



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

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TIKANMA
SARILIĞINDA MELATONİN VE
N-ASETİLSİSTEİNİN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. MEHMET FATİH EKİCİ

KAYSERİ – 2007



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

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TIKANMA
SARILIĞINDA MELATONİN VE
N-ASETİLSİSTEİNİN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. MEHMET FATİH EKİCİ

**Danışman
PROF. DR. YÜCEL ARITAŞ**

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	III
TABLO VE GRAFİK LİSTESİ	VI
RESİM VE ŞEKİL LİSTESİ	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	X
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
TIKANMA SARILIĞI	3
<i>Karaciğer Fonksiyonları</i>	3
<i>Tıkanma Sarılığı Nedenleri</i>	5
TIKANMA SARILIĞINDA MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER	7
<i>Tıkanma Sarılığı ve Hepatosellüler Yaralanma</i>	8
<i>Sistemik Etkiler</i>	8
<i>Kardiovasküler Etkiler</i>	9
<i>Renal Etkiler</i>	9
<i>GİS Değişiklikleri</i>	10
<i>Beslenme</i>	10
<i>Yara İyileşmesi</i>	10
<i>Lipid Metabolizması</i>	10
<i>Kemik Hastalığı</i>	10
SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	11
<i>Endojen Serbest Okijen Üretim Kaynakları</i>	13
<i>Mitokondrial Elektron Transport Zinciri Reaksiyonları</i>	13

<i>Oksijenazlar</i>	13
<i>Antimikrobiyal Aktivite ve Solunum Patlama</i>	14
<i>Otooksidasyon Reaksiyonları</i>	14
<i>Serbest Radikal Oluşturan Eksojen Nedenler</i>	14
<i>Serbest Oksijen Radikallerini Temel Biyomoleküllerle Etkileşimleri ve Organizmada Yaptığı Hasarlar</i>	15
<i>Endojen Antioksidanlar</i>	15
<i>SOR'un Hücre Zedelenmesindeki Etkileri</i>	16
<i>Tıkanma Sarılığına Bağlı Meydana Gelen Doku Hasarında Serbest Oksijen Radikallerinin Rolü</i>	17
MELATONİN	18
N-ASETİLSİSTEİN	21
GEREÇ VE YÖNTEM	24
BULGULAR	30
TARTIŞMA	45
SONUÇLAR	55
KAYNAKLAR	57

KISALTMALAR

A	: Arteria
ALT	: Alanin aminotransferaz
ALP	: Alkalen fosfataz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz
ARDS	: Erişkin Sıkıntılı Solunum Sendromu
ATN	: Akut Tubuler Nekroz
Ark	: Arkadaşları
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BUN	: Kan Üre Azotu
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EKG	: Elektrokardiografi
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatikografi
ES	: Erken Sakrifikasyon
Fe	: Demir
GiS	: Gastrointestinal Sistem
GGT	: Gama glutamil transferaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon perokidaz
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
H&E	: Hemotoksilen-Eozin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IgA	: İmmünglobin A
IgG	: İmmünglobin G

IL-6	: İnterlökin-6
IV	: İntravenöz
K	: Potasyum
KC	: Karaciğer
Krea	: Kreatinin
Lig	: Ligamentum
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LH	: Lüteinizan Hormon
MDA	: Malondiadehit
MEL	: Melatonin
MET	: Mitokondriyal Elektron Transport
ML	: Melatonin Reseptörü
Mn	: Mangan
MOYS	: Multi Organ Yetmezlik Sendromu
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAC	: N-asetilsistein
Na	: Sodyum
NO	: Nitrik Oksit
OH	: Hidroksil
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PTK	: Perkutan Transhepatik Kolanjiografi
PVR	: Periferik Vaskuler Rezistans
RES	: Retikülo-endotelial sistem
RNA	: Ribonükleik asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikali
SH	: Sülfidril

TBA	: Tiobarbitürük asit
Tbil	: Total Bilirubin
TNF	: Tümör nekroze edici faktör
USG	: Ultrasonografi
Ü	: Ünite
V	: Ven
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
v.s.	: Vesaire

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ

Tablo-1	: Tıkanma Sarılığı nedenleri.....	5
Tablo-2	: Melatoninin antioksidan özellikleri.....	20
Tablo-3	: Biyokimyasal değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırılması.....	34
Tablo-4	: MDA ve NO'nun gruplar arasında karşılaştırılması.....	34
Tablo-5	: Gruplardaki safra infarktları ve fibrosiz skoru ve granuloovokuoler dejenerasyon skoru değerlerinin karşılaştırılması.....	35
Grafik-1	: Gruplar arasında total bilirubin değerlerinin karşılaştırılması.....	35
Grafik-2	: Gruplar arasında AST değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Grafik-3	: Gruplar arasında ALT değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Grafik-4	: Gruplar arasında BUN değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Grafik-5	: Gruplar arasında kreatinin değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Grafik-6	: Gruplar arasında karaciğer MDA değerlerinin karşılaştırılması.....	38
Grafik-7	: Gruplar arasında böbrek MDA değerlerinin karşılaştırılması.....	38
Grafik-8	: Sham ve kontrol gruplarının MDA ölçümlerinin karşılaştırılması....	39
Grafik-9	: Gruplar arasında karaciğer NO değerlerinin karşılaştırılması.....	39
Grafik-10	: Gruplar arasında böbrek NO değerlerinin karşılaştırılması.....	40
Grafik-11	: Sham ve Kontrol gruplarının NO ölçümlerinin karşılaştırılması.....	40
Grafik-12	: Gruplar arasında safra infarktlarının semikantitatif olarak değerlendirilmesi.....	41
Grafik-13	: Gruplar arasında granuloovokuoler dejenerasyon ve renal tubüllerde genişliğin semikantitatif olarak değerlendirilmesi.....	41
Grafik-14	: Zamana göre total bilirubin seviyelerinde gelişen artış.....	47

RESİM VE ŞEKİL LİSTESİ

Resim-1	: Wistar albino erkek sıçan.....	28
Resim-2	: Anestezi uygulaması	28
Resim-3	: Cerrahi öncesi traş ve temizlik.....	29
Resim-4	: Koledok eksplorasyonu.....	29
Resim-5	: Koledoğun serbestlenmesi	29
Resim-6	: Koledoğun portal hilusa yakın bağlanıp kesilmesi	29
Resim-7	: Kontrol grubunda karaciğer dokusunda safra infarktı, portal alanda hücre kaybı, parankim hücrelerinde şişme.....	42
Resim-8	: Melatonin grubunda karaciğerde gerilemiş safra infarktları.....	42
Resim-9	: Sham grubunda normal böbrek dokusu	43
Resim-10	: Kontrol grubunda vokouler dejenerasyon gelişmiş böbrek	43
Resim-11	: Melatonin+NAC grubunda vokouler dejenerasyon gerilemiş böbrek.....	44
Şekil-1	: Bilirubin Metabolizması.....	4
Şekil-2	: Tıkanma sarılığında oksidatif hasar	18
Şekil-3	: Melatoninin hücre membranı ve intraselüler düzeyde etkisi	20
Şekil-4	: Tıkanma sarılığı ile ilişkili oksidatif hasarda melatonin ve N-Asetilsisteinin koruyucu özelliklerini gösteren basamaklar.....	23

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TIKANMA SARILIĞINDA MELATONİN VE N-ASETİLSİSTEİNİN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Tikanma sarılıklı sıçanlarda, koletastazda N-asetilsistein ve melatoninin etkilerini ve karaciğer ve böbrek hasarında koruyucu rollerini araştırmak ve karşılaştırmak amaçlandı.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlığı 250–300 gram arasında değişen, erkek 48 adet Wistar–Albino tipi sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak sham, ana kontrol ve çalışma gruplarına ayrıldı. Daha sonra ana kontrol grubu erken sakrifikasyon grubu ve kontrol grubuna ayrıldı. Çalışma grupları kendi içinde melatonin, N-asetilsistein ve melatonin & N-asetilsistein olmak üzere üç ayrı alt gruba ayrıldı Böylece toplam 6 grup oluşturuldu. Her grup 8 sıçan içeriyordu. Çalışma ve kontrol gruplarında laparotomi yapıldı, koledok dönüldü, bağlandı ve kesildi. İşlemden 5 gün sonra erken sakrifikasyon grubunda; vena kavadan kan örnekleri, karaciğer ve böbrek dokuları alındı. Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), total bilirubin, kan üre azotu (BUN), kreatinin seviyeleri toplanan kan örneklerinde çalışıldı. Çalışma gruplarında beşinci günden başlayarak 10. güne kadar subkutan olarak melatonin, N-asetilsistein ve melatonin & N-asetilsistein uygulandı, sham ve kontrol gruplarına serum fizyolojik verildi. 10. gün sakrifikasyon tüm gruplara uygulandı. Vena kavadan kan örnekleri, karaciğer ve böbrek dokuları alındı. AST, ALT, total bilirubin, BUN, kreatinin seviyeleri toplanan kan örneklerinde çalışıldı. Histopatolojik değerlendirmede karaciğerde portal alan nekrozu, safra proliferasyonu, safra infarktları, böbrekte tubüler epitelyum hücrelerinde granülovokuoler dejenarasyon incelendi. Her karaciğer ve böbrek dokusundan malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) ölçümü için örnek alındı.

Bulgular: Sham grubu ve tüm sarılıklı sıçanlar karşılaştırıldı. Total bilirubin, AST, ALT, kreatinin seviyeleri sarılıklı sıçanlarda anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$). Çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında 10. günde kontrol gruplarında AST, ALT, total bilirubin, BUN, kreatinin seviyeleri anlamlı olarak yüksekti. Melatonin,

N-asetilsistein ve melatonin & N-asetilsistein grupları karşılaştırıldığında tüm biyokimyasal parametrelerin seviyelerinde anlamlı fark saptanmadı. Kontrol grubunda karaciğer ve böbrek dokularında MDA ve NO seviyeleri çalışma grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek saptandı. Melatonin, N-asetilsistein ve melatonin & N-asetilsistein grupları karşılaştırıldığında karaciğer ve böbrek dokularında MDA ve NO seviyeleri açısından farklılık yoktu. Histopatolojik bulgularda erken sakrifikasyon ve kontrol gruplarında karaciğerde safra infarktları, nekroz; böbrekte granuloovokuoler dejenerasyon gözlemlendi. Melatonin, NAC, melatonin & NAC gruplarında dokudaki dejenerasyonlar belirgin olarak gerilemişti.

Sonuç: Tıkanma sarılıklı sıçanlarda melatonin ve NAC kullanılması karaciğer ve böbrek dokusunda serbest oksijen radikallerinin yarattığı hasardan korur.

Anahtar kelimeler: Melatonin, N-asetilsistein, tıkanma sarılığı, serbest oksijen radikalleri

COMPARISON THE EFFECTS OF MELATONIN AND N-ACETYLCYSTEINE ON OBSTRUCTIVE JAUNDICED RATS

ABSTRACT

Aim: The aim of this experimental study is to investigate and compare the effects of N-acetylcysteine and melatonin on the cholestasis and their protective effects on liver and renal injury.

Materials and Methods: Forty eight Wistar-Albino rats weighting between 250 and 300 g were used in the study. Rats were divided into three main groups as sham, main control, and study groups. Control and study groups have also been divided into subgroups. Main control group divided early sacrifice group, control group, study group is divided melatonin, N-acetylcysteine and melatonin & N-acetylcysteine groups. Each group was containing 8 rats. In study and control groups, a laparotomy was performed and the common bile duct was ligated and divided. Five days after the first operation, from early sacrifice group blood samples were collected from Vena Cava Inferior and liver tissues and renal tissues were collected. AST, ALT, total and direct bilirubin, BUN, creatinine levels were measured from the collected blood samples. For study groups from the fifth day to day 10 melatonin, N-acetylcysteine, melatonin & N-acetylcysteine solutions were applied subcutaneous, saline to the sham and control group. At the day ten from the all groups blood samples were collected from Vena Cava Inferior and liver tissues and renal tissues were collected. AST, ALT, total and direct bilirubin, BUN, creatinin levels were measured from the collected blood samples. Histopathologic assessment was performed to determine portal necrosis and bile duct proliferation and bile infarction on liver and determine granulovacuolar degeneration of the epithelial cells of renal tubules on renal tissue. Also some liver and renal tissue samples prepared for research biochemistry for to determine MDA and NO.

Results: Sham group rats and the jaundiced rats were compared. Bilirubin, AST, ALT, BUN, creatinine, total bilirubin levels were significantly higher in jaundiced rats. AST, ALT, total bilirubin, BUN, creatinin levels were significantly higher in the control group at the end of day 10. Among the melatonin group, N-acetylcysteine group and melatonin & N-acetylcysteine group all biochemical

parametres were not different. Also the values of MDA and NO for control group were higher than study groups. On the other hand, MDA and NO values were not different between the melatonin group, N-acetylcysteine group and melatonin & N-acetylcysteine group at the end study. Histopathologic findings were also similiar as NO and MDA values.

Conclusion: Use of melatonin, N-acetylcysteine in obstructive jaundiced rats, prevents damages of free oxygen radicals on liver and renal tissue.

Key words: Melatonin, N-acetylcysteine, obstructive jaundice, free oxygen radicals

GİRİŞ VE AMAÇ

Tıkanma sarılığı safra akımının engellenmesi ve safranın karaciğerde birikimi ile karakterizedir. Obstrüktif, inflamatuvar ve genetik süreçler gibi çeşitli patolojiler karaciğerde kolestazla sonuçlanır. Safra tuzları kan beyin bariyeri dışında tüm vücutta birikerek hasara yol açarlar. Hepatosit hasarına yol açan neden kolestaz sırasında safra asitlerinin birikimidir. Sitotoksik safra asitleri karaciğer ve böbrekte nekroz ve fibroza yol açmaktadır (1).

Tıkanma sarılığında hücre içinde düzeyleri artan safra tuzları ile bilirubinin toksik etkileri, sistemik komplikasyonlarda mediatör rol oynayarak, hepatosit hasarına, portal ve sistemik endotoksemiye, sıvı elektrolit kaybına ve beslenme bozukluğuna yol açar (2).

Karaciğer fibrozunun, safra yollarında gelişen infarktların etiopatogenezinde; serbest radikallerce oluşturulan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artış etkili bulunmuştur (3, 4). Böbrek dokusunda ise tubüllerde biriken safra asitlerinin, karaciğerdekine benzer bir şekilde serbest oksijen radikallerinin yol açtığı hasar ile tubuler nekroz, granuloovokuoler dejerasyon a sebep olduğu bilinmektedir. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyon ürünleri karaciğerde stellat hücrelerini uyararak kollajen sentezini artırabilmektedir, safra infarktlarına, böbrekte ise tubüler dejenarasyona, nekroza sebep olabilmektedir (5). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın stellat hücreleri aktive ettiği ve bu aktivasyonun antioksidan ajan etkisiyle bloke edildiği gösterilmiştir. NO, intraselüler

yaygın bulunan bir sinyal molekülü olarak, serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek toksik peroksinitrit oluşumunu sağlar (6).

Serbest radikal hasarlarını değerlendirmede oksidan parametreler çalışılarak, ajanlarla elde edilen etkinliklerin ilişkileri değerlendirilebilmektedir. Serbest radikaller doku hasarının bir göstergesi olması yanında, hücresel düzeyde gelişen hasar doku düzeyinde geri dönüşümsüz sonuçlar doğurabilir (7).

Sıçanlarda koledok ligasyonu ile indüklenen karaciğer ve böbrek hasarı son yıllarda çok kullanılan deneysel model haline gelmiştir. Koledok ligasyonunun sıçanlara uygulandığında karaciğerde Melatonin ve N-asetilsistein ayrı ayrı çalışmalarda kullanılmıştır. Ancak her ikisinin etkinliğini karaciğer ve böbrek düzeyinde inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır (4, 8, 9).

Günümüzde melatonin'in sirkadiyan ritmin düzenlenmesinde, uyku, mizaç, üreme, tümör büyümesi ve yaşlanma sürecinde etkili olduğu bilinmektedir. Melatonin'in yüksek toksik hidroksil radikali (OH) ve oksijen kaynaklı diğer radikalleri temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (10, 11). Antioksidan etkinin görülebilmesi için melatonin konsantrasyonunun gece yarısı görülen pik değerinden çok daha yüksek olması gerekmektedir. Bundan dolayı insanda antioksidan etkinin görülebilmesi muhtemelen sadece farmakolojik dozlarda olmaktadır.

NAC, bir tiol molekül olup L-sistein ve indirgenmiş glutatyon (GSH) prekürsörüdür. NAC hücrelerde OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri etkin şekilde temizlemekte ayrıca lipid peroksidasyonunu da azaltabilmektedir (12).

Bu çalışmamızda; sıçanlarda koledokun bağlanmasıyla oluşturulan tıkanma sarılığında serbest oksijen radikallerinin (SOR) böbrek ve karaciğer hasarındaki rolünü ve çok iyi bilinen iki antioksidan olan melatonin ve n-asetilsisteinin bu fizyopatolojik değişikliklerdeki etkisini karşılaştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

TIKANMA SARILIĞI

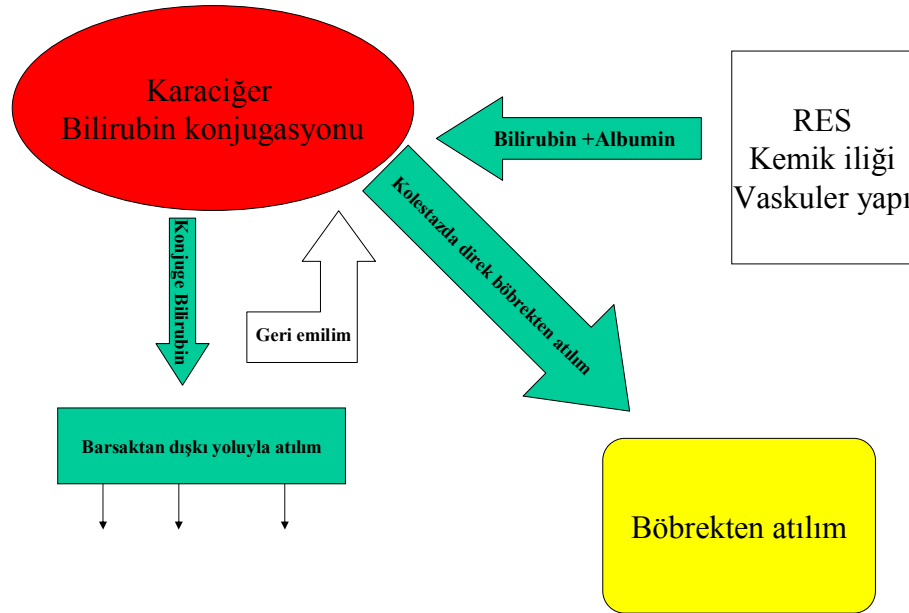
İntrahepatik en küçük safra sekresyonu aygıtı olan safra kanalikülünden, oddi sfinkterine kadar olan her hangi bir yerde safra akımının engellenmesi ile tıkanma sarılığı oluşur. Patoloji intrahepatik safra yollarında ise intrahepatik kolestaz, ekstrahepatik safra yollarında ise ekstrahepatik kolestaz olarak adlandırılır (2). Sarılık, kanda bilirubin miktarını artması sonucu derinin, skleranın, mukozaların ve vücut sıvılarının safra pigmentleri ile boyanarak sarı renk almasıdır (13). Sarılık genelde bilirubin seviyelerinin 2,0–3,0 mg/dl seviyesine ulaşması ile klinik olarak tespit edilir (2).

Karaciğer Fonksiyonları

Karaciğer hücreleri, vücudun birçok bölgesinde kullanılacak molekülün sentezinde, başka bir tipe dönüşümünde ve enerji dengesinin ayarlanmasında rol oynar (13). Karbonhidratların metabolizmasında, glikojen depolanmasında (14), lipid metabolizmasında düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), yüksek yoğunluklu (HDL) lipoproteinlerin sentezinde rol oynar. Lipoliz sonrası glikoneojenez, protein metabolizmasında aminoasitlerin deaminasyonu, plazma proteinlerinin üretimi ile üre oluşumunda; detoksifikasyonda, safra üretimi ve salınımında, demir metabolizmasında, demir depolanması, vitaminlerin depolanması, kandaki koagulan bazı maddelerin üretimi, retikulo

endotelial sistem (RES) ile ilgili fagositik hücreleri bulundurma özellikleri vardır (13, 14).

Bilirubin, hemoglobin, myoglobin, sitokromlar ve birçok solunumsal enzimin yıkılması ile oluşan hemin son ürünüdür. Bilirubin iki propionik asit zinciri içeren tetrapirrol halkasından oluşan sarı renkli bir pigmenttir, yağlarda kolaylıkla eriyebilir, hücre membranlarından kolayca geçebilir. Günlük 250–350 mg (4mg/kg/gün) bilirubin üretilir (15, 16). Bilirubin albumine bağlanarak karaciğere taşınır, hepatositlerde glukronil transferaz etkisi ile konjuge hale gelir suda eriyebilme özelliği kazanır (17) (şekil 3).



Şekil-1. Bilirubin Metabolizması (17)

Konjuge hale gelen bilirubin safra kanallıklarına atılır, distal incebarsakta konjuge bilirubin ürobilinojene dönüşür. Dışkının rengini veren mezobilirubinojen ve sterkobilinojene dönüşür. Albumin indirekt bilirubinin atılmasını önler, böbreklerin günlük 220 mg/gün bilirubin ekskresyon kapasitesi vardır, karaciğer ise günlük 250 mg/gün bilirubin üretebilir, bu durumda ortalama serumda 25–50 mg/dL bilirubin değerlerine ulaşılır. Bilirubin seviyesi dahada artarsa akut böbrek yetmezliği tablosu oluşur (18). Sarılığa primer karaciğer hastalıklarının neden olduğu durumlarda genelde plazma konjuge ve konjuge olmayan bilirubin seviyerleri artar, idrarda bilirubin görülür (2).

Hiperbilirubinemi yapan sebeplerden tıkanma nedeniyle oluşana cerrahi sarılık, posthepatik sarılık, mekanik sarılık, obstrüktif sarılık gibi isimler verilmektedir (19). Sarılıklı olan hastalarda, alkalen fosfataz seviyeleri bilirubine oranla daha fazla artar, bilirubin seviyeleri 10 mg/dL'yi geçmez (20). Ana safra kanalını tıkayan safra taşı olanlarda serum bilirubininin 15 mg/dL'yi geçmesi nadirdir. Daha yüksek seviyeler malign sebepleri düşündürür (20). Tıkanma sarılığın nedenleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo-1. Tıkanma sarılığın nedenleri. (17)

Safra yolu taşları	Tümörler
Kist hidatik	Koledok kistleri
Papillit	Pankreas başı kanseri
Safra yolu darlıkları	Akut pankreatit
Kolanjiyohepatit	Mirizzi sendromu
Safra yolları kaynaklı enfeksiyonlar	Pankreas psödokisti Duodenum divertikülü

Tıkanma Sarılığın Nedenleri

Koledok taşları, safra kesesi taşı bulunan hastaların %4-12'sinde bulunurlar. Koledok taşları ekstra hepatic tıkanma sarılığının en sık nedenidir. Koledok taşlarının büyük bir kısmı safra kesesi içinde şekillenir, sistik kanaldan aşağıya göç eder. Hem ekstrahepatik ve hemde intrahepatik safra kanalları dilate hale gelir. Kronik bilier obstrüksiyon, safra stazı, safra kanal proliferasyonu ve portal sistem fibrozisi ile sekonder biliyer siroza neden olabilir (2). Primer taşlar genellikle fasetsiz, sarımsak, kahverengi ve kırılımandır (2). Kolanjit, kolanjiyohepatit, karaciğer apseleri ve pankreatit gibi komplikasyonlara da yol açabilir (2).

Safra yollarındaki enfeksiyonun belli başlı sebepleri: koledok taşları, biliyer darlık ve safra yolları karsinomudur. Kronik pankreatit, ampulla stenozu, pankreas psödokisti, koledok kistleri ve parazit invazyonu daha nadir nedenleridir. Safra yolunun tıkanması ile safra yolları basıncı yükselir, bakteri kolonizasyonu artar. Karaciğer sinüzoidleri yardımcı ile sistemik dolaşıma geçerler. Kolanjitin klinik

belirtileri olan Charcot tarafından 1877 yılında tariflenen triad; safra koliği, sarılık, titreme ile yükselen ateşten oluşmaktadır (2).

Oddi sfinkteri ve vater papillasının stenoz ve fibrozisinde uzun süren spazm, kolanjit ve pankreatitler önemli olabilir. Kolik tarzında gelişen sırta yayılan ağrıya bulantı, kusma eşlik eder. Hastaların yarısından fazlasında açılıp kapanan sarılık görülür (2).

Safra kesesi ve yolları tümörleri nadir görülür. Safra kesesi karsinomu olan hastaların %90'ında safra kesesi taşı vardır (2). Ülseratif kolit, sklerozan kolanjit, kronik tifo taşıyıcılığı safra yolları karsinomlarında sık rastlanır. Tümörlerin 2/3 hepatic bifurkasyonda yerleşiktir (2).

Ekinokkus Granulosus'un karaciğerde oluşan lezyonları sarılık etyolojisinde rol oynayabilir. Santral yerleşimli kist hidatikler sebebi ile bası sonucu veya kistin zaman içinde safra yollarına açılması ile kız veziküller ve germinatif membran partikülleri safra yollarını tıkayabilir (2). Askaris, malarya, clonorchis sinensis, giardia lamblia ve fasciola hepatica gibi parazitler safra yollarında akımı engelleyip sarılık sebebi olabilirler (17). Safra yollarına olan dıştan bası nadir görülür. Pankreatik psödokistin dıştan basısı en önde gelen sebeptir. Bu tabloda daha hafif ve intermittan sarılık görülebilir (21).

Hemobilia; tıkanma sarılığı, safra koliği, gizli veya açık gastrointestinal sistem kanaması ile tanınabilir. Karaciğer tümörleri, piyojenik, amip apseleri, travmalar, damarsal tümörler, safra yolları tümörleri, kolelithiasis, süperatif kolanjit gibi birçok sebep ile hemobilia görülebilir (21).

Koledok kistleri yenidoğan veya çocukluk çağı hastalığı olarak görülebilir. Tüm ortak kanalı ve hepatic kanalı tutan sistik kanalın koledok kistine açıldığı kistik dilatasyon; sıklıkla distal ortak safra kanalında sınırlandırılmış küçük kistik dilatasyon, ortak safra kanalının yaygın fuziform dilatasyonu olarak sınıflanabilir (2). Safra stazı ve bakteriel kolonizasyon ile kolanjit atağı görülebilir. Sarılık, karın ağrısı, hepatomegali ile hastalar değerlendirilir (2, 21).

Pankreas duktusundan kaynaklanan tümörler %60–70 pankreas başından kaynaklanırlar. Sarılık ilerleyici karakterde olup kaşıntı görülür. Selim sebeplerde görülen sarılıkta rastalanan oranlara göre daha yüksek değerlere ulaşır (2, 21).

Nadir görülen selim safra yolları darlıkları da tıkanma sarılığında rol oynayabilirler. Darlıklarda tedavide olan aksamalar sonrası mortalite gelişebilir. %90 oranda safra kesesi ve yolları cerrahisi sonrası görülür. Koledokda gelişen tam tıkanıklarda genelde postoperatif hızlı gelişen sarılık tablosu olur parsiyel kesilmelerde kolanjit, açılıp kapanan sarılık ile kendini gösterir (2, 22).

TIKANMA SARILIĞINDA MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİLER

Tıkanma sarılığında iki mekanik problem meydana gelir; safra barsağa aktarılamaz, enterohepatik dolaşım bozulur ve biliyer ağacın tıkanması sonucunda safra kanallarında basınç artışı ve safra reflüsü meydana gelir (19). Tıkanma sarılığında total ve direkt bilirubin, serum alkale fosfataz (ALP), serum gama glutamil tansferaz (GGT) ve serum safra asit miktarları artar. Üriner ve fekal ürobilinojen ise azalır veya yok olur (23). Safra yollarındaki küçük bir basınç artışı bile safranin dolaşıma regürjite olmasına neden olur (24). Tıkanma sarılığında kolanjiyovenöz ve kolanjiyolenfatik reflüyle birlikte portal ven basıncında önemli artış meydana gelmektedir (25).

Ancak total hepatik kan perfüzyonu azalmaktadır (26). Yüksek intrabilier basınç safra sentezinde azalmaya ve buna paralel olarak safra akımının safra tuzu bağımlı komponentinde düşmeye neden olur. Safra tuzları safraya sekrete edilemez ve buna karşılık konjuge sülfatların pasif difüzyonu olur ve aktif transport vasıtasıyla idrarla atılır (27).

Albumin, fibrinojen, protrombin, haptoglobulin, transferrin, seruloplazmin ve pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX ve X dahil olmak üzere protein sentezi, safra kanalı bağlanmasından sonra bozulur. Albuminin ise serumdaki yarı ömrü uzun olduğundan dolayı sadece biliyer obstruksiyon uzun sürdüğünde ya da sekonder karaciğer değişiklikleri meydana geldiğinde miktarı azalır (7).

Hepatoselüler hastalık yada sirozda görülen belirgin anormal serum aminoasit profillerine zıt olarak mekanik biliyer obstruksiyondaki aminoasit seviyelerinden farklı değildir. İskelet kası aminoasit alımı değişmez. Malign biliyer obstruksiyonda yapılan cerrahi sonrası mortalite ile glukoz intoleransı derecesi arası ilişki gösterilmiştir. Portal kan akımının artışına rağmen, total kan akımı düşer (27).

Karaciğer kan akımındaki anormallik, biliyer obstruksiyonda görülen retikuloendotelyal fonksiyon değişikliklerinden kısmen sorumlu olabilir. Sıçanlarda, Kupffer hücrelerinin belirgin olarak şişmesi sinuzoidal kan akımını engelleyebilir ve bu hayvan modellerinde görülen yama tarzı karaciğer nekrozlarına neden olabilir (19).

Hepatosellüler Yaralanma

Safra yollarının tıkanması hepatik strüktür ve fonksiyonlarda birçok bozukluğa neden olur. Kollajen miktarı artar, glikojen azalır. Düz endoplazmik retikulumda sayıca azalma gözlenir (28). Mitokondriyal antioksidanlar (glutatyon, ubikinon) azalır, lipid peroksidasyon ürünlerinde artmayla birlikte mitokondriyal elektron transport zincirinde fonksiyon bozukluğu ortaya çıkar (29,30). Mitokondriyal respiratuar enzim aktivitesi ve ketogenez baskılanır ancak tıkanma ortadan kaldırıldıktan sonra normale döner (31). Hepatosellüler yaralanma sonucu interlökin-6 (IL-6), tümör nekroze edici faktör (TNF), PAF, endotoksin seviyelerinde artış olur (23, 32-34). Protein, koagülasyon faktörleri ve albumin sentezlerinde, mikrozomal P-450, Kupffer hücre fonksiyonlarında azalma meydana gelir (34). Safra tuzlarının in vitro olarak sitotoksik ve deterjan etkisi vardır (20). Yağların ve yağda eriyen A, D, K, E vitaminlerin emilimi bozulur, kanamaya eğilim artar (35).

Sistemik Etkiler

Klinik olarak tıkanma sarılığında halsizlik, sarılık, kaşıntı ortaya çıkar. Kardiyovasküler etkiler genellikle subklinik olmasına rağmen, cerrahi öncesi ve sonrasında önemlidir (19). Böbrek yetmezliği, yara iyileşmesinde gecikme, sepsis ve sindirim sistemi kanaması ortaya çıkabilir. Bilirubin, safra asitleri, lipidler, endotoksin, sitokinler, prostoglandinler ve nitrik oksit (NO) gibi birçok madde bu fizyopatolojide rol alır (19, 20). İndirekt bilirubinin kernikterustaki etkisi iyi bilinmektedir. Yüksek konsantrasyonlardaki indirekt bilirubin beyin hücre mitokondrisinde oksidatif fosforilasyonu inhibe eder (20). Aynı zamanda RNA ve protein sentezini ve karbonhidrat metabolizmasını bozar. Ancak kolestazda direkt bilirubinin nasıl toksik etki gösterdiği bilinmemektedir (20).

Yüksek konsantrasyonlarda hücrel immun mekanizmayı bozarlar (36). Tıkanma sarılığında lesitin kolesterol asetil transferaz aktivite azlığına bağlı olarak, plazma serbest fosfolipid ve trigliserid seviyeleri yükselir (37). Uzun süren kolestazda ve kronik hepatosellüler hasarda halsizlik ortaya çıkar. Santral nörotransmitter değişimi ve kortikotropin salgılatıcı hormon cevabında baskılanma başta olmak üzere birçok faktör halsizlik nedenidir. Endojen opioidler, santral nörotransmitter, kan üre seviyesindeki değişiklikler kaşıntıya neden olur (38).

Kardiyovasküler Etkiler

Tıkanma sarılığında hem insanlarda, hem de hayvanlarda periferik vasküler rezistans (PVR) düşer (39). Vazokonstriksiyon kapasitesi azalır. Alfa-1 adrenoreseptörlerde fonksiyonel bozukluk orta çıkar (40). Bradikardi, elektrokardiografide (EKG) PR-QT intervalinde artış, myokardiyal glikojende azalma meydana gelir (41).

Renal Etkiler

Akut tubuler nekroz (ATN) tıkanma sarılığının en çok karşılaşılan komplikasyonlarından biridir (10, 42). Olguların yaklaşık % 60-75'inde olguda cerrahi sonrası dönemde glomerül filtrasyon oranında azalma gözlenir. Tıkanma sarılıklı hastaların yaklaşık %8'inde ATN ortaya çıkar (42). Mekanizma multifaktöryeldir; kardiyak outputun azalması, azalmış periferik vazokonstriksiyon, hipovolemi, artmış renal vazokonstriksiyon glomerül filtrasyon oranında azalmaya neden olur (1). Safra asitleri ve konjuge bilirubin hem iskemik etkiyle, hem de direkt toksik etkiyle tübüler nekroz yapar (43). İdrar atımı, fraksiyonel sodyum ve potasyum atılımı artar (44).

Ortak safra yolu bağlanan hayvanlarda 12 gün sonra su alınımında %60, kreatin klirensi ve total vücut sıvısında %15, ekstrasellüler sıvıda %24, plazma volmünde %15 oranında azalma gösterilmiştir (45).

GİS Değişiklikleri

Tıkanma sarılıklı hastaların %7'sinde akut hemorajik gastrit gelişir (46). Mekanizma açık olmamakla birlikte, sıçanlarda yapılan çalışmalarda artmış noradrenalin ve prostoglandin E₂, gastrik mukozal kan akımında azalma gibi faktörler hemorajik gastrit gelişiminde sorumlu tutulmuştur (20, 46).

Beslenme

Tıkanma sarılığında iştahsızlık, kilo kaybı, azalmış nitrojen balansı meydana gelir. Methionin, fenilalanin, aspartat, glutamin seviyeleri azalır (47). Deneysel tıkanma sarılığında total hepatik aminoasit alımında değişme olmazken, iskelet kaslarının periferik aminoasit alımı azalır (48).

Yara İyileşmesi

Yapılan çalışmaların çoğunda tıkanma sarılıklı hastalarda yara enfeksiyonu ve insizyonel herni oranlarında artış bildirilmektedir. Yara iyileşmesinin erken evrelerinde makrofaj ve fibroblast infiltrasyonunda azalma gözlenmiştir (1, 49).

Lipid Metabolizması

İntestinal lümende safra asitlerinin yokluğu miçel formasyonunun oluşmamasına neden olduğundan yağ emilimi azalır. Plazma lesitin kolesterol asetil transferaz enzimi azaldığından düşük dansiteli lipoprotein ve lipoprotein X miktarı düşer (1).

Hepatik kolesterol sentezinde artma, lesitin kolesterol asetil transferaz aktivitesinde azalma, safra lesitin regürjite olması, plazmadaki kolesterolün dokulara geçişinde engel olması hiperkolesterolemiye neden olur (37, 50).

Kemik Hastalığı

Kısa süreli tıkanma sarılığında kemikte oluşan değişiklikler klinik problem yaratmaz ancak uzun süreli kolestazda "hepatik osteodistrofi" meydana gelir (6). Kemik mineral dansitesi primer sklerozan kolanjitli hastalarda bilirubin artışına paralel olarak azalmıştır (6, 10). Tıkanma sarılığında osteoblast proliferasyonu inhibe edilir (10, 51).

Tıkanma sarılığında meydana gelen fizyopatolojik olaylar

1. Karaciğer: Protein, koagulasyon faktörlerinin, mikrozomal P-450, sentezinde azalma, Kupfer hücre fonksiyonlarında bozulma; IL-6, TNF, PAF, endotoksin miktarında artış. Portal venöz basınçta artma, kolanjiovenöz, kolanjiolenfatik reflü artışı, kolanjit insidansında artma, toplam hepatik kan akımında azalma.

2. Gastrointestinal Sistem: Lümende bulunan safra tuzlarında, salgısal IgA, vitamin A, D, K, E emiliminde azalma. Flora değişiklikleri, bakteriyel aşırı üreme, translokasyonda artma, portal venöz kanda bakteri ve endotoksin artışı.

3. Kalp-damar Sistemi: Sistemik vazodilatasyona neden olur. Kan hacminde, myokardial kontraktilitede, Anjiotensin II, norepinefrin cevabında azalma.

4. Böbrek: Safra tuzlarının ve immün komplekslerin bazal membrana çökmesi sonucu oluşan akut tubüler nekroz, iskemiye olan duyarlılık artışı.

5. Sistemik dolaşım: Azalmış koagulasyon faktörleri, salgısal IgA' da azalma, endotoksemi, hiperfibrinolizis, safra tuzu artışı.

6. Cilt: Yara iyileşmesinde gecikme.

7. İmmün Sistem: Azalmış total T lenfosit, T süpresör sayısında azalma, RES fonksiyonlarında azalma.

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)

Hücre zedelenmesinde açıklanabilen mekanizmalardan biri kısmen oksijen türevleri ile aktifleşen, serbest radikallere bağlı gelişen hasardır (52). 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 (53). Serbest radikal bir veya iki birleşmemiş elektron içeren stabil olmayan bir moleküldür. Serbest radikaller elektronu çiftlemek için başka moleküllerle reaksiyona girme eğilimindedir. Vücutta fizyolojik şartlarda, belli oranda üretilen radikaller, enzimatik veya nonenzimatik yollarla temizlenerek, bir denge oluşturulmakta ve metabolizma kontrol altında tutulmaktadır. Serbest radikallerin, iltihap, kanserogenez, iskemi / reperfüzyon hasarı, yaşlanma, ateroskleroz, diyabet, gibi hastalıklarda tüm organ ve dokularda gelişen hasardan

sorumludur (52, 53). Çeşitli SOR molekülleri oksijenin redüksiyonu ve eksitasyonu ile yapılabilir. Serbest radikaller: oksidatif fosforilasyon, pürinlerin iki basamaklı katabolizması, araşidonik asit yolu, demir ile katalizlenen reaksiyonlar, solunum patlaması gibi olayların meydana gelmesi sonucu endojen kaynaklı olabileceği gibi, dokso-robusin, bleomisin, tetraklorid gibi ajanların alınması sonucu da ortaya çıkabilir (54, 55). Biyolojik sistemlerde, tartışmasız olarak kabul gören en önemli radikaller SOR'dir. Moleküler oksijen fazla reaktif değildir, başka atomlarla kolay reaksiyona girmez, çeşitli kaynaklardan gelen yüksek enerjili elektronlarla karşılaşan oksijenin tek değerli redüksiyonu başlayabilir (53, 54).

Süperoksit normal hücre metabolizmasında olmayan bir üründür ve mitokondriyal, endoplazmik retiküler, nükleer membran elektron transport zincirleri, çözünebilir proteinler, aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz gibi yapıların derivasyonu ile oluşur. Süperoksit radikali, bir serbest oksijen radikali olmakla birlikte, organizmaya direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi bir hidrojen peroksit kaynağı olmasıdır. Diğer radikallerin oluşumunda süperoksitin önemli rolü vardır (54, 55). Hidrojen Peroksit bütün membranlardan kolaylıkla geçebilen, böylece oluştuğu bölgeden daha uzak yerlerde etki gösteren önemli bir radikaldir. Hidrojen peroksit oksijenin doğrudan reaksiyonu veya süperoksitin dismutasyonu sonucu ortaya çıkar. Hidrojen peroksit katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından parçalanarak detoksifiye edilir (56).

Hidoksil, hidrojen peroksitin daha fazla indirgenmeye maruz kalması sonucunda oluşan son derecede toksik, çok kısa ömürlü ve reaktif bir radikaldir. Kısa yarı ömrü nedeni ile canlı organizmalarda tespiti çok zordur. Yarı ömrü çok kısa olan bu radikal çok reaktif yapısından dolayı herhangi bir enzim sisteminden etkilenmez. Singlet Oksijen, oksijenin dışarıdan enerji alarak uyarılmış formuna verilen isimdir. Aşırı singlet oksijen oluşumu porfiriya, psöriazis gibi hastalıklarda rol oynadığı bilinmektedir. Singlet oksijenin DNA hasarı ve mutasyon yapabildiği bilinmektedir (55, 57).

ENDOJEN SERBEST OKSİJEN ÜRETİM KAYNAKLARI

Normal metabolizma sırasında, çeşitli kademelerde ara ürün olarak serbest radikaller oluşabilir. Her ne kadar serbest radikal yapısındaki moleküller, organizma için potansiyel olarak zararlı özellikte kabul edilseler de, bazı metabolik süreçlerin ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır. Başta elektron transport sistemlerindeki enerji üretim ve tüketiminin verimli olabilmesi olmak üzere, prostaglandin ve tiroksin sentezi sırasında bazı oksidasyon basamaklarının gerçekleşebilmesi ve tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin, tetrahidropterin gibi küçük moleküllerin otooksidasyonu gibi durumlarda, serbest radikallerin ara ürün olarak ortaya çıktığı bazı reaksiyonlara ihtiyaç vardır. Canlı organizmada başlıca endojen serbest radikal üretim kaynakları; mitokondriyal elektron transport (MET) zinciri reaksiyonları, oksijenaz enzimlerinin reaksiyonları, antimikrobiyal aktivite sırasında oluşan solunum patlaması ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır (54, 55).

MİTOKONDRIYAL ELEKTRON TRANSPORT ZİNCİRİ REAKSİYONLARI

Bilindiği gibi mitokondriyal elektron transport zinciri ağırlıklı olarak mitokondri iç membranında gerçekleşir. Bu membranın yapısında, oksidoredüksiyon yapabilen ve redoks potansiyellerine göre sıralanmış bir seri elektron taşıyıcı solunum zinciri molekülü bulunmaktadır. İskemi, hemoraji, travma, intoksikasyonlar, radyoaktivitenin etkisi ve allerjik durumlarda, mitokondrilerin aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sistemindeki elektron kaçakları dahada fazlalaşarak, serbest oksijen radikallerinin düzeyi artar (56, 58).

OKSİJENAZLAR

Oksijenazlar hücreye enerji temin eden reaksiyonlarda yer almayıp birçok değişik metabolitin sentez veya yıkımı ile ilgilidirler. Bu sistemler H_2O_2 kaynakları olarak değerlendirilirler. Alışkanlık yapıcı maddelerden olan alkol ve diğer uyuşturucular, MSS ve diğer sistemik etkileri yanında özellikle homeostazisi bozarak aşırı serbest oksijen radikali oluşumuna ve dolayısıyla organizmadaki doğal antioksidanların tüketimine yol açmaktadırlar (56).

Sitostatik ilaçlardan, nitrofurantoin, bleomisin, doxorubisin ve adriyamisin gibi preparatlar tedavi edici etkileri yanında, metabolize edilmeleri sırasında serbest oksijen radikallerini artırıcı özelliğe sahiptirler (58).

ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE VE SOLUNUM PATLAMASI

Fagositik hücreler, çözünebilir ya da partiküler bir stimulusla uyarıldıktan sonra, lizozomal komponentlerini dışarıya vermeye başlarlar. Ardından reaktif oksijen metabolitlerinin artışıyla birlikte mitokondri dışındaki oksijen tüketiminde şiddetli bir yükselme görülür (solunum patlaması) (58).

OTOOKSİDASYON REAKSİYONLARI

Bu tip reaksiyonlarda, enzimler olmadan elektron transferi gerçekleşir. Transisyon metal iyonları, redükte ferridoksinler, adrenalin ve noradrenalin gibi katekolaminler, tetrahidrobiyopterin, glutatyon, methionin ve sistein gibi aminoasitlerin tiol grupları, flavin koenzimleri, kinon türevleri, askorbik asit ve antibiyotikler gibi küçük moleküller, vücutta enzim aracısız bir şekilde moleküler oksijenle redoks reaksiyonlarına girerek serbest radikal oluşturabilirler (55, 58).

SERBEST RADİKAL OLUŞTURAN EKSOJEN NEDENLER

X, α , β ve γ ışınlarının, canlı hücrelere etkisiyle, kısmen indirgenmiş oksijen radikallerinin üretildiği ve bunların tümör oluşumuna neden olabilecekleri bilinmektedir (54). Canlı hücrelerin elektromagnetik veya partiküllü radyasyona maruz kalmaları sonucunda serbest radikal yapısında bileşikler oluşabilmektedir (55). Direkt olarak hidroksil radikali meydana getirebilen radyasyonun, en büyük zararı DNA üzerinedir. Hidroksil radikali, DNA komponentleri ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer (54, 55). Radyasyonun sebep olduğu doku hasarından korunmada, serbest radikalleri yok edici (scavenger) enzimlerin önemli rolü vardır (57). Ultrason dalgaları tarafından meydana getirilen ve kavitasyon denen olay sırasında oluşan radikaller özellikle OH^- ve H^- radikalleridir (57).

Ksenobiyotik olarak adlandırılan organizmaya yabancı bazı kimyasal maddelerin metabolizmaları sırasında, vücutta toksik ya da karsinojenik olan reaktif radikaller oluşabilir. Ksenobiyotiklerin metabolizmasının büyük kısmı, sitokrom

p-450 monooksijenaz sistemleri sayesinde gerçekleştirilmekle beraber pek çok diğer enzim ve hücrenel komponentler de bu metabolizmada rol almaktadırlar (57).

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN, TEMEL BİYOMOLEKÜLLERLE ETKİLEŞİMLERİ VE ORGANİZMADA YAPTIĞI HASARLAR

Serbest radikaller ve özellikle oksijen türevi serbest radikaller, çok reaktif olduklarından dolayı, nükleik asitler, serbest aminoasitler, proteinler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedirler (57, 58).

SOR'lerin en reaktif olanı hidroksil radikalidir, yarı ömrü birkaç mikrosaniyedir. Mitokondriler ya da mikrozomlarda oluşan serbest radikallerin, hücrenin diğer bölümlerini direkt olarak etkilemesi pek mümkün değildir. Ancak bir serbest radikal, radikal olmayan bir molekülle etkileşerek, onun serbest radikal haline gelmesine neden olabilir (serbest radikal indüksiyonu) ve bu olay bir zincir şeklindeki binlerce reaksiyonu başlatabilir (58). Böylece serbest radikaller, oluştukları yerlerin uzağındaki hücrenel komponentlere bu zincirleme reaksiyonların yıkım ürünleri aracılığıyla etki edebilirler. Hidrojen peroksit, hücreye doğrudan hasar (toksik etki) oluşturmaz. Fakat tüm biyolojik membranlardan (hücre, mitokondri, nükleer membran gibi) kolayca geçebilir ve yukarıda bahsedildiği gibi süperoksit varlığında hidroksil radikaline dönüşebilir. İşte bu nedenle güçlü bir hasarlayıcı potansiyele sahiptir (55, 58).

Hidroksil radikali ise yakınındaki hemen her biyomolekül ile reaksiyona girebilir ve ilgili hasarlanmayı (örneğin; lipid peroksidasyonunu başlatma, DNA da kırılma ve hasarlanmalar, enzimlerin aktif merkezlerindeki SH ve benzeri grupların oksitlenmesi, polisakkaritlerin depolimerizasyonu gibi) yapabilir (57).

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR

Canlılar SOR'ne karşı çeşitli korunma mekanizmalarına sahiptirler. Canlı organizmada başlıca endojen serbest oksijen radikali üretim kaynakları mitokondriyal elektron transport zinciri, oksijenaz enzim reaksiyonları,

antimikrobiyal aktivite sırasında oluşan solunum patlaması ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır (59). Normal hücrenin yapısal organizasyonu serbest radikal oluşumunu en aza indirir. Endojen serbest radikal gidericileri enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir (59).

1. Enzimatik mekanizmalar:

I–Süperoksit Dismutaz (SOD): Çok toksik etkileri olan süperoksit radikalının oluşumunu engelleyen en önemli endojen koruyucu mekanizma SOD'dır (59). Süperoksitin dismutasyonunu çok hızlandırır ve hidrojen peroksit oluşur.

II–Glutatyon Peroksidaz (GSH–Px): Glutatyon, glisin-sistein-glutamattan oluşan tripeptittir. GSH-Px aminoasitin yükseltgenmesinde, glutatyon redüktaz ise indirgenmesinde rol oynar. GSH-Px enzim sistemi akciğer, karaciğer ve eritrositlerde önemli rol alır. Bu enzimin eksikliğinde sepsis, ARDS, multi organ yetmezlik sendromu (MOYS) meydana gelir (58, 60).

III–Katalaz: Organizmadaki tüm hücrelerin membranlarında yaygın şekilde bulunur. Hidrojen peroksidin suya indirgenmesini katalizleyerek hidroksil radikali gibi toksik metabolitlerin oluşumunu engeller (58, 61, 62).

IV–Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi: Hücre içinde oksijenin kullanarak toksik metabolit oluşumunu engeller. Bu yol oksijenin fizyolojik olarak kullanılan yoldur. Bu sistemden arta kalan oksijen diğer endojen antioksidan enzimleri tarafından yıkılarak toksik metabolit oluşumu engellenir (58, 62).

2. Nonenzimatik koruyucu mekanizmalar: Vitamin A, E, C, albumin, sistein, urat, transferrin, serüloplazmin gibi birçok antioksidan maddeleri içerir (60, 61).

SOR'NİN HÜCRE ZEDELENMESİNDEKİ ETKİLERİ

Membran lipid peroksidasyonu: Oksijen varlığında serbest radikaller plazma ve organel membranlarındaki lipidlerin peroksidasyonuna neden olduğundan endoplazmik retikulum, mitokondriyum ve diğer mikrozomal birimlerin zedelenmesine yol açar (62). Membranlardaki gibi poliansatüre lipidler, bazı karbon atomları arasında çift bağlara sahiptir. Bu bağlar oksijen türevi serbest radikallerin saldırısıyla zedelenebilir (61, 63). Lipid peroksidasyonunda rol oynayan en önemli

serbest radikal, hidroksi radikaldır (64). Bu radikal çok reaktif olduğundan proteinler, karbonhidratlar ve DNA dahil bütün moleküllerle hızla reaksiyona girer. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan metabolitlerin tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmeleri sonucunda malondialdehid (MDA) oluşur (52, 64). MDA lipid peroksidasyonun son ürünü olup karsinojenik, mutajenik ve genotoksik etkiye sahiptir. MDA nükleik asitlere, proteinlerin amino gruplarına veya fosfolipidlere bağlanarak toksik etkisini göstermektedir (53, 65).

Deoksiribonükleik asit (DNA) lezyonları: DNA, serbest radikaller için önemli bir hedeftir. Singlet oksijen ve özellikle hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek; tek ve çift zincir kırılmalarına, baz dizilim değişikliklerine ve baz eksilmelerine sebep olabilir, hücre ölümü ve hücrenin malign dönüşümde suçlanan mutasyonlara neden olur (53, 56).

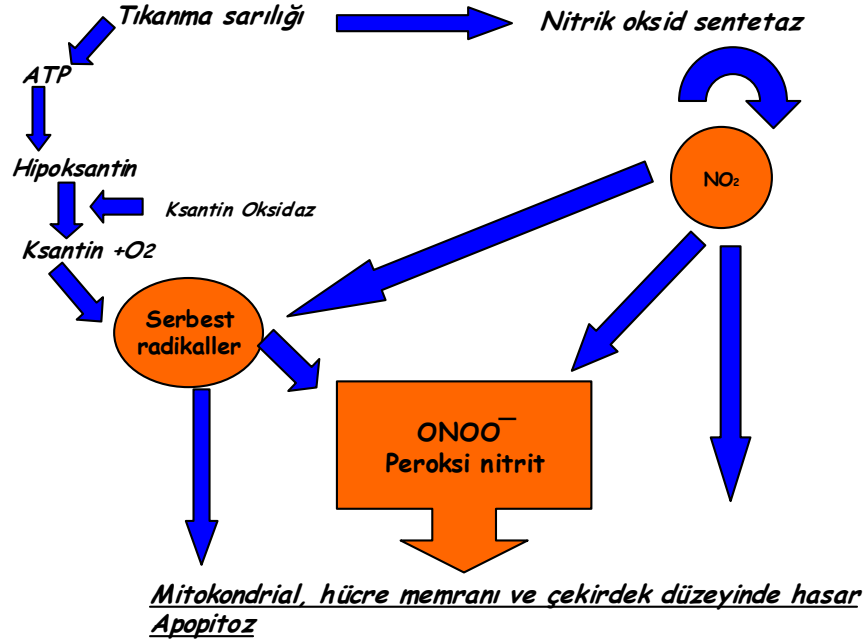
Protein çapraz bağları: Metionin, histidin, sistin, lizin gibi labil aminoasitlerin çapraz bağları hücrelerde özellikle sülfidril enzimleri gibi özellikle inaktif enzimleri yükseltirler. Bu etkilere ek olarak serbest radikaller karbonhidrat oksidasyonu ile hücre içinde toksik bir metabolit olan hidrojen peroksit meydana getirir. Bu radikallerden en çok etkilenen hücre dışı doku bileşenleri kollojen ve hyalüronik asittir. Serbest radikallerle muamele edilen IgG'lerin, romatoid faktör (otoantikör) ile bağlanma yeteneği artmaktadır. İmmun kompleksler daha fazla radikal oluşumuna neden olabilirler ve inflamatuvar tablo ilerleyebilir (65).

TIKANMA SARILIĞINA BAĞLI MEYDANA GELEN DOKU HASARINDA SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ROLÜ

Kolestaz sonrası hepatositlerde hücreyel şişme, intraduktal basınç artışına bağlı karaciğerde iskemik hasar ve sonuç olarak SOR ortaya çıkar (29). Bilirubin barsağa akmaması sonucu yağda eriyen vitaminlerin (Vitamin A, E, D, K) absorpsiyonu bozulur (66). Antioksidan özelliği olan vitamin E ve A seviyesindeki azalma, SOR'ne bağlı olarak gelişen doku hasarını artırır (67, 68).

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 (67).

Hepatosellüler yaralanmaya sekonder olarak plazma lipoperoksidazlarında yükselme ve antioksidan olan vitamin E seviyesinde azalma tespit edilmiştir (69).



Şekil-2. Tıkanma sarılığında oksidatif hasar (66)

MELATONİN

Melatonin veya N-asetil-5-metoksitriptamine (MEL) pineal glandın sekrete ettiği esas maddedir (70). Günümüzde melatonin'in biyolojik ritmin düzenlenmesinde, uyku, mizaç, üreme, tümör büyümesi ve yaşlanma sürecinde etkili olduğu bilinmektedir (70).

Pineal beze nöronal bilgiler norepinefrin ile gelir, melatonin ile çıkar. Melatonin salınımında egemen olan kontrol sistemi çevresel aydınlık-karanlık siklusudur. Gündüz saatlerinde az miktarda sentezlenir, karanlıkla birlikte salınımı ve sentezi artmaya başlar (71). Sempatik innervasyonun intakt olması melatonin ritminde önemlidir. Pinealositlerde sonlanan sempatik sinir uçlarından noradrenalin salgılanır, beta adrenerjik reseptörler uyarılır. Bu uyarı triptofan alımına neden olur, triptofandan seratonin oluşur, seratoninden de melatonin sentezlenir (72). Melatonin pasif difüzyonla kan dolaşımına geçer. Hidrofilik ve lipofilik yapısından dolayı bütün membranları kolayca geçebilir. Plazmada yaklaşık %70 dolayında albumine bağlanır

(73). Sekresyon artışı gecenin başlangıcında başlar ve gece yarısı saat 1–2 arası pik değerine ulaşır, gecenin kalan saatlerinde yavaş yavaş azalır ve gündüz saatlerinde sentez ve salınımı daha da düşer (72, 74).

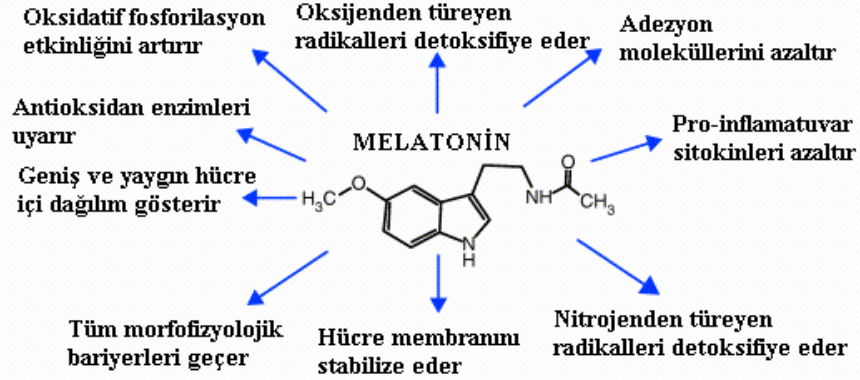
Karaciğerde hidroksilasyon ile metabolize olur, sülfürik asit (%60–70) veya glukuronik asitle (%20–30) konjuge olduktan sonra idrarla atılır. Melatonin'in esas metaboliti idrarla atılan sülfoksimelatonindir (75). Melatonin intravenöz olarak hızla dolaşımında dağılır ve elimine olur ($t_{1/2}$: 0,5–5,6 dk) (75). Oral alındığı zaman yarılanma süresi 45 dakikadır. Genel olarak endokrin aktivasyonlar üzerinde bariz bir etkisi olmamakla birlikte, farmakolojik dozlarda LH konsantrasyonunda azalma, prolaktin konsantrasyonunda artış yaptığı rapor edilmiştir (72).

Melatonin intrasellüler alanda sitozolik kalmodulin yoluyla direkt kalsiyuma bağlı sinyalleri etkilemekte ve adenilt siklaz-fosfodiesteraz gibi hedef enzimleri ve yapısal proteinleri etkilemektedir (Şekil 2) (76).

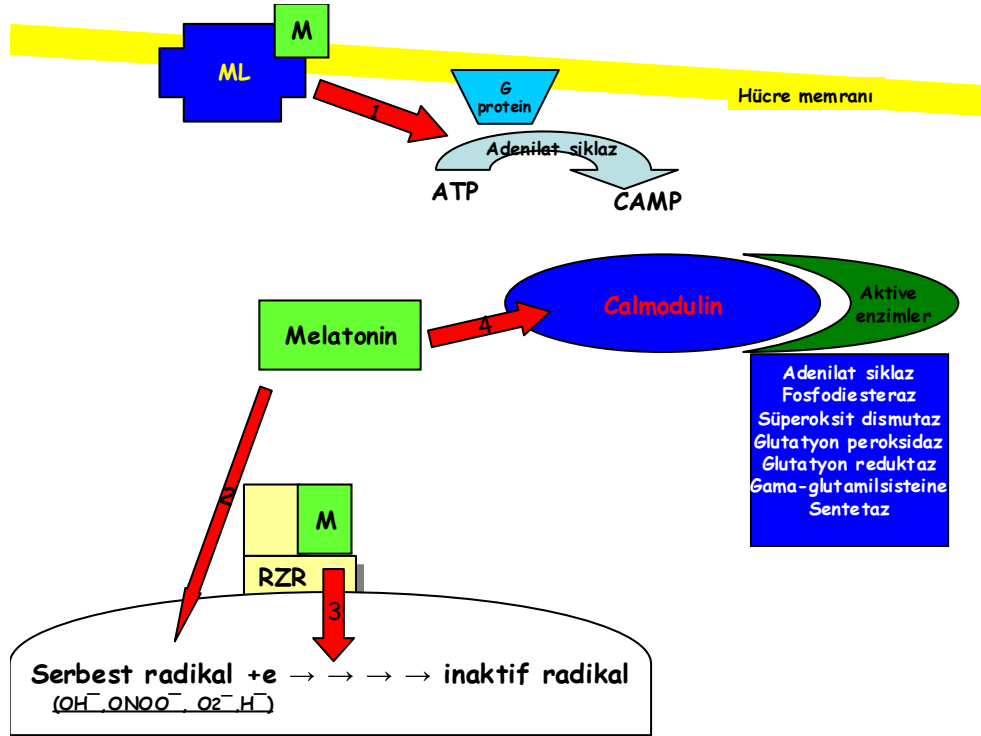
Beynin değişik bölgelerinde (77), overlerde (78), barsaklarda (79), ve kan damarlarında (80) olduğu gösterilmiştir. Melatonin reseptörleri (pitüiter bezin pars tuberalisi gibi) muhtemelen üreme fonksiyonları, periferel dokulardaki reseptörler (örneğin arterler) kardiyovasküler regülasyon ve vucut ısısının ayarlanması üzerinde etkili olabilir.

Serumda melatoninin artışı uykunun başlamasını tetiklemektedir ve uykunun devamlılığını ve kalitesini etkilemektedir (81). İnvitro (10) ve invivo (11) çalışmalarda melatonin'in yüksek toksik hidroksil radikali ve oksijen kaynaklı diğer radikalleri temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu etkiye aracılık eden reseptörler bilinmemektedir. Bir çalışmada melatonin'in bilinen antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, vit E, vit C gibi) daha etkili olduğu gösterilmiştir (72). Antioksidan etkinin görülebilmesi muhtemelen sadece farmakolojik dozlarda olmaktadır.

Tablo-2. Melatoninin antioksidan özellikleri (72)



Melatonin'in tümör büyümesini inhibe edici, strese bağlı immunodepresyonu giderici etkisi vardır (82). Fare çalışmalarında gösterilmiştir ki melatonin kemik iliğinde T-helper hücrelerinde IL-2, IL-4 yapımını artırmakta ve stromal hücrelerde granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör yapımını artırmaktadır, bunun yanında kemik iliği hücrelerini apoptozise karşı korumaktadır (83). T lenfositlerde (CD-4), yüksek afiniteli melatonin reseptörü bulunmuştur fakat B lenfositlerde melatonin reseptörü yoktur (84).



Şekil-3. Melatoninin hücre membranı ve intrasellüler düzeyde etkisi (76)

Günlerdeki karanlık saatlerin sayısının değişmesi melatonin sekresyonunu etkilemekte bu da üreme aktivitesini etkilemektedir. İnsanlarda mevsimsel değişim yoktur. Bununla birlikte epidemiyolojik çalışmalarda değişik coğrafi alanlarda dölleme ve doğum oranlarında mevsimsel dağılım gözlenmiştir (85). Melatonin antioksidan etkisi ve immun sistemi destekleyici etkisi ile hücreleri hasarlanmadan koruyarak yaşlanmaya karşı koruyucu etki gösteriyor olabilir (86).

Deneysel çalışmalarda melatonin'in hayvanlarda tümör büyümesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür, hayvanlara melatonin verilmesi sonrası tümör büyümesinde inhibisyon görülmüştür (87). Östrojen reseptörü pozitif olan meme kanserli kadınlarda ve prostat kanserli erkeklerde düşük serum melatonin konsantrasyonları ve düşük üriner ekskresyon tespit edilmiştir (88).

N-ASETİLSİSTEİN

N-Asetilsistein (NAC) doğal bir aminoasit olan bir tiol molekül L-Sistein 'in N-asetillenmiş türevine verilen isimdir (89). Kimyasal formülü $C_5H_9NO_3S$, moleküler ağırlığı 163,2 gr/mol'dür. En iyi ve en eski bilinen etkisi mukolitik etkisidir. Bu özelliği molekül içerisinde bulunan serbest sülfhidril (-SH) grupları için zengin bir kaynak teşkil etmesinden ve balgam içerisindeki mukoprotein moleküllerindeki disülfür köprülerini kırmasına ve onları depolimerize etmesine bağlıdır. OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri temizler. NAC kullanıldığı değişik hastalıklar arasında kanser, kardiovasküler hastalıklar, metal toksisitesi ve karaciğerin parasetamol toksisitesi sayılabilir (89).

Bu etkisi sebebiyle kistik fibroz hastalığında oluşan çok koyu kıvamda ve yüksek viskoziteli balgam bile akışkan bir sıvı haline getirebilir. NAC ayrıca sahip olduğu nükleofilik serbest tiol grubu aracılığı ile oksidan radikallerin elektrofilik grubuyla etkileşime girerek direkt antioksidan etki gösterir (90).

NAC apoptozu önleyebilmekte, çeşitli proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek hücre sağkalımını artırmaktadır. NAC, endotelial disfonksiyonunu azaltmakta, inflamasyon, fibroz, invazyon, kartilaj erezyonu, asetaminofen detoksifikasyonu ve transplantasyon ihtiyacının geciktirilmesini sağlamaktadır (91).

Moleküler yapısı ile hücre içine kolayca giren NAC burada deasetillenerek L–sisteine dönüşür. L–sistein bir glutatyon prekürsürüdür ve glutatyon sentezini artırır. Glutatyon ise eksojen ve endojen sitotoksik maddelerin ve oksijen radikallerinin hücreye zarar vermesini önleyen hücre bütünlüğünün ve işlevlerinin devamlılığı için çok önemli, endosellüler mekanizmada temel rolü olan yüksek reaktiflikte bir tripeptittir (89,91).

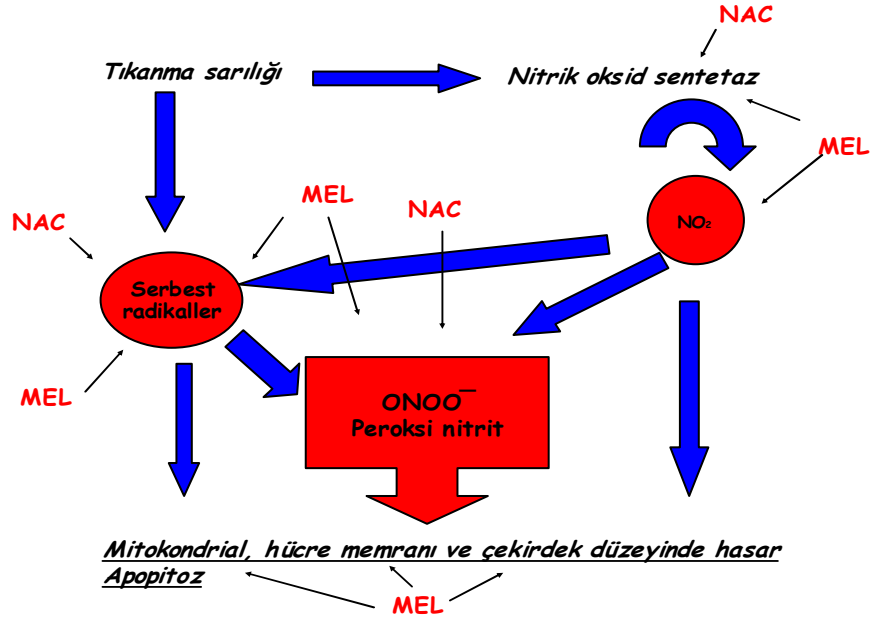
Glutatyon memeli canlılar için hücre düzeyinde olmazsa olmaz esansiyel bir aminoasittir. Glutatyonun koruyucu özellikleri 2 öge üzerinde baskın görünmektedir. Birincisi SOR üzerine olan baskılayıcı etkisinden kaynaklanmaktadır. Diğerisi ise dokuların özellikle sıcak ya da soğuk iskemiye maruz kalması nedeni ile ortaya çıkan oksidatif hasar üzerine olan baskılayıcı etkisidir (92).

SOR gibi oksitleyici ajanların etkileri nedeni ile hasarlarını absorbe ederek, okside olmuş glutatyon haline gelmektedir (Şekil 4). Glutatyon iskemi reperfüzyon hasarına uğratılmış karaciğer dokusunun in vitro ortamda plazma içerisine yüksek konsantrasyonda sekrete edildiği kanıtlanmıştır. NAC asetaminofen toksisitesinde ve alkol toksisitesinde 10–18 saat içinde verildiği takdirde karaciğeri hasardan korumakta ve mortaliteyi azaltmaktadır (93). Antitoksitesindeki muhtemel mekanizmalar karaciğer kan akımını artırması, glutatyon artışı ve serbest radikalleri temizlemesi sayılabilir (93). NAC sıçanlarda toksik kadmiyum ile birlikte verildiğinde de lipid peroksidasyonunu önleyerek karaciğer toksisitesini azaltmaktadır (94). Kokain ile gelişen karaciğer hasarı da NAC ile azaltılabilmektedir (95). NAC, karaciğerde oksidatif strese karşı tedavi edici etki ile transplantasyon hasarı, alkolizm, metal toksisitesi ve fibrozda tedavi rolü oynayabilir (93). Oksidatif stresin yıkımdan sorumlu olduğu, malignite varlığı, ağır metal zehirlenmeleri gibi durumlarda bu etkisinden faydalanılabileceği gösterilmiştir (93, 96).

İlaç intoleransına bağlı deri döküntüleri, kaşıntı, bulantı-kusma, ürtiker gibi yakınmalar görülebilir. Çok nadir olmakla beraber flushing, anjioödem, geçici hipotansiyon ve taşikardi gibi semptomlar bildirilmiştir (93).

Organizmaya verildiğinde NAC, glutatyon sentezi için gerekli olan sisteinin serbest sistinden deasetilasyonla oluşmasını sağlar böylelikle okside halde bulunan

inaktif toplam glutasyon seviyesinin ve biyolojik olarak aktif formunun seviyesinin artmasını sağlar. NAC özellikle glutasyon seviyesinin azalması ile birlikte seyreden intoksikasyonlarda kullanım imkânı bulmuştur (96).



Şekil-4. Tıkanma sarılığı ile ilişkili oksidatif hasarda melatonin ve N-Asetilsisteinin koruyucu özelliklerini gösterdikleri basamaklar

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışma (TT-06-25) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Aralık 2006–Nisan 2007 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı (07.02.2006 02–01/68) alındı.

DENEYSEL MODEL

Çalışmada ağırlığı 200–250 gr. arasında değişen, erkek ve DEKAM laboratuvarlarında üretilerek standart sıçan diyetiyle beslenen 48 adet Wistar–Albino tipi sıçan (Resim 1) kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak 8’erli gruplar halinde sham, tıkanma sarılığı–erken sakrifikasyon, tıkanma sarılığı, tıkanma sarılığı–melatonin, tıkanma sarılığı–NAC ve tıkanma sarılığı–melatonin & NAC gruplarına ayrıldı.

CERRAHİ İŞLEM

Anestezik ajan olarak ketamin–HCL (10mg/kg) intraperitoneal (Resim 2) uygulandı. Anestezik madde yapıldıktan sonra, sıçanların karnı traş makinası ile traş edildi ve batikonla temizlendi (Resim 3). Steril koşullarda orta hat insizyonla laparotomi yapıldı.

1. Koledok Ligasyonu: Laparotomi sonrası karaciğer hilusu eksplore edildi, koledok dönülerek karaciğer hilusuna yakın olacak şekilde proksimal ve distalden 5/0 ipekle bağlandı ve kesildi (Resim 4, 5, 6) (97, 98). Sıçanlara uygulanan cerrahi

işlemler sonrası, fasya 3/0 ipek, cilt 4/0 ipeklerle kapatıldı ve deri batikon ile temizlendi.

Grup I. Sham grubu: Bu grupta 8 sıçan kullanıldı. Laparotomi yapıldıktan sonra koledok dönüldü, ancak koledok bağlanmadı. Karın tabakaları usulüne uygun olarak kapatıldı. Sıçanların normal değerlerini tespit etmek için laparotomiden 10 gün sonra kan (4 ml) ve doku örnekleri (karaciğer ve böbrek) alındı.

Grup II. Kontrol-1 (Tıkanma sarılığı-erken sakrifikasyon) grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanların operasyonla koledokları usulüne uygun olarak bağlandı ve kesildi. Daha sonra sıçanlara bu işlemden 5 gün sonra relaparotomi yapılarak portal venden 5 ml kan alındı ve sıçanların karaciğeri ve böbrekleri çıkartıldı.

Grup III. Kontrol-2 (Tıkanma sarılığı) grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanların operasyonla koledokları usulüne uygun olarak bağlandı ve kesildi. 6. günden başlayarak 5 gün subkutan serum fizyolojik 2 cc verildi. 10. gün sonunda relaparotomi yapılarak portal venden 5 ml kan alındı ve sıçanların karaciğeri ve böbrekleri çıkartıldı.

Grup IV. Çalışma grubu (Tıkanma sarılığı-melatonin) (n=8): Bu gruptaki sıçanların operasyonla koledokları usulüne uygun olarak bağlandı ve kesildi. Daha sonra sıçanlara bu işlemden sonrası 6. günden başlanarak 10. güne kadar her gün subkutan 10 mg/kg, sıçan başına yaklaşık 2 mg/2cc melatonin uygulandı. 10. gün sonunda relaparotomi yapılarak portal venden 5 ml kan alındı ve sıçanların karaciğeri ve böbrekleri çıkartıldı.

Grup V. Çalışma grubu (Tıkanma sarılığı-NAC) (n=8): Bu gruptaki sıçanların operasyonla koledokları usulüne uygun olarak bağlandı ve kesildi. Daha sonra sıçanlara bu işlemden sonrası 6. günden başlanarak 10. güne kadar her gün 150 mg/kg NAC subkutan uygulandı. 10. gün sonunda relaparotomi yapılarak portal venden 5 ml kan alındı ve sıçanların karaciğeri ve böbrekleri çıkartıldı.

Grup VI. Çalışma grubu (Tıkanma sarılığı-Melatonin & NAC) (n=8): Bu gruptaki sıçanların operasyonla koledokları usulüne uygun olarak bağlandı ve kesildi. Daha sonra sıçanlara bu işlemden sonrası 6. günden başlanarak 10 güne kadar her gün subkutan 10 mg/kg, sıçan başına yaklaşık 2 mg/2 cc melatonin ve 150

mg/kg NAC subkutan uygulandı. 10. gün sonunda relaparotomi yapılarak portal venden 5 ml kan alındı ve sıçanların karaciğeri ve böbrekleri çıkartıldı.

Kontrol grubunda 2 ve çalışma grubunda 3 sıçan çalışma esnasında öldü. Bunların yerine, aynı sayıda sıçan çalışmaya dahil edildi. Sakrifikasyon doku ve plazma örnekleme sonrası abdominal aort ve vena cavaya yapılan transvers kesi ile oluşan hemoraji ile sağlandı.

Sıçanlardan ortalama 4 ml kan alındı, daha sonra karaciğer ve iki böbrek tümüyle çıkartılarak tartıldı. Çıkartılan karaciğer ve sol böbrek patolojik inceleme için formol içinde saklandı. Sıçanlardan alınan tüm kan örnekleri alındıktan ½ saat sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilerek plazmaları ayrıldı ve çalışma gününe kadar -70°C 'de saklandı. Alüminyum folyoya sarılan karaciğerin %30'u ve sağ böbrek çalışma gününe kadar MDA ve NO ölçümü için -70°C 'de saklandı.

DEĞERLENDİRİLECEK PARAMETRELER

Biyokimyasal parametreler:

1. Karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri: Plazmaları ayrılarak -70°C 'de saklanan kan örneklerinden AST, ALT, total ve konjüge bilirubin, BUN ve kreatinin düzeyleri çalışıldı.

2. Malondialdehit ve Nitrik Oksit: Karaciğer ve böbrek dokusunda malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri çalışıldı

Biyokimyasal Analiz:

Alınan örneklerde 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilip plazmaları ayrıldı. Serumda Technicon RAXT oto analizörle total bilirubin, AST, ALT, BUN, kreatinin çalışıldı.

Karaciğerde Lipid Peroksidasyon Ürünü Tayini:

Karaciğer ve böbrek örneğinin yarısı; homojenizatörde 1 gr yaş dokuya 9 ml %1,15 KCl ilave edilerek homojenisasyon sağlandı.

MDA için 0,1 ml doku örneğine, 0,2 ml Sodyum Dodecyl Sülfat, 1,5 ml TBA (tiobarbitürük asit) ve 1,5 ml asetik asit ilave edilerek distile su seviyesi 4 ml'ye tamamlandı. 1 saat 95°C bekletilen karışım soğutma işlemi sonrası 5 ml

n-bütanol/pridin ve 1 ml distile su ilave edildi. 10 dakika 4000 devir/dakika'da santrifüj edilip üst tabakanın absorbansı 532 mm'de Shimadzu-UV 160A markalı spektrofotometrede okundu. Alınan sonuçlar lineer regresyonu hesaplanarak doku örneklerinin verileri standart eğriye göre değerlendirildi. MDA miktarı, gram protein başına nmol olarak belirlendi (99).

NO için 0,1 ml doku örneğine, 0,29 ml distile su, 0,025 ml FAD, 0,05 ml NADPH, 0,01 ml nitrat redüktaz ilave edildi. 15 dakika oda sıcaklığında bekletilen karışım tüplenecek absorbansı 532 mm'de Shimadzu-UV 160A markalı spektrofotometrede okundu. Alınan sonuçlar lineer regresyonu hesaplanarak doku örneklerinin verileri standart eğriye göre değerlendirildi. NO miktarı, gram protein başına nmol olarak belirlendi (99).

Histopatolojik Parametreler

Karaciğer ve böbrek örnekleri % 10'luk formalinle tespit edildi. Rutin doku işlemleri sonrası 6 mikron kalınlığında parafin kesitleri alınarak H&E (Hemotoksilen-Eozin) ile boyanıp ışın mikroskopide değerlendirildi.

Karaciğer: Işık mikroskopide 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 infarktı sahasının büyüklüğüne göre karar verildi. Safra infarktı ve nekroz yok ise 0 puan, safra infarktının 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 (23).

Böbrek: Granülovokuolar dejenerasyon ve renal tübüllerde genişlik semikantitatif olarak Chen ve arkadaşlarının (8) 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

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) ve/veya median (min.–max.) olarak gösterildi. Verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. AST, ALT, kreatinin, MDA ve NO değişken dağılımları ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak tanımlandı. Bu değişkenlerin gruplar arasındaki farkına Tukey testi kullanılarak bakıldı. BUN sonuçlarının incelenmesi ve istatistiği Dunnett's testi ile kontrol değişken parametresi BUN seçilerek karşılaştırıldı. Veriler gruplara göre normal dağılım göstermediği için tüm grupların karşılaştırılması Kruskal Wallis varyans analizi ile yapıldı. İstatistik; Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (15,0 version) programında yapıldı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Resim-1. Wistar albino erkek sıçan



Resim-2. Anestezi uygulaması



Resim-3. Cerrahi öncesi karın cildi traş edildi



Resim-4. Koledok eksplorasyonu



Resim-5. Koledoğun serbestlenmesi



Resim-6. Koledoğun portal hilusa
yakın bağlanıp kesilmesi

BULGULAR

Biyokimyasal Sonuçlar

1. Total Bilirubin Sonuçları (mg/dl):

Erken sakrifikasyon (P=0,001), kontrol (P=0,001) ve melatonin (P=0,001), NAC (P=0,002) gruplarında ölçülen total bilirubin değerleri sham grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Sham grubu ile melatonin & NAC grubu (P=0,166) arasında istatikselsel olarak anlamlı fark yoktu. Kontrol grubu ile melatonin grubu karşılaştırdığında kontrol grubunda (P=0,001) total bilirubin değerleri daha yüksekti (Grafik 1). Zaman göz önüne alındığında 5. gün ve 10. günlerde erken sakrifikasyon ve kontrol grupları arasında total bilirubin değerleri açısından anlamlı farklılığa rastlanmadı (P=0,614). Melatonin ve NAC grupları (P=0,732) arasında istatikselsel fark yoktu, melatonin ve melatonin & NAC grupları (P=0,134) arasında istatikselsel fark yoktu, NAC ve melatonin & NAC grupları (P=0,507) arasında istatikselsel fark yoktu (Tablo 3) (H=40,838).

2. AST Sonuçları (U/L):

Tüm gruplar göz önüne alındığında, AST değerleri sham grubunda kontrol (P=0,001) ve erken sakrifikasyon (P=0,001) gruplarına göre istatikselsel olarak anlamlı olarak düşüktü. Kontrol grubunda AST değerleri melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,001) gruplarındaki AST değerlerinden yüksekti. Kontrol grubu ile erken sakrifikasyon grubu arasında istatikselsel fark yoktu (P=0,665). Melatonin, NAC (P=0,961), melatonin & NAC (P=0,976) grupları

arasında fark yoktu. NAC grubu ile melatonin & NAC grubu arasında (P=0,661) fark yoktu (Tablo 3, Grafik 2, [H=36,206]).

3. ALT Sonuçları (U/L):

ALT değerleri sham grubu ile diğer tüm gruplar karşılaştırıldığında, erken sakrifikasyon (P=0,001) ve kontrol (P=0,001) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Sham grubunda daha düşük ALT seviyeleri bulundu. Erken sakrifikasyon grubunda ALT değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı fark mevcut değildi ama rölatif olarak (P=0,665) daha düşük idi. Kontrol grubunda ALT değerleri melatonin (P=0,007), NAC (P=0,002), melatonin & NAC (P=0,017) gruplarındaki ALT değerlerinden yüksekti. Kontrol grubu ile erken sakrifikasyon grubu arasında istatistiksel fark yoktu (P=0,628). Melatonin, NAC (P=0,997), melatonin & NAC (P=0,954) grupları arasında fark yoktu. NAC grubu ile melatonin & NAC grubu arasında (P=0,970) fark yoktu (Tablo 3, Grafik 3 [H=29,439]).

4. Kan üre azotu (BUN) sonuçları (mg/dl):

Sham grubu ile erken sakrifikasyon (P=0,356), melatonin (P=0,134), NAC (P=0,475) ve melatonin & NAC (P=0,569) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Kontrol grubu BUN seviyeleri melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,001) gruplarında ki BUN seviyelerinden anlamlı olarak yüksekti (Tablo 3). Melatonin grubu ile NAC (P=0,975) ve melatonin & NAC (P=0,947) grupları arasında fark yoktu (Tablo 3, Grafik 4).

5. Kreatinin Sonuçları (mg/dl):

Sham grubu ile erken sakrifikasyon (P=0,001) ve kontrol grubu (P=0,001) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. Erken sakrifikasyon ve kontrol gruplarında daha yüksek kreatinin seviyeleri saptandı. Erken sakrifikasyon grubu ile melatonin (P=0,684), NAC (P=0,217) ve melatonin & NAC (P=0,126) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Kontrol grubu ile melatonin grubu (P=0,001), NAC grubu (P=0,006), melatonin & NAC (P=0,003) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

saptandı. Melatonin grubu ile NAC grubu (P=0,991) ve melatonin & NAC grubu (P=0,078) arasında fark yoktu (Tablo 3, Grafik 5, [H=23,406])

KARACİĞER VE BÖBREK MDA VE NO SONUÇLARI

1.1. Karaciğer MDA Sonuçları (nmol/gr protein):

Çalışma gruplarında ölçülen MDA seviyesinin, melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,001); kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı (Tablo 4). Sham grubu ile çalışma grupları [melatonin (P=0,067), NAC (P=0,104), melatonin & NAC (P=0,381)] arasında istatistiksel fark saptanmadı. Erken sakrifikasyon grubu ile kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmada MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi (P=0,765) (Tablo 4, Grafik 6, [H=42,392]).

1.2. Böbrek MDA Sonuçları (nmol/gr protein):

Çalışma gruplarında 10. günde böbrek dokusunda ölçülen MDA değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü [melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,001)] (Tablo 4).

Sham grubunda çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu [melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,000)]. Çalışma grupları arasında istatistiksel fark saptanmadı (P>0,05). Erken sakrifikasyon grubu ile kontrol grubu ((P=0,001) arasında yapılan karşılaştırmada MDA düzeyleri anlamlı olarak farklı idi (Tablo 4, Grafik 8, Grafik 7, [H=40,381])

2.1. Karaciğer NO Sonuçları (nmol/gr protein):

Çalışma gruplarında 10. günde karaciğerde ölçülen NO değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü [melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,001)] (Tablo 4).

Sham grubu ile çalışma grupları arasında istatistiksel fark yoktu [melatonin (P=0,995), NAC (P=0,580), melatonin & NAC (P=0,480)]. Çalışma grupları arasında istatistiksel fark tespit edilmedi (P>0,05). Erken sakrifikasyon grubu ile kontrol grubu (P=0,697) arasında yapılan karşılaştırmada NO düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 4, Grafik 9, Grafik 11, [H=36,361]).

2.2. Böbrek NO Sonuçları (nmol/gr protein):

Onuncu günde ölçülen NO değerleri karşılaştırıldığında çalışma grubunda [melatonin (P=0,001), NAC (P=0,001), melatonin & NAC (P=0,000)] ölçülen NO seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlendi.

Sham grubu ile çalışma grupları arasında istatistiksel fark yoktu [melatonin (P=0,989), NAC (P=0,384), melatonin & NAC (P=0,287)]. Çalışma grupları arasında istatistiksel fark saptanmadı (p>0.05). Benzer şekilde erken sakrifikasyon grubu ile kontrol grubu (P=0,516) arasında NO düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4, Grafik 10, Grafik 11, [H=37,203]).

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Histopatolojik olarak karaciğerde kolestazla oluşan mikro apseler, genişlemiş safra kanalikülleri, lenfosit infiltrasyonu değerlendirildi. Böbrekte granülovokuolar dejenerasyon ve renal tübüllerde genişlik semikantitatif olarak değerlendirildi. Karaciğer ve böbrek örnekleri H&E ile boyanıp ışın mikroskopide değerlendirildi.

Karaciğer dokusunda safra infarktları ve nekroz, fibrosiz değerlendirildi. Sham grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu (P<0,001). Erken sakrifikasyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (P>0,05) (Tablo 5). Kontrol grubu (Resim 7) ile çalışma grubu arasında yapılan değerlendirmede istatistiksel anlamlı fark saptandı (P<0,001). Çalışma grubunda melatonin (Resim 8), NAC ve melatonin & NAC grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (P>0,05) (Tablo 5, Grafik 12).

Böbrek dokusunda granülovokuolar dejenerasyon ve renal tübüllerde genişlik semikantitatif olarak incelendi. Değerlendirmede sham grubu (Resim 9) ile NAC grubu dışında diğer gruplar arasında istatistikî olarak farklılık saptandı (P<0,05). Erken sakrifikasyon grubu ile kontrol grubu arasında yapılan değerlendirmede farklılık yoktu (P>0,05). Kontrol grubu (Resim 10) ile çalışma grubu arasında yapılan değerlendirmede istatistiksel anlam taşımaktaydı (P<0,001). Çalışma grubunda melatonin, NAC ve melatonin & NAC (Resim11) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (P>0,05) (Tablo 5, Grafik 13).

Tablo-3. Biyokimyasal değişkenlerin karşılaştırılması

	Sham	Erken S.	Kontrol	MEL	NAC	MEL&NAC
Tbil mg/dl	1,06±0,26 ^a	6,59±1,24 ^c	9,19±2,05 ^c	7,07±1,06 ^b	4,58±1,62 ^b	4,29±1,26 ^{a,b}
AST U/L	31,0±3,66	799,0±276,2 ^a	953,6±360,6 ^a	367,8±154,6 ^b	452,7±83,50 ^b	415,2±122,9 ^b
ALT U/L	27,0±4,53	241,6±90,68 ^b	292,91±90,03 ^b	170,7±32,54 ^c	155,62±47,9 ^c	181,22±78,7 ^c
BUN mg/dl	16,0±3,16 ^a	18,52±2,8 ^a	24,37±2,55	12,80±1,72 ^a	13,73±2,55 ^a	13,92±1,89 ^a
Krea. mg/dl	0,41±0,24	0,91±0,39 ^a	1,11±0,15	0,51±0,25 ^a	0,60±0,23 ^a	0,56±0,29 ^a

Benzer harfler benzer grupları göstermektedir.

X±SD olarak veriler bildirilmiştir.

Tablo-4. MDA ve NO'nun karşılaştırılması

	Sham	Erken S.	Kontrol	MEL	NAC	MEL & NAC
Kc MDA	62,21±5,4 ^a	134,75±10,2 ^b	163,29±19,4 ^b	88,32±5,2 ^a	93,2±6,17 ^a	80,3±29,5 ^a
Böbrek MDA	59,78±6,8 ^a	128,85±15,5 ^b	172,41±19,8 ^b	88,40±3,8 ^a	97,27±4,7 ^a	93,89±4,7 ^a
Kc NO	2,65±0,45 ^a	5,16±0,47 ^b	5,85±0,33 ^b	3,04±0,62 ^a	3,48±0,28 ^a	3,65±0,72 ^a
Böbrek NO	3,33±0,67 ^a	5,24±0,60 ^b	5,68±0,60 ^b	3,18±0,35 ^a	3,83±0,35 ^a	3,87±0,27 ^a

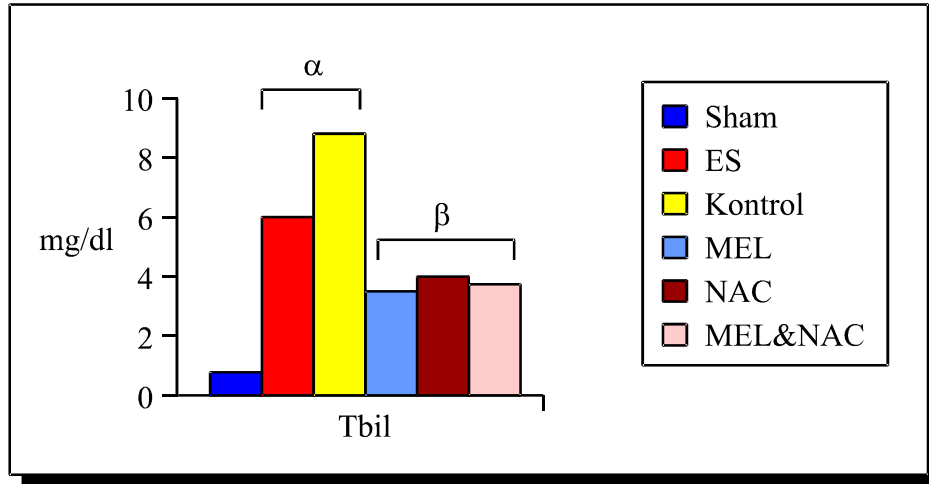
Benzer harfler benzer grupları göstermektedir.

X±SD olarak veriler bildirilmiştir.

Tablo-5. Gruplardaki safra infarktlarının ve fibrosizin skoru ve böbrekte granulovokuoler dejenerasyon değerlerinin karşılaştırılması

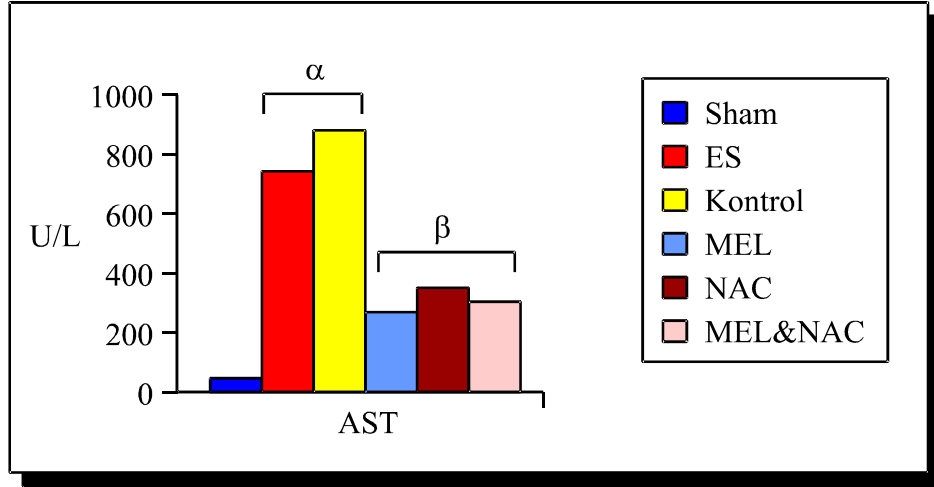
Parametreler	SHAM X±SD Ortanca (min-max)	ES X±SD Ortanca (min-max)	Kontrol X±SD Ortanca (min-max)	MEL X±SD Ortanca (min-max)	NAC X±SD Ortanca (min-max)	MEL & NAC X±SD Ortanca (min-max)	P<0,05
Safra Infarktları ve fibrosiz	0±0,01 0 (0-0,1)	2,5±0,53 2,5 (2,0-3,0)	2,87±0,35 3,0 (2,0-3,0)	1,37±0,51 1,0 (1,0-2,0)	1,12±0,35 1,0 (1,0-2,0)	1,25±0,46 1,0 (1,0-2,0)	P<0,001
Granulo-vokuoler dejenerasyon	0,0±0,01 0 (0-0,1)	2,75±1,03 3,0 (1,0-4,0)	3,62±0,51 4,0 (3,0-4,0)	1,25±0,46 1,0 (1,0-2,0)	1,12±0,35 1,0 (1,0-2,0)	1,25±0,31 1,0 (0,0-4,0)	P<0,001

X±SD: mean± standart sapma



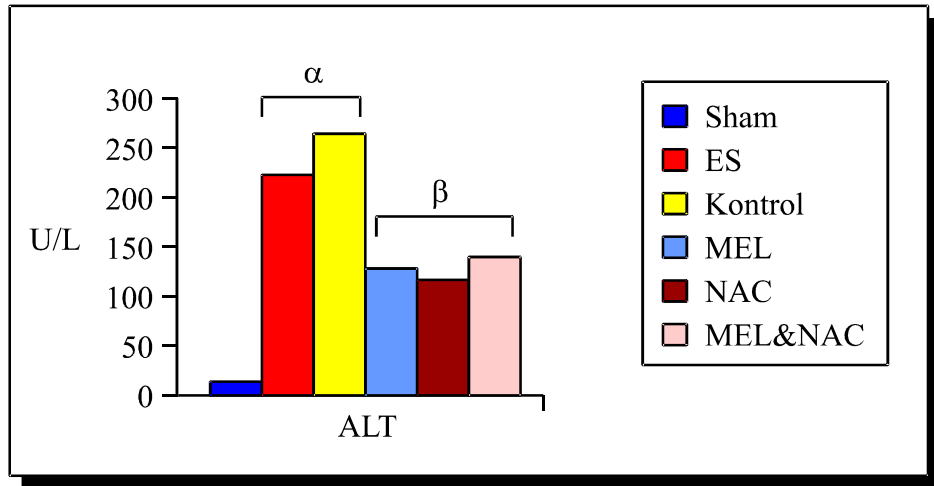
Grafik-1. Gruplar arasında total bilirubin seviyelerinin karşılaştırılması

α, β: İstatiksel olarak benzer gruplar



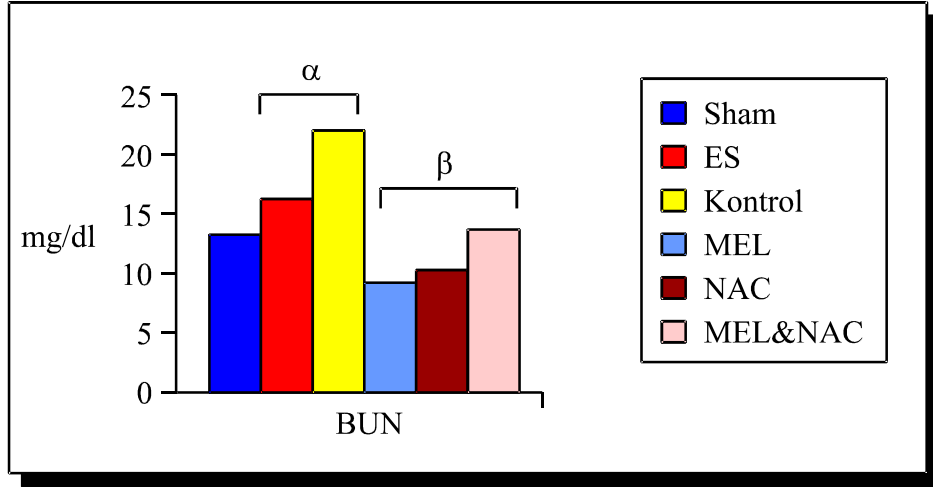
Grafik-2. Gruplar arasında AST seviyelerinin karşılaştırılması

α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar



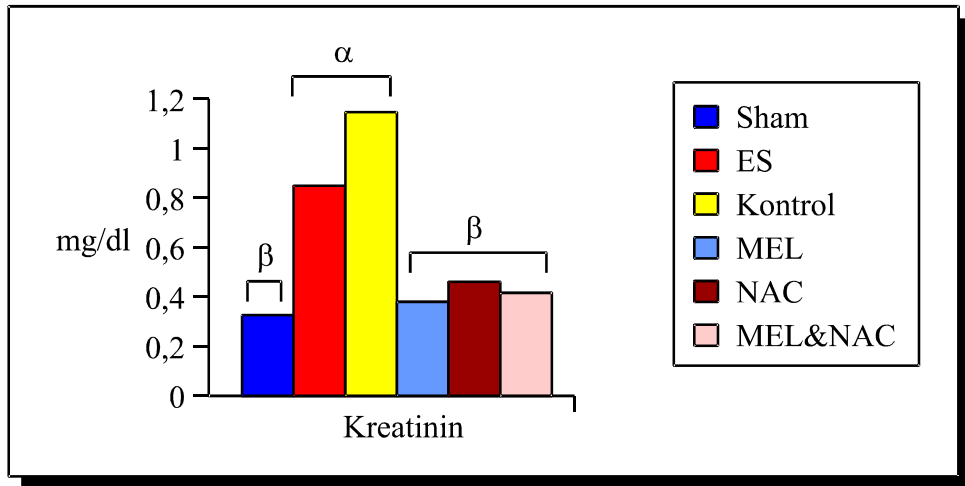
Grafik-3. Gruplar arasında ALT seviyelerinin karşılaştırılması

α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar



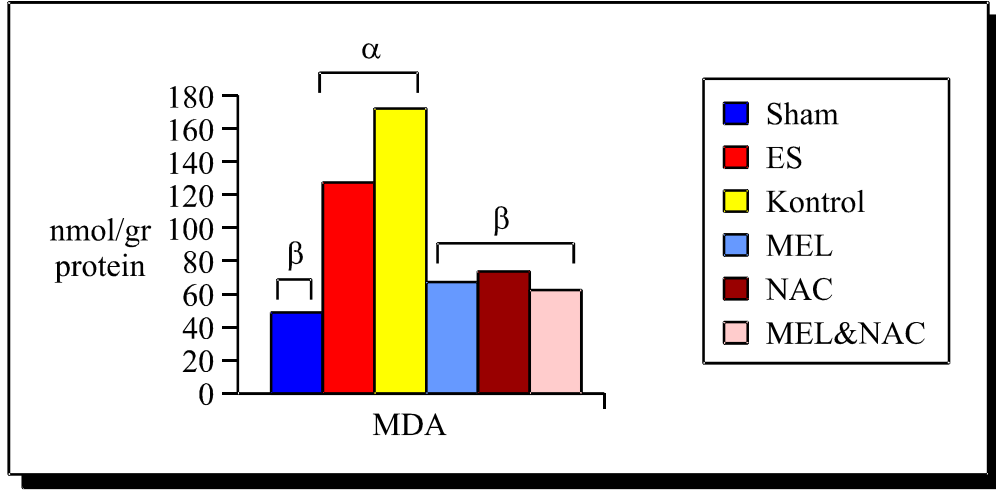
Grafik-4. Gruplar arasında BUN seviyelerinin karşılaştırılması

α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar

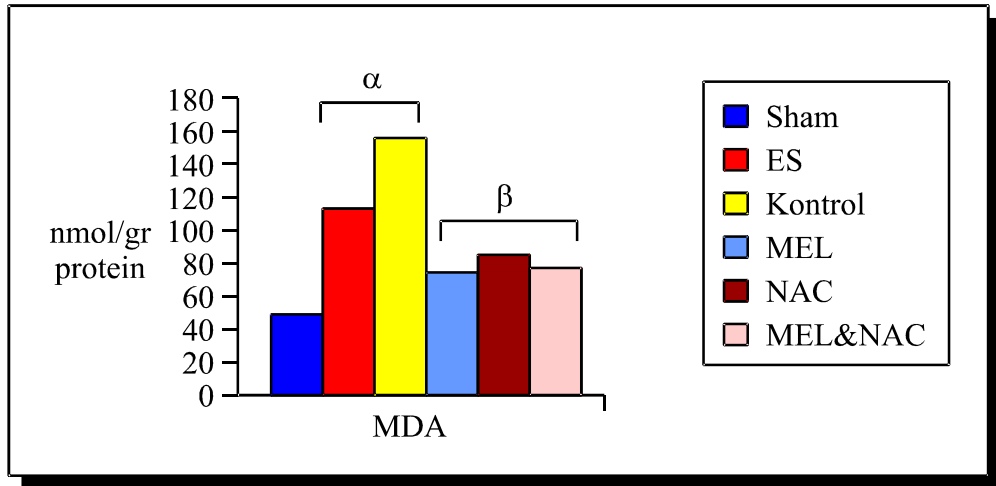


Grafik-5. Gruplar arasında kreatinin seviyelerinin karşılaştırılması

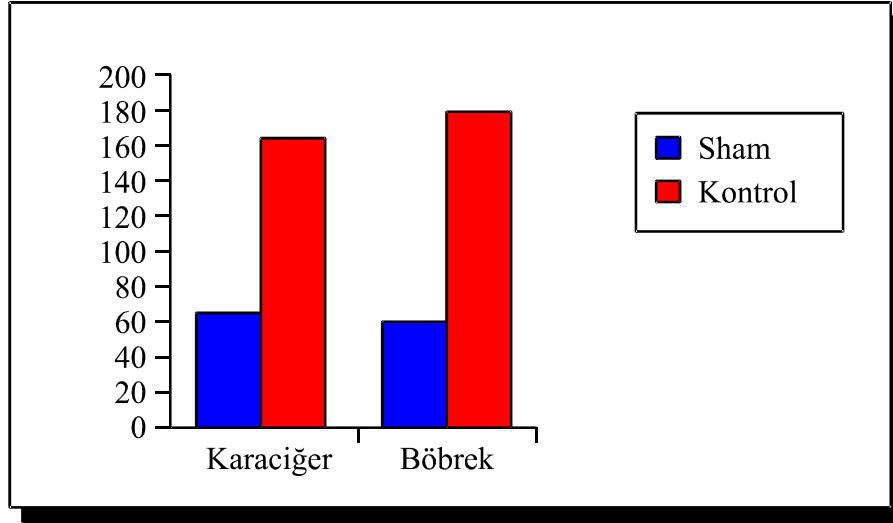
α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar



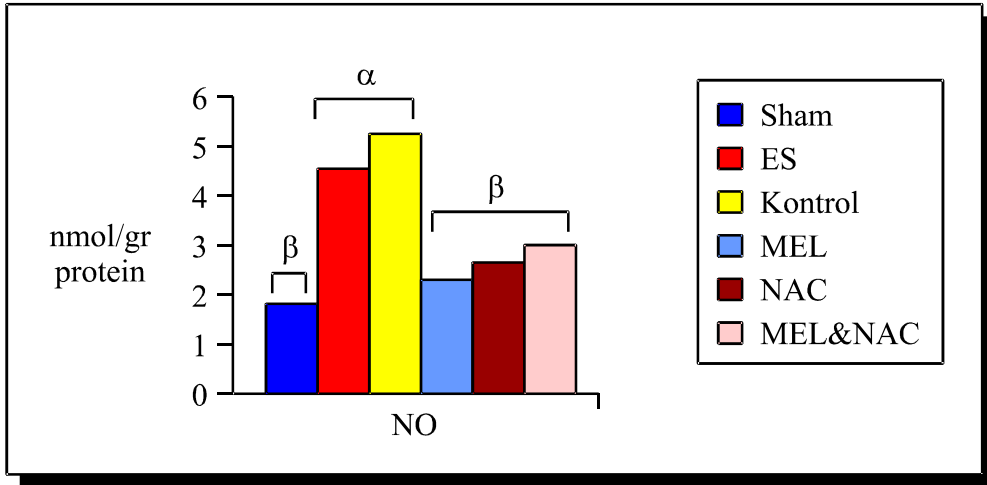
Grafik-6. Gruplar arasında karaciğer MDA seviyelerinin karşılaştırılması
 α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar



Grafik-7. Gruplar arasında böbrek MDA seviyelerinin karşılaştırılması
 α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar

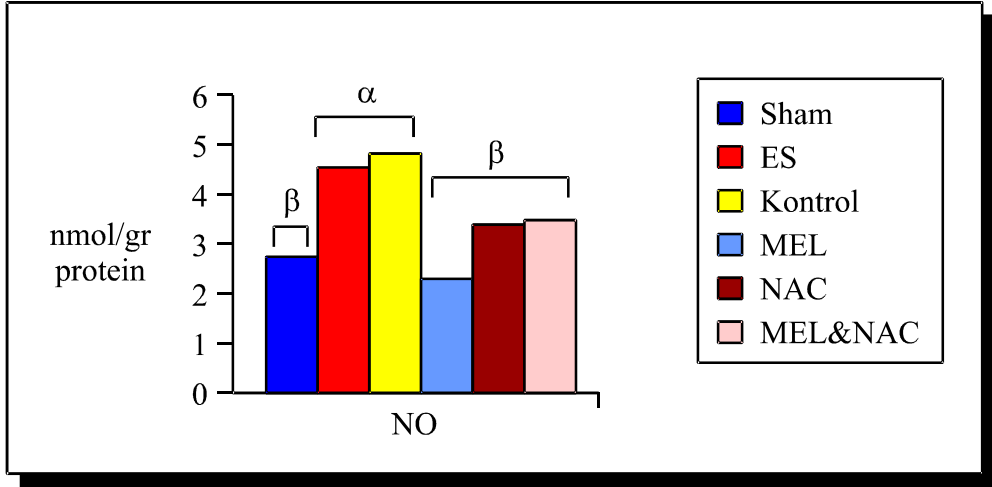


Grafik-8. Sham ve kontrol gruplarının MDA ölçümlerinin karşılaştırılması

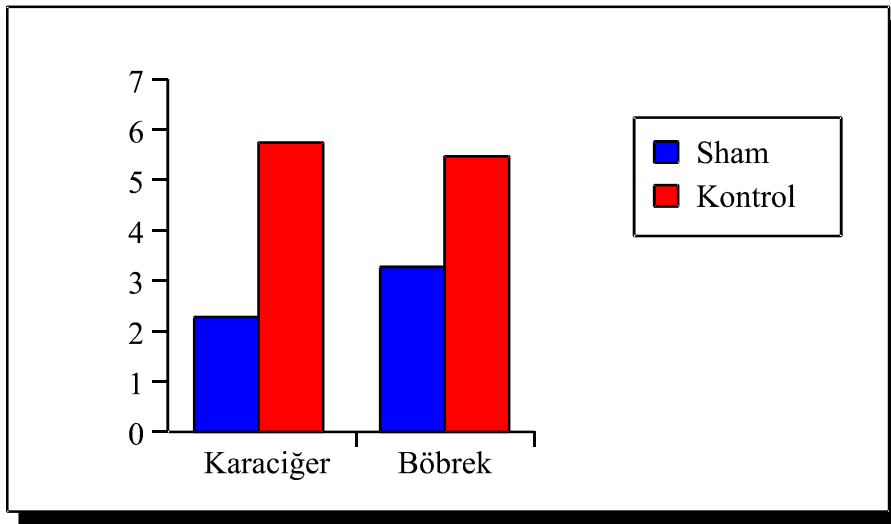


Grafik-9. Gruplar arasında karaciğer NO değerlerinin karşılaştırılması

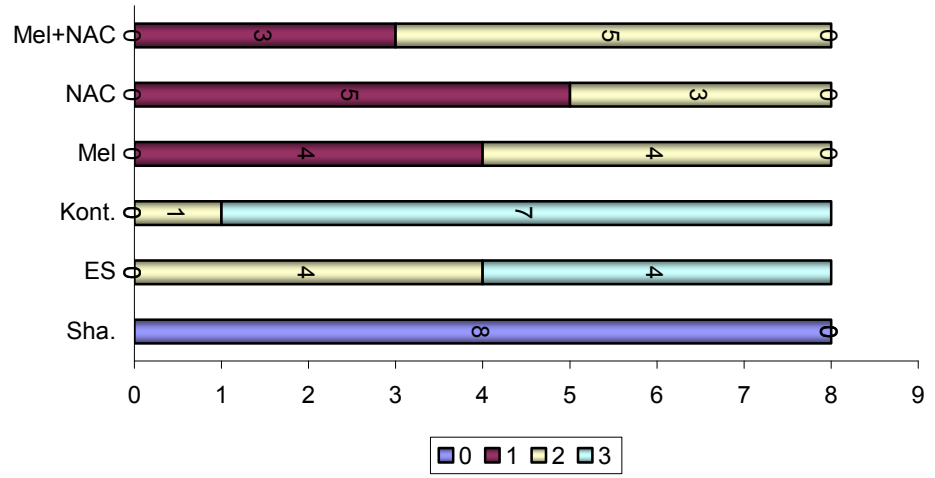
α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar



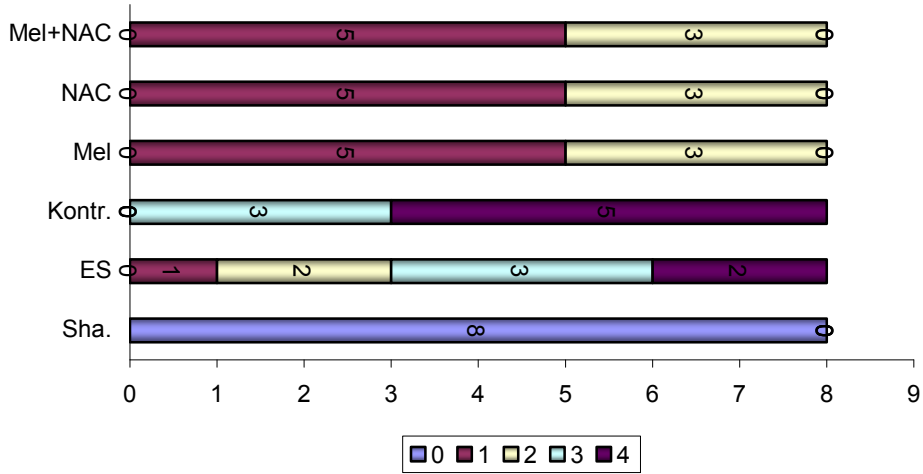
Grafik-10. Gruplar arasında böbrek NO değerlerinin karşılaştırılması
 α , β : İstatiksel olarak benzer gruplar



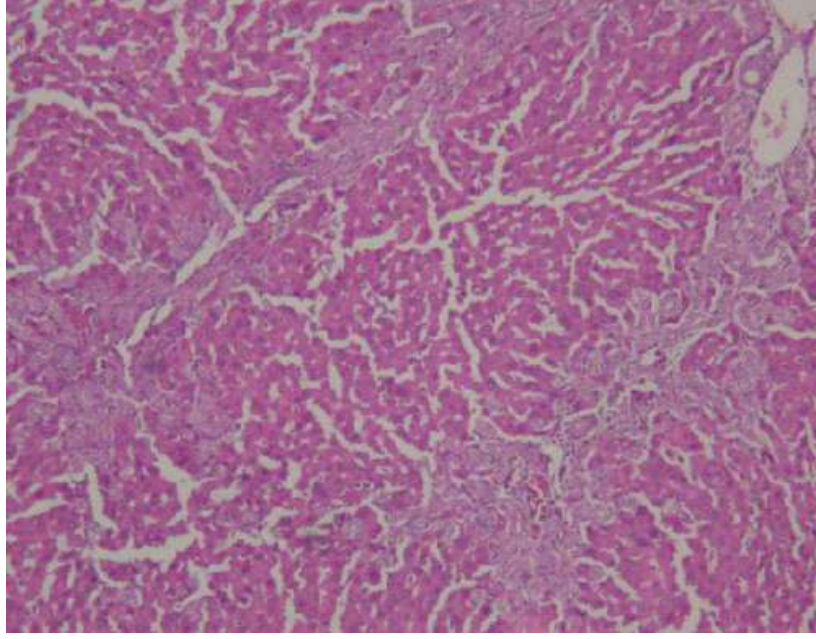
Grafik-11. Sham ve Kontrol gruplarının NO ölçümlerinin karşılaştırılması



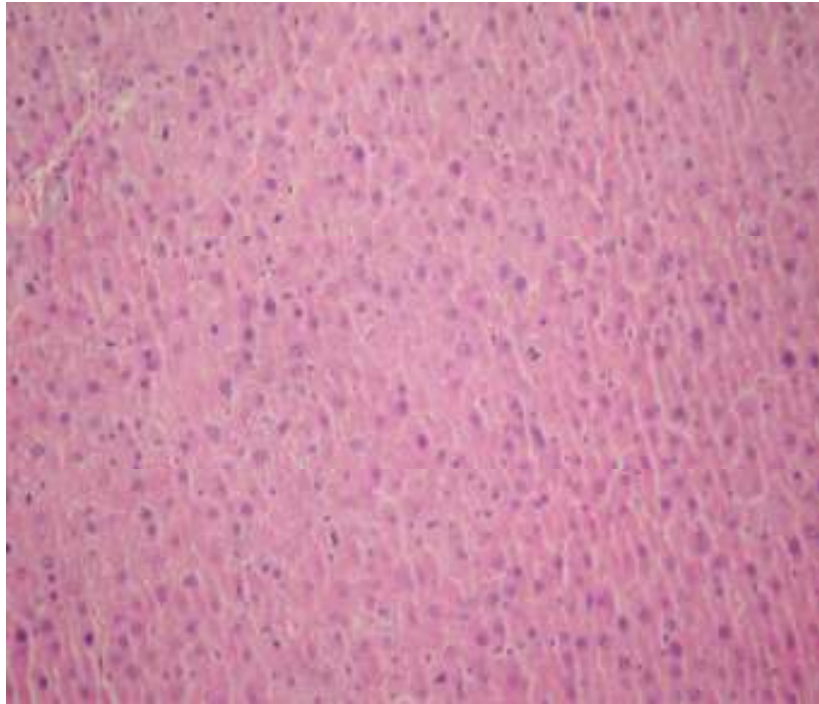
Grafik-12. Gruplardaki safra infarktlarının ve fibrosizin semikantitatif skorlarının dağılımı



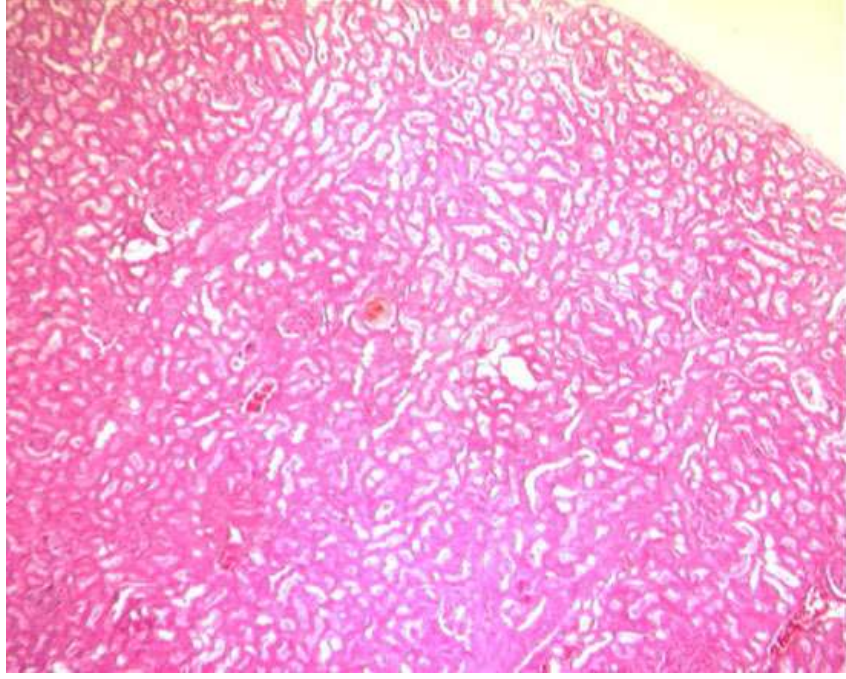
Grafik-13. Gruplardaki granulovokuolar dejenerasyon ve renal tübüllerde genişliğin semikantitatif skorlarının dağılımı



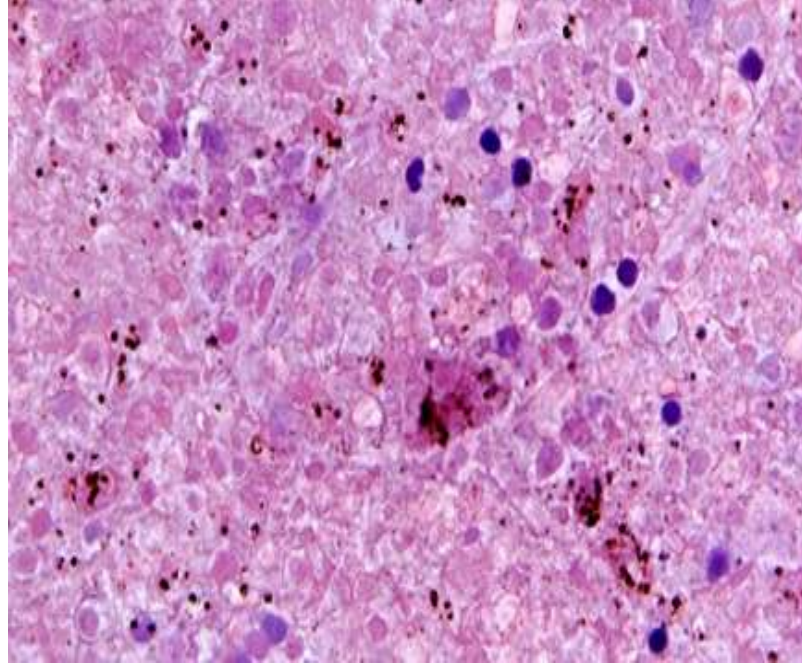
Resim-7. Kontrol grubunda (denek 4) karaciğer dokusunda safra infarktı, portal alanda hücre kaybı, parankim hücrelerinde şişme (H&Ex100)



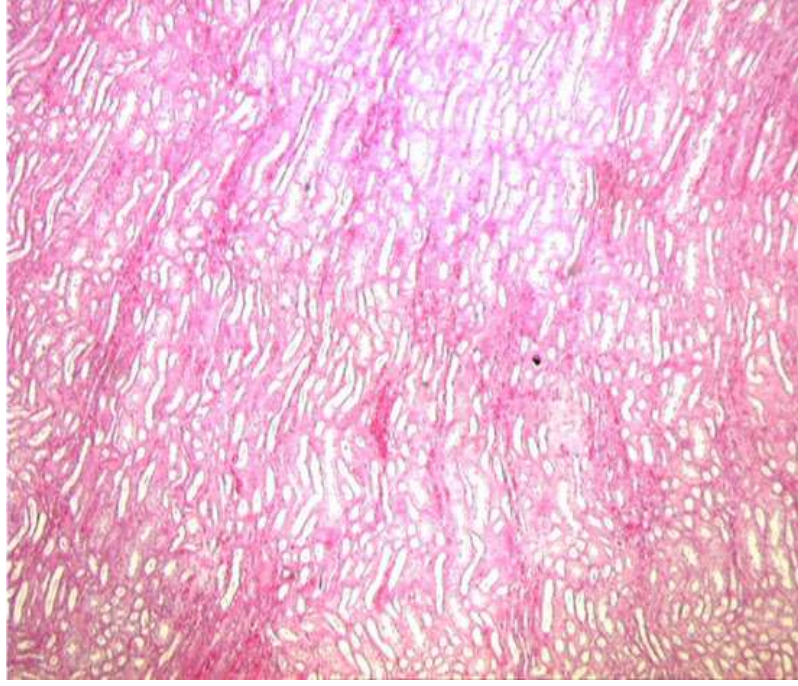
Resim-8. Melatonin grubunda (denek 7) karaciğerde gerilemiş safra infarktları (H&Ex100)



Resim-9. Sham grubunda (denek 3) normal böbrek dokusu (H&Ex100)



Resim-10. Kontrol grubunda (denek 2) granulovokuoler dejenerasyon gelişmiş böbrek (H&Ex100)



Resim-11. Melatonin+NAC grubunda (denek 6) granulovokuoler dejenerasyonu gerilemiş böbrek (H&Ex100)

TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı, karaciğerde üretilen safranın intrahepatik ve ekstrahepatik safra yollarındaki nedene bağlı tıkanıklık sonucu gastrointestinal sisteme akamaması ile oluşan bir klinik bir tablodur. Tıkanma sarılığında ARDS, renal yetmezlik, hepatorenal sendrom, kardiyovasküler problemler gibi çok ciddi klinik tablo gelişir (18, 19). Tıkanma sarılığında oluşan bir başka olay ise karaciğerdeki oksidatif-antioksidan sistemlerinin dengesindeki bozulma ve lipid peroksidasyonundaki artmadır (1, 5).

Tıkanma sarılığı sonucunda karaciğerde meydana gelen hasar ve fonksiyonel değişimler internal veya eksternal drenaj işlemleri ile ancak günler ve haftalar içerisinde normale dönebilir. Safra yollarının tıkanması hepatik striktüre neden olur, karaciğerde kollajen miktarı artar. Karaciğerin rejenerasyon kabiliyeti azalır ve fibrojenik aktivite artar, normal karaciğer dokusunun yerini fibrozis alır. Eksternal biliyer dekompresyonla enterohepatik sirkülasyon düzenlenemeyeceği gibi intestinal lümeneye safra tuzu, sekretuar IgA akımı sağlanamaz (20). İnternal drenaj ile RES fonksiyonlarının düzenlenmesi aylar içinde olur (20).

Ana safra kanalındaki tıkanma sonucu safra tuzlarının birikmesi, artmış safra yolu basıncına bağlı hepatositlerin salgı yapmaması, hepatositlerde yapısal ve işlevsel bazı bozukluklara yol açmaktadır (100). Karaciğerdeki hücrelerde, mitokondrilerde aktivite azalması, protein sentezi, glukoneogenez ve ketogenez aktivitesinin düşmesi gibi işlevsel yetersizlikler görülmüştür (100). Sistemik olarak

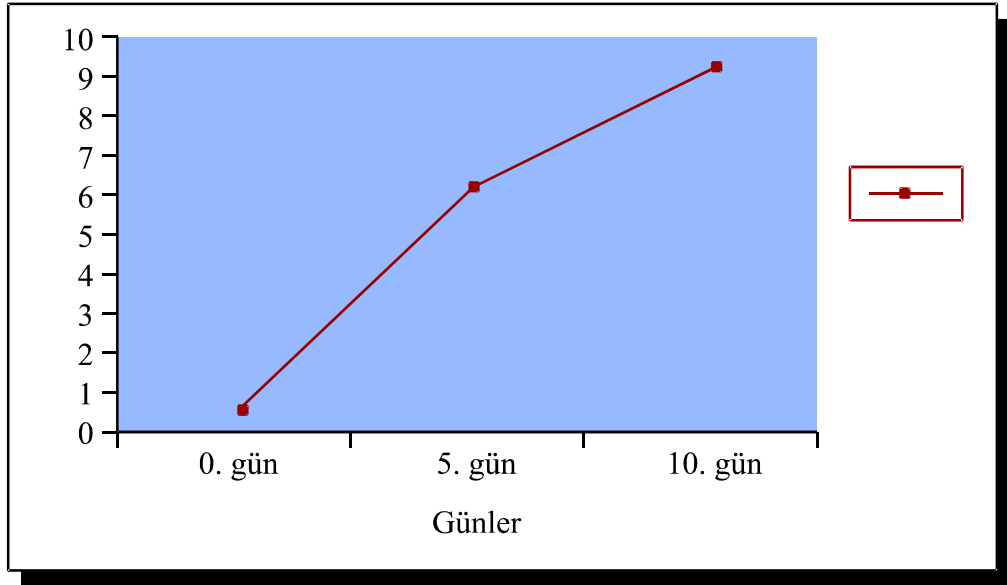
gelişen endotoksemi ile tıkanma sarılığı bulunan hastalarda böbrek yetmezliği, solunum yetmezliği, yüksek sistolik tansiyon gibi sistemik etkileri görülebilir (101). Tıkanma sarılıklı hastalarda safra yolu cerrahisi sonrası morbidite ve mortalitede en önemli iki faktör sepsis ve renal yetmezliktir (18). Bu iki faktörün oluşumu tam olarak anlaşılamamıştır. RES fonksiyonlarında azalma tesbit edilmiştir (101).

Tıkanma sarılığında böbrek fonksiyonlarında gelişen bozulmanın etyolojisi anlaşılamamakla birlikte hücresel düzeyde ve hücre dışı ortamda gelişen hipovolemi, serbest oksijen radikallerinde artış, endotoksemi ve antioksidan fonksiyonlarda görülen azalma önemli rol oynadığı düşünülmektedir (şekil 8) (102,103). İntestinal düzeyde gelişen endotoksemide böbrek kan akımının azalması, sarılığın ortaya çıkarttığı oksijen yetersizliğinin böbrek tübüllerinde yarattığı sensitizasyon böbrek yetmezliğinin sarılıktaki patofizyolojisi için düşünülmektedir (103, 104).

Sıçan deneysel tıkanma sarılığı modeli için en sık kullanılan hayvandır. Sarılık sadece koledok bağlanarak veya bağlanıp tam kesi uygulanarak oluşturulabilir (97,98). Sadece ligasyon yapılan ratlarda rekanalizasyon bildiriliğinden bu çalışmada tam kesili koledok ligasyonu tercih edildi. Ligasyonun distalden yapılması durumunda koledoğa açılan çok sayıdaki pankreatik kanalın bağlanmasıyla pankreatit oluşabilir, bundan dolayı koledok ligasyonun hilusa yakın olarak yapıldı.

Ortak safra kanalı bağlanan ratlarda bilirubin seviyesi saatler içerisinde yükselir (97). Bizim çalışmamızda yüksek değerler elde edildi. Bilirubin yükselmesi ve pik seviyesine ulaşmasındaki farklılıklar ligasyonun yapıldığı yer ile ilgilidir. Ratlarda kenodeoksikolik asit karaciğerdeki majör safra asidi olan beta-murikolik aside dönüştüğünden dolayı düşük serum düzeylerindeki bilirubin insana göre anlamlı olarak daha hepatotoksik etki gösterir (105). Deneysel tıkanma sarılığında bilirubin seviyeleri 5,6–8 mg/dl arasında değişmektedir (23,105). Bu çalışmada koledok ligasyonundan 5 gün sonra serum total bilirubin düzeyi ortalama 6,59 mg/dl olarak bulundu (Grafik 14). Kontrol grubunda 10. günde ortalama 9,19 mg/dl'ye ulaştı. Bilirubin yükselmesi tıkanmayla bağlantılı olarak safra retansiyonunun devam etmesi ile açıklanabilir. Geç dönem kolestazda ise safra infarktları 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 (106). 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 (106). Bizim çalışmamızda hem tedavi hem kontrol gruplarında fibrozis ve nekroz alanları görüldü. Bu nekroz alanları tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmıştı. Antioksidan etkinlikleri ile bu ilaçlar tıkanma sarılığı devam ettiği halde, SOR'un ve artan bilirubinin yaratacağı doku hasarını azalttıkları ve hücrelerde gelişen apoptozu ve nekrozu durduklarını gördük. Yapılan antioksidan tedavinin tıkanma sarılığının erken dönemlerinde başlaması ile kalıcı hasarların azaltılabileceği düşünüldü.



Grafik-14. Zamana göre total bilirubin seviyelerinde gelişen artış

Son 2-3 dekatta kanser dahil birçok patolojik olayda serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu bilinmektedir (107). Serbest oksijen radikallerinin üretimi parankim hücresi, endotel ve inflamatuvar hücrelerde olmaktadır. Serbest oksijen radikalleri 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 (107).

İskemi sonrasında reperfüzyon ile ROS'un artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarı artar. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (107, 108).

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 (4). Bizim çalışmamızda çalışma ve kontrol grubunda proksimal tubullerde safra pigmentleri görülmüştür. Tedavi edilen sıçanlarda böbrekte gelişen hasar azalmıştır. 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.

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). Melatonin, antioksidan etkisinin yanında birçok antioksidan enzimi de stimüle etmekte, prooksidan enzimlerin ve nitrik oksidin sentezini inhibe etmektedir. Bizim çalışmamızda yukarıda belirtilen makale ile uyumlu olarak melatonin verilen sıçanlarda sarılıklı sıçanlara göre daha düşük düzeyde doku hasarı tespit edildi. Kreatinin seviyeleri sham grubu ile karşılaştırıldığında erken sakrifikasyon grubunda istatistiksel olarak daha yüksekti, daha erken devresinde sarılığın böbrekte doku hasarına sebep olduğu görüldü. Böbrekte 10. günde geri dönüşsüz nekroz odaklarının geliştiğini, tübüllerdeki dejenerasyonun böbrekte yaygın nekroz odakları haline geldiğini gördük.

Serbest oksijen radikalleri nötrofillerden ve makrofajlardan salınan ve inflamasyonun erken evresinde etkisini gösteren moleküllerdir. Serbest radikaller DNA, proteinler ve lipidleri hedef seçerler. Membran lipidlerine saldırarak peroksidasyona neden olup membranlarda hasara yol açmakta bu da mikrovasküler ödem oluşumunu artırmaktadır. Son yıllarda birçok dokuda bu radikallerin sekonder hasarlara neden oldukları gösterilmiştir (56).

Cruz ve ark'nın. çalışmalarında tıkanma sarılığı geliştirilen sıçanlarda oluşan oksidatif strese melatoninin etkisini araştırmışlardır. Tıkanma sarılığı tablosu bulunan hastalarda böbrek yetmezliği oranını %8 olarak bildirilmiştir. Bu tablonun sebebi olarak artan bilirubin ve safra tuzlarının çökmesi, endotoksemi, sıvı birikimi, oksidatif stres gösterilmiştir. Tıkanma sarılığında melatoninin antioksidan (şekil 4) olarak aktif rol oynadığı bildirilmiştir. Çalışmada kontrol grubunda artan oksidatif strese karşı melatonin verilen sıçanlarda oksidatif stres göstergelerinde anlamlı oranda azalma görülmüştür. Malondialdehit seviyeleri böbrek dokularında anlamlı oranda azalmıştır. Kan üre azotu, kreatinin seviyeleri melatonin tedavisi sonucunda anlamlı olarak azalmış, histopatolojik olarak böbrek kesitlerinde glomerüler dejenerasyonda azalma gözlemlenmiştir. Glutasyon depolarında gelişen eksilmenin önüne geçilmiştir (109). Tıkanma sarılığında gelişen böbrek yetmezliğinde azalan sıvı alımında 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. Çalışmamızda MDA seviyeleri melatonin verilen grupta anlamlı olarak düşük tespit edildi. Melatonin verilmesi ile bizim çalışmamızda tedavinin başladığı gündeki değerlerin altına inilmiştir. Melatonin verilen sıçanlarda normal sıçanlardan daha yüksek MDA seviyeleri görülmüştür. Her ne kadar antioksidan tedavi verilse de dokuda gelişecek hasarın tam önüne geçilemeyeceği, ancak apoptozu azaltarak doku hasarının en düşük seviyeye ineceği kalıcı hasarların önlenebileceği düşünüldü.

Sarılıkta gelişen hepatik hasar ve oksidatif stres nitrik oksit aracılı bir sistemle gelişir. Çalışmamızda oksidatif stresi belirlemede NO ölçümü yapmamızın nedeni anlık oksidatif stresi ölçmek idi. Düşük doz melatonin ile de oksidatif stres parametrelerinde azalma tespit edilmiştir. MDA seviyeleri azalmış, incelemelerde safra kanal nekrozu ve hepatosit hasarında azalma düşük doz melatonin verilmesi

sonrasında da gözlemlenmiştir. Ancak melatoninin bu etkisinin doza bağımlı olup olmadığının tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (110). Melatoninin invivo koşullarda iskemi/reperfüzyon hasarına karşı antioksidan etkilerinin aksine infarkt alanının yaygınlığını azaltmakta etkisi olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada melatonin lipid peroksidasyon ürünleri olan MDA'da azalma gösterdiği halde, infarkt alanın yaygınlığı devam etmiştir. Çalışmada melatonine ön koşullandırılmalı iskemi eklendiğinde antioksidan etkinin yanı sıra infarkt alanının genişliğinde de azalma tespit edilmiştir (111). Bizim çalışmamızda melatonin her gün aynı saatte gündüz endojen melatonin en düşük olduğu saatler olan gündüz gün ortası saatlerinde uygulandı. Bizim çalışmamızda melatonin verilen sıçanlarda gelişen safra infarkt ve nekroz alanları kontrol grubundaki sarılıklı sıçanlarda görülen safra infarkt ve nekroz alanlarından daha düşük bir alanı kapsıyordu. Melatonin seviyesinin antioksidan etkinliğin görülmesinde önemli olduğu açıktır. Ön koşullandırma ile hazırlanan çalışmada melatonin düzeyleri bizim çalışmamızda verilen melatonin dozundan düşüktür. Bu durum histopatolojik düzeyde karşılaşılan farklılığı açıklayabilir.

Tıkanma sarılığında böbrek düzeyinde gelişen hasarı inceleyen Chen ve ark. MDA seviyelerinde sistemik yükselmeye beraber böbrek dokusunda da MDA'da yükselme tespit etmişlerdir. MDA seviyeleri ile böbrek düzeyindeki histopatoloji ile tespitlenen hasar arasında korelasyon tespit etmişlerdir. Melatonin ile yapılan tedavi ile hem MDA seviyelerinde hem de böbrek hasarının histopatolojik evrelerinde daha düşük değerler elde ettiler. Yazarların çalışmasında sham grubunda bile laparotomi ve yinelenen enjeksiyonlara dayandırdıkları böbrek hasarı tespit etmişlerdir (8). Bizim çalışmamızda sham grubunda tespit edilen herhangi bir patolojik laboratuvar bulgusuna rastlamadık sham grubunda hem kontrol grupları hem de tedavi gruplarından daha düşük MDA seviyeleri tespit ettik. Subkutan uygulamanın ve laparatominin sıçanlarda yarattığı oksidatif stresi ve hasarı biz görmedik.

Bülbüller ve ark.'nın çalışmalarında sarılık sonrasında sıçanlara melatonin ve laktuloz verildi. Karaciğer, böbrek ve kan serum örnekleri alındı. Doku düzeyinde melatonin verilen grupta laktuloz grubuna göre lipid peroksidasyon ürünlerinde daha düşük düzeyler tespit edildi. Serum total kolesterol düzeyleri incelendiğinde melatonin grubunda daha düşük düzeyler elde edildi (9). Böbrek taşı için uygulanan

ekstrakoporal şok dalgalı litotripsinin indüklediği hücre hasarı bilinen bir patolojidir. Tavşanlarda yapılan çalışmada şok dalgalı litotripsi sonucu oluşan hücresel hasarda serbest radikallerin önemli rol oynadığı düşünülmüştür. Çalışmanın sonucunda melatoninin taş kırma esnasında gelişen hücresel hasara karşı koruyucu etkisi olduğu görülmüştür. Ekstrakoporal şok dalgalı litotripsinin ardından gelişen tubuler hasar subklinik seyretmektedir. Tüm hastalara işlem sonrası antioksidan verilerek bu hasarın önüne geçilebilirliği gösterilmiştir (112).

Aydoğdu ve ark.'nın böbrek iskemi reperfüzyon hasarında NAC'ın serbest radikal süpürücü etkisini inceledikleri çalışmalarında böbrek iskemi reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikallerinin önemli yer oynadığını, reperfüzyon sonrasında hızlıca lipid peroksidasyonun arttığını bildirmişlerdir. İskemik dokuda glutatyon depolarının azaldığını tespit etmişlerdir. Glutatyonun, hidrojen peroksit, süperoksit, alkoksil, radikalleri ile direkt etkileşime girerek hücreyi koruduğu bilinmektedir (113). Böbrek yetmezliğinde okside glutatyon oranının arttığı, redükte formun azaldığı bilinmektedir. NAC verilmesi ile redükte glutatyon miktarında artma olduğu tespit edilmiştir. Direkt serbest radikal süpürücü etkisi ve indirekt etkileri (Şekil 4) ile glutatyon reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi mevcuttur. NAC, MDA düzeylerini azaltmıştır. Histopatolojik olarak mevcut çalışmada tubüler nekroz NAC verilerek azaldığı görülmüştür. NAC lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA düzeyini ve böbrek hasarını azaltmıştır, glutatyon depolarındaki azalmayı tersine çevirmiştir. Sarılıkta böbrekte tubüllere olan bilirubin çökmesi sonrası bir iskemi reperfüzyon hasarı meydana gelmektedir (113). Çalışmamızda NAC verilen sıçanlarda böbrek dokusunda tespit edilen MDA ve NO seviyeleri, kontrol grubu sıçanlara göre daha düşük idi. Granulovokuolar dejenerasyon alanları NAC verilen sıçanlarda daha düşük oranda idi. NAC, melatonin gibi erken dönemde tedaviye başlandığında böbrekte gelişen hasarın gerilemesi ve bu hasarın kalıcı olmasının önlenebileceği düşünüldü.

Polonya merkezli çalışmada metanol ile elde edilen karaciğer hasarında mitokondriyal hasarın, mikrozomal profilarasyonun arttığı, serbest oksijen radikallerinin bu tabloda da rol oynadığı dile getirilmiştir. Hasar sonrası NAC uygulaması ile hücresel glutatyon depoları dolar, lipid peroksidasyon ürünlerinde azalma gözlemlenir. Metanol toksikasyonu sonrası etanol antidot olarak kullanılır,

NAC'ın klinik uygulamada metanol toksikasyonunda koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (114). Demir ve ark. karaciğer nakillerinde ciddi problem olarak sıcak iskemi süresince iskemi / reperfüzyon hasarının serbest radikallere bağlı olduğundan yola çıkmışlardır. Hepatik pediküle yerleştirilen klemp ile 30 dakika iskemi oluşturmuşlardır. Sonrasında reperfüzyon sonrası karaciğer rezeke edilmiştir, iskemi / reperfüzyon gruplarında ALT düzeyleri yükselmiştir. NAC grubunda ALT yüksekliği iskemi / reperfüzyon grubuna göre daha ılımlı düzeyde yükselmiştir. MDA seviyeleri kontrol grubunda hızlıca yükselmiştir, NAC grubunda kontrol grubuna göre daha düşük MDA seviyeleri elde edilmiştir. Pentoksifilin grubunda lipid peroksidasyonunda azalma, serbest oksijen radikaller hasarında azalma görülmemiştir (115).

Çağlıküleççi ve ark.'nın çalışmalarında lipopolisakkaritle indüklenen sarılıkta NAC'ın karaciğer, böbrek, serum örneklerinde lipid peroksidasyon üzerindeki etkisini incelemiştir. Subkutan NAC uygulanan sıçanlarda sadece serum fizyolojik verilenlerle karşılaştırıldığında MDA, myeloperoksidaz seviyeleri daha düşük bulunmuştur ve serumda ATPaz seviyeleri daha yüksektir. Gelişen endotoksemide kalsiyumdan bağımsız olarak artan indüklenabilir nitrik oksit sentetaz aktivitesi ile NO seviyesi yükselmiştir. İndüklenabilir nitrik oksit sentetaz dokuda makrofajlar, lökositler ve endotel hücrelerde lipopolisakkarit ile oluşturulan sarılığın sonucu olarak sentezlenir. Makrofaj, endotel hücreler ve lökositlerin aktivasyonu ile IL-1, TNF- α , PAF, interferon α ve adhezyon moleküllerinin lökotrienlerin, araşidonik asit metabolitlerinin üretimi artar. Sonrasında proteazlar, serbest oksijen radikalleri artar ve koagülasyon kaskadı aktive olur. Çağlıküleççi çalışmasında 50 μ mol/kg NAC'ın subkutan uygulanması ile tıkanma sarılığının indüklediği toksemide düzelme sağlayabilmiştir. Lipopolisakkarit uygulanarak sarılık oluşunca serbest oksijen radikallerinin yarattığı hasardan dokunun NAC ile korunduğu görülmüştür (116).

Tsai ve ark.'nın yaptıkları çalışmada koledok taşı bulunan 40 hasta ve 40 sağlıklı kontrol grubunda plazmada lipid peroksit seviyeleri araştırıldı. Sarılıklı hastalarda plazma lipid peroksit seviyeleri serum bilirubin seviyeleri ile anlamlı olarak yüksekti (117).

Şener ve ark.'nın hepatik iskemi / reperfüzyon hasarı üzerine oluşturdukları modelde kontrol grubu ile melatonin grubu karşılaştırıldığında, melatonin grubunda daha düşük MDA düzeyleri görülmüştür. Melatonin & NAC verilen grup ile sadece melatonin veya sadece NAC verilen grupla karşılaştırıldığında daha düşük MDA seviyeleri tespit edilmiştir (93). Şener ve ark. çalışmalarının aksine bizim çalışmamızda melatonin & NAC verilen sıçanlarda melatonin veya NAC verilenlere göre MDA ve NO seviyelerinde daha başarılı antioksidan etki elde edilmemiştir. Bu durumun her iki maddenin birlikte uygulandığı sıçanlarda antioksidan etkinlikte biyokimyasal açıdan yarıştığı ve bu yarışmanın antioksidan etkinlikte yavaşlamaya yol açmış olabileceğini düşündük. Melatonin lipofilik yapısı nedeni ile daha hızlı olacak şekilde hücreye girer, hücre membranında bulunan melatonin spesifik reseptörlerin NAC ile ilişkisi belirsizdir, bu reseptörlere karşı her iki maddenin yarışması olabilir. NAC glutatyona dönüşecek ve antioksidan etkisinin basamağı başlayacaktır ancak NO sentetaz enzimi üzerine her iki madde antioksidan etkisini gösterecektir. Bu noktada her iki antioksidanın yarışması sonrasında etkinlikte azalma olabilir.

Tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanların karaciğerlerinde yapılan elektron mikroskopi incelemesinde en ciddi görülen değişiklik, biçimi bozulan ve şişen mitokondriyledir (118). Safra infarktı artmış biliyer basınca bağlı olarak kanal hasarı, safra komponentlerinin hepatositlere direkt etki yapması, kandaki bilirubin ve safra asitlerinin indirekt etkileri sonucu oluşur. Bu nekroz alanlarına yakın sınırlarda Kupffer hücre aktivitesinde artış, fagositik vakuollerin belirginleşmesi ve sinusoidlerde orta derecede konjesyon olduğu gösterilmiştir. Tıkanmanın ilk haftasında portal alanda ödem, nötrofil ve lenfositler görülebilir(106). 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. Karaciğerde devam eden morfolojik değişimler, yaşayan deney hayvanlarında aylar sonra sekonder biliyer siroz ve rejenerasyon nodüllerinin oluşumuyla sonuçlanır (106). İlk hafta sonlandığında gelişen infarkt, fibrosiz; nekroz alanları artar doku hasarı kalıcı hale gelir. Antioksidan tedavi erken dönemde başladığında fibrosiz yavaşlatılabilir, bilirubin seviyeleri tıkanma sarılığı devam

ettiği halde azalabilir. Dokuda kalıcı hasarın önlenebileceği çalışmamızda görülmüştür. Tedavi verilen gruplarda sarılıklı sıçanlara göre daha az doku hasarı tespit edildi.

Total bilirubin, AST ve ALT düzeylerinin karşılaştırılmasında (Tablo 3) bizim çalışmamızda da bilirubin değerlerinde hem kontrol hem de tedavi grupları göz önüne alındığında tedavi verilen sıçanlarda daha düşük değerler elde edildi. Çalışmamızda dokuda hem karaciğer hem böbrek düzeyinde MDA ve NO (Tablo 4) seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecek azalma tespit edilmiştir. Her iki antioksidan ajanın beraber verilmesinin sinerjistik bir etki yaratacağını düşünmüştük Ancak AST, ALT ve total bilirubin değerlerini (Tablo 3) ele aldığımızda bu savımızı kanıtlayacak bulgulara rastlamadık. Gerek melatonin gerekse NAC'ın antioksidan etkinliklerini birçok basamakta gösterir, NO sentataz ile peroksinitrit oluşumu gibi birçok basamakta aynı noktalara etkiler. Bu özellikleri ile her iki ilacın beraber verildiği gruplarda antioksidan etkide rölatif bir azalma tespit edildi, bu durum kimyasal olarak her iki ajanın etkileşime girmek için yarıştığını düşündürür. Melatonin ve NAC grupları arasında anlamlı fark gözlemlenmedi. Melatoninin bazı çalışmalarda belirtildiği gibi NAC'a antioksidan özellikleri açısından üstünlüğü bizim çalışmamızda saptanmadı. Çalışma süresinin uzatılması veya MDA ve NO gibi oksidatif parametrelere antioksidan parametreler (süperoksit dismutaz, glutasyon vs. ölçümü) eklenmesi ile her iki maddenin SOR'a karşı olan etkinliklerinin karşılaştırılması ve farkların saptanması imkanı bulunacaktır. Çalışma ve kontrol gruplarında intraselüler kolestaz, safra infarktları, duktus proliferasyonu gözlemlendi (resim 7). Gerek NO, gerek MDA ve histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde tüm tedavi grupları arasında eşit sayılabilecek düzeyler elde edildi. Sham grupları ile erken sakrifikasyon grupları, tedavi verilen ratlarla karşılaştırıldığında özellikle antioksidan etkinliğin ve doku hasarının ancak erken sakrifikasyon grubu değerlerine ulaşıldığı, sham grubu ile anlamlı farklılıklar olduğu saptandı. Bu durumun antioksidan tedaviye ilk cerrahi stres esnasında veya öncesinde başlandığında gerek biyokimyasal parametrelerde, gerekse oksidatif ve histopatolojik parametreler ışığında daha başarılı sonuçlar elde edileceği sonucuna varılmıştır.

SONUÇLAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya DEKAM’da gerçekleştirilen, “Sıçanlarda oluşturulan Tıkanma Sarılığında Melatonin ve N–Asetilsisteinin Etkilerinin Karşılaştırılması” adlı çalışmamızın sonuçları şu şekilde sıralanabilir:

Tıkanma sarılığının önemli göstergelerinden biri olan total bilirubin düzeyleri karşılaştırıldığında, hem melatonin hem de NAC verilen gruplarda, kontrol grubundan daha düşük sonuçlar elde edildi. Melatonin ve NAC grupları arasında fark saptanmadı, her iki ilacın birlikte verilemesinde istatistiksel olarak diğer çalışma gruplarına üstünlüğü yoktu.

Biyokimyasal olarak serum AST, ALT, BUN, kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını gösteren bu parametrelerin sonuçları, tıkanma sarılığında melatonin ve NAC’ın olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Ancak her iki ajan arasında fark saptanmadı. Her iki ilacın birlikte verilmesinin sinerji yaratmadığı görüldü.

Tıkanma sarılığı sonrası gelişen iskemi–reperfüzyon hasarına bağlı lipid peroksidasyonunu gösteren hepatik ve renal MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, melatonin ve NAC’ın hepatik ve renal MDA düzeylerini SOR azalmasına yol açarak hasarı azalttığı düşünülmüştür. Tıkanma sarılığı sonrası gelişen iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı oluşan nitrik oksit seviyeleri karşılaştırıldığında, melatonin ve NAC’ın

hepatik ve renal NO düzeylerini büyük olasılıkla SOR azalmasına yol açarak hasarı azalttığı düşünülmüştür.

Tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarı açısından safra infarktlarını ve portal alanda gelişen nekrozu inceleyen skorlama sistemi hazırlanmış ve gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır. Tıkanma sarılığının etkisiyle karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler melatonin ve NAC etkisiyle azalmakta ve her iki ajanın karaciğer üzerine hücrel hasarın daha hızlı düzelmesinde rol oynadığını düşündürmektedir. Erken sakrifikasyon grubu olarak tanımlanan tedavi öncesi örneklenen ratlarda uzayan kolestaz ile gelişen yoğun safra kanal proliferasyonu, portal alan nekrozu kontrol grubu ratlarında görülen hasar kadar yoğun değildi.

Tıkanma sarılığına bağlı gelişen böbrek hasarı açısından granuloovokular dejenerasyon ve renal tübüllerde genişlik bir skorlama sistemi (8) ile gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır. Karaciğerdeki gruplar arasında ki gibi histopatolojik bulgular benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol grubu ile melatonin ve Nasetilsistein verilen gruplarda hasar azalmış, ancak iki ajan arasında farklılık tespit edilmemiştir. Her iki ilacın birlikte kullanılmasının herhangi bir sinerjistik etkisinin olmadığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. 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; 20:351–359.
2. Schwartz SI. Liver. In: Sclaford TD, Curley SA (Eds). *Principles of Surgery* (8th Int. ed.). McGraw-Hill, Philadelphia 2004; pp 1139–1187.
3. Montilla P, Cruz A, Padillo FJ, et al. Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra-hepatic bile duct ligation in rats. *J. Pineal Research.* 2001; 31:138–144.
4. Küçük C, Sözüer EM, İkizceli İ. Role of oxygen free radical scavengers in acute renal failure complicating obstructive jaundice. *Eur. Surg. Res.* 2003; 35:143–47.
5. Halim AB. Biochemical effect of antioxidants on lipid and liver function in experimentally-induced liver damage. *Ann Clin Biochem.* 1997; 34: 656–663.
6. Casini A, Ceni E, Sazano R, et al. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide *Hepatology* 1997; 25:200–205.
7. Shimizu I, Ma YR, Mizobuchi Y, et al. Effects of sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 1999; 29:149–60.
8. Chen C, Shieh S, Tsao HC, et al. Protective effect of melatonin on renal injury of rats induced by bile ligation. *Digestive Diseases and Science.* 2001; 46: 927–931.
9. Bülbüller N, Akkuş MA, Çetinkaya Z. Effects of melatonin and lactulose on the liver kidneys in rats with obstructive jaundice. *Pediatr Surg Int.* 2002; 18: 678–680.
10. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, et al. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J.* 1993; 1:57–60.

11. Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ, et al. The pineal hormone melatonin inhibits DNA adduct formation induced by the chemical carcinogen role in vivo. *Cancer Lett* 1993; 70:63–71.
12. Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, et al. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon- α . *Toxicol Appl. Pharmacol.* 2001; 175:130–139.
13. Guyton AC. Liver. In: Guyton AC (Ed.). *Textbook of medical physiology* (7th ed.). WB Saunders, Philadelphia 1986; pp 1203–1208.
14. Keppens S, Vandekerckhove A, Moshage H, Yap SH, Aerts R, Wulf HD. Regulation of glycogen phosphorylase activity in isolated human hepatocytes. *Hepatology* 1993; 17:610–614.
15. Kim U Kahng, Joel J Roslyn. Jaundice. In: Zinner MJ, SI Schwartz, Ellis H. (Eds) *Maingot's Abdominal Operations* (10th ed) Stamford, USA; 1997; pp 315–335.
16. Reichen J. Physiology of bile formation and of the motility of the biliary tree. In: Bircher J, Benhamou J-P (Eds). *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. (2th ed) Oxford, 1999; pp 77–85.
17. Roy-Chowdhury J, Jansen Peter LM. Bilirubin metabolism and its disorders. In: Zakim D, Boyer TB (Eds). *A Textbook of Liver Disease: Hepatology* (3th ed) Philadelphia, 1996; pp 323–345.
18. Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, et al. Factors affecting mortality and morbidity after surgery for obstructive jaundice (letter). *Gut* 1984; 225: 104.
19. Scott-Conner CE, Grogan JB. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Res* 1994; 57:316–336.
20. James S Doley. Extrahepatic biliary obstruction: systemic effects, diagnosis, management. In: Bircher J, Benhamou J-P (Eds). *Oxford Textbook of Clinical Hepatology* (2th ed) Oxford:1999; pp 1581–1590.
21. Alican F. *Cerrahi Dersleri*, 3. Kitap. Alfa Matbaacılık, İstanbul 1996, ss 1–305.

22. Özkan K, Özen N, Malzagirt Z. Genel cerrahi, Hacettepe Taş Kitapçılık, Ankara. 1996; ss 383–417.
23. 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.
24. Huang T, Bass JA, Williams RD. The significance of biliary pressure in cholangitis. *Arch Surg* 1969; 98:629–632.
25. Raper SE, Barker ME, Jones AL, et al. Anatomic correlates of bacterial cholangiovenous reflux. *Surgery* 1989; 105:352–359.
26. Dunn CW, Horton JW, Megison SM, et al. Contribution of portal systemic shunt to Kupffer cell dysfunction in obstructive jaundice. *J Surg Res* 1991; 50:234–239.
27. Strasberg SM, Dorn BC, Small DM, et al. The effect of biliary tract pressure on bile flow, bile salt secretion, and bile salt synthesis in the primate. *Surgery* 1971; 70:140–146.
28. Muriel P, Suarez OR, Gonzalez P, et al. Protective effect of S-adenosyl-L-methionine on liver damage induced by biliary obstruction in rats: a histological, ultrastructural and biochemical approach. *J Hepatol* 1994; 21:95–102.
29. Krahenbuhl S, Weber FL Jr. Decreased hepatic glycogen content and accelerated response to starvation in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 1991; 14:1189–1195.
30. Krahenbuhl S, Brass EP. Homeostasis and carnitine metabolism in rats with secondary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1991; 14:927–934.
31. Koyama K, Takagi Y, Ito K, et al. Experimental and clinical studies on the effect of biliary drainage in obstructive jaundice. *Am J Surg* 1981; 142:293–299.
32. Bolder U, Ton Nu HT, Schteingart CD, et al. Hepatocyte transport of bile acids and organic anions in endotoxemic rats: impaired uptake and secretion. *Gastroenterology* 1997; 112:214–225.

33. Menteş BB, Tatlıcıoğlu E, Akyol G, et al. Intestinal endotoxins as co-factors of liver injury in obstructive jaundice. *HPB Surg* 1996; 9:61–69.
34. Green RM, Beier D, Gollan JL. Regulation of hepatocyte bile salt transporters by endotoxin and inflammatory cytokines in rodents. *Gastroenterology* 1996; 111:193–198.
35. Berkow R. *The Merc Manual of Diagnosis and therapy* (14 th). Merc Sharp and Dhome Laboratories, USA 1982; pp 613–661
36. Aouad K, Calmus Y, Nordlinger B, et al. Immunosuppressive effects of endotoxins and bile acids in vivo in the rat. *Eur J Clin Invest* 1996; 26:45–48.
37. Owen JS. Extrahepatic cell membrane lipid abnormalities and cellular dysfunction in liver disease. *Drugs* 1990; 40:73–83.
38. Jones EA. Fatigue associated with chronic liver disease: a riddle wrapped in a mystery inside an enigma. *Hepatol* 1995; 22:1606–1608.
39. Shasha SM, Better OS, Chaimovitz C, et al. Haemodynamic studies in dogs with chronic bile-duct ligation. *Clin Sci Mol Med* 1976; 50:533–537.
40. Jacob G, Nassar N, Hayam G, et al. Cardiac function and responsiveness to beta-adrenoceptor agonists in rats with obstructive jaundice. *Am J Physiol* 1993; 265:314–320.
41. Tajuddin M, Tariq M, Bilgrami NL, et al. Biochemical and pathological changes in the heart following bile duct ligation. *Adv Myocardiol* 1980; 2:209–212.
42. Fogarty BJ, Parks RW, Rowlands BJ, et al. Renal dysfunction in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1995; 82:877–884.
43. Green J, Better OS. Systemic hypotension and renal failure in obstructive jaundice-mechanistic and therapeutic aspects. *J Am Societ Nephrolog* 1995; 5:1853–1871.
44. Alon U, Berant M, Mordechovitz D, et al. Effect of isolated cholaemia on systemic haemodynamics and kidney function in conscious dogs. *Clin Sci* 1982; 63:59–64.

45. Martinez-Rodenas F, Oms LM, Carulla X, et al. Measurement of body water compartments after ligation of the common bile duct in the rabbit. *Br J Surg* 1989; 76:461–464.
46. Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, et al. Upper gastro- intestinal bleeding. A significant complication after surgery for relief of obstructive jaundice. *Ann Surg* 1984; 199:271–275.
47. Freund H, James JH, Brenner W, et al. Plasma amino acid analysis in the differential diagnosis of jaundice. *Am J Surg* 1980; 139:142–146.
48. Starnes HF, Conti PS, Warren RS, et al. Altered peripheral amino acid uptake in obstructive jaundice. *J Surg Res* 1987; 42:383–93.
49. Armstrong CP, Dixon JM, Duffy SW, et al. Wound healing in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1984; 71:267–70.
50. Stieger B, Meier PJ, Landmann L. Effect of obstructive cholestasis on membrane traffic and domain-specific expression of plasma membrane proteins in rat liver parenchymal cells [published erratum appears in *Hepatology* 1994; 20:772] *Hepatology* 1994; 20:201–212.
51. Hay JE, Lindor KD, Wiesner RH, et al. The metabolic bone disease of primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1991; 14:257–261.
52. Kenneth BB, Bruce NA. The free radical theory of aging matures. *Physiol Review* 1988; 78:547–581.
53. Elstner EF. Oxygen radicals: Biochemical basis for their efficiency. *Klin Wochenschr* 1991; 69:949–956.
54. Reilly PM, Schiller HJ, Bulker GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161:488–489.
55. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları Konya*. 1995. Sağlık Dizisi 5:38.
56. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leucocytes dependent inflammatory reactions. *Ann J Pathol* 1982; 107:397–408.

57. Tanırgan G, Koldaş M, Uras F. Serbest radikaller: Serbest Radikal Biokimyasına Giriş. SS. Haseki Tıp Bülteni Aralık 1994; 3:304–308.
58. Özdemir G. Reaktif oksijen partikülleri: Oksidan moleküller, serbest radikaller. Roche BES, 1993.
59. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions J Biol Chem. 1970; 245:1374–1382.
60. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. Br J Sug 1994; 81:637–47.
61. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. Ann Rev Biochem 1989; 58:79–110.
62. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of referange range. Clin Chim Acta. 1991; 196:143–152.
63. Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. Klinik Gelişim 1995; 8:3906–3911.
64. Bleau G, Giasson C, Brunette I.: Measurement of hydrogen peroxide in biological samples. Anal Biochem 1998; 263:13–17.
65. Reilly PM, Schiller HJ, Bulker GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and reactive oxygen metabolites. Am J Surg 1991; 161:488–489.
66. 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; 51:245–251.
67. Muriel P, Suarez OR. Role of lipid peroxidation in biliary obstruction in the rat. J Appl Toxicol 1994; 14:423–426.
68. Li W, Chan ACW, Lau JYW, 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; 19:160–165.

69. Muriel P, Suarez OR, Gonzalez P, et al. Protective effect of S-adenosyl-l-methionine on liver damage induced by biliary obstruction in rats: a histological, ultrastructural and biochemical approach. *J Hepatol* 1994; 21:95–102.
70. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, et al. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc.* 1958; 80:2587–2590.
71. Pangerl B, Pangerl A, Reiter RJ. Circadian variation of adrenergic receptors in the mammalian gland: a review. *J Neural Transm Gen Sect* 1990; 81:17–29.
72. Ballı E. Melatoninin Fonksiyonları. *Mersin Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi.* 2003; 4:380–385.
73. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, et al. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. *Newyork Acedemy of Science Annals.* 2000; 917:376–386.
74. Lynch HC, Wurtman RJ, Moskowitz MA, et al. Daily rhythm in human urinary melatonin. *Science* 1975; 187:169–171.
75. Iguchi H, Kato KI, Ibayashi Y. Melatonin serum levels and metabolic clearance in rate patientswith liver cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 5:1025–1027.
76. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm. Metab. Res.* 1997; 29:363–372.
77. Stankov B, Fraschim, Reiter RJ. Melatonin bindings sites in the central nervous system. *Brain Res Brain Rev.* 1991; 16:245–256.
78. Yie SM, Niles LP, Younglai EV. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:1747–1749.
79. Lee PPN, Pang SF. Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. *Biol Signals.* 1003; 2:181–193.
80. Wiswanathan M, Laitinen JT, Saavedra JM. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1990; 87:6200–6204.

81. Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, et al. Effects of melatonin on human mood and performance. *Brain Research*. 1984, 323:201–207.
82. Maestroni GJM. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res*. 1993; 14:1–10.
83. Maestroni GJM, Covacci V, Conti AA. Hemopoietic rescue via T-cell-dependent endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induced by pineal neurohormone melatonin in tumor-bearing mice. *Cancer Res* 1994; 5:2429–2432.
84. Gonzales-Haba MG, Garcia-Maurino S, Calvo JR, et al. High affinity binding of melatonin by human circulating T lymphocytes (CDT+). *Faser J* 1995; 9:1331–1335.
85. Kauppilla A, Kivela A, Pakarinen A, et al. Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:823–828.
86. Van Coevorden A, Mockel J, Laurent E, et al. Neuroendocrine rhythms and sleep in aging men. *Am J Physiol* 1991; 260:651–661.
87. Tamarkin L, Cohen M, Roselle D, et al. Melatonin inhibition and pinelaectomy enchancement of 7,12–demethyl–benz(a)anrhacenc–induced mammary tumors in rat. *Cancer Res*. 1981; 41:4432–4436.
88. Tamarkin L, Danforth D, Lichter A, et al. Decresed nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science* 1982; 216:1003–1005.
89. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, et al. Molecular mechanisms of N–actylysteine actions. *Cell Mol. Life Science* 2003; 60:6–20.
90. Dülger H, Durmuş A, Sezgi C. KOAH akut atak tedavisinde antioksidan olarak N–asetilsistein’in etkinliği *Van Tıp Dergisi*. 2002; 9:91–94.

91. Grinberg L, Fibach E, Amer J, et al. N-acetylcystein amide, a novel cell-permeating thiol, restores cellular glutathione and protects human red blood cells from oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*. 2005; 38:136–145.
92. Kelly GS. Clinical Applications of N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*. 1998; 3:114–127.
93. Sener G, Tosun O, Sehirli Ö, et al. Melatonin and n-acetylcystein have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. *Life Science*. 2003; 72:2707–2718.
94. Shaikh ZA, Vu TT, Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1999; 154:256–263.
95. Zaragoza A, Diez-Fernandez C, Alvarez AM, et al. Mitochondrial involvement in cocaine-treated rat hepatocytes: effect of N-acetylcystein and deferoxamine. *Br J Pharmacol*. 2001; 132:1063–1070.
96. Atmaca G. Sarımsağın ve Tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri. *Trakya Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*. 2003; 20:54–60.
97. Castaing D, Houssin D, Bismuth H. *Hepatic and Portal Surgery in Rat*. Paris:Masson, 1980; pp 20–38.
98. Cameron GR, Prasad LBM. Recovery from biliary obstruction after spontaneous restoration of obstructed common bile duct. *J Pathol Bacteriol* 1960; 80:127–131.
99. Okhawa H, Ohishu N, Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissues by TBA reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95:351–358.
100. Rege Rv. Adverse effect of biliary obstruction: Implication for treatment of patients with obstructive jaundice. *AJR* 1995; 164:287–293.
101. Clements WDB, Halliday MI, McCaugie M. Effect of extrahepatic obstructive jaundice on Kupfer cell clearance capacity. *Arch Surg*. 1993; 128:200–205.

102. Deitch EA, Sitting K, Li M, et al. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from gut. *Am J Surg* 1990; 159:79–84.
103. Bomzon A. Bile acids, oxidative stress and renal function in biliary obstruction *Semin Nephro.* 1997; 17: 549–562 (Review).
104. Inan M, Sayek I, Tel BC. Role of endotoxin and nitric oxide in pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. *B J Surg.* 1997; 84: 738–747.
105. Alptekin N, Mehmetçik G, Uysal M, et al. Evidence for oxidative stress in the hepatic mitochondria of bile duct ligated rats. *Pharmacol Res* 1997; 36:243–247.
106. Cotran RS, Kumar V, Collis T (Eds). *Robbins Pathologic Basis Disease* (6th ed). WB Saunders Company, Philadelphia 1999; pp 100–101.
107. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of art. *Am J Med.* 1991; 91:2–7.
108. Kılınç K. Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biokimya Dergisi* 1985; 2:59–89.
109. Cruz A, Padillo FJ, Tunez I. Melatonin protects against renal oxidative stress after obstructive jaundice in rats. *Eur J Pharmacol* 425; (2001):135–139.
110. Eşrefoğlu M, Gül M, Emre MH. Protective effect of low dose of melatonin against cholestatic oxidative stress after common bile duct ligation in rats. *World J Gastroenterol.* 2005; 11:1951–1956.
111. Andreadau I, Ilodromitis EK, Mikros E, et al. Melatonin does not prevent the protection of ischemic preconditioning in vivo despite its antioxidant effect against oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37:500–510.
112. Özgüner MF, Serel TA, Delibaş N. The effect of melatonin on shock wave induced renal damage. *East J Med* 1998; 3:48–50.
113. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda Böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarında N-asetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10: 151–155.

114. Skrzydlewska E, Farbiszewski R. Protective effect of N-acetylcysteine on reduced glutathione, reduced glutathione-related enzymes and lipid peroxidation in methanol intoxication. *Drug and Alcohol Dependence*. 1999; 57:61–67.
115. Demir S, Inal-Erden M. Pentoxifylline and N-acetylcysteine in hepatic ischemia/reperfusion injury *Clinica Chimica Acta* 1998; 275:127–135.
116. Çağlıküleğçi M, Dirlik M, Pata C. Effect of N-acetylcysteine on blood and tissue lipid peroxidation in lipopolysaccharide-Induced obstructive jaundice. *J Invest Surg*. 2006; 19: 175–184.
117. Tsai LY, Tsai SM, Lee KT, et al. Levels of plasma lipid peroxides before and after choledocolithotomy in patients with obstructive jaundice. *Sangyo Ika Daigaku Zasshi* 1992; 14:261–269 (abstract).
118. Aykaç G. The hepatic lipid peroxidation, copper and fibrosis in cholestatic rats. *Pharmacol Res*. 1989; 21:701–706.

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Mehmet Fatih EKİCİ'nin Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı "Sıçanlarda Oluşturulan Tıkanma Sarılığında Melatonin ve N-Asetilsisteinin Etkilerinin Karşılaştırılması " adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 11.1.07/2007

		imza
Başkan	: Prof. Dr. Yücel Arıtaç	
Üye	: Prof. Dr. Tahir Batıroğlu	
Üye	: Prof. Dr. Erdem M. Sözen	
Üye	: Doç. Dr. Can Küçük	
Üye	: Yard. Doç. Dr. Tahir Arıtaç	