

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL TIKANMA SARILIĞI MODELİNDE  
İLOPROSTUN OKSİDATİF HASAR VE KARACİĞER  
HİSTOPATOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Onur Bayraktar**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. A. Ahat Andican**

**İSTANBUL – 2010**

## ÖNSÖZ

Çoğunlukla safra yolları taşları, selim darlıkları ya da tümörlerinin neden olduğu tıkanma sarılığı için ülkemizde hidatik hastalık da önemli etkenlerdendir. Deneysel ve klinik çalışmalar, tıkanma sarılığında hepatik ve intestinal hasarın ilerlemesinde oksidatif stresin kilit rol oynadığını ortaya koymuştur. Kolestazın yarattığı çoklu organ hasarları ile bu hasarlara neden olan oksidatif hasar ürünlerini önlemeye yönelik birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen klinik kullanımda olan uygulama ya da ilaç bulunmamaktadır ve ekstrahepatik safra yolu tıkanıklığına bağlı sarılığı olan hastalarda, ameliyat sonrası komplikasyonlar ve hatta ölüm halen yüksek oranda görülmektedir.

Bu çalışmada; antioksidan ve doku koruyucu etkileri gösterilmiş doğal prostasiklinin, kimyasal olarak stabil bir analogu olan iloprostun, tıkanma sarılığında oksidan - antioksidan sistem ve doku histopatolojisine yapabileceği etkiler incelenmiştir.

Cerrahi eğitimimde emeği geçen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ertuğrul Göksoy, Tez Danışmanım Prof. Dr. A. Ahat Andican ve tüm hocalarıma, tezimin hazırlanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Gülnur Andican'a, Prof. Dr. Sibel Erdamar'a, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan Çetin Karaca'ya şükranlarımı sunarım.

Dr. Onur BAYRAKTAR

Bu tez İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin 4088 numaralı projesiyle desteklenmiştir. Katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÖZ.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SIÇAN KARACİĞER ve SAFRA YOLLARININ ANATOMİSİ .....	3
2.2. SIÇAN KARACİĞER ve SAFRA YOLLARININ HİSTOLOJİSİ .....	4
2.3. SAFRA FİZYOLOJİSİ.....	5
2.4. SARILIĞIN SINIFLANDIRILMASI.....	8
2.5. KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ.....	10
2.6. TIKANMA SARILIĞI VE OKSİDATİF STRES .....	11
2.7. ANTİOKSİDANLAR.....	15
2.8. İLOPROST .....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
4. BULGULAR .....	22
5. TARTIŞMA.....	24
6. SONUÇ.....	28
7. KAYNAKLAR.....	29

# ÖZ

## Giriş

Safra akımının taş, selim darlıklar ya da tümörler gibi etkenlerle kısmen veya tamamen engellenmesi tıkanma sarılığına neden olur. Safra asitlerinin yaptığı hasara bağlı serbest oksijen radikallerinin salınımı ve takiben kupfer hücreleri ve nötrofillerin olaya müdahalesi ile sonuçlanan klinik tablo, sadece karaciğere sınırlı kalmayıp sistemik etkileri ile çoklu organ yetersizliğine varan patolojilere neden olabilmektedir. Kolestaz ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, kolestazın yol açtığı oksidatif hasarı engelleyen, geriye döndüren bir uygulama ya da ilaç klinik kullanımında bulunmamaktadır.

## Amaç

Bu çalışmada; antioksidan ve doku koruyucu etkileri gösterilmiş doğal prostasiklinin, kimyasal olarak stabil bir analogu olan iloprostun, tıkanma sarılığında oksidan - antioksidan sistem ve doku histopatolojisine yapabileceği pozitif etki ile bu hasta popülasyonu için tedavi protokolüne sağlanabilecek katkıyı değerlendirmek amaçlanmıştır.

## Yöntem ve Gereç

Deney hayvanları etik kurulunun onayı alınarak İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilen bu çalışmada, 32 adet Wistar - Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı: sham grubu (S) (n = 8), sham + iloprost uygulanan (10 gün boyunca, 2mg/kg) (S + I) (n = 8), koledok ligasyon yapılan grup (TS) (n = 8), koledok ligasyonu sonrası iloprost uygulanan (TS + I) (n = 8). Onuncu gün sonunda sakrifiye edilen sıçanlardan kanda; doku yıkım ürünleri olan izoprostan, protein karbonil, lipid hidroperoksid, 8-OHdG ölçümü ve karaciğer dokusunda ise kolestatik hasar değerlendirilmesi yapıldı.

## Bulgular

Tıkanma sarılığı oluşturulan ve iloprost uygulanan grupta (TS + iloprost) oksidatif hasar ürünleri 8-OHdG, protein karbonil ve lipid hidroperoksid miktarları, tıkanma sarılığı grubuna (TS) göre anlamlı olarak düşük ölçülmüştür. TS + iloprost grubunun histopatolojik değerlendirmesinde ise TS grubuna göre belirgin farklılık saptanmamıştır.

## Sonuç

Sistemik iloprost uygulananın, tıkanma sarılığı neticesinde gelişen oksidatif hasara bağlı komplikasyonları önlemede etkili olabileceği düşünülmüştür.

# ABSTRACT

## Introduction

Obstructive jaundice is caused due to blockage of bile flow by factors such as bile stones, benign strictures and tumors. The effect of this clinical status is not limited to the liver. Depending on the damage of bile acids, the release of free oxygen radicals and activation of kupfer cells and neutrophils may cause pathologies up to multiorgan failure via its systemic effects. Although many studies about obstructive jaundice have been performed, there are no drugs or clinical practice preventing oxidative damage caused by cholestasis.

## Purpose

The aim of this study is to evaluate the possible positive effects of iloprost, a chemically stabil analogue of natural prostacyclin, of which was shown antioxidant and tissue protective potency, in obstructive jaundice.

## Material and Method

After approval from the ethics committee, this study was performed in the Experimental Animal Research Laboratory of Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty. Thirty-two Wistar - Albino rats were divided into four weight-matched groups: sham group (*S*) ( $n = 8$ ); sham + iloprost (2mg/kg, intraperitoneal, 10 days) administrated group (*S+I*) ( $n = 8$ ); main bile duct ligated group (*BDL*) ( $n = 8$ ); main bile duct ligated + iloprost administered group (*BDL + iloprost*) ( $n = 8$ ). The rats were sacrificed on 10th day by decapitation, blood samples were collected by intracardiac puncture to analyse the tissue damage products; isotropane, protein carbonyl, 8-OHdG, lipid hydroperoxide, and liver tissues were extracted to evaluate cholestatic damage.

## Results

The levels of oxidative damage products, 8-OHdG, protein carbonyl and lipid hydroperoxide were assessed significantly low in *BDL + iloprost* group than *BDL* group. In histopathological examination, there were no differences between *BDL* and *BDL + iloprost* group.

## Conclusions

Iloprost treatment can be effective for preventing oxidative damage related complications due to obstructive jaundice.

# 1. GİRİŞ

Tıkanma sarılığı, safra akımının kesilmesi ve safra asitlerinin karaciğerde birikmesi sonucu oluşan klinik durumdur. Safra yollarında tıkanıklık sonucu organizmada bazı patolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Retiküloendotelial sistem fonksiyonlarında bozulma, immün sistemin baskılanması, intestinal mukozanın yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler, bağırsak duvarında oksidatif hasar, safra tuzlarının enterohepatik dolaşımının bozulması dolayısıyla antibakteriyel ve deterjan etkisinin engellenmesi, bakteriyemi ve endotoksemi bunlardan başlıcalarıdır (1,2). Bunun yanında karaciğerde staz sonucu hepatositlerde dejenerasyon, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, kanama pıhtılaşma sürelerinde uzama, kanama diyatezi riskinin artması, bilirubin yüksekliğine bağlı mental değişiklikler meydana gelir.

Tıkanma sarılığı olan hastalara uygulanan tanı ve tedavi amaçlı girişimsel işlemler septik ve renal komplikasyonlar, hatta ölüme kadar uzanan ciddi riskler taşır (3). Sistemik endotoksemi bu komplikasyonların oluşmasında anahtar rol oynamakta ve bozulmuş intestinal bariyer fonksiyonu, endotoksinlerin intestinal lümeninden kaçışına izin vermektedir (4). Aynı zamanda, hidrofobik safra asitlerinin karaciğerde birikimi, endotoksemi ve ardından gelişen sistemik inflamatuvar yanıt ile şiddeti artan hepatotoksisite ve kolestatik karaciğer hasarının ana nedenlerindedir (5,6,7). Deneysel ve klinik çalışmalar, tıkanma sarılığında hepatik ve intestinal hasarın ilerlemesinde oksidatif stresin kilit rol oynadığını ortaya koymuştur (7,8,9,10,11). Oksidatif stres, radikal oluşum ve temizlenmesi arasındaki fizyolojik dengenin oluşum lehine bozulması ile gelişir. Sonuç olarak oksidasyon ürünlerinin üretiminin artışı ile sonuçlanan klinik tablo sadece karaciğere sınırlı kalmayıp sistemik etkileri ile uzak hasarlarına da neden olmaktadır. Oksidatif hasar sonucu açığa çıkan mediatörler, serbest radikallerin miktarını arttırarak koagülasyon kaskadının aktivasyonu, mikrosirkülasyonun bozulması ve çoklu organ yetmezliğine giden klinik tablolara yol açmaktadır (12).

Kolestazın yarattığı organ hasarları ile bu hasarlara neden olan oksidatif hasar ürünlerini önlemeye yönelik birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen klinik kullanımda olan uygulama ya da ilaç bulunmamaktadır.

İloprost, primer olarak endotel hücresi tarafından arasidonik asitten sentezlenen epoprostenolun [prostaglandin (PG) I<sub>2</sub>, prostasiklin] sentetik karboksilin analogudur.

İloprost vazodilatör, antiplatelet ve sitoprotektif etkileri dışında fibrinolitik aktivite ve kırmızı küre elastikiyetinde artış, damar düz kas proliferasyonu, lökosit-endotel adezyon molekülleri yüzey ekspresyonu ve sitokin (TNF, IL-1, IL-6) oluşumunda azalma oluşturarak mikrodolaşım fonksiyonunda koruma sağlar (13,14). Literatürde tıkanma sarılığı modelinde daha önce uygulanılmamış olan iloprost, oksidan - antioksidan sistem ve doku histopatolojisine yapabileceği pozitif etki ile tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarını, serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı geciktirerek veya önleyerek tedavi protokolüne anlamlı katkı sağlayabilir.

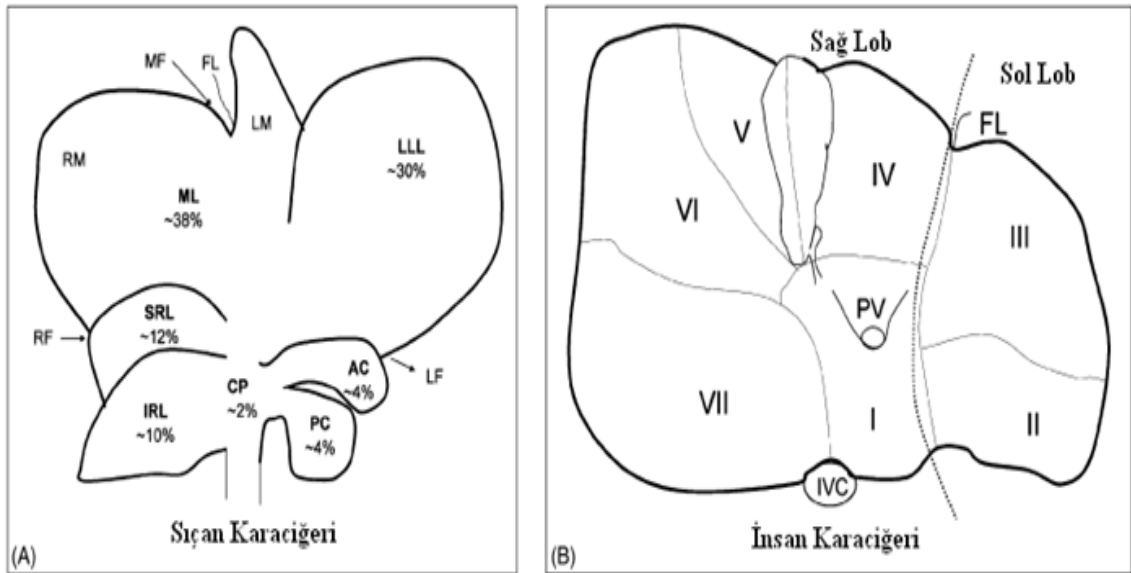
Bu çalışmada deneysel tıkanma sarılığı oluşturulacak sıçanlarda sistemik iloprost uygulamasının etkileri; oksidatif hasar parametreleri ve karaciğer histopatolojisi incelenerek literatür eşliğinde değerlendirilecektir.



## 2. GENEL BİLGİLER

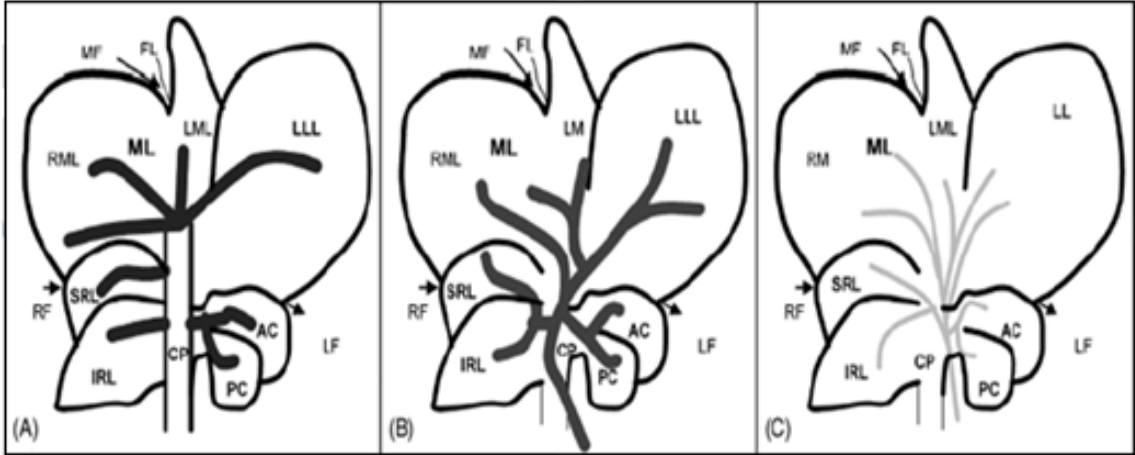
### 2.1. KARACİĞER ve SAFRA YOLLARININ ANATOMİSİ

Sıçan karaciğeri, diğer memelilerde olduğu gibi multilobuledir (15). Yetişkin bir insanda karaciğer kütlesi, toplam vücut ağırlığının yaklaşık %2.5' ini oluştururken, sıçanda bu oran %5 olup ortalama 250-300 gramdır. Sıçan karaciğerinin superior, inferior ve posterior olmak üzere 3 yüzeyi vardır. İnsan karaciğerine benzer şekilde, sıçan karaciğeri diyaframa ve karın ön duvarına 5 adet ligaman ile bağlıdır: falsiform, koroner ve round ligamanlar ile iki adet lateral ligaman. Ayrıca hepatogastrik ligaman ile mide küçük kurvaturuna, hepatoduodenal ligaman ile duodenuma tutunur. Sıçan karaciğeri 4 ana lobdan oluşur ve insan karaciğerinde olduğu gibi portal dallardan beslenmesine göre isimlendirilir (15). Median lob, hepatik ligamana ait olan derin bir longitudinal fissür ile sağ ve sol santral segmentlere ayrılır. Sağ santral segmentin hemen arkasında, transvers bir fissürle superior ve inferior olmak üzere iki küçük segmente ayrılan sağ lateral lob yer alır. Sol lateral lob, sol santral segmentin hemen arkasında yer alır. En derin planda anterior ve posterior segmentleri bulunan kaudat lob yer alır (Şekil 1).



Şekil 1. A ve B. Sıçan ve insan karaciğerinin viseral yüzleri (CP:kaudat proses, AC:anterior kaudat lob, PC:posterior kaudat lob, SRL:superior sağ lateral lob, IRL:inferior sağ lateral lob, ML:median lob, RML:medial lobun sağ parçası, LML:medial lobun sol parçası, LLL:sol lateral lob, MF:median fissür, LF:sol fissür, RF:sağ fissür, FL:falsiform ligaman, PV:portal ven, IVC:inferior vena kava) (Martins PNA, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in rat. Liver Int 2007; 27:pp.384-392.)

Karaciğer vasküler yapısını oluşturan ana damarların kökleri ve seyirleri insana benzerdir. Bununla birlikte, tanımlanmış birçok vasküler varyasyon mevcuttur (Şekil 2). Sıçanlarda safra kesesi bulunmaz, çeşitli lob ve segmentlerden çıkan safra kanalcıkları hilus civarında birleşerek ana safra kanalı olan koledok kanalını meydana getirirler.



Şekil 2. Sıçan (A) hepatik venler, (B) portal ven, (C) biliyer sisteminin en sık görülen anatomik yapısı. Kısaltmalar şekil 1 deki gibidir. (Martins PNA, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in rat. Liver Int 2007; 27:pp.384-392.)

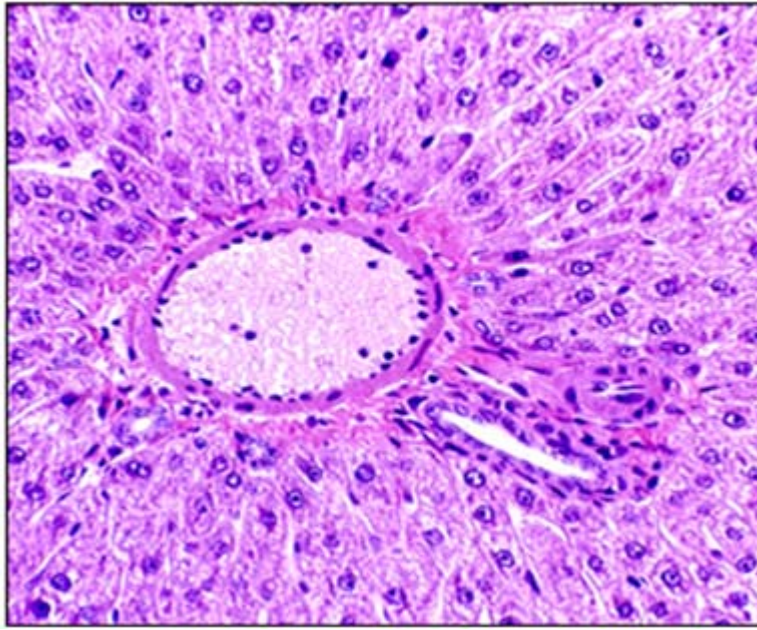
## 2.2. KARACİĞER ve SAFRA YOLLARININ HİSTOLOJİSİ

Karaciğerin fonksiyonel ünitesi birkaç milimetre uzunluğundaki lobüldür. Lobüller, hepatik venlere ve oradan da vena kavaya boşalan bir santral ven etrafındaki yapılardan oluşur. Lobülü, santral venden etrafa ışınal tarzda uzanan, 1-2 hücre kalınlığındaki hücresel plaklar oluşturur. Komşu hücreler arasında bulunan küçük safra kanalcıkları, komşu karaciğer lobüllerini ayıran fibröz bölmelerden kaynaklanan safra kanallarına dökülür. Bu bölmeler içinde bulunan portal venüllere kan, portal venden gelir. Kan, venüllerden plaklar arasında uzanan sinüzoidlere, oradan da santral vene dökülür. Böylece karaciğer hücreleri sürekli portal venöz akıma maruz kalırlar. Portal venüllerin dışında, hepatik arterioller de interlobuler septalarda bulunmaktadır. Bu arterioller, septal dokuların arteriyel kanını sağlarlar ve çoğu kez kanını doğrudan hepatik sinüzoidlere boşaltırlar.

Venöz sinüzoidlerin çevresinde iki çeşit hücre bulunur;

- Tipik endotel hücreleri,
- Kupfer hücreleri.

Doku makrofajları olan kandaki bakteriler ve yabancı molekülleri fagosite ederler. Venöz sinüzoidleri çevreleyen endotel hücrelerinde geniş porlar bulunur. Bu tabakanın altında, endotel hücreleri ile karaciğer hücreleri arasında *Disse Aralığı* adı verilen çok dar bir doku aralığı vardır. Endoteldeki büyük porlardan plazmadaki çeşitli maddeler, hatta plazma proteinleri Disse Aralığı'na serbestçe difüze olabilir. İnterlobuler septumlarda çok sayıda terminal lenfatik bulunur. Disse Aralığı doğrudan bu lenfatiklere bağlandığından, bu mesafedeki fazla sıvı lenfatikler ile uzaklaştırılır.



Resim 1. Sıçan karaciğerinin normal histolojik görünümü

### 2.3. KARACİĞER ve SAFRA FİZYOLOJİSİ

Karaciğer hücrelerinde yapılan safra, ekstrahepatik safra yolları ile safra kesesine gelmekte ve burada konsantrasyonu artırılarak gerektiğinde bağırsağa verilmektedir. Safra kanaliküllerine salgılanan safra, konjuge safra asidi tuzları, safra pigmentleri, kolesterol, lesitin, inorganik elektrolitler, az miktarda yağ asidi ve protein, su ve karaciğer metabolizmasının çeşitli ürünlerinin sudaki eriyiğidir. Safra tuzları karaciğerde kolesterolden sentez edilirler. Ana safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit, glisin ve taurin ile konjuge edilerek suda eriyebilirlikleri artırılır. Deoksikolik asit ve litokolik asit ise kolik asit ve kenodeoksikolik asitten bağırsak bakterilerince oluşturulurlar. Litokolik asit suda erimez ve dışkı ile atılır. Diğer safra

tuzları ise tekrar emilerek safraya katılırlar. Safra tuzları intestinal kanalda iki önemli görev yaparlar. İlk olarak, besindeki yağ partiküllerinin yüzey gerilimlerini azaltarak, küçük yağ damlacıklarına parçalanmasına, ve karışmasına yardım ederler. İkinci ve daha önemli olarak, safra tuzları, yağ asitleri, monogliserid, kolesterol ve diğer lipidlerin intestinal kanalda absorpsiyonuna yardım ederler. İntestinal kanalda safra bulunmadığı zaman, lipidlerin %40'ı feçesle kaybedilir ve bu şahıslarda lipidlerin kaybına bağlı metabolik bozukluklar gelişir. Bağırsağa geçmiş olan safra tuzlarının yaklaşık %94 kadarı, ileumun distal bölümünden aktif transportla geri emilir. Portal kana geçen safra tuzları böylece tekrar karaciğere döner. Safra tuzlarının bu dolaşımına enterohepatik dolaşım denir. Karaciğer tarafından sürekli olarak salgılan safra, normalde safra kesesinde depo edilerek gerektiğinde duodenuma akar. Günlük toplam safra sekresyonu 700-1400 ml, safra kesesinin maksimum hacmi ise, ancak 30-60 ml kadardır. Bununla beraber 12 saatlik safra salgısı kesede depo edilebilir. Çünkü su, NaCl ve öteki küçük elektrolitlerin çoğu, sürekli olarak safra kesesi mukozasından emilerek, safranın diğer maddelerini, safra tuzları, kolesterol, lesitin ve bilirubini konsantre eder (16,17). Safra kesesinin boşalması için iki temel koşul gereklidir:

1- Safranın koledok kanalından duodenuma akması için Oddi sfinkterinin gevşemesi,

2- Safra kesesinin kasılarak safranın koledok kanalına itilmesi.

Yemeklerden, özellikle de yağ içeriği yüksek bir yemekten sonra ince bağırsağın ilk bölümlerinden kolesistokinin denilen hormon salgınır. Kolesistokinin, safra kesesinde kontraksiyonlara neden olur. Vagal uyarı safra kesesinde zayıf kontraksiyonlar yapar. Safra kesesinin kasılması sonucu Oddi sfinkteri inhibe olur, duodenumda besin bulunması peristaltik dalgaların şiddetini artırır. Bu Oddi sfinkterinde de bir anlık gevşemeye neden olur ve safranın bağırsağa akması sağlanır. Açlıkta koledokun alt ucundaki ampuller sfinkter safra akımına belirli derecede direnç gösterir. Genellikle gevşemiş olan safra kesesi karaciğerden salınan safra ile dolar, ancak bu salınan safranın 1/2 -1/3 ünü oluşturur. Safra yollarında akımın olması için ekstrahepatik safra yolları basıncının intrahepatik safra yolları basıncından düşük olması gereklidir (16,17).

### **Bilirubin Metabolizması**

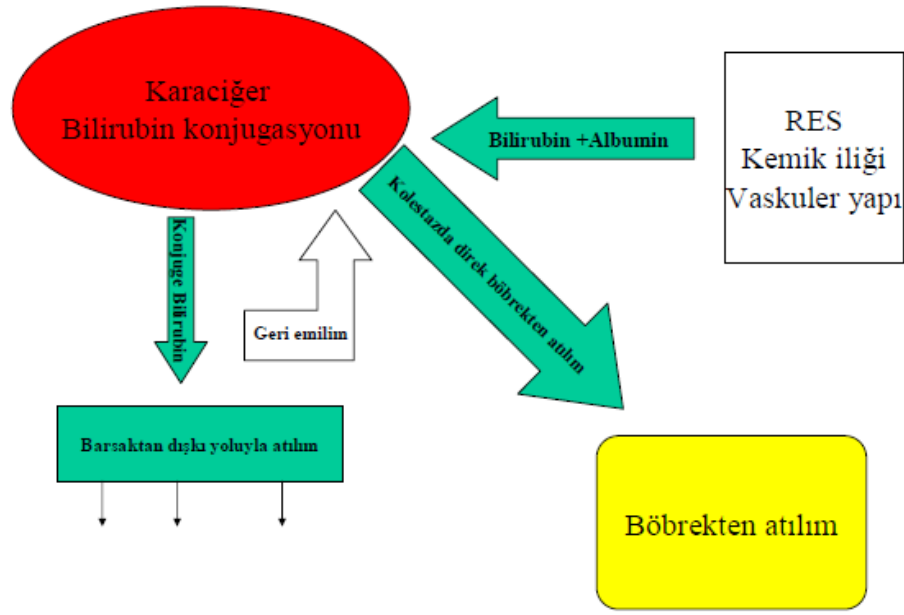
Normal serum bilirubin düzeyi 0.5-1.0 mg/dl arasındadır. Günde yaklaşık 4 mg/kg bilirubin yapılır. Bunun %80-85'i yaşlanmış eritrosit hücresi içindeki

hemoglobinin hem grubunun katabolizmasından kaynaklanır. Hem grubu retiküloendotelial sistemde parçalanarak biliverdine, bu da okside olarak suda erimez bir tetrapireol olan bilirubine dönüşür. Bilirubinün %15-20'si de kemik iliğinde olgunlaşmakta olan eritrosit hücrelerinin yıkımından ve sitokrom P-450 ve sitokrom-C gibi eritrosit kökenli hemoproteinlerin hem gruplarından oluşur (18).

Plazmaya salınan bilirubin, albumine bağlı olarak karaciğere taşınır. Karaciğerde bilirubinün üç evresi vardır:

a) Alım, b) Konjugasyon, c) Safra içine atılım

Non-konjuge bilirubin suda erimez ve safraya atılmaz. Ancak polar olmayan bu molekül yağdan zengin ortamda erir ve kolaylıkla kan-beyin engelinden ve plasentadan geçer. Bilirubin bir karbonhidrat olan glukuronik asitle bağlanarak suda çözünür özellik kazanır ve safraya atılabilir (Şekil 3). Karaciğerin endoplazmik retikulumunda UDP-glukuronil transferaz enziminin katalize ettiği bir işlemle bilirubin mono ve diglukuronidler oluşur. Konjuge bilirubinün safraya atılımının bozulduğu durumlarda pigment hepatositlerden plazmaya geri geçer. Konjuge bilirubin hem suda erir, hem de non-konjuge bilirubine oranla albumine daha gevşek bağlanır. Böylece plazma düzeyleri yükseldiğinde glomerüllerden kolaylıkla süzülür ve idrara geçer. Non-konjuge bilirubin glomerüllerden süzülmez ve idrarla atılamaz. Safra ile atılan konjuge bilirubin bağırsaktan geri emilmez, ancak bağırsaktaki bakterilerin etkisiyle ürobilinojen adı verilen renksiz tetrapireollere dönüştürülür. Ürobilinojenin yaklaşık %20'si geri emilerek enterohepatik dolaşıma katılır. Az bir bölümü de idrarla atılır. Dışkıdaki ürobilinojenin çoğu bağırsak bakterileri tarafından okside edilerek sterkobiline döner. Dışkının tipik rengini veren de bu maddedir (18, 19).



Şekil 3. Bilirubin metabolizması (Roy-Chowdhury J, Jansen Peter LM: Bilirubin metabolism and its disorders. In Zakim D, Boyer TB (Eds): A Textbook of Liver Disease: Hepatology. Philadelphia, 1996; pp 323–345.)

## 2.4. SARILIĞIN SINIFLANDIRILMASI

Sarılık skleraların, muköz membranların ve derinin serumda artan bilirubin nedeni ile sarı görülmesi durumudur. Sarılığın gözle seçilebilir olması için total bilirubin düzeyinin 3mg/dl' nin üzerinde olması gerekir. Sarılığa neden olan hastalıklar medikal ve cerrahi (tıkanma sarılığı) olmak üzere iki grupta değerlendirilebilir. Medikal sarılık, bilirubin üretim artışına, hepatositte bilirubin transport ve konjugasyon azalmasına ya da bilirubin ekskresyon bozukluğuna bağlı olabilir. Tıkanma sarılığında ise sorun bilirubinün bağırsaklara geçemeyişidir (20). Direkt ve indirekt hiperbilirubinemi nedenleri aşağıda listelenmiştir.

## **1- Non-konjuge (İndirekt) Hiperbilirubinemi**

### **A-Aşırı yapım**

- 1-Hemoliz (Sferositoz, otoimmün)
- 2-İnefektif eritropoez (Megaloblastik anemi)

### **B-Azalmış karaciğer alımı**

- 1-İlaçlar (Rifampisin, radyografik kontrast maddeler)
- 2-Yenidoğan sarılığı

### **C-Azalmış konjugasyon**

- 1-Gilbert sendromu
- 2-Crigger-Najjar Sendromu tip I ve II
- 3-Yenidoğan sarılığı
- 4-Hepatosellüler hastalık
- 5-İlaç inhibisyonu (Kloramfenikol)

## **2-Konjuge (Direkt) Hiperbilirubinemi**

### **A-Karaciğer salgılama bozukluğu**

- 1-Ailesel hastalıklar (Dubin-Johnson Sendromu, Rotor Sendromu, bening tekrarlayan kolestaz, gebelik sarılığı)
- 2-Karaciğer hücre hastalığı
- 3-İlaça bağlı kolestaz
- 4-Primer bilier siroz
- 5-Sepsis
- 6-Ameliyat sonrası sarılık

### **B-Eksrahepatik (mekanik) safra obstrüksiyonu**

- 1-Safra taşları
- 2-Periampuller tümörler
- 3-Safra yolları tümörleri
- 4-Safra yolu darlıkları (Kolesistektomi sonrası, primer sklerozan Kolanjit)
- 5-Kronik pankreatit
- 6-Doğumsal bozukluklar (Safra yolu atrezileri)
- 7-Paraziter hastalıklar (Ascariasis)

## 2.5. KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ

Karaciğer hastalıklarında tarama testleri ikiye ayrılır:

1. Biliyer tıkanıklık testleri; *serum bilirubin, alkalen fosfataz, 5'-nükleotidaz, gama glutamil transpeptidaz*

2. Hepatoselüler hasar testleri; *aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT)*

*Serum bilirubin seviyeleri*, bilirubin metabolizmasına etki eden bir çok süreç tarafından etkilenebilir. İndirekt hiperbilirubinemi artmış bilirubin üretiminin (örneğin hemoliz), ilaç etkisinin, ailesel enzimatik bozuklukların vb. yansıması olabilir. Direkt hiperbilirubinemi genellikle kolestaz ya da biliyer tıkanıklığın sonucu olarak ortaya çıkmakla birlikte bazı kalıtsal hastalıklarda ve hepatoselüler hastalıkta görülebilir.

AST, karaciğer, kalp, kas, böbrekte ve ALT, yalnızca karaciğerde bulunurlar. Bunlar, karaciğer hücrelerinde büyük miktarlarda bulunan hücre içi aminotransferaz enzimleridir. Karaciğer hücrelerinde hasar veya hücre ölümünden sonra dolaşıma salınırlar. Serum transaminazları karaciğer hasarına duyarlı ama spesifik olmayan testlerdir. Yüksek serum transaminaz aktivitesi hepatik nekrozun ağırlığını yansıtır. Normalin 15 katı kadar transaminaz yüksekliği safra kanal obstrüksiyonunda nadirdir ve hemen daima akut hepatosellüler nekrozu gösterir.

*Alkale fosfataz (ALP)* karaciğer, safra yolları, kemik, ince bağırsaklar, plasenta, böbrekler ve lökositlerde bulunur. Hepatobiliyer hastalıklarda ALP yükselmesi genellikle kolestaz ve safra yolu tıkanıklığı sonucu olmaktadır ve enzimin artmış üretimi nedeniyledir. Malign karaciğer hastalıklarında yükselebilir.

*Gama-glutamil transpeptidaz (GGT)* karaciğerle birlikte bir çok organda (böbrek, vezikula seminalis, dalak, pankreas, kalp, beyin) bulunur ve bu organları etkileyen hastalıklarda yükselebilir. Alkol alımı ile indüklenir ve safra yolu tıkanıklıklarında seviyesi yükselir.

*5-nükleotidaz* da karaciğerle birlikte birçok organda bulunur, fakat artmış seviyeleri kuvvetle karaciğer hastalığı lehinedir (16,17).



## 2.6. TIKANMA SARILIğI VE OKSİDATİF STRES

Tıkanma sarılığı, mekanik bir neden ile safra akımının kısmen ya da tamamen, geçici veya sürekli bir şekilde engellenmesidir. Tıkanmaya safra yolları taşları, selim darlıkları ya da tümörleri yol açabileceği gibi ülkemizde hidatik hastalık da önemli etkenlerdendir. Safra yolları tıkanıklığını tanımlamada kolaylık sağlayan bir sınıflama 1983 yılında Benjamin tarafından yapılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Benjamin sınıflamasına göre safra yollarında tıkanmaya neden olan hastalıklar (20).

<b>Tip I Tam tıkanma</b>	<b>Tip III Kronik tam olmayan tıkanma</b>
Tümörler (özellikle pankreas başı)	Koledok darlıkları (striktürleri)
Koledok kanalının bağlanması	Doğumsal
Kolanjiokarsinom	İatrojenik, travmatik
Karaciğer tümörleri (primer/metastatik)	Sklerozan kolanjit
<b>Tip II Aralıklı tıkanma</b>	Radyoterapi sonrası
Koledokolitiazis	Bilioenterik anastomoz darlığı
Periampuller tümörler	Kronik pankreatit
Duodenal divertikül	Kistik fibrozis
Safra yolları papillomu	Oddi sfinkter stenozu
Safra yolları kistik hastalıkları	Oddi sfinkter disfonksiyonu
Karaciğerin polikistik hastalığı	<b>Tip IV Segmental tıkanma</b>
Safra yolları parazitleri	Travmatik, iatrojenik
Hemobili	Hepatolitiazis
	Sklerozan kolanjit
	Kolanjiokarsinom

Ekstrahepatik safra yolu tıkanıklığına bağlı sarılığı olan hastalarda halen ameliyat sonrası komplikasyonlar ve hatta ölüm yüksek oranda görülmektedir. Bu komplikasyonların çoğu doğal yolla oluşan ya da bağışıklık sistemi baskılanmasına bağlı infeksiyonlar ve sistemik komplikasyonlardır. Tedavi edilmemiş tıkanma sarılığının ana komplikasyonları kolanjit, koagülasyon bozukluğu, biliyer fibrozis ve siroza ilerleyen karaciğer hasarıdır. Tıkanma sarılığını düzeltmek için uygulanan cerrahi yöntemler, ameliyat sonrası gelişen karaciğer yetersizliği, sepsis, kanama, böbrek yetersizliği ve pulmoner disfonksiyon gibi komplikasyonlar nedeniyle ciddi mortalite ve morbidite oranlarına sahiptir (21).

Şiddetli intestinal ve hepatik oksidatif stresin potansiyel mekanizmaları önceleri yaygın olarak incelenmiştir (8,11). Artmış safra asit seviyeleri, sistemik endotoksemi ve takip eden inflamatuvar yanıt, uyarılabilir nitrik oksit sentaz ekspresyonunun artacak şekilde düzenlenmesi, artmış nötrofil kemotaksisi ve süperoksit anyon yapımı, antioksidan vitamin E 'nin azalmış sistemik seviyesi, tıkanma sarılığında oksidatif hadisenin artışına katkıda bulunur (22-26).

Safra yollarının akut tıkanıklıklarında karaciğer yapısındaki en erken bulgu kanaliküler kolestaz olup daha sonra safra duktus hücreleri proliferer olur. Süreç kronikleşir ise periduktal bağ dokusu artışı ve fibröz tabakalar ortaya çıkar. Bu durum periportal ve periseptal alanlarda değişikliklerle kendini gösterir, devam eden kolestaz neticesinde karaciğerde yapısal anomaliler ve nodüler parankimal hiperplazi görülür. Sonuç olarak obstrüktif biliyer sirozun tipik görüntüsü oluşur. Siroz patogeneğinde temel patoloji olan karaciğer fibrozu, karaciğerde başta kollagen olmak üzere hücre dışı matriks proteinlerinin birikimi ile karakterizedir. Hücre dışı matriks proteinleri, hasarlı karaciğerin Disse aralığındaki satellit hücreler tarafından üretilirler. Bunlar da karaciğer fibrozunu oluşturur. Üretilen hücre dışı matriks proteinleri; kollagen Tip-1, Tip-3, Tip-4 ile fibronektin, laminin ve proteoglikanlardır. Bunlardan en çok üretileni de kollagen Tip-1 ve Tip-3'tür (27-30).

### **Oksidatif Stres**

Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen metabolitleri (ROM) oluşur. Reaktif oksijen metabolitleri, oksijen radikallerini ve oksidan olan fakat radikal yapıda olmayan ve radikallere kolaylıkla dönüşebilen maddelerin (HOCl, O<sub>3</sub>, ONOO<sup>-</sup>, O<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) tümünü kapsayan bir terimdir (31). ROM

başta mitokondrial elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, doğal uyarılara karşı fagositik aktivasyon, biyosentez ve degradasyon gibi metabolik olaylarla oluşur (32).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘**oksidatif stres**’ olarak adlandırılan bu durum özetle, prooksidanlar ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulması ile oluşur (33).

#### **Reaktif oksijen metabolitlerinin hücre ve dokularda yaptığı hasarlar (34):**

- DNA' nın tahrip olması
- Nükleotid yapılı koenzimlerde yıkım
- Protein ve lipidlerle kovalent bağların oluşması
- Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasında değişiklikler
- Mukopolisakkaritlerde yıkım
- Proteinlerin tahrip olması ve döngüsünün artması
- Lipid peroksidasyonu ve zar yapısının bozulması
- Zar proteinlerinin tahribi ve taşıma sistemlerinin bozulması
- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşması

Oksidatif stresin varlığı doğrudan ROM ölçümü ile kanıtlanabilirse de yüksek derecede reaktif olmaları doğrudan ölçümü zorlaştırmaktadır. Bu nedenle sıklıkla biyomoleküllerde meydana gelen oksidatif hasar ürünleri ölçülmektedir (35,36).

#### **Oksidatif Stres Belirteçleri**

##### ***Lipid hidroperoksid***

Lipid peroksidasyonu tüm hücrelerde ve dokularda normalde düşük düzeylerde meydana gelir. Lipid peroksidasyonuna en duyarlı bileşikler membran fosfolipidlerinin

yapısında bulunan doymamış uzun zincirli yağ asitleri, araşidonik asit ve deikosoheksaenoik asittir (37). Lipid peroksidasyonunun hücre hasarı oluşturması ya membranın anatomik bütünlüğünün bozulması ya da difüze olabilen toksik bileşiklerin üretilmesi ile gerçekleşmektedir. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerin doymamış yağ asidi aldehitleri, alkanlar, epoksi yağ asitleri, hidroksi yağ asitleri gibi ürünlere yıkılması ile sonlanır (38).

### ***Protein karbonil***

Proteinler birçok mekanizma ile okside olabilir. Bu nedenle birden fazla protein oksidasyon türü vardır (39). Protein oksidatif modifikasyonu, oksitlenen rezidü ile oluşan ürün özelliğine göre 2 gruba ayrılabilir (40).

1. *Global modifikasyon:* Birden çok rezidünün değiştiği ve birden çok ürünün oluştuğu (karbonil gruplarının oluşumu gibi) modifikasyonlardır.

2. *Spesifik modifikasyon:* Hem oksitlenen rezidünün, hem de oluşan ürünün oldukça spesifik olduğu modifikasyonlardır. Protein oksidatif modifikasyonunun farklı tipleri için bir tek belirteç yoktur. Fakat protein karbonil grupları oksidatif indüklü hücrel hasarın en genel belirteci olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun nedenleri protein karbonil gruplarının birçok farklı mekanizma ile ortaya çıkabilmesi, stabil olması ve basit ama duyarlı yöntemlerle ölçülebilmesi olarak sayılabilir (39-43).

### ***İzoprostan***

İzoprostanlar, hayvan hücrelerinin membran fosfolipidleri ile ester halde bulunan bir çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) olan araşidonik asidin peroksidasyonu ile oluşur (44).

İzoprostanların güçlü biyolojik aktivitelerinin olduğu ve iskemik hasar ve nörodejeneratif beyin hastalıkları gibi birçok durumda dokulardan salındığı belirlenmiştir.

### ***8-OHdG***

DNA stabil bir molekül olmasına rağmen yaşam boyunca fizyolojik koşullarda spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilir. Serbest radikaller, DNA'da oksidatif hasar yaparak yapısal değişime yol açarlar. İlk oluşan lezyon dal kırıklarındır. Daha sonra baz çifti mutasyonları, yeniden düzenlenme, delesyon, baz katılımı, dizi

amplifikasyonu gibi yapısal değişiklikler meydana gelir (45). Ayrıca DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazı okside ederek onarım mekanizması etkinliğini azaltır (31,46).

En sık ölçülen DNA baz hasar göstergesi 8-hidroksiguanin (8OH-G) ve onun deoksiriboz bağlı şekli olan 8-hidroksideoksiguanozindir (8-OHdG).

## 2.7. ANTIOKSİDANLAR

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı geciktirmek veya önlemek için vücutta savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar ‘antioksidan savunma sistemleri’ olarak bilinirler (47). Organizmalardaki lipid, protein, nükleik asit ve karbonhidratlar gibi diğer moleküller oksidatif hasar için hedef durumundadır. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki dengenin korunamadığı durumlarda, hücre hasarı ve ölümüne kadar giden birçok patolojik değişiklik meydana gelmektedir (48-50). Organizmada antioksidan mekanizmalar pro-oksidan maddelere karşı koruyucu olarak bulunmaktadır. Bunlar zararlı oksidanları ortadan kaldırır veya *in vivo* olarak reaktif oksijen türü tarafından oluşturulan hasarı onarır (51).

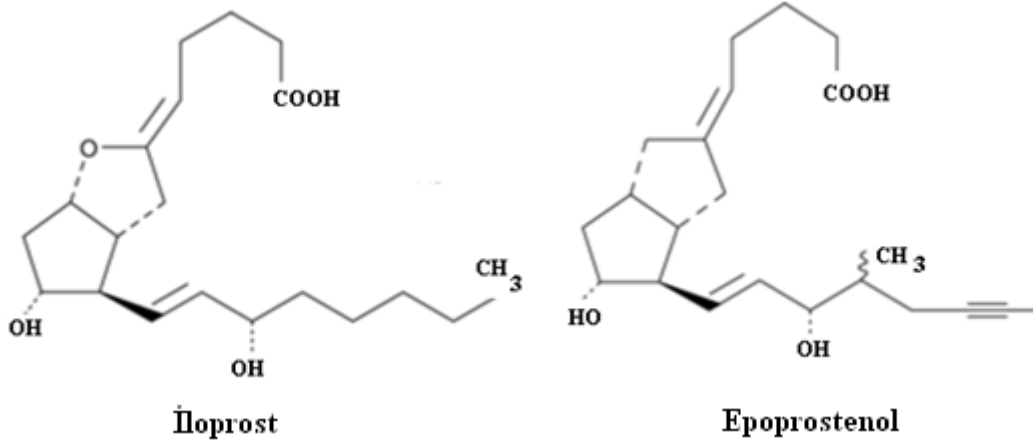
Kaynaklarına göre endojen ve ekzojen olarak gruplandırılan antioksidanlar, etki mekanizmalarına göre dört gruba ayrılır:

- a) Süpürücü etki gösterenler; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, ferritin vb.
- b) Giderici etki gösterenler;  $\beta$  karoten, vitamin C ve vitamin E vb.
- c) Zincir kırıcı etki gösterenler; ürik asit, bilirübin, albumin vb.
- d) Onarıcı etki gösterenler; DNA tamir enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz vb. (50,52)

## 2.8. İLOPROST

İloprost, araşidonik asitten sentezlenen, endojen bir prostaglandin olan epoprostenolun (PGI<sub>2</sub>, prostasiklin) sentetik karboksilin analogudur. Epoprostenol en fazla damar endoteli tarafından sentezlenir. İloprost; epoprostenolden farklı olarak C18, C19’da üçlü bağ, C16’da metil grubu ve heterosiklik oksijen atomu yerinde metilen

grubu içerir. Bu moleküler farklılık, iloprostun daha stabil bir molekül olmasını sağlar ve intravenöz / oral kullanımına olanak verir (14) (Şekil 4,5).



Şekil 4 ve 5. İloprost ve epoprostenolün moleküler formülleri

Etkilerini, prostasiklin reseptörleriyle etkileşerek; trombosit adezyonu ve agregasyonunun inhibisyonu, damar duvarındaki media tabakasındaki düz kas hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonu, profibrinolitik aktivite, vazodilatör etkileri, lökositlerin aktivasyonunun ve kemotaksisinin inhibisyonu, lökositler tarafından üretilen süperoksit anyonlarının azaltılması, trombosit-lökosit etkileşiminin azaltılması, kollateral sirkülasyon formasyonunun ve büyümesinin stimüle edilmesi, mikrovasküler sistemde akımın regüle edilmesi yollarıyla gerçekleştirmektedir. İloprost, intraselüler cAMP konsantrasyonunu düzenleyerek; pulmoner vazodilatasyon, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, nötrofil adezyonunun azalması, serbest radikalleri temizleyici etkiler gösterir ve vasküler fonksiyonların devamlılığını sağlar (53-58).

İntravenöz infüzyon başladıktan 10-20 dakika gibi kısa bir süre sonra kararlı durum plazma düzeylerine ulaşılır. Kararlı durum plazma seviyeleri infüzyon hızı ile doğru orantılıdır. 1-3 ng/kg/dk infüzyon hızı ile sırasıyla yaklaşık 46±8 pg/ml - 135±24 pg/ml plazma konsantrasyonu elde edilir (59). İnfüzyonun sona erdirilmesinden sonra yüksek metabolizma hızı nedeni ile iloprost plazma konsantrasyonu hızla düşer. Plazma yarı ömrü 30 dakikadır. Bunun sonucu olarak infüzyonun sona ermesinden hemen 2 saat sonra madde düzeyi denge konsantrasyonunun % 10'unun altına düşer. Karaciğer sirozlu hastalarda ve diyalize gerek gösteren kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda iloprost klirensi 2-4 misli azalır. İloprostun büyük kısmı plazma albuminine (%60

oranında) bağlanır. İloprost, metabolitlerine dönüşerek elimine olur. Ana metabolit tetranor-iloprosttur ve farmakolojik olarak inaktiftir. İloprost metabolitlerinin % 80 kadarı böbrek yolu ile, % 20'si safra yolu ile atılır.

İloprostun pulmoner arteriyel hipertansiyonda inhaler yolla kullanımı bu hastalardaki egzersiz intoleransını azaltmaktadır. Ayrıca anjina pectoris hastalarında egzersiz kapasitesini arttırmak, kemik iliği ödemi sendromunda ağrıyı azaltmak, kolesterol emboli sendromu olgularındaki distal ekstremitelerdeki iskemisini düzeltmek ve heparin tedavisine bağlı trombosit agregasyonunu inhibe etmek amacıyla kullanılmıştır. Diğer vazodilatör tedavilere dirençli ergotizmde ve postoperatif kalp yetersizliğinin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Yaşa bağlı makula dejenerasyonlu 5 olgunun iloprost ile 6 aylık tedavisi sonucunda uzun süreli görme fonksiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Periferik vasküler hastalıklarda antitrombotik ve muhtemel fibrinolitik aktiviteyi artırıcı etkisinden dolayı 1-3ng/kg/dk dozunda infüzyon şeklinde kullanımının yararlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca konnektif bağ dokusu hastalığına bağlı olarak gelişen Raynaud fenomeninde standart doz iloprost (2 ng/kg/min) tedavisi sonrası 10 hafta boyunca parmaklara olan kan akımının arttığı gösterilmiştir. Tromboanjitis obliterans hastalarında dinlenme sırasındaki ağrıyı ve amputasyon gerekliliğini azaltmaktadır. Skleroderma olgularında günlük infüzyonlarla, sklerodermaya bağlı semptomlarda azalma bildirilmiştir. İloprostun pyoderma gangrenosum gibi diğer tedavilere dirençli deri ülserlerinde yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir. Vazospazma bağlı böbrek yetersizliği olan bir olgunun tedavisinde de etkili bulunmuştur. Septik şokta mikrosirkülasyonu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (59-73).

Ticari takdim şekli İloprost® 20 mcg/ml 1 ml (İloprost®, Bayer Schering Pharma AG, Berlin Germany) olup, sulu solüsyon içinde 0,027 mg iloprost trometamol (0,020 mg iloprost'a eşdeğer) içerir.

Literatürde iloprostun antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri hakkında bir çok çalışma olmasına rağmen tıkanma sarılığı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı daha önce antioksidan, antitrombotik, vazodilatör vb. etkileri bilinen iloprostun tıkanma sarılığında olumlu veya olumsuz etkilerini araştırmaktır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 26.11.2008 tarih ve 119 sayılı onayı alınarak İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı ile Biyokimya ve Patoloji laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışmada İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırmaları Enstitüsü' den temin edilen Wistar-Albino tipi 250-300 gram ağırlığında, 32 adet erkek sıçan kullanıldı. Kafes başına 4 sıçan olmak üzere ortalama 20- 22 °C oda sıcaklığında ve neminde (50F), 12 saat gün ışığı 12 saat karanlık ortamda takip edilen hayvanlar randomize olarak 4 gruba ayrılmış, %21 protein içeren standart sanayi sıçan yemi ile beslenerek operasyondan 12 saat önce yem almaları engellendi.

Her grupta 8 hayvan olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur:

Grup 1 (n=8): Sham grubu.

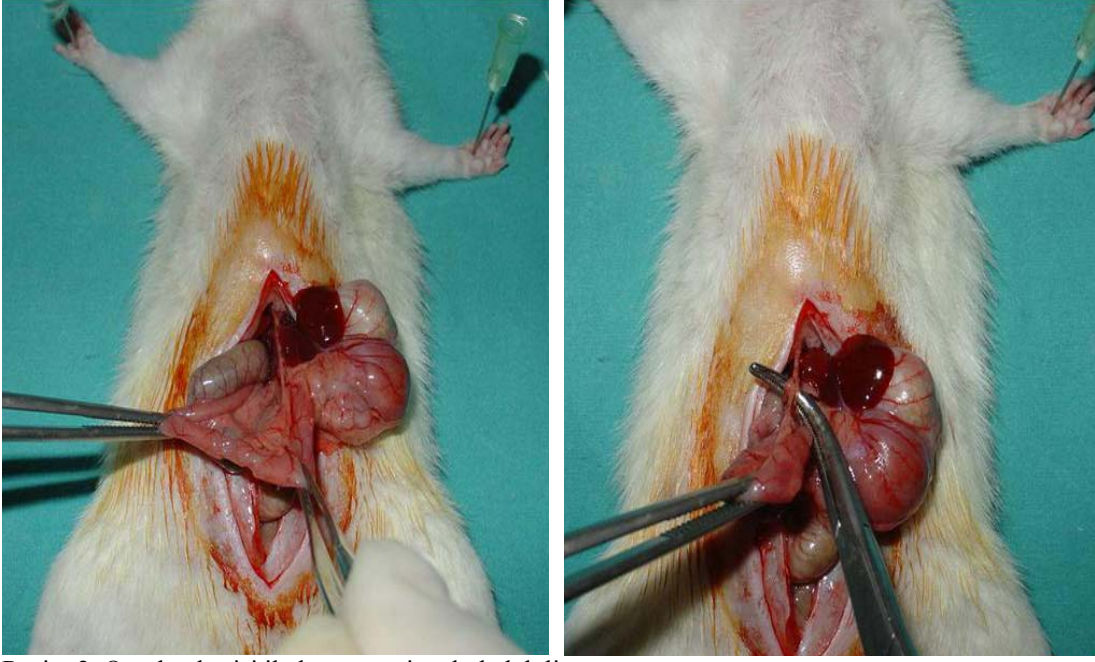
Grup 2 (n=8): Sham operasyonu sonrası 10 gün, günde tek doz intraperitoneal iloprost (2 mg/kg) uygulanan grup.

Grup 3 (n=8): Koledok ligasyonu sonrası 10 gün, intraperitoneal serum fizyolojik tatbik edilen grup.

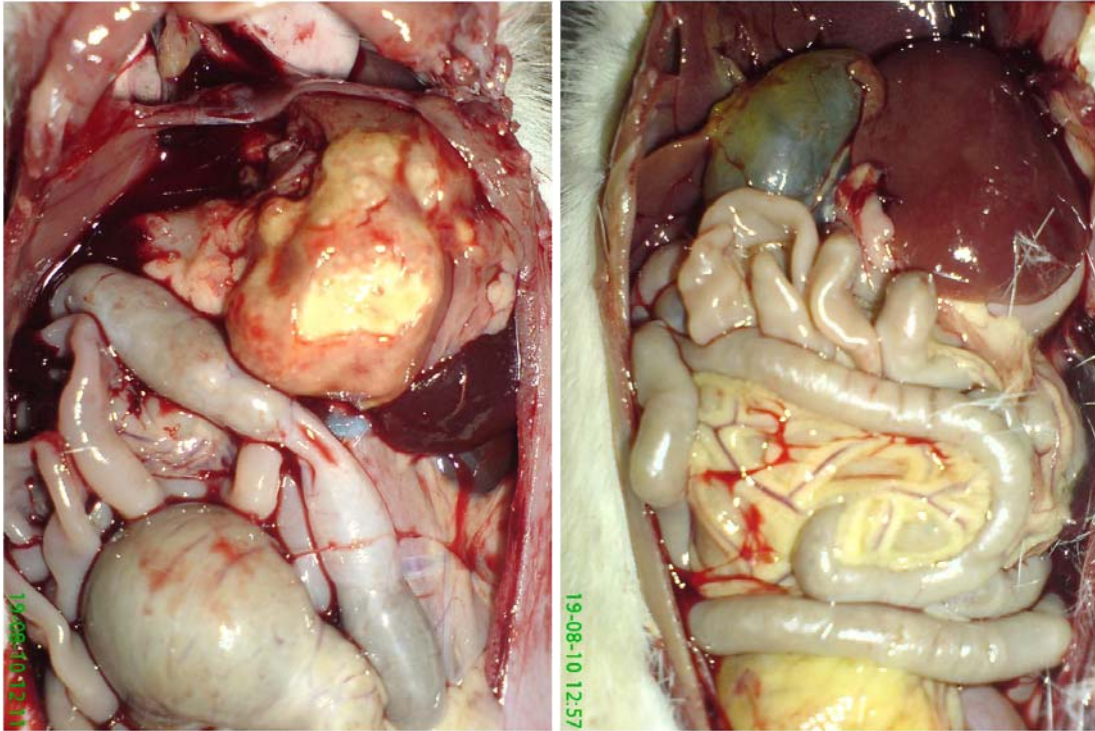
Grup 4 (n=8): Koledok ligasyonu sonrası 10 gün, günde tek doz, intraperitoneal iloprost (2 mg/kg) uygulanan grup.

Hayvanlara ketamin anestezisi 10 mg/kg, intraperitoneal ve 5 mg/kg xylozine (Rompun; Bayer, İstanbul Türkiye) verildi. Karın tıraşı yapıldıktan sonra, cerrahi sterilizasyon kurallarına uyularak sham gruplarına karın orta hatta yaklaşık 2 cm' lik insizyon yapıp, gastroduodenal ligament izole edilerek koledok mobilize edilmiştir. Sonrasında karın duvarı katları anatomik planlara uygun olarak 4-0 poliglaktin ve 4-0 ipek dikişler ile kapatılmıştır. Koledok ligasyonu yapılan gruplarda ise koledok, mobilize edildikten sonra iki adet 4-0 ipek dikiş ile iki ayrı noktadan bağlanarak kesilmiştir. Karın duvarı ve cilt 3/0 ipek dikişler kullanılarak ayrı ayrı tabakalar halinde, devamlı sütürlerle kapatılmış, işlem sonunda deney gruplarının her biri ayrı kafeslere konulmuşlardır. Çalışma sonunda sıçanlara yüksek doz ketamin uygulanıp sakrifikasyon yapılarak, kardiyak ponksiyon ile kan ve karaciğer doku örnekleri toplanmıştır.





Resim 2. Orta hat kesisi ile laparotomi ve koledok ligasyonu.



Resim 3. Safra yolları ile karaciğerin 10. gündeki görünümü.

### **Biyokimyasal analiz**

Tüm gruptaki hayvanların kanları intrakardiyak olarak alınarak silikonlu tüplere konuldu. 5 dakika 6500 devirde santrifüj sonrası serumlar ayrıldı. Biyomoleküllerde meydana gelen oksidatif hasar ürünleri olarak 8-OHdG, izoprostan, protein karbonil, lipid hidroperoksid seviyeleri ölçülerek değerlendirildi.

Plazma 8-OHdG analizi, ELISA kiti (NWLSS™ 8-OHdG ELISA, Northwest, Vancouver Canada) kullanılarak yarışmalı ELISA yöntemi ile yapıldı. Örneklerin konsantrasyonları 0.125 ng/ml, 0.250 ng/ml, 0.5 ng/ml, 1 ng/ml, 4 ng/ml, 10 ng/ml standartlar kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden hesaplandı.

Plazma izoprostan analizi, ELISA kiti (NWLSS™ Isoprostane ELISA, Northwest, Vancouver Canada) kullanılarak yarışmalı ELISA yöntemi ile yapıldı. Örneklerin konsantrasyonları 0.005 ng/ml, 0.1 ng/ml, 1 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml değerleriyle hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden hesaplandı.

Plazma protein karbonil analizi, spektrofotometrik prensibe dayanan ticari kit (NWLSS™ Protein Carbonyl Assay, Northwest, Vancouver Canada) kullanılarak gerçekleştirildi. Örneklerin absorbansı 360nm dalga boyunda ölçüldü ve konsantrasyonları protein karbonilin molar absorbtivite katsayısı ( $22.000 \text{ M}^{-1}, \text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplandı.

Plazma lipid hidroperoksid (LOOH) ölçümünde spektrofotometrik prensibe dayanan ticari kit (NWLSS™ Lipid Hydroperoxide Assay, Northwest, Vancouver Canada) kullanıldı. Örnekler ve kalibratörün absorbansları 560 nm dalga boyunda ölçüldü ve konsantrasyonları molar absorbtivite katsayısı ( $33.700 \text{ M}^{-1}, \text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplandı.

### **Histopatolojik inceleme**

Karaciğer örnekleri %10'luk tamponlanmış formolde 3 saat fikse edildi. Alkol, aseton, ksilen ve parafin işlemlerinden sonra bloklandı. Bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak Hematoksin-Eozin boyası ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskopunda 40x ve 100x büyütme ile değerlendirildi. Mikroskoba bağlı olan fotoğraf makinası ile fotoğraflandı.

Karaciğer yağlanma, hidropik dejenerasyon, kupfer hücre proliferasyonu / sinüzoidal hücre proliferasyonu, safra stazı, portal alanda iltihabi aktivite (mono-nükleer

hücre infiltrasyonu), safra duktus proliferasyonu, kolanjit (safra duktuslarında nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyonu), mikroapse formasyonu açısından - (0) ile +++ (3) arasında değerlendirildi.

### **İstatistiksel değerlendirme**

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak belirtildi. Gruplar arası anlamlılık Kruskal-Wallis testi ile SPSS 12 (SPSS Inc. Chicago USA) programında değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık saptanan parametrelerde ikili değerlendirme Mann-Whitney U testi ile yapıldı.  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### a) Biyokimyasal Bulgular

Sham ve sham + iloprost grupları arasında biyokimyasal parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

*Tıkanma sarılığı (TS) grubu:* 8-OHdG (p=0.006), izoprostan (p=0.003), lipid hidroperoksid (p=0.001) parametrelerinin değerleri sham grubuna göre anlamlı artış gösterdiği görülmüştür.

*TS + iloprost grubu:* 8-OHdG (p=0.03), protein karbonil (p=0.005) ve lipid hidroperoksid (p=0.001) değerleri TS grubuna göre anlamlı olarak düşük ölçülmüştür.

*TS + iloprost grubu:* İzoprostan (p=0.003) değerleri sham + iloprost grubuna göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür.

Tablo 2. Oksidatif stres parametrelerinin sonuçları.

	<i>Sham</i>	<i>Sham+ilopros t</i>	<i>TS</i>	<i>TS+iloprost</i>	<i>P value</i>
8-OHdG (ng/ml)	1.21±0.1	1.16±0.2	1.53±0.22	1.13±0.25	p=0.012
İzoprostan (ng/ml)	1.1±0.08	1.05±0.14	2.16±0.7	1.85±0.4	p=0.000
Protein karbonil (nmol/ml)	30.91±12.33	23.92±8.35	40.46±7.36	24.7±5.09	p=0.02
Lipid hidroperoksi d (Mmol/ml)	1.96±0.39	1.82±1.11	5.11±1.66	1.85±1.01	p=0.001

(8-OHdG: 8-hidroksideoksiguanozin; TS: tıkanma sarılığı)

### b) Histopatolojik Bulgular

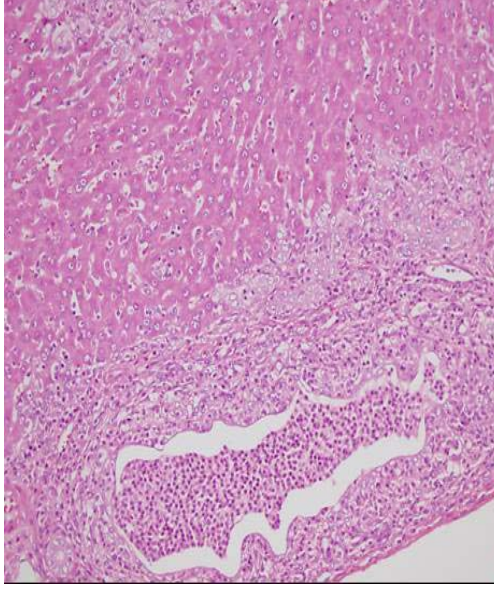
Sham ve sham + iloprost grupları arasında histolojik parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

*Tıkanma sarılığı (TS) grubu:* Safra stazı (p=0.001), portal alandaki inflamasyon (p=0.001), safra duktus epitel proliferasyonu (p=0.001) ve kolanjit (p=0.001) parametrelerinin değerleri sham grubuna göre anlamlı artış gösterdiği görülmüştür.

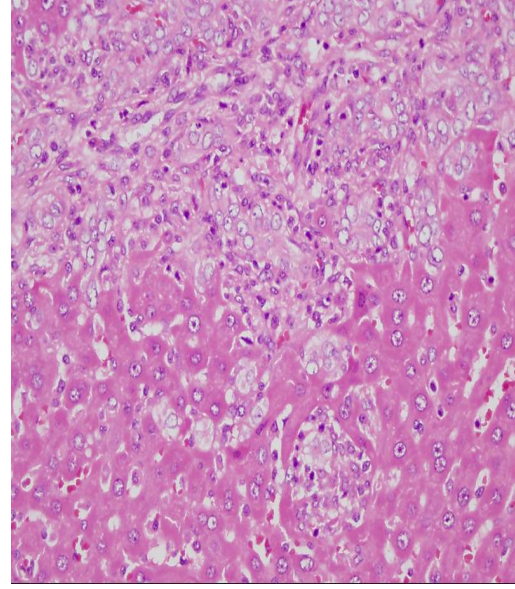
*TS + iloprost grubu:* Hidropik dejenerasyon (p=0.006), kupfer hücre proliferasyonu (p=0.004), safra stazı (p=0.000), portal alandaki inflamatuvar aktivite

( $p=0.001$ ), safra duktus proliferasyonu ( $p=0.000$ ) ve kolanjit parametreleri değerleri sham + iloprost grubuna göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür.

TS ve TS + iloprost grupları arasında histolojik değerlendirmede anlamlı farklılık saptanmadı.



Resim 5. Safra stazı, yoğun pürülan kolanjit ve safra duktus proliferasyonu (H-E x 200).



Resim 6. Yaygın safra duktus proliferasyonu (H-E x 400).

Tablo 3. Histopatolojik değerlendirme sonuçları.

	<i>Sham</i>	<i>Sham+iloprost</i>	<i>TS</i>	<i>TS+iloprost</i>	<i>P value</i>
Yağlanma	0	0	0	0	$p=0.089$
Hidropik dejenerasyon	0	$0.25\pm 0.16$	$1.13\pm 0.13$	$1.29\pm 0.18$	$p=0.002$
Kupfer hücre proliferasyonu	0	$0.25\pm 0.16$	$1.13\pm 0.13$	$1.43\pm 0.2$	$p=0.002$
Safra stazı	0	0	1	1	$p=0.000$
Portal alanda inflamatuvar aktivite	0	$0.25\pm 0.16$	2	$1.86\pm 0.14$	$p=0.000$
Safra duktus proliferasyonu	0	$1.13\pm 0.13$	$2.89\pm 0.13$	$2.86\pm 0.14$	$p=0.000$
Kolanjit	0	$1.13\pm 0.13$	$1.63\pm 0.26$	$2\pm 0.22$	$p=0.000$
Mikroapse oluşumu	0	0	0	$0.29\pm 0.28$	$p=0.37$

(TS: tıkanma sarılığı)

## 5. TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı, mekanik bir neden ile safra akımının kısmen ya da tamamen, geçici veya sürekli bir şekilde engellenmesidir. Tıkanmaya, safra yolları taşları, selim darlıkları ya da tümörleri yol açabileceği gibi ülkemizde hidatik hastalık da önemli etkenlerdendir (20).

Ekstrahepatik safra yolu tıkanıklığına bağlı sarılığı olan hastalarda halen ameliyat sonrası komplikasyonlar ve hatta ölüm yüksek oranda görülmektedir. Bu komplikasyonların çoğu doğal yolla oluşan ya da bağışıklık sistemi baskılanmasına bağlı infeksiyonlar ve çoklu organ yetersizliğine kadar ilerleyen sistemik komplikasyonlardır. Tedavi edilmemiş tıkanma sarılığının ana komplikasyonları kolanjit, koagulasyon bozukluğu, biliyer fibrozis ve siroza ilerleyen karaciğer hasarıdır. Tıkanma sarılığını düzeltmek için uygulanan cerrahi yöntemler, ameliyat sonrası gelişen karaciğer yetersizliği, sepsis, kanama, böbrek yetersizliği ve pulmoner disfonksiyon gibi komplikasyonlar nedeniyle ciddi mortalite ve morbidite oranlarına sahiptir (21).

Safra yollarının akut tıkanıklıklarında karaciğer yapısındaki en erken bulgu kanaliküler kolestaz olup daha sonra safra duktus hücreleri proliferer olur. Olay kronikleşirse periduktal bağ dokusu artışı ve fibröz tabakalar ortaya çıkar (27). Bu süreç periportal ve periseptal alanlarda değişikliklerle kendini gösterir, devam eden kolestaz neticesinde karaciğerde yapısal anomaliler ve parankimde nodüler hiperplazi görülür. Sonuç olarak obstrüktif biliyer sirozun tipik görüntüsü oluşur (27,28). Siroz patogenezinde temel patoloji olan karaciğer fibrozu, karaciğerde başta kollagen olmak üzere hücre dışı matriks proteinlerinin birikimi ile karakterizedir (29). Hücre dışı matriks proteinleri, hasarlı karaciğerin Disse aralığındaki satellit hücreler tarafından üretilirler. Bunlar da karaciğer fibrozunu oluşturur.

Son birkaç yıl içinde artan kanıtlar oksidatif stresin kolestatik karaciğer hasarı patogenezinde anahtar rol oynadığını göstermektedir (7,9). Şiddetli intestinal ve hepatik oksidatif stresin potansiyel mekanizmaları önceleri yaygın olarak incelenmiştir (8,11). Artmış safra asit seviyeleri, sistemik endotoksemi ve takip eden inflamatuvar yanıt, uyarılabilir nitrik oksit sentaz ekspresyonunun artacak şekilde düzenlenmesi, artmış nötrofil kemotaksisi ve süperoksit anyon yapımı, antioksidan vitamin E 'nin azalmış sistemik seviyesi, tıkanma sarılığında oksidatif hasarın artışına katkıda bulunur (22-26).



Günümüzde sayıları giderek artan çalışmalar neticesinde oksidatif stresin önlenmesinin kolestatik karaciğer hasarını engellemede önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Shiesh ve ark. (74), safra kanalı ligasyonu uygulanan domuzlarda, 14. günde safra tuzlarını ve MDA düzeylerini karşılaştırdılar. Bu değerleri kontrol grubundan belirgin derecede yüksek bulmuşlardır. İşlem öncesi antioksidan özellikli 1 mg /kg melatonin enjeksiyonu uygulanan grupta kontrol düzeylerine yakın sonuçlar elde etmişler ve safra taşı gelişiminin önlendiğini göstermişlerdir.

Padillo ve ark. (75), safra yolları tıkanıklığının antioksidan etkiye sahip çeşitli molekül ve enzimlerde azalma ile yoğun oksidatif strese sebep olduğu ve melatoninin deneysel tıkanma sarılığında kolestatik karaciğer hasarını azalttığını saptamışlardır.

Safra yolu tıkanıklıkları ve antioksidanlar üzerine yapılan bir diğer çalışmada Kawada ve ark. hücre kültürü ortamında, sıçan hepatik stellat hücre ve kupffer hücrelerinin fonksiyonları üzerine antioksidan ajanların etkilerini araştırmışlardır. Bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları, aynı zamanda karaciğer hasarından sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada uygulanan resveratrol, quersetin ve asetilsistein bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları yoluyla oluşan hasarı azaltmışlardır. Bu etki, kullanılan ajanların antioksidan özelliklerine bağlanmıştır (76).

Biliyer kolestaz ve sonuçları ile ilgili yapılan bir çalışmada Pastor ve ark. (77) sıçanlarda safra kanalı obstrüksiyonu oluşturarak 28 günde sekonder bilier siroz geliştirmişlerdir. Karaciğerde bu modelde GPx, GSH ve SOD seviyelerinde azalma, MDA düzeyinde ise anlamlı yükselme saptanmıştır.

Slott ve ark. (78) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, safra kanalı ligasyonu ya da safra yolu tıkanmasından sonra kanal içi basıncın %60 oranında yükseldiği ve bunun sonucunda 6 saat gibi kısa bir süre içinde DNA sentezinin artarak safra kanalı epitel hücrelerinde proliferasyonun başladığı gösterilmiştir.

Tıkanma sarılığında uygulanımı ile ilgili literatür verisi bulunmayan iloprostun, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri hakkında birçok çalışma mevcuttur.

Aytac ve ark. (79,80) yaptıkları çalışmalarda, iloprost uygulananın serebral hipoperfüzyon durumunda beyin dokusunu oksidatif hasardan koruduğunu, tek taraflı nefrektomi öncesi uygulananın, cerrahi ve anestezi neticesinde artan, cerrahi sırasında

ve erken postoperatif dönemde organ hasarına neden olan oksidatif stres ve IL-6 düzeyini azalttığını göstermişlerdir.

Benzer birçok çalışmada prostasiklin reseptörleriyle etkileşerek trombosit adezyonu ve agregasyonunun inhibisyonu, damar duvarındaki media tabakasındaki düz kas hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonu, profibrinolitik aktivite, vazodilatör etkiler, lökositlerin aktivasyonunun ve kemotaksisinin inhibisyonu, lökositler tarafından üretilen süperoksit anyonlarının azaltılması, trombosit-lökosit etkileşiminin azaltılması, kollateral sirkülasyon formasyonunun ve büyümesinin stimüle edilmesi, mikrovasküler sistemde akımın regüle edilmesi vb. etkileri saptanmıştır (53-58).

İloprostun pulmoner arteriyel hipertansiyonda inhaler yolla kullanımının bu hastalardaki egzersiz intoleransını azalttığı, angina pectoris hastalarında egzersiz kapasitesini arttırdığı, kemik iliği ödemi sendromunda ağrıyı azalttığı yönünde yayınlar mevcuttur (59,61). Ayrıca kolesterol emboli sendromu olgularındaki distal ekstremitte iskemisini düzeltmek ve heparin tedavisine bağlı trombosit agregasyonunu inhibe etmek amacıyla kullanılmıştır (62,64,81). Diğer vazodilatör tedavilere dirençli ergotizmde ve postoperatif kalp yetersizliğinin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (65,66). Periferik vasküler hastalıklarda antitrombotik ve muhtemel fibrinolitik aktiviteyi artırıcı etkisinden dolayı infüzyon şeklinde kullanımının yararlı olduğu gösterilmiştir (69,82). Ayrıca konnektif bağ dokusu hastalığına bağlı olarak gelişen Raynaud fenomeninde standart doz iloprost tedavisi sonrası 10 hafta boyunca parmaklara olan kan akımının arttığı gösterilmiştir (70). Tromboanjitis obliterans hastalarında dinlenme sırasındaki ağrıyı ve amputasyon gerekliliğini azaltmaktadır. Skleroderma olgularında günlük infüzyonlarla, sklerodermaya bağlı semptomlarda azalma bildirilmiştir (71). Septik şokta mikrosirkülasyonu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (73).

Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel tıkanma sarılığı oluşturularak hücrelerin yapısal elemanları ve DNA' sında oluşan değişiklikler serumda protein karbonil, izoprostan, 8-OHdG, lipid hidroperoksid değerleri ölçülerek ve karaciğer histopatolojisindeki değişiklikler yağlanma, hidropik dejenerasyon, kupfer hücre proliferasyonu/sinüzoidal hücre proliferasyonu, safra stazı, portal alanda iltihabi aktivite, safra duktus proliferasyonu, kolanjit gelişimi gibi parametreler incelenerek değerlendirilmiştir.



Yalnızca koledok mobilizasyonu yapılan grup (sham grubu) ve sham işlemi sonrası iloprost (10 gün boyunca, intraperitoneal, 2mg/kg) uygulanan grup arasında histopatolojik açıdan ya da oksidatif hasar parametreleri olarak ölçülen protein karbonil, 8-OHdG, lipid hidroperoksid, izoprostan seviyeleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Tıkanma sarılığı (TS) oluşturulan grupta, sham grubuna göre karaciğerde safra stazı (p=0.001), portal alanda inflamasyon (p=0.001), safra duktus epitel proliferasyonu (p=0.001) ve kolanjit (p=0.001) gelişiminde anlamlı derecede artış olduğu görülmüştür. Ayrıca bir adet sıçanda karaciğerde mikroapse oluşumu (p=0.37) oluşumu gözlenmiştir.

Yine TS grubunda, sham grubuna göre lipid hidroperoksid (p=0.001), izoprostan (p=0.003) ve 8-OHdG (p=0.006) düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır.

Bu iki sonuç, literatür ile benzer şekilde tıkanma sarılığının erken dönemlerinde dahi karaciğer yapı ve fonksiyonlarında belirgin bozulmaya ve safra yolları infeksiyonuna neden olduğu, ayrıca oksidan - antioksidan sistem arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulmasına neden olarak oksidatif strese bağlı sistemik komplikasyonlara yol açtığını göstermektedir.

Tıkanma sarılığı oluşturulan ve iloprost uygulanan (TS + iloprost) grupta oksidatif hasar ürünleri 8-OHdG (p=0.03), protein karbonil (p=0.005) ve lipid hidroperoksid (p=0.001) değerleri TS grubuna göre anlamlı olarak düşük ölçülmüş, izoprostan ölçümünde anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bu bulgular, tıkanma sarılığı nedeniyle oluşan, hücrenin yapısal lipid ve proteinleri ile DNA' sında gelişen oksidatif hasarın, farklı klinik durumlar için kullanılan ve olumlu sonuçları saptanan, ancak tıkanma sarılığında kullanımı ile ilgili literatür verisi bulunmayan iloprost uygulananı ile engellenebileceği ve/veya azaltılabileceğini göstermektedir.

TS + iloprost grubunun histopatolojik değerlendirmesinde TS grubuna göre belirgin farklılık saptanmamıştır.

Bu sonuç ise, iloprost uygulananının mevcut takip süresinin karaciğer histolojisindeki olumsuz değişiklikleri önlemede yeterli olmayabileceğini ve ek çalışmaların gerekliliğini düşündürmektedir.

## 6. SONUÇ

Günümüzde sık karşılaşılan bir durum olan tıkanma sarılığı sonucu oluşan karaciğer, pankreas fonksiyonlarındaki değişiklikler, gastrointestinal bariyer, bağışıklık, kanama ve yara iyileşme mekanizmalarındaki bozukluklar ve gelişen endotoksemiye izleyen böbrek, kalp ve akciğer yetersizlikleri bu hasta popülasyonunda ciddi perioperatif morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Tıkanma sarılığını düzeltme amaçlı cerrahi girişimler dışında, endoskopik ve perkütanöz teknikler gibi birçok yöntem uygulanmasına rağmen klinik uygulamada, bahsedilen perioperatif sorunları engelleyebilecek herhangi bir tedavi yöntemi bulunmaması bu yönde çalışmalara ağırlık verme gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Tıkanma sarılığı sonucu gelişebilen patolojilerin pro-oksidan sistem aktivasyonu ile meydana geldiğini gösteren literatür verileri; iloprost uygulamanının antioksidan ve doku koruyucu etkilerini gösteren çalışmalar ve bu çalışmanın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, sistemik iloprost uygulamanının tıkanma sarılığı neticesinde gelişen oksidatif hasarın önlenmesinde olumlu katkısı olabileceği düşünülmüştür.

## 7. KAYNAKLAR

1. Akın ML, Erenođlu C, Dal A et al: Hyperbaric oxygen prevents bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. *Dig Dis Sci* 2001; 46:1657-1662.
2. Aran Ö, Kılıç AY. *Safra Yolları Hastalıkları*. Ed: İ Sayek. *Temel Cerrahi*, 3.Baskı. Güneş Tıp Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2004; 1381-1393.
3. Pain JA, Cahill CJ, Bailey ME. Perioperative complications in obstructive jaundice: therapeutic considerations. *Br J Surg* 1985; 72:942–945.
4. Clements WD, Parks R, Erwin P, et al. Role of the gut in the pathophysiology of extrahepatic biliary obstruction. *Gut* 1996; 39:587–593.
5. Krahenbuhl S, Talos C, Fischer S, et al. Toxicity of bile acids on the electron transport chain of isolated rat liver mitochondria. *Hepatology* 1994; 19:471–479.
6. Brown KM, Brems JJ, Moazzam FN, et al. The nitric oxide donor molsidomine improves survival and reduces hepatocyte apoptosis in cholestasis and endotoxemia. *J Am Coll Surg* 2003; 197:261–269.
7. Liu TZ, Lee KT, Chern CL, et al. Free radical-triggered hepatic injury of experimental obstructive jaundice of rats involves overproduction of proinflammatory cytokines and enhanced activation of nuclear factor kappaB. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31:383–390.
8. Assimakopoulos SF, Vagianos CE, Zervoudakis G, et al. Gut regulatory peptides bombesin and neurotensin reduce hepatic oxidative stress and histological alterations in bile duct ligated rats. *Regul Pept* 2004; 120:185–193.
9. Vendemiale G, Grattagliano I, Lupo L, et al. Hepatic oxidative alterations in patients with extra-hepatic cholestasis: effect of surgical drainage. *J Hepatol* 2002; 37:601–605.

10. Assimakopoulos SF, Vagianos CE, Patsoukis N, et al. Evidence for intestinal oxidative stress in obstructive jaundice induced gut barrier dysfunction in rats. *Acta Physiol Scand* 2004; 180:177–185.
11. Assimakopoulos SF, Thomopoulos KC, Patsoukis N, et al. Evidence for intestinal oxidative stress in patients with obstructive jaundice. *Eur J Clin Invest* 2006; 36:181–187.
12. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe Tıp Derg* 2004; 5:1-8.
13. S.Della Bela et al. Novel mode of action of iloprost: in vitro down-regulation of endothelial cell adhesion molecules. *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 2001; 65:73-83.
14. Grant SM, Goa KL. Iloprost. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischaemia and extracorporeal circulation procedures. *Drugs* 1992; 43:889-924.
15. Martins PNA, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in rat. *Liver Int* 2007; 27:384-392.
16. D'Angelica M, Fong Y. Sabiston Textbook of Surgery: Karaciğer. Çeviren: Anadol E, Aksoy AY, 17. basım, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2010, s.1513-1573.
17. Sielaff TD, Curley SA. Liver. Ed: F.C Brunnicardi. *Schwartz's Principles of Surgery*, 8th edition. The McGraw-Hill Companies, USA 2008, pp.1139-1186.
18. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CJ, et al (eds). *Cecil Essentials of Medicine: Sarılık, bilirubin metabolizması*. 3. baskı. Çeviri: Tuzcu M (ed). Yüce Yayım, İstanbul 1995, s.323.
19. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CJ, et al (eds). *Cecil Essentials of Medicine: Karaciğer Hastalığında Laboratuvar Testleri*. 3. baskı. Çeviri: Tuzcu M (ed). Yüce Yayım, İstanbul 1995, s.320-322.

20. Moray G, Özenç A. Safra Kesesi ve Biliyer Sistem Hastalıkları. Ed: H Gülay. Temel ve Sistematik Cerrahi, 1.Baskı. İzmir Güven Kitapevi Ltd. Şti, İzmir 2005, s.1219-1311.
21. Scott-Conner CEH, Grogan JB: The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Res* 1994; 57:316–336.
22. Sakaguchi S, Furusawa S, Yokota K, et al. The enhancing effect of tumor necrosis factor-alpha on oxidative stress in endotoxemia. *Pharmacol oxicol.*1996; 79:259–265.
23. Pata C, Caglikulekci M, Cinel L, et al. The effects of antithrombin-III on inducible nitric oxide synthesis in experimental obstructive jaundice: an immunohistochemical study. *Pharmacol Res* 2002; 46:325–331.
24. Unno N, Wang H, Menconi MJ, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin-induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. *Gastroenterology* 1997; 113:1246–1257.
25. Tsuji K, Kubota Y, Yamamoto S, et al. Increased neutrophil chemotaxis in obstructive jaundice: an in vitro experiment in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14:457–463.
26. 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.
27. Randall G, Lee MD (eds). Diagnostik liver pathology: Cholestasis an biliary obstruction. Mosby Company, 1994, pp.81-107.
28. Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990; 99:466-477.
29. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stres. *Mol Aspects Med* 2000; 21:49-98.
30. Rojkind M, Giambrone MA, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterology* 1979; 76:710-719.

31. Halliwell B. Commentary oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Rad Res* 1996; 25:57-74.
32. Frenkel K. Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. *Pharmac Ther* 1992; 53:127-166.
33. Serafini M, Baynes JW, Del Rio D. Role of oxidative stress in development of Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Report* 2004; 9: 145-152.
34. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
35. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3.ed. Oxford University Press. Inc, London 1999; pp:150-152.
36. Simic MG. DNA Markers of oxidative process in vivo: relevance to carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Carcinogenesis* 1994; 54 (suppl):1918-1923
37. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec JL. Free radicals and antioxidant systems in health and diseases. *British J Hosp Med* 1990; 43:334-344.
38. Yagi K. Lipid Peroxides and Human Diseases. *Chem Phys Lipids* 1987; 45: 337-351.
39. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32:307-326.
40. Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* 2002; 32:790-796.
41. Berlett BS, Stadtman ER, et al. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272:20313-20316.
42. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER, et al. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radic Res* 2000; 33:99-108.

43. Shan X, Aw TY, Jones DP, et al. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmac Ther* 1990; 47:61-71.
44. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts II LF. A series of prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:9383-9387.
45. Lunec J, Herbert K, Blount S, Griffiths HR, Emery P. 8 Hydroxydeoxyguanosine a marker of oxidative DNA damage in systemic lupus erythematosus. *Febs Letters* 1994; 348:131-138.
46. Collins AR, Dusinska M, Gedik CM, Stetina R. Oxidative damage to DNA: Do we have a reliable biomarker? *Environmental Health Perspectives* 1996; 104(suppl3):465-469.
47. Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology* 1995; 49:1341-1348.
48. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 1996; 27:41-50.
49. Southorn PA, Powis G, et al. Free radicals in medicine. I. Chemical Nature And Biologic Reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63:381-390.
50. Boyunağa H, Çelik C. Serbest radikaller ve hücre sel denge. *Bilim Teknik Dergisi* 1996; 347:98-100.
51. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* 1990; 9:1-32.
52. Burcombe R, Wilson GD, Dowsett M, Khan I, Richman PI, Daley F, Detre S, Makris A, et al. Evaluation of Ki- 67 proliferation and apoptotic index before, during and after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer. *Breast Cancer Res* 2006; 8:3-31.
53. Yamashita C, Oobo H, Tsuji F, et al. Effect of prostaglandin I<sub>2</sub> and superoxide dismutase on reperfusion injury of warm ischemic lung. *Ann Thorac Surg* 1992; 54:921-924.

54. Okada Y, Marchevsky AM, Kass RM, Matloff JM, Jordan SC. A stable prostacyclin analogue, beraprost sodium, attenuates platelet accumulation and preservation – reperfusion injury of isografts in a rat model of lung transplantation. *Transplantation* 1998; 66:1132-1136.
55. Riva CM, Morganroth ML, Ljungman AG, et al. Iloprost inhibits neutrophil induced lung injury and neutrophil adherence to monolayers. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990; 3:301-309.
56. Takeuchi K, Suzuki S, Kako N, et al. A prostacyclin analogue reduces free radical generation in heart - lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1992; 54:327-332.
57. Allison RC, Kyle J, Adkins WK, Prasad VR, McCord JM, Taylor AE. Effect of ischemia reperfusion or hypoxia reoxygenation on lung vascular permeability and resistance. *J Appl Physiol* 1990; 69:597-603.
58. Hosenpud JD, Bennet LE, Keck BM, Boucek MM, Novick RJ. The Registry of the International Society of Heart and Lung Transplantation: seventeenth official report 2000. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19:909-931.
59. Lee CT, Fein AM, Lippmann M, Holtzman H, Kimbel P, Weinbaum G. Elastolytic activity in pulmonary lavage fluid from patients with adult respiratory distress syndrome. *N Eng J Med* 1981; 304:192-196.
60. Hoepfer MM. Long-term treatment of pulmonary hypertension with aerosolized iloprost. *Eur Respir J* 2001; 17:1334-1335.
61. Bugiardini R, Galvani M, Ferrini D, Gridelli C, Tollemeto D, Macri N, Puddu P, Lenzi S. Myocardial ischemia during intravenous prostacyclin administration: hemodynamic findings and precautionary measures. *Am Heart J* 1987; 113:234-240.
62. Elinav E, Chajek-Shaul T, Stern M. Improvement in cholesterol emboli syndrome after iloprost therapy. *BMJ* 2002; 324:268-269.
63. Addonizio VP Jr, Fisher CA, Kappa JR, Ellison N. Prevention of heparin-induced thrombocytopenia during open heart surgery with iloprost (ZK36374). *Surgery* 1987; 102:796-807.



64. JR, Fisher CA, Todd B, Stenach N, Bell P, Campbell F, Ellison N, Addonizio VP. Intraoperative management of patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Thorac Surg* 1990; 49:714-722.
65. Piquemal R, Emmerich J, Guilmot JL, Fiessinger JN. Successful treatment of ergotism with Iloprost: a case report. *Angiology* 1998; 49:493-497.
66. Langer F, Wendler O, Wilhelm W, Tscholl D, Schafers HJ. Treatment of a case of acute right heart failure by inhalation of iloprost, a long-acting prostacyclin analogue. *Eur J Anaesthesiol* 2001; 18:770-773.
67. Gaetani E, Flex A, Pola P, Pola R. Iloprost for age-related macular degeneration: long-term efficacy evaluation. *J Am Geriatr Soc* 2002;50:780-781
68. Bertele V, Mussoni L, del Rosso G, Pintucci G, Carriero MR, Merati MG, Libretti A, de Gaetano G. Defective fibrinolytic response in atherosclerotic patients, effect of iloprost and its possible mechanism of action. *Thromb Haemost* 1988; 60:141-144.
69. Oberender H, Kraus T, Schafer M, Belcher G. Clinical benefits of iloprost, a stable prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) analog, in severe peripheral arterial disease (PAD). *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1989; 19:311-316.
70. Torley HI, Madhok R, Capell HA, Brouwer RM, Maddison PJ, Black CM, Englert H, Dormandy JA, Watson HR. A double blind, randomised, multicentre comparison of two doses of intravenous iloprost in the treatment of Raynaud's phenomenon secondary to connective tissue diseases. *Ann Rheum Dis* 1991; 50:800-804.
71. Biasi D, Caramaschi P, Carletto A, Zeminian S, Schiavon F, Bambara LM. A case of diffuse systemic sclerosis treated with a 28-day infusion of iloprost. *Clin Rheumatol* 1997; 16:111-112.
72. Levin M, Nakhoul F, Keidar Z, Green J. Acute oliguric renal failure associated with unilateral renal embolism: a successful treatment with iloprost. *Am J Nephrol* 1998; 18:444-447.

73. Lehmann C, Taymoorian K, Wauer H, Krausch D, Birnbaum J, Kox WJ. Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on the plasma disappearance rate of indocyanine green in human septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26:1557-1560.
74. Shiesh SC, Chen CY, Lin XZ, Liu ZA, Tsao HC. Melatonin prevents pigment gallstone formation induced by bile duct ligation in guinea pigs. *Hepatology* 2000; 32:455-460.
75. Padillo FJ, Cruz A, Navarrete C, Bujalance I, Briceno J, Gallardo JI, Marchal T, Caballero R, Tunez I, Muntane J, Montilla P, Pera-Madrado C: Melatonin prevents oxidative stress and hepatocyte cell death induced by experimental cholestasis. *Free Radic Res* 2004; 38:697–704.
76. Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology* 1998; 27:1265-1274.
77. Pastor A, Collado PS, Almar M, Gonzalez-Gallego J. Antioxidant enzyme status in biliary obstructed rats: effects of N-acetylcysteine. *J Hepatol* 1997; 27:363-370.
78. Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990; 99:466-477.
79. Aytac E, Seymen P, et al. Iloprost pretreatment before unilateral nephrectomy: an experimental study in rats. *Asian J Surg* 2008; 31:69-74.
80. Aytac E, Seymen HO, Uzun H, et al. Effects of iloprost on visual evoked potentials and brain tissue oxidative stress after bilateral common carotid artery occlusion. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 74:373–378.
81. Addonizio VP Jr, Fisher CA, Kappa JR, Ellison N. Prevention of heparin-induced thrombocytopenia during open heart surgery with iloprost (ZK36374). *Surgery* 1987; 102:796-807.

82. Bertele V, Mussoni L, del Rosso G, Pintucci G, Carriero MR, Merati MG, Libretti A, de Gaetano G. Defective fibrinolytic response in atherosclerotic patients-effect of iloprost and its possible mechanism of action. *Thromb Haemost* 1988; 60:141-144.