

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ  
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Serhat OĞUZ

**RATLARDA KARACİĞER İSKEMİ- REPERFÜZYON  
SONRASI MEYDANA GELEN KARACİĞER HASARI  
ÜZERİNE SESAMİNİN ANTİOKSİDAN VE DOKU  
KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

(Uzmanlık Tezi)

**Dr.Ahmet Orhan SUNAR**

Edirne – 2019

## TEŐEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince destek, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarıma teőekkür ederim. Tez yazım aşamasında yönlendirmeleriyle ve bilgisiyle beni destekleyen tez danışmanım Prof. Dr. Serhat OĞUZ'a ve yardımcı tez danışmanım Dr.Öğr.Üyesi.İ.Ethem CAKCAK'a teőekkür ederim. Tez çalışması sırasında bana yardımcı olan Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya ve doktora öğrencileri Nihayet KANDEMİR, Muhammet Ali AYDIN, Neőe ULUSOY, Esra AKBAŐ TOSUNOĞLU ve Tuğba KIZIL GÜL'e; Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr. Ufuk USTA'ya, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Dr.Öğr. Üyesi Selçuk KORKMAZ'a teőekkür borçluyum. Genel Cerrahi uzmanlığı konusunda kendime rol model aldığım dedem Uzm.Dr. Orhan SUNAR'a da teőekkür ederim. Ayrıca 5 yılı aşan asistanlık sürecimde ilgisi ve sabrı ile hep yanımda olan ve bu zorlu süreçte desteğini esirgemeyen sevgili eşim Z.Seda SUNAR'a ve aileme sonsuz teőekkürler.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI</b> .....	3
<b>OKSİDANLAR</b> .....	6
<b>ANTIOKSİDANLAR</b> .....	6
<b>BİYOKİMYASAL PARAMETRELER</b> .....	9
<b>RAT KARACİĞER ANATOMİSİ</b> .....	11
<b>SESAMİN</b> .....	11
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	14
<b>BULGULAR</b> .....	18
<b>TARTIŞMA</b> .....	31
<b>SONUÇLAR</b> .....	37
<b>ÖZET</b> .....	39
<b>SUMMARY</b> .....	41
<b>KAYNAKLAR</b> .....	43
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ALT</b>	: Alanin Aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat Aminotransferaz
<b>ALP</b>	: Alkalen Fosfataz
<b>ATP</b>	: Adenozin 5' Trifosfat
<b>GGT</b>	: Gamaglutamil Transferaz
<b>LDH</b>	: Laktat Dehidrogenaz
<b>İR</b>	: İskemi-Reperfüzyon
<b>İRH</b>	: İskemi Reperfüzyon Hasarı
<b>İRS</b>	: İskemi Reperfüzyon + Sesamin
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MPO</b>	: Myeloperoksidaz
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil Radikali
<b>OSİ</b>	: Oksidatif Stres İndeksi
<b>pH</b>	: "Power of hydrogen" (hidrojen gücü)
<b>PMNL</b>	: Polimorf Nüveli Lökositler
<b>SOD</b>	: Süperoksid Dismutaz
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Seviye
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Seviye

## GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğerin birden çok segmentini içeren geniş yaralanmaları ya da büyük intrahepatik lezyonların rezeksiyonu gibi Pringle manevrasının uygulandığı çok sayıda cerrahi prosedürde iskemi periyodu meydana gelmektedir. Bu operasyonlar haricinde nakil sırasında da karaciğerin tamamının ya da ilgili lobunun rezeksiyonundan alıcıda tekrar kanlanmasına kadar geçen sürede iskemi meydana gelmektedir (1).

Reperfüzyon ise kan akışının yeniden sağlanması durumu olup; bu durum karaciğerde iskemi sebebiyle halihazırda oluşmuş hasarı arttırmaktadır. Bu duruma iskemi – reperfüzyon hasarı (İRH) adı verilir. Bu durum karaciğer operasyonları ve nakillerinden sonraki işlev azalması ya da tamamıyla kaybının önemli sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (2). Karaciğer nakli sonrası erken organ kaybının %10 kadar sebebi (İRH)'dir; bunun yanında akut ve kronik organ reddi insidansında artışa yol açabileceği de gösterilmiştir (3).

İR ile ilişkili iki tip karaciğer hasarı mevcuttur. Sıcak İRH, karaciğer nakli ya da çeşitli travma – şok durumlarında in situ ortaya çıkmakta olup, hepatoselüler hasar ile karakterizedir. Soğuk İRH ise organın ex vivo korunması sırasında mikrosirkülasyonun bozulması sonrası hepatik sinusoidal endotelial hücrelerin hasarı nedeniyle olur ve sıklıkla sıcak İRH ile birliktelik gösterir. Her iki iskemi reperfüzyon (İR) tipinde de karaciğer Kupffer hücreleri ve nötrofillerin aktivasyonu, sitokin ve kemokinlerin üretimi ve oksijen radikallerinin birikimi, adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu ve dolaşımdaki lenfosit ve/ veya monositlerin dokuya infiltrasyonu söz konusudur (4). Karaciğer İR'de antioksidan ajanları kullanarak faydalı etkiler bulan çalışmalarda şu moleküller test edilmiştir: alfa- tokoferol, askorbik asit, melatonin, pentoksifilin, lipoik asit, trimetazidin, glutamin, N-asetilsistein, busillamin, yeşil çay ekstresi,

eesuperoksit dismutaz deriveleri, katalaz, allopurinol, eritropoietin, hidrojen sülfid, dimetil sülfoksit, idebenon, Wy14642, propofol, metilen mavisi, metilprednizolon, acanthopanax divaricatus. Bu çalışmaların çoğu ratlarda yapılmış olmakla birlikte fare ve tavşan çalışmaları da mevcuttur (5–12).

Sesamin, “*sesamum indicum*” (susam) bitkisinin tohumunda ve yağında bol miktarda bulunan ve bunlardan saflaştırılabilen lignanlardan biridir. Antihipertansif ve kolesterol düşürücü etkisi yanında antioksidan etkisi çok sayıda hayvan deneyi ile ortaya konmuştur (13).

Daha önce merkezimizde yapılan bir çalışmada sesaminin intestinal İR sonrasında incebağırsak hasarı üzerinde koruyucu histopatolojik ve biyokimyasal etkisi olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada karaciğer uzak organ hasarında biyokimyasal etkisinin olduğu ancak histopatolojik fark izlenmediği ortaya konmuştur (14).

Literatürde sesamin destekli diyetin karaciğer İRH’de etkisini inceleyen bir çalışma olmakla birlikte bu çalışmanın sadece biyokimyasal analiz içermesi ve sesamin destekli diyetin ad lib olması çalışmanın sınırlılıklarıdır (15). Biz orogastrik gavajla verilen sesaminin ratlarda karaciğer İRH’de doku koruyucu ve antioksidan etkilerinin olup olmadığını serumda ve dokuda biyokimyasal analizle ve histopatolojik olarak göstermeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

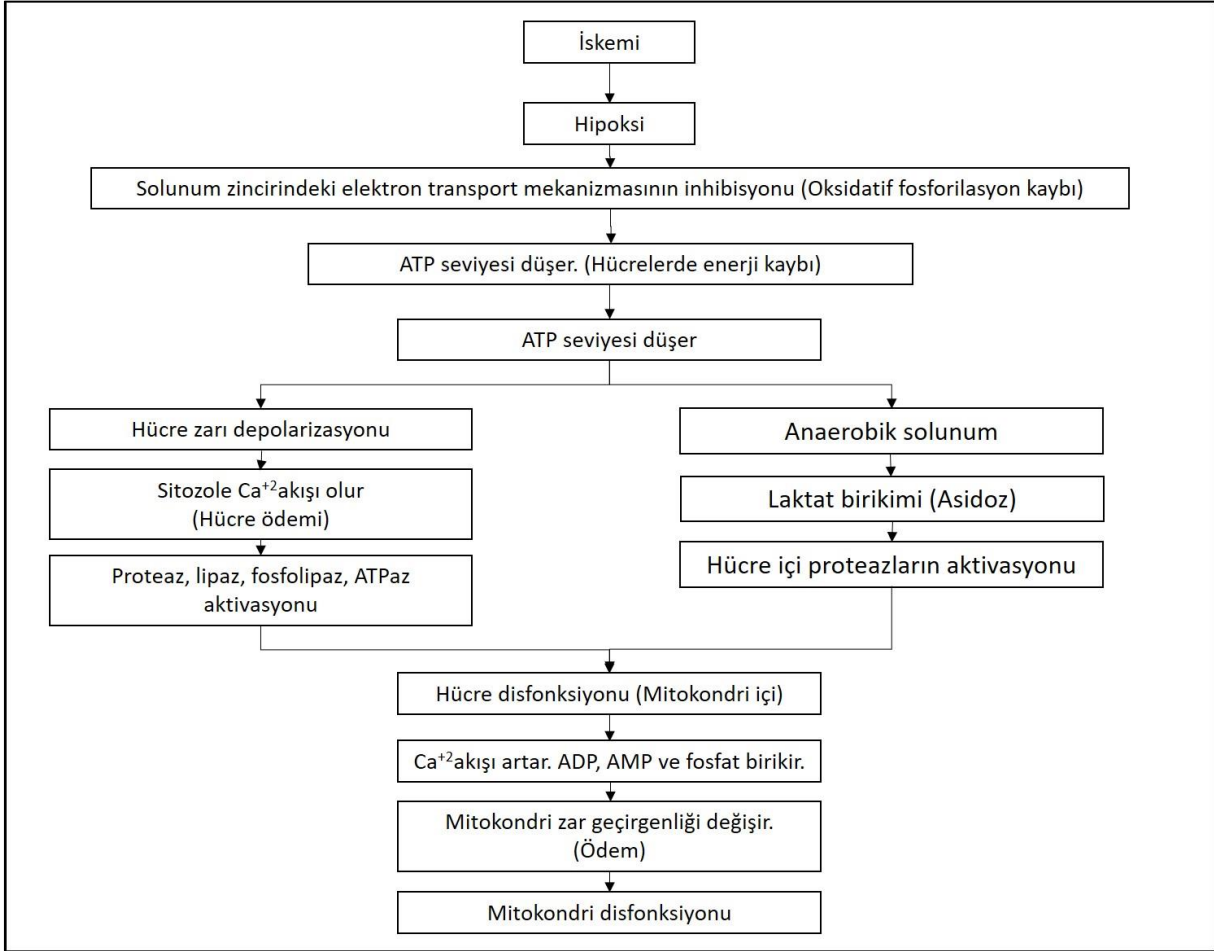
### İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

#### İskemi Reperfüzyon Hasarının Mekanizması

İskemi bir dokuya oluşan kan akımının kesilmesi anlamına gelir ve hücre disfonksiyonu, hücre ödemi ve sonunda hücre ölümü ile sonuçlanabilecek bir dizi olayı başlatır. Hücre ölümünde hücre membranının, iskeletin ve iyon regülasyonunun önemi yıllardır kabul edilmektedir. Oksijen eksikliği, anaerobik metabolizma sonucunda laktik asidin konsantrasyonunda artışa yol açar. Laktik asit birikimi nedeniyle oluşan asidoz normal enzim kinetiğini bozar. İskemi bağımlı hücre ölümünde tek bir faktör asıl sorumlu olarak gösterilememiş olsa da hücre enerji stoklarının özellikle adenosin-5'-trifosfat (ATP)'in azalmasının hücre homeostazında bozulmaya ve hücre membranında iyon gradiyentinin bozulmasına yol açtığı bilinmektedir (16). Hücrede iskemi ile meydana gelen değişiklikler Şekil 1'de özetlenmiştir (17).

Plazma membranı değişiklikleri sodyum ve kalsiyum iyon dengesinin bozulmasına yol açar ve bunu asidoz, osmotik şok, kromatin kümelenmesi ve çekirdek piknozu izler. Hücre içine giren sodyum iyonları interstisyel aralıkla osmotik dengenin korunması için birlikte suyu da hücre içine çeker ve potasyum iyonları da hücre dışına kaçar. Bu değişikliklere mitokondriyal fosforilazın aktivasyonu, oksidatif fosforilasyonun hızla azalması ve ATP üretiminde düşüş eşlik ederek hücrenin sentez ve homeostatik fonksiyonları bozulur. Kalsiyumun aşırı birikimi mitokondriyal membran difonksiyonuna ve geri dönüşsüz hasara neden olur. Bunu sekonder otoliz (lizozomların şişmesi, endoplazmik retikulumun dilatasyon ve vezikülizasyonu, enzimlerin ve proteinlerin hücre içine sızması) takip eder; hücre zar bütünlüğü korunamaz ve

hücre ölümü meydana gelir (Şekil 1) (18). İskemide hücreye moleküler oksijen ulaşması kesileceğinden, oksijen radikallerinin asıl üretimi iskemiden ziyade reperfüzyon aşamasında meydana gelmektedir. Bu durum göz önüne alındığında “iskemik hasar” isimlendirmesinin hatalı olduğu ve klinikte asıl hasarın reperfüzyon aşamasında serbest oksijen radikalleri (SOR)’nden kaynaklandığı da hesaba katıldığında “reperfüzyon hasarı” ya da “postiskemik hasar” isimlendirmesi daha uygun olacaktır (16).

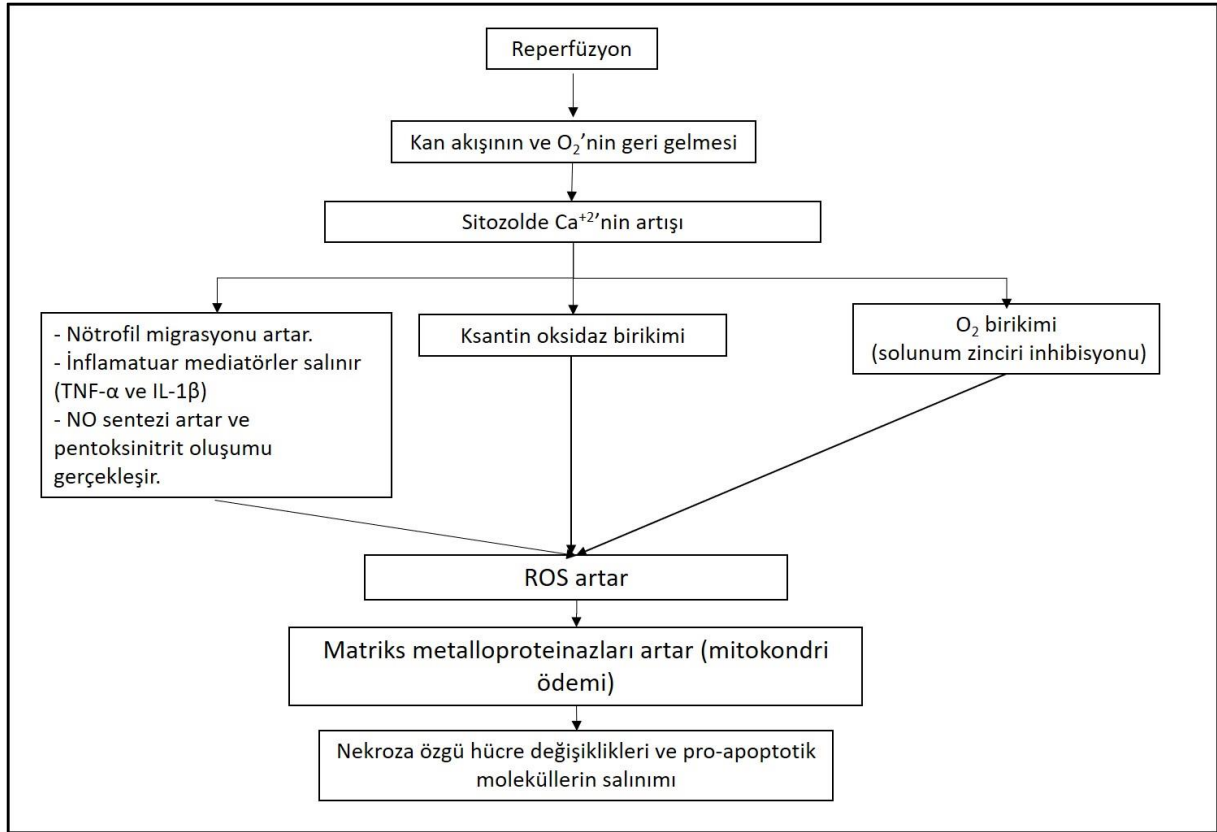


**Şekil 1. İskemi sonrası hücrede meydana gelen değişiklikler (17)**

Reperfüzyon, iskemide durumunun sonlanıp dokuya yeniden kan ulaşması anlamına gelir. İskemide metabolik asidoz, yıkıma yol açacak enzimlerin çalışmasını engelleyerek başlangıçta hepatik nekroza karşı koruma sağlar (18). Reperfüzyon sonrasında pH'ın normale dönmesiyle proteaz ve fosfolipazlar aktive olarak hücre ölümü gelişir. Bu duruma “pH paradoksu” denir (19). Reperfüzyon fazında toll-like reseptörler benzeri sinyal yolları üzerinden, kompleman sistemi üzerinden ve PMNL ile makrofajların katıldığı steril inflamasyon meydana gelir (Şekil 2). Nekrotik hücreler son derece immunstimulandır; bu nedenle inflamatuvar hücrelerin



infiltrasyonuna ve sitokin üretimine yol açar. Apoptoz ise kaspaz sinyal kaskadı üzerinden gerçekleşen programlı hücre ölümüdür ve hücre membranı ve çekirdeği yıkımın geç dönemine kadar korunur (Şekil 2) (20). Reperfüzyon fazı son derece dinamik bir dönemdir ve hücre ölümü reperfüzyonun sağlanması ardından 3 güne kadar devam edebilmektedir (21).



Şekil 2. Reperfüzyon ile hücrede meydana gelen değişiklikler (17)

### Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

Kupffer hücreleri, retikuloendotelial sistemin karaciğerde yerleşik hücreleridir. Karaciğerde bulunan makrofajların yaklaşık %80-90'ını oluşturması nedeniyle bu Kupffer hücre yığını İR sırasında masif miktarda sitokin ve kemokinlerin salınması potansiyeline sahiptir (22).

İR sonrası (tüm inflamatuvar yanıtlarda) dokuya PMNL göçünde kabul edilen mekanizma endotelial selektinlere bağımlı yuvarlanma hareketi ardından integrin bağımlı adezyondur. Karaciğer ise istisnai dokulardan biridir; mikrovasküler yatak incelendiğinde selektinlerin yetersiz kaldığı görülür. Portal venül ve hepatik arteriollerden gelerek karışan kanı taşıyan sinüzoidler P- ve E- selektin oluşturamazlar ve selektin bağımlı yuvarlanma hareketi sağlanamaz; postsinüzoidal venüllerde ise bu moleküller sentezlenebilir. Hepatik sinüzoidlerde

integrinlerin etkisi de tartışmalıdır. Bu nedenle sinüzoidlerden PMNL göç ve birikiminde, PMNL çapına yakın damar çapının olması gibi fiziksel faktörler rol oynar (23,24).

Reperfüzyondan hemen sonra PMNL karaciğere akın eder. İRH kompleman aktivasyonu ile kemotaktik ajanlar olan C3a (kompleman 3a) ve C5a (kompleman 5a) üretimine yol açar Nötrofiller C3a ve C5a'ya reperfüzyondan sonra karaciğeri infiltre ederek yanıt verirler (25). Coletti ve ark. (26), lobar IR modeli uyguladıkları rat çalışmasında, 90 dakika iskemi ve 1 saat reperfüzyonu takiben serum TNF- $\alpha$  düzeyinin yükseldiğini ölçerek karaciğer IR hasarı patofizyolojisindeki rolünü göstermişlerdir. İRH'da meydana gelen olaylar Kupffer hücreleri, PMNL, sitokinler ve komplemanlar ve hücre içi elektrolit seviyelerinin hepsinin ortaklığıyla meydana gelmektedir; sonucunda apoptoz, otofaji, nekroz, nekroptoz ile doku kaybı olur.

## **OKSİDANLAR**

Oksidanlar ya da diğer adıyla serbest radikaller eşleşmemiş elektronu bulunan kimyasal yapılar olarak tanımlanabilir. Üç şekilde oluşabilirler: Normal moleküldeki kovalent bağın yıkımı sırasında ortaya çıkan parçalardan her birinde elektron çiftlerinden birinin kalması, normal yapıdaki molekülden tek elektron kaybı ya da normal yapıda moleküle tek elektron eklenmesi. Biyolojik sistemlerde şu anda bilinen en önemli serbest radikaller, radikal oksijen türevleridir. Oksijen molekülüne tek elektron transfer edildiğinde süperoksit ( $O_2^-$ ) ortaya çıkar. Oksijenin iki elektron redüksiyonu ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur (27).

Hidrojen peroksit serbest radikal değildir; ancak reaktif oksijen türevleri arasında sıralanır. Hidrojen peroksit, demir benzeri metal iyonları ortamda varken kolaylıkla yıkılır ve en reaktif ve en fazla zarar veren SOR olan hidroksil radikalini oluşturur (27). Major SOR ve metabolizmaları Tablo 1'de gösterilmiştir (28).

Oksidan stresin üç ana komponenti olduğu düşünülmektedir: 1) Özellikle  $H_2O_2$  gibi nonradikal oksidanların indirekt etkisi ile hücre sinyal ve kontrol mekanizmasının bozulmasıyla; 2) anahtar düzenleyici proteinlerin direkt kovalent, oksidatif ya da nitrozatif modifikasyonu ile hücre sinyal mekanizmasına etkisiyle; 3) SOR'un DNA, protein, yağ ve karbonhidratlar gibi hücre moleküllerine direkt hasarı ile (24).

## **ANTIOKSİDANLAR**

Antioksidan madde, başka moleküllerin oksidasyonunu yavaşlatan ve bazen de önleyen moleküllere (iyon veya görece stabil radikal madde) verilen isimdir. Ekzojen antioksidanların pazarında devam eden büyüme, oksidatif stres kaynaklı olduğuna inanılan hastalıkların tedavi

umudu ile ilişkilidir. Hem oksidatif stres hem de antioksidan kapasite kavramları içinde bulunduğu ortama bağlıdır. Bir antioksidanın, bir solüsyonda peroksidasyon üzerinde gösterdiği etki, o maddenin tüm ortamlarda ve in vivo göstereceği etki olarak genellenemez (29).

**Tablo 1. Major serbest radikaller ve metabolizmaları**

Serbest Oksijen Türevi	Ana Kaynağı	Enzimatik Defans Sistemi	Ürün(ler)
<b>Süperoksit (<math>O_2^-</math>)</b>	-Elektron transport zincirindeki elektronların sızması -Aktive fagositler -Ksantin oksidaz -Flavoenzimler	Süperoksit Dismutaz (SOD) Süperoksit Redüktaz (bazı bakterilerde)	- $H_2O_2 + O_2$ - $H_2O_2$
<b>Hidrojen peroksit (<math>H_2O_2</math>)</b>	-SOD ile süperoksitten -NADPH oksidaz (nötrofillerde) -Glukoz oksidaz -Ksantin oksidaz	-Glutasyon peroksidaz -Katalazlar -Peroksiredoksinler	- $H_2O + GSSG$ (glutasyon disülfid) - $H_2O + O_2$ - $H_2O$
<b>Hidroksil radikali (<math>\cdot OH</math>)</b>	- $O_2^-$ ya da $H_2O_2$ 'den geçiş metalleri (bakır, demir) etkisiyle		
<b>Nitrik oksit (NO)</b>	-Nitrik oksit sentaz	-Glutasyon / Thioredoksin sistemi	S-nitrozoglutasyon

### Endojen Antioksidanlar

Organizmada kendisi ya da öncülü bulunan ve antioksidan etki gösteren moleküllere (enzim, vitamin, protein) endojen antioksidanlar denir. En yaygın bilinen endojen antioksidanlar ve etkileri Tablo 2’de gösterilmiştir (30).

**Tablo 2. Endojen antioksidanlar ve etkileri**

<b>Endojen Antioksidan</b>	<b>İşlevi</b>
Sitokrom oksidaz	Süperoksit nötralizanı
Süperoksit dismutaz	Süperoksiti H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'ye dönüştürür.
Katalaz	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , metil ve etil hidroperoksit nötralizanı
Glutasyon peroksidaz	Lipid peroksidasyon ürünlerini indirger
Glutasyon redüktaz	Düşük molekül ağırlıklı disülfidleri indirger
Glutasyon	GSH redoks substratı radikal reaktifi
Ürik asit	Hidroksili toplar, vitamin C oksidasyonunu önler
Sistein	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Geniş spektrumlu radikal giderici
Bilirubin	Peroksil radikali reaktanı, zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Süperoksiti H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'ye dönüştürür.
Transferrin	Dolaşımdaki demir iyonlarını bağlar.
Laktofettin	Dolaşımdaki demir iyonlarını bağlar.
Ferritin	Doku demir iyonu bağlayıcısı

### **Ekzojen Antioksidanlar**

Diyetle alınan antioksidanlara ekzojen antioksidan adı verilir. Organizmada oksidatif strese karşı korunmada belirli gıdalar destek olmaktadır. Normal şartlarda, hücrelerimiz SOR bağımlı oluşan hastalıklara karşı endojen antioksidanlar üreterek ya da yiyeceklerle bu molekülleri dışarıdan alarak mücadele eder. Ekzojen antioksidanlardan en yaygın bilinenler ve kaynakları Tablo 3' te gösterilmiştir (31).

### **BİYOKİMYASAL PARAMETRELER**

Alanin aminotransferaz (ALT); böbrek, kalp, kas ve daha yüksek konsantrasyonda karaciğerde bulunur. Transaminasyon reaksiyonunun sadece sitoplazmik fazını katalize eder. Herhangi bir sebeple oluşan karaciğer hasarında ALT düzeyi yükselir. 500 U/L üzeri belirgin yüksekliği viral hepatit, iskemik karaciğer hasarı, toksin bağlı karaciğer hasarı gibi primer olarak hepatositleri etkileyen durumlarda görülür. Hepatosellüler hasara spesifik olmakla birlikte ALT düzeyi yüksekliği ile karaciğer hasarının genişliği arasında korelasyon bulunmamaktadır (32).

**Tablo 3. Ekzojen antioksidanlar ve kaynakları**

<b>Ekzojen Antioksidan</b>	<b>Kaynağı</b>
Koenzim Q (ubikinon)	Buğday kepeği, balık, sakatat
Vitamin E	Limon, narenciye, yerfıstığı yağı, zeytinyağı, palm yağı, kaju fıstığı, mercimek filizi, kuru üzüm
Vitamin C	Limon, narenciye, zeytinyağı, palm yağı, kaju fıstığı, mercimek filizi
Karorenoidler : $\alpha$ -karoten, $\beta$ -karoten, $\gamma$ -karoten, krosin, $\beta$ -kriptoksantin, likopen, lutein, zeaksantin, biksin, astaksantin, kapsorubin, kantaksantin	Elma, muz, orman meyveleri, üzüm, Jak meyvesi, kivi, limon, mango, ananas, portakal, papaya, karpuz, tatlı patates, erik, havuç, kuşkonmaz, pancar, patlıcan, brokoli, brüksel lahanası, domates, ıspanak, karnabahar, mısır, soğan, kabak, fasulye, balkabağı, salatalık, mantar, acı biber, kırmızı palm yağı, süt, yoğurt, yumurta, tıbbi aromatik bitkiler
<b>Flavonoidler</b>	
Antosiyanidinler (siyanidin, delfinidin, petunidin)	Böğürtlen, yaban mersini, çilek, erik
Flavonoller (isorhamnetin, kaempferol, quercetin, miricetin)	Elma, domates, kiraz, brokoli, soğan
İzoflavonoidler (anizol, kumestrol, daidzein, genistein)	Soya fasulyesi, baklagiller ( maş fasulyesi, bakla, bezelye, nohut)
Flavonlar (apigenin, luteolin)	Maydanoz benzeri yeşillikler
Flavononlar (naringenin, hesperetin, eridictiol)	Narenciye (limon ve portakal)
Flavanol (epikatekin, katekin, glikokatekin)	Çay, kırmızı üzüm, çikolata, kakao ürünleri, kırmızı şarap
Diğer polifenoller: sinamik asit, kumarin, yoğun tanenler, hidroksibenzoik asit ( gallik asit, protokatekuik asit, vanillik asit) , hidroksisinnamik asit (kafeik asit, kaftarik asit, klorojenik asit, kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit), proantosiyanidinler	Yeşil yapraklı sebzeler, erik, böğürtlen, yaban mersini, çilek, elma, domates, kiraz, brokoli, soğan

Aspartat aminotransferaz (AST); mitokondriyal ve sitoplasmik olmak üzere iki izoenzim formu mevcuttur. Diğer dokularla kıyaslandığında en yoğun konsantrasyonda kalpte bulunur. Kronik karaciğer hastalıklarında ya da ALT yüksekliği sebebi olan karaciğer hasarlarında yükselir (32).

Laktat dehidrogenaz (LDH); tüm hücrelerde bulunan bir enzim olması nedeniyle serumda yüksekliği nonspesifiktir. Mevcut karaciğer hasarının iskemi kaynaklı olup olmadığının gösterilmesinde LDH tek başına ya da ALT-LDH oranı bakılarak kullanılabilir .

Alkalen fosfat (ALP); incebağırsak mukozal epitelinde, böbrek proksimal tübüllerinde , karaciğer, plasenta ve kemikte yüksek konsantrasyondadır. İncebağırsakta lipid transportasyonunda ve kemik kalsifikasyonunda rol alır. Kolestazda GGT ile birlikte yükselir ve bu durum kemik kaynaklı serum ALP yüksekliğinden ayırımı sağlar (33).

Gamaglutamil transferaz (GGT); hepatositlerde, safra epitel hücrelerinde, renal tübüllerde, pankreas ve incebağırsakta bulunur. Hücre zarından peptid transportunda ve glutatyon metabolizmasında rol alır. Böbrek dokusunda daha yoğun olarak bulunsa da serumdaki yüksekliği hepatobiliyer sisteme atfedilir. Kolestazda ALP ile birlikte yükselir (32).

Malondialdehit (MDA); bazı belirli primer ve sekonder lipid peroksidasyon ürünlerinin yıkımı ile açığa çıkar. Hassas ölçüm yöntemlerinin geliştirilmesiyle birlikte iskemik hasarda lipid peroksidasyonunu göstermede sıklıkla kullanılır hale gelmiştir (34).

Myeloperoksidaz (MPO); başlıca PMNL’de ve daha az miktarda monositlerde sentezlenen “hem” içeren bir peroksidaz enzimdir. Ortamda hidrojen peroksit varlığında reaktif oksijen türevlerinin ( hipoklorik asit de dahil olmak üzere) oluşumunu katalize eder. Oksidan hasarın varlığını göstermek için kullanılır (35).

Tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); farklı stres faktörlerinde farklı tip hücreler tarafından sentezlenen polipeptit yapıda bir proinflamatuvar sitokindir. İlk olarak sarkom hücrelerinde nekrozla hücre ölümüne yol açan bir antitümör ajan olarak keşfedilmesi nedeniyle bu ismi almıştır. Karaciğer İR hasarında Kupffer hücrelerinden çok miktarda sentezlenerek diğer sitokinlerin üretimini etkiler, apoptoz ve nekrozu birkaç farklı yol üzerinden tetikler ve SOR’un üretimini artırır (22).

Total oksidan seviye (TOS); literatürde total peroksit, serum oksidasyon aktivitesi ya da reaktif oksijen metabolitleri olarak ya da farklı eş anlamlılarıyla yer almaktadır. Farklı oksidan maddelerin serum konsantrasyonları laboratuvarda ayrı ayrı ölçülebilmekle birlikte bu durum komplike teknikler gerektirdiği için zaman alıcı ve masraflıdır. Bu şekilde ayrı ayrı ölçüm pratik

olmadığından ve oksidan maddelerin bir arada bulunmalarından kaynaklı additif etkileri de olabildiğinden bir örneğin total oksidan seviyesinin ölçümü tercih edilmektedir (36).

Total antioksidan seviye (TAS); literatürde total antioksidan kapasite, total antioksidan aktivite, total antioksidan güç, total antioksidan cevap veya başka eş anlamlılarıyla yer almaktadır. Farklı antioksidan maddelerin serum konsantrasyonları laboratuvarında ayrı ayrı ölçülebilmekle birlikte bu şekilde ölçüm komplike teknikler gerektirdiği için zaman alıcı ve masraflıdır. Bu şekilde ayrı ayrı ölçüm pratik olmadığından ve antioksidan maddelerin bir arada bulunmalarından kaynaklı additif etkileri de olabildiğinden bir örneğin total antioksidan seviyesinin ölçümü tercih edilmektedir (37)

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ); oksidatif indeks de denmektedir. Total oksidan seviyenin total antioksidan seviyeye oranını gösteren oransal bir değerdir. Elde edilen TAS ve TOS değerleri aynı birime dönüştürüldükten sonra şu formülle hesaplanır:

$$OSİ = \frac{(TOS, \mu\text{mol } H_2O_2 \text{ ekivalan/L})}{(TAS, \mu\text{mol Trolox ekivalan/L})} \times 100$$

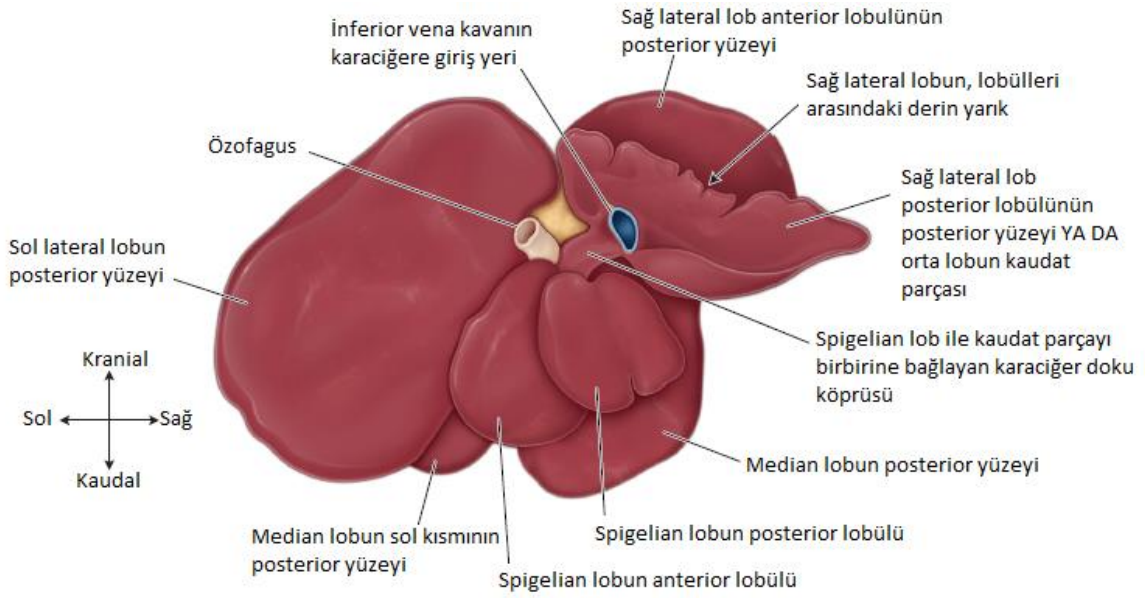
### **RAT KARACİĞER ANATOMİSİ**

Karaciğer; karın boşluğunda sağ üst kısımda bulunan, diyafram posterior yüzeyi ile temas halinde bulunan lobüle bir organdır. Konveks bir antero-ventral yüzü ve konkav bir posterior yüzey bulunur. Viseral yüzü mide sağ böbrek ve sağ adrenal bez ile komşudur. Konveks yüzeyin çoğunu büyük bir medial ( median veya orta) lob oluşturur. Bu lob falsiform ligamentle iki parçaya ayrılmıştır. Buna ek olarak sol ve sağ lateral loblar bulunur. Lateral loblar, medial lobun arkasında yerleşmiştir ve karaciğer viseral yüzünden daha iyi görünür. Sol lateral lob bölünmemiştir; ancak sağ lateral lob derin bir fissür ile iki parçaya ayrılmıştır. Aynı zamanda viseral yüze bakıldığında iki küçük disk benzeri lob (kaudat lobun anterior ve posterior lobülleri) da görülür (Şekil 3) (38).

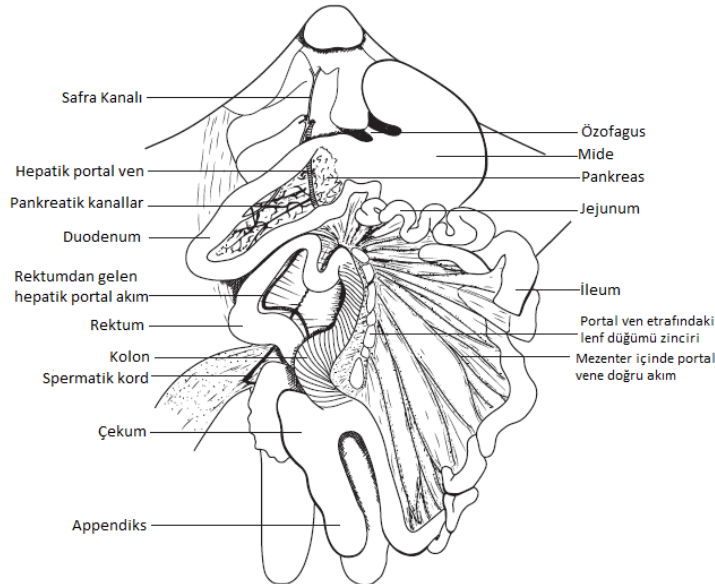
Orta hat laparotomisi sonrası, incebağırsak ve kolon ansları kaudale ve laterale doğru batın dışına alındığında karaciğer hilusu ve duodenum arasında uzanan ve içinde hepatik portal ven, koledok ile hepatik arterin bulunduğu hepatoduodenal ligament ortaya çıkar (Şekil 4) (38).

### **SESAMİN**

Pubchem veri tabanına göre ilk izole edildiği bitki “cinnamomum camphora” (kafur) dır. Kaba kimyasal formülü  $C_{20}H_{18}O_6$ ’dır. İki boyutlu moleküler yapısı Şekil 5’te gösterilmiştir. Basit CAS kayıt numarası 607-80-7 olarak belirlenmiştir. Literatürde “asarinin”, “sezamin”, “episesamin”, “fagarol” olarak da rastlanabilir (39).

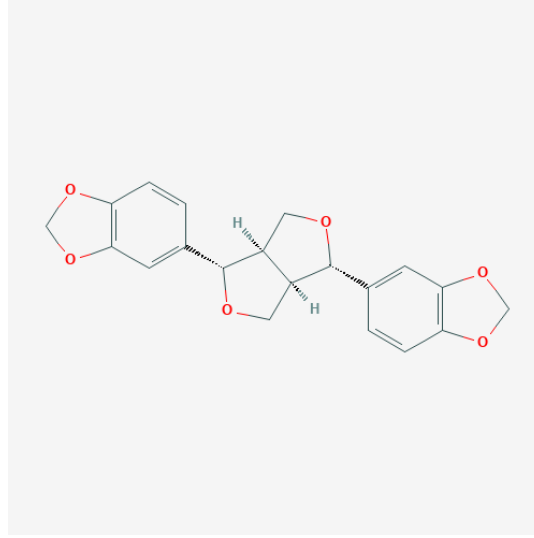


**Şekil 3 Rat karaciğerinin viseral yüzden görünümü (38)**



**Şekil 4. Ratta disseksiyon sırasında hepatoduodenal ligamentin şematik görünümü (38)**





**Şekil 5. Sesaminin iki boyutlu moleküler yapısı (39)**

Sesamin, sesamun indicum bitkisinin tohumundan (susamdan) elde edilen yağda sesamolin ve sesamol ile birlikte bulunan lignanlardan biridir. Susam bitkisinin yabani türlerinde (s.radiatum, s.indicum ve s.angustifolium) de önemli oranda sesamin tespit edilmiştir (13,40). Bunun haricinde “hypericum chinense” (kantaron) bitkisinin yaprağından, “piper sarmentosum” (sarılan karabiber) bitkisinin yaprak, gövde ve filizinden izole edilmiştir (41). Yapı olarak oksidasyona dayanıklı olmakla birlikte; yapısal olarak fenolik grubu içermemektedir ve bu nedenle in vivo etkisi olmasına rağmen in vitro antioksidan özellik gösteremez (18). Bununla birlikte kanola yağındaki sesaminin yüksek sıcaklıklarda yağ asidi oksidasyonunu engellediği gösterilmiştir (43).

Sesaminin oral alımından sonra portal ven ile karaciğere ulaştığı ve hepatositlerde metabolize olarak monokatekol ya da dikatekol açığa çıktığı gösterilmiştir. Her iki yıkım ürünü de karaciğerde antioksidan etki göstermektedir. Bu ürünler glukuronidaz enzimi sayesinde glukuronik asit ile konjuge edilerek safra ile atılırlar. Bu nedenle sesamin pro-antioksidan olarak sınıflandırılmıştır (44)

Sesamin metabolizmasında insan ve diğer hayvanlar arasında dikkate değer bir türe bağlı farklılık olduğu bulunmuştur. Sesaminle ilgili hayvan çalışmalarından elde edilen bilgilerin insan fizyolojisine uyarlanmasında bu durum dikkate alınmalıdır. Sesaminin insan CYP2C9 enziminde inhibisyona yol açtığı gösterilmiş olup, sesaminin bu yolla yıkılan ilaçlarla etkileşime girebileceğini düşündürmektedir (45).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 28.09.2018 tarih ve 2018.09.01 sayılı etik kurul onayı ve sonrasında 20.09.2019 tarih ve 2019.09.03 sayılı etik kurul değişiklik onayı ile izin alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir (Ek 1 ve 2). Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklendi. Proje No: TÜBAP-2019/66) (Ek 3). Çalışmanın raporlanmasında ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) kılavuzuna bağlı kalınmıştır (46).

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilmiş ve standart laboratuvar koşullarında ( $22\pm 1$  °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip, ağırlıkları 180 - 230 gram arasında değişen erişkin 24 adet Wistar Albino dişi rat kullanıldı. Ratlar ağırlıklarına göre randomize olarak her biri 6 hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı.

Grup 1: Sham grup (n= 6) 7 gün süreyle standart yem ve su verilen, 7. günün sonunda opere edilerek hepatoduodenal ligamenti ortaya konan ancak klampe edilmeyen ve 45 dakika sonunda batını kapatılan gruptur.

Grup 2: İskemi Reperfüzyon grup (İR) (n= 6) 7gün süreyle standart yem ve su verilen, 7. günün sonunda laparotomi sonrası hepatoduodenal ligamenti ortaya konulup klampe edilerek Pringle manevrası uygulanan ve 45 dakika iskemi süresi sonrası klempe açılarak 3 saat reperfüze edilen gruptur.

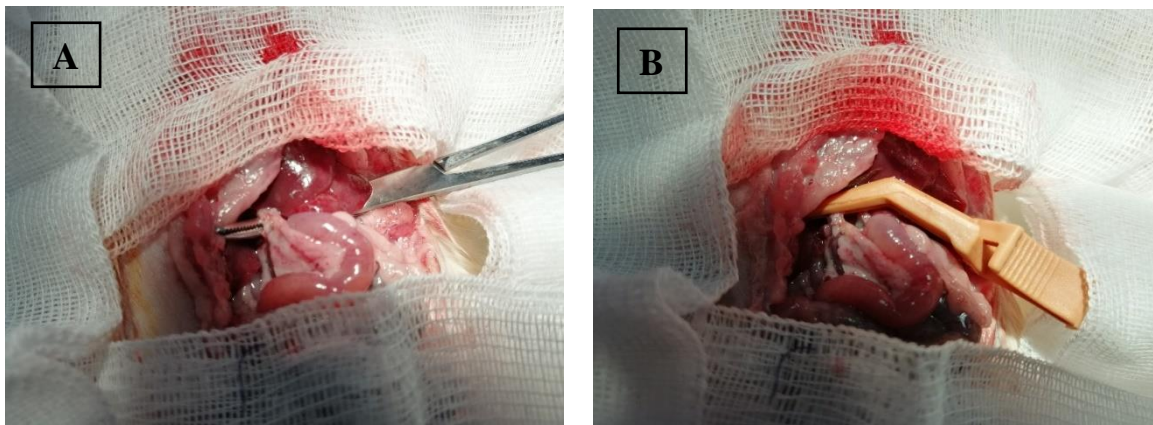
Grup 3: Sesamin grubu (n= 6) 7 gün süreyle standart yem ve suya ilave olarak orogastrik gavaj yoluyla 30 mg/kg sesamin (Xi'an Prius Biological Engineering Co., Ltd., Xi'an, Çin) verilen,

7. günün sonunda opere edilerek hepatoduodenal ligamenti ortaya konan ancak klempe edilmeyen ve 45 dakika sonra batını kapatılan gruptur.

Grup 4: İskemi Reperfüzyon + Sesamin grup (İRS) (n= 6) 7 gün süreyle standart yem ve suya ilaveten orogastrik gavaj yoluyla 30 mg/kg sesamin verilen, 7. günün sonunda laparotomi sonrası hepatoduodenal ligament ortaya konularak klempe edilen (Pringle manevrası uygulanan) ve 45 dakika iskemi süresi sonrası klempe açılarak 3 saat reperfüze edilen gruptur.

Deney boyunca tüm ratlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart rat yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Ameliyat esnasında midenin boş olması amaçlandığından ratlar operasyondan 12 saat öncesinden aç bırakıldı ancak su verildi.

Tüm ratlar, operasyon gününde laparotomi öncesi intramusküler (im) 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 90 mg/kg ketamin (Alfamine, Ata Fen, Türkiye) anestezisi altında karın ön duvarı %10 povidon iyodin ile dezenfeksiyon yapıldıktan sonra medyan hattın insizyonu ile açıldı. Sham ve sesamin grubunda sadece hepatoduodenal ligamenti ( vena porta, ana safra kanalı ve hepatic arter ) hemostat ile dönülerek ortaya konuldu, İR ve İRS grubundaki ratların hepatoduodenal ligamentleri hemostat ile dönülüp ortaya konulması ardından açılı plastik bulldog damar klempli ile (BMXC-006, Biomed , Türkiye) klemplenerek 45 dakika bekletildi (Şekil 6). Karaciğer iskemisi karaciğer sefalad loblarının renginin soluklaşması ile doğrulandı. Aynı zamanda superior mezenterik ven akımının kesilmesine bağlı olarak iskemi periyodunun 15. dakikasında tüm ratlarda incebarsak segmentlerinin rengi koyulaşarak venöz iskemi görünümü oluştu.



**Şekil 6. Karaciğer iskemisinin oluşturulması: A- Hepatoduodenal ligamentin hemostat ile dönülerek ortaya konması, B- Hepatoduodenal ligamentin plastik bulldog klempe ile klemplenmesi (Pringle manevrası)**

Tüm ratlara karın açıkken zorunlu kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacıyla intraperitoneal olarak 5 cc steril serum fizyolojik (%0,9 NaCl) verildi. 45 dakika iskemi sonunda klempler çıkarılarak kan akımı sağlandı. Kan akımının sağlandığı klemp alımını takiben 2 dakika süreyle karaciğer rengindeki düzelme gözlenerek teyit edildi. Batın kapatılması sırasında her rata intraperitoneal 5'er cc serum fizyolojik tekrar verildi. Batınlar 2/0 yuvarlak iğneli vicryl ile cilt ve periton tek seferde kapatılacak şekilde devamlı kilitli sütür atılarak kapatıldı. Ardından 3 saatlik reperfüzyon süreci beklendi. Reperfüzyon süresi sonrası ratlara ilk dozun yarısı anestezik ile idame doz uygulanarak batınları açıldı. Biyokimyasal analiz için ratlardan yaklaşık 6 cc kan (intrakardiyak) alınarak sakrifiye edildi. Patolojik inceleme ve biyokimyasal inceleme için karaciğer doku örneği alındı. Serum ve doku örnekleri biyokimyasal analizler yapılmaya kadar -80°C'de saklandı.

Ratların serumlarında ALT, AST, LDH, ALP, GGT ölçümü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında otoanalizör cihaz (Kanelab Prime 60i, Finlandiya) ile yapıldı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda TNF- $\alpha$  ( Rat TNF- $\alpha$  ELISA Kit Elabscience, Teksas, ABD, katalog no: E-EL-R0019), MPO (Anti-MPO Elisa Kit, Elabscience, Teksas, ABD, katalog no: E-EL-RB1827) konsantrasyonu, TAS (Rel Assay Diagnostics Kit, Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye), TOS (Rel Assay Diagnostics Kit, Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye) ve OSİ bakıldı. Karaciğer doku örneklerinde MDA, MPO, TNF- $\alpha$ , TAS, TOS ile OSİ bakıldı. MDA ölçümü şu şekilde yapıldı: 0.2 ml doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik thiobarbitürik asit ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 1 saat süre ile 95 °C'deki sıcak su banyosunda tutuldu. Musluk suyu altında soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin eklenerek 1 dakika vorteksle karıştırıldı. Organik fazın ayrılması için 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ayıraç körüne karşı absorbanslar okundu. MDA sonuçları nmol/mg protein olarak ifade edildi.

Sakrifiye edilen ratlardan elde edilen karaciğer dokuları 24 saat boyunca %10'luk tamponlu formalin içerisinde tespit edildi. Daha sonra gece boyu alkol takibine alınan dokulardan oluşturulan parafin bloklardan mikrotom (marka) ile 5 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler deparafinize edildikten sonra otomatik boyama cihazı (marka) aracılığı ile rutin hematoksilin-eozin boyası ile boyandı. Entellan ile kapatılan kesitler alanında deneyimli bir patolog tarafından gruplara kör olarak ışık mikroskobu altında (marka) değerlendirildi. Değerlendirmede Suzuki skorlama sistemine bağlı kalınarak sinüzoidal konjesyon, hepatosellüler vakuollenme ve hepatosit nekrozu göz önünde bulunduruldu. Sinusoidal

konjesyon için “0-4” arası sayısal puanlama kullanıldı. Parankimal nekroz yüzdelik değer olarak ifade edildi. Parankimal nekroz olmaması “0”, tek hücre nekrozu “1” %30’a kadar nekroz “2”, %30-60 nekroz “3”, >%60 nekroz ise “4” olarak puanlandı. Sitoplazmik vakuollenme derecelendirmesi için “0-4” arası sayısal puanlama kullanıldı (47).

İmmünohistokimya boyanma için lamlar Ventana Medical System-Benchmark Ultra/ISH Staining modüle yerleştirildi ve Ultraview Universal DAB Detection Kit kullanılarak şu prosedürler uygulandı: Parafin bloklardan kesitler 4 mikron kalınlığındaki pozitif şarjlı lamlara alındı. 70°C’lik etüvde 1 saat bekletildi. Lamlar Benchmark Ventana Ultra marka immünohistokimya cihazına alındı. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ile pH:8’de (CC1) antijen gerikazanımı yapıldı. TNF- $\alpha$  antikor inkübasyonu 36 dakika boyunca uygulandı. Arka plan boyama için Harris Hematoksilen (Ventana Medical Systems) 16 dakika uygulandı. Bluing reagent (mavileştirme solüsyonu) (Ventana Medical Systems) 4 dakika uygulandı. Lamlar deterjanlı suyla yıkandı. Lamlar absölü alkolde 2 kez çalkalandı. Lamlar kurutulup ksilol bazlı kapatıcıyla kapatıldı.

İmmünohistokimyasal olarak TNF- $\alpha$  antikoruna ile kanaliküler boyanma elde edildi ve boyanma şiddeti semi-kantitatif olarak değerlendirmeye alındı: Derece 0: Boyanma yok, derece 1: hafif boyanma, derece 2: orta şiddette boyanma, derece 3: kuvvetli boyanma. Ayrıca boyanma yaygınlığı değerlendirilerek tüm karaciğerin yüzdesi olarak hesaplandı. Boyanma şiddeti ve yaygınlığını tek bir skor altında toplayabilmek amacıyla her bir örnek için H-skor (boyanma şiddeti x boyanma yaygınlığı) oluşturuldu.

Veriler ortalama değer (ort) ve standart sapma (SS) olarak hesaplandı. Doku ve serum değerlerinden normal dağılım gösterenler tek yönlü varyans analizi ile (tek yönlü ANOVA), normal dağılım göstermeyenler ise Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. Tek yönlü varyans analizinde anlamlı fark saptanan değerlerde grupların birbiriyle karşılaştırılması için çoklu karşılaştırma (Tukey HSD) testi kullanıldı. Histopatolojik değerler gibi kategorize verilerin analizi ise Ki-kare testi kullanıldı. P değeri <0,05 anlamlı kabul edildi. Verilerin analizi TURCOSA (Turcosa Analytics Ltd Co, Turkey, www.turcosa.com.tr) istatistik yazılımında gerçekleştirilmiştir.

## BULGULAR

### BİYOKİMYASAL ANALİZ

Çalışmaya katılan tüm ratların biyokimyasal değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; 4 grup (Sham, İR, Sesamin, İRS) arasında serum AST, ALT, LDH, GGT, TNF- $\alpha$  değerleri ile karaciğer TOS, ve MDA değerleri için istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunurken (hepsi için  $p < 0.05$ ); serum ALP, TAS, TOS; OSİ, MPO değerleri ile karaciğer TAS, TNF- $\alpha$ , OSİ, MPO için anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırasıyla;  $p = 0,310$ ,  $p = 0,111$ ,  $p = 0,290$ ,  $p = 0,349$ ,  $p = 0,129$ ,  $p = 0,156$ ,  $p = 0,675$ ,  $p = 0,086$ ,  $p = 0,656$ ) (Tablo 4, 5).

### Serum ALT ve AST Değerleri

Serum ALT değerleri açısından gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında İRS grubunda serum ALT değerinin sham ve sesamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunurken (sırasıyla;  $p = 0,005$ ;  $p = 0,005$ ); İR grubu ile sham ve sesamin grupları arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi (sırasıyla  $p = 0,076$ ;  $p = 0,076$ ). Serum ALT değerleri açısından sham ve sesamin grupları arasında ( $p = 1$ ) ve İR ile İRS grupları arasında ( $p = 0,581$ ) istatistiksel anlamlı fark olmadığı tespit edildi (Şekil 6). Serum AST değerleri açısından gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında İRS gurubunda serum AST değerinin sham ve sesamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunurken (sırasıyla  $p = 0,005$ ;  $p = 0,005$ ); İR grubu ile sham ve sesamin gruplarının arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi (sırasıyla  $p = 0,206$ ;  $p = 0,207$ ). Serum AST değerleri açısından sham ve sesamin grupları arasında ( $p = 1$ ) ve İR ile İRS grupları arasında ( $p = 0,280$ ) istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı bulundu (Şekil 7).

**Tablo 4. Biyokimyasal Analiz Değerleri (Serum)**

<b>Serum</b>	<b>Sham Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>İR Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>Sesamin Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>İRS Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>p değeri*</b>
<b>ALT (U/L)</b>	116,33±35,88	1139,16±1000,34	114,16±23,23	1648,16±934,1	0,001
<b>AST (U/L)</b>	594±248,37	1316±826,66	595,16±137,55	1970,33±857,48	0,002
<b>LDH (U/L)</b>	1854,5±1055,15	6056,5±4366,28	1865,16±503,34	8966,67±3990,16	0,001
<b>ALP (U/L)</b>	58,33±22,21	55,50±17,83	74,33±24,01	52,17±20,74	0,310
<b>GGT (U/L)</b>	0,33±0,52	2,17±1,6	0,83±0,4	2,17±0,4	0,003
<b>TAS (mmol/L)</b>	0,94±0,1	0,81±0,14	0,93±0,67	0,85±0,64	0,111
<b>TOS (µmol/L)</b>	27,15±12,64	39,25±31,08	25,66±14,4	43,96±11,01	0,290
<b>OSİ (µmol/L)</b>	3±1,65	5,4±5,61	2,85±1,79	5,24±1,53	0,349
<b>TNF-α (ng/L)</b>	13,22±4,6	10,89±7,65	22,8±5,63	9,93±6,89	0,008
<b>MPO (ng/ml)</b>	2,12±0,6	1,6±1,2	2,97±0,63	1,93±1,27	0,129

**ALT:** Alanin aminotransferaz, **AST:** Aspartat aminotransferaz, **LDH:** Laktat dehidrogenaz, **ALP:** Alkalen fosfataz, **GGT:** Gamaglutamil transferaz **İR:** İskemi-Reperfüzyon, **MPO:** Myeloperoksidaz, **Ort:** Ortalama, **OSİ:** Oksidatif Stres İndeksi, **SS:** Standart Sapma, **TAS:** Total Antioksidan Seviye, **TNF-α :** Tümör Nekrozis Faktör-α, **TOS :** Total Oksidan Seviye, Tek Yönlü ANOVA analizi, p<0,05 istatistiksel anlamlı

**Tablo 5. Biyokimyasal Analiz Değerleri (Karaciğer)**

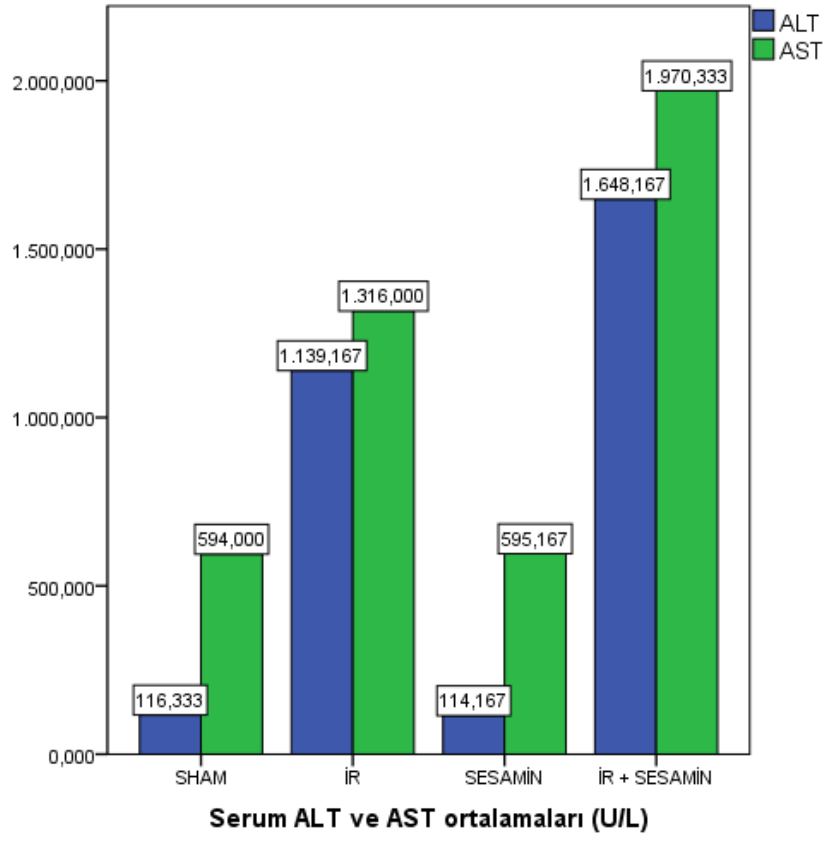
<b>Karaciğer</b>	<b>Sham Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>İR Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>Sesamin Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>İRS Grubu (n=6) Ort±SS</b>	<b>p değeri*</b>
<b>TAS (mmol/L)</b>	0,8±0,55	0,81±0,63	0,76±0,66	0,74±0,67	0,156
<b>TOS (µmol/L)</b>	38,25±2,7	46,98±5,45	41,78±2,62	43,74±5,23	0,014
<b>OSI (µmol/L)</b>	4,78±0,46	5,86±0,98	5,57±0,59	6,01±1,13	0,084
<b>TNF-α (ng/L)</b>	22,52±11,41	14,77±6,59	19,2±10,23	18,47±13,81	0,675
<b>MDA (nmol/mg protein)</b>	1,81±0,97	1,46±0,1	1,25±0,11	1,9±0,37	<0,001
<b>MPO (ng/ml)</b>	2,64±1,4	2,23±1,78	2,66±1,38	1,82±1,02	0,656

**İR:** İskemi-Reperfüzyon, **MDA:** Malondialdehit, **MPO:** Myeloperoksidaz, **Ort:** Ortalama, **OSİ:** Oksidatif Stres İndeksi, **SS:** Standart sapma **TAS:** Total Antioksidan Seviye, **TNF-α :** Tümör Nekrozis Faktör-α, **TOS :** Total Oksidan Seviye , Tek Yönlü ANOVA analizi \*p<0,05 istatistiksel anlamlı

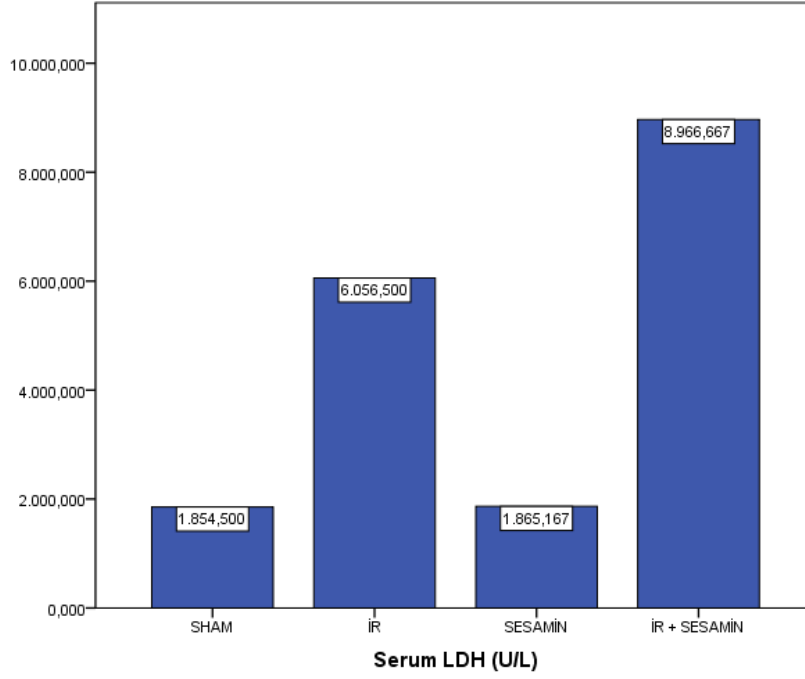
### **Serum LDH Değerleri**

Serum LDH değerleri açısından gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında İRS gurubunda serum LDH değerinin sham ve sesamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunurken (sırasıyla p=0,003; p=0,003); İR grubu ile sham ve sesamin gruplarının arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi (sırasıyla p=0,107; p=0,108). Serum LDH değerleri açısından sham ve sesamin grupları arasında (p =1) ve İR ile İRS grupları arasında (p=0,364) istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı bulundu (Şekil 8).





**Şekil 7. Serum ALT ve AST düzeyleri**

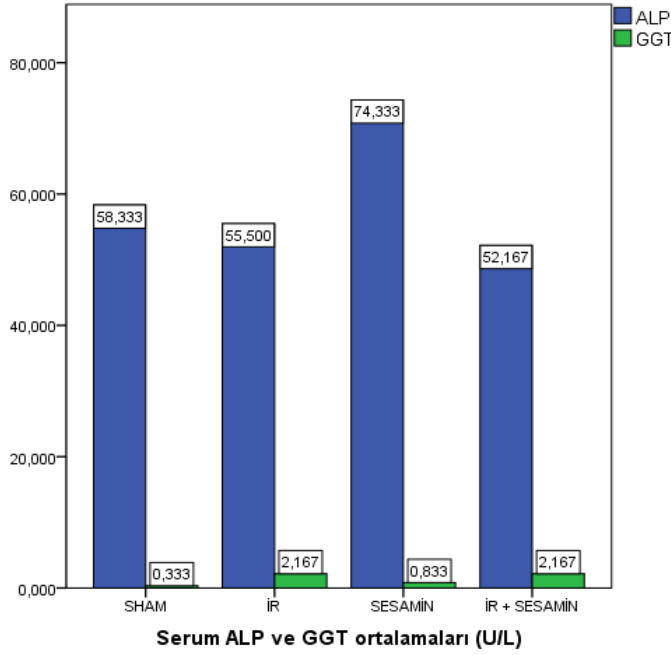


**Şekil 8. Serum LDH değerleri**

### Serum ALP ve GGT Değerleri

Serum ALP değerlerinin gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık göstermediği bulundu ( $p=0,310$ ) (Şekil 9).

Serum GGT değeri açısından İRS grubunda sesamin grubuna göre serum GGT değerlerinin istatistiksel anlamlı yüksek olduğu tespit edildi ( $p=0,003$ ). Diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark (Siegel Castellan testine göre) izlenmedi (Şekil 9).



Şekil 9. Serum ALP ve GGT değerleri

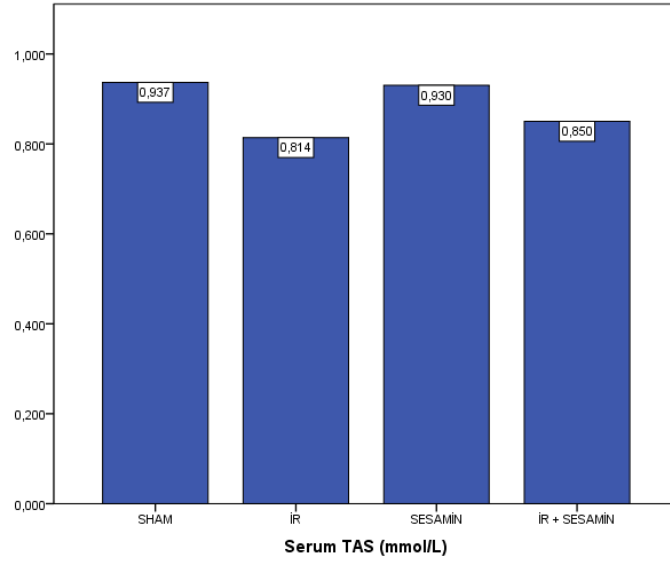
### Serum Total Antioksidan Seviyesi

Serum TAS açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ( $p=0,111$ ) (Şekil 10).

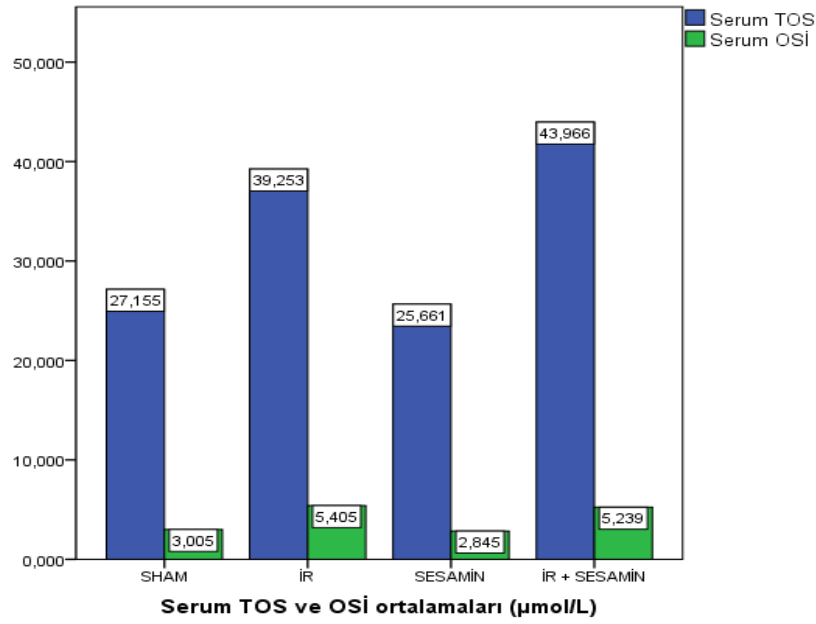
### Serum Total Oksidan Seviyesi ve Oksidatif Stres İndeksi

Serum TOS açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ( $p=0,290$ ) (Şekil 11).

Serum OSI açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,349$ ) (Şekil 11).



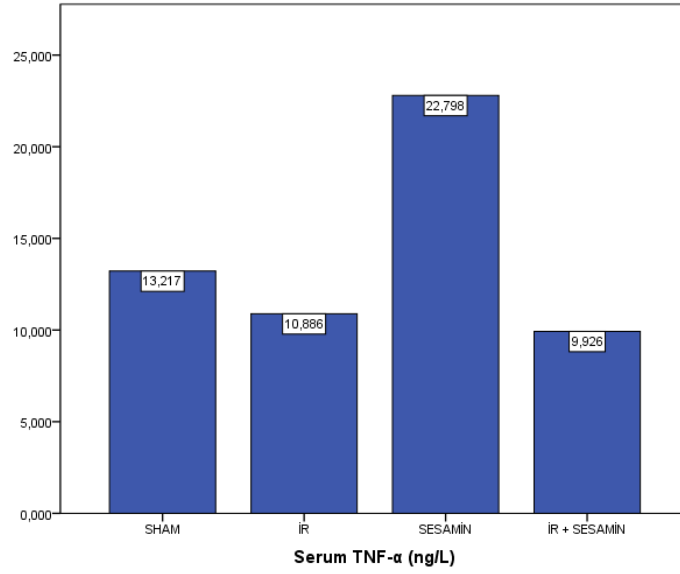
**Şekil 10. Serum TAS düzeyleri**



**Şekil 11. Serum TOS ve OSİ değerleri**

### Serum TNF- $\alpha$ Değerleri

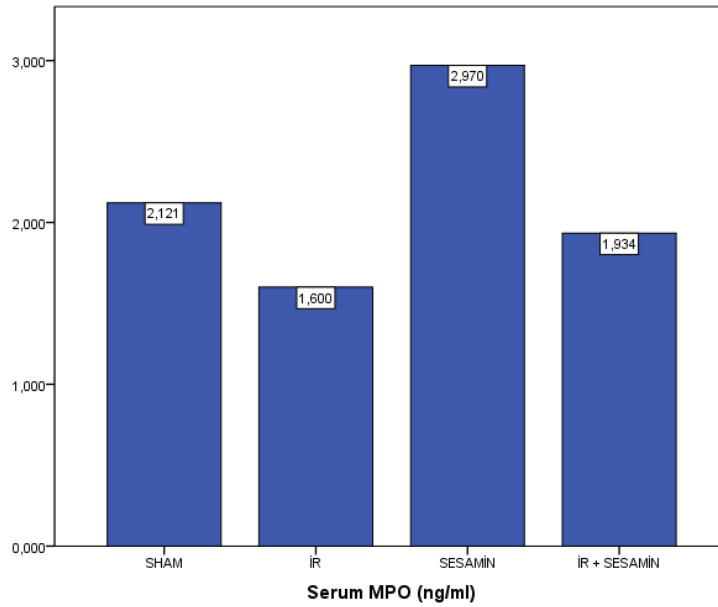
Serum TNF- $\alpha$  değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında İR ve İRS grubunda serum TNF- $\alpha$  düzeyinin sesamin grubuna göre istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (sırasıyla  $p=0,024$ ;  $p=0,01$ ). Sham grubu ile sesamin, İR ve İRS gruplarının arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi (sırasıyla  $p=0,067$ ;  $p=0,925$ ;  $p=0,797$ ). İR ile İRS grupları arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı görüldü ( $p=0,994$ ) (Şekil 12).



**Şekil 12. Serum TNF- $\alpha$  değerleri**

### Serum MPO Değerleri

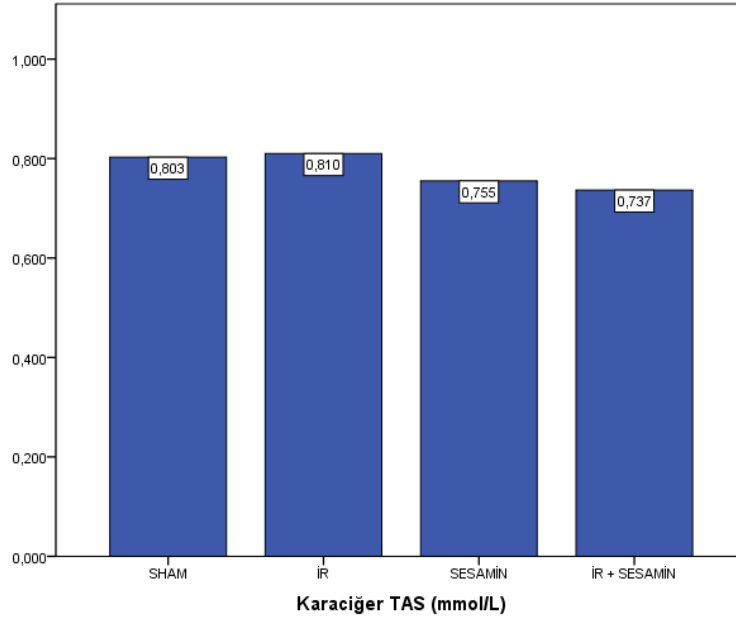
Serum MPO değerleri açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ( $p=0,129$ ) (Şekil 13).



**Şekil 13. Serum MPO değerleri**

### Karaciğer Total Antioksidan Seviyesi

Karaciğer TAS açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,156$ ) (Şekil 14).



**Şekil 14. Karaciğer total antioksidan seviyesi**

#### **Karaciğer Total Oksidan Seviyesi ve Oksidatif Stres İndeksi**

Karaciğer TOS açısından değerlendirildiğinde İR grubunda karaciğer TOS'un sham grubundan istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ( $p=0,009$ ). Sham grubu ile İRS grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır ( $p=0,144$ ). Sesamin grubu ile sham, İR ve İRS grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır ( sırasıyla  $p=0,485$ ;  $p=0,177$ ;  $p=0,852$ ). İR ile İRS grubu arasında karaciğer TOS değeri açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır ( $p=0,555$ ) (Şekil 15).

Karaciğer OSI açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,084$ ) (Şekil 15).

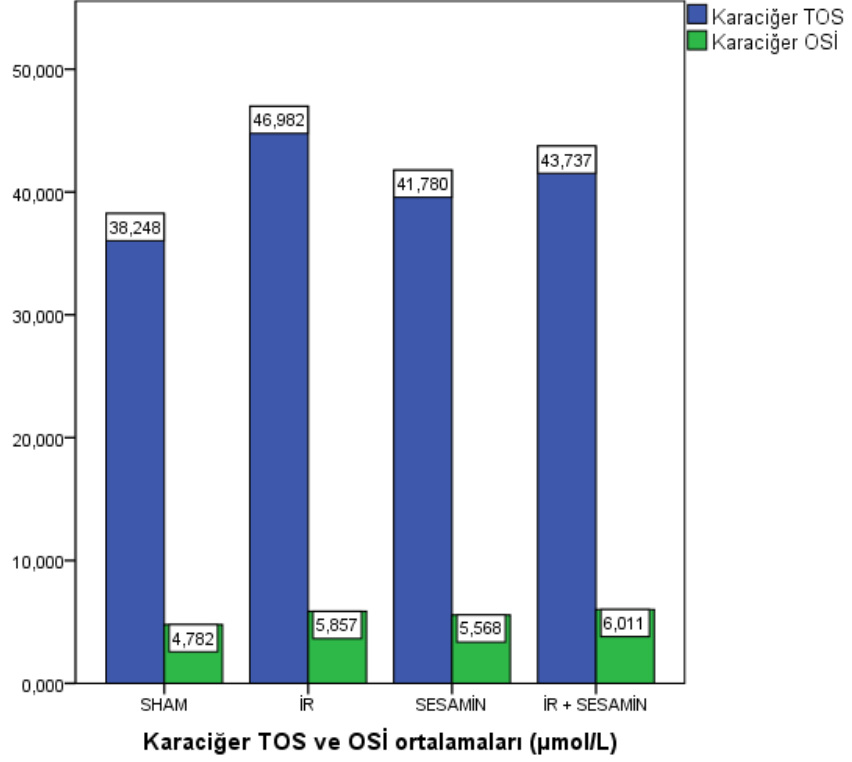
#### **Karaciğer TNF- $\alpha$ Değerleri**

Karaciğer TNF- $\alpha$  değerleri açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,675$ ) (Şekil 16).

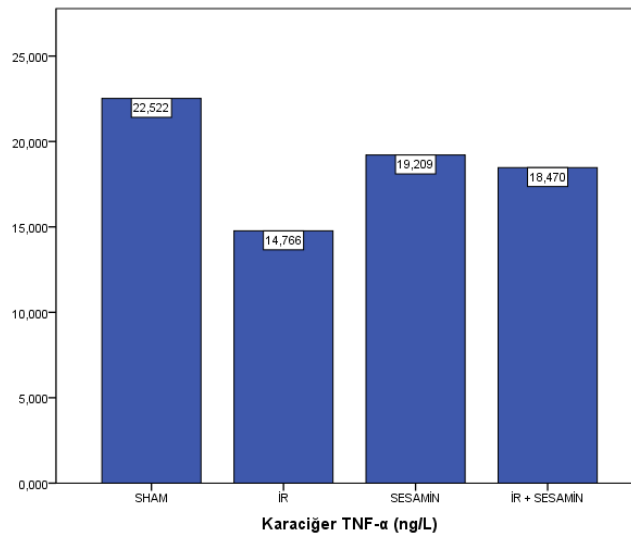
#### **Karaciğer MDA ve MPO Değerleri**

Karaciğer MDA değerleri açısından değerlendirildiğinde, İRS grubunda MDA değerinin sham, ,sesamin ve İR gruplarına göre istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmakla birlikte ( sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,008$ ); İR grubuyla sham ve sesamin grupları arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı bulundu ( sırasıyla  $p=0,116$ ;  $p=0,293$ ). Sham ve sesamin

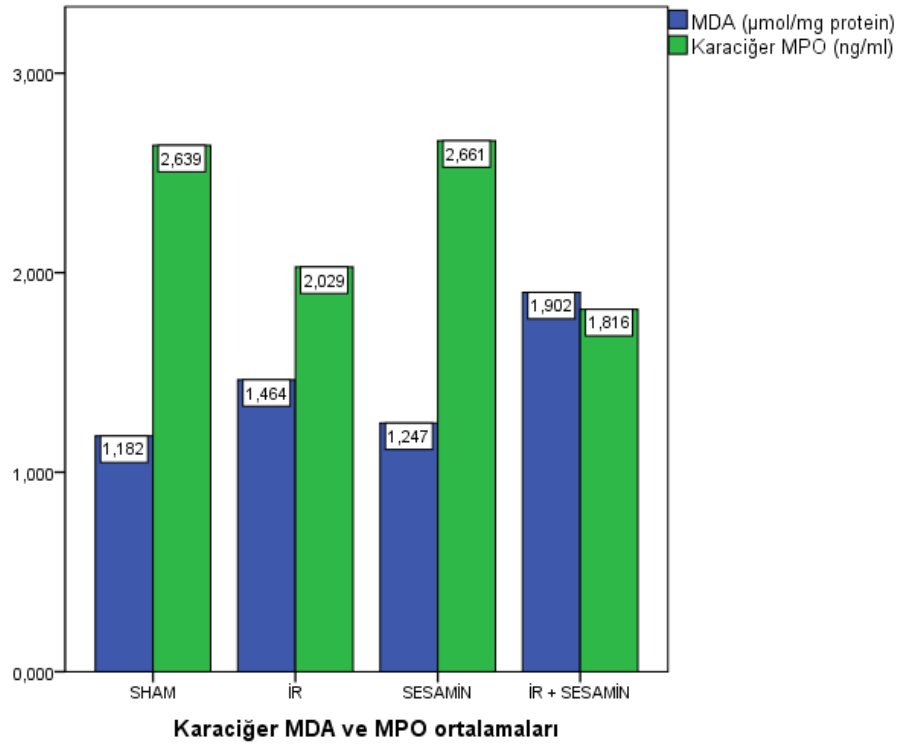
grupları arasında MDA değeri açısından istatistiksel anlamlı fark olmadığı bulundu ( $p=0,947$ ) (Şekil 17). Karaciğer MPO değerleri açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,656$ ) (Şekil 17).



Şekil 15. Karaciğer TOS ve OSI değerleri



Şekil 16. Karaciğer TNF-α değerleri



**Şekil 17. Karaciğer MDA ve MPO değerleri**

## HİSTOPATOLOJİK ANALİZ

### Işık Mikroskopisi Sonuçları

Gruplardaki ratların karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopunda x200 ve x400 büyütmede incelenerek Suzuki skorlama sistemine göre skorlandı (Şekil 18) (Tablo 6).

Gruplar ışık mikroskopisi açısından karşılaştırıldıklarında sinüzoidal konjesyon açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ). Sham grubundaki örneklerin tamamının incelemesinde konjesyon izlenmezken, İR grubunun tamamında 3. Derece konjesyon olduğu bulundu. İRS grubunun yarısında 2. derece sinüzoidal konjesyon bulunmaktaydı (Tablo 6). Parankimal nekroz açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p = 0,217$ ). Sitoplazmik vakuollenme açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ). Sham grubundaki karaciğer örneklerinin tamamında sitoplazmik vakuollenme izlenmezken; İR grubundaki karaciğer örneklerinin tamamında değişen derecelerde olmakla birlikte sitoplazmik vakuollenme mevcuttu (Tablo 6). Sinüzoidal konjesyon ve sitoplazmik vakuollenme açısından bulunan istatistiksel anlamlı farkın İR grubundan kaynaklandığı görüldü.

**Tablo 6. Karaciğer doku örneklerinin Suzuki skorlama sonuçları**

<b>Gruplar</b>	<b>Sinuzoidal konjesyon skoru (4 üzerinden)</b>	<b>Parankimal nekroz skoru (4 üzerinden)</b>	<b>Sitoplazmik vakuollenme skoru (4 üzerinden)</b>
<b>Sham (n=6)</b>			
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
<b>İR (n=6)</b>			
1	3	0	1
2	3	0	3
3	3	0	1
4	3	0	2
5	3	1	2
6	3	1	3
<b>Sesamin (n=6)</b>			
1	1	0	1
2	0	0	1
3	0	0	1
4	0	0	0
5	1	0	0
6	2	0	0
<b>İRS (n=6)</b>			
1	2	0	1
2	1	0	1
3	4	0	2
4	2	0	1
5	2	0	2
6	3	0	1

İR: İskemi- reperfüzyon, İRS: İskemi reperfüzyon+ sesamin, n: gruptaki örnek sayısı



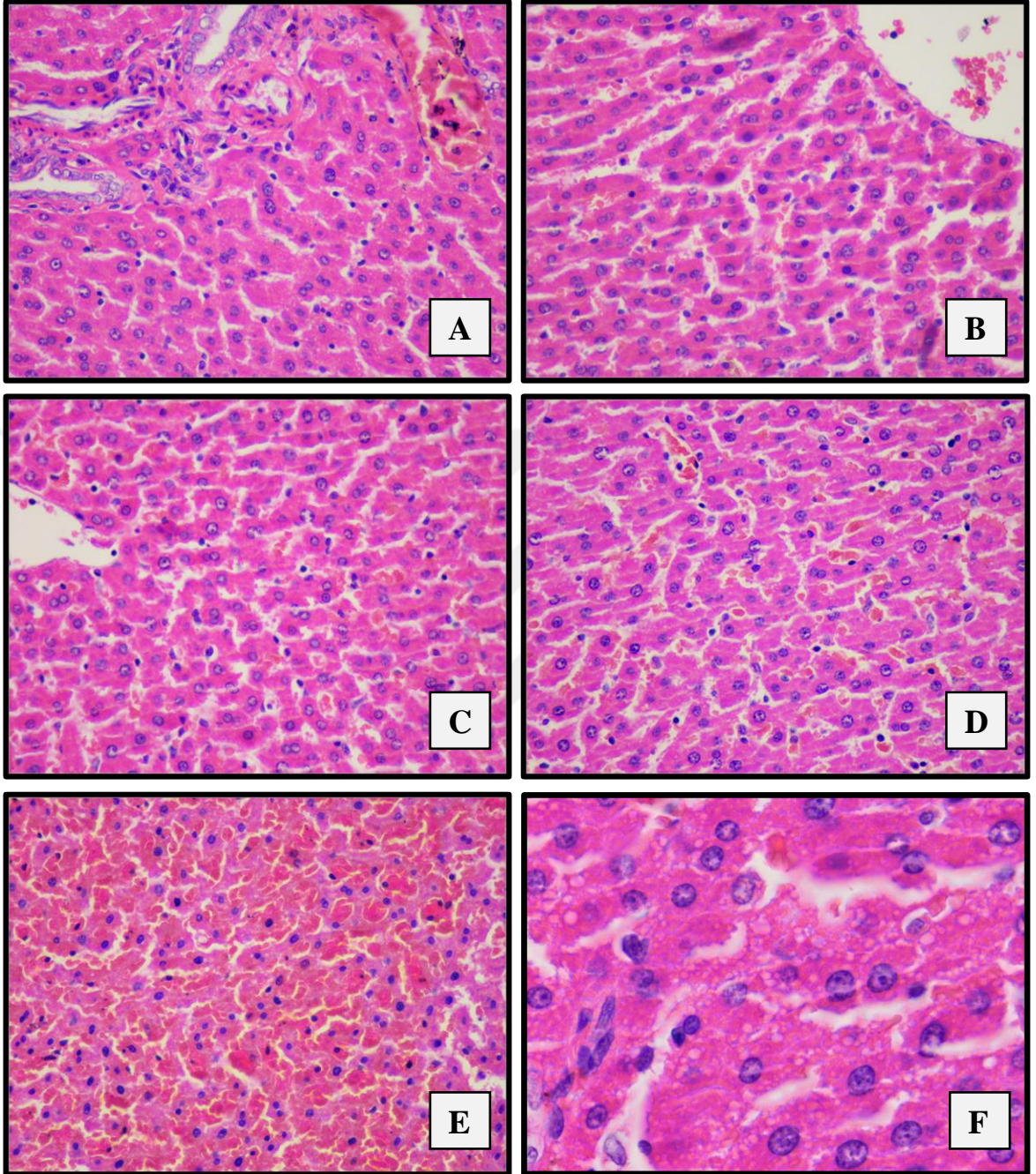
## İmmünohistokimyasal Sonuçlar

Gruplardaki ratların karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopunda x100 büyütmede incelenerek kanaliküler yapının TNF- $\alpha$  tutulum kuvveti ve boyanma yaygınlığı değerlendirilerek H skorları hesaplandı(Şekil 19). H skorlarının normal dağılıma uymaması nedeniyle Kruskal Wallis ile değerlendirildi ve ortanca değerler İR grubuna yüksek olduğu ancak gruplar arasındaki farkın istatistiksel anlamlı olmadığı görüldü (p=0,062) (Tablo 7).

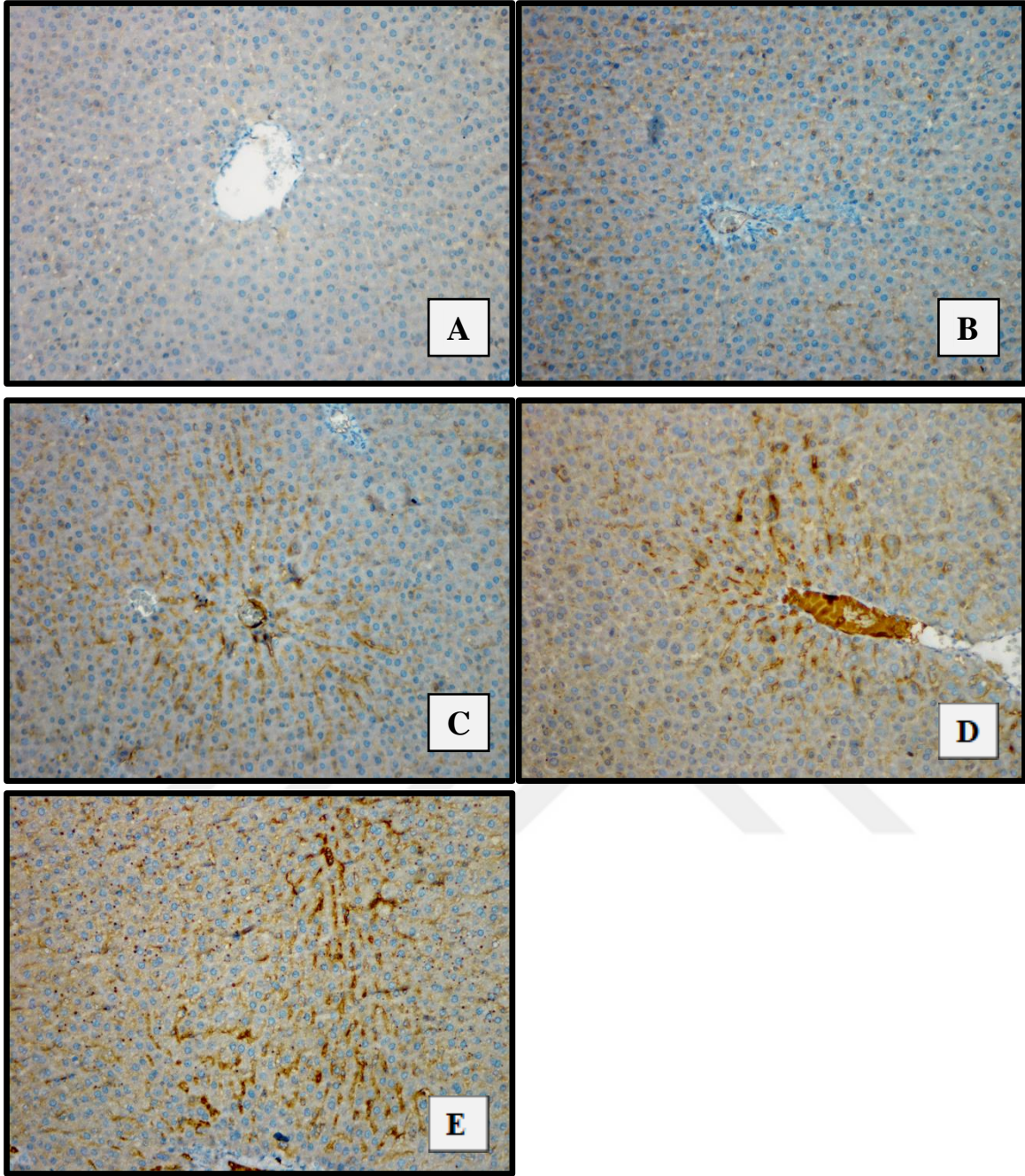
**Tablo 7. Karaciğer immünohistokimyasal H skorunun gruplara göre dağılımı**

Gruplar	n	%25	Ortanca	%75
Sham	6	0	10	22,5
İR	6	10	35	75
Sesamin	6	0	5	40
İRS	6	0	0	12,5

İR: İskemi- reperfüzyon, İRS: İskemi reperfüzyon+ sesamin, n: gruptaki örnek sayısı



Şekil 18. Karaciğer örneklerinin ışık mikroskopunda değerlendirilmesi: A- Konjesyon izlenmeyen karaciğer parankimi (HEx200), B- Karaciğer parankiminde derece 1 konjesyon. (HEx200), C- Karaciğer parankiminde derece 2 konjesyon. (HEx200), D-Karaciğer parankiminde derece 3 konjesyon. (HEx200), E- Karaciğer parankiminde derece 4 konjesyon. (HEx200), F- Hepatosit sitoplazmalarında mikrovakuollenmeler. (HEx400)



**Şekil 19. Karaciğer örneklerinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi: A- TNF ile reaksiyon oluşmayan karaciğer parankimi. (IHKx100), B- Kanaliküler paternde derece 1 TNF boyanması (IHKx100), C- Kanaliküler paternde derece 2 TNF boyanması (IHKx100), D- Kanaliküler paternde derece 3 TNF boyanması (IHKx100), E- Kanaliküler paternde, %40 yaygınlıkta derece 3 TNF boyanması (IHKx100)**

## TARTIŞMA

Karaciğer 'de İR hasarının etkisinin azaltılmasında antioksidan maddelerin etkisi çeyrek asırdan uzun süredir çalışılmaktadır (5). Ancak henüz klinikte rutin kullanıma alınmış bir antioksidan madde bulunmamaktadır.

Sağlıklı bir sistemde oksidan maddeler bulunmakla birlikte bunlar antioksidan maddelerle denge halindedir. Artmış serbest radikaller hastalıkta birincil sebep değil, sonuçtur. Ancak sonrasında katastrofik şekilde gelişen olayların sebebi haline gelmektedir (48).

Deney modelinin oluşturulması sırasında Pringle (49)'ın adıyla anılan manevrayı tarif ettiği ilk çalışması kaynak alınarak hepatoduodenal ligamentin total olarak klemlenmesi uygulandı. Bahsedilen çalışmasında Pringle, karaciğer vasküler oklüzyonu oluştururken tavşan kullanmış ve Ponfick ile Langenbuch'a atıf yaparak daha önce yapılan benzer çalışmanın başarısızlıkla sonuçlandığına değinmiştir. Literatürdeki bazı çalışmalarda total karaciğer iskemisinden bahsedilmekle birlikte hepatoduodenal arter içindeki portal ven, hepatik arter ve biliyer kanalın klemlendiğini anlatmaktadırlar ve bu çalışmalar incelendiğinde Pringle manevrası uygulanarak rat karaciğerinin sefalad loblarında iskemi oluşturulduğu görülmektedir (50,51). Biz de çalışmamızda İR ve İR+ sesamin gruplarında bu şekilde iskemi uyguladık.

Karaciğer tam İR modelini ve bu modelde çeşitli moleküllerin etkisini inceleyen farklı çalışmalarda 20 dakika iskemi ve 20 dakika reperfüzyon süresinden 90 dakika iskemi, 24 saat reperfüzyona uzanan bir skalada farklı süreler yer almaktadır (12,19,52–58). Literatürde iskemi- reperfüzyon rat modeli için standardize sürelerin gerekçesiyle önerildiği bir çalışma tespit edemedik. Bizim ön çalışmamızda ratların, başlangıçta belirlediğimiz bir saat iskemi ve 6 saat reperfüzyon süresini tolare edemedikleri, çok sayıda hayvan kaybı olduğu izlendiğinden

iskemi süresi 45 dakika ve reperfüzyon süresi 3 saat olarak düzenlenmiştir. Aralıklı klemplemenin sürekli klemplemeye göre bir koruyuculuğu olmadığını gösteren bir çalışma olması nedeniyle modelimizde sürekli klempleme tercih edilmiştir (59).

Öte yandan Gomes ve ark. (60), sürekli ve aralıklı Pringle manevrası uygulanarak oluşturulan normotermik karaciğer İR modelinde yaptıkları çalışmada 15 hayvandan 6'sının gerekli süre olan 6 saat reperfüzyon boyunca yaşamaması ve iki hayvanın da ilk anesteziden çıkamamış olması nedeniyle çalışmayı sonlandırmışlardır. Bahsedilen çalışmada ratlarda Pringle manevrası ile karaciğer İR modeli oluşturmanın imkansızlığı vurgulanmaktadır ve reperfüzyon için uzun süre beklenmesi gereken çalışmalarda tavşan gibi daha büyük hayvanların kullanımı önerilmektedir. Bizim çalışmamızda da İR uygulanan gruplardaki hayvanların sakrifikasyonu aşamasında bilateral plevral effüzyon ve üçüncü boşluğa sıvı kaçışına bağlı olarak total kan volümünde azalma izlenmiştir. Ancak bu bulgular çalışmanın konusu dışında kaldığından ölçüm ve karşılaştırma uygulanmamıştır.

Yapılan çok sayıda çalışmada bir çok ilacın karaciğer İR hasarında ekzojen antioksidan olarak etki ettiği gösterilmiştir. Bu ilaçlardan biri de antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip sesamindir (15,44). Sirato ve ark. (61) susam içeren diyetle beslenen ratlarda mitokondrial ve peroksizomal palmitoil – CoA oksidasyon oranının arttığını ve bu yolla yağ asidi oksidasyonu ve serum trigliserit konsantrasyonundaki etkisini göstermişlerdir. Akimoto ve ark. (62) etanol toksisitesi ile oluşturulan subakut karaciğer hasarında sesaminin iyileşmeyi desteklediğini göstermiştir. Chiang ve ark. (63) kurşun asetat de düşük doz lipopolisakkarit ile oluşturdukları karaciğer hasarında sesaminin muhtemelen COX-2, iNOS, ve MAPK yolları üzerinden koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır

Nuo ve ark. (8) karaciğer İRH'nı propofolün hafiflettiğini göstermişlerdir; bu nedenle biz çalışmamızda anestezi madde olarak ketamin kullandık.

Kimyasal ya da fiziksel yolla meydana getirilen karaciğer hasarının değerlendirme ve karşılaştırılmasında genellikle serum aminotrasferazlar (AST, ALT) kullanılır (6,33,54,59,63). Bizim çalışmamızda da karaciğer hasarını değerlendirmek için serum AST, ALT düzeylerine bakıldı. Yapılan bazı deneysel çalışmalarda, hepatik hasara sesaminin etkisi değerlendirilmiş, sesamin verilen gruplarda serum AST, ALT değerlerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu tespit edilerek sesaminin hepatik hasara olumlu etkisinin olduğu ifade edilmiştir (15,44,62–65).

Hirose ve ark. (66) ise sesaminin serum kolesterol düzeylerinde anlamlı düşmeye yol açmasına rağmen AST ve ALT düzeylerinde değişiklik yapmadığını vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda ise karaciğer İR oluşturulan ve sesamin verilen ratlarda serum ALT ve AST

değerlerinin sesamin verilmeyip İR oluşturulan gruptan anlamlı fark göstermediği bulundu. Serum ALT ve AST değerinin sesamin verilir İR oluşturulan ratlarda, sham grubuna ve sadece sesamin verilen gruba göre anlamlı derecede yükseklik gösterdiği bulundu. Bu verilerle sesaminin doku koruyucu etkisi olmadığı görülmekle birlikte, doku hasarını arttırdığı da söylenemez. Sadece İR oluşturulan ve sesamin verilmeyen ratlarda ise serum ALT ve AST değeri açısından sham ve sesamin grubuna göre anlamlı fark olmadığı görüldü. Sesaminin tek başına hepatotoksik etki göstermediği anlaşılmaktadır. İR grubunda anlamlı ALT, AST yüksekliği olmaması nedeniyle İR modelinin ileriki çalışmalar açısından uygunluğunu gözden geçirmek gerekecektir.

Hou ve ark. (67) hipoksik nöron ve PC12 (nöroendokrin) hücre serilerinde sesamin ve sesamolinin etkilerini inceledikleri çalışmada, LDH yüksekliğinin hücre ölümünün göstergesi olduğundan bahsetmişlerdir. Aynı çalışmada sesaminin doz bağımlı olarak LDH 'da yükselmeyi azalttığını ve bunun hücre koruyucu etkiyi gösterdiğini söylemişlerdir. Bizim çalışmamızda LDH değerinin İRS grubunda sham ve sesamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu; ancak İR ve İRS grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark görülmedi. Bu değerlere göre sesamin verilmesi ardından İR uygulanan ratlarda daha çok hücre kaybı olduğu görülmekle birlikte; ALT ve AST düzeyleri ile birlikte değerlendirildiğinde bu hücre ölümünün hepatositlerde olmadığı düşünülmektedir.

Guo ve ark. (68), doksorubisin kaynaklı hepatorenal toksisiteye ve oksidatif strese sesaminin olumlu etkisini araştıran çalışmasında 10 mg/kg/gün ve 20 mg/kg/gün dozlarda sesamin verilen gruplarda ALP düzeyinde düşüş olduğunu göstermişlerdir ve bunu karaciğer koruyucu etki olarak değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ALP düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark olmadığı bulundu.

GGT'nin alkol bağımlı karaciğer hasarında oksidatif stresin erken göstergesi de olabileceği gösterilmiştir (32). Bizim çalışmamızda da İRS grubunda GGT düzeyinin sesamin grubuna göre yüksek olduğu bulunmakla birlikte diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Bu durum sesaminin, safra stazı nedeniyle oluşan safra yolu hasarına katkısı olabileceğini göstermektedir; ancak kolestaz modelinde ileri çalışma gerektirmektedir.

Karaciğer İR modelinde TNF- $\alpha$ 'nın rolünü gösteren bir çalışmada, İR uygulanan grupta TNF- $\alpha$  salınımının arttığı ve bu molekülün hem hepatositlerde lokal zararlı etkiler hem de akciğer hasarına yol açtığı gösterilmiştir (53). Chiang ve ark. (63) kimyasal yolla oluşturulan karaciğer hasarında sesaminin etkilerini gösterdikleri çalışmada sesamin uygulanan grupta serum TNF- $\alpha$  düzeyinin düştüğünü ve akut karaciğer hasarının azaldığını göstermişlerdir. Biz

çalışmamızda hem serum hem karaciğer homojenat TNF- $\alpha$  düzeyini ve bunun yanında immünohistokimyasal olarak karaciğer doku TNF- $\alpha$  düzeyini değerlendirdik. Bizim çalışmamızda serum TNF- $\alpha$  düzeyi İR ve İRS gruplarında yani hepatoduodenal ligamentin klampe edildiği gruplarda sesamin grubuna göre istatistiksel anlamlı derecede yüksek olurken, sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlı fark görülmedi. İR ve İRS grupları arasında da serum TNF- $\alpha$  değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark izlenmedi. Doku TNF- $\alpha$  düzeyi açısından ise gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. İmmünohistokimyasal olarak da gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Bu bulgular sesaminin İR'de TNF- $\alpha$  yoluyla oluşan doku hasarına olumlu etkisinin olmadığını göstermektedir.

MDA, lipid peroksidasyonunun ürünü olup oksidatif stresi değerlendirmek için en sık kullanılan biyomarkerdir (34). Literatürde çeşitli maddelerle farklı organlarda oluşturulan oksidatif strese sesaminin etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda sesamin verilen gruplarda serum MDA düzeylerinde anlamlı bir azalmanın olduğu gösterilmiştir (69–71). Fukuda ve ark. (72) tarafından hidrojensel inhalasyonunun karaciğer İR hasarında doku koruyucu etkisinin gösterildiği bir çalışmada bu etkiyi göstermek için karaciğer MDA düzeyi ölçülerek deney grubunda düşük olduğu bulunmuştur. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise literatürdeki çalışmaların tersine doku MDA değerlerinin, sesamin verilmesi ardından İR oluşturulan ratlarda, sesamin verilmeyip İR oluşturulan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu. Bu durum sesaminin, İR kaynaklı karaciğer hasarını artırmak yönünde etki ettiğini göstermektedir. Sesamin grubunda, sham ve İR grubuna göre fark bulunmamış olması, sesaminin tek başına hepatotoksik etkisi olmadığını göstermektedir.

Periferik kanda ve dokularda nötrofillerin aktifleşmesi ile birlikte MPO hem fagolizozomal kompartmana hem de ekstrasellüler alana salınır. Bu nedenle MPO, İRH'daki nötrofil fonksiyonunu göstermesi açısından önemlidir (35). Böbrek İR'si ardından oluşan doku hasarındaki kritik rolü gösterilmiştir (73). Çalışmamızda hem serum hem karaciğer MPO düzeylerini değerlendirdik. Çalışmamızda hem serum hem de doku MPO değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu bulgu İR uygulanan gruplarda PMNL aracılı doku hasarının gerçekleşmemiş olduğunu göstermektedir.

Serum total antioksidan kapasitesindeki (TAS) azalma karaciğer İRH'nın yol açtığı oksidatif stresin önemli bir göstergesidir (37). Sesamin ile yapılan bazı deneysel çalışmalarda oksidatif stres sonrası meydana gelen serum TAS düzeylerindeki azalmanın sesamin verilen ratlarda anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (66,74). Biz çalışmamızda hem serum hem karaciğer homojenat TAS düzeylerini değerlendirdik. Çalışmamızda hem serum hem de doku

TAS değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu bulgu sesaminin hem tek başına verildiğinde hem de İR ncesi uygulandığında antioksidan etki göstermemiş olduğuna işaret etmektedir.

TOS lm organizmadaki SOR'un oksidatif gücünü ölçmede çok faydalıdır (75). Sayhan ve ark. (76) mezenter İR modelinde sesaminin mukozal doku koruyucu etkisini gösterdikleri çalışmada serum TOS seviyesine ek olarak doku TOS ve OSİ'sini de değerlendirerek sesamin verilen grupta İR grubuna göre anlamlı düşük olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda, literatürdeki verilerin aksine serum TOS ve OSİ değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Doku OSİ değerleri de gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermedi. Doku TOS değerine bakıldığında İR uygulanan grupta sham grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu görüldü. Bu durum İR modelinin uygun şekilde çalışarak dokuda oksidatif strese yol açtığını göstermektedir. İRS grubu ile İR grubu arasında karaciğer TOS değerleri açısından anlamlı farklılık olmaması, sesaminin karaciğer İR modelinde antioksidan etki göstermemiş olduğuna işaret etmektedir.

Chiang ve ark. (63) kurşun ve lipopolisakkarit ile oluşturulan akut karaciğer hasarında sesaminin doku koruyucu etkilerini gösterdikleri çalışmada; sesamin verilen grupta hücre nekrozu ve hidropik dejenerasyonun daha az olduğunu belirtmişlerdir; ancak bu çalışmada bir sınıflama sistemi kullanılmadığından istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı anlaşılamamaktadır. Karbontetraklorid kaynaklı karaciğer hasarında sesaminin doku koruyucu etkisi olduğundan bahseden başka bir çalışmada da histopatolojik skor açısından sesamin verilen grupta karaciğer hasarının istatistiksel anlamlı şekilde daha az olduğu raporlanmıştır; ancak bu çalışmada da kullanılan skorlama sisteminden bahsedilmemiştir (65). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada, İR ve İRS grupları arasında karaciğer hasarını gösteren biyokimyasal değerlerde istatistiksel anlamlı fark olmamasına karşın; histopatolojik incelemede sinüzoidal konjesyon ve sitoplazmik vakuollenme açısından sesamin verilen ve sonrasında İR uygulanan grupta doku hasarının sesamin verilmeden İR uygulanan gruba göre daha az olduğu bulundu.

Tanınmış 16. yüzyıl hekimi Paracelsus meşhur vecizesinde; "Her şey zehirdir. Zehir olmayan hiçbir şey yoktur. Zehri belirleyen yalnızca dozdur." diyerek dozun önemine vurgu yapmıştır(77). "Antioksidan stres" kavramı ilk olarak Dündar ve Aslan (78) tarafından kullanılmış olup; yazarlar bu çalışmalarında antioksidan maddelerin de uygun olmayan dozda kullanımlarında pro-oksidan etkileri olduğuna dikkat çekmişlerdir. Hipertansif rat modelinde sesaminin arteriyal disfonksiyonu azalttığını gösterdikleri çalışmada Zhang ve ark. (70) sesamini 16 hafta boyunca farklı gruplarda 40 – 80 ve 160 mg/kg/gün dozunda oral olarak



vermişlerdir. Su ve ark. (74) doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisitede sesaminin olumlu etkilerini gösterdikleri çalışmada sesamini 20 mg/kg/gün dozunda 10 gün oral yoldan vermişlerdir. Kainik asit bağlı status epileptikusta sesaminin oksidatif stres ve mortalite üzerinde olumlu etkisini gösterdikleri çalışmada Hsieh ve ark. (69) 30 mg/kg/gün dozunda sesamini 3 gün boyunca oral olarak vermişlerdir. Biz de çalışmamızda 30 mg/kg/gün dozda sesamini 7 gün boyunca uyguladık ve yukarıda anlatılan çalışmalar göz önüne alınarak antioksidan stres etkisi beklememekteyiz.

Dündar ve Aslan (78) yukarıda da bahsedilen çalışmalarında ayrıca: “örneğin DNA hasarına yol açan bir oksidan karşısında lipid peroksidasyon inhibisyonu yoluyla çalışan bir antioksidanın işe yaramayacağından” da bahsetmektedirler. Bu nedenle antioksidan seçiminde aynı antibiyotik ve antineoplastik ajan seçiminde yapıldığı gibi öncelikle hedef alınan oksidanın etki mekanizması değerlendirilmelidir. Ekzojen antioksidanların zararlı etkilerinin henüz gösterilememiş olması, güvenli moleküller olarak düşünölmelerine neden olmaktadır ve bu sık düşölen bir bilimsel hatadır (79). Ekzojen antioksidanların olası zararlı etkilerinin incelenmesi yanında etkin doz ve lethal doz çalışmalarına da ihtiyaç bulunmaktadır.

Literatürde sesaminin çeşitli dokularda antioksidan etkisini gösteren çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen; biz karaciğer İR modelinde sesaminin etkisini incelediğimiz çalışmamızda serum ve doku biyokimyasını ve histopatolojik analizi birlikte değerlendirerek antioksidan etki olmadığını ve doku koruyucu etkisi bulunmadığını gördük. Bununla birlikte tavşan gibi daha büyük hayvanlardaki karaciğer İR modellerinde sesaminin farklı dozlardaki etkisini değerlendirmek için ileri çalışmalar gerekmektedir.

## SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda planlanan çalışmamızda ratlardaki karaciğer İRH'de sesaminin karaciğer hasarı üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda üniversitemiz Fizyoloji, Tıbbi Patoloji ile Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dallarının ortaklaşa çalışması ile gerçekleştirilmiştir.

Deneysel olarak karaciğer İR oluşturulan ratlarda sesaminin etkisi; serumlarında bakılan ALT, AST, LDH, ALP, GGT seviyeleri; hem karaciğer dokularında hem de serumlarında bakılan TAS, TOS, OSİ, TNF- $\alpha$ , MPO; karaciğer dokusunda bakılan MDA değerleriyle, histopatolojik ve immünohistokimyasal değişiklikler değerlendirilerek karşılaştırıldı ve şu sonuçlara ulaşıldı:

1. Karaciğer İR oluşturulan grupta işlem sırasında iskemik karaciğer bulguları görsel olarak izlenmesine rağmen bu grupta serum ALT, AST, ALP, GGT, LDH, TAS, TOS, OSİ, MPO ve karaciğer TNF- $\alpha$  ile TAS düzeyleri diğer gruplardan istatistiksel anlamlı fark göstermemiştir. Karaciğer TOS ise İR grubunda sham grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Işık mikroskopisi analizinde de doku hasar bulgularının İR grubunda diğer gruplara göre daha fazla olduğu değerlendirilmiştir. İR bağlı hasar patolojik incelemede mevcut olmakla birlikte özellikle serum biyokimyasına yansımamıştır.
2. İRS grubunda ALT, AST, LDH değerleri sham ve sesamin grubuna göre yüksek bulunmakla birlikte serum ve karaciğer TAS, TOS, OSİ değerlerinde anlamlı fark

görülmemiştir. Bu durum sesaminin karaciğer İRH'da doku hasarını arttırdığını ancak bunun SOR üzerinden olmadığını göstermektedir.

3. Sesamin grubu ile sham grubu arasında biyokimyasal parametreler ve histopatolojik değerlendirme açısından fark olmaması sesaminin tek başına karaciğere toksik olmadığını göstermektedir.
4. İR grubu ile İRS grubu arasında biyokimyasal parametreler açısından istatistiksel fark olmaması ve immünohistokimyasal incelemede TNF- $\alpha$  immünohistokimya karşılaştırmasında İR grubunda anlamlı şekilde daha çok tutulum olması karaciğer İRH'da sesaminin doku koruyucu ve antioksidan etki göstermediğini ortaya koymaktadır.
5. Ön çalışmamız sırasında hayvan kaybı izlenmesi nedeniyle 1 saat iskemi ve 6 saat reperfüzyon süresinin karaciğer İR modeli için uygun olmadığı; 45 dakika iskemi ve 3 saat reperfüzyon uygulandığında deney süresinde hayvan kaybı olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte hem hayvan seçimi hem de İR modelinin standart hale getirilmesi açısından ileri çalışmaların yapılması uygun olacaktır.

## ÖZET

İskemi reperfüzyon hasarı, karaciğer operasyonları ve nakillerinden sonraki işlev azalması ya da tamamıyla kaybının önemli sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir. Sesamin, “sesamum indicum” (susam) bitkisinin tohumunda ve yağında bol miktarda bulunan ve bunlardan saflaştırılabilen lignanlardan biridir.

Bölümümüzde planlanan ve Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirilen çalışmamızda; sesaminin ratlarda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında doku koruyucu ve antioksidan etkilerinin olup olmadığını, serumda ve dokuda biyokimyasal analizle ve histopatolojik olarak araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi’nde üretilmiş ve standart laboratuvar koşullarında tutulan ağırlığı 180 - 230 gram arasında değişen erişkin 24 adet Wistar Albino dişi rat kullanıldı. Sham grup (n= 6), hepatoduodenal ligamenti ortaya konan ancak klampe edilmeyen, iskemi-reperfüzyon grubu (n= 6): Pringle manevrası uygulanan, 45 dakika iskemi sonrası 3 saat reperfüze edilen; sesamin grubu (n= 6) orogastrik gavaj yoluyla 30 mg/kg sesamin verilen, sonrasında hepatoduodenal ligamenti ortaya konan ancak klampe edilmeyen; iskemi reperfüzyon + sesamin grubu (n= 6) 7 gün süreyle orogastrik gavaj yoluyla 30 mg/kg sesamin verilen, 7. günün sonunda Pringle manevrası uygulanan ve 45 dakika iskemi sonrası 3 saat reperfüze edilen grup. Serum ALT,AST, ALP,GGT,LDH, serum ve karaciğer MPO, TNF- $\alpha$  , TAS; TOS, OSI ve karaciğer MDA düzeyleri ölçüldü, histopatolojik analiz yapıldı ve karşılaştırıldı.

Sesaminin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında doku hasarını arttırdığı ancak bunun serbest oksijen radikalleri üzerinden olmadığı görülmektedir. Sesaminin tek başına karaciğere

toksik olmadığı bulunmuştur. İskemi reperfüzyon hasarında sesaminin doku koruyucu ve antioksidan etki göstermediği ortaya konmuştur.

**Anahtar kelimeler:** karaciğer, iskemi-reperfüzyon, sesamin, antioksidan



# **EXAMINING ANTIOXIDANT AND TISSUE PROTECTIVE EFFECTS OF SESAMIN ON LIVER INJURY DURING LIVER ISCHEMIA- REPERFUSION IN RATS**

## **SUMMARY**

Ischemia reperfusion injury is one of the major causes of decreased function after liver operations and transplants. Sesamin is one of the main lignans in the sesame seed. The aim of this study was to invest the tissue protective and antioxidant effects of sesamin on liver ischemia reperfusion injury in rats.

In this study, 24 adult Wistar Albino female rats which were produced in Experimental Animals Research Laboratory of Trakya University and weighted between 180-230 grams were randomly divided in to four groups: Sham group(n = 6), hepatoduodenal ligament was exposed but not clamped. Ischemia-reperfusion group (n = 6), 45 minutes of Pringle maneuver and 3 hours of reperfusion was performed. Sesamin group (n = 6) was given 30 mg / kg sesamin by orogastric gavage for 7 days, hepatoduodenal ligament was exposed but not clamped. Ischemia reperfusion + sesamine group (n = 6) was given 30 mg / kg sesamin by orogastric gavage for 7 days, followed by 45 minutes of Pringle maneuver and 3 hours of reperfusion. Plasma levels of ALT,AST, ALP,GGT,LDH, plasma and liver tissue levels of MPO, TNF- $\alpha$  , TAS; TOS, OSI and tissue levels of MDA were measured and also histopathological analysis was performed and compared.

Plasma ALT, AST, GGT levels were significantly higher in ischemia-reperfusion+ sesamin group but TAS,TOS, OSI levels were not significantly different between groups.

Sesamin increases tissue damage in liver ischemia reperfusion injury, but not through free oxygen radicals. Sesamin alone is not toxic to the liver. Sesamin does not have tissue protective and antioxidant effects in ischemia reperfusion injury

**Keywords:** liver, ischemia-reperfusion, sesamin, antioxidant



## KAYNAKLAR

1. Serracino-Inglott F, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *The American Journal of Surgery* 2001;7:160-6.
2. Jaeschke H. Mechanisms of reperfusion injury after warm ischemia of the liver. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery* 1998;5(4):402-8.
3. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look. *Experimental and Molecular Pathology* 2003;74(2):86-93.
4. Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia–reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2013;10(2):79-89.
5. Glantzounis GK, Salacinski HJ, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: A review. *Liver Transplantation* 2005;11(9):1031-47.
6. Xu S-Q, Li Y-H, Hu S-H, Chen K, Dong L-Y. Effects of Wy14643 on hepatic ischemia reperfusion injury in rats *World J Gastroenterol.* 2008;14(45):6936-42.
7. Türkyılmaz Z, Hatipoğlu A, Yüksel M, Aydoğdu N, Hüseyinova G. Comparison of effects of melatonin, pentoxifylline and dimethyl sulfoxide in experimental liver ischemia-reperfusion injury by three different methods. *The European Research Journal.*2019;5(1):148-58.
8. Nuo M, sen ta na H, Meng Q, Xia Z-Y. Propofol alleviates oxidative stress via upregulating lncRNA-TUG1/Brg1 pathway in hypoxia/reoxygenation hepatic cells. *The Journal of Biochemistry* 2019;mvz054.



9. Albuquerque FP, Laureano E, Jordani-Gomes MC, Fina CF, Vanni C, Mente ED, ve ark. Prophylactic Use of Laser Light and Methylene Blue on Ischemia and Liver Reperfusion Injury. *Transplantation Proceedings* 2019;51(5):1549-54.
10. Subhas G, Gupta A, Bakston D, Silberberg B, Loboeki C, Andrus L, ve ark. Protective effect of methylprednisolone on warm ischemia-reperfusion injury in a cholestatic rat liver. *The American Journal of Surgery* 2010;199(3):377-81.
11. Lim E-J, Do G-M, Shin J-H, Kwon O. Protective effects of *Acanthopanax divaricatus* vat. *albeofructus* and its active compound on ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2013;432(4):599-605.
12. LI Y, LI T, QI H, YUAN F. Minocycline protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Biomed Rep* 2015;3(1):19-24.
13. Bozkurt G. Susam Yağının Antioksidan Özellikteki Başlıca Bileşenlerinin Nitelik Ve Nicelikleri Üzerine Araştırmalar (tez). İzmir. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
14. Arslanoğlu A. İntestinal İskemi-Reperfüzyon Sonrası Meydana Gelen Karaciğer Hasarı Üzerine Sesaminin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi (tez). Edirne. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2014.
15. Utsunomiya T, Shimada M, Rikimaru T, Hasegawa H, Yamashita Y, Hamatsu T, ve ark. Antioxidant and anti-inflammatory effects of a diet supplemented with sesamin on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Hepatology* 2003;50(53):1609-13.
16. McCord JM. Oxygen-Derived Free Radicals in Postischemic Tissue Injury. *New England Journal of Medicine* 1985;312(3):159-63.
17. Nakazato PCG, Victorino JP, Fina CF, Mendes KDS, Gomes MCJ, Evora PRB, ve ark. Liver ischemia and reperfusion injury. Pathophysiology and new horizons in preconditioning and therapy. *Acta Cirurgica Brasileira* 2018;33(8):723-35.
18. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81(5):637-47.
19. Baykara A. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Karnozin Ve Melatoninin Koruyucu Etkileri (tez). İzmir. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2006.
20. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med* [Internet]. 2011 [a.yer 23 Eylül 2019];17(11). Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3886192/>

21. Zhao Z-Q, Nakamura M, Wang N-P, Velez DA, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, ve ark. Dynamic Progression of Contractile and Endothelial Dysfunction and Infarct Extension in the Late Phase of Reperfusion. *Journal of Surgical Research* 2000;94(2):133-44.
22. Perry BC, Soltys D, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Tumor necrosis factor- $\alpha$  in liver ischemia/reperfusion injury. *J Invest Surg* 2011;24(4):178-88.
23. Liu L, Kubes P. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment: organ-specific mechanisms of action. *Thromb Haemost* 2003;89(2):213-20.
24. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012;298:229-317.
25. Jaeschke H, Farhood A, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 1993;264(4):G801-9.
26. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM. Role of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in the Pathophysiologic Alterations after Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat. *J Clin Invest* 1990;85:8.
27. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993;49(3):481-93.
28. Nordberg J, Arnér ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine* 2001;31(11):1287-312.
29. Pinchuk I, Shoval H, Dotan Y, Lichtenberg D. Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. *Chemistry and Physics of Lipids* 2012;165(6):638-47.
30. Aslan R. Homeostatik Mekanizmanın Korunması ve Sağaltımda Antioksidanlar. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 1999;12:475-80.
31. Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy* [Internet]. American Chemical Society; 2011 [a.yer 26 Eylül 2019]. s. 1-37. (ACS Symposium Series; c. 1083). Erişim adresi: <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1083.ch001>
32. Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AA, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests. *Pan Afr Med J* 2009;3:17.
33. Panda S, Jena SK, Nanda R, Mangaraj M, Nayak P. Ischaemic Markers in Acute Hepatic Injury. *J Clin Diagn Res* 2016;10(4):17-20.

34. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1990;9(6):515-40.
35. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch Biochem Biophys* 2018;640:47-52.
36. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005;38(12):1103-11.
37. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37(4):277-85.
38. Maynard, R. L., Downes, N., Liver , Dissection Of The Adult Rat, In: Maynard, R. L., Downes, N.(Eds). *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*. 1st Edition. London: Academic Press; 2019:159-343.
39. Açık veritabanı:  
National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Sesamin, CID=72307, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sesamin> (Erişim tarihi 19.09.2019)
40. Kamal-Eldin A, Moazzami A, Washi S. Sesame seed lignans: potent physiological modulators and possible ingredients in functional foods & nutraceuticals. *Recent Pat Food Nutr Agric* 2011;3(1):17-29.
41. Açık veritabanı:  
Hastings J, Owen G, Dekker A, Ennis M, Kale N, Muthukrishnan V, ve ark. ChEBI. Improved services and an expanding collection of metabolites. *Nucleic Acids Res* 2016  
Erişim adresi: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:66470> (Erişim tarihi 19.09.2019)
42. Tsuruoka N, Kido A, Matsumoto I, Abe K, Kiso Y. Modulating Effect of Sesamin, a Functional Lignan in Sesame Seeds, on the Transcription Levels of Lipid- and Alcohol-Metabolizing Enzymes in Rat Liver: A DNA Microarray Study. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2005;69(1):179-88.
43. Si W, Xie PF, Ma KY, Liang Y, Wang XB, Chung HY, vd. Antioxidant Activity of Sesamin in Canola Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2013;90(4):511-6.
44. Kiso Y. Antioxidative roles of sesamin, a functional lignan in sesame seed, and its effect on lipid- and alcohol-metabolism in the liver: A DNA microarray study. *BioFactors* 2004;21(1-4):191-6.
45. Yasuda K, Sakaki T. How is sesamin metabolised in the human liver to show its biological

- effects? *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 2012;8(1):93-102.
46. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Animal Research: Reporting In Vivo Experiments. *Animal Research. Br J Pharmacol* 2010;160(7):1577-79.
47. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine. *Transplantation* 1993; 55(6):1265-72.
48. Günel E, Çağlayan F, Çağlayan O, Dilsiz A, Duman S, Aktan M. Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *J Pediatr Surg* 1998;33(10):1536-9.
49. Pringle JH. V. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due to Trauma. *Ann Surg* 1908;48(4):541-9.
50. Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, Schlossberg H, Dudus L, Engelhardt JF. CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest* 1997;100(2):279-89.
51. Shen X, Ke B, Zhai Y, Amersi F, Gao F, Anselmo DM, ve ark. Cd154-cd40 T-cell costimulation pathway is required in the mechanism of hepatic ischemia/reperfusion injury, and its blockade facilitates and depends on heme oxygenase-1 mediated cytoprotection. *Transplantation* 2002;74(3):315-9.
52. Jorge G, Tártaro R, Escanhoela C, Boin I. Later Evaluation of Ischemia and Reperfusion by the Pringle Maneuver in Wistar Rats, Demonstrating That Hepatic Lesions Can Be Reversible. *Transplant Proc* 2017;49(4) 898-901.
53. M M, Zh M. Effect of tumor necrosis factor-alpha in rats with hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008;7(3):296-9.
54. Dulundu E, Ozel Y, Topaloglu U, Sehirli Ö, Ercan F, Gedik N, vd. Alpha-Lipoic Acid Protects against Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Pharmacology* 2007;79(3):163-70.
55. Uylaş MU. Karaciğer İskemi Ve Reperfüzyonda Quercetin'in Koruyucu Etkisi (tez). Eskişehir. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2015.
56. Şahin T. Ratlarda Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarına Deksmetomidinin Etkisi. Malatya. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
57. Aliyeva D. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarında Silymarin Ve Redükte Glutasyonun Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Samsun. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.

58. Daban, U. Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında ‘Escin’in Koruyucu Etkisinin İncelenmesi. Hatay. Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi; 2015.
59. Tártaro R, Jorge G, Leonardi M, Escanhoela C, Leonardi L, Boin I. No protective function found in Wistar rats submitted to long ischemia time and reperfusion after intermittent clamping of the total hepatic pedicle. *Transplant Proc* 2015;47(4):1038-41.
60. Gomes H, Serigolle L, Rodrigues D, Lopes C, Studart S, Leme P. Unfeasible Experimental Model Of Normothermic Hepatic Ischemia And Reperfusion In Rats Using The Pringle Maneuver. *Arq Bras Cir Dig* 2014;27(3):196-200.
61. Sirato-Yasumoto S, Katsuta M, Okuyama Y, Takahashi Y, Ide T. Effect of Sesame Seeds Rich in Sesamin and Sesamolin on Fatty Acid Oxidation in Rat Liver. *J Agric Food Chem* 2001;49(5):2647-51.
62. Akimoto K, Kitagawa Y, Akamatsu T, Hirose N, Sugano M, Shimizu S, vd. Protective Effects of Sesamin against Liver Damage Caused by Alcohol or Carbon Tetrachloride in Rodents. *Ann Nutr Metab* 1993;37(4):218-24.
63. Chiang HM, Chang H, Yao PW, Chen YS, Jeng KC, Wang JS, ve ark. Sesamin reduces acute hepatic injury induced by lead coupled with lipopolysaccharide. *J Chin Med Assoc* 2014;77(5):227-33.
64. Lv D, Zhu C-Q, Liu L. Sesamin ameliorates oxidative liver injury induced by carbon tetrachloride in rat. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(5):5733-8.
65. Ma J-Q, Ding J, Zhang L, Liu C-M. Hepatoprotective properties of sesamin against CCl<sub>4</sub> induced oxidative stress-mediated apoptosis in mice via JNK pathway. *Food and Chemical Toxicology* 2014;64:41-8.
66. Hirose N, Inoue T, Nishihara K, Sugano M, Akimoto K, Shimizu S, ve ark. Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. *J Lipid Res* 1991;32(4):629-38.
67. Hou RC, Huang HM, Tzen JT, Jeng KC. Protective effects of sesamin and sesamolin on hypoxic neuronal and PC12 cells. *Journal of Neuroscience Research* 2003;74(1):123-33.
68. Guo H, Liu Y, Wang L, Zhang G, Su S, Zhang R, ve ark. Alleviation of doxorubicin-induced hepatorenal toxicities with sesamin via the suppression of oxidative stress. *Hum Exp Toxicol* 2016;35(11):1183-93.
69. Hsieh PF, Hou CW, Yao PW, Wu SP, Peng YF, Shen ML, ve ark. Sesamin ameliorates oxidative stress and mortality in kainic acid-induced status epilepticus by inhibition of MAPK and COX-2 activation. *J Neuroinflammation* 2011;8:57.

70. Su S, Li Q, Liu Y, Xiong C, Li J, Zhang R, ve ark. Sesamin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity: involvement of Sirt1 and Mn-SOD pathway. *Toxicol Lett* 2014;224(2):257-63.
71. Kong X, Yang J-R, Guo L-Q, Xiong Y, Wu X-Q, Huang K, ve ark. Sesamin improves endothelial dysfunction in renovascular hypertensive rats fed with a high-fat, high-sucrose diet. *Eur J Pharmacol* 2009;620(1-3):84-9.
72. Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, Yamamoto Y, Ohsawa I, Ohta S. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;361(3):670-4.
73. Matthijsen RA, Huugen D, Hoebbers NT, de Vries B, Peutz-Kootstra CJ, Aratani Y, ve ark. Myeloperoxidase Is Critically Involved in the Induction of Organ Damage after Renal Ischemia Reperfusion. *Am J Pathol* 2007;171(6):1743-52.
74. Zhang J, Yang J, Chen G, Tang L, Li W, Yang H, ve ark. Sesamin ameliorates arterial dysfunction in spontaneously hypertensive rats via downregulation of NADPH oxidase subunits and upregulation of eNOS expression. *Acta Pharmacol Sin* 2013;34(7):912-20.
75. Rabus M, Demirbağ R, Sezen Y, Konukoğlu O, Yildiz A, Erel O, Zeybek R, Yakut C. Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2008;36(8):536-40.
76. Sayhan MB, Oguz S, Salt Ö, Can N, Ozgurtas T, Yalta TD. Sesamin ameliorates mucosal tissue injury of mesenteric ischemia and reperfusion in an experimental rat model. *Arch Med Sci* 2018 Dec 10;13(1). doi: 10.5114/aoms.2017.68535.
77. Grandjean P. Paracelsus Revisited: The Dose Concept in a Complex World. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2016;119(2):126-32.
78. Dündar Y, Aslan R. Antioxidative stress. *Eastern J Med* 2000; 5(2): 45-47
79. Aslan R . Antioxidant Safety and Antioxidant-induced Stress. *Kocatepe Veterinary Journal* 2018; 11(4): 496-491.