

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

**DENEYSEL TIKANMA SARILIĞI MODELİNDE
CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER'İN
AKCİĞER HASARINI ÖNLEMEDEKİ ETKİNLİĞİ**

Dr. BİLAL ÇELİKBAŞ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yrd.Doç. Dr. İBRAHİM BARUT

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
1363-TU-06 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2007 – ISPARTA

ÖNSÖZ

Bu tezde, antiinflamatuvar, antioksidan özellikleri olan ve iskemi ve reperfüzyon, sepsis başta olmak üzere değişik modellerde çalışılmakta olan CAPE'nin, tıkanma sarılığında akciğer hasarını önlemedeki etkinliği araştırılmıştır.

Doğduğum günden bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anne ve babama, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında çalışmaya başladığım andan bugüne kadar geçen süre içinde her türlü yardımı benden esirgemeyen ve bu tezin hazırlanmasında değerli katkıları olan saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. İbrahim Barut' a, Genel Cerrahi Anabilim Dalındaki çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım saygıdeğer hocalarım başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Mahmut Bülbül olmak üzere, Prof. Dr. Nihat Kaymakçioğlu, Doç. Dr. Hasan Erol Eroğlu, Yrd. Doç. Dr. Ömer Rıdvan Tarhan, Yrd. Doç. Dr. Celal Çerçi'ye, bu tezin hazırlanmasında değerli katkılarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı başkanı Doç. Dr. Nilgün Kapucuoğlu, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Recep Sütcü'ye, asistanlık sürem içinde geçirdiğim acı ve tatlı anları paylaştığım asistan dostlarıma, değerli yardımlarını esirgemeyen Genel Cerrahi Anabilim Dalı çalışanlarına ve hayatta herşeyi paylaştığım eşim Ayşe ve kızım Zeynep Çelikbaş'a teşekkürü borç bilirim.

Dr. Bilal ÇELİKBAŞ

SİMGELER VE KISALTMALAR

TS	: Tıkanma sarılığı
ARDS	: Akut Respiratuvar Distres Sendromu
GSH_Px	: Glutasyon peroksidaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
MDA	: Malondialdehid
CAT	: Katalaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAPE	: Caffeic acid phenethyl ester
TNF- α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
NF-κB	: Nukleer faktör kapa- β
NAC	: N-Asetil sistein
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
GIS	: Gastrointestinal sistem
AC	: Akciğer
SDÜAF	: Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	2
Simgeler ve kısaltmalar.....	3
<u>1.GİRİŞ</u>	6
<u>2.GENEL BİLGİLER</u>	9
2.1 Tıkanma Sarılığı.....	9
2.1.a Tıkanma Sarılığı Nedenleri.....	11
2.1.b Tıkanma Sarılığı, Endotoksemi ve Akciğer Hasarı.....	13
2.1.c CAPE.....	14
2.1.d CAPE ve Oksidan Stres.....	15
<u>3.MATERYAL VE METOD</u>	18
3.1 Anestezi ve Cerrahi İşlem.....	18
3.2 Tedavi.....	19
3.3 Örneklem.....	19
3.4 Değerlendirme.....	20
3.4.a Biyokimyasal Değerlendirme.....	20
3.4.b Patolojik Değerlendirme.....	20
3.5 İstatistiksel Analiz.....	21
<u>4. BULGULAR</u>	22
4.1 Biyokimyasal Bulgular.....	22
4.1.a Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).....	22
4.1.b Myeloperoksidaz (MPO).....	23

4.1.c Malondialdehit (MDA).....	24
4.1.d Katalaz.....	25
4.1.e Süperoksit Dismutaz (SOD).....	26
4.2 Histopatolojik Bulgular.....	27
<u>5.TARTIŞMA</u>.....	30
<u>6.SONUÇLAR</u>.....	34
<u>7.ÖZET</u>.....	35
<u>8.SUMMARY</u>.....	36
<u>9.KAYNAKLAR</u>.....	37

1.GİRİŞ

Tıkanma sarılığı (TS) operatif teknikler ve etkin antibiyotiklerdeki gelişmelere karşın, pek çok sisteme olumsuz yönde etkileri olması, sık görülmesi ve yüksek morbidite ve mortalite oranları olması nedeniyle Genel Cerrahi ve Gastroenteroloji'nin en önemli problemlerinden biridir. Kardiyovasküler disfonksiyon, periferik vazokonstriksiyon, gastrointestinal kanama, koagülopati, renal ve hepatik disfonksiyon ve sepsis bu morbidite ve mortaliteye etki eden major komplikasyonlardandır (1) .

Tıkanma sarılığı bulunan hastalarda uygulanan cerrahi girişimlerden sonra, yara iyileşmesinde gecikme gibi minör sorunların yanı sıra renal yetmezlik ve multiorgan yetmezliği gibi ağır komplikasyonlar da hastaların hayatını tehdit etmektedir. Bu komplikasyonların gelişiminde bakteriyel translokasyon ve endotokseminin önemli rolünün olduğu bilinmektedir (2).

Tıkanma sarılığındaki fizyopatolojik değişikliklerin oluşmasında önderlik eden endotoksemi; monositler, makrofajlar gibi immün cevapta etkili hücreleri ve endotelial hücreleri aktive ederek bir çok sitokinlerin üretimini artırır. Böylece kontrol edilemeyen inflamatuvar sürece, multiorgan disfonksiyonuna, respiratuvar distress sendromuna ve ölüme neden olur (3, 4, 5).

Tıkanma sarılığı oluşturulmuş deney hayvanlarında doku hasarının patogenezinde en önemli etkiyi oluşturan sebepler lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumudur (6). Ana safra kanalı bağlanmış deney hayvanlarında serbest oksijen radikallerini ortamdaki uzaklaştıran glutatyon, katalaz ve superoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır, böylece serbest oksijen radikallerinin

oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar (7). Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur. Serbest oksijen radikallerinin tespit edilen kaynakları hypoxanthine/xanthine oxidase sistemi ve nötrofillerdir. Aktive olmuş polimorfonükleer lökositler; serbest oksijen radikalleri, araşidonik asit ürünleri ve elastaz gibi proteolitik enzimler salgırlar (8, 9).

Rahman ve MacNee 'ye göre aktive olmuş ve küçük hava yollarında birikmiş olan inflamatuvar hücreler reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını artırırken bu radikallerin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayan faktörleride azaltır. Böylece akciğer hasarını ve fibrozisini gerçekleştirir (10).

Serbest oksijen radikallerinin çoğu hastalıkların primer sebebi olmasalar da patogenezlerinde rol oynayabilir ve doku hasarını artırırlar. Bununla birlikte antioksidanlar klinik kullanıma girmiştir. Serbest Oksijen radikalleri ile ilişkili tek, multiorgan tutulumu olan birçok hastalık tanımlanmıştır. Erişkin tipi solunum zorluğu sendromunda (ARDS) alveolar epitel hasarı, mikrosirkülatuvar hasar ve alveolar-interstisyel ödem önemli özelliklerdir. Erken dönemde nötrofil geç dönemde mononükleer hücre infiltrasyonu sonucunda bu hücrelerden açığa çıkan serbest oksijen radikalleri ARDS' den sorumlu tutulmaktadır (11).

Akaike ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada influenza virus enfeksiyonunda süperoksit dismutaz (SOD) enziminin nötrofiller ve xantin oksidaz enzimi tarafından oluşturulan doku hasarını önleyerek mortaliteyi azaltığını göstermişlerdir (12).

Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, karsinostatik ve immunomodulator spesifik bir propolis bileşenidir (13) .

Bugüne kadar TS’ da oluşan karaciğer, böbrek, kalp gibi organların hasarlarını tespit etmeye ilişkin birçok çalışma yapılmış olup akciğer hasarı üzerine olan çalışmalar kısıtlıdır. TS fizyopatolojisinde akciğer hasarının gelişiminde etkili olan faktörlerin tanımlanması ve CAPE ile bu hasarın önlenip önlenemeyeceğinin belirlenmesi amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1- TIKANMA SARILIĞI:

Sarılık: Deride, skleralarda ve dokularda ortaya çıkan ve dolaşımdaki bilirubin miktarının fazlalığına bağlı olarak ortaya çıkan renk değişimidir. Tıkanma sarılığı ise; safra ağacının herhangi bir seviyesinde çeşitli patolojilere bağlı gelişen tıkanıklık sonucu safra akımının durması veya yavaşlamasına bağlı olarak ortaya çıkan klinik tablodur (14).

Sarılıklı hastalarda serum bilirubin düzeyi 2-3 mg/dl'nin üzerine çıktığında deri ve skleralardaki sararma klinik olarak görülür hale gelir. Sarılığın yoğunluğu ve hiperbilirubineminin derecesi, plazmadan hücreler arası sıvıya difüzyon hızı ve pigmentin dokularda bağlanması gibi pekçok faktöre bağlıdır (14).

Bilirubin: Hemoglobin molekülünün, demir ihtiva eden, protein olmayan kısmı 'hemin bir parçalanma ürünüdür. Bilirubinün yaklaşık %75'i eritrositlerin yıkımı sonucunda ortaya çıkar. Geride kalan bilirubin ise karaciğerdeki hemoglobin dışı hem proteinlerinden ve daha az olarak da kemik iliğinde matür olmayan eritrositlerin yıkımından elde edilir. Kaynağı ne olursa olsun karaciğer dışında oluşan bilirubin büyük oranda albumine bağlanır ve karaciğere gelir. Normal bilirubin metabolizması dokuz safhada incelenir. Bunun önemi, bu safhaların herhangi bir aşamasında defekt bulunması, sarılıkla birlikte olan hastalıklara yol açmalarıdır.

Bilirubin metabolizması:

1-Retikuloendotelial hücreler ve karaciğerde Hem'in katabolizması ile konjuge olmamış bilirubin teşekkülü

2-Plazmada albumine bağlı bilirubinün serbest hale gelmesi

3-Sinüzoidal membranlarda (disse mesafesinde) albuminden ayrıldıktan sonra bilirubinün hepatik uptake'i

4-Sitozolda depolanma, 'ligandin' ve 'z protein'ine bağlanma

5-Bilirubinün konjugasyonu (monoglukuronid ve diglukuronid teşekkülü)

6-Kanaliküller içerisine konjuge bilirubin'in sekresyonu

7-Konjuge bilirubinün safra ağacından geçişi

8-Konjuge olmamış bilirubin ve ürobilinojen'in enterohepatik sirkülasyonu

9-Ürobilinojen ve konjuge bilirubinün böbrekten itrahi

Bilirubin normalde karaciğer tarafından alınır ve suda eriyen konjuge bilirubin haline çevrilir. Safra sistemi ile barsağa gelen konjuge bilirubin burada bulunan bakteriler tarafından dekonjuge edilir ve redüksiyona tabi tutularak ürobilinojene çevrilir. Ürobilinojen ve bir miktar değişmemiş bilirubin, gaita ile birlikte atılır. Az bir kısmı ise absorbe olup dolaşıma geçer ve karaciğere ulaşarak safra pigmentlerinin enterohepatik sirkülasyonunu teşkil eder (14).

Hepatik safra oluşumu: Kanaliküler lümene göreceli olarak geçiş serbestileri olmayan maddelerin, aktif sekresyonu ile ozmotik açıdan aktif maddelerin lümende birikmesi sonucu sağlanan ozmotik basınç farkı, kanaliküler membrandan ve sıkı-bileşkelere (tight junctions) su ve elektrolitlerin de lümene geçmesine neden olmaktadır. Safra asitlerinin ve bunların bileşiklerinin aktif sekresyonu, çalışılan tüm canlı türlerinde kanaliküler safra akımının en azından % 40-50'sinden sorumlu

tutulmaktadır. Ancak, safra asitlerinin yokluğunda sıvı sekresyonunun (safra asitlerinden bağımsız safra akımı) mekanizması kesin olarak bilinmemekte ve çeşitli varsayımlar ileri sürülmektedir. Bu bağlamda, bir seri endojen organik maddenin ve inorganik iyonun aktif transportunun etkili olduğu ileri sürülmüştür. Ancak, hepatosellüler inorganik elektrolit sekresyonunun kanaliküler safra oluşumunun sürdürülmesinde etkili bir kuvvet olmadığına dair çalışmalar da vardır (14). Yeni çalışmalarda, safra asitlerinden bağımsız, safra akımından sorumlu maddelerden birinin de glutatyon olduğu ileri sürülmektedir. Özel bir taşıyıcı aracılığıyla olan bir mekanizma sayesinde bu tripeptit, göreceli olarak yüksek konsantrasyonlarda kanaliküler safraya salgılanmaktadır. Safraya glutatyon sekresyon hızı ile safra akımı arasında bir bağıntı olduğu gösterilmiştir (14). Ratlarda yapılan bir çalışmada; hepatic safra salgılanması bağlamında glutatyonun ozmotik bir etki gösterdiği, safra akımı sağladığı sonucuna varılmıştır. İzole perfüze rat karaciğerlerindeki değerler göz önüne alındığında, glutatyon sekresyonunun total safra akımının yaklaşık %26' sını sağladığı hesaplanmıştır. Bu sonuca göre, biliyer glutatyon atılımında ortaya çıkacak bir artış safra akımında da artışa yol açacaktır (14).

2.1.a- Tıkanma Sarılığının Nedenleri

Tıkanma sarılığı konjenital ve çeşitli akkiz patolojilere bağlı olarak ortaya çıkabilir (15).

Konjenital Nedenler:

- Safra kanalı agenezisi, hipoplazisi veya stenozu
- Koledok ve pankreas duktusları-duodenum birleşim anomalileri
- Koledok kisti, koledokosel

Akkiz Nedenler:

*** Safra Taşları:**

- Koledok veya hepatik safra kanallarında
- Safra kesesinde (Mirizzi sendromu)

*** Neoplazmlar:**

- Safra kanalları, pankreas, duodenum, ampulla, safra kesesi veya karaciğerin primer tümörleri
- Safra kanallarını komprese eden veya direkt olarak invaze eden sekonder tümörler

*** Striktürler:**

- Postoperatif (İatrojenik)
- Kronik pankreatit ile ilişkili
- Posttravmatik
- Ampuller stenoz ile ilişkili
- Sklerozan kolanjite bağlı (primer veya sekonder)
- Bilioenterik anastomoz disfonksiyonu
- İdiyopatik

*** Diğer nedenler:**

- Parazitler
- Arteryel anevrizmalar
- Duodenum divertikülleri

2.1.b- Tıkanma Sarılığı, Endotoksemi ve Akciğer Hasarı:

Tıkanma sarılığında endotoksemi gelişiminde iki etkenin katkısı olduğu varsayılmaktadır (16).

Birincisi, sindirim kanalında safra tuzlarının normalde sağladıkları anti-endotoksin etkinin yokluğuna bağlı olarak kalın barsaklarda oluşan büyük endotoksin havuzundan portal dolaşıma endotoksin emilmesidir (16).

İkincisi ise; tıkanma sarılığında hepatik kupffer hücrelerinin fagositik işlevinin bozulması nedeni ile barsaklardan kaynaklanan endotoksin'in sistemik dolaşıma kaçmasıdır (17). Ortaya çıkan sistemik endotoksemi, sonuçta organ işlevlerinin bozulmasına neden olacak şekilde inflamatuvar yanıtı aktive eder. Plazma bilirübin düzeyi yüksek veya düşük olan (200 mmol/L) hastalar arasında portal endotoksin düzeyi açısından anlamlı fark bulunamamışsa da, sistemik endotoksemi bilirübin düzeyi yüksek olanların %55'inde saptanırken düşük olanların ise yalnızca %11'inde saptanabilmiştir. Endotoksin'in barsaktan kaynaklandığını telkin edecek şekilde portal endotoksemisinin (%38-67) bazen sistemik endotoksemiden (%35-45) daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu varsayımı temel alan tedavi yollarında; taurokolat, Na-deoksikolat ve Na-kenodeoksikolat gibi safra asitlerinin oral replasmanı denenmiş, sonuçta bu ajanların barsaklardan portal dolaşıma endotoksin emilmesini engellediği saptanmıştır. Deneysel TS' nda bakteriyel translokasyon sıklığı koledok bağlanmasından 3-7 gün sonra %33, 2 hafta sonra ise %47'dir. Obstrüksiyonun kendisinden ziyade, barsak lümeninde safra yokluğu bakteriyel translokasyonun nedeni gibi görünmektedir (18).

Tıkanma sarılığı, ratlarda pulmoner intravasküler fagositozu ve endotoksin sensitivitesini arttırır.Chang ve Ohara'nın yaptığı bir çalışmada tıkanma sarılığı olan ratların akciğer parankiminde pulmoner kapillerlerde latex partikülü içeren büyük

mononükleer makrofaj benzeri hücreler saptanmıştır. Tıkanma sarılığı olan bu ratlarda pulmoner inravasküler fagositozun arttığı, akciğer ödeme neden olduğu, bunun da sarılıklı hastalarda sepsis ve ARDS ye yatkınlığa sebep olduğu bildirilmektedir (19).

Özdülger ve ark.'nın (20) yaptığı bir çalışmada; çekum ligasyonu ve ponksiyonu sonrası sepsis modelinde meydana gelen akciğer apopitotik hasarında, bir antioksidan olan NAC (N-Asetil Sistein)'in koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla akciğer dokusunda MPO ve MDA seviyeleri nitrit /nitrat seviyeleri ölçülmüştür. Sonuç olarak antioksidan olan NAC' ın endotoksemi ve sepsisli ratlarda akciğer dokusunda lipit peroksidasyonu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ettiği, akciğer histopatolojisini koruduğu tespit edilmiştir (20). Bu çalışma ve diğerleri rehber alınarak TS ve endotoksinemi sonrasında bir antioksidan olan CAPE' nin akciğer hasarı üzerine etkinliğinin araştırılması için akciğer dokusunda MPO, MDA, Katalaz, SOD, GSH-Px bakılması planlandı.

2.1.c CAPE

CAPE, bal arısı tarafından yapılan balda bulunan ve antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral, antikanser, antiapoptotik, immunmodulatuvar özellikleri daha önceki çalışmalarda ispatlanmış, flavonoid benzeri yapıda bir bileşiktir (21). Kafeik asitte olmayan bu özellikler CAPE'nin lipofilik olması ve dolayısıyla hücre membranlarından daha kolay geçebilmesine bağlanmıştır (22). İnsan vücudundaki normal hücrelere karşı bilinen hiçbir zararlı etkisi bulunmamaktadır. Halk arasında, sık tüketimi olan ve sağlığa yararlı özellikleri uzun yıllardan beri bilinen ancak üzerine bilimsel çalışmaların başlaması uzun zaman alan bir bileşiktir. CAPE intraperitoneal uygulandığı zaman yeterli kan konsantrasyonuna ulaşmaktadır. CAPE, kafeik asit ve fenetil alkol üzerinden asit ile esterifikasyon ile kimyasal olarak da üretilmektedir. Canlılar üzerindeki bu olumlu etkileri çeşitli faktörlere dayandırılabilir. CAPE, 10 mikromol/kg konsantrasyonda ksantin-ksantin oksidaz sistemini ve reaktif serbest

oksijen radikali oluşumunu bloke etmektedir (23). Bu durum, yapılan birçok çalışmada poliansature yağ asitlerinin oksidasyonuna sekonder olarak oluşan serum malondialdehit düzeyini anlamlı ölçüde düşürmesi ile doğrulanmaktadır (23). CAPE'nin protein tirozin kinaz, siklooksigenaz (non-spesifik olarak) ve lipooksigenaz aktivitesini baskıladığı ve böylece lipid peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir (24). CAPE, antioksidan özelliğini zincirinde bulunan iki hidroksil grubu ile sağlamaktadır. CAPE'nin antiinflamatuvar etkinliği yapılan çalışmalarda diklofenak ve hidrokortizon ile eşdeğer bulunmuştur (25).

Nükleer faktör kappa B (NF-κB), rel mutagen ailesine bağlı bir transkripsiyon faktörüdür ve immünite ve inflamasyon yolağında rol oynayan pek çok geni aktive etmektedir (26). NF-κB'nin regülasyonunda bozulma graft versus host hastalığı, toksik şok, kanser ve akut inflamatuvar hastalıklar gibi birçok patolojide rol oynar. Ayrıca apoptozis yolağında önemli bir ajandır (27). NF-κB proteinleri sitoplazmada inaktif olarak bulunmaktadır. Aktivasyon bakteriyel yapı taşları, oksidatif stres ve protein sentez inhibitörleri ile olmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri, NF-κB için ikincil haberci rolü oynamaktadır (28). CAPE, özgül olarak NF-κB'yi bloke ederek ve oksijen radikallerini bloke ederek başta Tumor Nekrozis Faktör alfa (TNF-α) olmak üzere birçok inflamatuvar ajanları bloke etmektedir. CAPE'nin glukokortikoid reseptör yolağından bağımsız olarak inflamatuvar hücrelerde apoptozisi önlediği de gösterilmiştir (28).

2.1.d. CAPE VE OKSİDAN STRES:

Reaktif oksijen radikalleri, başlıca araşidonik asit metabolizmasından, ksantin oksidaz sisteminden ve aktive olmuş nötrofillerden oluşur. Reaktif serbest oksijen radikalleri (başlıca hidroksil radikal ve superoksit anyon), membran lipidlerinin

oksidasyonuna, protein denaturasyonuna, DNA bozulmasına ve sülfhidril enzim inaktivasyonuna yol açar. Bu durum membran geçirgenliğini arttırarak protein ve nükleik asit yıkımına ve en sonunda hücrenin yıkımına yol açar. En önemli serbest radikaller superoksit, hidroksil ve peroksil radikalleridir (29). Serbest radikaller genelde kararsız yapıdadırlar, hızlı şekilde indirgenirler. Bu hasarı önlemek amacıyla vücutta çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır; bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan şekilde ikiye ayrılabilir.

a) Enzimatik savunma mekanizmaları:

- 1- Glutasyon Peroksidaz
- 2- Katalaz
- 3- Superoksit Dismutaz

b) Enzimatik olmayan savunma mekanizmaları

- 1- Tokoferoller
- 2- Karotenler
- 3- Ubiquinol
- 4- Glutasyon
- 5- Askorbik asit

Lipid peroksidasyonunun ilk ürünleri hidroperoksitlerdir; bunlar aldehitlere veya başlangıçtaki madde araşidonik asit ise izoprostanlara çevrilir. **Malondialdehid (MDA)**, bütün bu reaksiyonların (serbest oksijen radikallerinin ansature yağ asitlerini denature etmesi) bir son ürünüdür (29).

Glutasyon peroksidaz serbest radikallerin toksik etkilerine karşı en önemli enzimdir. Serbest radikalleri yakalayabilir, sülfhidril gruplarını stabilize eder ve hidrojen peroksiti indirger.

Superoksid Dismutaz, superoksid serbest radikalini, iki hidrojen iyonu ile reaksiyona sokarak hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür.

Katalaz, hücre içinde, peroksizomlar içinde yer alan bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksidi, su ve oksijene dönüştüren reaksiyonu katalizler.

Myeloperoksidaz: Serbest oksijen radikalleri hem dokuya doğrudan zarar vermekte hem de PMN lökositlerin hasarlı dokuda birikmesini sağlamaktadır. Nötrofil ve monositler primer lizozomal granüllerinde bir Hem enzimi olan myeloperoksidaz (MPO) ihtiva ederler. Nötrofiller dolaşımda bulunan PMNL lerin %90' ından fazlasını oluşturular. Kompleman fragmanları, hidroksil radikaller, reaktif oksijen radikalleri ve sitokinler gibi uyarılar nötrofil aktivasyonuna neden olur. Dokuya gelen aktive PMN lökositler; MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz , laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler hem dokudaki hasarı artırırılar, hem de daha fazla radikal oluşmasına neden olurlar.

MPO çeşitli bileşikleri (elektron yada hidrojen donörleri) okside edebilen bir enzim substrat kompleksi oluşturmak için, substratı olan H_2O_2 ile birleşir ve bunların oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla organizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelirler ve bunlar hücre ölümüne yol açarlar. Nötrofillerin primer fonksiyonu fagositoz ve mikroorganizmaların sindirimi olmasına rağmen bu hücrelerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu yakın hücrelere zarar verir. Fagositik kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünosüpresif ve mutajenik etkiler gösterirler

3.MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Nisan 2006-Mart 2007 tarihleri arasında yapıldı. Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu (SDÜAF) tarafından desteklenen (Proje no:1363-TU-06) bu çalışmada ağırlıkları ortalama 200-250 g. olan Wistar-Albino tipi ratlar kullanıldı. Hayvanların deney süresince istedikleri kadar standart fare yemi ve çeşme suyu ile beslenmelerine izin verildi. Her kafeste altı adet olmak üzere hayvanların laboratuvar koşullarına uyum sağlamaları beklendikten sonra, rastlantısal olarak gruplara ayrıldılar.

Kontrol Grubu (Grup I): (n=10) Laparotomi yapıp koledok mobilize edildi.

Tıkanma sarılığı grubu (Grup II): (n=10) Laparotomide ortak safra kanalı ligate edilerek tıkanma sarılığı oluşturuldu.

Tıkanma sarılığı+CAPE grubu (Grup III): (n=10) Laparotomide ortak safra kanalı ligate edilerek tıkanma sarılığı oluşturuldu ve 10 gün 10µgr/kg intraperitoneal CAPE tedavisi verildi.

3.1- Anestezi ve Cerrahi İşlem:

Tüm cerrahi işlemlerde genel anestezi oluşturmak amacıyla 100 mg/kg ketamin HCl (Ketalar flk, Parke-Davis, Morris Plains) ve 25 mg/kg konsantrasyonunda Xylazine HCl (Rompon flk, Bayer) ratların sağ arka bacaklarından intramüsküler olarak uygulandı.

Anesteziyi takiben tüm hayvanların karın bölgesi traş edildi. %10 povidon iodine ile temizlendikten sonra ratlar supin pozisyonuna getirildi. Yalnızca insizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril olarak örtüldü. Ksifoid'in hemen altından başlanarak yaklaşık 3 cm'lik orta hat insizyon ile cilt ve ciltaltı dokular geçilerek batına ulaşıldı. Kontrol grubunda ortak ekstrahepatik safra kanalı bulunup yalnızca mobilize edildi. Safra kanalı ligasyonu uygulanan ratlarda porta hepatis bulunarak koledok kanalı izole olarak disseke edildi. Sonra pankreasın hemen üzerinden 4/0 ipeklerle iki kez bağlandı ve rekanalizasyonu engellemek amacı ile iki düğümün arasından kesildi. Sıvı resüsitasyonu amacı ile batına 1 ml serum fizyolojik bırakıldıktan sonra karın ön duvarı 3/0 vicryl, cilt4/0 prolen ile kapatıldı.

3.2-Tedavi

Bütün grupların örnekleme işlemine kadar istedikleri kadar standart fare yemi ve çeşme suyu almalarına izin verildi. Kontrol grubuna ve tıkanma sarılığı grubuna herhangi bir tedavi uygulanmadı. Diğer tıkanma sarılığı oluşturulan gruba, operasyondan sonra 10 gün süre ile günde bir kez, sabahları, 10 µg/kg dozunda CAPE intraperitoneal verildi.

3.3-Örnekleme

10'uncu günün sonunda tüm gruplarda aynı olmak üzere, anestezi amacı ile 100 mg/kg ketamin HCl (Ketalar flk, Parke-Davis, Morris Plains) ve 25 mg/kg Xylazine HCl (Rompon flk, Bayer) ratların sağ arka bacaklarından intramüsküler uygulandı. Anesteziyi takiben tüm hayvanların karın bölgesi %10 povidon iodine

ile temizlendikten sonra supin pozisyonuna getirildi. İnsizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril olarak örtüldü. Laparotomi ve sternotomi sonrası biyokimyasal analiz ve patolojik değerlendirme için akciğer dokusu alındı. Patoloji için alınan akciğer dokusu %10 formol ile fikse edildi. Biyokimyasal inceleme için alınan akciğer dokusu fosfat tamponu içerisine kondu. Bütün bu örnekleme işlemi her bir rat için ortalama 5 dakikada tamamlandı.

3.4-Değerlendirme

3.4.a-Biyokimyasal Değerlendirme

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. laboratuvarında -20 derecede saklanan akciğer dokuları işlemden 1 saat önce çıkartılıp homojezine edildi. Akciğer dokusunda, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), PMN stimülasyonunun indeksi olan myeloperoksidaz (MPO), anahtar antioksidan glutatyonu okside eden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve yine serbest oksijen radikallerini yok eden katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim seviyesi ölçüldü.

3.4.b-Patolojik Değerlendirme

Formaldehid solusyonunda fikse edilen akciğere ait doku örnekleri 5 mm'lik parçalara bölünerek histopatolojik inceleme için, standart laboratuvar takiplerinden sonra parafine gömülerek 5 mikrometre kalınlığında kesitler hazırlandı ve hemotoksilen-eozin ile boyandı. Dokuların histopatolojik incelemesi, örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen tek bir patolog tarafından yapıldı. Gerek kontrol gerekse tıkanma sarılığına ait preparatlar ışık mikroskopi ile incelenerek akciğer

dokusunda histopatolojik değerlendirme için Özdülger ve ark' nın yayınında belirtilmiş olduğu şekilde doku hasarı değerlendirme ölçeği kullanılmıştır.Bu ölçekte:

Grade 1: Normal akciğer histolojisi

Grade 2: Hafif derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu

Grade 3: Orta derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem formasyonu, akciğer yapısında kısmi destrüksiyon

Grade 4: Yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonu, pulmoner yapıda tam destrüksiyonu tanımlar.

3.5-İstatistiksel Analiz

Deney sonunda gruplara göre elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik verileri karşılaştırmak için nonparametrik bir test olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. p değeri 0.05 altında olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

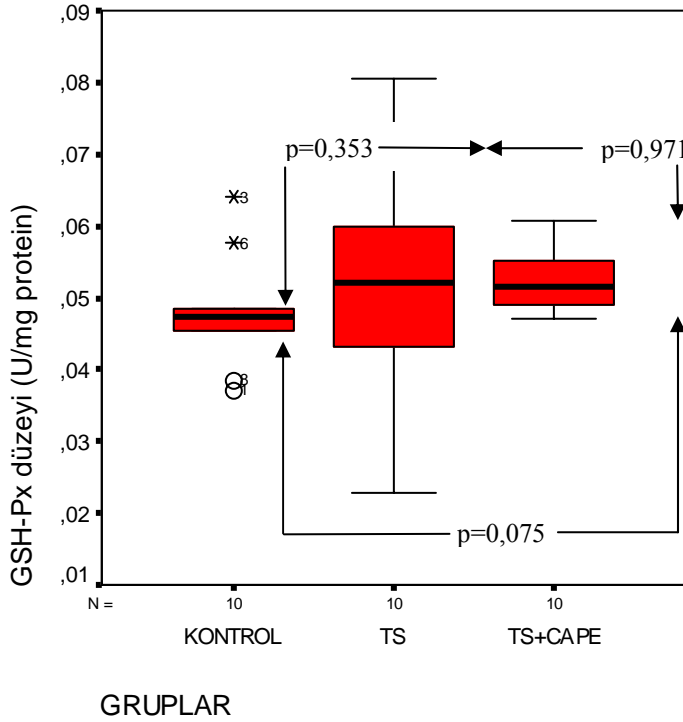
4.1 – Biyokimyasal Bulgular:

4.1.a - Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px):

Gruplara ait ortalama GSH-Px değerleri tablo 1’de gösterilmiştir. Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında her 3 grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Grup 1-2 p=0,353), (Grup 1-3 p=0,075), (Grup 2-3 p=0,971). (Tablo 1, Grafik 1)

Tablo1. : Gruplar arası ortalama GSH-Px düzeyleri.

	Kontrol(Grup 1)	TS(Grup 2)	TS+CAPE(Grup3)
GSH-Px(U/mg pr)	0.048±0.008	0.052±0.015	0.052±0.004



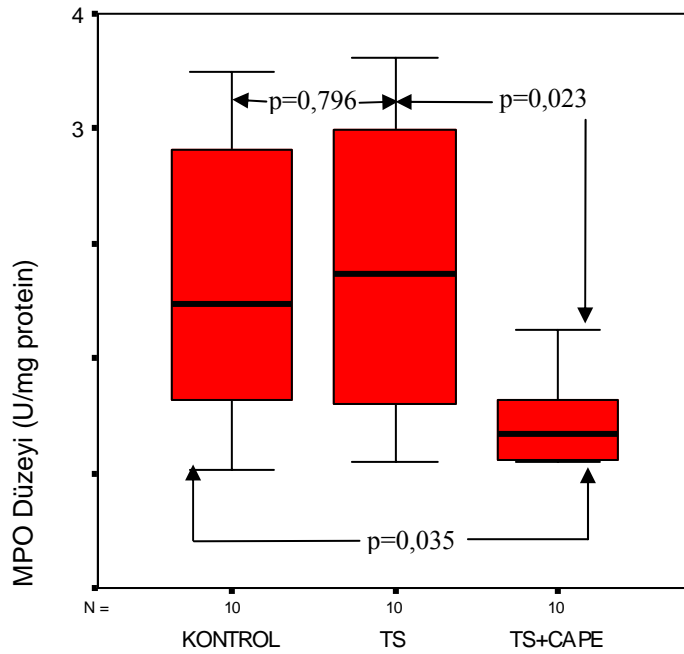
(Grafik-1)

4.1.b - Myeloperoksidaz (MPO):

Gruplara ait ortalama myeloperoksidaz değerleri tablo 2’de gsterilmiştir. Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Grup 1-2 $p=0,796$). Grup 1 ile grup 3, grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. (Grup 1-3 $p=0,035$, grup 2-3 $p=0,023$). (Tablo 2, Grafik 2)

Tablo. 2 : Gruplararası ortalama MPO dzeyleeri.

	Kontrol(Grup 1)	TS(Grup 2)	TS+CAPE(Grup3)
MPO(U/mg prot.)	1.66±1.17	1.73±1.32	0.46±0.42



GRUPLAR

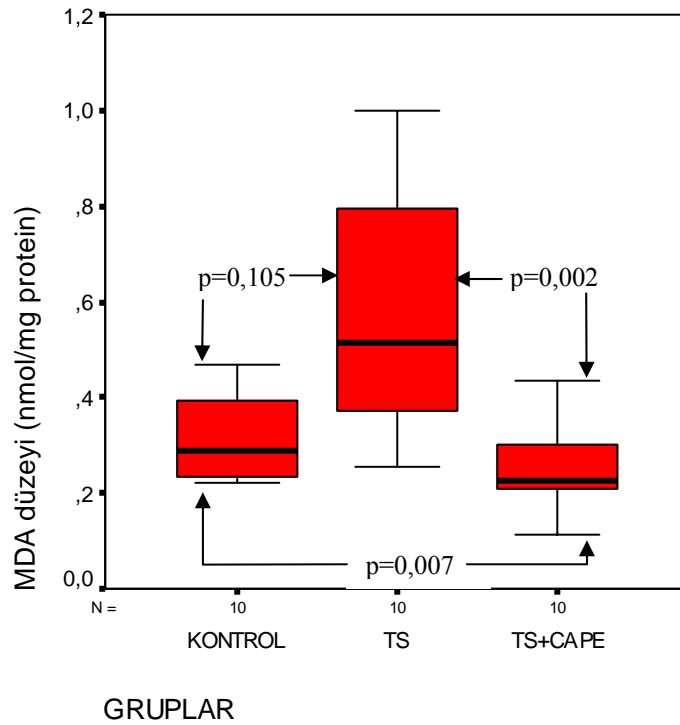
(Grafik-2)

4.1.c - Malondialdehid (MDA):

Gruplara ait ortalama MDA değerleri tablo 3'de gsterilmiştir. Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Grup 1-2 $p=0,105$). Grup 1 ile grup 3, grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. (Grup 1-3 $p=0,007$, grup 2-3 $p=0,002$). (Tablo 3, Grafik 3)

Tablo. 3: Gruplararası ortalama MDA dzeyleeri.

	Kontrol(Grup 1)	TS(Grup 2)	TS+CAPE(Grup3)
MDA(nmol/mg pr)	0.31±0.008	0.58±0.25	0.25±0.10



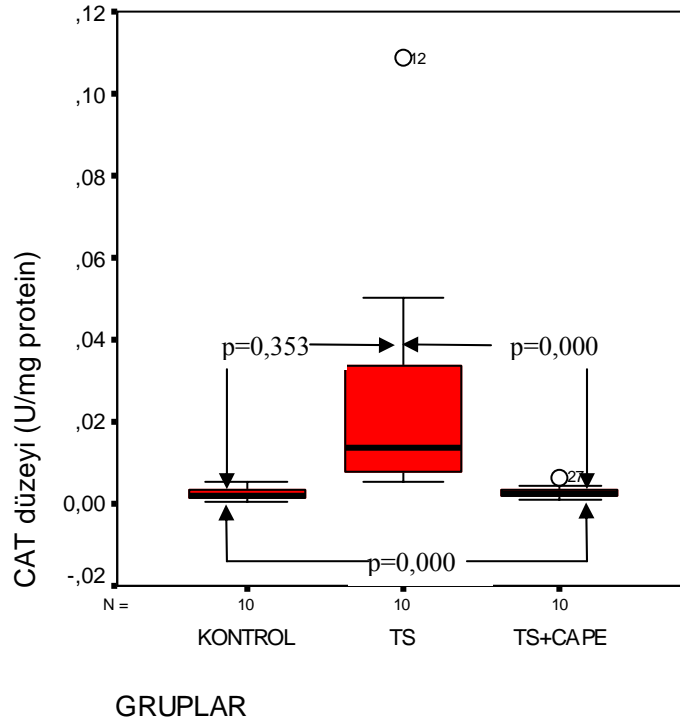
(Grafik 3)

4.1.d - Katalaz:

Gruplara ait ortalama CAT değerleri tablo 4’de gösterilmiştir. Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Grup 1-2 $p=0,353$). Grup 1 ile grup 3, grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. (Grup 1-3 $p=0,000$, grup 2-3 $p=0,000$). (Tablo 4, Grafik 4).

Tablo 4. : Gruplararası ortalama CAT düzeyleri.

	Kontrol(Grup 1)	TS(Grup 2)	TS+CAPE(Grup3)
CAT(U/mg prot)	0.002±0.001	0.028±0.031	0.003±0.001



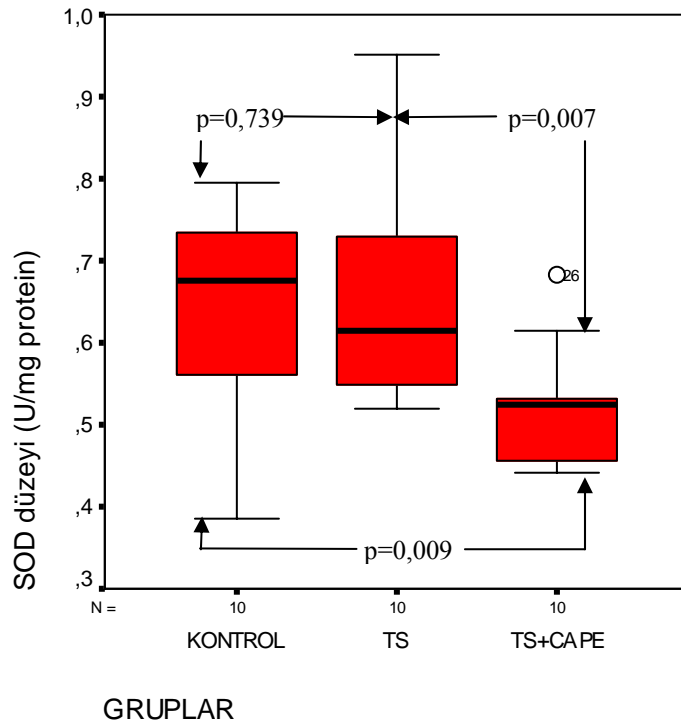
(Grafik 4)

4.1.e - Süperoksit Dismutaz (SOD):

Gruplara ait SOD ortalama değerleri tablo 5’de gösterilmiştir. Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Grup 1-2 $p=0,739$). Grup 1 ile grup 3, grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur. (Grup 1-3 $p=0,009$, grup 2-3 $p=0,007$). (Tablo 5, Grafik 5).

Tablo 5. : Gruplararası ortalama SOD düzeyleri.

	Kontrol(Grup 1)	TS(Grup 2)	TS+CAPE(Grup3)
SOD(U/mg prot.)	0.63±0.12	0.65±0.13	0.52±0.07



(Grafik 5)

4.2 Histopatolojik Bulgular

Akciğer histopatolojik değerlendirme için Özdülger ve ark.'nın (20) yayınında belirtilmiş olduğu şekilde doku hasarı değerlendirme ölçeği kullanılmıştır. Bu ölçekte:

Grade 1; Normal akciğer histolojisi

Grade 2; Hafif derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu

Grade 3; Orta derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem formasyonu, akciğer yapısında kısmi destrüksiyon

Grade 4; Yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonu, pulmoner yapıda tam destrüksiyon tanımlar.

Her üç grup ratların akciğer dokuları histopatolojik inceleme sonucunda:

Kontrol grubunun 8' inde (%80) akciğer dokusu grade 1 (normal akciğer histolojisi), 2' sinde (%20) akciğer dokusu grade 2 (hafif derecede alveolar nötrofil lökosit infiltrasyonu) olarak değerlendirildi.

Tıkanma sarılığı grubunun 7' sinde (%70) akciğer histopatolojisi grade 3 (Orta derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem formasyonu, akciğer yapısında kısmi destrüksiyon), 3' ünde (%30) akciğer dokusu ise grade 2 (hafif derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu) olarak değerlendirildi.

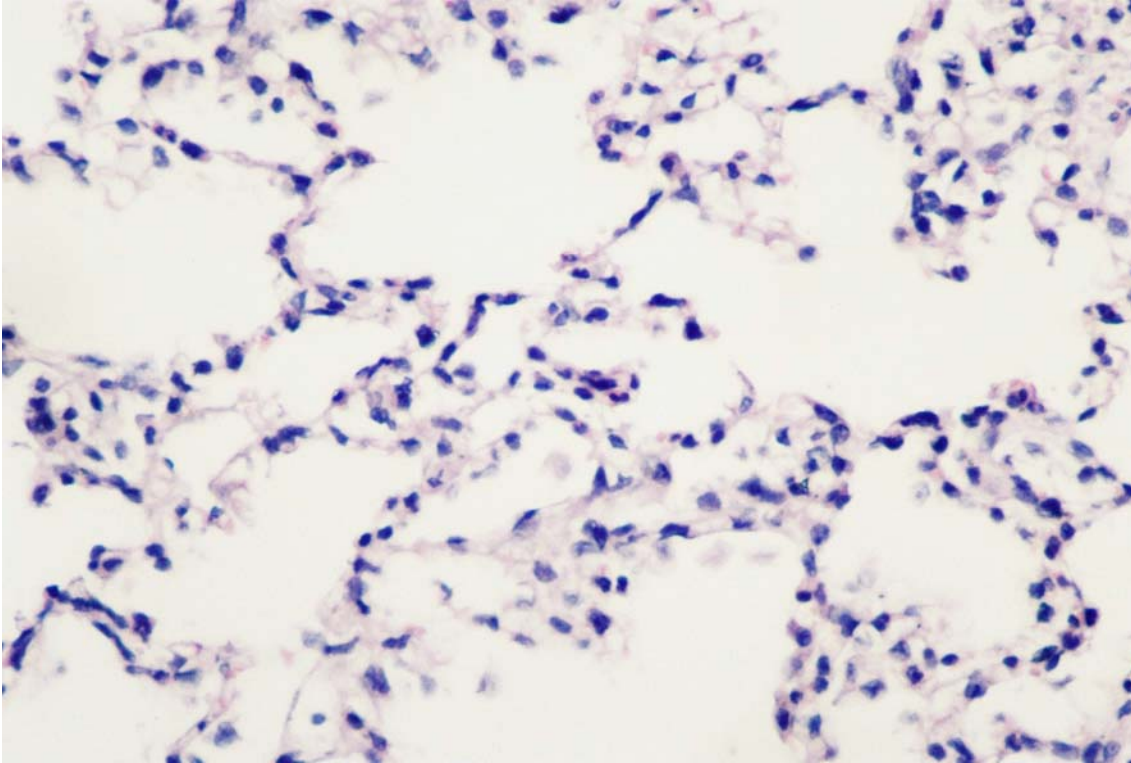
CAPE verilen tıkanma sarılığı grubunda 7' sinde (%70) akciğer histopatolojisi grade 3 (Orta derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem formasyonu, akciğer yapısında kısmi destrüksiyon), 3' ünde (%30) akciğer dokusu ise grade 2 (hafif derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu) olarak değerlendirildi.

Kontrol grubu ile tıkanma sarılığı oluşturulan iki grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında nötrofil lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem formasyonu, akciğer yapısında destrüksiyonun belirgin şekilde arttığı gözlemlendi. Bu kriterler göz

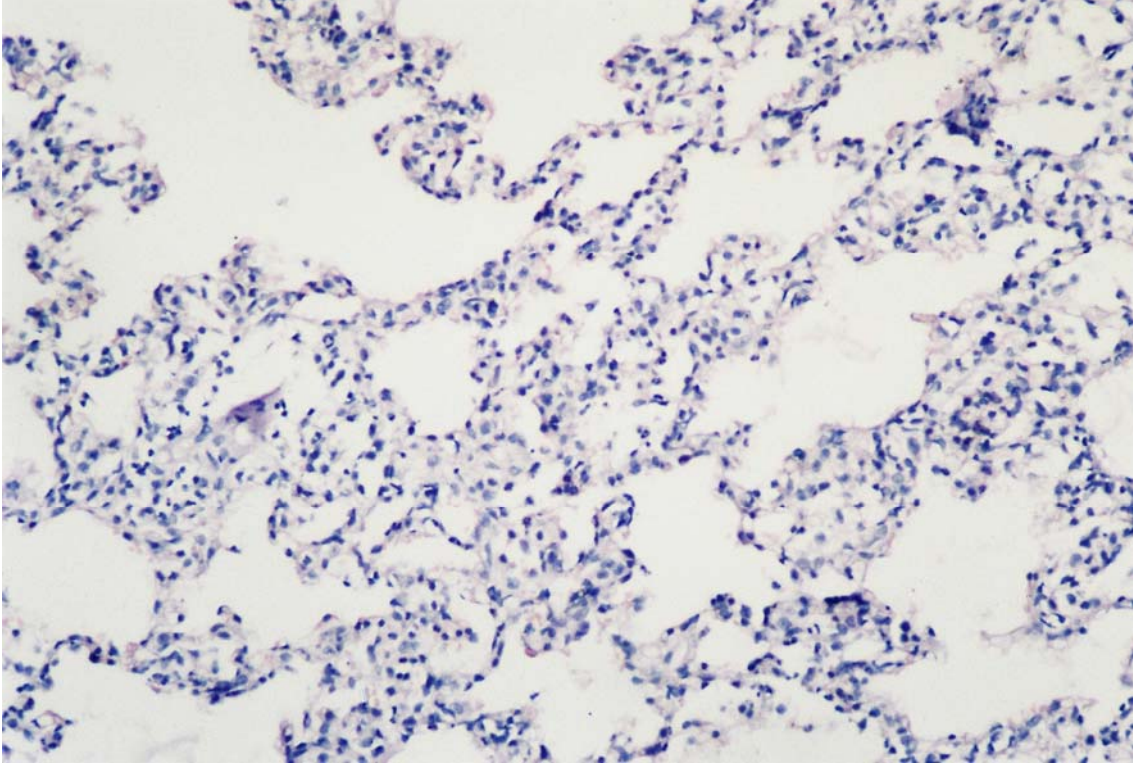
önüne alınarak tıkanma sarılığı oluşturulan gruplar karşılaştırıldığında CAPE verilen grup arasında fark olmadığı gözlemlendi.

Tablo. 9 : Gruplararası akciğer dokusunun histopatolojik değerlendirilmesi.

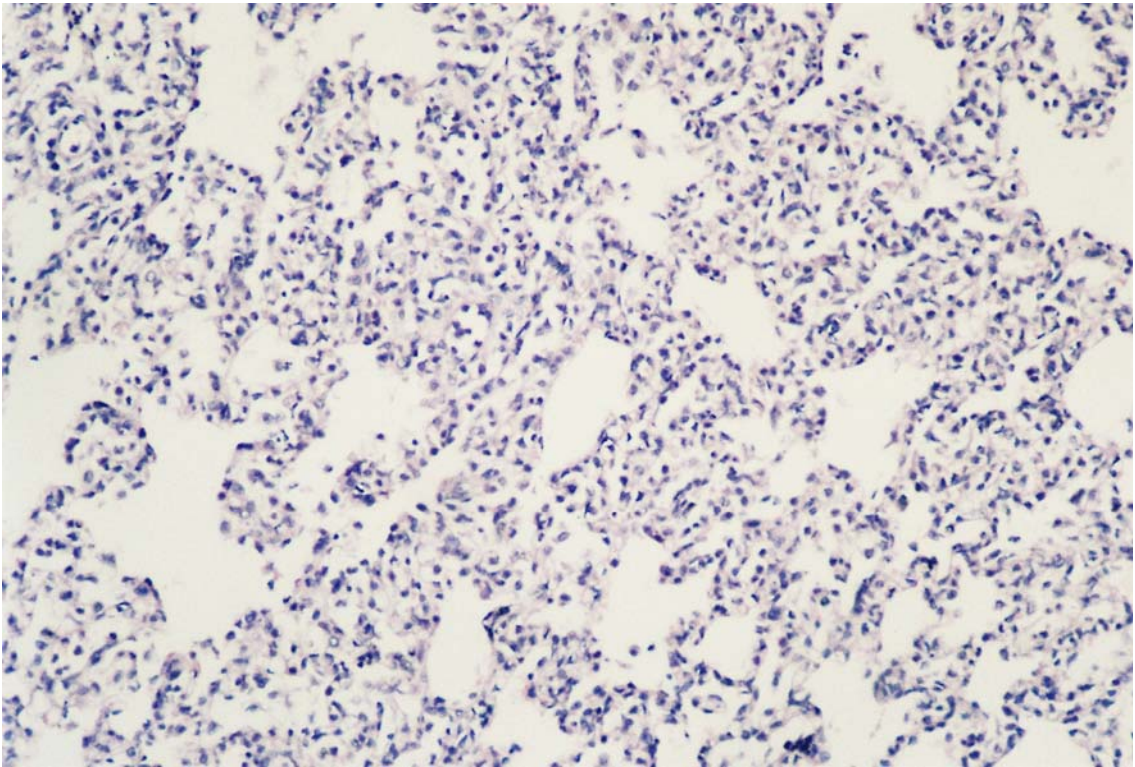
	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Kontrol	8	2		
TS		3	7	
TS+CAPE		3	7	



Resim. 1: Normal akciğer histolojisi (Grade 1). (x40, HE)



Resim. 2: Grade 2 Akciğer histopatolojisi. (x200,HE)



Resim. 3: Grade 3 akciğer histopatolojisi. (x200,HE)

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar göstermiştir ki; tıkanma sarılığında gelişen akciğer hasarını önlemede antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği olan CAPE' nin biyokimyasal etkinliği vardır. Fakat histopatolojik etkinliği gösterilememiştir. Konunun önemi şöyle açıklanabilir. Tıkanma sarılığındaki fizyopatolojik değişikliklerin oluşmasında önderlik eden endotoksemi; monositler, makrofajlar gibi immün cevapta etkili hücreleri ve endotelial hücreleri aktive ederek bir çok sitokinlerin üretimini artırır. Papakostas ve ark.(3) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada, tıkanma sarılığı olan tavşanlarda yüksek sıklıkla portal ve sistemik endotoksinemi, GİS' e safra tuzu akışının olmaması nedeniyle artmış endotoksinin barsak lümeninden portal ve sistemik dolaşıma geçmesini kolaylaştırdığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda TS olan ratların akciğer histopatolojisinde TS olmayan ratlara oranla artmış nötrofil lökosit infiltrasyonu tespit ettik.

Küçük ve ark.'nın(6) ratlarda, tıkanma sarılığında serbest oksijen radikallerinin karaciğer harabiyetinden sorumlu olduklarını göstermek amacı ile eritrosit ve karaciğer MDA seviyeleri ölçülmüş, antioksidan olarak lipid peoksidasyonunu inhibe eden Dimethylsulfoxide kullanılmış. Sonuçta; karaciğer ve eritrosit MDA seviyelerinin ilaç verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede düştüğü görülmüştür. Dimethylsulfoxide'in karaciğer dokusunu histopatolojik olarak korunmasında etkin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmadan hareketle biz de TS oluşturulan ratlarda bir antioksidan olan CAPE nin akciğer hasarı üzerine etkinliğini görmek için akciğer dokusunda MDA ve histopatolojisine baktık. Çalışma sonunda TS + CAPE grubunda, CAPE, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek akciğer dokusunda artan MDA seviyesini

istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p=0.002$) düşürmüştür. Dolayısıyla CAPE, lipid peroksidasyonunu önleyerek AC hasarını azaltır.

Ana safra kanalı bağlanmış deney hayvanlarında serbest oksijen radikallerini ortamdaki uzaklaştıran glutatyon, katalaz ve superoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır, böylece serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar (7). Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur. Ogetman ve ark. (7) lipid peroksidasyonunu inhibe eden Aminoguanidin kullanarak TS olan ratların serum, karaciğer ve böbrek dokularında MDA, MPO değerlerinin diğer TS olan gruba oranla düştüğünü göstermişlerdir. Biz de, TS da kontrol grubuna göre akciğer dokusunda MDA, MPO, SOD ve CAT düzeylerinin arttığını, CAPE verilen grupta ise bu enzimlerin istatistiksel olarak anlamlı derecede düştüğünü tespit ettik. Böylece CAPE, antioksidan etkinliği ile TS de AC hasarını önlemektedir.

Tıkanma sarılığı, ratlarda pulmoner intravasküler fagositozu ve endotoksin sensitivitesini artırır (19). Chang ve ark.'nın (19) yapmış olduğu çalışmada; tıkanma sarılığı olan ratların akciğer parankiminde pulmoner kapillerlerde latex partikülü içeren büyük mononükleer makrofaj benzeri hücreler saptanmıştır. TS olan bu ratlarda pulmoner intravasküler fagositoz artmakta, akciğer ödemeine neden olmaktadır. Bunun da sarılıklı hastalarda sepsis ve ARDS' ye yatkınlığa sebep olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda tıkanma sarılığı olan ratların akciğer dokusunda gelişen hasar histopatolojik olarak görülmüştür. (Resim 2,3) CAPE tedavi grubundaki ratların akciğer

dokusunun incelemesinde, bu dokulardaki hasarın CAPE ile histopatolojik olarak azalmadığı da gözlenmiştir.

Özdülger ve ark.'nın (20) çalışmasında sepsis modelinde, akciğer hasarı araştırılmış ve MDA ve MPO' nun AC dokusunda arttığı böylece sepsiste lipid peroksidasyonu ve nötrofil migrasyonu artarak doku hasarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Sikuler ve ark.'nın (2) yaptığı çalışmada mekanik ikter oluşturulan ratlarda endotoksemi ve sepsis geliştiği bildirilmiştir. Dolayısıyla TS modeli, aslında bir sepsis modeli özelliği de kazanmaktadır. Yılmazlar ve ark.'nın (32) yaptığı çalışmada TS oluşturan ratların kan, mezenterik lenf nodunda, dalak ve karaciğerlerinde bakteriyel translokasyon ve buna bağlı doku ve organ hasarı bildirilmiştir. TS modellerinde AC hasarı oluştuğuna dair bugüne dek herhangi bir çalışma bulunamamış olup, çalışmamız bu konu üzerine yapılacak olan çalışmalar içinde bir prototip ödevi görecektir. Nitekim TS oluşturulan grup 2 ratların AC dokularında MDA, MPO' nun artarak doku hasarına neden olduğu, çalışmamızda da tespit edilen bir gerçektir.

Köksel ve ark.'ı (30) lipopolisakkarit (endotoksin) ile indüklenmiş akciğer dokusunda CAPE' nin etkinliğini çalışmışlardır.. LPS (lipopolisakkarit) verilen ratların akciğer dokusunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak artmış MPO ve MDA seviyeleri tespit etmişlerdir. LPS+CAPE verdikleri grupta ise MPO ve MDA' nın anlamlı derecede düştüğünü saptamışlardır. CAPE verilen grupta histopatolojik olarak akciğerde nötrofil infiltrasyonunun azaldığını, LPS grubunda grade 2-3 olan akciğer histolojisinin grade 1-2 ye düştüğünü tespit etmişlerdir. Çalışmamızda TS olan grupta AC dokusu MPO ve MDA seviyeleri kontrol grubuna göre artarken, CAPE' nin bu parametreleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşürdüğünü tespit ettik. Akciğer

histopatolojisinde ise CAPE verilen grupta, kontrol grubuna göre artmış nötrofil sayısının azalmadığını ve TS da grade 2-3 olan AC hasarının değişmediği tespit ettik.

Özdülger ve ark.'nın (31) oleik asit ile indüklenen oksidatif stres ve akciğer hasarı konulu çalışmalarında akciğer hasarı oluştuğunu, akciğer dokusunda ve plazmada MPO ve MDA'nın yükseldiğini, CAPE verilen ratların akciğer dokusunda bu parametrelerin anlamlı derecede düştüğünü saptamışlardır. CAPE'nin akciğerde inflamatuvar hücreleri azalttığını, grade 3 akciğer hasarını düzelttiğini rapor etmişlerdir. Sonuçlarımız, Özdülger ve arkadaşlarının biyokimyasal sonuçları ile benzer olmasına karşın, histopatolojik akciğer değerlendirme sonuçlarımız farklılık göstermektedir. Akciğer dokusunda çalışılan MPO, MDA, CAT, SOD düzeylerinin kontrol grubuna göre TS olan grupta artarken, CAPE verilen grupta bu parametreler istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmıştır. Histopatolojik incelemede TS oluşturulan grupta kontrol grubuna göre belirgin düzeyde akciğer hasarı gelişmiştir. Fakat CAPE verilen grupta akciğer hasarının gerilemediği görülmüştür. Bu konuda daha fazla ve ayrıntılı çalışma yapılması ile bu paradoksa bir cevap aranması gerektiği kanaatindeyiz.

6-SONUÇLAR

Tıkanma sarılığında CAPE'nin akciğer hasarını önlemedeki etkinliğinin araştırıldığı bu çalışmada varılan sonuçlar şöyle özetlenebilir;

1. Tıkanma sarılığına bağlı olarak akciğer hasarı oluşmaktadır.
2. Bu akciğer hasarının gelişmesinde; lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonu etkilidir.
3. CAPE, yukarıda sayılan lipid peroksidasyonu oksidatif stres ve nötrofil migrasyonunu azaltarak TS ile oluşan akciğer hasarını azaltmada etkindir.
4. Biyokimyasal olarak gösterilen antioksidan etkinlik, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonu azaltma etkileri, biyokimyasal olarak ispatlanabilmesine karşın, histopatolojik olarak gösterilememiştir.

Bu da bu konuda ilave ve derin çalışmaların varlığına ihtiyacı göstermiştir.

7-ÖZET

Tıkanma sarılığı, buna bağılı gelişen endotoksemi ve reaktif oksijen radikalleri karaciğer, böbrek yetmezliğı ve akciğerde ARDS kadar giden tek ve multiorgan yetmezliğı yapar.Bu çalışma, ortak safra kanalı ligasyonu yoluyla tıkanma sarılığı geliştirilen bir hayvan modelinde CAPE'nin TS da oluşan akciğer hasarını önlemedeki etkinliğini araştırmak için yapılmıştır.

Otuz adet Wister Albino rat,her birinde on hayvanın bulunduğı üç gruba ayrıldılar. I. gruba sadece laparotomi uygulandı.II. gruba safra kanalı ligasyonu yapıldı.III. gruba ise safra kanalı ligasyonu ve on gün CAPE intraperitoneal verildi.Onuncu günün sonunda ratlar sakrifiye edildi.Biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için akciğer dokusu alındı.

Bu üç grup arasında akciğer dokusunda lipid peroksidasyonu oksidatif stres ve nötrofil migrasyonunun göstergesi olan MPO, MDA, CAT, ve SOD tıkanma sarılığında artmaktadır. CAPE ise TS da artan bu parametreleri istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmaktadır.($p < 0.05$) bu üç grup arasında GSH-Px enzimi açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. TS da AC hasarı oluşmaktadır, bu hasarının gelişmesinde; lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonu etkilidir. CAPE lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonunu inhibe ederek bu hasarı önlemektedir. CAPE'nin TS da oluşan AC hasarını önlemedeki etkinliğı biyokimyasal olarak ispatlanmış olup, histopatolojik olarak gösterilememiştir.

Anahtar Sözcükler: Tıkanma sarılığı, akciğer hasarı, CAPE

8. SUMMARY

Obstructive jaundice (OJ) and endotoxemia due to jaundice and reactive oxygen radicals (ROS) cause liver and kidney failure and lung injury which can result in ARDS. These can be alone or together called multiorgan failure. This study is carried out to determine the efficiency of CAPE prevention from lung injury in a model of OJ in animals via the ligation of common bile duct.

Thirty Wistar-Albino rats were divided into three groups each of which included ten. Only laparotomy was performed in group I. Bile duct ligation was performed in group II. Group III took bile duct ligation plus intraperitoneally CAPE administration for ten days. At the end of ten days rats were sacrificed. The lung tissues were taken to be examined biochemically and histopathologically.

MPO, MDA, CAT and SOD activities which were studied in lungs of rats in the study groups, were significantly higher in obstructive jaundice than in control group. CAPE is significantly reducing the activities which are increased in OJ ($P < 0.05$). There was no significant difference in the activities of GSH-Px enzymes between these three groups when compared. Lung injury caused by lipid peroxidation, oxidative stress and neutrophil migration, happens in the OJ. CAPE prevents this injury via the inhibition of lipid peroxidation, oxidative stress and neutrophil migration. Effectiveness of prevention from lung injury in OJ was showed only biochemically whereas it was not possible by histological examination.

Key words: obstructive jaundice, lung injury, CAPE

9. KAYNAKLAR

1-Su CH, P'eng FK, Lui WY. Factors affecting morbidity and mortality in biliary tract surgery. World J Surg. 1992; 16(3):536-40.

2-Sikuler E, Buchs AE, Yaari A, Keynan A. Hemodynamic characterization of conscious and ketamine-anaesthetized bile duct-ligated rats. Am J Physiol.1991;260(1 Pt 1) :G161-6.

3-Papakostas C, Bezirtzoglou E, Pitiakoudis M, Polychronidis A, Simopolulos C. Endotoxemia in the portal and the systemic circulation in obstructive jaundice. Clin Exp Med.2003 ;3(2):124-8.

4-Sakrak O, Akpınar M, Bedirli A, Akyurek N, Aritas Y. Short and long-term effects of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage Hepatogastroenterology. 2003;50(53):1542-6.

5-Padillo FJ, Muntane J, Montero JL, Briceno J, Mino G, Solarzano G, Sitges-Serra A, Pera Madzaro C. Effect of internal biliary drainage on plasma levels of endotoxin, cytokines, and C-reactive protein in patients with obstructive jaundice. World J Surg. 2002;26(11):1328-32.

6-Kucuk C, Ok E, Yılmaz Z, Sozuer E, Muhtaroglu S, Arar M. The effects of dimethylsulfoxide in experimental obstructive jaundice. Acta Chir belg. 2003;103(4):392-5.

- 7-Ogetman Z, Dirlik M, Caglikulekci M, Canbaz H, Karabacak T, Yaylak F, Tamer L, Kanik A, Aydin S. The effect of aminoguanidine on blood and tissue lipid peroxidation in jaundiced rats with endotoxemia induced with LPS. *J Invest Surg.* 2006;19(1):19-30.
- 8-Tsai LY, Lee KT, Lu FJ. Biochemical events associated with ligation of the common bile duct in Wistar rats. *J Formos Med Assoc.* 1997;96(1):17-22.
- 9- Cicalese L, Caraceni P; Nalesnik MA, Borle AB, Schraut WH. Oxygen free radical concent and neutrophil infiltration are important determinants in mucosal injury after rat small bowel transplantation. *Transplantation.*1996;62(2):161-6.
- 10-Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J.*2000;16(3):534-54
- 11-Dr.Çavdar C, Dr. Sifil A, Dr. Çamsarı T. Hastalıkların patogenez ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar 1997;3-4: 96-101.
- 12-Akaike T, Ando M, Oda T et al. Dependence on O_2 -generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection in mice.*J Clin Invest* 1990; 85: 739-745
- 13-Özer M.K., Çiçek E, Gökalp O, Koyu A, Parlakpınar H, Acet A. Myokardiyal iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarında nitrik oksitin rolü ve caffeic acid phenethyl ester (CAPE)'in etkisi.2005;12(4):/23-27
- 14- Carol E, H. Scott –Conner, M.D., PH.D., and James B. Grogan, PH.D. The pathophysiology of Biliary Obstruction and Its Effect on Phagocytic and Immune Function 316-336(1994)

- 15- Atilla Engin Genel Cerrahide Tanı Ve Tedavi İlkeleri Atlas Kitabevi, 2000
- 16- Aldemir M. ,Geyik M., Kökoğlu Ö., Büyükbayram H., Hoşoğlu S., Yağmur Y., Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats . ANZ J. Surg. 2003; 73:722-726
- 17- Sheen-Chen S., Chau P., Haris W., Obstructive jaundice alters kuppfer cell function independent of bacterial translocation. Journal of Surgical Research 80 , 200-209,1998
- 18- Dinelek H., Deneysel tıkanma sarılığı modelinde beta glukan'ın bakteriyel translokasyonu önlemedeki etkinliği SDÜ Tıp Fak.Genel Cerrahi AD TEZ Isparta 2005
- 19- Shih-Wen Chang and Narumi Ohara. Chronic Biliary Obstruction Induces Pulmonary Intravascular Phagocytosis and Endotoxin Sensitivity in rats. 1994,2009-2019.
- 20- Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, Cinel L, Avlan D, Unlu A, Okcu H, Dikmengil M, Oral U. The protective effect of N-Acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model.336-372,2003.
- 21- Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz H.R.. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. 277:73-80,2005

- 22- Song YS, Park EH, Hur MH, Ryu YS, Lee YS, Lee JY, Kim YM, Jin C. Caffeic acid phenethyl ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activation. *Cancer Letters* 2002; 175: 53-61.
- 23- Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Puskareva GA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329:21-24.
- 24- Hepsen IF, Er H, Cekic O. Topically applied water extract of propolis to suppress corneal neovascularization in rabbits. *Ophthalmic Res* 1999;31:426-431.
- 25- Koksel O, Ozdulger A, Tamer L, Cinel L, Ercil M, Degirmenci U, Unlu S, Kanik A. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2005; 1-6.
- 26- Watabe M, Hishikawa K, Takayanagi A, Shimizu N and Nakaki T. Caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis by inhibition of Nfkappa B and activation of Fas in Human Breast Cancer MCF-7 Cells. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279:6017-6026
- 27- Özen S, Akyol Ö, Iraz M, Söğüt S, Özüğurlu F, Özyurt H, Odacı E, Yıldırım Z. Role of Caffeic Acid Phenethyl Ester, an Active Component of Propolis, against Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Rats. *Journal of Applied Toxicology* 2004 24, 27

- 28- Mattson MP, Camandola S. 2001. NF- κ B in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J. Clin Invest.* 107, 247-254.
- 29- Yılmaz HR, Uz E, Yucel N, Altuntas I and Ozcelik N. Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Molecular Toxicology* 2004; 18:4 p:234-238
- 30- Oguz Koksel Ali Ozdulger Lulufer Tamer Ulas Degirmenci Leyla Cinel Arzu Kanik Serdar Ulu, Menderes Elcil. Effect of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats.19(2006) 90-95
- 31- Oguz Koksel, Murat Bayram Kaplan, and Ali Ozdulger Lulufer Tamer and Ulas Degirmenci Leyla Cinel and Mine Bastürk, Arzu Kanik. Oleic Acid–Induced Lung Injury In Rats and Effects Of Caffeic Acid Phenethyl Ester (2005), 31:483–496.
- 32- Yılmazlar T., Korun N., Karagöz C., Gedikoğlu S., Kırdak T., Özuysal S. Deneysel Obstrüktif Sarılıkta Bakteriyel Translokasyon Sonucu Bakterilerin Multiorgan Yayılımı. *Cerr Tıp Bül.* (1995), 4, 218-224.