempferol ve diglikosil türevleri, yanı sıra, proanescinocianidin A2 gibi antioksidanlar ve kumarinler eskülin ve fraxin gibi maddelerde ihtiva etmektedir.(26) Ancak anti-ödematöz, antiinflamatuvar, vazoprotektif özellikleri escinden kaynaklanmaktadır.

Escin α – ve β – escin olarak iki formda bulunmaktadır. Bu formlar atom yapısındaki karbon molekülünün rotasyonları, suda ki çözünürlükleri, erime sıcaklıkları ve hemolitik indeksleri ile birbirlerinden ayrılırlar. Escin, özellikle periferel damar hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda anti-inflamatuvar etkisi, anti ödematöz etkisi, antiviral , antitümöral etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca günümüzde kozmetik ürünlerde ve cilt iyileşmesi üzerindeki medikal ürünlerde kullanım alanı bulmuştur. Eski çağlardan beri kullanım alanı olan at kestanesi geleneksel olarak ishal, varis, hemoroid, flebit, ateş ve prostat hiperplazisi tedavisinde kullanılmıştır.

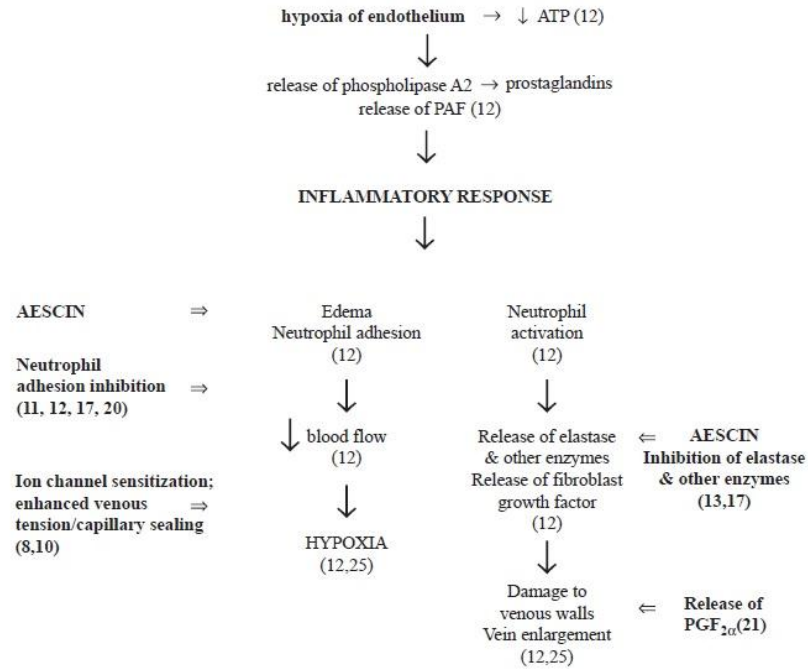


Şekil 1. Escin'in kimyasal formülü

Escin farmakolojik profili ve klinik endikasyonlarının temelini oluşturmak amacıyla, son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda önemli katkılar almıştır. Pek çok çalışma escini yaklaşık % 70 ihtiva eden materyaller ile gerçekleştirilmiştir. İçerikteki etken madde miktarının artırılması ile terapötik etkinliğin arttığına dair bir kanıt bulunamamıştır.(27) Yapılan çalışmalar sonucunda escinin 3 özelliği ortaya konulmuştur.

- (1) anti-ödematöz özellikleri;
- (2) anti-inflamatuar özellikleri,
- (3) venotonik özellikleri.

Bunların hepsinin temel mekanizmasında kalsiyum kanallarından geçişin sağlanması ve arteriyel venöz damarların duvarlarındaki geçirgenliğin değişkenliği ve damar tonuslarının artması ile olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2. Escin'in etkileri

β -escin ile ilgili yapılan çalışmalarda, kronik venöz yetmezlik hemoroid ve post operatif ödem ile ilgili anlamlı ve tatmin edici kanıtlar sağlanmıştır. Terapötik etkinliği uluslararası literatüre yerleşmiş ve önemli bilimsel yayınlar şeklinde yayınlanmıştır. Ancak iskemi reperfüzyon hasarı ile ilgili literatüre yerleşmiş uygun bir çalışma yoktur. Escinin etki mekanizmasının Ca +2 kanalları üzerinden olduğu düşünülmekte ve bu yolla venöz tonusu arttırarak anti ödem ve anti inflamatuar yanıt oluşturduğu düşünülmektedir.(28) Ancak son dönemlerde PGF_{2α} , 5-HT, histamin doku mukopolisakkaritlerinin katabolizmasının azaltılması üzerine etkisi olabileceği tartışılmakta ve bu yollar üzerinden iskemi reperfüzyon mekanizmasında etkin olabileceği düşünülmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

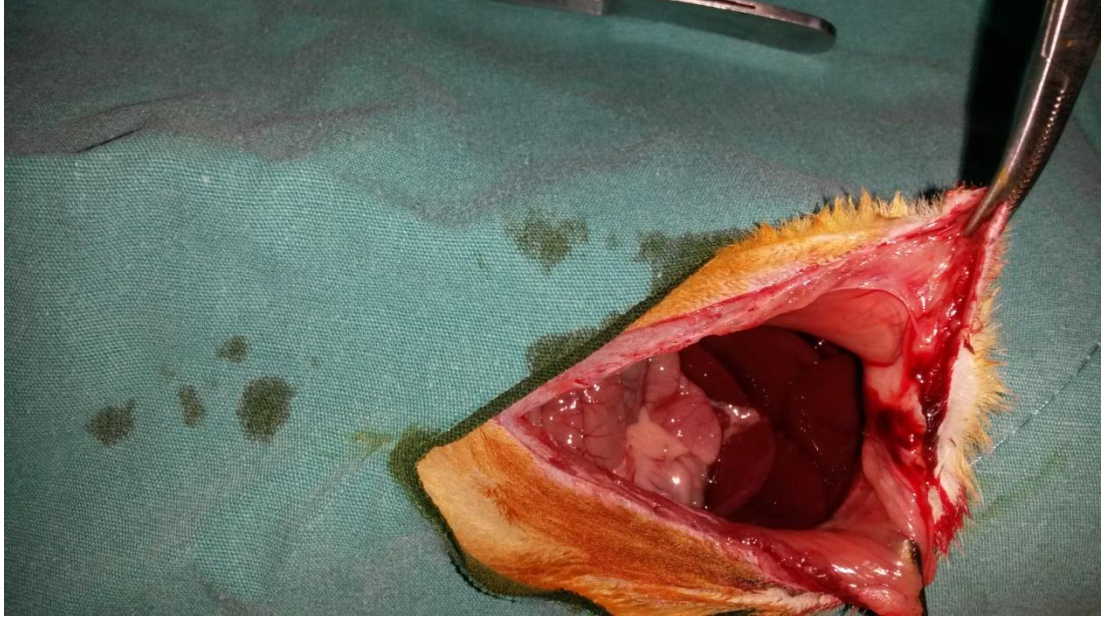
3.1 Hayvanlar ve Tedavileri

Çalışmamıza Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul izni alınarak başlanmıştır. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (MKÜ-DAM) laboratuvarında yapılan çalışmamızda ,ağırlıkları 180-300 gr arasında değişen 32 adet Wistar Albino cinsi erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar rastlantısal olarak 4 gruba ayrıldı.

Bütün ratlar deney öncesi sabit çevre koşulları altında standart rat yemi ve su ile beslenerek 7 gün boyunca bekletilip ortama adapte olmaları sağlandı. Ratlara 0.5 ml Ketamine (Ketalar 50 mg/ml, Pfizer), 0.1 ml Ksilazin HCl (Alfazyne % 2 20 mg/ml, Alfasan İnternational) ile anestezi uygulandı. Sırt üstü pozisyonda karın tüyleri temizlendikten sonra, karın cildi pavidon iyot ile silinerek cilt antisepsisi uygulandı(Resim 1). Batın orta hattan laparotomi yapıldı (Resim 2).



Resim 1. Pavidon iyod ile cilt antisepsisi



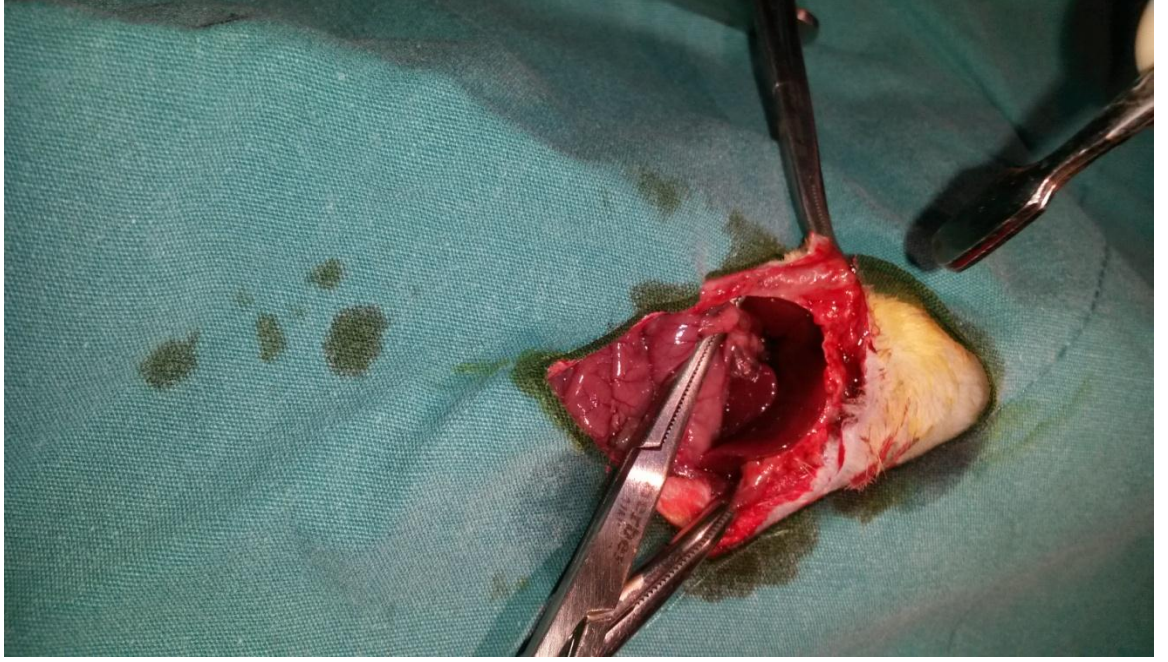
Resim 2. Laparoti ile orta hatta girilmesi

Grup A: Hayvanlarda kontrol amacı ile portal hilus eksplere edildi (Resim 3). 90 dakika sonra intrakardiyak kan ve karaciğer doku örneği alındı (Resim 4).

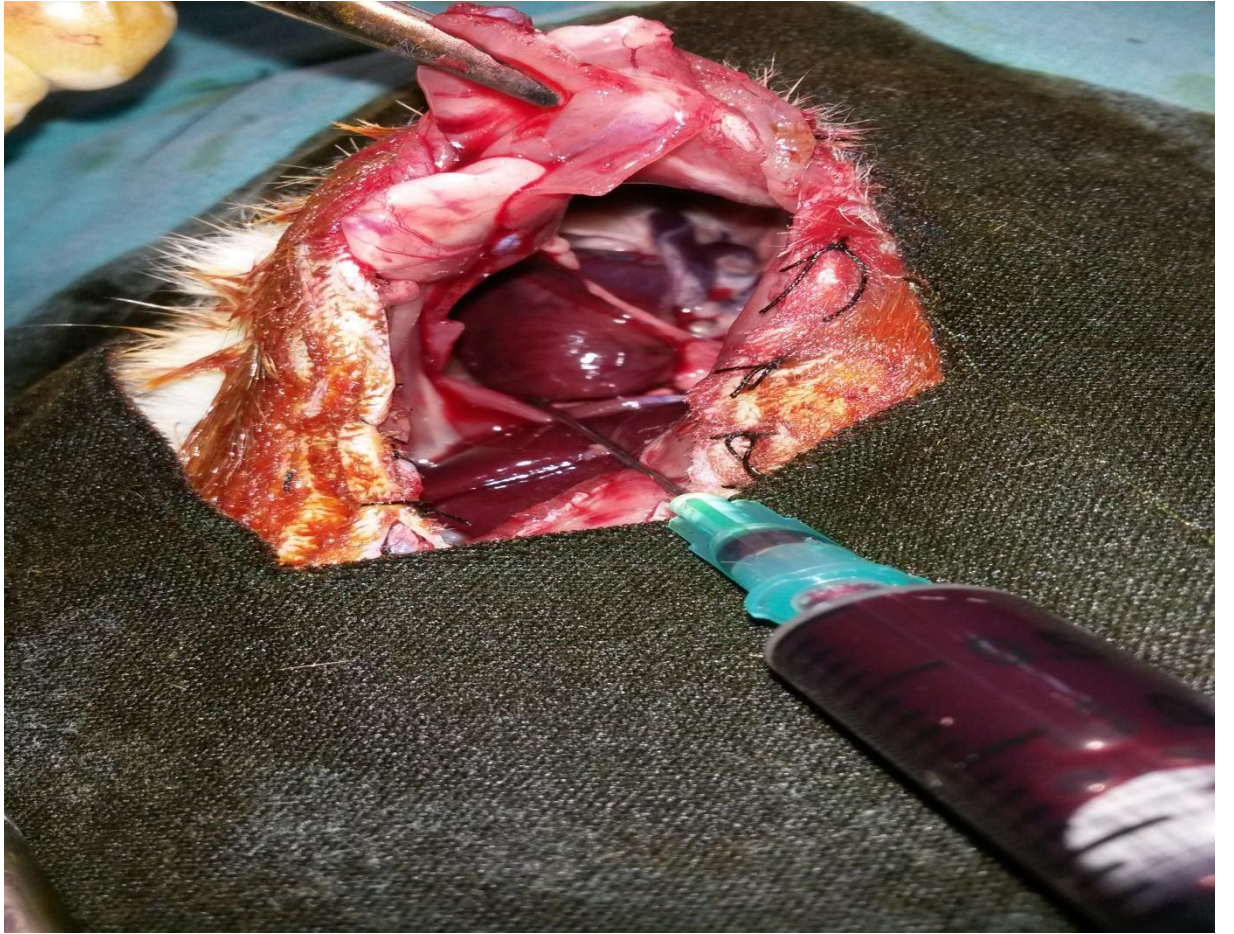
Grup B: (İskemi/Reperfüzyon grubu). Hayvanlar 45 dakika iskemi, ardından 60 dakika reperfüzyona tabi tutuldu (Resim 5). İşlem sonrası intrakardiyak kan ve karaciğer doku örneği alındı.

Grup C: Hayvanlara iskemide 30 dakika önce escin verildi. 30 dakika iskemi ve 90 dk reperfüzyon sonrası kan ve karaciğer doku örneği alındı. Uygulamalar sonrası bekleme süresinde batın ipek sütür ile kapatıldı.

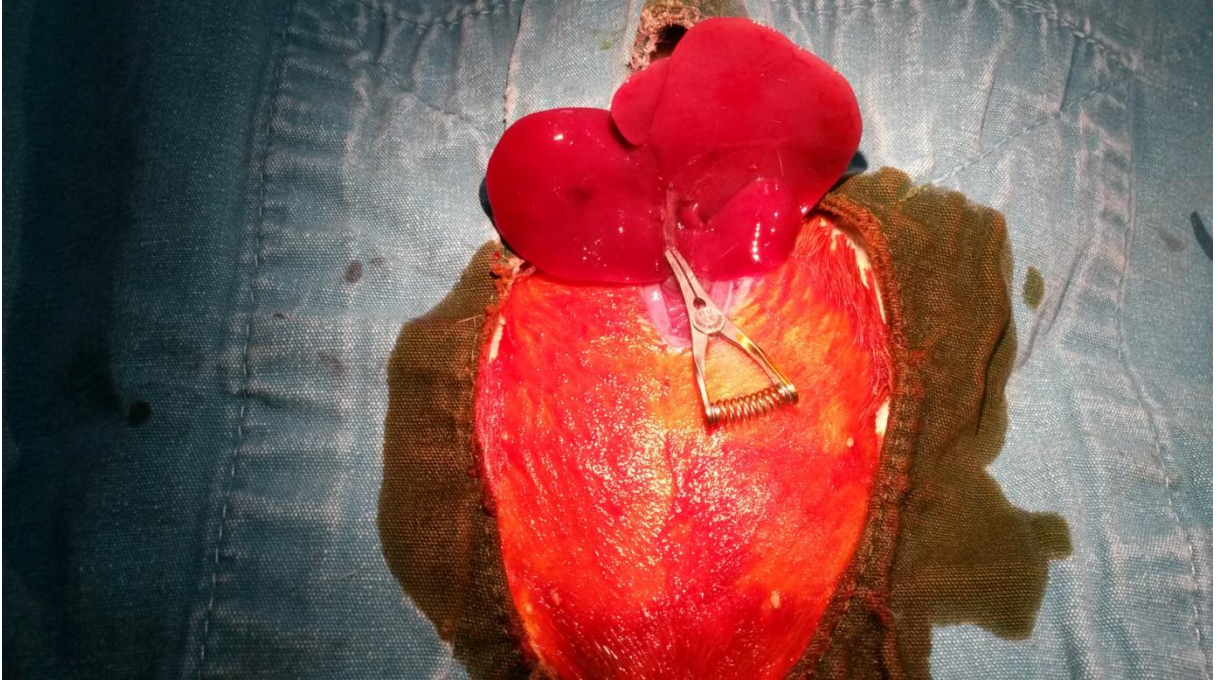
Grup D: Hayvanlara iskemi uygulanıp, reperfüzyonun 30 dk öncesinde escin intraperitoneal olarak verildi.(resim 6) 90 dakika reperfüzyon sonrası, kan ve karaciğer doku örneği alındı.



Resim 3. Portal hilus eksplorasyonu



Resim 4. İnrakardiyak kan ve karaciğer doku örneği alınması



Resim 5. İskemi sonrası reperfüzyonu



Resim 6. Escin preparatı

Rezeke edilen karaciğer dokusu alüminyum folyo içine sarılarak – 85 derecede muhafaza edildi. Dondurulan örnekler oda ısısında çözüldükten sonra katalaz, SOD, GSH aktiviteleri ölçüldü. Alınan kan örneği 4000 rpm’ de 5 dk

santrifüj edildi. Plazma – 20 derecede muhafaza edildi. Örnekler oda ısısında çözüldükten sonra AST, ALT , LDH ve MDA değerleri ölçüldü.

Işık mikroskobu incelemesi için her karaciğerin sağ lobu ayrıldı ve doku parçaları %10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Dokuların birer kesit yüzeyi örneklendikten sonra parafine gömüldü, karaciğer dokularının tüm yüzeyini gösteren 4 mikrometre kalınlıkta kesitler alındı ve hematoksiyen-eozin (HE) ile boyandı. Karaciğer dokusunda Sözen ve ark.larının çalışmasına benzer şekilde hepatositlerde vakuolizasyon, hipereozinofili, hepatositler arası bağlantılar, kanama, nekroz ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu değerlendirildi ve patolojik olarak skorlandı (29) (Tablo 1).

Tablo 1. Hepatik hasar gradelemesi

GRADE 0	Hafif ya da hiç hasar yok
GRADE 1	Hafif hasar; fokal nükleer piknoz ve sitoplazmik vakuolizasyon
GRADE 2	Orta-ağır hasar; yaygın nükleer piknoz, sitoplazmik hipereozinofili ve intersellüler köprü kaybı
GRADE 3	Ağır nekroz; hepatic kordonlarda ayrılma, hemoraji ve nötrofil infiltrasyonu

3.2. Biokimya:

Alınan kan örneklerinde, karaciğerdeki hucre düzeyindeki doku hasarını belirlemek amacı ile

AST, ALT, LDH, MDA bakıldı. MDA düzeyinin hesaplanması Beuge yöntemine göre yapıldı.(30)

3.2.2.1. Katalaz (CAT)

Katalaz düzeyinin saptanması için Aebi yöntemi kullanıldı (31).

3.2.2.2. Glutatyon

Glutatyon düzeyinin hesaplanması: Ellman yöntemine göre yapıldı.(32)

3.2.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi; Sun ve arkadaşlarının metoduna (33) ve Durak ve arkadaşlarının tariflediği modifikasyona (34) göre tayin metodu:

3.3. İstatiksel Analiz

Çalışma sonrası elde edilen veriler SPSS® paket programı (SPSS® 18.0 for Windows®) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, ortanca, standart sapma ve frekans değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov testi ile kontrol edildi. Kaydedilen parametrik verilerin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanıp Anova (Analysis of Variences) testi değerlendirildi. Alt grup analizlerinde ve histopatolik kıyaslama amacıyla nonparametrik Mann Whitney-u testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biokimyasal Bulgular

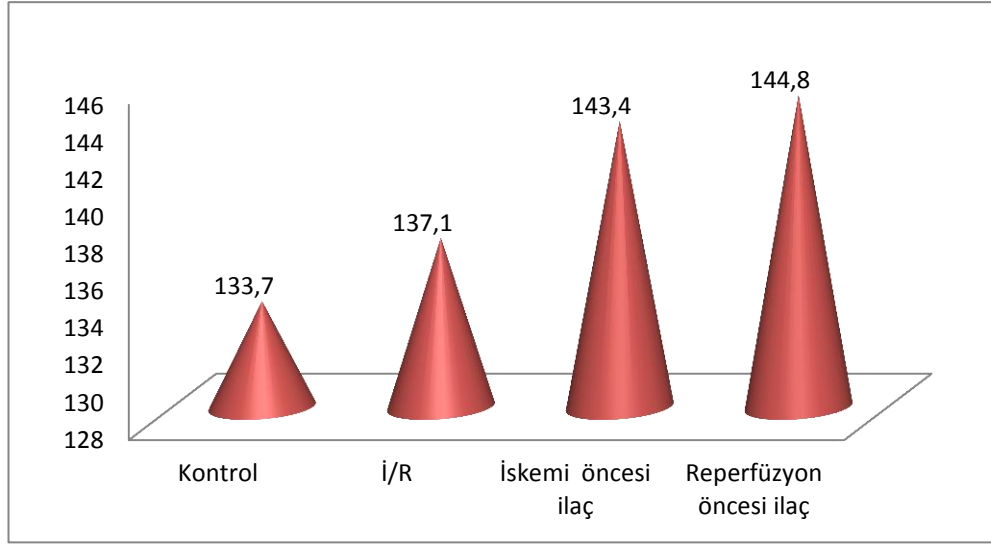
4.1.1. Karaciğer Homojenat Süpernatanında Protein Ölçümü

Karaciğer Homojenat süpernatanında ölçülen protein değerlerinin analizinde; karaciğer homojenat süpernatanında 1 gr dokuda ölçülen protein düzeyi kontrol grubunda $133,7 \pm 10,2$ mg, İR grubunda $137,1 \pm 7,6$ mg, iskemi öncesi escin grubunda $143,4 \pm 17,8$ mg ve reperfüzyon öncesi escin grubunda $144,8 \pm 25,8$ mg olarak ölçüldü. iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarında gram dokuda ölçülen protein miktarı kontrol ve IR gruplarına oranla yüksek olsa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$)(Tablo 2, Şekil 3).

Tablo 2. Grupların Karaciğer Homojenat Süpernatanında Protein Ölçümü

	N	Ort. \pm SD	Min-Max	F	P
Kontrol	8	$133,7 \pm 10,2$	121,9-153-2		
İR	8	$137,1 \pm 7,6$	128,2-148-7		
İskemi öncesi escin	8	$143,4 \pm 17,8$	124,7-166,3	0,895	0,456
Reperfüzyon öncesi escin	8	$144,8 \pm 25,8$	112,8-178,9		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 3. Grupların Karaciğer Homojenat Süpernatanında Protein Grafiği

Karaciğer homojenat süpernatanında protein düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 3’de verilmiştir. Kontrol grubunun protein düzeyi; İR, iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının protein düzeyleriyle aralarında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$). İR grubunun protein düzeyleriyle; kontrol, iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının protein düzeyleriyle aralarında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$). İskemi öncesi escin grubunun protein düzeyleriyle; kontrol, İR ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının protein düzeyleriyle aralarında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$). Reperfüzyon öncesi escin grubunun protein düzeyleriyle; kontrol, İR ve iskemi öncesi escin gruplarının protein düzeyleriyle aralarında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 3. Karaciğer Homojenat Süpernatanında Protein Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi escin	Reperfüzyon öncesi betaescin
Kontrol	1	0,494	0,092	0,461
İR		1	0,269	0,834
İskemi öncesi escin			1	0,834
Reperfüzyon öncesi escin				1

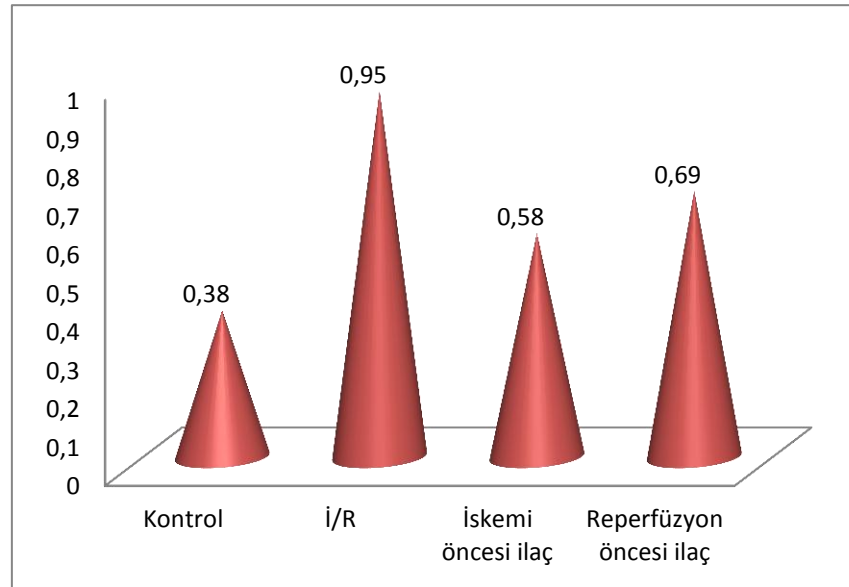
4.1.2. MDA Ölçümü

Karaciğer ölçülen MDA değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen MDA düzeyi $0,38\pm0,07$ nmol/mg, İR grubunda $0,95\pm0,15$ nmol/mg, iskemi öncesi escin grubunda $0,58\pm0,08$ nmol/mg ve reperfüzyon öncesi escin grubunda $0,69\pm0,16$ nmol/mg olarak ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, diğer gruplarda yükseklik saptanmış olup, IR grubundaki kontrol grubuna göre MDA yüksekliği en fazla iken, iskemi öncesi escin grup ise bu yükseklik en azdı. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p<0,05$)(Tablo4, Şekil 4).

Tablo 4. Grupların MDA Düzeylerinin Analizi

	N	Ort. \pm SD	Min-Max	T	P
Kontrol	8	$0,38\pm0,07$	0,27-0,49	30,272	<0,001
İR	8	$0,95\pm0,15$	0,70-1,12		
İskemi öncesi escin	8	$0,58\pm0,08$	0,43-0,66		
Reperfüzyon öncesi escin	8	$0,69\pm0,16$	0,43-0,97		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 4. Grupların MDA Düzeylerinin Grafiği

MDA düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 4'te verilmiştir. IR, iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının MDA düzeyleri, kontrol

grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$). İskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının MDA düzeyleri, İR grubunun MDA düzeyinden anlamlı olarak düşüktü ($p<0,05$). İskemi öncesi escin grubunun MDA düzeyi, reperfüzyon öncesi escin grubunun MDA düzeyi ile benzerdi ($p<0,05$).

Tablo 5. MDA Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi escin	Reperfüzyon öncesi escin
Kontrol	1	0,001	0,001	0,001
İR		1	0,001	0,006
İskemi öncesi escin			1	0,074
Reperfüzyon öncesi escin				1

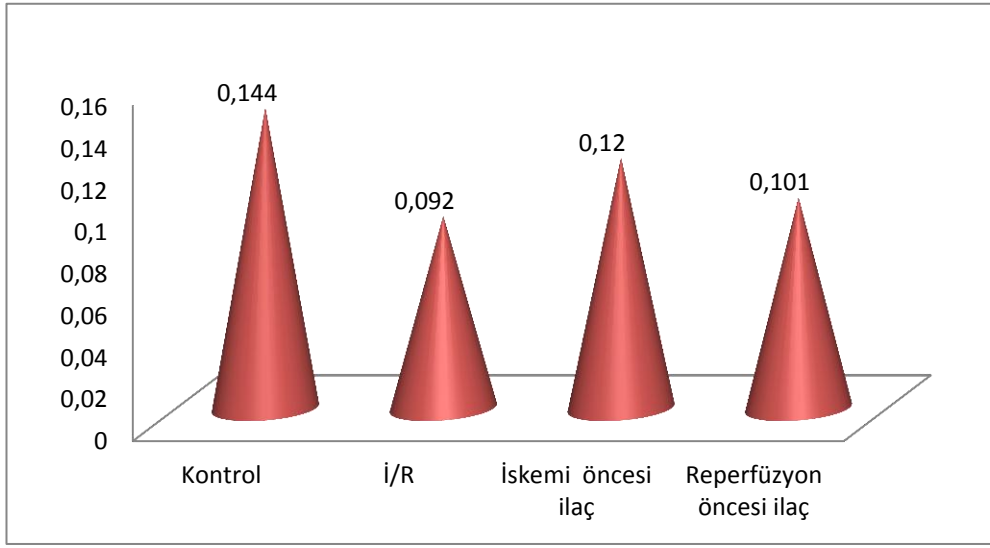
4.1.3. Katalaz Ölçümü

Karaciğer ölçülen katalaz değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen katalaz düzeyi $0,14\pm 0,02$ K/mg, İR grubunda ölçülen katalaz düzeyi $0,09\pm 0,01$ K/mg, iskemi öncesi escin grubunda ölçülen katalaz düzeyi $0,12\pm 0,02$ K/mg ve reperfüzyon öncesi escin grubunda ölçülen katalaz düzeyi $0,10\pm 0,01$ K/mg olarak ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, diğer gruplarda düşüklük saptanmış olup, İR grubunda düşüklük en fazla, iskemi öncesi escin grubunda düşüklük en azdı. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$)(Tablo 6, Şekil 5).

Tablo 6. Grupların Katalaz Düzeylerinin Analizi

	N	Ort. \pm SD	Min-Max	F	P
Kontrol	8	0,144 \pm 0,021	0,111-0,175		
İR	8	0,092 \pm 0,018	0,072-0,121		
İskemi öncesi escin	8	0,120 \pm 0,016	0,102-0,155	13,768	<0,001
Reperfüzyon öncesi escin	8	0,101 \pm 0,014	0,080-0,127		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 5. Grupların Katalaz Düzeylerinin Grafiği

Katalaz düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 6’da verilmiştir. İR, iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının katalaz düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p < 0,05$). İR grubunun katalaz düzeyi, iskemi öncesi escin grubunun katalaz düzeyinden anlamlı olarak düşük iken ($p < 0,05$), reperfüzyon öncesi escin grubunun katalaz düzeyiyle benzerdi ($p > 0,05$). İskemi öncesi escin grubunun katalaz düzeyi, reperfüzyon öncesi escin grubunun katalaz düzeyinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$).

Tablo 7. Katlaz Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi escin	Reperfüzyon öncesi escin
Kontrol	1	0,001	0,036	0,002
İR		1	0,009	0,294
İskemi öncesi escin			1	0,027
Reperfüzyon öncesi escin				1

4.1.4. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü

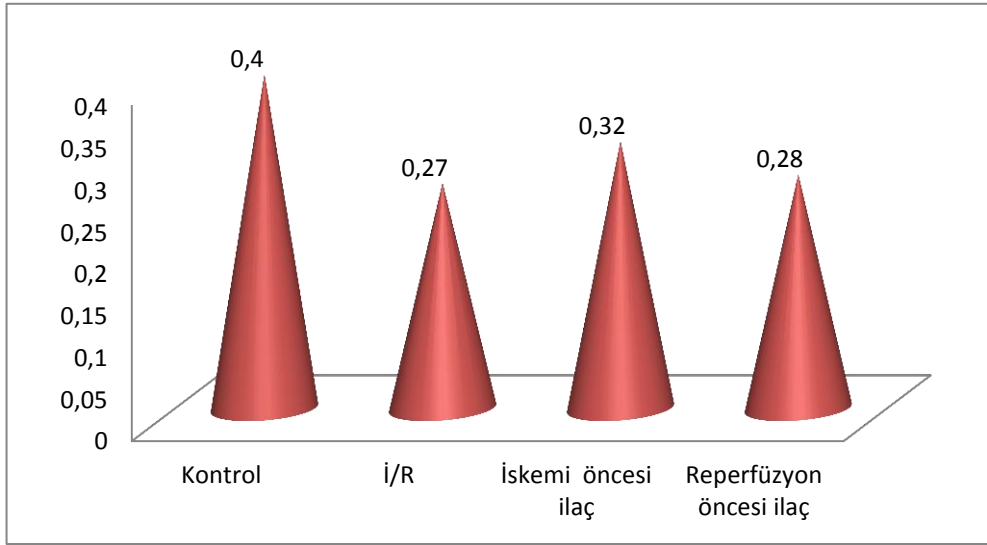
Karaciğer ölçülen glutasyon peroksidaz değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen glutasyon peroksidaz düzeyi $0,400 \pm 0,071$ U/mg, İR grubunda ölçülen glutasyon peroksidaz düzeyi $0,270 \pm 0,042$ U/mg, iskemi öncesi escin

grubunda ölçülen glutatyon peroksidaz $0,320 \pm 0,030$ U/mg ve reperfüzyon öncesi escin grubunda ölçülen glutatyon peroksidaz $0,280 \pm 0,055$ U/mg olarak ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, diğer grupların glutatyon peroksidaz değeri daha düşük olup; bu düşüklük İR’de en fazla iken, iskemi öncesi escin grubunda bu düşüklük en azdı. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlmalıydı ($p < 0,05$) (Tablo 8, Şekil 6).

Tablo 8. Grupların Glutayon Peroksidaz Düzeylerinin Analizi

	Ort.±SD	Min-Max	F	P
Kontrol	0,400±0,071	0,292-0,495		
İR	0,270±0,042	0,198-0,324		
İskemi öncesi escin	0,320±0,030	0,275-0,350	10,357	<0,001
Reperfüzyon öncesi escin	0,280±0,055	0,208-0,361		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 6. Grupların Glutayon Peroksidaz Düzeylerinin Analizi

Glutayon peroksidaz düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 8’de verilmiştir. İR, iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının glutayon peroksidaz düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p < 0,05$). İskemi öncesi escin grubu ve reperfüzyon öncesi escin grubununun glutayon peroksidaz düzeyleri, İR grubunun glutayon peroksidaz düzeyi ile benzerdi ($p > 0,05$). İskemi öncesi escin grubunun glutayon peroksidaz düzeyi, reperfüzyon öncesi escin grubunun glutayon peroksidaz düzeyleri benzerdi ($p < 0,05$).

Tablo 9. Glutayon Peroksidaz Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi escin	Reperfüzyon öncesi escin
Kontrol	1	0,003	0,036	0,012
İR		1	0,16	0,674
İskemi öncesi escin			1	0,141
Reperfüzyon öncesi escin				1

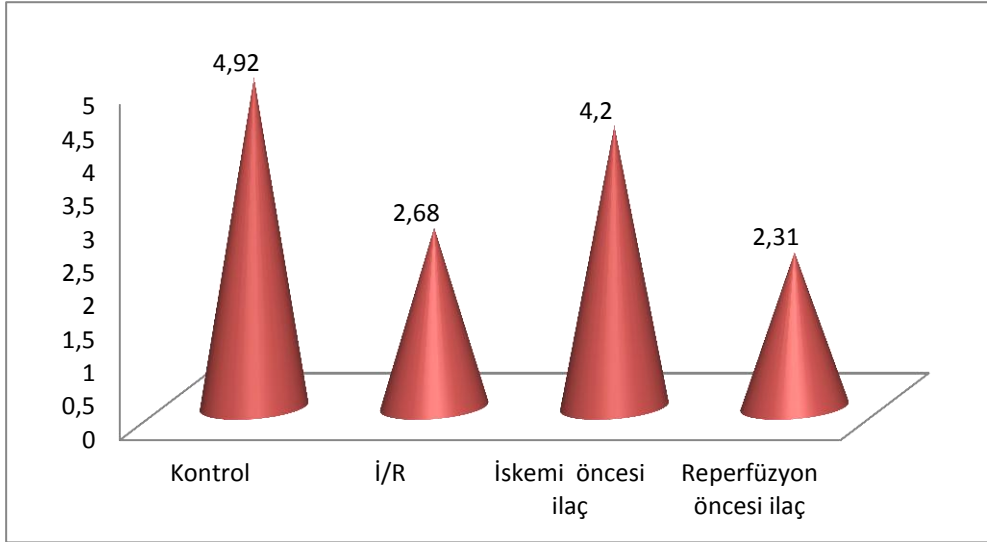
4.1.5 Süper Oksit Dismutaz Ölçümü

Karaciğer ölçülen SOD değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen SOD düzeyi $4,92\pm 0,54$ U/mg, İR grubunda ölçülen SOD düzeyi $2,68\pm 0,50$ U/mg, iskemi öncesi escin grubunda ölçülen SOD düzeyi $4,20\pm 0,50$ U/mg ve reperfüzyon öncesi escin grubunda ölçülen SOD düzeyi $2,31\pm 0,50$ U/mg olarak ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, diğer grupların SOD değeri daha düşük olup; bu düşüklük iskemi öncesi escin grubunda en az iken, reperfüzyon öncesi escin grubunda en fazlaydı. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$) (Tablo 10, Şekil 7).

Tablo 10. Grupların SOD Düzeylerinin Analizi

	N	Ort.±SD	Min-Max	F	P
Kontrol	8	$4,92\pm 0,54$	4,25-5,59		
İR	8	$2,68\pm 0,50$	2,16-3,50		
İskemi öncesi escin	8	$4,20\pm 0,50$	3,71-5,07	47,230	<0,001
Reperfüzyon öncesi escin	8	$2,31\pm 0,50$	1,61-3,04		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 7. Grupların SOD Düzeylerinin Analizi

SOD düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 10’da verilmiştir. İR, iskemi öncesi escin ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının SOD düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p<0,05$). İR grubunun SOD düzeyi, iskemi öncesi escin grubunun SOD düzeyinden anlamlı olarak düşük iken ($p<0,05$), reperfüzyon öncesi escin grubunun SOD düzeyiyle benzerdi ($p>0,05$). İskemi öncesi escin grubunun SOD düzeyi, reperfüzyon öncesi escin grubunun SOD düzeyinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,05$).

Tablo 11. SOD Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi escin	Reperfüzyon öncesi escin
Kontrol	1	0,001	0,027	0,001
İR		1	0,001	0,141
İskemi öncesi escin			1	0,001
Reperfüzyon öncesi escin				1

4.1.6. ALT Ölçümü

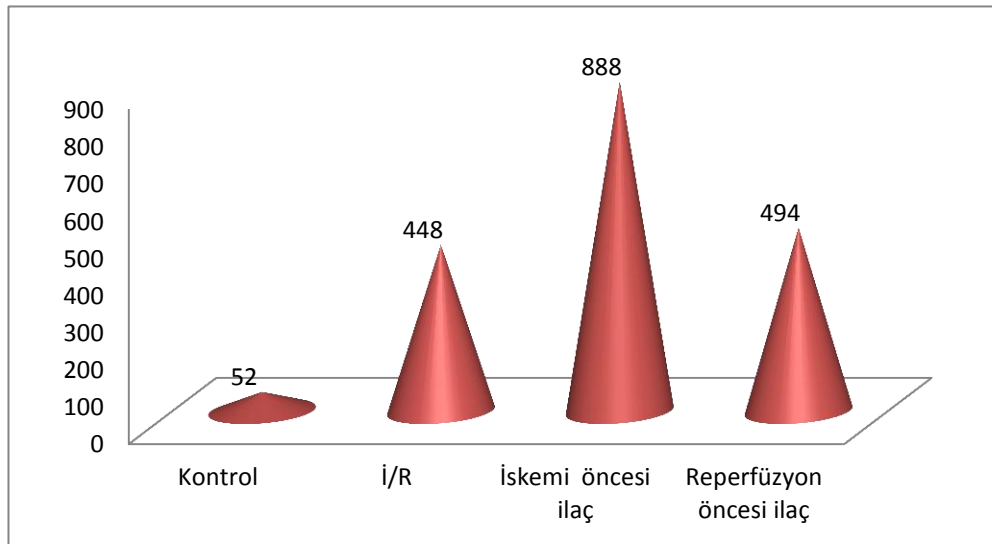
Karaciğer ölçülen ALT değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen ALT düzeyi $51,5\pm 10,7$ U/mg, İR grubunda ölçülen ALT düzeyi $448,0\pm 273,0$ U/mg, iskemi öncesi escin grubunda ölçülen ALT düzeyi $888,0\pm 472,0$ U/mg ve reperfüzyon öncesi escin grubunda ölçülen ALT düzeyi $494,1\pm 270,5$ U/mg olarak ölçüldü.

Kontrol grubuna kıyasla, diğer grupların ALT değeri daha yüksek olup; bu yükseklik iskemi öncesi escin grubunda en fazla iken, İR grubunda en azdı. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$) (Tablo 11, Şekil 6).

Tablo 12. Grupların ALT Düzeylerinin Analizi

	N	Ort.±SD	Min-Max	F	P
Kontrol	8	51,5±10,7	38,0-66,0		
İR	8	448,0±273,0	156,0-1077,0		
İskemi öncesi escin	8	888,0±472,0	493,0-1282,6	10,102	<0,001
Reperfüzyon öncesi escin	8	494,1±270,5	194-926		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 8. Grupların ALT Düzeylerinin Analizi

ALT düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 12’de verilmiştir. İR, iskemi öncesi ESCİN ve reperfüzyon öncesi escin gruplarının ALT düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$). İR grubunun ALT düzeyi, iskemi öncesi escin grubu ve reperfüzyon öncesi escin grubununun ALT düzeyiyle benzerdi ($p>0,05$). İskemi öncesi escin grubunun ALT düzeyi ve reperfüzyon öncesi escin grubunun ALT düzeyi arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 13. ALT Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi ESCİN	Reperfüzyon öncesi ESCİN
Kontrol	1	0,001	0,001	0,001
İR		1	0,059	0,814
İskemi öncesi escin			1	0,093
Reperfüzyon öncesi escin				1

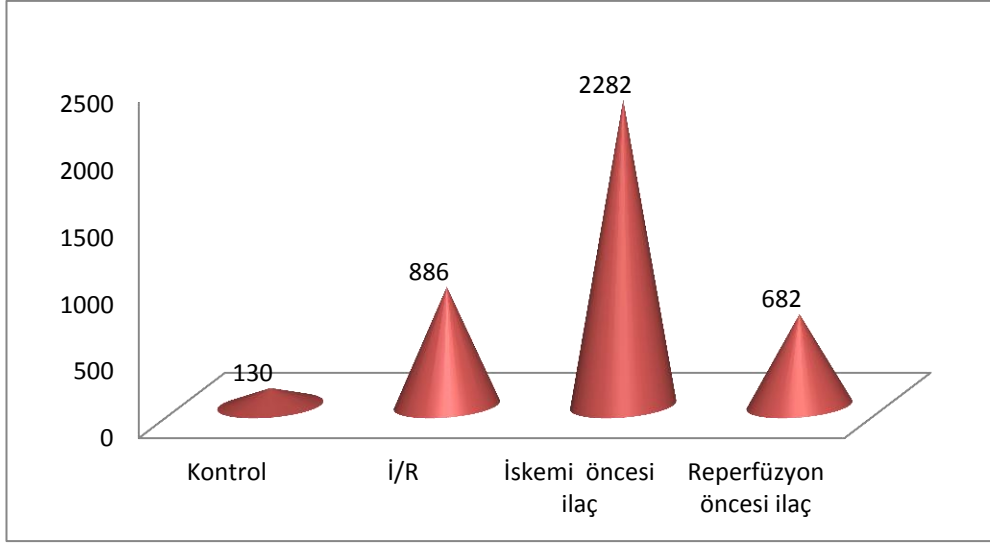
4.1.7. AST Ölçümü

Karaciğer ölçülen AST değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen AST düzeyi $130,1 \pm 20,4$ U/mg, İR grubunda ölçülen AST düzeyi $885,6 \pm 453,2$ U/mg, iskemi öncesi ESCİN grubunda ölçülen AST düzeyi $2282,3 \pm 1302,0$ U/mg ve reperfüzyon öncesi ESCİN grubunda ölçülen AST düzeyi $681,9 \pm 313,7$ U/mg olarak ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, diğer grupların AST değeri daha yüksek olup; bu yükseklik iskemi öncesi ESCİN grubunda en fazla iken, reperfüzyon öncesi ESCİN grubunda en düşüktü. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$) (Tablo 14, Şekil 9).

Tablo 14. Grupların AST Düzeylerinin Analizi

	N	Ort.±SD	Min-Max	F	P
Kontrol	8	$130,1 \pm 20,4$	107,0-168,0		
İR	8	$885,6 \pm 453,2$	358,0-1862,0		
İskemi öncesi escin	8	$2282,3 \pm 1302,0$	415,0-4202,0	13,418	<0,001
Reperfüzyon öncesi escin	8	$681,9 \pm 313,7$	371,0-1203,0		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 9. Grupların AST Düzeylerinin Analizi

AST düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 14’te verilmiştir. İR, iskemi öncesi ESCİN ve reperfüzyon öncesi ESCİN gruplarının AST düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$). İR grubunun AST düzeyi; iskemi öncesi ESCİN grubunun AST düzeyinden anlamlı olarak yüksek iken ($p<0,05$), reperfüzyon öncesi ESCİN grubununun AST düzeyiyle benzerdi ($p>0,05$). İskemi öncesi ESCİN grubunun AST düzeyi, reperfüzyon öncesi ESCİN grubununun AST düzeyinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,05$).

Tablo 15. AST Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

	Kontrol	İR	İskemi öncesi ESCİN	Reperfüzyon öncesi ESCİN
Kontrol	1	0,001	0,001	0,001
İR		1	0,016	0,294
İskemi öncesi ESCİN			1	0,006
Reperfüzyon öncesi ESCİN				1

4.1.8. LDH Ölçümü

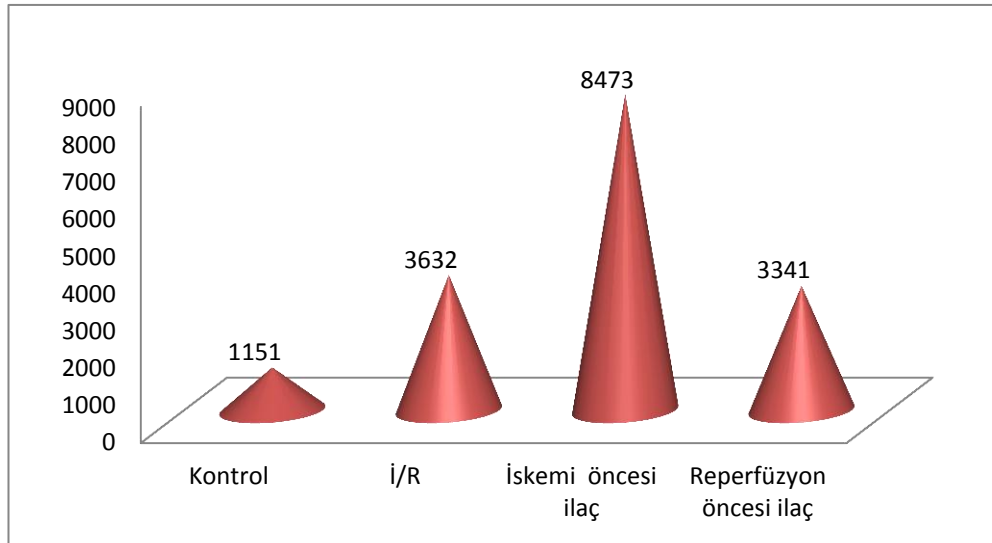
Karaciğer ölçülen LDH değerlerinin analizinde; kontrol grubunda ölçülen LDH düzeyi $1150,6\pm 288,9$ U/mg, İR grubunda ölçülen LDH düzeyi $3631,8\pm 2232,0$

U/mg, iskemi öncesi ESCİN grubunda ölçülen LDH düzeyi 4 8473,1±2676,1 U/mg ve reperfüzyon öncesi ESCİN grubunda ölçülen LDH düzeyi 3340,5±1494,3 U/mg olarak ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla, diğer grupların LDH değeri daha yüksek olup; bu yükseklik iskemi öncesi ESCİN grubunda en fazla iken, reperfüzyon öncesi ESCİN grubunda en azdı. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$) (Tablo 15, Şekil 8).

Tablo 16. Grupların LDH Düzeylerinin Analizi

	N	Ort.±SD	Min-Max	F	P
Kontrol	8	1150,6±288,9	723,0-1645,0		
İR	8	3631,8±2232,0	1537,0-8677		
İskemi öncesi ESCİN	8	8473,1±2676,1	2332,0-10000	21,105	<0,001
Reperfüzyon öncesi ESCİN	8	3340,5±1494,3	1692,0-6439		

Ort: ortalama, SD: standart sapma, Min: minimum, Max:maksimum



Şekil 10. Grupların LDH Düzeylerinin Analizi

LDH düzeyleri alt grupların karşılaştırılması Tablo 10'da verilmiştir. İR, iskemi öncesi ESCİN ve reperfüzyon öncesi ESCİN gruplarının LDH düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$). İR grubunun LDH düzeyi, iskemi öncesi ESCİN grubunun LDH düzeyinden anlamlı olarak düşük iken ($p<0,05$), reperfüzyon öncesi ESCİN grubununun LDH düzeyiyle benzerdi ($p>0,05$).

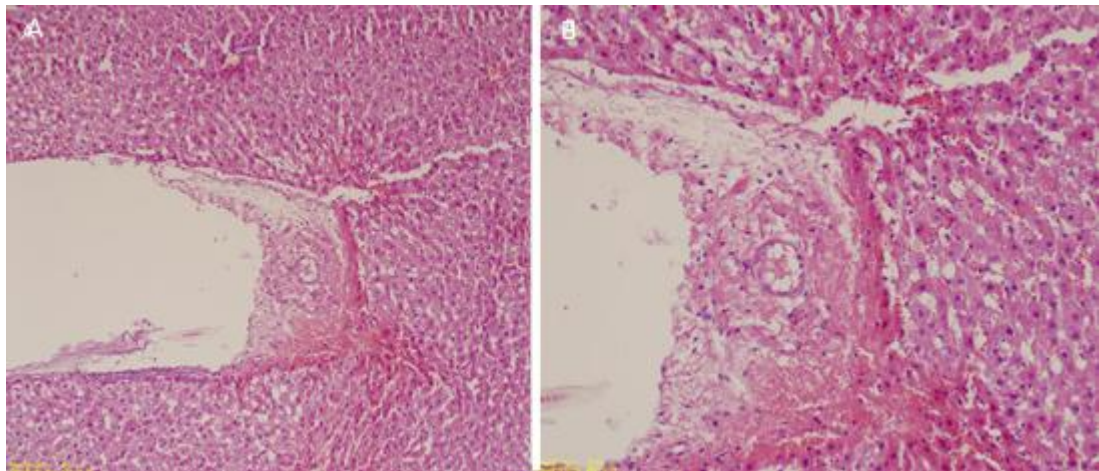
İskemi öncesi ESCİN grubunun LDH düzeyi, reperfüzyon öncesi ESCİN grubunun LDH düzeyinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,05$).

Tablo 17. LDH Düzeyleri Alt Grupların Karşılaştırılması

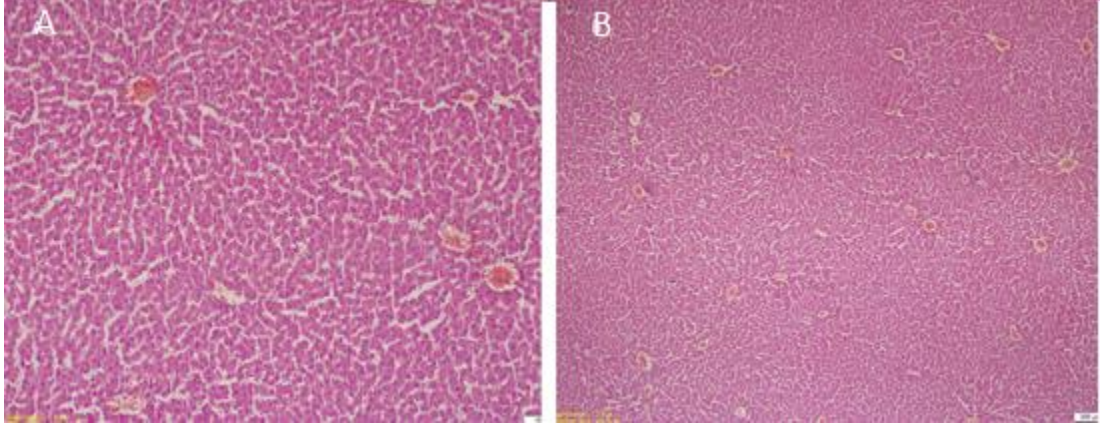
	Kontrol	İR	İskemi öncesi ESCİN	Reperfüzyon öncesi ESCİN
Kontrol	1	0,001	0,001	0,001
İR		1	0,006	0,916
İskemi öncesi ESCİN			1	0,006
Reperfüzyon öncesi ESCİN				1

4.2. Histopatolojik Bulgular

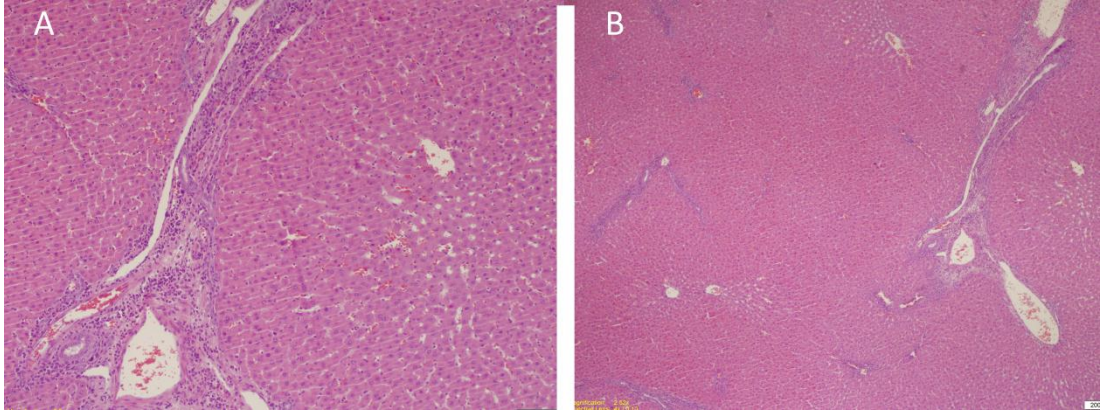
Kontrol grubunun karaciğerlerin histopatolojik incelemesinde, karaciğerlerin sinuzoid ve morfolojik yapısı normal izlendi. Karaciğer hücreleri, intakt ve santral venden periferik normal sinüzoidal dizilim göstermektedir. İR grubunda hepatositlerde şişme, hemoraji alanlar, sinüzoidlerde ve santral vende konjesyon saptandı (Resim 1). İskemi öncesi ilaç verilen grupta karaciğer hasarında azalma ile birlikte konjesyon alanları izlendi (Resim 2). Reperfüzyon öncesi ilaç verilen grupta ise, karaciğer morfolojik bulgular azalmış, bazı olgularda konjesyon ve portal alanlarda inflamasyon izlendi (Resim 3).



Resim 7. İR grubu (A: Hematoksilen&Eozinx100; b: Hematoksilen&Eozinx200)



Resim 8. İskemi öncesi escin verilen grupta azalmış hasar bulguları (A:Hematoksilen&Eozinx100; B: Hematoksilen&Eozinx40).



Resim 9. Reperfüzyon öncesi escin verilen grupta azalmış hasar bulguları (A:Hematoksilen&Eozinx100; B: Hematoksilen&Eozinx100)

İR grubunda 4 (%50) karaciğer dokusunda orta-ağır hasar, 4 (%50) karaciğer dokusunda hafif hasar olduğu görüldü. İskemi öncesi ilaç verilen grupta, 4 (%50) karaciğer dokusunda hafif hasar olduğu, 4 (%50) karaciğer dokusunda hasar oluşmadığı görüldü. İstatiksel olarak iskemi- reperfüzyon grubu, iskemi öncesi ilaç verilen gruba göre anlamlı derecede patolojikti ($p < 0,05$) (Tablo 11).

Tablo 18. İR ve İskemi öncesi escin'nin Histopatolojik Karşılaştırması

RAT	0 Hasar yok	1 Hafif hasar	2 Orta-ağır	3 Ağır	P
İR	0	4 (%50)	4 (%50)	0	
İskemi öncesi escin grubu	4 (%50)	4 (%50)	0	0	0,010

İR grubunda 4 (%50) karaciğer dokusunda orta-ağır hasar, 4 (%50) karaciğer dokusunda hafif hasar olduğu görüldü. Reperfüzyon öncesi ilaç verilen grupta 2 (%25) karaciğer dokusunda hafif hasar olduğu, 6 (%75) karaciğer dokusunda hasar oluşmadığı görüldü. İstatiksel olarak iskemi- reperfüzyon grubu, reperfüzyon öncesi ilaç verilen gruba göre anlamlı derecede patolojikti ($p<0,05$) (Tablo12).

Tablo 19. İR ve reperfüzyon öncesi escin 'nin Histopatolojik karşılaştırması

RAT	0 Hasar yok	1 Hafif hasar	2 Orta- ağır	3 Ağır	P
İR	0	4 (%50)	4 (%50)	0	
Reperfüzyon öncesi escin grubu	6 (%75)	2 (%25)	0	0	0,002

İskemi öncesi ilaç verilen grupta, 4 (%50) karaciğer dokusunda hafif hasar olduğu, 4 (%50) karaciğer dokusunda hasar oluşmadığı görüldü. Reperfüzyon öncesi ilaç verilen grupta 2 (%25) karaciğer dokusunda hafif hasar olduğu, 6 (%75) karaciğer dokusunda hasar oluşmadığı görüldü. Perfüzyon öncesi ilaç verilen grup ile, iskemi öncesi ilaç grubun patolojik açıdan benze olduğu saptandı ($p>0,05$) (Tablo 13).

Tablo 20. İskemi öncesi ve reperfüzyon öncesi escin'nin Histopatolojik karşılaştırması

RAT	0 Hasar yok	1 Hafif hasar	2 Orta- ağır	3 Ağır	p
İskemi öncesi escin grubu	4 (%50)	4 (%50)	0	0	
Reperfüzyon öncesi escin grubu	6 (%75)	2 (%25)	0	0	0,317

5. TARTIŞMA

İR hasarı dokunun geçici olarak kan akımının kesilmesi ve takiben kan akımının geri dönmesi sonucu ciddi bir inflamatuvar cevabın başlaması ile karakterize patolojik olaylar serisidir. Karaciğerde iskemiye neden olan olayların başında; karaciğer rezeksiyonu, travmaya bağlı karaciğer hasarı, hemorajik şok gelmektedir. Kan akımının kesilmesini takiben ortaya çıkan organ disfonksiyonun nedeni reperfüzyon sonrası meydana gelen hücre hasarı ve organ hassasiyetinin artmasıdır(35- 38). Günümüzde karaciğer hasarından sorumlu olan esas faktörün reperfüzyon sonucu oluşan değişiklikler olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Hasara neden olan faktörler; SOR, lökosit migrasyonu ve aktivasyonu, sinüzoidal endotelial hücre hasarı, mikrosirkülasyondaki düzensizlikler, koagülasyon sisteminin aktivasyonu ve kompleman sisteminin aktivasyonu olarak özetlenebilir.

İ/R hasarı oldukça kompleks bir mekanizmaya sahip olup ve karaciğer hasarında oksijenden türeyen serbest radikallerin hasarın temel nedeni olduğu düşünülmektedir.(39) Jaeschke ve ark.(40-41-42) karaciğer İ/R hasarının iki ayrı fazda olduğunu göstermiştir. Başlangıç fazı, reperfüzyonun ilk iki saatinde gerçekleşir ve kupffer hücrelerinin aracılık ettiği oksidatif stresle karakterizedir. Kupffer hücrelerinin ortama saldırdığı reaktif oksijen metabolitlerinin başlattığı inflamatuvar olaylar zinciri nötrfilleri aktive eder. Aktive olmuş nötrfiller ise endotel hücrelerine yapışarak myeloperoksidaz, elastaz, kollojenaz gibi çeşitli proteazlar ve SOR salıverirler ve hasarı daha da kötüleştirirler. Dawson ve ark.(43) hücre içinde en önemli SOR kaynağının mitokondri olduğunu ve O₂ radikalinin nötrofil aktivasyonunu uyararak hepatosit olumune yol açtığını göstermişlerdir. Geç fazda ise aktive kompleman komponentlerinin plazma düzeyi artar kompleman aktivasyon ürünleri olan anaflatoksinler ve membran atak kompleks komponentleri massif nötrofil infiltrasyonu ile karakterize olup reperfüzyon sonrası 12-24 saatlik zamanı kapsar. Sonuç olarak Serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleri hasar mekanizmasından sorumlu faktörlerdir.

Çalışmamızda karaciğer hilus blokajı (pringle manevrası) yapılarak İR hasarı oluşturuldu. Antiinflamatuvar antioksidan venoprotektif özellikleri olan escinin , bu hasar üzerindeki olası koruyucu etkileri incelenmiştir.

Escin hippocastanum (hippocastanaceae) bitkisinin tohum özlerinden oluşan bir bitkisel ilaçtır. At kestanesi ağacı olarak bilinen bu bitki çevre koşullarına oldukça dirençlidir. Tıpta kullanılan bitki kısımları gen dalların meyve tohumlarıdır(26), tohumların içinde bulunan beta escin molekülü antioksidan antiödematöz antiöksudatif ve vazoprotektif özelliklere sahiptir. Özellikle damarlardaki kalsiyum ve 5-ht molekülünün beta escine duyarlı olduğu çeşitli hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Klinikte en çok kullanım yeri kronik venöz yetmezlik olmakla birlikte akut yaralanmalar post operatif ileus hemoroid ve kozmetikte de kullanılmaktadır(26).

Escin iskemi sonrası reperfüzyona uğrayan dokularda damar endotelinde nötrofil aktivasyon inhibisyonu, iyon kanallarında geçirgenliğin azaltılması, kapiller tonus üzerine olan protektif etkileri ile hipoksi sonrası dokuda oluşan iskemi ve inflamatuvar olayları azalttığı düşünülmektedir. Escinin bu özelliklerinden yola çıkarak iskemi reperfüzyon hasarında karaciğer üzerindeki koruyucu etkilerini göstermeyi amaçladık.

İ/R hasarı sonrasında karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için değişik yöntemler kullanılabilirse de bugün için bunların en çok kabul gören ve en çok kullanılan AST, ALT, LDH aktivitesi tayinidir. Karaciğer hasarında bu enzimlerin aktivitesinin arttığı bilinmektedir.

Yabe ve ark.(44)karaciğerde İ/R sonucunda ALT ve AST düzeylerinin artırdığını ve bu artışın iskemi reperfüzyon sonucu oluşan serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasara bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yıldırım ve ark. (45) ise, ratlarda KC IR sonrası serum AST ve ALT değerlerinde artma gözlemlemişlerdir

Çalışmamızda KC hasarını gösteren AST ALT VE LDH değerlerinde İR grubu ile escin verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla

birlikte escin verilen gruplarda bu deęerler daha dūşük izlendi. Bu sonuç escinin doku hasarına karřı nispeten koruyucu etkisi olduęunu göstermektedir.

İ/R sonucu oluşan serbest radikallerin en önemli hedef yapılarından biri de lipidlerdir. Lipid peroksidasyonu bazı araştırmacılar tarafından İ/R hasarında anahtar olarak kabul edilmektedir(46) Serbest oksijen radikalleri çoklu doymamış yaę asitlerinden bir hidrojen atomu alarak lipid peroksidasyonunu başlatır ve sonucta hidroperoksitler oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda hucre membranı akışkanlığını yitirir ve membran bütünlüğü bozular. Eritrosit membranlarının, lipozomal membranların (özellikle hucre ve mitokondri) okside olması ile bu yapıların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişir. Membranın iyon geçirgenliği bozular. Eritrositlerde hemoliz olur. Boylece yaygın membran, organel ve hucre hasarı ortaya çıkar.Bu durum hücre fraksiyonlarının cevreye saliverilmesine ve hucre olumune yol acar. Dięer taraftan cevreye saliverilen bu subselluler yapılar inflamatuar olayları tetikler ve hasarı daha da kötüleştirir(47) Dokuda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak farklı metodlar kullanılmaktadır. Bu metodların en çok kullanılanlardan biri de dien konjugatları olan malondialdehit tayinidir. Bizim alışmamızda da .Serumda ölçülen MDA değerlerinde İR sonucunda artış gözlenirken, escin verilen gruplarda bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde dūřüř sağlanmıştır. Karacięer dokusunda değerlendirilen MDA, iskemi-reperfüzyon sonrası dokularda oluşan serbest oksijen radikallerine bağlı lipid peroksidasyon varlığını ve dolayısı ile hücre hasarını göstermektedir. Escinin antioksidan özelliği ile lipid üzerinde iskemi sonrası oluşan serbest radikaller ve lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri koruduğu sonucunu çıkarabiliriz.

KC İR hasarında yapılan histopatolojik incelemelerde hepatositlerde vakoulik dejenerasyon, hepatik kordonlarda ayrılma, hemoraji, belirgin hipereozinofili piknozis, nekroz, sinuzoidlerde genişleme gözlenir. Bu alışmada KC dokusunda oluşan histopatolojik hasar Sözen ve ark.larının çalışmasına benzer şekilde hepatositlerde vakuolizasyon, hipereozinofili, hepatositler arası bağlantılar, kanama, nekroz ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu değerlendirildi ve patolojik olarak skorlandı (29)

Çalışmamızda, kontrol grubunun doku örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde, hepsinin normal morfolojik yapıda olduğu görüldü. İR grubunda yapılan incelemede literatüre benzer şekilde hepatositlerde vakoulik dejenerasyon, hepatik kordonlarda ayrılma, hemoraji, belirgin hipereozinofili ve piknozis saptandı. escin verilen gruplarda, karaciğer doku örneklerinde, İR ile oluşan hasarın, escin uygulaması ile belirgin olarak azaldığı normal morfolojik görünüme yakın bir hal aldığı görüldü.

Tüm aerobik canlılar metabolizmaları sırasında fizyolojik olarak oksidatif strese maruz kalırlar. Vucutta oluşan H₂O₂, O₂ gibi serbest radikaller daha toksik metabolitlere dönüşerek özellikle DNA, lipidler ve proteinler gibi hedeflere saldırırlar ve metabolik olayları bozarlar. Ancak organizma bu reaktif ajanları notralize edebilen bir çok savunma mekanizmasına sahiptir. ‘Antioksidan savunma sistemi’ adı verilen bu sistemin en önemli komponenti glutatyondur. Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hucreyi oksidatif hasara karşı korumaktadır. Karaciğer İ/R hasarı boyunca hepatic GSH konsantrasyonunun hızla azaldığı gosterilmiştir. Bu durum GSH’un reaktif oksijen molekullerinin notralize edilmesi için kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Bir çok çalışmada eksojen verilen GSH’un hucre ici GSH seviyelerini artırdığı ve oksidatif hasarı engellediği gosterilmiştir. Glutasyon oksidatif yaralanmalarda major koruyucu etkilidir(48).

Zaidi ve ark. (49) sıçanların immobilizasyonunun beyinde oksidatif strese neden olduğunu, bunun ise SOD aktivitesindeki ve GSH düzeyindeki azalış ve lipit peroksidasyonundaki artış ile gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda İR grubunda GSH düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşme gözlenmiştir. Reperfüzyon öncesi escin verilen grupta, GSH değerlerinin yükseldiği ancak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. İskemi öncesi escin uygulanan grupta ise, GSH düzeyinde yükselme sağlanmakla beraber yine istatistiksel olarak anlam kaydedilmemiştir. Reperfüzyon öncesi escin uygulamasının, GSH seviyesini artırması, dokuyu iskemik hasardan koruduğu şeklinde yorumlandı.

Somuncu S ve ark. (50) tavşan over modeli üzerinde yaptıkları İR hasarında, CAT ve SOD enzim düzeylerinde azalma kaydetmişlerdir.

Çalışmamızda İR grubunda doku SOD düzeylerinde, kontrol grubuna göre literatüre paralel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Reperfüzyon öncesi escin uygulanan gruplarda SOD düzeyi ile İR grubu SOD düzeyleri benzer düzeyde tespit edilirken İskemi öncesi escin uygulamasının SOD seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselttiği görüldü.

Çalışmamızda İR grubunda CAT değerlerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Literatür çalışmaları bu azalmayı destekler niteliktedir. Reperfüzyon öncesi escin uygulanan gruplarda CAT düzeyi İR grubu CAT düzeylerinden yüksek olmakla birlikte anlamlı değildi. İskemi öncesi escin uygulamasının CAT seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselttiği görüldü.

SOD ve CAT sonuçlarına bakarak escinin karaciğer hücrelerini iskeminin olumsuz etkilerinden koruduğu yorumunu yapabiliriz.

6. SONUÇ

Karaciğer dokusunda oluşan İR hasarında serum biyokimyasal parametrelerden AST, ALT LDH ve MDA değerlerinde doku zedelenmesine bağlı olarak artış olduğu , oluşan serbest radikaller ve oksidanlar nedeniyle SOD, CAT ve GSH aktivitesinde belirgin azalma olduğu görülmüştür.

İskemiden önce ve reperfüzyondan önce escin uygulanması, dokuda oluşan hasarı azaltarak, AST, ALT LDH ve MDA değerlerinde azalma sağlamaktadır.

İskemiden önce ve reperfüzyondan önce escin uygulaması, özellikle iskemi öncesi escin uygulanan grupta oluşan hasarı azaltmakta ve SOR yıkımı için kullanılacak olan GSH, CAT ve SOD seviyelerini arttırmaktadır.

Escin antioksidan antiödematöz antiöksudatif ve vazoprotektif özelliklere sahiptir Klinikte en çok kullanım yeri kronik venöz yetmezlik olmakla birlikte akut yaralanmalar post operatif ileus hemoroid ve kozmetikte de kullanılmaktadır. Escinin karaciğerde İ/R hasarına karşı koruyucu etkilerini açıklamak için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte escinin antioksidan özelliğinin karaciğer hücreleri üzerinde iskemiyeye karşı korucuyu etkisi gösterilmekle beraber bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır..

7. KAYNAKLAR

1. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004;24: 468-475.
2. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993;14:165–175.
3. Carden DL, Granger DN. Paescinophysiology of ischemiareperfusion injury. *J Paescinol*, 2000;190: 255–266.
4. Manson PN, Anescinenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. Escine role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983;198:87–90.
5. Knight KR, Angel MF, Lepore DA et al. Secondary ischaemia in rabbit skin flaps: escine roles played by escinromboxane and free radicals. *Clin Sci* 1991;80:235–240.
6. Morris SF, Pang CY, Zhong A, Boyd B, Forrest CR. Assessment of ischemia-induced reperfusion injury in escine pig latissimus dorsi myocutaneous flap model. *Plast Reconstr Surg* 1993;92:1162–1172.
7. Horton J. W., Walker P. B.: Oxygen radicals, lipid peroxidation, and permeability changes after intestinal ischaemia and reperfusion. *J. Appl.*, 74: 1515-1520, 1993.
8. Bilbao G., Contreras J. L., Eckhoff D.E. et al.: Reduction of ischemia-reperfusion injury of escine liver by in vivo Adenovirus-mediated gene transfer of escine antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Syrg.*, 230: 185-193, 1999.
9. Weight S. C., Bell P. R. F., Nicholson M. L.: Renal ischemia-reperfusion injury *Br. J. Surg.*, 83: 162-170, 1996.
10. Collard C.D., Gelman S.: Phatophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anest.* 94: 1133-1138, 2001
11. Carden D. L., Granger D. N.: Phatophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J. Paescinol.*, 190: 255-66, 2000.

12. Chamoun F., Burne M., O' Donnel M., Rabb H.: Paescinophysologic role of selectins and escineir ligands in ischemia reperfusion injury. *Front. Biosci.* 5: E103-E109, 2000.
13. Serracino Inglott F, Habib NA, Maescinie RT, Hepatic ischemia reperfusion injury. *Am J Surg*, 181:160-166, 2001
14. Chamoun F., Burne M., O' Donnel M., Rabb H.: Paescinophysologic role of selectins and escineir ligands in ischemia reperfusion injury. *Front. Biosci.* 5: E103-E109, 2000.
15. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion Part II: Tissue Injury. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*. *Norol Bil D* 2000;17:2.
16. Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury. *J Hepatol* 2000;32(1 Suppl):39-47.
17. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284(1):G15-26.
18. Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: paescinogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18(8):891-902.
19. Shinoda M, Shimazu M, Wakabayashi G, Tanabe M, Hoshino K, Kitajima M. Tumor necrosis factor suppression and microcirculatory disturbance amelioration in ischemia/reperfusion injury of rat liver after ischemic preconditioning. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17(11):1211-9.
20. Nadig SN, Periyasamy B, Shafizadeh SF, Polito C, Fiorini RN, Rodwell D, et al. Hepatocellular ultrastructure after ischemia/reperfusion injury in human orescinotopic liver transplantation. *J Gastrointest Surg* 2004;8(6):695-700.
21. Kremer AE, Rust C, Eichhorn P, Beuers U, Holdenrieder S. Immune-mediated liver diseases: programmed cell deaescin ligands and circulating apoptotic markers. *Expert Rev Mol Diagn* 2009;9(2):139-56.
22. Ayaşlıoğlu E. [Apoptosis]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2001;21(1):57-62.
23. Neuman MG. Apoptosis in diseases of escine liver. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2001;38(2):109-66.

24. Rüdiger HA, Graf R, Clavien PA. Liver ischemia: apoptosis as a central mechanism of injury. *J Invest Surg* 2003;16(3):149-59.
25. Zhao Y, Li S, Childs EE, Kuharsky DK, Yin XM. Activation of pro-apoptotic Bcl-2 family proteins and mitochondria apoptosis pathway in tumor necrosis factor- α -induced liver injury. *J Biol Chem* 2001;276(29):27432-40.
26. Lorenz D, Marek ML. Das escintherapeutische wirksame Prinzip der Rosskastanie (*Aesculus hippocastanum*). *Arzneim-Forsch* 1960; **10**: 263–72.
27. Bombardelli E, Morazzoni P. *Aesculus hippocastanum* L. *Fitoterapia* 1996; **67**: 483–511.
28. Kobayashi ST, Kitazawa T, Somlyo AV *et al*. Cytosolic heparin inhibits muscarinic and α -adrenergic Ca^{2+} release in smooth muscle. *J Biol Chem* 1989; **264**: 17997–8004.
29. Sözen S, Kısakürek M, Yildiz F, Gönültaş M, Dinçel A S. Escine effects of glutamine on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *HIPPOKRATIA* 2011, 15, 2: 161-66.
30. Beuge J.A., Aust S.D.: Microsomal lipid peroxidation. *Meescinods. Enzymol.* 52: 302-3113 1978
31. Aebi H. Catalase In: Bergmeyer U, ed. *Meescinods of enzymatic analysis*. New York and London Academic Press. 1974, 673-77.
32. Beutler E.: *Glutaescinone in red blood cell metabolism. A manual of biochemical meescinods*, Grune&Stratton, New York: 112-114, 1975.
33. Sun Y, Oberley LW, Ying L: A simple meescinod for clinical assay of superoxidodismutase. *ClinChem* 1988; 34: 497-500.

34. Durak I, Yurtaslan Z, Canbolat O, Akyol O. A microscopical approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta* 1993; 214:103-104.
35. Escinorsten G. Lehmann, Escinomas A. Koepfel, Steffen Münch, Michael Heger, Michael Kirschfink, Ernst Klar and Stefan Post. Impact of Inhibition of Complement by sCR1 on Hepatic Microcirculation after Warm Ischemia, *Microvascular Research* 62:284-292, 2001
36. Huguet C, Gavelli A, Chieco PA. Liver ischemia for hepatic resection : where is the limit? *Surgery* 111:251-259, 1992
37. Pachter HL, Spencer FC, Hofstetter SR, Liang HG, Copia GF. Significant trend 1992-500, 1999s in the use of escine treatment of hepatic trauma: Experiences with 411 injuries. *Ann Surg.* 215:4
38. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, Post S, Menger MD, Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia reperfusion. *Am J Physiol*, 145:1421-1431, 1994
39. Hasselgren P. O.: Prevention and treatment of ischemia of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 1987, 164: 187-196
40. Jaeschke H.: Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver. *Chem. Biol. Interact.*, 79: 115-136, 1991.
41. Jaeschke H., Smiescin C. W., Mitchell J. R.: Reactive oxygen species during ischemia/reperfusion injury in isolated perfused rat liver. *J. Clin. Invest.*, 81: 1240-1245, 1988.
42. Jaeschke H., Farhood A.: Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am. J. Physiol.*, 260: G355-G362, 1991.

43. Dawson T. L., Gores G. J., Nieminen A. L., Herman B., Lesmasters J. J.: Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.*, 264: C961-C967, 1993.
44. Yabe Y., Kobayashi N., Nishihashi T., Takahashi R., Nishikawa M., Takakura Y., Hashida M.: Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia-reperfusion injury by Superoxide dismutase and Catalase derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Esciner.*, 298: 894-899, 2001
45. Yildirim S, Tok H, Koksall H, et al. Allopurinol plus pentoxifilline in hepatic ischaemia/reperfusion injury. *Asian J Surg* 2002;25:149.
46. Tappel A. L.: Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.*, 32: 1870-1874, 1973.
47. Jaeschke H., Smiescin C. W., Clemens M.G., Ganey P. A., Roescin R. A.: Mechanism of inflammatory liver injury: adhesion molecules and cytotoxicity of neutrophils. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 139: 213-226, 1996
48. Mandel G. L.: ARDS, neutrophils and pentoxifylline, *Am.Rev.Respir. Dis.* (1998) 138
49. Zaidi SM, Al-Qirim TM, Banu N. Effects of antioxidant vitamins on glutathione depletion and lipid peroxidation induced by restraint stress in rat liver. *Drugs R D* 2005; 6(3): 157-65
50. Somuncu S, Cakmak M, Dikmen G, et al: Ischemia-reperfusion injury of rabbit ovary and protective effect of trapidil. An experimental study. *Pediatr Surg Int.* , 2008; 24:315-18.

8. ÖZGEÇMİŞ

10 Ekim 1980 yılında Malatya’ da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi 1986-1997 yılları arasında Adıyaman’ da tamamladım. 1997 yılında Adıyaman Samsat Lisesi’ nden mezun olduktan sonra 1999 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi’ ni kazandım. 2006 yılında mezun olarak, 2007 yılına kadar kamu kuruluşlarında pratisyen hekimlik yaptım. 09 Temmuz 2010 tarihinde Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı’ nda asistan doktor olarak göreve başlamış olup halen bu görevimi sürdürmekteyim.

Dr. Uğraş DABAN