

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

TIKANMA İKTERİNE BAĞLI ORGAN HASARININ ÖNLENMESİNDE
PROANTHOCİYANİDİN'İN ETKİNLİĞİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

DR.MERVAN SAVDA

UZMANLIK TEZİ

KONYA 2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

TIKANMA İKTERİNE BAĞLI ORGAN HASARININ ÖNLENMESİNDE
PROANTHOCİYANİDİN'İN ETKİNLİĞİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

DR.MERVAN SAVDA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: PROF. DR. ŞAKİR TAVLI

KONYA 2013

ÖZET:

Amaç: Tıkanma sarılığına bağlı organ hasarının önlenmesinde proanthociyanidin etkinliği araştırıldı.

Durum değerlendirmesi: Tıkanma sarılığında biriken safra tuzlarının oluşturduğu oksidatif etki ile organ hasarına sebep oldukları düşünüldü. Çalışmamızda organ hasarının önlenmesine güçlü bir antioksidan olan proanthociyanidin ne ölçüde faydalı olacağını değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: Deneysel çalışmada her biri 10 rattan oluşan 3 grup oluşturuldu. Grup 1: Koledok diseksiyonu yapılan grup (sham grubu). Grup 2: Koledoğu bağlanan, operasyondan sonra başka işlem yapılmayan grup (kontrol grubu). Grup 3: Koledok ligasyonu sonrası 100mg/kg/gün proanthociyanidin verilen grup. Koledok ligasyonu sonrası postoperatif 1. gün başlanarak 3. gruptaki ratlara 100mg/kg/gün orogastrik yol ile proanthociyanidin verildi. 10 günün sonunda ratlar sakrifiye edildi. Ratların karaciğer ,böbrek ve akciğerleri histopatolojik olarak incelendi.. Alınan kanlarda biyokimyasal parametreler değerlendirildi.

Bulgular: Kontrol grubundaki ratlarda, Aspartat Aminotransferaz, Alanin Aminotransferaz, Alkalen Fosfataz, Gama Glutamil Transferaz, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin, Nitrik Oksit, Malondiadehit(MDA), Üre, Kreatinin değerleri Sham grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek çıktı ($p < 0,05$). Kontrol ve tedavi grubundaki ratlarda biyokimyasal değerler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Karaciğer ,böbrek ve akciğerdeki histopatolojik incelemeler sham grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde iyi tespit edildi ($p < 0,05$). Proanthociyanidin kullanılan grup ile kontrol grubu arasında karaciğer ve akciğer hasarını histopatolojik olarak değerlendirmede istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$) Renal tubül hasarı tedavi grubunda daha az olduğu halde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p = 0,08$).

Sonuç: Bizim kanaatimize göre tıkanma sarılığı olan ratlarda proanthociyanidin organ hasarı önlenmesinde faydalı olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelime: Proanthociyanidin, Tıkanma sarılığı, Organ hasarı

SUMMARY:

Aim: The aim of this study is to investigate the efficiency of proanthocyanidin to prevent organ damage in rats with obstructive jaundice.

Objective: It was considered that the bile salt accumulated during obstructive jaundice caused visceral damage through the way of oxidative effects.

Method: In this experimental study, we divided the rats for three groups, each of which has got 10 rats. In group one we dissected common bile duct (CBD) only. In group two we performed CBD ligation and group three we gave the rats orally 100 mg/kg/day proanthocyanidin after CBD ligation. Starting with postoperative day one, we treated the rats with 100 mg/kg/day proanthocyanidin through the way of orogastric tube following CBD ligation. The rats were sacrificed at the end of day 10th. The livers, kidneys and the lungs of the rats were examined histopathologically. The biochemical parameters were evaluated in the blood samples.

Results: Aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase, total bilirubin, direct bilirubin, nitric oxide, MDA, urea, and creatinine values in the control group rats were significantly higher than the sham group ($p < 0.05$). There was no statistically significant differences between control and treatments groups. In the sham group the histopathological examination of the liver, kidneys and the lungs were similar to normal value ($p < 0.05$). There was also a statistically significant difference between the groups, using proanthocyanidin and the control group regarding to the histopathological evaluation of liver and lung damage ($p < 0.05$). Although renal tubule damage in the treatment group was less than the others, there was no statistically significant difference ($p = 0.08$).

Conclusion: In our opinion proanthocyanidin might be useful in preventing organ damage in rats with obstructive jaundice.

Keywords: Proanthocyanidin, Obstructive jaundice, Organ damage.

İÇİNDEKİLER

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ	vii
RESİM VE ŞEKİL LİSTESİ	viii
KISALTMALAR	ix
1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	2
2.1-Tıkanma İkterine Bağlı Meydana Gelen Doku Hasarında SOR'in Rolü.....	2
2.2-Proanthocyanidinler	3
2.2.1 -Proantosiyandinlerin Antioksidan Ve Diğer Özellikleri.....	6
2.2.2-Proanthocyanidinlerin Farmakolojik Özellikleri	8
3-MATERYAL METOD	9
4-BULGULAR	14
5-TARTIŞMA	24
6-SONUÇLAR	29
7-KAYNAKLAR	30

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ

Tablo 1 : Flavanoidlerin sınıflandırılması ve biyokimyasal yapıları	5
Tablo 2 : Grupların Total Bilirubin Değerine Göre Karşılaştırılması.....	15
Tablo 3: Grupların Direkt Bilürubin Değerine Göre Karşılaştırılması.....	15
Tablo 4: Grupların AST Değerine Göre Karşılaştırılması.....	16
Tablo 5: Grupların ALT Değerine Göre Karşılaştırılması.....	16
Tablo 6: Grupların ALP Değerine Göre Karşılaştırılması.....	17
Tablo 7: Grupların GGT Değerine Göre Karşılaştırılması.....	17
Tablo 8: Grupların Üre Düzeyine Göre Karşılaştırılması.....	18
Tablo 9: Grupların Kreatinin düzeylerine Göre Karşılaştırılması.....	18
Tablo 10: Grupların Nitrik Oksit (NO)düzeylerine Göre Karşılaştırılması.....	19
Tablo 11: Grupların Malondiadehit (MDA) düzeylerine Göre Karşılaştırılması.....	19
Tablo 12: Grupların Karaciğer Safra İnfarktı ve Nekroz Göre Karşılaştırılması.....	20
Tablo 13: Grupların Akciğer Nötrofil Lökosit İnfiltrasyonu Göre Karşılaştırılması.....	21
Tablo 14: Grupların Renal Tubül Hasarına Göre Karşılaştırılması.....	22

RESİM VE ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Tıkanma İkterinde Oksidatif Hasar	3
Şekil 2: Koledok eksplorasyonu	10
Şekil 3: Koledok ligasyonu.....	10
Şekil 4: Kalpten kan alınması ve hidropik safra kesesi.....	11
Şekil 5: Relaparotomi sonrası adezyonlar	14
Şekil 6: Karaciğere ait histopatolojik resimler.....	20
Şekil 7: Akciğere ait histopatolojik resimler.....	21
Şekil 8: Böbreğe ait histopatolojik resimler.	22
Şekil 9: Böbreğe ait histopatolojik resimler.	23

KISALTMALAR

- ALT** : Alanin aminotransferaz
ALP : Alkaleen fosfataz
AST : Aspartat aminotransferaz
ARDS : Eriskin Sıkıntılı Solunum Sendromu
Ark : Arkadaşları
ATN : Akut Tubuler Nekroz
ATPaz : Adenozin Trifosfataz
BUN : Kan Üre Azotu
cAMP : Siklik Adenozin Monofosfat
CO₂: Karbondioksit
D.Bil: Direkt Bilirubin
DNA : Deoksiribonükleik asit
EKG : Elektrokardiografi
ERCP : Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatikografi
GİS : Gastrointestinal Sistem
GGT : Gama glutamil transferaz
GSH : Glutasyon
GSPE :Grape Seed Proanthocyanidin Extract
HCl: Hidroklorür
H&E : Hemotoksilen-Eozin
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
IgA : İmmünglobin A
IgG : İmmünglobin G
NO: Nitrik Oksit
O₂: Oksijen
RES: Retikülo Endotelyal Siistem
SOR: Serbest Oksijen Radikali
SRT: Serbest Radikal Toplama
T.Bil: Total Bilirubin
v.s. : Vesaire

1-GİRİŞ:

Karaciğer dışı safra yollarının herhangi bir nedenle tam olarak tıkanması sonucu gelişen tıkanma sarılığı genellikle , cerrahi olarak tedavi edilmesi gerekli bir semptomlar grubudur. Tıkanma sarılığı bulunan hastalara uygulanan safra yolları girişimlerinin morbidite ve mortalitesi çok yüksektir. Bu hastalarda sepsis, renal yetmezlik ve pulmoner disfonksiyon gibi major komplikasyonlar sık olarak ortaya çıkar. Tıkanma sarılığında hücre içinde düzeyleri artan safra tuzları ile bilirubin toksik etkileri , sistemik komplikasyonlarda mediatör rol oynayarak, hepatosit hasarına , portal ve sistemik endotoksemiye , sıvı elektrolit kaybına ve beslenme bozukluğuna yol açar(1-2)

Birçok araştırmacı tarafından tıkanma sarılığında oluşan bu doku hasarı ve endotoksemisinin serbest oksijen radikal üretiminde artışa yol açtığı , lipid peroksidasyonunu artıran reaktif oksijen ana ürünlerinin üretiminde bir artış olduğu gösterilmiştir. (3-4)

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve hücre içi yapıların membranlarında harabiyete yol açarlar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kolestazdaki hepatosit hasarının patogeneğinde serbest radikaller önemli bir yer tutmaya başlamışlardır. Ayrıca , tıkanma sarılığında yağ emiliminin bozulmasına sekonder intestinal emilimi azalan ve plazma seviyesi düşen bir antioksidan olan E vitamini eksikliği de oksidan hasarın artmasında rol oynamaktadır(5-6). Bu oksidan hasar ve lipid peroksidasyonu tıkanma sarılığında zaten varolan karaciğer harabiyetini daha da artırmakta , aynı zamanda oluşan endotoksemi, bakteriyel translokasyona da yol açmaktadır(7-8).

Tıkanma sarılığında erken yapılacak bir girişim karaciğer harabiyeti ve bakteriyel translokasyon başlamadan veya irreversibl hale gelmeden engellenebilir. Ameliyat öncesi bu kritik dönemde lipid peroksidasyonunu engelleyen antioksidan maddelerin verilmesi karaciğer harabiyetini ve bakteriyel translokasyonu geçiktirebilir.

Bu deneysel çalışmada tıkanma ikterinde güçlü eksojen serbest radikal süpürücü ve antioksidan olan GSPE (Grape seed proanthocyanidin extract; üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresi) 'nin muhtemel koruyucu etkilerini incelenmesi amaçlandı.

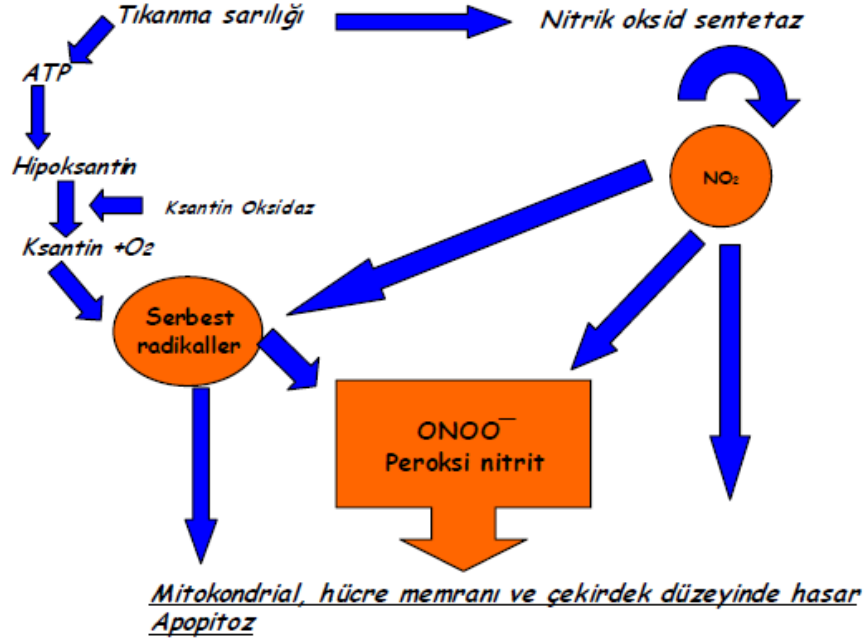
2-GENEL BİLGİLER:

2.1-Tıkanma İkterine Bağlı Meydana Gelen Doku Hasarında Serbest Oksijen Radikallerin Rolü

Hücre zedelenmesinde açıklanabilen mekanizmalardan biri kısmen oksijen türevleri ile aktifleşen, serbest radikallere bağlı gelişen hasardır (12). Serbest radikaller; kimyasal, oksijen ve diğer gaz toksisiteleri, hücresel yaşlanma, fagositoz, inflamasyon, tümör harabiyeti ve diğer olaylarda genel bir doku zedelenmesi sürecini izleyerek etkili olurlar (13).

Kolestaz sonrası hepatositlerde hücresel şişme, intraduktal basınç artışına bağlı karaciğerde iskemik hasar ve sonuç olarak SOR ortaya çıkar (14). Bilirubinın barsağa akması sonucu yağda eriyen vitaminlerin (Vitamin A, E, D, K) absorpsiyonu bozulur (15). Antioksidan özelliği olan vitamin E ve A seviyesindeki azalma, SOR'ne bağlı olarak gelişen doku hasarını artırır (16,17). Tıkanma sarılıklı hastalarda plazma ve hepatik peroksit seviyeleri normal hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada serum MDA seviyesi serum bilirubin artışıyla paralellik göstererek yükselmiştir(16).

Hepatosellüler yaralanmaya sekonder olarak plazma lipoperoksidazlarında Yükselme ve antioksidan olan vitamin E seviyesinde azalma tespit edilmiştir (18).



Şekil 1: Tıkanma İktlerinde Oksidatif Hasar (15).

2.2-PROANTHOCİYANİDİNLER

1534 yılında, bir Fransız araştırmacı Jacques Cartier, New York'ta St.Lawrance nehrinde keşif yolculuğu esnasında, devamlı tuzlu et ve bisküvi yiyen tayfalarda skorbit benzeri şikayetlerden bahsettiği kitabında bunu önce çevresel değişikliklere bağladı. Ama karaya çıktıklarında, tayfaların çam ağacı iğneleri ve kabuğundan imal edilmiş ev yapımı çayları içmeye başladıktan sonra iyileştiğini yazmıştı(19).

Fransa Bordo Üniversitesi'nden Profesör Jacques Masquelier, bu kitabı okuduğunda bu iyileşmenin ancak vitamin C içeren çam ağacı iğneleri ve kabuğundan imal edilmiş ev yapımı çayın Flavonoidlerde olduğu gibi askorbat benzeri etkisiyle olabileceği fikrini önesürmüştü. İleri çalışmalar sonrası Masquelier bu etkiyi yapan içeriğe pycnogenoller ismini vermiştir. Bugün, oligomeric proanthocyanidin kompleks (OPCs) olarak bilinen bu içeriğin 1951'de çam ağacı kabuğundan elde ederek , 1971'de üzüm çekirdeğinden elde ederek; yapısı, etkisi ve toksik olmadığı hakkındaki çalışmaları ilk olarak Masquelier yapmıştı(19).

Proanthociyanidinler; kuruyemişler, tohumlar, sebzeler, meyveler ve ağaç kabuğunda doğal olarak bulunan birleşimlerdir. Üzüm çekirdeği, özellikle proanthociyanidinler için hem nicelik ve hem de nitelik açısından zengin bir kaynaktır.

20. yüzyılın sonlarında ilk defa 1979'da Lancet dergisinde, St. Leger ve arkadaşları daha sonra da 1992'de yine aynı dergide S. Renaud ve arkadaşları "Fransız paradoksu"nu tanımlamışlardır. Fransızların diyetlerinde tereyağı gibi yüksek oranda doymuş yağdan zengin besinleri kullanmaları, sigara tüketiminin fazla olması, yeterli egzersiz yapmamalarına rağmen kardiyovasküler hastalıklardan ölüm risklerinin diğer ülkelerle karşılaştırıldığında daha az olduğu gözlenmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ortaya çıkan paradoksun nedeni olarak Fransızların içinde yüksek konsantrasyonda proanthociyanidinleri bulunduran kırmızı şarabı fazla tüketmeleri olduğu gösterilmiştir. Proanthociyanidinlerin ise alkolde değil üzüm çekirdeğinden kaynaklandığı bulunmuştur. Aynı zamanda bitkilerdeki mavi-mor ve kırmızı pigmentlerin ana maddesi olarak da bilinir(19,20).

Proanthociyanidinler, polifenolik birleşikler olan Flavonoidler'in spesifik bir grubudur. Flavonoidler, subgruplara göre katagorize edilirler. Proanthociyanidinler kondanse taninler grubundadırlar. Tanin'ler hidroksile yapılarıdır, karbonhidratlar ve proteinler ile çözünmez kompleksler oluştururlar ve bu özellikleri ile bağ dokusu korunmasında önemli görevler üstlenirler. Dimer, trimer ve tetramerik proanthociyanidinler düşük molekül ağırlıklı olup, su ve etanolde çözünürler, barsaklardan emilerek tüm dokulara ve plazmaya dağılırlar, bunun ötesinde diğer suda eriyen antioksidan moleküllerden farklı olarak plazma ve dokuda 7-10 gün boyunca mevcudiyetlerini devam ettirerek güçlü antioksidan özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlarlar(19,21).

Yiyeceklerde bulunan Flavonoidlerin sınıflandırılması ve biyokimyasal yapıları Tablo-1'de gösterilmiştir(19).

1990 yılında Londra'da yapılan "Sağlık ve Bioteknolojide serbest radikaller" sempozyumunda prosiyanidinlerde gallat esterifikasyonu arttıkça serbest radikal toplayıcı özelliğinin de arttığı rapor edildi. Oligomerik proanthociyanidinler bu özelliğinden dolayı polimer olanlara göre vucutta proteine daha az bağlanır, serumda daha çok çözünür ve vucutta daha çok dağılım gösterir(19).

Flavonoidler	Temel Yapı
Antosiyanidinler	
Auronlar	
Biflavonoidler	
Kalkonlar	
Dihidrochalkonlar	
Dihidroflavanol	
Lökoantosiyanidin	
Flavanol	
Flavononlar	
Flavavonlar	
Flavonoller	
İzoflavonoidler	
Proantosiyanidinler yada kondanse Taninler	

Tablo- 1 : Flavonoidlerin sınıflandırılması ve biyokimyasal yapıları (Bravo L.Polyphenols.Nutrition Reviews 1998;56:317'den alınmıştır)

2.2.1 -Proantosiyanidinlerin Antioksidan Ve Diğer Özellikleri

Proanthocyanidinlerin antioksidatif özelliği, oksidatif stresle karakterize hastalıklardaki tedavi edici etkinliğiyle ölçülmüştür. Serbest radikal toplayıcı özelliği ise doza bağımlı olarak değişir(22). Farelerde yapılan çalışmalarda oligomerik proanthocyanidinlerin kimyasal olarak indüklenmiş lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, oksidatif hasarla oluşturulmuş beyin ve karaciğerdeki apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir(23).

Halliwell ve ark(23) serbest radikallerle ilgili yaptıkları bir araştırmada güvenli bir antioksidan maddede şu özelliklerin önemli olduğunu söylemişlerdir:

- 1.Absorbsiyon ve vucuda uyumu,
- 2.Efektif doz, kullanım kolaylığı ve toksisite,
- 3.Hücreler, dokular ve ekstraselüler dokuya dağılımı,
- 4.Serbest radikal toplama kabiliyeti,
- 5.Metalle şelasyon aktivitesi,
- 6.Gen ekspresyonu üzerine etkisi,
- 7.Hücresele antioksidanlar ve antioksidan enzimlerle etkileşim,
- 8.Karsinojenik metabolitlerin detoksifikasyonu.

Proanthocyanidinler serbest radikal toplayıcı ve antioksidan etkinliğini; vazodilatör, antikarsinojenik, antiallerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, kardioprotektif, immünoestimulan, antiviral, östrojenik etki ve siklooksijenaz, fosfolipaz A2 ile lipooksijenaz inhibisyonu yaparak gösterirler(24).

İn vitro deneylerde SRT açısından GSPE ile vitamin C ve E çeşitli konsantrasyonlarda karşılaştırılmıştır. Bunu ölçmek içinde sitokrom c redüksiyon sonucu oluşan kimyasal değerler kullanılmıştır. GSPE ile vitamin E karşılaştırıldığında; süperoksit anyonu için %84, hidroksil iyonu için %98 GSPE'nin daha fazla SRT etkinliğinin olduğu saptanmıştır. GSPE ile vitamin C karşılaştırıldığında; süperoksit anyonu için % 43.9, hidroksil iyonu için % 57.5 GSPE 'nin daha fazla SRT etkinliğinin olduğu saptanmıştır. Sato ve arkadaşları, benzer bir çalışmayla; peroksil iyonu için GSPE'nin kardioprotektif etkisini gösterirken, GSPE'nin bu etkisini özellikle vurgulamışlardır(21,25).

1998'de Bagchi ve ark(26) tarafından yapılan in vivo bir çalışmada, hücre içi oksitlenmiş makrofaj ve nöroaktif PC-12 feokromasitoma hücrelerinden hücre kültürü oluşturulmuştur. Bu kültürler, H₂O₂ ve GSPE ile beraber ve yalnızca H₂O₂ ile ekilmiştir.

Laser tarama mikroskop ile yapılan değerlendirmede GSPE olan kültürde, H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif hasarın %70'lere varan oranlarda daha az olduğu grlmştir.

Sitotoksitite açısından yapılan bir çalışmada; MCF-7 meme kanseri, CRL 1739 mide adenokarsinomu, A427 akciğer kanser hücreleri ile normal mide mukozal ve J774.1 mürin makrofaj hücrelerinden in vivo kültürler oluşturulmuştur. 25 ve 50 mg/l konsantrasyonlarında GSPE kültürlere ilave edildiğinde kanser hücreli kültürlerde belirgin sitotoksik etki görülürken diğer iki normal insan hücrelerinde normal büyüme ve gelişmenin devam ettiği grlmştir(27).

Ray ve ark'nın gen ekspresyonu zerine GSPE'nin etkisi araştırılmıştır. Farelere 3-7 gün GSPE oral olarak 100 mg/kg'dan verildikten sonra, aşırı doz (500 mg/kg ,intraperitoneal) asetoaminofen verilen farelerde karaciğer toksisitesi meydana getirilip serum ALT seviyelerindeki değişikliğe ve hepatik hücre DNA hasarına bakılmıştır(28).

Avrupa'da, proanthociyanidinler daha çok venöz yetmezlik, variköz venler ve retinopati, kapiller frajilite gibi mikrovasküler problemleri içeren vasküler hastalıklarda kullanılmaktadır. Fransa'da (Endotelon ticari ismiyle) primer olarak mikrovasküler hastalıklarında kullanılmaktadır. Deneysel olarak ta, mikrovasküler hastalıklarla ilgili yapılan araştırmaların sonucunda proanthociyanidinlerin şu özellikleri gösterilmiştir(19).

1. Hidroksil serbest radikallerine karşı spesifiktir,
2. Lipid peroksit ürünleri ve serbest radikalleri toplayabilmektedir,
3. Örneğin, demirle indüklenmiş lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gibi, serbest demire karşı şelasyon (birleşip toplama) görevi yapar,
4. Serbest radikal oluşumuna neden olan ksantine oksidaz enzimini nonkompetatif inhibe eder,
5. Hiyaluronidaz, elastaz ve kollajenaz enzimlerini inhibe ederek; yumuşak doku yapısının bozulması ve permeabilite artışını engellerler.

Balu ve ark'nın, yaşlanmaya bağlı oksidatif stresin oluşturduğu nöronal hasarla ilgili ratlarla yapılan bir çalışmada GSPE'nin etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, spinal kord ve beyin; örneğin; hipokampus, korpus striatum ve serebral korteksinde yaşlanmaya bağlı oksidatif DNA hasarının birikimini inhibe ettiği gösterilmiştir(29).

Bu anlatılanlara paralel olarak, proantosiyanidinlerin biyolojik aktivitelerinden faydalanarak kullanılan alanlar; ödemin azaltılması, periferel dolaşımın arttırılması, görme keskinliğinin arttırılması, kardiovasküler hastalıklardan koruma, hiperkolestrolemi tedavisi, yumuşak dokunun stabilizasyonu, allerjik ve inflmatuvar cevabın azaltılması ile immün sistemin düzenli çalışması ve son olarak sağlıklı yaşamın devamıdır(19).

GSPE ayrıca; sistemik lupusda antioksidan olarak(30), pankreatitte antiemetik olarak(31), insülin rezistansında niasin ve çinko-metioninle kombine olarak(32), dikkat defisit bozukluğu gibi kognitif hastalıklarda(33) da başarılı klinik sonuçlar alınarak kullanılmıştır.

2.2.2-Proanthocyanidinlerin Farmakolojik Özellikleri

Oral alınabilen flavonoidler ve GSPE barsak hücrelerinde glukronid ile bağlanıp serumda karaciğere kadar albümin ile taşınır. Midenin asidik ortamında tam parçalanmadığından üst gastrointestinal sistemden emilimi daha azdır. Vucuda dağılımı alkol ve suda çözülüp oral alındığı zaman daha iyidir. Oligoproanthocyanidinler, polimerlere göre vucutta glikolizasyonu daha fazla olduğu için 7-10 gün plazmada kalabilir. Diğer suda çözünen antioksidan vitaminlere göre de bu belirgin bir avantajdır. Proanthocyanidinler karaciğerde metilasyon, dehidroksilasyon, oksidasyon, glukronik asitle veya sülfatla konjügasyon gibi biyotransformasyon reaksiyonları ile metabolitlerine ayrılırlar. Maksimum konsantrasyona ulaşma 45 dakikadır ve yarılanma ömrü 5 saattir(18,34).

Bilinen bir ilaç reaksiyonu yoktur. Yapılan in vitro çalışmalarda platelet agregasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu nedenle antiagregan ilaçlarla alınacaksa dikkatli olunmalıdır(35). Rat çalışmalarında, proanthocyanidinlerin yüksek dozlarda (1400-1500 mg/kg/gün) bile toksik ve mutajenik etkisine rastlanmamıştır(36).

Önerilen oral alım dozu 50-150 mg /gün yada 1 mg/kg/gün olup günlük 300 mg önerenler de vardır. Doz aralığı geniş ve güvenlidir. Metabolitler temel olarak idrar ve feçes ile az oranda CO₂ ile elimine edilirler. GSPE bileşikleri tek doz oral uygulama sonrasında hızlı şekilde plazmada görülürler. Oral uygulamadan sonra; uygulanan dozun %70'i ilk 24 saat içinde idrar ve %45'i feçes ile atılır. Temel idrar metabolitleri; hippürik asit, etikkatekol ve m-hidroksifenilpropionik asittir. Gayta metaboliti, etikkatekol'dür(18,35,36)

3. MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuvarında, Necmettin Erbakan Üniversitesi etik kurulunun 29.03.2013 tarih 2013/68 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları ortalama 200-250 g. olan 30 adet Wistar- Albino tipi ratlar kullanıldı. Hayvanların deney süresince istedikleri kadar standart fare yemi ve çeşme suyu ile beslenmelerine izin verildi. Her kafeste beş adet olmak üzere hayvanların laboratuvar koşullara uyum sağlamaları beklendikten sonra, rastlantısal olarak gruplara ayrıldılar.

Sham Grubu (S): (n=10) Laparotomi yapıp koledok mobilize edildi(Şekil 2).

Kontrol Grubu (K): (n=10) Laparotomide koledok bağlanarak (Şekil 3) tıkanma sarılığı oluşturuldu.

Tedavi Grubu(T): (n=10) Laparotomide koledok bağlanarak tıkanma sarılığı oluşturuldu ve 10 gün boyunca 100 mg/kg/gün GSPE(IH636 GSPE ActiVin, InterHealth Nutraceuticals Incorporated, Benicia, Kanada) orogastrik lavaj ile tedavisi verildi.

3.1-Anestezi ve Cerrahi İşlem:

Tüm cerrahi işlemlerde genel anestezi oluşturmak amacı ile 100 mg/kg ketamin HCl (Ketalar flk, Parke-Davis, Morris Plains) ve 25 mg/kg konsantrasyonunda Xylazine HCl (Rompon flk, Bayer) ratlara intraperitoneal 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 laparotomi yapıldı. Sham grubunda koledok bulunup yalnızca mobilize edildi(Şekil 2). Safra kanalı ligasyonu uygulanan ratlarda porta hepatis bulunarak koledok izole olarak disseke edildi(Şekil 3). Sonra pankreasın hemen üzerinden 4/0 ipeklerle iki kez bağlandı. Karın ön duvarı 3/0 vicryl, cilt4/0 prolene ile kapatıldı.



Şekil 2: Koledok eksplorasyonu



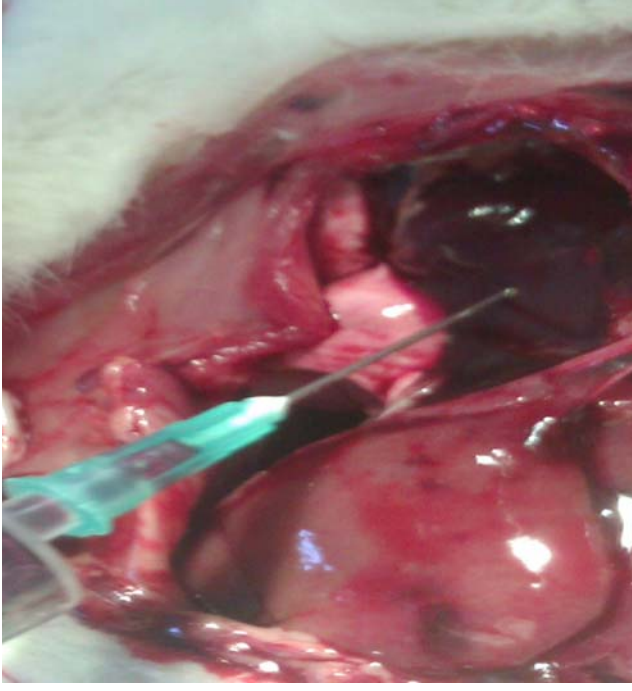
Şekil 3: Koledok ligasyonu

3.2-Tedavi

Bütün grupların örnekleme işlemine kadar istedikleri kadar standart fare yemi ve çeşme suyu almalarına izin verildi. Sham ve kontrol grubuna herhangi bir tedavi uygulanmadı. Tedavi grubuna , postop 1. günden itibaren 10 gün süre ile günde bir kez, sabahları, 100 mg/kg dozunda GSPE orogastrik yolla 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) ratlara intraperitoneal olarak 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 için kalpten 5 cc kan(Şekil 4) ve patolojik değerlendirme için karaciğer , akciğer ve böbrek dokusu alındı. Patoloji için alınan dokular %10 formol ile fikse edildi. Biyokimyasal inceleme için alınan kan biyokimya tüplerine alındı. Bütün bu örnekleme işlemi her bir rat için ortalama 5 dakikada tamamlandı.



Şekil 4: Kalpten kan alınması

3.4- Biyokimyasal değerlendirme:

Biyokimyasal parametreler için relaparotomi seansında, direk olarak kalpten 5 cc kan alındı(Şekil 5). Total bilirubin(T.Bil), Direk bilirubin(D.Bil), Aspartat Aminotransferaz(AST), Alanin Aminotransferaz(ALT), Alkalen Fosfataz(ALP) , Gama Glutamil Transferaz(GGT), Üre, Kreatinin değerleri Olympos/AO 5200 Konsesyum/USA cihazında ölçüldü. Serum Nitrik Oksit(NO) ölçümleri, nitrik oksit kolorimetrik ölçüm kitleri kullanılarak ELİSA yöntemi ile yapıldı. Malondiadehit(MDA) ölçümleri PerkinElmer lambda 25/UV-Vis spektrometers ile Selçuk Üni. Biyokimya laboratuvarlarında manuel olarak çalışıldı.

3.5-Patolojik değerlendirme:

A) Dokuların Hazırlanışı

Tüm dokular %10 luk formalin solusyonu içerisinde 24 saat fiske edildi, bu işlemden sonra ototeknikon cihazında (Leica ASP300) doku takip işlemine alındı. Yaklaşık olarak

16 saatte doku takip işlemleri tamamlanan dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan mikrotom cihazı ile 5µm kalınlığında lizinli lamlara kesit alındı. Kesitler Hematoksilen&Eozin boyası ile boyandı

B) Histopatolojik Değerlendirme

Boyama işlemleri tamamlanan preparatlar tek bir patolog tarafından Olympus BX51 model ışık mikroskopunda değerlendirildi. Dokular aşağıdaki özelliklere göre skorlandı.

Akciğer için;

Özdülger ve ark.'nın (54) yayınında belirtilmiş olduğu şekilde doku hasarı değerlendirme ölçeği kullanıldı.

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.

Böbrek için:

Granülovakuolar dejenerasyon ve renal tübüllerde genişlik semikantitatif olarak Chen ve arkadaşlarının (53) belirttiği şekilde incelendi.

Renal tübül hasarı yok =0

Renal tübül hasarı >%25=1

Renal tübül hasarı %25–50=2

Renal tübül hasarı %50–75=3

Renal tübül hasarı %75–100=4

Karaciğer için;

Işık mikroskopisinde karaciğerde kolestazla oluşan mikro apseler, genişlemiş safra kanalikülleri, portal alanda bulunan nekroz değerlendirildi. Safra infarktlarını ve portal alan nekrozunu değerlendirmede en büyük nekroz ve safra infarkt sahasının büyüklüğüne göre karar verildi. Periportal alandaki mikroapseler ve nekroz yok ise 0 puan, mikroapse ve nekrozun büyüklüğü 1 büyük büyütme sahasından küçük ise 1 puan, 1 büyük büyütme sahasına eşit ise 2 puan, 1 büyük büyütme sahasından büyük ise 3 puan olarak değerlendirildi (55).

3.6-İstatistiksel analiz:

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS 15.0 paket programı ile değerlendirilmiştir. Verilerin frekans ve yüzdesel dağılımları verilmiştir. Normallik testi sonucunda, gruplar arasında farklılık incelenirken ikili gruplarda normal dağılmayan değişkenlerde Mann Whitney U Testi, normal dağılımlı olanlara ise student t testi kullanılmıştır.

Gruplar arası farklılık incelenirken; anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup $p<0,05$ olması durumunda gruplar arası anlamlı farklılığın olduğu, $p>0,05$ olması durumunda ise gruplar arası anlamlı farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

4.BULGULAR

Kontrol ve tedavi grubundaki ratlarda günlük beslenme ve su tüketiminde azalma görüldü. Tıkanma sarılıklı rat gruplarında kilo kaybı ve hareketlerde yavaşlama gözlemlendi. Sham grubundan 2 , kontrol ve tedavi grubunda üçer rat anestezi, laparotomi vs. nedenlerle deney süresince exitus oldu. Bu nedenle çalışma sonuçları shamda 8 ,tedavi ve kontrol grubunda 7'şer rat üzerinden verildi.

Relaparotomide bazı ratlarda yara yeri enfeksiyonu izlendi. Sham grubundaki ratlarda yalnızca karın içi yapışıklıklar mevcuttu. Kontrol ve tedavi grubundaki ratlarda karın içi yapışıklıklara ek olarak karaciğerde ve böbrekte ödem ve konjesyon görüldü. Bahsi geçen gruplardaki ratların safra kesesi ileri derecede hidropik idi(Şekil 5). Akciğerlerde makroskopik olarak anlamlı değişiklik görülmedi.



Şekil 5: Relaparotomi sonrası adezyonlar ve hidropik safra kesesi

Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal parametreler ve histopatolojik inceleme sonuçları tablolarda verilmiştir.

BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Tablo 2 : Grupların Total Bilirubin Değerine Göre Karşılaştırılması

Grup	Total Bilirubin (mg/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	0,11	0,11	0,11	0,11	0,00	S-K
K	7	13,84	14,56	6,15	19,15	4,84	S-T
T	7	12,72	13,36	2,82	18,31	5,10	K-T

S ,K – S,T arasında total bilirubin değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında total bilirubin değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0.565$)

Tablo 3: Grupların Direkt Bilirubin Değerine Göre Karşılaştırılması

Grup	Direkt Bilirubin (mg/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	S-K
K	7	9,92	10,56	4,5	13,5	3,26	S-T
T	7	9,31	10,3	1,7	13,1	3,80	K-T

S ,K – S,T arasında Direkt bilirubin değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında Direkt Bilirubin değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0.749$)

Tablo 4: Grupların AST Değerine Göre Karşılaştırılması

Grup	AST (U/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	237	237,5	181	298	37,41	S-K
K	7	906,7	746,0	179	1488	461,51	S-T
T	7	799,71	713,0	373	1300	303,95	K-T

S ,K – S,T arasında AST değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında AST değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0,406$)

Tablo 5: Grupların ALT Değerine Göre Karşılaştırılması

Grup	ALT (U/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	64,75	63,5	42	95	16,40	S-K
K	7	172,29	129,0	21	337	116,04	S-T
T	7	175,86	187,0	86	257	66,91	K-T

S ,K – S,T arasında ALT değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında ALT değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0,749$)

Tablo 6: Grupların ALP Değerine Göre Karşılaştırılması

Grup	ALP (U/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	117,5	107,5	86	214	39,8	S-K
K	7	307,5	280,0	158	568	144,5	S-T
T	7	363,1	425	230	500	107,3	K-T

S ,K – S,T arasında ALP değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında ALP değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0,338$)

Tablo 7: Grupların GGT Değerine Göre Karşılaştırılması

Grup	GGT (U/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	4,0	4,0	4	4	0,00	S-K
K	7	20,14	15,0	7	30	9,35	S-T
T	7	24,14	28	11	32	8,15	K-T

S ,K – S,T arasında GGT değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında GGT değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0,898$)

Tablo 8: Grupların Üre Düzeyine Göre Karşılaştırılması

Grup	Üre (mg/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	87,6	37,95	31,7	42,0	3,31	S-K
K	7	47,88	47,6	43,2	55,6	3,81	S-T
T	7	44,54	44,7	39,5	50,0	3,71	K-T

S ,K – S,T – T,K grupları arasında üre değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur($p>0,05$)

Tablo 9: Grupların Kreatinin düzeylerine Göre Karşılaştırılması

Grup	Kreatinin (mg/dl)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	0,43	0,43	0,4	0,46	0,023	S-K
K	7	0,34	0,2	0,2	1,2	0,37	S-T
T	7	0,2	0,2	0,2	0,26	0,22	K-T

S,K – S,T arasında Kreatinin değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında Kreatinin değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0,917$)

Tablo 10: Grupların Nitrik Oksit (NO)düzeylerine Göre Karşılaştırılması

Grup	NO (mmol/L)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	1,45	1,45	1,39	1,52	0,051	S-K
K	7	4,92	4,98	4,45	5,6	0,43	S-T
T	7	3,62	3,7	3,1	4,01	0,36	K-T

S ,K – S,T – T,K grupları arasında NO değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır($p<0,05$).

Tablo 11: Grupların Malondiadehit (MDA) düzeylerine Göre Karşılaştırılması

Grup	MDA ($\mu\text{M}/\text{mg prot}$)						İkili Karşılaştırma
	n	Ortalama	Medyan	Min	Max	SS	
S	8	11,70	11,46	11,02	13,8	0,88	S-K
K	7	19,48	18,84	14,55	23,6	3,22	S-T
T	7	20,1	20,1	15,37	24,89	2,97	K-T

S,K – S,T arasında MDA değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$). K,T grupları arasında MDA değişkeni bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p=0,565$)

HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

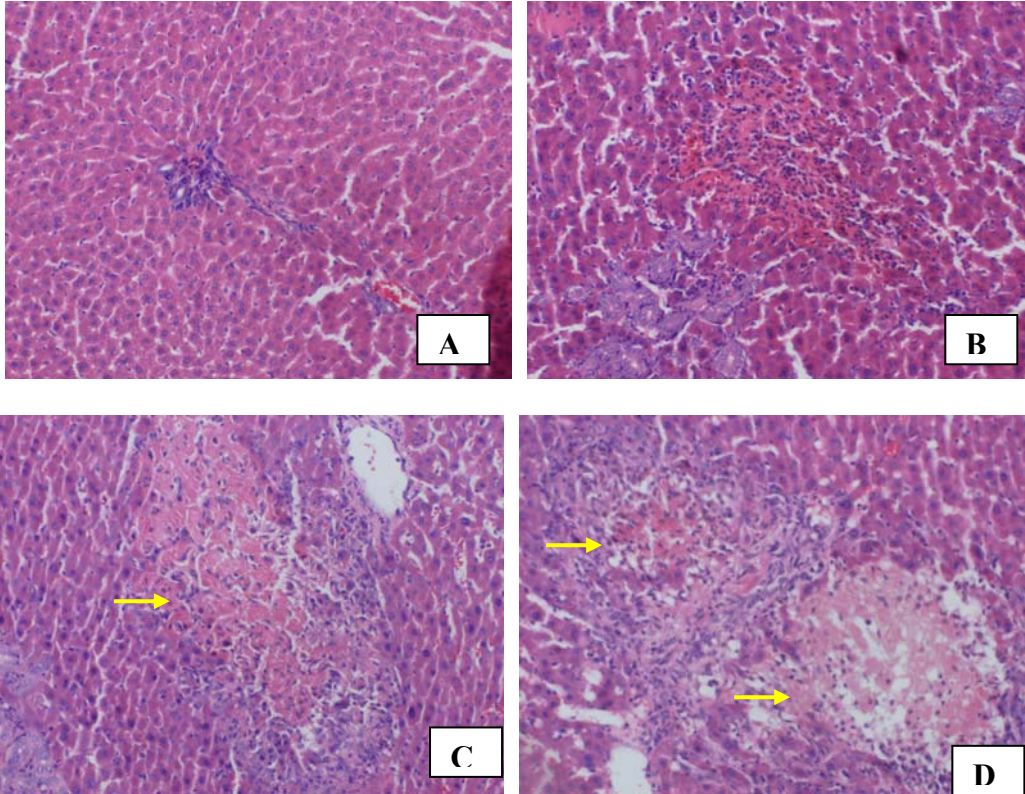
Tablo 12: Grupların Karaciğer Safra İnfarktı ve Nekroza Göre Karşılaştırılması

Karaciğer Safra İnfarktı ve Nekroz											İstatistiksel Analiz	
Grup	Yok		Hafif		Orta		Ağır		Toplam		Ki-kare	P
	n	%	n	%	N	%	n	%	N	%		
S	5	62,5	3	37,5	0	0,00	0	0,00	8	100,00	20,406	0,01
K	0	0,00	0	0,00	2	28,6	5	83,3	7	100,00		
T	0	0,00	1	14,28	5	71,42	1	14,28	7	100,00		

Gruplar arasında safra infarktı ve nekroz açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$).

S grubunun %62,5'un da Safra infarktı ve nekroz görülmezken , K grubunun %28,6'inde orta derece, %83,3'unda ise ağır derecede Safra infarktı ve nekroz görülmektedir.

T grubunun %71.42 'sinde orta derecede safra infarktı ve nekroz görülmektedir(Şekil 7C).



Şekil 6: Karaciğere ait histopatolojik resimler. A: Normal, B: Grade I, C: Grade II, D: Grade III hasarı göstermektedir. Resimlerde kolestazla oluşan mikroabseler ve nekroz görülmektedir (oklar). (Hematoksilen&Eozin x40)

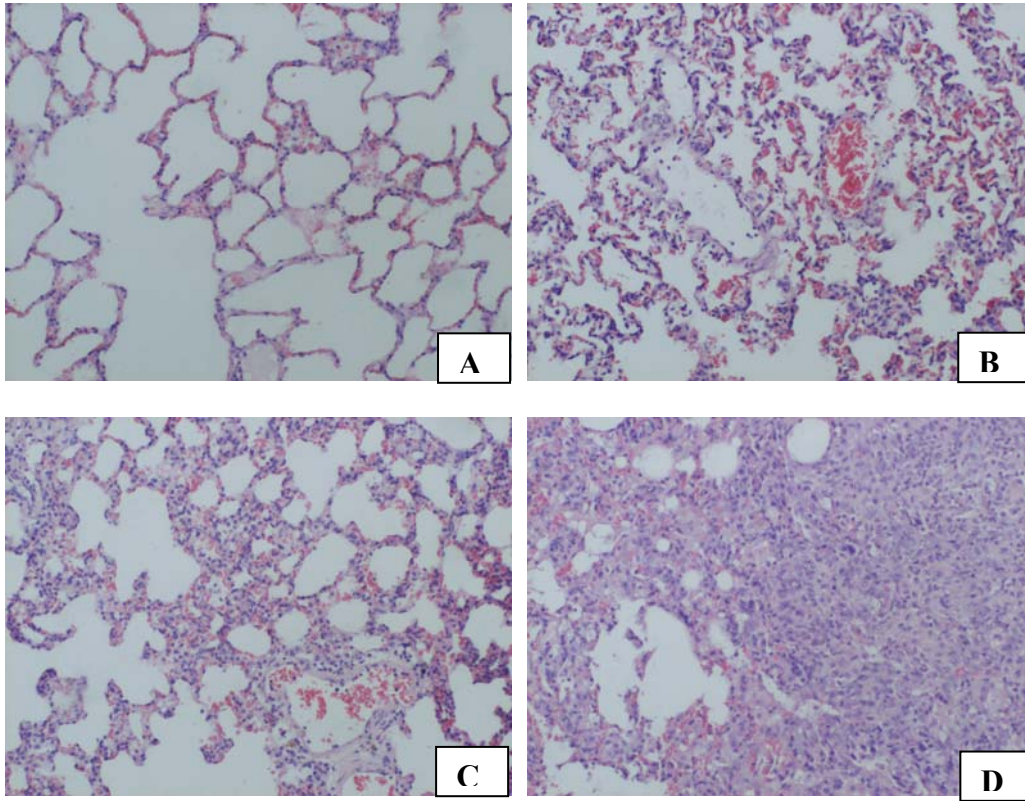
Tablo 13: Grupların Akciğer Nötrofil Lökosit İnfiltrasyonu Göre Karşılaştırılması

Akciğer Nötrofil Lökosit İnfiltrasyonu											İstatistiksel Analiz	
Grup	Yok		Hafif		Orta		Ağır		Toplam		Ki-kare	P
	n	%	n	%	N	%	n	%	N	%		
S	4	50,0	4	50,0	0	0,00	0	0,00	8	100,00	22,786	0,01
K	0	0,00	0	0,00	3	42,9	4	57,1	7	100,00		
T	0	0,00	4	57,14	3	42,85	0	0,00	7	100,00		

Gruplar arasında nötrofil lökosit infiltrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir($p<0,05$).

S grubunun %50 'sinde nötrofil lökosit infiltrasyonu görülmezken, K grubunun %42,9 'unda orta derece, %57,1' inde ise ağır derece nötrofil lökosit infiltrasyonu görülmektedir(Şekil 8 C,D).

T grubunda % 57.14 hafif ,%42.85 orta derecede nötrofil lökosit infiltrasyonu görülmektedir(Şekil 8B,C).



Şekil 7: Akciğere ait histopatolojik resimler. A: Grade I- Normal akciğer, B: Grade II, C: GradeIII, D: GradeIV hasarı göstermektedir. (Hematoksilen&Eozin x100)

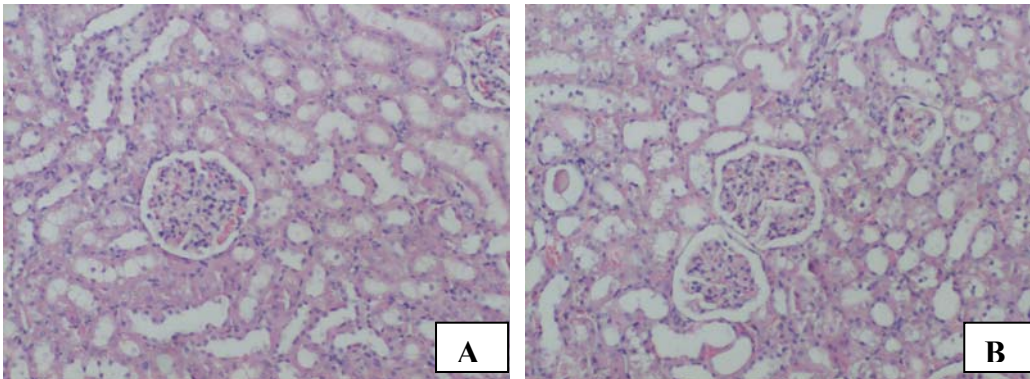
Tablo 14: Grupların Renal Tubül Hasarına Göre Karşılaştırılması

Renal Tubül Hasarı												İstatiksel Analiz		
	yok		<%25		%25-50		%50-75		%75-100		toplam		Ki-kare	P
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
S	2	25,00	6	75,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	8	100	20,631	0,08
K	0	0,00	0	0,00	3	42,85	3	42,85	1	14,28	7	100		
T	0	0,00	1	14,28	4	57,14	2	28,57	0	0,00	7	100		

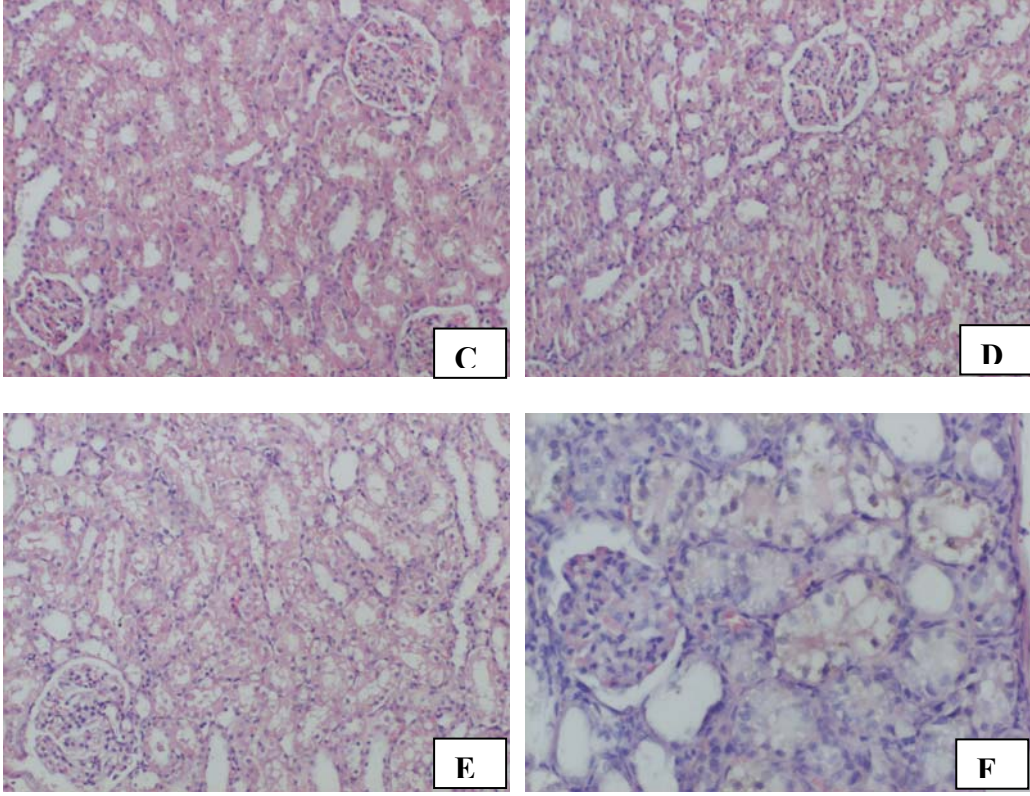
Gruplar arasında renal tubül hasarı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir($p>0,05$).

S grubunun %25'inde renal tubül hasarı görülmezken(Şekil 9A) , K grubunun %42.85 'inde orta ve yüksek derece, %14.28'inde ise şiddetli derece renal tubül hasarı görülmektedir(Şekil 9 C,D,F).

T grubunda ise % 57.14 ünde orta derecede renal tubül hasarı görülmektedir.



Şekil 8: Böbreğe ait histopatolojik resimler. A: Normal böbrek, B: Grade I, hasarı göstermektedir. (Resim A,B: Hematoksilen&Eozin x100 Resim)



Şekil 9: Böbreğe ait histopatolojik resimler. C: Grade II, D: Grade III E ve F: Grade IV hasarı göstermektedir. (Resim C,D,E: Hematoksilen&Eozin x100 Resim F: Hematoksilen&Eozin x200)

5.TARTIŞMA:

Kolestazis, insan karaciğer hastalıklarının geniş yelpazesi içerisindeki bir gruptur(37). Tıkanma sarılığı, karaciğerde üretilen safranin intrahepatik ve ekstrahepatik safra yollarındaki nedene bağlı tıkanıklık sonucu gastrointestinal sisteme akamaması ile oluşan klinik bir tablodur. Tıkanma sarılığında ARDS, renal yetmezlik, hepatorenal sendrom, kardiyovasküler problemler gibi çok ciddi klinik tablo gelişir (2,38). Tıkanma sarılığında oluşan bir başka olay ise karaciğerdeki oksidatif antioksidan sistemlerinin dengesindeki bozulma ve lipid peroksidasyonundaki artmadır (3, 11).

Uzamış tıkanma sarılığında karaciğere ait majör komplikasyonlar; kolanjit, koagülasyon defektleri ve ilerleyici karaciğer hasarının sonucu olarak gelişen biliyer fibrozis ve sirozu kapsar. Tıkanma sarılıklı hastalarda postoperatif dönemde sepsis, renal yetmezlik ve pulmoner disfonksiyon gibi komplikasyonlarda sık ortaya çıkar(9). Tıkanma sarılığında hücre içi yüksek safra tuzları ve bilirubinin toksik etkisi, portal ve sistemik endotoksemiye, sıvı-elektrolit kaybına, beslenme bozukluğuna yol açarken; safranin barsağa akmasına bağlı olarak intestinal florada değişiklikler, intestinal mukozal bariyerde ve immün sistemde bozukluklar oluşabilmektedir(2).

Sarılıklı hastalarda yüksek serum bilirubin değerleri ile operatif mortalite arasında bir korelasyon bulunmaktadır (39). Tıkanma sarılıklı hastalarda safra yolu cerrahisi sonrası morbidite ve mortalitede en önemli iki faktör sepsis ve renal yetmezliktir(38).

Son yıllarda giderek artan çalışmalar ile oksidatif stresin önlenmesinin kolestatik karaciğer hasarını önlemede önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Safra yolu tıkanıklıkları üzerine antioksidanların etkileriyle ilgili Kawada ve ark.(43) yaptığı çalışmada hücre kültürü ortamında, rat hepatik stellat hücre ve kupffer hücrelerinin fonksiyonları üzerine antioksidan ajanların etkilerini araştırmışlardır. Bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları, aynı zamanda karaciğer hasarından sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada resveratrol, quersetin ve asetilsistein bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları yoluyla oluşan hasarı azaltmışlardır. Bu etki, kullanılan ajanların antioksidan özelliklerine bağlanmıştır.

Son 2–3 dekatta kanser dahil birçok patolojik olayda SOR'in rolü olduğu bilinmektedir(44). SOR'in üretimi parankim hücresi, endotel ve inflamatuvar hücrelerde olmaktadır. SOR'i normal dokuda granulositlerde bulunurlar ve immün sistem içinde görev alırlar. Sitotoksik etkileri, düzeyleri artıp granulosit dışına çıkınca başlar. Serbest oksijen radikallerinin düzeylerinde azalma doku hasarını azaltır, iyileşmeyi hızlandırır

(44). Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Yani sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa sözkonusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerini bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Çoğu hastalıklarda artmış reaktif oksijen radikalleri (ROR) hastalığın ana sebebi değildir. Ancak primer bozukluğa ikincil olarak oluşurlar ve ardından patogeneze de yer alırlar(45).

Biz çalışmamızda tıkanma sarılığına bağlı oluşan bu organ hasarını önlemek için güçlü bir antioksidan olan proanthociyanidin'i kullanmayı amaçladık. Proanthociyanidinler, polifenoller sınıfında yer alan, doğal olarak bulunan antioksidan maddelerdir(46,47). Antioksidan özellikleri o kadar kuvvetlidir ki Bagchi ve ark. yaptıkları çalışmalarda üzüm çekirdeği proanthociyanidin özünün antioksidan özelliğinin vitamin C, vitamin E ve β -karotenden çok daha üstün olduğunu göstermişlerdir(21,48). Üzüm çekirdeği proanthociyanidin özünün 100 mg/l konsantrasyonunun süperoksit anyonu ve hidroksil radikalini inhibe etme oranları sırasıyla %78 ve %81 olarak bulunmuştur. Aynı dozda vitamin C, bu iki SOR'nin %12 ve %19'unu inhibe ederken, vitamin E'nin sırasıyla %36 ve %44'ünü inhibe ettiği gösterilmiştir(46). Ayrıca, proanthociyanidin'in fosfolipaz A2, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederek; antikarsinojenik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, kardiyoprotektif ve immün sistem uyarıcı özellikleri bulunmaktadır(21,24,46,47).

Rat deneysel tıkanma sarılığı modeli için en sık kullanılan hayvandır. Sarılık sadece koledok bağlanarak veya bağlanıp tam kesi uygulanarak oluşturulabilir(49,50). Ligasyonun distalden yapılması durumunda koledoğa açılan çok sayıdaki pankreatik kanalın bağlanmasıyla pankreatit oluşabilir, bundan dolayı koledok ligasyonun hilusa yakın olarak yapıldı.

Koledok bağlanan ratlarda bilirubin seviyesi saatler içerisinde yükselir (49). Bizim çalışmamızda da yüksek değerler elde edildi. Ratlarda kenodeoksikolik asit karaciğerdeki majör safra asidi olan betamurikolik aside dönüştüğünden dolayı düşük serum düzeylerindeki bilirubin insana göre anlamlı olarak daha hepatotoksik etki gösterir (51). Bu çalışmada bilirubin değerleri 10 günün sonunda tedavi ve kontrol grubunda ortalama 12 mg/dl civarındaydı.

Geç dönem kolestazda ise safra infarktı ve portal alan değişiklikleri oluşur. Safra infarktı; artmış biliyer basınca bağlı olarak kanal hasarı, safra komponentlerinin hepatositlere direkt etki yapması, kandaki bilirubin ve safra asitlerinin indirekt olarak etkileri sonucu oluşur(52). Tıkanmanın ilk haftasında portal alanda ödem, nötrofil ve lenfositler görülebilir. Portal inflamasyonla birlikte periportal bölgedeki safra kanalı proliferasyonu gözlenir. Tıkanıklık devam ederse kronik kolestazın göstergeleri olan periportal ve periseptal alanlar boyunca köprüleşen fibrozis ve fibröz septalar gözlenir. Safra tıkaçları dağınıktır veya yoktur (52). Bizim çalışmamızda hem tedavi hem kontrol gruplarında biyokimyasal parametrelerde artış görüldü. Histopatolojik olarak karaciğerde mikroabseler ve nekroz görüldü. Sham Grubundaki biyokimyasal parametreler ve histopatolojik veriler kontrol ve tedavi grubundaki ratlara göre anlamlı olarak düşük seyretti($p<0.05$). Tedavi grubundaki biyokimyasal parametreler kontrol grubu ile karşılaştırılınca anlamlı fark bulunmadı($p>0.05$) (Tablo 2-6). Ancak tedavi grubu ve kontrol grubu arasında histopatolojik olarak karaciğerdeki mikroabseler ve nekroz alanları istatistiksel anlamlı oranda azaldığı görüldü ($p<0.05$)(Şekil 6).

Tıkanma sarılığı sonrası gelişen lipid peroksidasyonunu gösteren serum MDA ve NO düzeyleri karşılaştırıldığında, çalışmamızda Sham grubunda her iki parametre anlamlı düşük bulundu. Ancak tedavi grubunda kontrol grubuna göre MDA değerlerinde istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. NO değerlerinde tedavi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı fark vardı(Tablo 10,11).

Çelikbaş ve ark.(59) tıkanma sarılığında akciğer hasarını CAPE'nin önlemedeki etkinliğini araştırdıkları çalışmada, hasarın; lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonuna bağlı olduğunu göstermişlerdir. CAPE'nin lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonunu azaltarak tıkanma sarılığı ile oluşan akciğer hasarını azaltmada etkin olduğunu bildirmişlerdir. Bizde yaptığımız çalışmada proanthociyanidin lipid peroksidasyonu, oksidatif stresi ve nötrofil migrasyonunu azalttığını ve akciğer hasarının istatistiksel azalttığını gösterdik (Şekil 7).

Sapmaz ve ark.(57) domuzlar üzerinde yaptığı deneysel akciğer naklinde iskemi ve reperfüzyon hasarının önlenmesinde proantosiyanidin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada akciğer naklinde uygulanan hastalarda inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak bunlara bağlı gelişen İ/R hasarını önlediği belirtilmiştir. Kontrol gruplarının değerlendirilmesinde, proantosiyanidin normal akciğer parankimine hasar vermediği ve oksidatif stres parametre seviyelerini etkilemediği saptanmıştır. Transplantasyon gruplarının değerlendirilmesinde proanthociyanidin parankim hasarını önlediği saptanırken oksidatif

stres parametrelerini düşürmediği saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da proanthociyanidin parankim hasarını önlediği gösterildi(Tablo 12,13,14). Ancak oksidatif stres parametrelerinden NO'te istatistiksel olarak anlamlı düşme sağlanırken MDA 'da düşme olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi(Tablo 10,11).

Chang ve ark.'nın (10) yapmış olduğu çalışmada; tıkanma sarılığı olan ratların akciğer parankiminde pulmoner kapillerlerde latex partikülü içeren büyük mononükleer makrofaj benzeri hücreler saptanmıştır. Tıkanma sarılığı olan bu ratlarda pulmoner intravasküler fagositoz artmakta, akciğer ödeme neden olmaktadır. Bunun da sarılıklı hastalarda sepsis ve ARDS' ye yatkınlığa sebep olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada Özdülger ve ark' nın(54) yayınında belirtilmiş olduğu doku hasarı değerlendirme ölçeği kullanıldı. Bu ölçeğe göre alınan verilere bakıldığında sham grubundaki hasar diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı az bulundu. Yine bu skalaya göre akciğer nötrofil lökosit infiltrasyonu tedavi grubunda , kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü($p<0.05$)(Şekil 7).

Yapılan bir deneysel çalışmada, sıçanlarda ana hepatik kanal ligate edilmiş ve bilirubinemiye bağlı olarak serbest radikallerle böbrekte gelişen hasar değerlendirilmiştir. Bu çalışmada melatonin verilen ratlarda serbest radikallere bağlı gelişen böbrek hasarı anlamlı derecede azalmış, serum MDA düzeyleri düşmüş ve serumda total antioksidan etkinlik artmıştır (8). Bizim çalışmamızda MDA değerinde beklediğimiz anlamlı düşme olmadı(Tablo 11). Ancak histopatolojik olarak böbrekte organ hasarı azaldığı halde istatistiksel anlamlı düşme görülmedi(Şekil 8,9).

Tıkanma sarılığında böbrek fonksiyonlarında gelişen bozulmanın etyolojisi anlaşılammakla birlikte hücresel düzeyde ve hücre dışı ortamda gelişen hipovolemi, serbest oksijen radikallerinde artış, endotoksemi ve antioksidan fonksiyonlarda görülen azalma önemli rol oynadığı düşünülmektedir(40,41). İntestinal düzeyde gelişen endotoksemide böbrek kan akımının azalması, sarılığın ortaya çıkarttığı oksijen yetersizliğinin böbrek tübüllerinde yarattığı sensitizasyon böbrek yetmezliğinin sarılıktaki patofizyolojisi için düşünülmektedir (41,42).

Özdamar ve ark.(58) yaptıkları renal iskemi reperfüzyon hasarında GSPE etkisi adındaki çalışmada GSPE verilmesiyle, ratlarda renal İ/R hasarı belirgin azaldı. Oksidatif hasarda serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun stabil metaboliti olan MDA seviyelerini anlamlı düşüğünü göstermişlerdir. Reperfüzyon hasarının belirteci olan AST ve TNF –alfa'yı tedavi grubunda belirgin düşmüş olarak saptamışlardır. İ/R ile oluşan renal doku hasarına reaktif oksijen radikallerinin neden olduğunu ve GSPE'nin oksidatif

renal hasara karşı koruyucu etkisinin olduğunu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda da organ hasarı azaldı. Böbrekteki renal tubül hasarındaki düşme ise anlamlı değildi(Tablo 14).

Chen ve arkadaşlarının (53) belirttiği şekilde renal tubül hasar skalasında sham grubundaki ratlarda oluşan renal tubül hasarı tedavi ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştı. Tedavi grubu fayda gördüğü halde kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir($p=0.08$)(Tablo 14). Tıkanma sarılığında gelişen böbrek yetmezliğinin nedeni olarak azalan sıvı alımının rolü olduğunu düşündük, sıçanlarda sarılık düzeyleri arttıkça günlük hareket, sıvı ve gıda alımında rölatif biz azalma görüldü. Bunu takip eden prerenal azotemi ile safra pigmentinin tubüllerde çökmesi ile hasarın hızlandığı düşünüldü. Her ne kadar antioksidan tedavi verilse de dokuda gelişecek hasarın tam önüne geçilemeyeceği , ancak bu ilaçlar tıkanma sarılığı devam ettiği halde, SOR'in ve artan bilirubinün yaratacağı doku hasarını azaltacaklarını düşündük.

Küçük ve ark'nın. çalışmalarında deneysel tıkanma sarılığı modelinde tübüler epitelyum hücrelerde hem kontrol hem tedavi gruplarında değişiklikler bildirmişlerdir. Proksimal tübüllerde safra pigmenti çöküşü, glomeruler dejenerasyon gözlemlenmemiştir. Vasküler yatakta göllenme, venöz dilatasyon görülmüştür(56). Bizim çalışmamızda çalışma ve kontrol grubunda proksimal tubüllerde safra pigmentleri görülmüştür. Tedavi edilen sıçanlarda böbrekte gelişen hasar istatistiksel olmasada azalmıştır(Şekil 9). Antioksidan tedavi ile böbrek fonksiyon testlerinde erken dönemde gelişen yükselme durdurulmuştur. Tedavinin sarılığın erken döneminde başlamasının karaciğer gibi böbrek hasarında azaltacağı düşünülmüştür. Safra pigmentinin çökmesi ile dokuda gelişen hasarın böbrek fonksiyon testleri, MDA ve NO gibi oksidan aktivite parametreleri ile erken dönemde tanınmasının mümkün olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak yaptığımız deneysel çalışmada tıkanma sarılığında karaciğerde meydana gelen mikroabseler ve nekrozu, akciğerde nötrofil infiltrasyonunu proanthociyanidin verilmesi ile anlamlı düzeyde azaldığını gösterdik. Ayrıca renal tubül hasarında proanthociyanidin verilmesi ile istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaldığını gösterdik. Biz proanthociyanidin'in tıkanma sarılığına bağlı organ hasarı tedavisinde kullanılması için daha geniş, karşılaştırmalı, deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olmakla birlikte yarar sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

6.SONUÇLAR:

Tıkanma sarılığında proanthocyanidin'in organ hasarını önlemedeki etkinliğinin araştırıldığı bu çalışmada varılan sonuçlar şöyle sıralanabilir;

1. Tıkanma sarılığına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrekte hasar oluşmaktadır.
2. Bu organ hasarının gelişmesinde; lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonu etkilidir.
3. Proanthocyanidin yukarıda sayılan lipid peroksidasyonu oksidatif stres ve nötrofil migrasyonunu azaltarak tıkanma sarılığı ile oluşan organ hasarını azaltmada etkin olduğunu gösterdik.
4. Biyokimyasal olarak gösterilen antioksidan etkinlik, oksidatif stres ve nötrofil migrasyonu azaltma etkileri, biyokimyasal parametrelerde beklenen düşme sağlanamadı ancak, histopatolojik olarak faydalı olduğu gösterildi.
5. Proanthocyanidin tıkanma sarılığına bağlı organ hasarı tedavisinde kullanılması için daha geniş, karşılaştırmalı, deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7.KAYNAKLAR

- 1-Schwartz SL Liver. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Husser WC(eds). Principles of Surgery(7th). Mc Graw-Hill, Philedelphia 1999, pp 1395- 437
- 2- Scott-conner CEH, Grogan JB. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. J surg Res 1994; 57;316- 35
- 3- Halim AB. Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally- induced liver damage. Ann Clin biochem 1997; 34: 656- 63
- 4- Krahenbuhl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondrial from bile duct ligated rats. Hepatology 1995; 22: 607- 12
- 5- Chow CK. Vitamin E and oxidative stres. Free Radic Biol Med 1991;11: 215- 32.
- 6-Canturk NZ. Cytoprotective effects of alpha tocopherol against liver injury induced by extrahepatic biliary obstruction. East Afr Med J 1998; 75: 77- 80
- 7- Schimpl G. The effect of vitamin C and vitamin E supplementation on bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common bile duct ligated rats. Eur Surg Res 1997; 29: 187- 94
- 8- Lubredo L, Barrie MS, Woltering EA. DMSO protects against adriamycin – induced skin necrosis. J.Surg Res 1992; 53: 62- 5
- 9- O’conner MJ. Mechanical biliary obstructioans. Am Surg 1985; 51: 245- 51
- 10-Shih-Wen Chang and Narumi Ohara. Chronic Biliary Obstruction Induces Pulmonary Intravascular Phagocytosis and Endotoxin Sensitivity in rats. J Clin Invest 1994; 94: 2009-
- 11- Parola M, Leonarduzzi G, Robino G, et al. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. Free Radical Biol Med. 1996; 20: 351– 9.
- 12-Kenneth BB, Bruce NA. The free radical theory of aging matures. Phsiol Review 1998; 78: 547– 81.
- 13-Elstner EF. Oxygen radicals: Biochemical basis for their eficiancy. Klin Wochenschr 1191; 69: 949– 56.
- 14- Krahenbuhl S, Weber FL Jr, Brass EP. Decreased hepatic glycogen content and accelerated response to starvation in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. Hepatology 1991; 14: 1189– 95.

- 15-O'Connor MJ. Mechanical biliary obstruction. A review of the multisystemic consequences of obstructive jaundice and their impact on perioperative morbidity and mortality. *Am Surg* 1985; 51:245–51.
- 16-Muriel P, Suarez OR. Role of lipid peroxidation in biliary obstruction in the rat. *J Appl Toxicol* 1994; 14:423–6.
- 17- Li W, Chan AC, Lau JY, Lee DW, Ng EK, Sung JJ, et al. Superoxide and nitric oxide production by Kupffe cells in rats with obstructive jaundice: Effect of internal and external drainage *J of Gastr. & End.* 2004; 19:160–5.
- 18-Muriel P, Suarez OR, Gonzalez P, Zuñiga L. Protective effect of S-adenosyl-methionine on liver damage induced by biliary obstruction in rats: a histological, ultrastructural and biochemical approach. *J Hepatol* 1994; 21: 95– 102.
- 19-Fine MA. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. *Altern Med Rev* 2000;5: 144- 51.
- 20-Leigh MJ. Health Benefits of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE). *Nutrition Noteworthy* 2003; 6:1-5.
- 21-Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuzynski CA, et al. Free radicals and grape seed and proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention . *Toxicology* 2000;128:187- 97.
- 22- Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;95: 179- 89.
- 23- Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Bagchi DJ, Balmoori J. et al. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen Pharmacol* 1998;30:771-6.
- 24-Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganda G. Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 1996;20: 933- 56.
- 25-Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagshi D, Das DK. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 1289-97.
- 26-Bagchi D, Kuszynski CA, Balmoori J, Bagchi M, Stohs SJ. Hydrogen peroxide-induced modulation of intracellular oxidized states in cultured macrophage J774.1 and

neuroactive PC-12 cells, and protection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Phytother Res* 1998;12:568-71.

27- Ye X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, McGinn TR, et al. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem* 1999;196:99-108.

28-Ray SD, Patel D, Wong V, Rinkovsky A, Fu K, Bagchi D. Effect of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on acetaminophen-induced nephrotoxicity. *J Am Coll Nutr* 1998; 17:508

29-Balu M, Sangeetha P, Murali G, Panneerselvam C. Modulatory role of grape seed extract on age-related oxidative DNA damage in central nervous system of rats. *Brain Res Bull.* 2005;68: 469-73.

30- Stefanescu M, Matache C, Onu A, Tanaseanu S, Dragomir C, Constantinescu I, et al. Pycnogenol efficacy in the treatment of systemic lupus erythematosus patients. *Phytother Res* 2001;15:698-704.

31- Banerjee B, Bagchi D. Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract in the treatment of chronic pancreatitis. *Digestion* 2001;63: 203-6.

32-Preuss HG, Bagchi D, Bagchi M. Protective effects of a novel niacin-bound chromium complex and a grape seed proanthocyanidin extract on advancing age and various aspects of syndrome X. *Ann N Y Acad Sci* 2002;957: 250-9.

33- Liu FJ, Zhang YX, Lau BH. Pycnogenol enhances immune and haemopoietic functions in senescence-accelerated mice. *Cell Mol Life Sci* 1998;54: 1168-72.

34- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001;74:418–25.

35- Pütter M, Grottemeyer KH, Würthwein G, Araghi-Niknam M, Watson RR, Hosseini S, et al. Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by aspirin and pycnogenol. *Thromb Res* 1999;95:155- 61.

36-Chang WC, Hsu FL. Inhibition of platelet aggregation and arachidonate metabolism in platelets by procyanidins. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1989;38:181- 8.

37-Trauner M, Meier PJ, Boyer JL. Molecular pathogenesis of cholestasis. *N Engl J Med.* 1998 Oct 22;339 :1217-27

- 38- Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Elton RA, Davies GC. Factors affecting mortality and morbidity after surgery for obstructive jaundice . Gut 1984; 25: 104.
- 39- Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Davies GC. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice: a review of 373 patients. Gut 1983;24: 845-52.
- 40- Deitch EA, Sittig K, Li M, Berg R, Specian RD. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from gut. Am J Surg 1990; 159:79–84.
- 41- Bomzon A. Bile acids, oxidative stress and renal function in biliary obstruction Semin Nephro 1997; 17: 549–62.
- 42- Inan M, Sayek I, Tel BC, Sahin-Erdemli I. Role of endotoxin and nitric oxide in pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. B J Surg 1997; 84: 738–47.
- 43- Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. Hepatology 1998;27:1265-74.
- 44- Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of art. Am J Med. 1991; 91:2–7
- 45-Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenezi ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Association 1997; 3-4: 96-101.
- 46- Karaaslan O, Ulusoy MG, Kankaya Y, Tiftikcioglu YO, Kocer U, Kankaya D, et al. Protective effect of grape seed extract against ischemia/reperfusion injury in a rat epigastric flap model. J Plast Reconstr Aesthet Surg 2010 ;63:705-10
- 47- Sizlan A, Guven A, Uysal B, Yanarates O, Atim A, Oztas E, et al. Proanthocyanidin protects intestine and remote organs against mesenteric ischemia/reperfusion injury. World J Surg 2009;33:1384-91
- 48- Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG. Et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. Mutat Res 2003 ;523-524:87-97.
- 49- Castaing D, Houssin D, Bismuth H. Hepatic and Portal Surgery in Rat. Paris:Masson, 1980; pp 20–38.

- 50- Cameron GR, Prasad LBM. Recovery from biliary obstruction after spontaneous restoration of obstructed common bile duct. *J Pathol Bacteriol* 1960; 80: 127–31.
- 51- Alptekin N, Mehmetçik G, Uysal M, Aykaç-toker G. Evidence for oxidative stress in the hepatic mitochondria of bile duct ligated rats. *Pharmacol Res* 1997; 36:243– 7.
- 52- Cotran RS, Kumar V, Collis T (Eds). *Robbins Pathologic Basis Disease* (6th ed). WB Saunders Company, Philadelphia 1999; pp 100–1
- 53- Chen CY, Shiesh SC, Tsao HC, Chen FF, Lin XZ. Protective effect of melatonin on renal injury of rats induced by bile ligation. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 927– 31.
- 54- Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, Cinel L, Avlan D, Unlu A, et al. The protective effect of N-Acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *Shock* 2003 ;19:366-72.
- 55- 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 :17-22.
- 56- Kucuk C, Sozuer E, Ikizceli I, Avsarogullari L, Keceli M, Akgun H, et al. Role of oxygen free radical scavengers in acute renal failure complicating obstructive jaundice. *Eur Surg Res* 2003; 35:143–7.
- 57- Sapmaz E. Akciğer naklinde iskemi ve reperfüzyon hasarının Önlenmesinde proantosiyanidin etkisinin Araştırılması (deneysel çalışma) . Ankara: GATA;2010
- 58- Özdamar MY. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin Ekstresinin Etkisi(Uzmanlık Tezi) .Konya:Selçuk Ün.;2008
- 59- Çelikbaş B.Deneysel Tıkanma Sarılığı Modelinde Caffeic acid phenethyl ester'in Akciğer hasarını önlemedeki etkinliği(uzmanlık tezi). Isparta: Süleyman Demirel üni.;2007