

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

Murat KAYA

GENEL CERRAHİ

UZMANLIK

ŞANLIURFA-2011

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINDA THYMOQUINONE'NİN
KARACİĞER DOKUSUNA KORUYUCU ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat KAYA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Alpaslan TERZİ

ŞANLIURFA
2011

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINDA THYMOQUINONE'NİN
KARACİĞER DOKUSUNA KORUYUCU ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat KAYA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Alpaslan TERZİ

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 06.05.2010 Tarih ve 1014 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2011

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Alpaslan TERZİ'ye; Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ali UZUNKÖY, Doç.Dr.Fahrettin YILDIZ, Yrd.Doç.Dr. Abdullah ÖZGÖNÜL ve Doç.Dr.SacitÇOBAN'a; Tezimin her aşamasında destek ve katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim dalından Prof.Dr.Nurten AKSOY ve Öğr.Gör. Abdullah TAŞKIN'a; Patoloji Anabilim Dalından Doç.Dr.Muhammed Emin GÜLDÜR, Doç.Dr. İlyas ÖZARDALI , Dr. Özlem DOĞAN'a; istatistik çalışmalarımındaki yardımlarından dolayı Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalından Yrd.Doç.Dr.MehmetVURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan zevk aldığım klinik asistan arkadaşlarıma; Genel Cerrahi servisi başta olmak üzere,Ameliyathane,Yoğun Bakım Ünitesi ve diğer kliniklerdeki tüm Öğretim üyesi,Asistan,hemşire ve diğer personele ve asistanlığım boyunca resmi yazışmalar ve daha birçok konuda, engin bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bizlere yardımcı olan, personel şubesi çalışanları başta olmak üzere tüm idari personele teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca hep yanımda hissettiğim, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem ve babama; Uzmanlık eğitimim süresince ve öncesinde fedakârlığı, anlayışı ve sabrı için Sevgili eşim Meziyyet'e ve bu süreçte ilgi ve sevgimden yoksun kalan çocuklarım Fatma Selin, Fatih ve Elif Azra'ya minnet ve şükranlarımı sunarım.

Murat KAYA
ŞANLIURFA 2011

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | iii |
| RESİMLER DİZİNİ..... | iv |
| TABLolar DİZİNİ | v |
| GRAFİKLER DİZİNİ..... | vi |
| KISALTMALAR VE SİMGELER | vii |
| ÖZET..... | viii |
| ABSTRACT..... | x |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 2 |
| 2.1. Karaciğer..... | 2 |
| 2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı..... | 8 |
| 2.3. Serbest Radikaller..... | 9 |
| 2.4. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri..... | 15 |
| 2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri..... | 18 |
| 2.6. Total Antioksidan Status/Seviye (TAS)..... | 22 |
| 2.7. Total Oksidatif Stres (TOS)..... | 23 |
| 2.8. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)..... | 23 |
| 2.9. Thymoquinone..... | 24 |
| 2.10. Prolidaz..... | 26 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM..... | 27 |
| 4. BULGULAR..... | 35 |
| 5. TARTIŞMA..... | 44 |
| 6. SONUÇ..... | 49 |
| KAYNAKLAR..... | 50 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Karaciğerin ligamentleri ile birlikte anterior görünümü..... | 2 |
| Şekil 2. Karaciğer ve ligamentlerinin inferior görünümü..... | 3 |
| Şekil 3. Karaciğerin segmental yapısı (Couinaud'a göre)..... | 4 |
| Şekil 4. Thymoquinone'nin kimyasal yapısı..... | 25 |

RESİMLER DİZİNİ

| | |
|---|-----------|
| Resim 1. Ratlara uygun pozisyon verilmesi ve tesbiti..... | 28 |
| Resim 2. Hepatikoduodenalligamentin ortaya konulması | 28 |
| Resim 3. Hepatikoduodenalligamentin ortaya konulması..... | 29 |
| Resim 4. Hepatikoduodenalligamentinklemlenmesi..... | 29 |
| Resim 5. Hepatikoduodenalligamentinklemlenmesi..... | 30 |
| Resim 6. Hepatikiskemi oluşturulması..... | 30 |
| Resim 7. Sham grubuna ait karaciğer dokusunda, ortasında santral ven ve çevresinde safra kanalları izlenen düzenli yapıda portal alan..... | 41 |
| Resim 8.A: İskemi-reperfüzyon grubuna ait iki olguda portal alanlarda iltihabi infiltrasyon görünümü..... | 42 |
| Resim 8.B: İskemi-reperfüzyon grubuna ait iki olguda portal alanlarda iltihabi infiltrasyon görünümü..... | 42 |
| Resim 9. İskemi-reperfüzyon grubuna ait bir olguda fokalspotty nekroz ve inflamasyon görünümü..... | 43 |
| Resim 10. İskemi-reperfüzyon sonrası Thymoquinone verilen grupta portal alanın mikroskopik görünümü..... | 43 |

TABLULAR DİZİNİ

| | |
|---|-----------|
| Tablo 1. Sham ve kontrol gruplarında plazma parametrelerin ortalama, Standart sapma ve standart hata değerleri..... | 36 |
| Tablo 2. Sham ve kontrol gruplarında doku parametrelerin ortalama, Standart sapma ve standart hata değerleri..... | 37 |
| Tablo 3. Kontrol ve TQ gruplarında plazma parametrelerin ortalama, Standart sapma ve standart hata değerleri..... | 39 |
| Tablo 4. Kontrol ve TQ gruplarında doku parametrelerin ortalama, Standart sapma ve standart hata değerleri..... | 40 |

GRAFİKLER DİZİNİ

| | |
|--|-----------|
| Grafik 1. Plazma ALTveAST seviyelerininkontrolve TQ gruplarındakarşılaştırılması..... | 37 |
| Grafik-2: Plazma LDHseviyelerininkontrolve TQ gruplarında karşılaştırılması..... | 38 |
| Grafik 3. Plazma TAS değerlerininkontrolve TQ gruplarında karşılaştırılması..... | 38 |

KISALTMALAR VE SİMGELER

| | |
|--------|-------------------------------------|
| ALT | AlaninAminotransferaz |
| AST | AspartatAminotransferaz |
| ATP | Adenozintrifosfat |
| CAT | Katalaz |
| EDRF | Endotel kaynaklı gevşetici faktör |
| GSH | Glutasyon |
| GSH-Px | Glutasyonperoksidaz |
| GSPE | Grapeseedproanthocyanidinekstresi |
| HE | Hematoksilen-Eozin |
| HDL | Yüksek DansiteliLipoprotein |
| İ/R | İskemi/Reperfüzyon |
| KC | Karaciğer |
| KDH | Ksantindehidrojenaz |
| KOK | santinoksidaz |
| LDH | LaktatDehidrojenaz |
| MDA | Malondialdehit |
| MPO | Myeloperoksidaz |
| NAD | Nikotinamidadenindinükleotid |
| NADPH | Nikotinamidadenindinükleotid fosfat |
| OSİ | Oksidatif Stres İndeksi |
| ROS | Reaktif Oksijen Türevleri |
| Se | Selenyum |
| SOD | Süperoksitdismutaz |
| TAC | Total antioksidan kapasite |
| TAS | Total Antioksidan Seviye(Status) |
| TOS | Total Oksidatif Stres |
| TQ | Thymoquinone |
| UD | Urticadioica |

KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA THYMOQUINONE'NİN

KARACİĞER DOKUSUNA KORUYUCU ETKİSİ

Murat KAYA, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

ÖZET

Amaç: Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı, karaciğer travmalarında ve ameliyatlarında sık karşılaşılan bir durumdur. Reperfüzyon sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikalleri iskemi reperfüzyon hasarında önemli rol oynamaktadır. Thymoquinone, Nigellasativanın farmakolojik olarak bilinen en aktif içeriğidir. Thymoquinone'nin oksidatif hasara karşı koruyucu etkisini göstermek üzere çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalar bildirilmiştir. Biz bu çalışmada Thymoquinone'nin iskemi ve reperfüzyonabağlı karaciğer hasarında koruyucu etkisinin olup olmadığını bulmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Üç aylık 30 erkek Wistar Albinorats ham, kontrol ve Thymoquinone tedavi grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna ve Thymoquinone grubundakilerde 60 dakika hepatik iskemi ve takiben 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Thymoquinone grubundakilerde iskemi öncesi ve reperfüzyon öncesi intraperitoneal olarak 5 mg/kg Thymoquinone verildi. Ratlar, kan örnekleri ve karaciğer dokuları alındıktan sonra sakrifiye edildi. Serum aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, ve laktat dehidrogenaz seviyeleri araştırıldı. Hepatik dokuda total antioksidan seviye, katalaz, total oksidatif seviye, oksidatif stres indeksi ve miyeloperoksidaz değerleri ölçüldü. Aynı zamanda karaciğer dokusu ışık mikroskopu ile histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Thymoquinone grubundaki kontrol grubuna oranla karaciğer enzim seviyeleri bariz şekilde düşük bulundu. Karaciğer dokusunda Total

antioksidan seviye Thymoquinone grubunda kontrol grubuna oranla belirgin yükseklikte sitedildi. Histolojik olarak dokü hasarı Thymoquinone tedavisi grubunda kontrol grubuna oranladahafif olarak değerlendirildi.

Sonuç: Çalışmamız Thymoquinone'nin karaciğer iskemireperfüzyon hasarında karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkilerini ortaya koydu.

Anahtar Kelimeler: Thymoquinone, iskemireperfüzyon hasarı, karaciğer

PROTECTIVE EFFECTS OF THYMOQUINONE ON HEPATIC ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS

Murat KAYA, Department of General Surgery

Medical Specialization Thesis

ABSTRACT

Background: Liver ischemia reperfusion injury is a common situation for liver trauma and liver surgery. Oxygen free radicals, produced on reperfusion, play a critical role in the injury caused by ischemia-reperfusion. Thymoquinone, the active constituent of *Nigella sativa* seeds, is a pharmacologically active quinone. It has been reported that thymoquinone prevents oxidative injury in various in vitro and in vivo studies in rats. In this study, we aimed to determine whether Thymoquinone prevents hepatic ischemia-reperfusion injury to the liver.

Materials and Methods: Thirty 3-month-old male Wistar Albino rats were divided into three groups as sham, control, and Thymoquinone treatment group. Rats in control group and Thymoquinone group underwent hepatic ischemia for 60 min followed by 60 min period of reperfusion. Rats in Thymoquinone group received Thymoquinone 5 mg/kg intraperitoneally, before ischemia and before reperfusion. Blood samples and liver tissues were harvested from the rats, and then the rats were sacrificed. Serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and lactate dehydrogenase levels were determined. Total antioxidant capacity, catalase, total oxidative status, oxidative stress index and myeloperoxidase in hepatic tissue were measured. Also liver tissue histopathology was evaluated by light microscopy.

Results: The levels of liver enzymes in Thymoquinone group were significantly lower than in control group. Total antioxidant capacity in liver tissue was significantly higher in

Thymoquinone group than in control group. Histological tissue damage was milder in the Thymoquinone treatment group than that in the control group.

Conclusion: Our study revealed that Thymoquinone protects the rat liver against to hepatic ischemia-reperfusion injury.

Keywords: Thymoquinone, ischemia reperfusion injury, liver

1.GİRİŞ

Travma, karaciğer transplantasyonu, karaciğer rezeksiyonu, safra yolu tıkanıklıkları, hemorajik veya kardiyojenik şok gibi durumlar sırasında karaciğerde iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı oluşabilir. Karaciğer (İ/R) hasarında reaktif oksijen türevlerinin oluşumu, sitokinlerin salınımı ve Kupffer hücrelerinde aktivasyon, nitrik oksit ve endotelin dengesinde bozulma, nötrofil lökositlerin toplanması, pH değerlerinde bozulma gibi çeşitli hücrel ve moleküler değişiklikler önemli rol oynar. Bu değişikliklerde hücre ölümüne, organ fonksiyon bozukluklarına ve sonrasında da organ kaybına neden olabilmektedir. İ-R hasarı karaciğer rezeksiyonu ya da nakli sonrasında görülen fonksiyon kaybı ya da fonksiyonun bozulmasının başlıca nedenidir(1). Birçok çalışmada reperfüzyon hasarına karşı antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçların kullanımı ile bu hasarın şiddeti azaltılmaya çalışılmıştır.

Nigella Sativa Güneybatı Asya'da Ranunculacea ailesinden doğal yıllık otsu bir bitkidir. Nigella Sativa'nın antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antihistaminik ve antibakteriyel gibi çeşitli terapötik etkileri tanımlanmıştır. Ayrıca Nigella Sativa'nın karaciğer de dahil olmak üzere çeşitli organlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. (2).

Thymoquinone(TQ) ise Nigella sativadan elde edilen yaklaşık 40 ayrı etken maddeden en etkili ana aktif bileşendir(3,4,5). TQ farmakolojik olarak aktif kinondur. TQ'nun da antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör, antihistaminik, antibakteriyel gibi çeşitli terapötik etkileri tanımlanmıştır(6,7). Ratlarda çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalarda TQ'nun oksidatif hasardan koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir. Buda TQ'nun dokuda antioksidan bir ajan olarak membran lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir(8). Ayrıca değişik organlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı TQ'nun koruyucu etkisini göstermek üzere çok sayıda in vivo ve in vitro çalışmalar bildirilmiştir(6,9).

Biz bu çalışmamızda TQ'nun karaciğer iskemi ve reperfüzyon hasarında karaciğer dokusu üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığını bulmayı amaçladık.

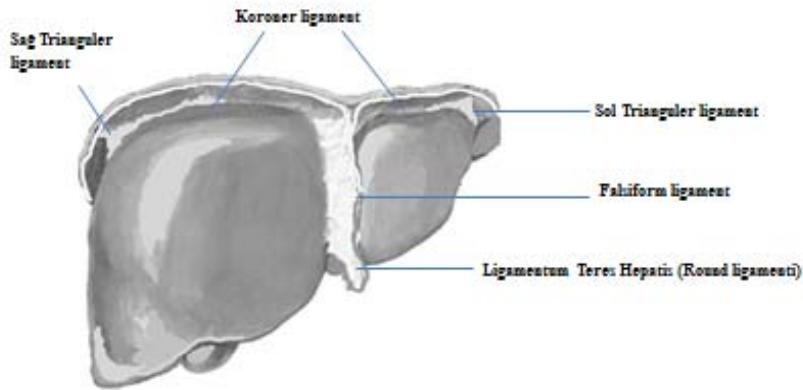
2.GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1 Karaciğer anatomisi

Karaciğer karın boşluğundaki en büyük organdır. Normal ağırlığı erişkin erkeklerde ortalama 1400-1600 gr, erişkin bayanda ortalama 1200-1400 gr civarındadır(10). Karaciğer, hepatik venleri içeren hatlarla ayrılan seri segmentlerin birleşmesiyle oluşur. Karaciğer, içinde orta hepatik venin seyrettiği ana hepatik fissür ile 2 sektöre ayrılır. Temelde karaciğer 3 ana hepatik ven tarafından 4 segmente ayrılır. Sağ ile sol karaciğer arasındaki anatomik bölünme çizgisi, safra kesesi yatağının medial kenarından inferior Vena Cava'nın posteriorunun soluna doğru olan bir plan boyuncadır (Cantlie çizgisi)(11,12,13).

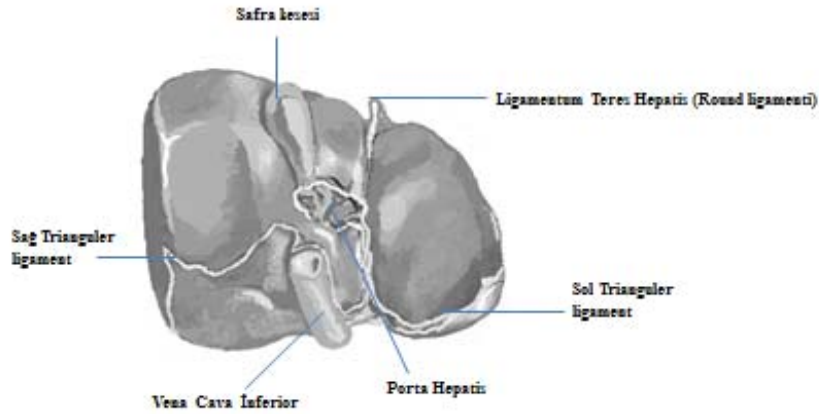
Karaciğerin yüzeyi, Glisson kapsülü denilen periton tarafından örtülür. Bu periton, karaciğerin sadece arka-alt bölümünde inferior Vena Cava ve hepatik venlere yakın bir kısmını örtmez. Karaciğerin visseral ve diafragmatik olmak üzere 2 yüzü vardır.(10,11)



Şekil 1. Karaciğerin ligamentleri ile birlikte anterior görünümü.

Karaciğer; falsiform ve teres hepatis ligamanları ile karın ön duvarına ve diafragmaya bağlanır. Karaciğeri örten periton (Glisson kapsülü), iki yaprak halinde diafragmaya yapışır. Bu iki ligamente anterior ve posterior koroner ligamentler denir. Bu ligamentler, sağda ve solda trianguler ligamentleri oluştururlar. Ayrıca önde birleşerek falsiform ligamenti meydana getirirler. Falsiform ligament içinde, sol umblikal ven kalıntısının oluşturduğu ligamentum teres hepatis vardır. Falsiform ligament ve ligamentum teres hepatis karaciğerikabaca sağ ve sol iki loba ayırır.

Teres hepatis ligamentinin oluşturduğu oluk ile safra kesesi yatağı arasındaki kısım kuadrat lob olarak adlandırılır. Porta hepatis,kaudat lobu kuadrat lobtan ayırır. Gastrohepatik ligament ile içinde karaciğere kan getiren portal ven ve hepatic arterin ve biliyer elemanların olduğu hepatoduodenal ligament karaciğeri yerinde tutan diğer anatomik oluşumlardır(11,14).



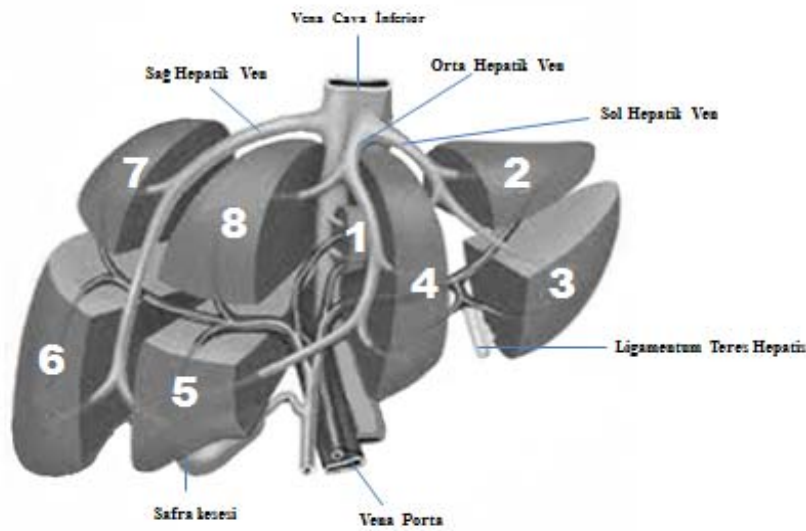
Şekil 2. Karaciğerve ligamentlerinin inferior görünümü

2.1.2. Fonksiyonel cerrahi anatomi

Karaciğer yapısal olarak hepatik venlerin durumuna göre ayrılmış segmentlerin birleşmesinden oluşur. Karaciğer içinde orta hepatik venin seyrettiği ana hepatik fissür ile sağ ve sol olmak üzere 2 loba ayrılır(11,12).

Karaciğerin yapısı, McIndoe ve Counseller (1927), Hjörstjö (1931), Ton That Tung (1939), Healey ve Schroy (1953), Goldsmith ve Woodburne (1957), Couinaud (1957) ve Bismuth ve ark.(1982)'nin çalışmalarıyla aydınlatılmıştır. Couinaud tarafından yapılan tanımlama yapılanlar içinde en ideal ve aynı zamanda karaciğer ameliyatları için en kullanışlı tanımlamadır.

Esas olarak karaciğer 3 ana hepatik ven tarafından 4 segmente ayrılır. Bu segmentler portal pedikül dallarını da alırlar. Bu portal dallar hepatik venlere alternatif oluştururlar. Ana portal fissür, orta hepatik veni içerir ve anteriorda safra kesesi yatağının ortasından posteriorda vena kava inferiorun soluna doğru ilerler. Sağ ve sol karaciğer lobları da bu ana portal fissüre göre ifade edilir. Sağ ve sol loblar arteriel, portal vaskülarizasyon ile biliyer drenajdan bağımsızdır(11,13,15).



Şekil 3. Karaciğerin segmental yapısı (Couinaud'a göre)

Karaciğer sağ ve sol lobları kendi aralarında portal fissürler ile ikiye ayrılırlar. Bu 4 alt grup Goldsmith ve Woodburne'nün tarifine göre segment olarak tanımlanırken, Couinaud'un bilimsel adlandırmasında sektör olarak ifade edilmektedir(11,13,15).

Karaciğer, vena porta ve A.hepatika ile beslenen ve hepatik venler tarafından drene edilir(11,14).

Sağ ile sol karaciğer lobları arasındaki anatomik bölünme, safra kesesi yatağının medial kenarından inferior vena kavanın soluna doğru olan bir plan boyuncaadır(Cantilie çizgisi)(11,14,16).

Ligamentum teres hepatisin solunda kalan karaciğer kısmı sol lob, sağında kalan kısmı ise sağ lob olarak adlandırılır. Portal venöz ve hepatik arteriyel dallar, segmental organizasyona uyarak segmentlerin içinde dağılırlar. Sektörler arası drenajı sağlayan hepatik venler, posterior vena cavaya doğru birbirine yaklaşır ve karaciğer içine ana fissürü belirler(11,12).

Supin pozisyonda frontal planda, sağ portal fissür, sağ karaciğeri anteromedial (anterior) ve posterolateral (posterior) olarak iki sektöre ayırır. Sağ hepatik ven, sağ fissür içinde seyreder. Karaciğer sağ lobu, içinden sağ hepatik venin seyrettiği sağ portal fissür ile ikiye ayrılır. Her iki sektör kendi içinde de ikiye ayrılır; anterior sektör (segment V) ve segment VIII) ve posterior sektör (segment VI ve segment VII) den oluşur(11,16,17).

Karaciğer sol lobu, içinde sol portal venin seyrettiği sol portal fissür ile 2 sektöre ayrılır. Sol portal fissür, ligamentum teresin posteriorunda, sol hepatik venin yönü ile aynı doğrultudadır. Böylece sol karaciğerin anterior sektörü, sağ lobun ana portal fissürünün solunda kalan bir kısmı ve sol lobun anterior kısmından oluşur. Posterior sektör, segment II denilen ve sadece sol lobun posteriorundan oluşan tek segmentten oluşur. Tek segmentten oluşan tek sektör budur. Anterior sektör, umbilikal fissür ile iki segmente ayrılır. Bunlar, medial segment (kuadrat lob ve segment IV) ve sol lobun anterior kısmından (segment III) oluşur(11,12,16,17).

Karaciğer hilusunda, sağ portal triad, sağ karaciğere girmeden 1-1,5 cm'lik kısa bir yol izler. Bununla birlikte sol tarafta portal triyad, kuadrat lobun altında 3-4 cm kadar ilerler ve gastrohepatik ligamentin üst kısmında peritoneal kılıf ile örtülür. Alt yüzeyde ise kuadrat lobdan bağ dokusu ile ayrılır. Sol portal dal, bu seyri esnasında anteriora yönelir, umbilikal

fissür içinde ilerleyerek segment II ve segment III'ün dallarını ve segment IV'ün rekürren dalını verir.

Kuadrat lobun altındaki pedikül, portal venin sol dalı ve sol hepatik kanal tarafından oluşturulur ve bu pedikül, umblikal fissürünün tabanında hepatik arterin sol dalıyla birleşir(11,14).

Portal pedikülün hilusta dallanması ve Scheele'nin (1994) tanımladığı sağ (segment V-VIII) ve sol (segment II-III) simetrik dağılım nedeniyle, segment IV süperior (IVa) ve inferior (IVb) olarak ikiye ayrılmıştır. Umblikal ven, orta hepatik ven bağlandıktan sonra segment IVb'nin drenajını sağlar ve bu, segmenter rezeksiyonun başarısı için önemlidir(11,18).

Kaudat lob (segment I), karaciğerin posteriora uzanan kısmıdır ve vena kava inferioru posteriora doğru sarar. Bu lobun, büyük vasküler yapılar arasında olması (posteriorda vena kavainferior, inferiorda sol portal triyad ve vena kava inferior, superiorda orta ve sol hepatik ven) önemini artırır. Kaudat lobun sınırı sol portal venden sol hepatik vene uzanan oblik düzlemdir. Sol kısım sabit büyüklükte ve sağ kısım değişken boyutta olabilir. Anterior yüzey, segment IV'ün posterior yüzeyi ile örtülüdür ve lateralde segment VI ve VII'nin içine karışır. Kan damarlarını ve biliyer dallarını, sağ ve sol portal triyaddan alır. Kaudat lobun sağ kısmı, portal venöz kanını, sağ portal ven veya vena porta bifurkasyonundan sağlarken, sol kısmı sadece sol portal venden sağlar. Benzer şekilde, arteriyel dolaşım ve biliyer drenaj, sağ tarafta posterior sektör damarlarından veya pedikülünden sağlarken, sol tarafta sol ana damarlarla sağlanır. Kaudat lobun hepatik venöz drenajı tektir ve doğrudan vena kava inferiora dökülür(11,14).

Kaudat lobun posterior kenarı, sol tarafta hafifçe diafragmanın crural alanına bitişik olup fibröz bir yapıya sahiptir ve çoğunlukla posteriora vena kava inferiorun arkasına genişler. Benzer yapıda fibröz bir doku segment VII'nin posterior yüzünden protrüze olarak venacava inferioru sarar. Bu ligament toplumda yaklaşık %50'nin üzerinde mevcuttur.

Kaudat lobun kaudal kenarı, papiller oluşuma sahiptir ve %27 hastada bu oluşum büyüktür. Bu görünümde tomografide lenf nodu olarak değerlendirilebilir(11,17).

2.1.3. Karaciğer fizyolojisi

Karaciğer tarafından üretilen safra, başta bilirubin olmak üzere safra boyaları, safra asitlerinin bağlı tuzları, fosfolipidler, kolesterol, protein, elektrolitler, su ve birçok metabolitin karışımından meydana gelen sulu, karmaşık bir çözeltilidir. Osmolalitesi plazma gibi 300mOsm/kg'dır. Günde yaklaşık olarak 600 ile 1000 ml arasında safra salgınımı olur. Safra asitleri, karaciğer tarafından kolestrolde sentez edilir ve kolestrolün vücuttan atıldığı başlıca yolsafra ile atılmaktadır.

Bağırsaklardan emilen pentoz ve heksozlar karaciğerde vücuttaki en önemli karbonhidrat depolama şekli olan glikojen haline getirilir. Bu da glikojenez olarak adlandırılır. Tam tersine karaciğer glikojeni parçalayarak vücut için gerekli glikozu sağlayabilir. Bu işleme ise glikojenoliz adı verilmektedir. Karaciğer glikozu heksoz monofosfat üzerinden çeşitli şekillerde kullanılan pentozlara dönüştürür.

Karaciğer aynı zamanda yağ asitleri ile nötral yağları sentez ve katabolize eden bir organdır. Yağ asitleri 4 karbonlu keton cisimciklerine ve aktif asetat gibi 2 karbonlu bileşiklere dönüştürülür. Benzer şekilde gliserol de parçalanarak aktif asetata dönüştürülür. Kolesterol sentezi ve esterleştirilmesi temel olarak karaciğerde meydana gelen olaylardır. Karaciğer fosfolipid ve lipoproteinlerin de sentezinde ve parçalanmasında da önemli rol oynar.

Karaciğerde çeşitli proteinler aminoasitler kullanılarak sentez edilir. Deaminasyon yoluyla aminoasitlerden şeker ve yağ asitleri de meydana getirilebilir. Transaminasyon yoluyla azotlu olmayan bileşiklerden aminoasit üretilebilir. Albumin ve globülinin üretildiği tek organ karaciğerdir. Protein metabolizmasının son ürünü olan ürenin yapıldığı en önemli yerlerden biridir. Beta ve gamma globülin gibi globinler de karaciğerde üretilir.

Pıhtılaşmada rol oynayan proteinlerin çoğu karaciğerde sentez edilir. Bu pıhtılaşma faktörleri fibrinojen, protrombin ve faktör V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII'dir. Protrombin, faktör VII, IX, ve X'nun yapımı için K vitamini gereklidir. Bununla birlikte karaciğer kandaki plazminojen aktivatörlerini uzaklaştırarak kontrolsüz fibrinoliz olayına engel olur.

Vitaminlerin tamamı karaciğerde depolanır ve karaciğer tarafından kullanılır. A, D, E, K, ve B12 vitaminlerinin de ana deposu karaciğerdir.

Karaciğer aynı zamanda vücudun detoksifikasyon merkezidir. Karaciğer oksidasyon, redüksiyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle, steroid

hormonlar gibi içkaynaklı, ilaç ve kimyasal madde gibi dışkaynaklı birçok maddeyi yıkıma veya değişime uğratar.

Karaciğer retiküloendoteliyal sistemin bir parçası olan kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla kandan temizlendiği bir organdır.

Karaciğerin yapılan kan akımı ölçümleri, kalp dakika hacminin dörtte birinin karaciğere gittiğini ortaya koymuştur. Bu da normal bir kişide dakikada ortalama 1500 ml lik bir kan akımı anlamına gelir. Karaciğer kan akımının yaklaşık dörtte biri A. Hepatikalar tarafından sağlanır. Diğer kısmı ise vena porta tarafından sağlanır. Vena porta iç basıncı ortalama 7-10 mmHg kadardır. A. hepatica içindeki basınç ise, sistemik arteriyel basınç kadardır. Karaciğer sinüzoidlerinde ise basınç, ortalama 4-8 mmHg'ya kadar düşer. V. hepaticadaki basınç 3-6 mmHg kadardır. V. cava içerisinde basınç ise, diyafragma düzeyinde 2-5 mmHg kadardır. Bu basınç farkları kanın kalp yönünde akmasını sağlar. Vena porta kanının oksijen içeriği sistemik venöz kana oranla daha yüksektir (19).

2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı olarak organ ve dokunun yetersiz kanlanması ve bunun sonucunda da bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanır. İskemi sonrasında ise hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümü ortaya çıkmaktadır. İskemik dokuda hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak reperfüzyon dokuda paradoksal olarak iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasar meydana getirir (20,21).

Reperfüzyon hasarında, hızlı bir şekilde oluşan serbest oksijen radikalleri (ROS) başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynar. Reperfüzyon hasarında en fazla etkilenen hücresel yapılar, membran lipidleri, proteinler, nükleik asit ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (20,22).

İskemik dönemde hücrelerde metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi sonucunda hücrelerde oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin trifosfat ve fosfokreatin benzeri yüksek enerjili fosfatlar sentezlenemez (20,23).

Hücrede enerji depolarının boşalması neticesinde hücre zarındaki Na,K-ATPaz pompaları inhibe olur. Bunun sonucunda da hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonlarında artış olur(20,24). Hücre içi Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için ölümcül bir durumdur(20,25).

Aynı zamanda hücre içi iyon konsantrasyonlarının değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerle lökosit adhezyon molekül üretiminde artış olmasına karşın antioksidan enzim seviyelerinde azalma olur. Bundan dolayı hücre reperfüzyon döneminde hasara karşı dayanıksız duruma düşer. Adenozin trifosfat(ATP) üretimin durması buna karşılık kullanımının devam etmesi sebebiyle ATP'den oluşan adenozin, hızla hücre dışına difüze olarak inozin ve hipoksantine parçalanır. Bundan dolayı iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin yıkımı, sonrasında dokularda pürin metabolitleri olan ksantin ve hipoksantin birikimi ve aynı zamanda ksantin dehidrojenazdan (KDH) ksantin oksidaza (KO) oluşumu ortaya çıkar. Normal şartlarda hipoksantinin ürik asite metabolize olduğu reaksiyonda elektron alıcı olarak NAD^+ alırken hipoksi veya iskemi durumlarında $\text{KDH} \rightarrow \text{KO}$ 'a dönüşümüne bağlı olarak hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleştirilir. Bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılmaktadır(20,26).

2.3. Serbest Radikaller

Atomların yapısında bulunan elektronlar orbital adı verilen uzaysal bir yörüngede bulunmaktadır. Doğada birçok molekül çift elektrondur. Bunun yanında az sayıda molekül ise tek ve eksik elektron bulundurur. Eksik elektron bulunduran bu moleküller herhangi bir molekül ile karşılaştıklarında o moleküle etkileşime girerek elektron alır veya verirler. Bu şekilde başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapan ve onların yapısını bozan bu moleküllere serbest radikaller veya oksidan moleküller denmektedir. Paylaşılmamış elektronlar, genellikle üst kısma yazılan bir nokta (O^\cdot) veya çizgi (O^\cdot) şeklinde gösterilirler (27,28).

Bir başka deyişle serbest radikaller, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Genelde elektronlar atom veya moleküllerde eşlenik olarak bulunmaları

nedeniyle moleküller stabil haldedir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı bu stabiliteyi bozar ve molekülü reaktif hale getirir(20,29).

Serbest radikaller hücrelerin normal metabolizması sırasında çeşitli reaksiyonlar sonucu ortaya çıkabilir. Bunun yanında hava kirliliği, sigara, ışık, radyasyon, ısı, antineoplastik ilaçlar, anestezi maddeleri veya aromatik karbonların hücre içinde metabolizması sırasında da serbest radikaller oluşabilmektedirler. Yapılarındaki anstabil durum nedeniyle diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapılarını bozan serbest radikallerin yaşam süreleri de oldukça kısadır(27,30.).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelmektedir:

1. Kovalent bağların kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı atom üzerinde kaldığı homolitik kırılması sonucu yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık ile kırılması,

2. Molekülün heterolitik bölünmesi ile bir molekülden tek bir elektron kaybı veya radikal özelliği bulunmayan bir molekülde elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalması,

3. Bir moleküle tek bir elektron eklenmesi sırasında iki radikal reaksiyona giriyorsa, her iki radikalde ortadan kalkar. Bunun yanında bir radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona giriyorsa yeni bir serbest radikal oluşur. Bu özellik zincir reaksiyon oluşumuna neden olur. Serbest radikaller biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi sonucu ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller elektiriksel olarak pozitif, negatif veya nötrüklü olabilirler (28,31).

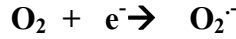
2.3.1. Reaktif Oksijen Türevleri (ROS)

Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijen türevi serbest radikallerdir. Moleküller oksijenin (O_2), iki tane eşlenmemiş elektronu bulunur. Dolayısıyla oksijenin kendisi de bir radikaldir. Ancak bu molekül reaktif bir özellik göstermemektedir. Bu özelliği nedeniyle oksijeni diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girebilmektedir. Oksijen serbest radikal olmayan moleküllerle daha yavaş reaksiyon oluşturur. Oksijen sitokrom oksidazın

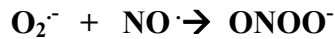
etkisiyle 4 elektron alarak indirgenir. Bununla birlikte kısmi redüksiyonlarda çok sayıda ve yüksek derecede reaktif ürünler ortaya çıkabilir. Çeşitli reaksiyonlardan sonra oksijen hücre içinde enson suya indirgenir(27,31,32).

2.3.1.1. Süperoksit Radikalleri (O₂⁻)

Canlılarda oluştuğu gösterilen ilk radikal süperoksit radikalidir. Aerobik hücrelerin tamamında oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu ortaya çıkabilir(27,31,32).



Süperoksit, serbest radikal olmasına karşın kendisi çok zararlı değildir. Önemi hidrojen peroksit kaynağı olması, aynı zamanda geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasından kaynaklanmaktadır(33).Süperoksit anyonu hücre içinde oksitleyici olarak görev yapar. Alınan elektron metal iyonu, sitokrom c veya bir başka radikale verilirse tekrar oksijene oksitlenme gerçekleşir. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi Sitokrom c'nin indirgenmesini inhibe eden enzimdir. Bu sayede SOD aktivitesi ve fagositler tarafından üretilen O₂⁻ tayini yapılabilmektedir(31,34). Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak bilinen nitrik oksit(NO)'in, bir süperoksitle birleşerek oluşturduğu reaksiyon peroksinitrit (ONOO⁻) ortaya çıkması nedeniyle fizyolojik bakımdan önemlidir.



Peroksinitritlerin proteinlere zararlı etkileri vardır. Bunun yanında azot dioksit (NO₂), hidroksil radikali (·OH) ve nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik metabolitlere dönüşebilmektedirler(35,36).

Süperoksit ile perhidroksil radikalleri SOD enzimi tarafından katalize edilen bir reaksiyona girdiklerinde dismutasyon reaksiyonu olarak adlandırılan oksijen ve hidrojen peroksit oluşur. Bu reaksiyonda Süperoksit ile perhidroksil radikallerinden biri okside olurken diğeri indirgenir.



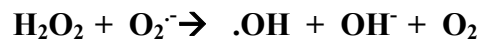
Hücrelerde süperoksit birikimi SOD enziminin yüksek kataliz gücü ile önlenmiş olur. Ancak süperoksit yapımının arttığı çeşitli patolojik durumlarda süperoksitlere bağlı tepkimeler görülmeye başlanır(37).

2.3.1.2. Hidroksil Radikalleri (HO[·])

Hemenhemen bütün biyomoleküllerle reaksiyona girebilen Hidroksil radikali (OH[·]) serbest radikaller içinde en kuvvetli oksidan özelliği olan radikaldir. Geçiş metallerinin varlığında Hidrojen peroksidin indirgenmesiyle hidroksil radikalleri oluşur ve bu radikaller çok kısa ömürlüdürler(31,35,38).



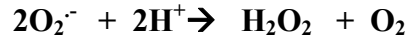
Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına rağmen, reaktif oksijen türleri içinde yer alır. Süperoksit ile reaksiyon sonucu kolayca yıkılır ve en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturur. Bu nedenle de serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar.



Katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilen bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir(28,31,35). Hidroksil radikali deoksiribonükleik asit'te mutasyonlara ve onkogenik aktivitenin artmasına neden olmasından dolayı aşırı hasarlar oluşturabilmektedir (31,39,40).

2.3.1.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

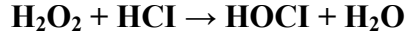
Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektron alması sonucu ya da süperoksitlerin enzimatik veya nonenzimatik dismutasyon reaksiyonları sonucunda oluşabilir. Hidrojen peroksid hücre membranlarından kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır (31,36).



Hidrojen peroksitin yapısında paylaşılmamış elektron bulunmadığından radikal özelliği yoktur ve reaktif değildir. Hidrojen peroksidin oksitleyici olarak bilinmesinin sebebi metal iyonları varlığında hidroksil radikali oluşumunda rol oynamasından kaynaklanır. Hücrelerde H₂O₂'in ortadan kaldırılmasında katalaz ve peroksidaz gibi antioksidan enzimler rol oynar (31)

2.3.1.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

Hipoklorik asit de radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türevleri (ROS) içinde sayılmaktadır. Aktive olan nötrofiller, monositler makrofajlar ve eozinofiller gibi fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde önemli rol oynarlar. Bu hücreler fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önemi olan süperoksit radikallerini (O₂⁻) üretirler. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz(MPO) enzimleri sayesinde önce O₂⁻'i oluşturur ve daha sonra dismutasyon yoluyla hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirirler. Bu reaksiyonla Hipoklorik Asit (HOCl)'i meydana getirirler. HOCl güçlü bir antibakteriyel ajandır.



2.3.1.5. Singlet O_2 ($\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$)

Singlet oksijen ($\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$) de radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Singlet oksijen serbest radikal reaksiyonları sonucunda oluşbilmesinin yanında, serbest radikal reaksiyonlarını da başlatabilir. Singlet oksijen kovalent tepkimelere girerek yada içerdiği enerjiyi diğer moleküllere transfer ederek reaksiyon oluşturur. Bu reaksiyonlar genellikle yapısında çift karbon bağı bulunan moleküllerle olur. Bunlardan moleküllerden bazıları; fenoller, tokoferoller, DNA, bilirubin, karotenler, kolesterol, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, triptofan, metionin, sistein ve histidindir. Singlet oksijenin doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girmesi sonucu peroksi radikali(ROO^\cdot) meydana getirilir ve lipid peroksidasyonu başlatabilir(36,40).

2.3.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+ , NO^-)

2.3.3. Serbest Radikal Üretim Kaynakları

2.3.3.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

1. Mitokondriyal elektron transport sistemi
2. Endoplazmik retikulum
3. Redoks döngüsü
4. Oksidan enzimlerin reaksiyonları
5. Oto-oksidasyon
6. Fagositoz
7. Araşidonik asit metabolizması

2.3.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

1.Çevresel etkenler : Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; aromatik karbonlar sigara dumanı, çözücüler, pestisitler, azot dioksit, sülfür dioksit, ozon, titanyum aliminyum, molibden, kurşun, nikel, kobalt gibi metaller, antibiyotik ve anestezikler gibi ilaçlar bu gruptandır.

2.Radyasyon

3.Antineoplastik ilaçlar (nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin)

4. Stres(36).

2.4. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

Vücutta birçok reaksiyon sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin zararlı etkilerinin azaltılmasını sağlayan savunma sistemleri mevcuttur. Serbest radikal oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasındaki denge devam ettiği sürece organizma bu maddelerden etkilenmemektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı hasarlar meydana gelmektedir (41,42).

2.4.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile oksidasyonuna lipid peroksidasyonu denilir ve lipid peroksidasyonu ile ortaya çıkan membran hasarı geri dönüşsüz bir hasardır. Lipid peroksidasyonunda, bir serbest oksijen radikalının etkisiyle membran yapısındaki doymamış yağ asidi zincirinin metilen (CH₂) grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılır. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali haline döner. Oluşan bu lipid radikali reaktif bir bileşiktir ve lipid radikali molekülleri oksijenle etkileşerek

lipid peroksid radikallerini oluştururlar. Lipid peroksid radikalleri de membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini de etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol ağarlar.

Bu arada lipid peroksid radikalleri de ağığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine donüşürler(31,36,43,44).

Lipid peroksidasyonu toplayıcı reaksiyonlarla sonlanır veya otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder. Lipid peroksidasyonu, serbest radikal kaynaklarının tümüyle stimüle olabilir ve metallerin varlığı durumunda artar. Bu metaller redoks katalizatoru gibi çalışırlar ve süperoksid ve hidrojen peroksidin daha güçlü oksidanlara donüşümünü katalizlerler (36,45). Lipid hidroperoksidlerinin yıkımı, geçiş metal iyon katalizini gerektirir. Lipid hidroperoksidleri yıkılarak biyolojik olarak aktif yapıdaki aldehidleri oluştururlar. Bu bileşiklerde hücre düzeyinde metabolize olur veya diffüze olarak hasarın yayılmasına sebep olurlar (31,36).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu malonildialdehid(MDA)meydana gelir. MDA düzeyi ise tiyobarbitürik asitle ölçülebilir. Genellikle lipid peroksid düzeylerinin ölçülmesinde bu yöntem kullanılır. MDA peroksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir göstergesi değildir ancak peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon göstermektedir(41,46).

Lipid peroksidasyonu bir zincir reaksiyonu şeklinde direkt membran yapısını etkiler, dolaylı olarak ise reaktif aldehidler üretmesi sayesinde hücrel hasar yapar. Böylece doku hasarı ve birçok hastalığa sebep olur(31).

Hidrofobik yapıya sahip olmaları sebebiyle lipid radikal reaksiyonlarının çoğunluğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelmektedir. Bu yüzden membran permeabilitesi ve mikroviskozitesi önemli derecede etkilenmektedir. MDA, membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona sebep olarak enzim aktivitesi, iyon taşınması ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi bazı membran özelliklerini değiştirmektedir. Yine diffüzyon özelliği sayesinde DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girebilmektedir. Tüm bu özellikleri sayesinde MDA, genotoksik, mutajenik ve karsinojenik bir bileşiktir(47).

2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller proteinleri içerdikleri aminoasit oranlarına göre farklı şekillerde etkilerler. Serbest radikallerle aminoasit moleküllerinin sülfidril veya amino gruplarının etkileşmesi nedeniyle proteinlerde meydana gelen bu etkiler;

1. Aminoasit modifikasyonu,
2. Protein fragmantasyonu
3. Protein agregasyonu veya çapraz bağlar

Fenilalanin, tirozin, triptofan, gibi aromatik aminoasitler doymamış yapılar içermesi nedeniyle serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. Sistein ve sistin gibi sülfür içeren aminoasitler de serbest radikallerden çok kolay etkilenirler. Proteinlerde meydana gelen bu yapısal değişiklikler proteinlerin proteolize hassas hale gelmesine neden olur. Ayrıca bu değişiklikler nedeniyle enzim, nörotransmitter ve reseptör fonksiyonlarında da bozukluklar meydana gelmektedir(36,43).

İmmunglobulin G ve albumin gibi yapısında fazla sayıda disülfit bağı bulduran proteinler de serbest radikallerle etkileşime girerek normal fonksiyonlarını kaybederler. Proteinler, protoporfirin IX ve ozon gibi okside edici ajanlarla etkileşerek dimerik bileşiklere veya daha büyük agregatlara dönüşebilmektedir. Prolin ve lizin gibi aminoasitler de serbest radikallerle etkileşerek nonenzimatik hidrosilasyona uğrayabilirler(31,36).

2.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Oksidasyon sonrasında monosakkaritlerden peroksit, hidrojen peroksit, ve okzoaldehitler meydana gelebilmekte ve bunlar da diabetin patogenezinde rol oynayabilmektedir. Yine, koroner arter hastalığı, hipertansiyon, diabet komplikasyonları, psöriazis ve Behçet hastalığı gibi çeşitli deri, kas ve göz hastalıklarında serbest oksijen radikallerinin arttığı ve aynı zamanda antioksidan savunma sistemlerinin dezayfladığı gösterilmiştir. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerindeki etkisine bir örnekte gzn vitröz

sıvısında bol miktarda bulunan hyalüronik asitin oksidatif hasarı sonrasında katarakt oluşumudur(36,48).

2.4.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyon sonrasında meydana gelen serbest oksijen radikalleri DNA'yı etkileyerek mutasyonlara sebep olmaktadır. Nükleik asitlerdeki baz modifikasyonlarına bağlı kromozom değişiklikleri veya DNA'daki diğer değişiklikler hücrelerde sitotoksik etki yapmaktadır. Örneğin hidroksil radikalleri, deoksiriboz ve bazlarla rahatlıkla reaksiyona girerek hücre hasarına neden olmaktadır. Aktive nötrofiller tarafından oluşturulan hidrojen peroksid de membranları kolaylıkla geçip hücre çekirdeğine ulaşmakta ve DNA hasarına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak hücrede fonksiyon bozukluğu ve hücre ölümü meydana gelmektedir. Bu kolay etkileşimler nedeniyle serbest oksijen radikalleri açısından DNA, önemli ve kolay bir hedefdir (31,35,36).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest oksijen radikallerinin hücre ve organlarda yapmış olduğu etkilerin ortadan kaldırılması veya azaltılması için vücutta birçok savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu savunma mekanizmaları "antioksidan savunma sistemleri" veya "antioksidanlar" olarak adlandırılır. Antioksidanlar, oluşan serbest oksijen radikallerini toplayarak ve/veya peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek peroksidasyon reaksiyonlarını durdurur ve oksidatif hasarı en aza indirirler(36). Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olmak üzere iki grupta toplanır.

2.5.1 Endojen antioksidanlar

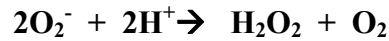
Endojen kaynaklı antioksidanlar da enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki grupta toplanırlar.

2.5.1.1 Enzimatik Antioksidanlar

1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD), oksijen kullanan tüm organizmalarda yaygın olarak bulunan metalloproteinlerdendir. İlk olarak Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968 yılında tanımlanmıştır. Bu enzim sayesinde süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülür (36,39).

SOD



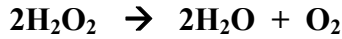
Spontan olarak da meydana gelebilen bu reaksiyonun hızı, SOD ile katalizlendiğinde 4000 kat artar. Bir grup metalloenzim olan SOD'ın iki tipi vardır. Bunlar stoplazmada bulunan SOD-1 (Cu-ZnSOD) ve mitokondride bulunan SOD-2 (MnSOD) dir .SOD'ın aktivitesi oksijen kullanımı yüksek olan dokularda fazladır.Normal şartlarda hücrelerde süperoksit anyon üretiminin arttığı durumlarda SOD enzimi sayesinde hücre içi süperoksit radikal seviyesi düşük tutulur. Böylece enzim oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin zararlı etkilerinden korumuş olur. Lipid peroksidasyonu da böylece inhibe olur. SOD enziminin hücre dışında aktivitesi çok düşük seviyelerdedir (49).

Süperoksit dismutaz aynı zamanda fagositoza uğrayan bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde de rol oynar. SOD granülosit fonksiyonları açısından önemli bir enzimdir. SOD enzimi DNA'yı radyasyonun iyonizan etkilerine karşı koruyucu özellik göstermektedir (39,50).

2. Katalaz

Katalaz (CAT), (H₂O₂ Oxidoreductase) hemen hemen bütün memeli hücrelerinde bulunur. CAT, aktif merkezinde 4 hem grubu içeren tetramerik yapıda bir hemoproteindir. CAT hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar. CAT aynı zamanda bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici substrat olarak diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilmektedir(51).

CAT

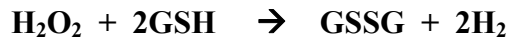


Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit, metil ve etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşı görülürken büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerde ise indirgeyici aktivite göstermez(36).

3. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin redüksiyonunu sağlayarak membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif hasardan korur. GSH-Px enzimi ilk kez Mills tarafından 1957'de gösterilmiştir. Selenyuma(Se) bağımlı ve selenyumdan bağımsız olmak üzere iki farklı yapıda GSH-Px vardır. Selenyuma bağımlı olan GSH-Px, H₂O₂ ve organik hidroperoksitlerin glutasyon tarafından indirgenmesini katalize eder. Tetramerik dört Se atomu içeren sitozolik bir enzimdir (43,52).

GSH-Px



Glutasyon(GSH)hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesi sırasında oksitlenirken, başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH ve GSH-Px enzimi sayesinde indirgenir ve reaksiyonların devamlılığı sağlanmış olur.

GSH-Px, fagositik hücreler için önemli fonksiyonlara sahiptir. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma sonucunda, hidrojen peroksid artar ve şiddetli hücre hasarı meydana gelir(53) .

4. Glutasyon-S-Transferaz

5. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

2.5.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1. A Vitamini (β -Karoten)
2. C Vitamini (Askorbik Asit)
3. E Vitamini (α -Tokoferol)
4. Polifenoller/Flavanoidler
5. Transferin ve Laktoferrin
6. Seruloplazmin
7. Albumin
8. Glutasyon (GSH)
9. Bilirubin
10. Melatonin
11. Ürik Asit
12. Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)
13. Ferritin
14. Mannitol
15. Ubikinon (Koenzim Q)
16. Allopurinol/Oksipurinol
17. Sistein/Asetilsistein
18. Haptoglobin
19. Adenozin
20. Hemopeksin
21. Sitokinler
22. Histidin

23. Selenyum

2.5.2. Eksojen antioksidanlar

Allopürinol, folik asit, C vitamini, troloks- C, asetilsistein, mannitol, adenozin ekzojen antioksidan grubundandır(36,54).

2.5.3. Antioksidan etki mekanizmaları

1.Toplayıcı/Süpürücü (scavenging) etki: Serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girerek onları tutma veya çok daha zayıf bir molekül haline çevirme işlemine toplayıcı etki denilir. Antioksidan enzimler bu tipte etki gösterirler.

2.Bastırıcı/Söndürücü (quenching) etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ve inaktif şekle dönüştüren reaksiyona bastırıcı etki denir. A vitamini ve flavinoidler bu şekilde bir etki yaparlar.

3.Zincir kırıcı (Chain breaking) etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellerler. Bu etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller zincir kırıcı özellik gösterirler.

4. Onarıcı (repair) etki:Hasar görmüş olan oksidatif biyomolekülleri onarırlar(36).

2.6. Total Antioksidan Status/Seviye (TAS)

Normal şartlarda organizma, endojen ve/veya eksojen nedenlerle meydana gelen serbest radikaller ve bu radikallere bağlı olarak gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı antioksidan savunma sistemlerinin çalışarak serbest radikallerin temizlenmesinde kan çok önemlidir. Antioksidanlar kan ile vücudun tamamına taşınır ve dağıtılır(55). Total antioksidan kapasitenin büyük bir kısmı plazmada bulunan antioksidan moleküllerle oluşturulur.Serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi antioksidanların yanında

yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar plazmada bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit gibi antioksidanlar ise plazmadaki total antioksidan seviyenin % 85'inden fazlasını meydana getirir. Çünkü bu antioksidanlar bilirubin, α -tokoferol, flavinoidler, indirgenmiş glutatyon ve β -karoten gibi antioksidanlara oranla plazmada daha yüksek seviyelerde bulunur. Antioksidanlar plazmada kendi aralarında da etkileşim içindedirler. Bu etkileşimler sayesinde antioksidanlar tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla antioksidan etki gösterebilmektedir. Glutatyonun askorbatı, askorbatın da α -tokoferölü yeniden aktifleştirmesi bu sinerjistik etkiye örnek olarak gösterilebilir. Bundan dolayıdır ki total antioksidan durumun belirlenmesi antioksidanların ayrı ayrı ölçülerek belirlenmesinden çok daha değerlidir(56,57).

2.7. Total Oksidatif Stres (TOS)

Vücudumuzda mevcut oksidan ve antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durum oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stresin toplam değeri Total Oksidatif Stres(TOS) olarak ifade edilir. Bu durum, aşırı miktarda reaktif oksijenradikali ve/veya nitrojen radikallerinin oluşumu veya antioksidan tampon sisteminin yersizliği sonucu ortaya çıkar. Reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinin seviyelerindeki artış ise hücreleretoksik etki yapar ve hücrenin lipit, protein ve DNA benzeri moleküllerine zarar verir. Bu gibi durumlarda damar endoteli daha az oranda etkilenir.

2.8. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total oksidanların seviyelerinin, total antioksidanların seviyelerine bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir ve OSI değerinin yüksek olması oksidatif stresin arttığı durumlarda ortaya çıkar(58,59).

$$\text{OSİ} = \frac{(\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}) \times 10}$$

2.9. Thymoquinone

Nigella sativa Güneybatı Asya'da Ranunculacea ailesine ait doğal yıllık otsu bir bitkidir. Özellikle Doğu Akdeniz ülkelerinde tohumları için yetiştirilir. *Nigella sativa* yaklaşık 20-30 cm uzunluğunda gür bir şekilde kendi kendine doğrusal olarak dallanan bir bitkidir. Çiçekleri narin ve genellikle beyaz veya soluk koyu mavi 5-10 yapraklıdır. Meyvesi her biri çok sayıda tohum içeren 3-7 birleşik folikülden oluşan büyük ve şişirilmiş bir kapsül şeklindedir.

Nigella sativa tohumları yağ ve protein açısından iyi bir kaynaktır. Tohumların analizi sonucunda % 20.85 protein,% 38.20 yağ,% 4.64 su, % 7.94 lif ve % 31.94 karbonhidrat içerdiği gösterilmiştir. (60). Kurşun, kadmiyum ve arsenik izine rastlanılmamıştır. Potasyum,fosfor,sodium ve demir baskın elementler olarak bulunurken çinko,kalsiyum,magnezyum,manganez ve bakır daha düşük oranlarda tesbit edilmiştir. (60).

Tohumlar potansiyel olarak yağ asitlerinin yaklaşık %84'ü oranında linoleic ve oleic asitten zengin doymamış yağ asitleri içerirken total protein içeriğinin yaklaşık %30'unu oluşturan esansiyel aminoasitleri içermesi nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır(60,61). Tohumların yağ içerikleri aynı zamanda önemli miktarda steroller de içerir. β -Sitosterol total sterol miktarının % 69 unu içeren baskın sterol iken kampesterol ve stigmasterol sırasıyla toplam sterolün % 12 ve % 19 unu teşkil eder(61). Tohum yağının polifenoller (1,744 $\mu\text{g} / \text{g}$) ve tokoferoller(toplam α -, β - ve γ -izomerlerinin 340 $\mu\text{g} / \text{g}$) açısından zengin olduğu bulunmuştur(61). *Nigella sativa* tohumları %36-38 oranında sabit(fixed) yağlar,proteinler,alkaloidler, saponinler ve %0.4-%2.5 oranında esansiyel yağ içerir(3). Sabit yağlar ağırlıklı olarak linoleik asit (C18: 2), oleik asit (C18: 1) ve palmitik asit (C16: 0) olarak adlandırılan yağ asitlerinden oluşur(60,62,63).

Birçok bileşeni uçucu esansiyel yağ ile karakterizedir. Bunlardan da önemli olanları thymoquinone (% 27.8 -57.0), p-simen (% 7.1 -15.5), thymol (% 5.8 -11.6), t-anetol (% 0.25-

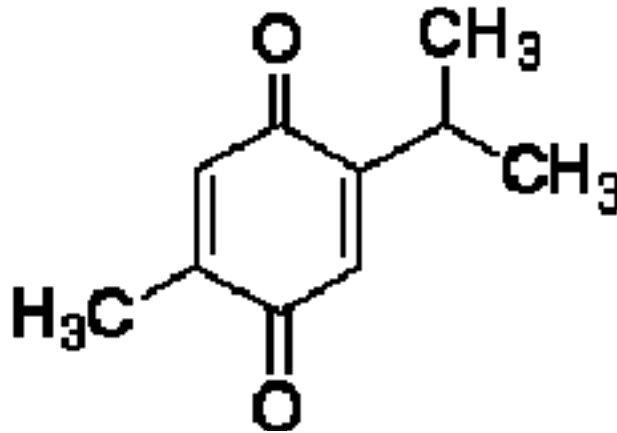
2.3) , 4-terpinol (%2.0 -6.6) ve longifoline (% 1.0 -8.0)dir(3,64).Thymoquinone Nigella sativadan çıkarılan uçucu yağın ana aktif bileşenidir(3,4,5).

Nigella sativa tohum yağları ve ekstralarında farmakolojik olarak aktif olan thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinone ve thymol ölçümlerinde iyi kalite kontrol yöntemleri kullanılmıştır(65).Diğer aktif bileşenler ise indazol çekirdek içeren nigellidine(66) ve bronşial astma tedavisinde kullanılan,uçucu yağ fraksiyonundan izole edilen nigellonedir (67).Aynı zamanda Nigella sativada üç flavinoid ve triterpen saponin tesbit edilmiştir(68,69).

Geleneksel kullanım:

Tohumlar doğal aromatik yapıları nedeniyle İtalya,Almanya,Güney Fransa ve Asya'da yemeklerde baharat olarak kullanılmaktadır. Halk hekimliğinde ise Mısır halkı tarafından diüretik, gaz giderici olarak, astma,solunum sıkıntısı ve öksürük tedavisinde kullanılmıştır(67).

Thymoquinone, Nigella Sativanın farmakolojik olarak bilinen en aktif içeriğidir(3,4,5).



Şekil 4. Thymoquinone'nin kimyasal yapısı

Eşanlamlısı: 2-Isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone

Kimyasal Formülü: C₁₀H₁₂O₂

Moleküler ağırlığı: 164.2 g/mol

2.10. Prolidaz

Prolidaz besinlerle alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynayan bir enzimdir. C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşikler Prolidaz tarafından hızlı bir şekilde hidrolize uğrarlar. Prolidazın bu reaksiyonu katalizleyen tek enzim olması nedeniyle spesifitesi yüksektir. Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsünde olmayan büyük miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılması gibi bozulmalara sebep olur. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Bu nedenle prolidaz enzim aktivitesini ölçmek etkilenen kişilerde mümkün olmamaktadır. Prolidaz iminopeptidler gibi aminoasitleri bağlar ve sonuçta eksikliği ortaya çıkmaktadır. Bu durumlarda görülen iminopeptidüri hiperparatiroidizm, raşitizm ve paget hastalığı gibi durumlarda da tanımlanmıştır (70).

Prolidaz eksikliği kollajen yapım yıkımının olduğu cilt ve diğer kollajen dokularda anormalliklere sebep olur. Etkilenen bölümlerden idrara aşırı miktarda iminopeptid kaçıması olur. Bu durum prolidaz için bupeptidlerin substrat olarak görev yapmalarını engeller. Nadir olarak görülen genetik prolidaz eksikliği otozomal resesif geçişlidir (71).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Yerel Etik Kurulu onayı (Hr.Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 18.02.2010 tarih ve B.30.HRÜn.0.05.07.00/270-40 sayılı onay kararı) alındıktan sonra, Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından Resmi Gazete'nin 6 Temmuz 2006 tarih ve 2622 sayılı nüshasında yayımlanan Hayvan Deneyleri Etik kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına dair Yönetmelik ile Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1 Çalışma gruplarının oluşturulması

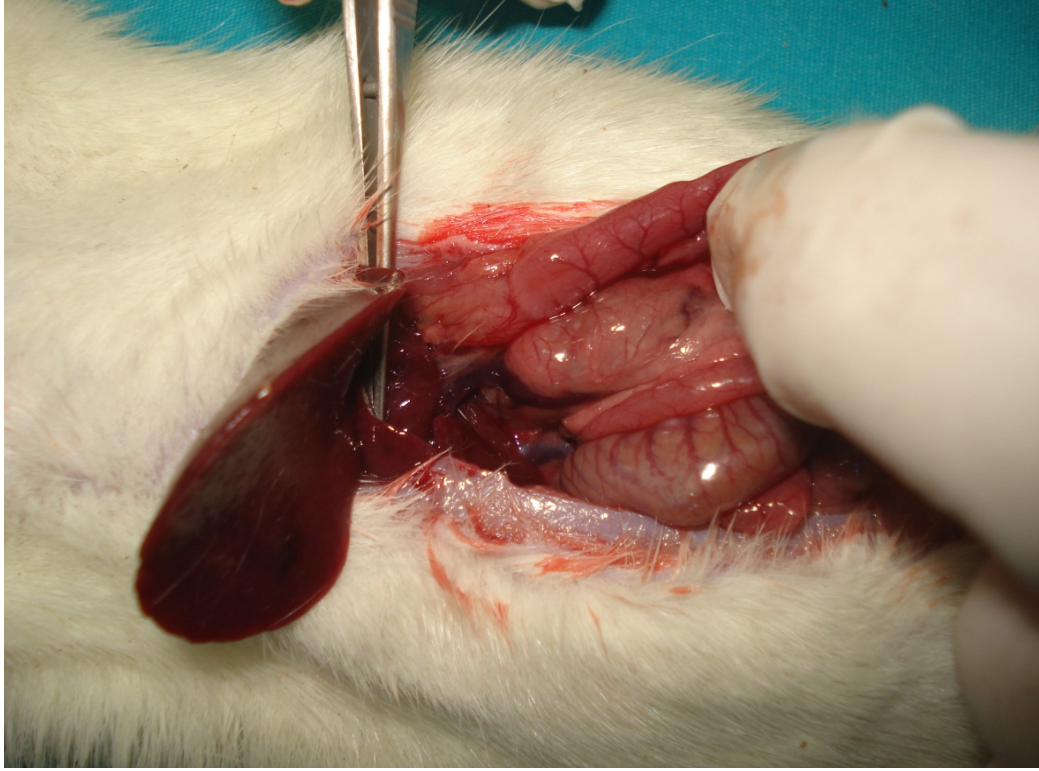
Ratlar çalışma öncesinde oda sıcaklığında ve 12 saat ışık 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Çalışmamızda ağırlıkları 180-240 gr arasında olan 30 adet Wistar-albino rat kullanıldı. Tüm ratlar standart koşullar altında şebeke suyu ve standart rat yemi ile beslendi. Girişimden 8 saat önce tüm ratların beslenmesi kesildi. Ratlar, opere sham grubu, İskemi/Reperfüzyon grubu (kontrol grubu), ve İskemi/Reperfüzyon (İ/R)+Thymoquinone (TQ) Grubu (TQ grubu) olarak eşit 3 gruba ayrıldı.

Ratların anestezisinde Ketamin ve Xylazine kombine kullanıldı. Ketamin 87 mg/Kg intraperitoneal olarak (Ketalar; Parke Davis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve Xylazine 13 mg/kg (Rompun; Bayer AG, Leverkusen Germany) dozlarında yapıldı. Ratlara uygun pozisyon verildi.(Resim-1)Ratların karın bölgesi dezenfekte edildikten sonra orta hat insizyonla laparotomi yapıldı. Sham grubuna laparotomi dışında işlem yapılmadı. Diğer 2 grupta hepatoduodenal ligament ortaya konularak hepatik arter, v. porta ve koledok mikrovasküler Bulldog klemp ile kapatıldı.(Resim-3,4,5) Altmış dakika iskemi yapıldıktan sonra klempler açılarak 60 dakika reperfüzyon sağlandı.(Resim-6) Kontrol grubuna herhangi

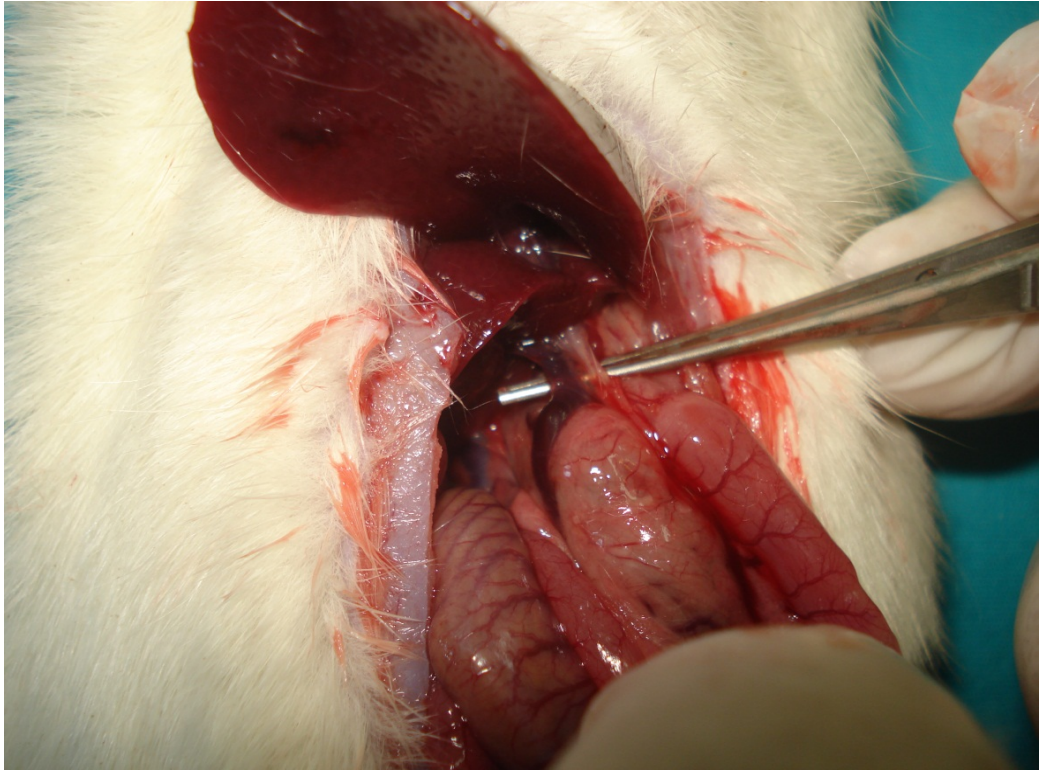
başka bir işlem yapılmadı. TQ tedavi grubuna iskemiden hemen önce ve reperfüzyondan hemen sonra 5 mg/kg intraperitoneal olarak TQ verildi.



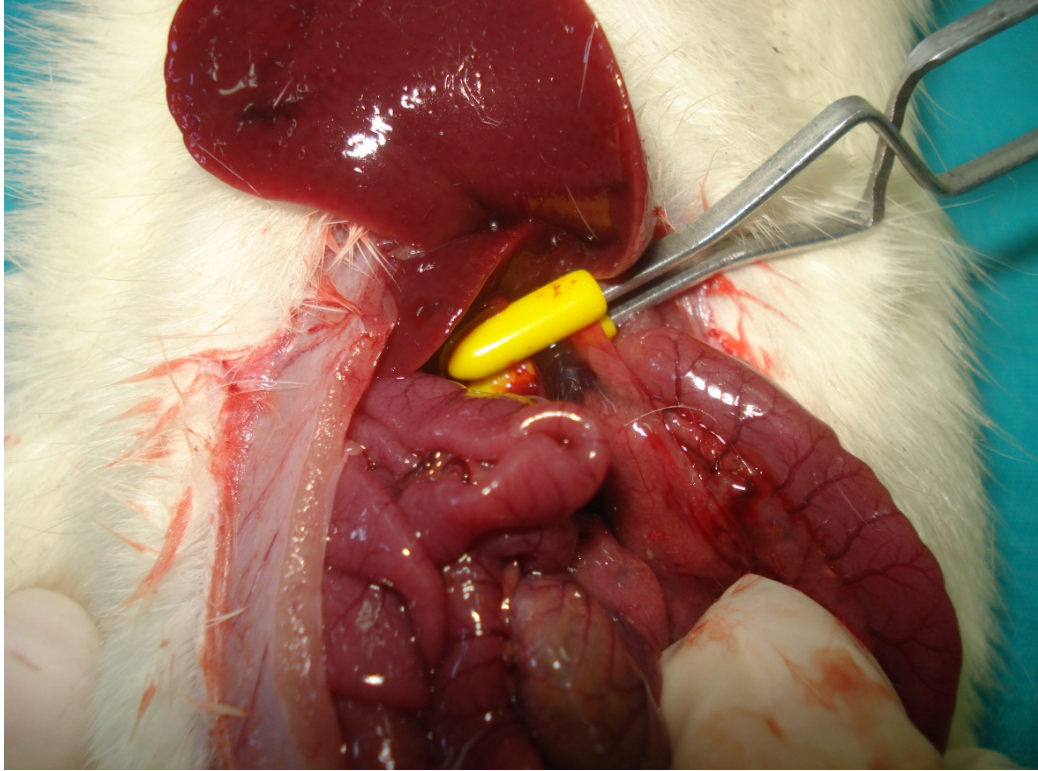
Resim 1. Ratlara uygun pozisyon verilmesi ve tesbiti



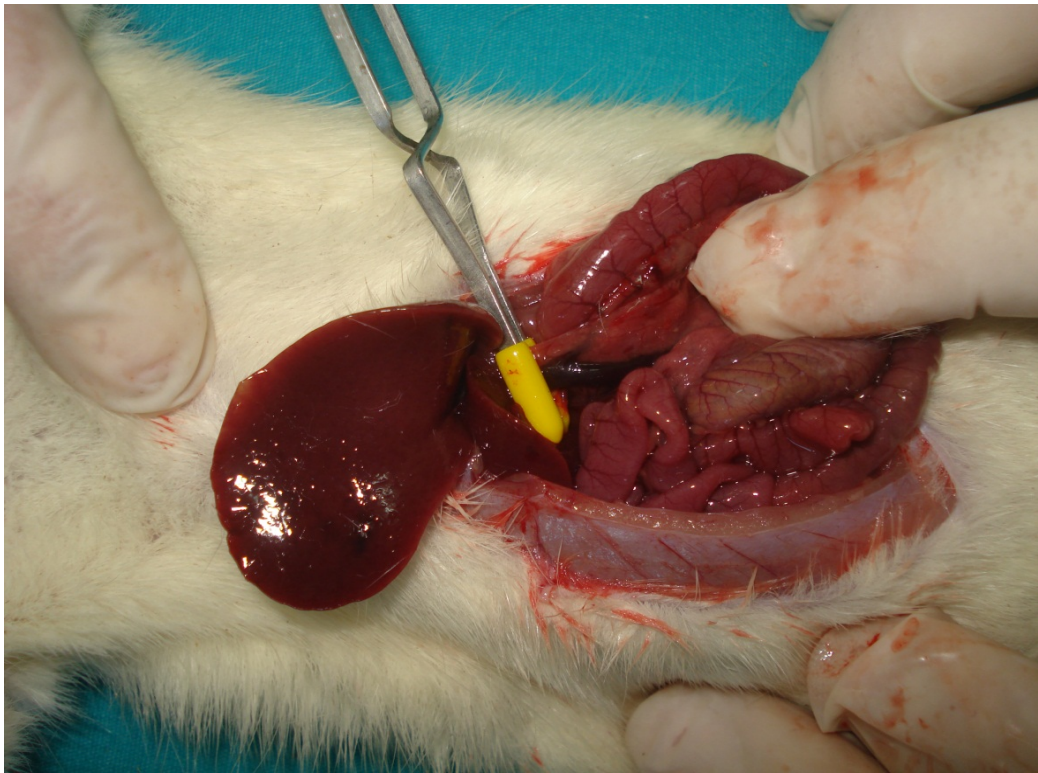
Resim 2. Hepatikoduodenal ligamentin ortaya konulması



Resim 3. Hepatikoduodenal ligamentin ortaya konulması



Resim 4. Hepatikoduodenal ligamentin klempenmesi



Resim 5. Hepatikoduodenal ligamentin klempenmesi



Resim 6. Hepatik iskemi oluşturulması

İşlem süresince ek doz anesteziiye ihtiyaç duyulmadı. İşlemin sonunda tüm ratlardan karaciğer dokusu ve kan örnekleme yapıldı.

Karaciğer dokuları %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde konarak patoloji laboratuvarına gönderildi. Hazırlanan parafin kesitlerden 4 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Bu kesitler deparafinizasyon işleminden sonra histopatolojik inceleme için Hematoksilen-Eozin (HE) boyası ile boyandı.

Ratlardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek ve elde edilen serumlar çalışılmak üzere Biyokimya laboratuvarında -80 °C derin dondurucuda saklandı. Aynı ratlardan elde edilen doku örnekleri de -80 °C derin dondurucuda saklandı.

3.2 Dokuların homojenizasyonu

Doku örneklerinin analizinden önce, bütün doku örnekleri tartıldı ve boş çalışma tüplerine yerleştirildi. Daha sonra boş tüplerde bulunan doku örnekleri üzerine her bir gram doku için, dilüsyon 1:10 olacak şekilde 140 mM KCl solüsyonu eklendi. Daha sonra bütün dokular mekanik karıştırıcıda homojenize edildi. Homojenat 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj

edildi. Santrifüj sonrası süpernatant'ın Toplam oksidatif seviyesi (TOS), Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), Prolidaz enzim aktivitesi ve diğer klinik testlerin ölçümü yapıldı. Sonuçlar gram protein cinsinden verildi (72).

3.3 Total Antioksidan Seviye (TAS)

Örneklerin total antioksidan seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilir(73). Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/gram protein olarak ifade edildi.

3.4 Total Oksidan Seviye (TOS)

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonuna kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edilir (74). Dokulardaki TOS sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/gram protein olarak ifade edildi.

3.5 Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS değerleri 10 ile çarpılarak TOS ile birimler eşitlenir. Örneklerin içerdiği Toplam Oksidan Seviye (TOS) düzeylerinin, örneklerin içerdiği Toplam Antioksidan Seviye (TAS) oranı Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) olarak belirtildi (75). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{(\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}) \times 10}$$

3.6 Prolidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Plazma/Serum Prolidaz enzim aktivitesi ölçümü Modifiye Chinard metodu ile manuel olarak ölçüldü. Yöntemin prensibi glisil-prolin substratının prolidaz enzimi aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile renkli bir bileşik oluşturma ilkesine dayanır. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve oluşan prolinin absorbansı 515 nm'de ölçülerek enzim aktivitesi U/L olarak tanımlanmıştır (76).

3.7 Katalaz aktivite ölçümü

H₂O₂ ile inkübe edilen ve amonyum molibdat eklenerek enzim reaksiyonları durdurulan serum CAT aktivitesi Goth tarafından tariflenen kolorimetrik bir yöntemle(77) tesbit edildi.Serum CAT aktivitesi kU / L olarak ifade edildi

3.8 Myeloperoksidaz (MPO)'ın belirlenmesi

WBC içinde bulunan, lizozomal oksidatif bir enzim olan doku MPO aktivite ölçümü Wei ve Frenkel (78)tarafından tariflenen metodla yapıldı ve veriler U/g protein olarak belirlendi.

3.9 Aspartat Aminotransferaz (AST)

Örneklerin içerdiği AST düzeyi Roche marka COBAS İNTEGRA 800 otoanalizöründe Roche marka AST kitleri kullanılarak ölçülmüştür. Testin prensibi transaminasyon reaksiyonunda gerçekleşen NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik AST aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki azalma 340 nm’de ölçülerek tayin edilir. Sonuçlar U/L olarak ifade edildi.

3.10 Alanin Aminotransferaz (ALT)

Örneklerin içerdiği AST düzeyi Roche marka COBAS İNTEGRA 800 otoanalizöründe Roche marka ALT kitleri kullanılarak ölçülmüştür. Testin prensibi transaminasyon reaksiyonunda gerçekleşen NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki azalma 340 nm’de ölçülerek tayin edilir. Sonuçlar U/L olarak ifade edildi.

3.11 Laktat Dehidrogenaz (LDH)

Örneklerin içerdiği LDH düzeyi Roche marka COBAS İNTEGRA 800 otoanalizöründe Roche marka LDH kitleri kullanılarak ölçülmüştür. LDH, L-laktatın pirüvata dönüşümünü katalize eder. İşlem sırasında NAD^+ NADH’ye indirgenir. NADH oluşumunun başlangıç hızı katalitik LDH aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki artış 340 nm’de ölçülerek tayin edilir. Sonuçlar U/L olarak ifade edildi

Doku örnekleri fosfat tamponu ile homojenize edildi, kan örnekleri ise çözülerek homojen hale gelmesi sağlandı. Doku ve Serum numuneleri biyokimya laboratuvarında Prolidaz enzim Aktivitesi düzeyi, Miyeloperoksidaz enzim aktivite düzeyi, Katalaz enzim Aktivite düzeyi manuel olarak, Total antioksidan kapasite (TAS) ve Total oksidatif seviye (TOS) parametreleri ise Abbot Aeroset marka oto analizör cihazında Erel tarafından geliştirilen Rel Assay ticari kitleri ile çalışıldı. Doku örneklerinde ayrıca lowry metodu ile

mikroprotein düzeyleri ölçüldü. Doku örneklerinde sonuçlar gr protein cinsinden verildi. Kontrol ve çalışma grubunun serum ve doku verileri Statistical Package for the Social Sciences(SPSS)'de karşılaştırılarak değerlendirildi.

Alınan doku örnekleri Patoloji bölümümüzde histopatolojik olarak incelendi.

3.12 İstatistiksel Analiz

İstatistik analizi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows, version 15.0 (SPSS Inc. Chicago, IL. USA) programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama + standard sapma olarak sunuldu. Verilerin dağılımının değerlendirilmesinde Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Her üç grupta da parametreler normal dağıldığı için grupların karşılaştırılmasında “Independent Samples t-test” kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular:

Kan ve doku örnekleri biyokimyasal olarak çalışıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Öncelikle iskemi reperfüzyon hasarı oluşup oluşmadığını değerlendirmek üzere sham ve kontrol grubu karşılaştırıldı. Sonrasında TQ tedavi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldı.

Plazma örneklerinde AST, ALT ve LDH seviyeleri kontrol grubunda sham grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu. (Sırasıyla $P < 0.01$, $P < 0.01$ ve $P < 0.01$).

Plazma TOS, MPO ve Prolidaz değerlerinde kontrol grubunda sham grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede artış tesbit edildi. (sırasıyla $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$)

Plazma OSİ değerlerin kontrol grubunda sham grubuna oranla artmıştı ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. ($P > 0.05$). Plazma Katalaz (CAT) değerlerinde Kontrol grubunda Sham grubuna oranla anlamlı bir düşüş tesbit edilmiştir ($P < 0.01$). Plazma TAS değerleri kontrol grubunda sham grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük tesbit edilmiştir ($P < 0.05$). Bu sonuçlar (**Tablo 1.**) de özetlenmiştir.

Doku örneklerindeki AST, ALT ve LDH seviyeleri kontrol grubunda sham grubuna oranla anlamlı derecede artmış olarak bulunmuştur (Sırasıyla $P < 0.01$, $P < 0.01$ ve $P < 0.01$).

Doku örneklerinde TOS, MPO ve Prolidaz değerlerinde kontrol grubunda sham grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede artış tesbit edildi. (sırasıyla $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$).

Doku örneklerinde TAS değerlerinde kontrol grubunda sham grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü. ($P < 0.01$). Doku örneklerinde Katalaz değerlerinde kontrol grubunda sham grubuna oranla anlamlı bir düşüş tesbit edilmiştir ($P < 0.01$). Bu sonuçlar (**Tablo 2.**) de özetlenmiştir.

Grup İstatistikleri (PLAZMASHAM/KONTROL)

| PARAMETRE | GRUP | N | Ortalama | Standart Sapma | Standart Hata |
|------------|------|----|----------|----------------|---------------|
| Plazma CAT | SHAM | 10 | 8,1140 | 2,88447 | ,91215 |

| | | | | | |
|-----------------|---------|----|-----------|-----------|-----------|
| | KONTROL | 10 | 3,5310 | 2,40782 | ,76142 |
| Plazma MPO | SHAM | 10 | 22,1570 | 11,97916 | 3,78814 |
| | KONTROL | 10 | 93,2280 | 75,22273 | 23,78752 |
| Plazma TAS | SHAM | 10 | ,7090 | ,30432 | ,09623 |
| | KONTROL | 10 | 1,1200 | ,47164 | ,14915 |
| Plazma TOS | SHAM | 10 | 18,1220 | 6,07359 | 1,92064 |
| | KONTROL | 10 | 29,5250 | 7,37371 | 2,33177 |
| Plazma AST | SHAM | 10 | 259,2000 | 492,02389 | 155,59162 |
| | KONTROL | 10 | 1290,7000 | 805,73418 | 254,79552 |
| Plazma ALT | SHAM | 10 | 53,6000 | 133,35017 | 42,16902 |
| | KONTROL | 10 | 273,4000 | 176,82081 | 55,91565 |
| Plazma LDH | SHAM | 10 | 979,4000 | 2463,6326 | 779,06906 |
| | KONTROL | 10 | 4907,8200 | 2900,1029 | 917,09308 |
| Plazma PROLİDAZ | SHAM | 10 | 703,5850 | 8,40775 | 2,65877 |
| | KONTROL | 10 | 719,3580 | 11,09750 | 3,50934 |
| Plazma OSİ | SHAM | 10 | 2,8380 | 1,36394 | ,43132 |
| | KONTROL | 10 | 2,9270 | ,77612 | ,24543 |

Tablo 1. Sham ve kontrol gruplarında plazma parametrelerin ortalama, Standart sapma ve standart hata değerleri.

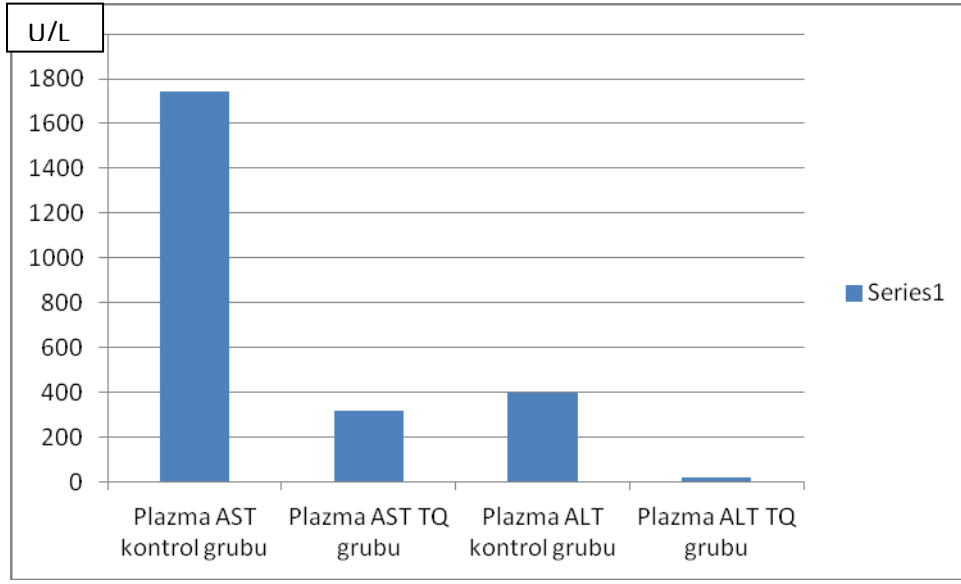
Grup İstatistikleri (DOKUSHAM/KONTROL)

| PARAMETRE | GRUP | N | Ortalama | Standart Deviasyon | Standart Hata |
|-----------|---------|----|-----------|--------------------|---------------|
| CAT | SHAM | 10 | 8,8090 | 2,15276 | ,68076 |
| | KONTROL | 10 | 2,4100 | ,52132 | ,16486 |
| MPO | SHAM | 10 | 19,1550 | 5,10510 | 1,61437 |
| | KONTROL | 10 | 61,5220 | 10,27041 | 3,24779 |
| TAS | SHAM | 10 | ,6110 | ,11921 | ,03770 |
| | KONTROL | 10 | 1,0820 | ,29491 | ,09326 |
| TOS | SHAM | 10 | 18,0450 | 6,04307 | 1,91099 |
| | KONTROL | 10 | 27,0540 | 6,90629 | 2,18396 |
| AST | SHAM | 10 | 103,1000 | 29,63650 | 9,37188 |
| | KONTROL | 10 | 1740,8000 | 445,69192 | 140,94016 |
| ALT | SHAM | 10 | 11,6000 | 3,40588 | 1,07703 |
| | KONTROL | 10 | 395,6000 | 38,98775 | 12,32901 |
| LDH | SHAM | 10 | 196,7200 | 47,48723 | 15,01678 |
| | KONTROL | 10 | 7010,1100 | 866,02281 | 273,86046 |

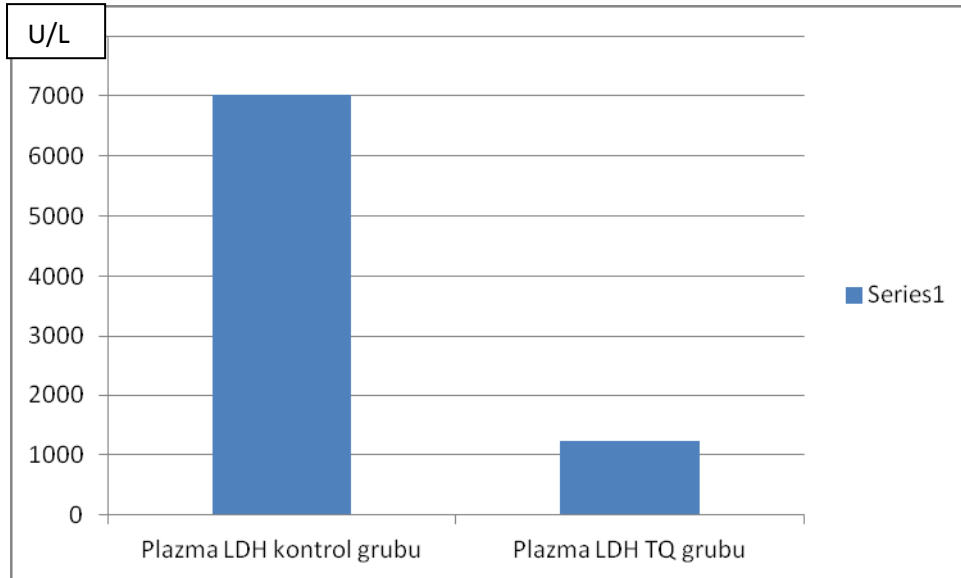
| | | | | | |
|----------|---------|----|----------|---------|---------|
| PROLIDAZ | SHAM | 10 | 704,0360 | 9,00989 | 2,84918 |
| | KONTROL | 10 | 720,6820 | 9,62631 | 3,04411 |
| OSI | SHAM | 10 | 3,0750 | 1,28408 | ,40606 |
| | KONTROL | 10 | 2,7450 | ,87541 | ,27683 |

Tablo 2.Sham ve kontrol gruplarında doku parametrelerin ortalama,Standart sapma ve standart hata değerleri.

Plazma ALT, AST ve LDH seviyeleri TQ grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşük bulundu.(Sırasıyla $P<0.05$, $P>0.05$, $P<0.01$).(**Grafik 1-2**)

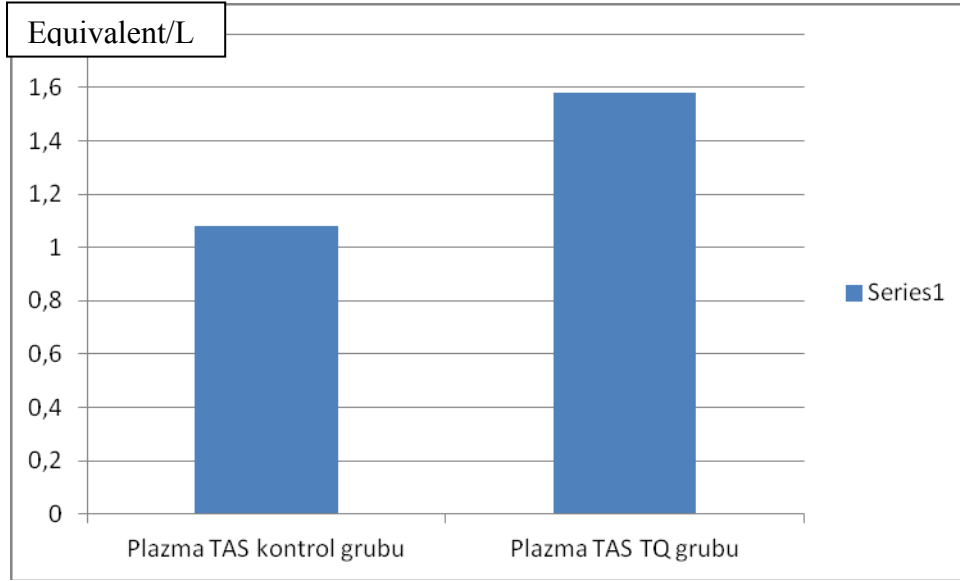


Grafik-1:Plazma ALT ve AST seviyelerinin kontrol ve TQ gruplarında karşılaştırılması



Grafik-2:Plazma LDH seviyelerinin kontrol ve TQ gruplarında karşılaştırılması

Plazma TAS değerlerinde Thymoquinone tedavi grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede artış tesbit edildi ($P < 0.01$).(**Grafik-3**)



Grafik-3:Plazma TAS değerlerinin kontrol ve TQ gruplarında karşılaştırılması

Plazma TOS ve OSİ değerlerinde Thymoquinone grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark tesbit edilmedi. ($P > 0.05$, $P > 0.05$). Plazma CAT değerlerinde Thymoquinone grubunda kontrol grubuna oranla artış olmakla birlikte istatistiksel anlamlı bulunmadı ($P > 0.05$). Plazma MPO değerlerinde Thymoquinone grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış tesbit edilmiştir ($P < 0.01$). Plazma Prolidaz değerlerinde Thymoquinone tedavi grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşüş tesbit edildi. ($P < 0.05$). Bu sonuçlar (**Tablo 3.**) de özetlenmiştir.

Grup İstatistikleri (PLAZMAKONTROL/TQ)

| PARAMETRE | GRUP | N | Ortalama | Standart Deviasyon | Standart Hata |
|-----------------|---------|----|-----------|--------------------|---------------|
| Plazma CAT | KONTROL | 10 | 3,5310 | 2,40782 | ,76142 |
| | TQ | 10 | 4,7120 | 1,49013 | ,47122 |
| Plazma MPO | KONTROL | 10 | 93,2280 | 75,22273 | 23,78752 |
| | TQ | 10 | 210,5380 | 88,99437 | 28,14249 |
| Plazma TAS | KONTROL | 10 | 1,1200 | ,47164 | ,14915 |
| | TQ | 10 | 1,4440 | ,34638 | ,10954 |
| Plazma TOS | KONTROL | 10 | 29,5250 | 7,37371 | 2,33177 |
| | TQ | 10 | 34,4990 | 7,57168 | 2,39438 |
| Plazma AST | KONTROL | 10 | 1290,7000 | 805,73418 | 254,79552 |
| | TQ | 10 | 609,4000 | 683,21466 | 216,05144 |
| Plazma ALT | KONTROL | 10 | 273,4000 | 176,82081 | 55,91565 |
| | TQ | 10 | 101,4000 | 171,38793 | 54,19762 |
| Plazma LDH | KONTROL | 10 | 4907,8200 | 2900,10297 | 917,09308 |
| | TQ | 10 | 2557,4700 | 2753,01951 | 870,58121 |
| Plazma PROLİDAZ | KONTROL | 10 | 719,3580 | 11,09750 | 3,50934 |
| | TQ | 10 | 707,5830 | 9,83109 | 3,10886 |
| Plazma OSİ | KONTROL | 10 | 2,9270 | ,77612 | ,24543 |
| | TQ | 10 | 2,4750 | ,59330 | ,18762 |

Tablo 3.Kontrol ve TQ gruplarında plazma parametrelerin ortalama,Standart sapma ve standart hata değerleri.

Doku örneklerinde AST, ALT ve LDH seviyeleri Thymoquinone grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşük bulundu (Sırasıyla $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.01$).

Doku örneklerinde TAS, CAT ve MPO değerlerinde Thymoquinone grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede artış tesbit edilmiştir ($P < 0.01$).

Doku örneklerinde TOS ve OSİ değerlerinde Thymoquinone ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunmadı. ($P > 0.05$) Doku örneklerinde Prolidaz değerlerinde Thymoquinone grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşüş tesbit edilmiştir ($P < 0.01$). Bu sonuçlar (**Tablo 4.**) de özetlenmiştir.

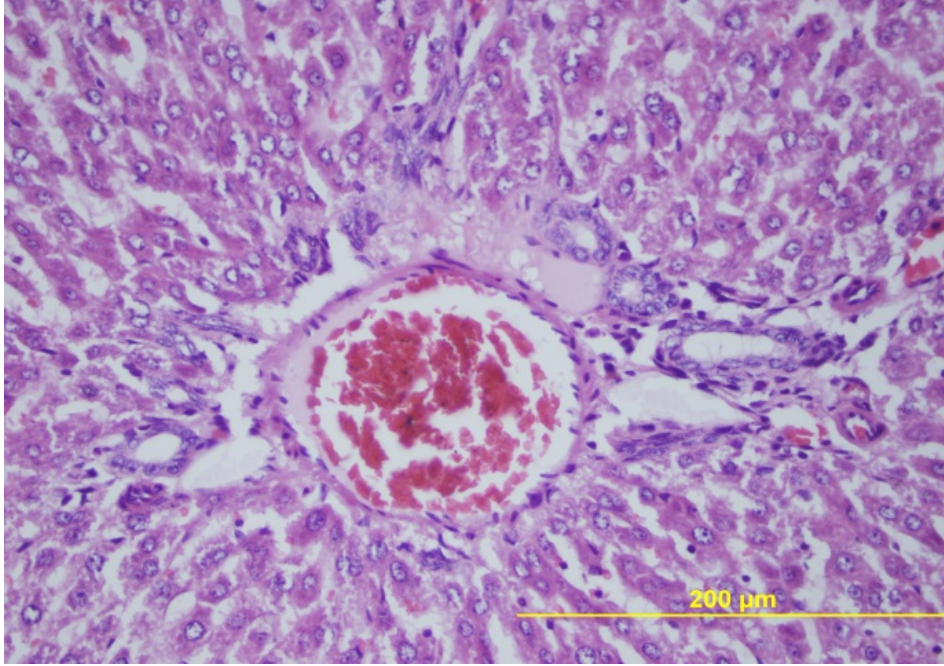
Grup İstatistikleri (DOKU KONTROL/TQ)

| PARAMETRE | GRUP | N | Ortalama | Standart Deviasyon | Standart Hata |
|-----------|---------|----|-----------|--------------------|---------------|
| CAT | KONTROL | 10 | 2,4100 | ,52132 | ,16486 |
| | TQ | 10 | 5,1380 | 1,04944 | ,33186 |
| MPO | KONTROL | 10 | 61,5220 | 10,27041 | 3,24779 |
| | TQ | 10 | 245,2460 | 40,03531 | 12,66028 |
| TAS | KONTROL | 10 | 1,0820 | ,29491 | ,09326 |
| | TQ | 10 | 1,5800 | ,33705 | ,10658 |
| TOS | KONTROL | 10 | 27,0540 | 6,90629 | 2,18396 |
| | TQ | 10 | 37,0470 | 4,50060 | 1,42321 |
| AST | KONTROL | 10 | 1740,8000 | 445,69192 | 140,94016 |
| | TQ | 10 | 315,4000 | 86,08807 | 27,22344 |
| ALT | KONTROL | 10 | 395,6000 | 38,98775 | 12,32901 |
| | TQ | 10 | 21,2000 | 4,73286 | 1,49666 |
| LDH | KONTROL | 10 | 7010,1100 | 866,02281 | 273,86046 |
| | TQ | 10 | 1237,8600 | 236,15014 | 74,67723 |
| PROLIDAZ | KONTROL | 10 | 720,6820 | 9,62631 | 3,04411 |
| | TQ | 10 | 705,8080 | 8,96320 | 2,83441 |
| OSI | KONTROL | 10 | 2,7450 | ,87541 | ,27683 |
| | TQ | 10 | 2,4200 | ,53715 | ,16986 |

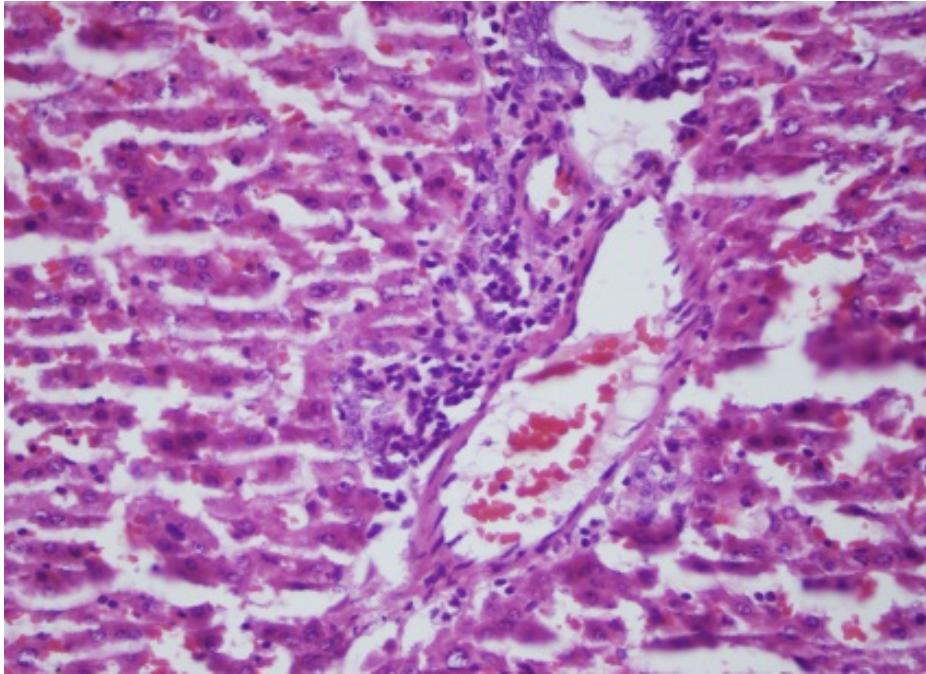
Tablo 4.Kontrol ve TQ gruplarında doku parametrelerin ortalama,Standart sapma ve standart hata değerleri.

4.2. Histopatolojik Bulgular:

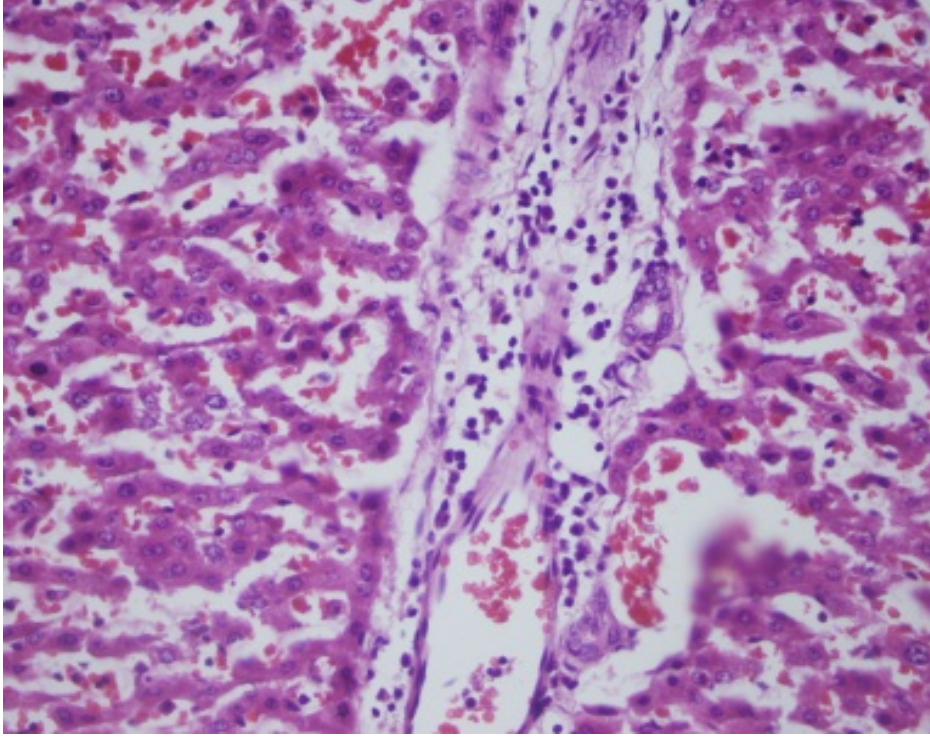
Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde; sham grubundaki karaciğer dokularında patolojik bulgu saptanmadı (**Resim-7**). İskemi-reperfüzyon grubunda ise, tüm karaciğer örneklerinde portal alanların çoğunda hafif-orta derecede lenfosit ve plazmasitlerden oluşan inflamasyon görüldü (**Resim-8A ve Resim-8B**). Bazı olgularda ise fokal spotty nekroz ve inflamasyon dikkati çekti (**Resim-9**). TQ verilen grupta ise bu histopatolojik değişikliklerin vakaların çoğunda bulunmadığı, bazı vakalarda ise oldukça hafif olduğu saptandı (**Resim 10**).



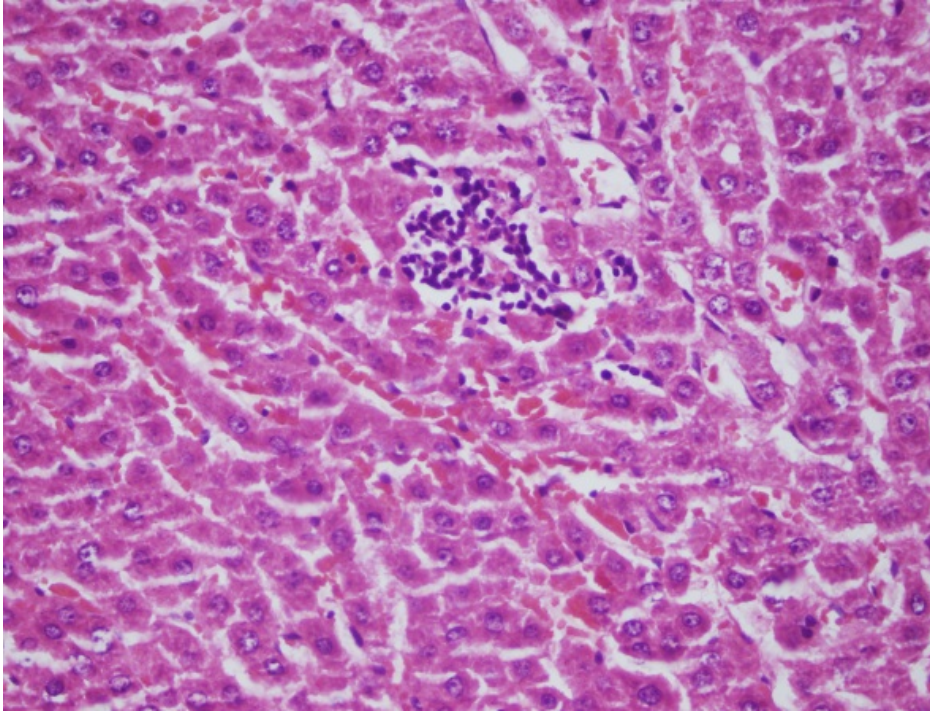
Resim 7: Sham grubuna ait karaciğer dokusunda, ortasında santral ven ve çevresinde safra kanalları izlenen düzenli yapıda portal alan izlenmektedir (HE, x400).



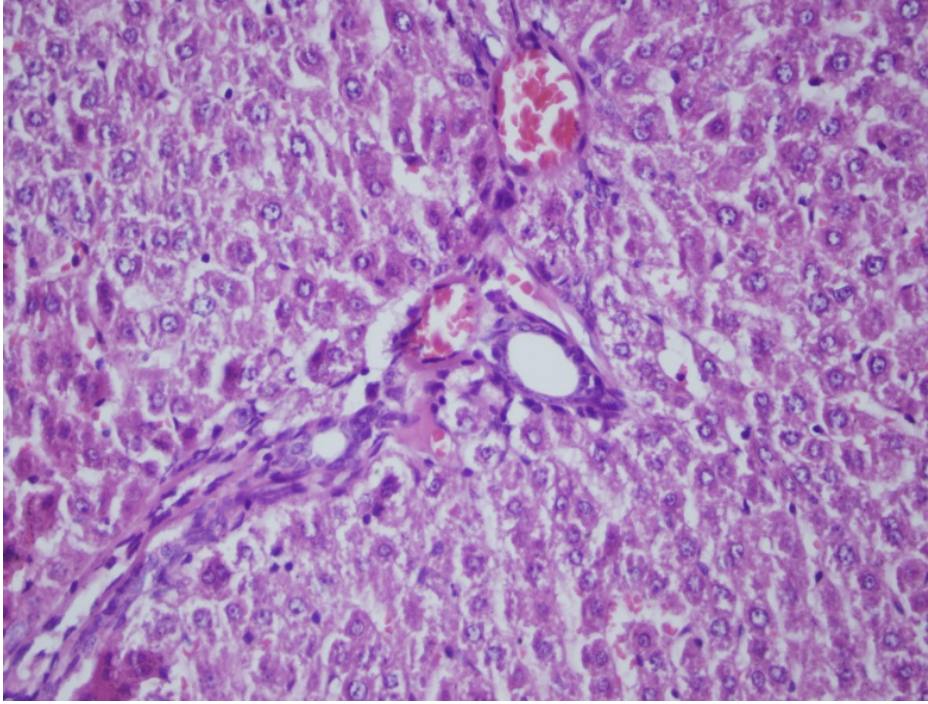
Resim8A:İskemi-reperfüzyon grubuna ait iki olguda portal alanlarda iltihabi infiltrasyon izlenmektedir (HE, x400).



Resim8B:İskemi-reperfüzyon grubuna ait iki olguda portal alanlarda iltihabi infiltrasyon izlenmektedir (HE, x400).



Resim 9: İskemi-reperfüzyon grubuna ait bir olguda fokal spotty nekroz ve inflamasyon görülmektedir.



Resim 10.İskemi-reperfüzyon sonrası Thymoquinone verilen grupta portal alanda düzenli yapı izlenmektedir.

5.TARTIŞMA

Travma, safra yolu tıkanmaları, kanser, karaciğer nakli sonrası, ayrıca cerrahi girişim olmaksızın hemodinamik veya kardiyojenik şok periyodunu takiben karaciğer iskemisi oluşabilmektedir. Karaciğer İ/R hasarı patofizyolojisinde Kupffer hücre aktivasyonu, reaktif oksijen türevlerinin oluşumu, sitokin ve kemokin salınımı, vazokonstrüksiyon, nitrik oksit ve endotelin dengesindeki bozulma, nötrofil lökositlerin toplanması, mitokondri geçirgenliğinin değişikliğe uğraması ve pH paradoksu gibi çeşitli hücrel ve moleküler mekanizmalar önemli rol oynar. Bu karmaşık mekanizmalar hücre ölümüne, organ fonksiyon bozukluğuna ve en sonunda da organ kaybına neden olmaktadır(79).

Bu durum özellikle karaciğer transplantasyon cerrahisinde önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda tüm dünyada özellikle de ülkemizde hızla artan karaciğer

transplantasyon cerrahisi bu sorunu daha da güncel hale getirmiştir. İskemi reperfüzyon hasarı karaciğer rezeksiyonu ya da nakli sonrasında hücre hasarı hatta hücre ölümüne sebep olarak karaciğer fonksiyon kaybına yol açabilmektedir. (80). Reperfüzyon hasarına karşı çok sayıda çalışma yapılmış olup bu çalışmaların çoğunluğu antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçların etkilerini araştırmak üzere planlanmıştır. Bu nedenle reperfüzyon hasarına karşı antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçlar kullanılarak hasar azaltılmaya çalışılmıştır.

Antioksidan ve antiinflamatuvar, antikanser, antihistaminik ve antibakteriel etkileri (6,7) bilinen *Nigella sativa*'nın reperfüzyon hasarına karşı çeşitli organlarda koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. *Nigella sativa*'nın bu etkilerinin en iyi tanımlandığı aktif içeriği farmakolojik olarak aktif kinon olan Thymoquinone(TQ)'dur(3,4,5). Ratlarda çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalarda TQ'nin oksidatif hasardan koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir(6,9). Bu da TQ'nin dokuda antioksidan bir ajan olarak membrane lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olabileceğini desteklemektedir (8).

Bizimde etkinliğini tespit etmeyi amaçladığımız TQ'nun antioksidan etkinliğinin olduğuna dair çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak Badary OA. ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada doğrudan TQ'nun potent bir süperoksit anyon toplayıcısı olup olmadığını araştırmışlar ve TQ'nun çeşitli serbest radikalleri toplayabilme yeteneğinden dolayı güçlü bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu bulmuşlardır(8).

Thymoquinone ratlarda deneysel olarak yapılan birçok çalışmada çok çeşitli doz aralıklarında ve doz sayılarında kullanılmıştır. Ancak TQ'nun toksisitesi ile ilgili çok az sayıda yayın yapılmıştır. Bununla ilgili olarak Al-Ali A. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada TQ'nun toksik dozları araştırılmıştır. Bu çalışma ile TQ LD50 değerinin intraperitoneal enjeksiyon ile 57.5 mg/kg ve oral yoldan verilmesi durumunda ise 794.3 mg/kg olduğu bulunmuştur. Bu dozlar TQ'nun yayınlarda belirtilen antiinflamatuvar ve antioksidan etkin dozunun intraperitoneal uygulamada yaklaşık 10-15 katı, oral uygulamada ise 100-150 katıdır(81).Bu sonuçlar bize TQ'nun oral ve intraperitoneal uygulamada oldukça güvenli olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda kullandığımız TQ'nun 5 mg/kg lık dozu antiinflamatuvar ve antioksidan olarak etkin aynı zamanda toksik olmayan seviyede olduğunu düşündürmektedir. TQ'nunbir çok çalışmada çeşitli dozlarda kullanıldığını görmekteyiz. Bu dozlar da genel olarak TQ LD50 değerinin çok altındadır. Alkharyf KM ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sepsis sendromunda morbidite ve mortalite yönünden

TQ'nun koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu alışmada TQ intraperitoneal olarak 1 ve 2 mg/kg dozunda kullanılmıştır. Bu dozlarda sepsisle ilişkili morbidite ve mortalitenin TQ tarafından dūřürüldüğüne dair güçlü klinik ilişkiler tespit etmişlerdir(82). Bařka bir çalışmada Sankaraarayanan C ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada kimyasal olarak oksidatif stres ve pankreas β hücre hasarı oluşturulan ratlarda TQ'nun iyileştirici etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada ratlara 80 mg/kg dozunda verilen TQ'nun β hücre hasarını geri dönderdiğini tespit etmişlerdir.

Özel ve arkadaşları karaciğerde İ/R'nin neden olduğu hasarın bazı biokimyasal parametreler üzerinden değerlendirilmesi ve grape seed proanthocyanidinekstresi uygulamasının bu parametrelerde oluşabilecek değerikliklere etkilerininincelemeşler, ratlarda karaciğer dokusunda, orta ve sol loblara 45 dakikasüreyle hepatik iskemi oluşturuldu, takiben 1 saat reperfüzyona bırakıldı. Grape seed proanthocyanidin ekstresi(GSPE)50mg/kguygulanan hayvanlarda ilaç iskemiden 30 dakika ve reperfüzyondan hemen önce intraperitoneal olarak uygulamışlardır. Sonuç olarak GSPE tedavisinin karaciğerde İ/R ile oluşan serbest radikal aracılı organ hasarını azalttığını göstermişlerdir(83).

Yapılan deneysel karaciğer İ/R modellerinde çok farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri kullanılmaktadır. Kocabaş ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada hemorajik şoku izleyen İ/R hasarının karaciğer oksidan antioksidan durumuna etkisini araştırmışlardır. Çalışma 24 adet rat 4 gruba ayrılarak yapılmıştır. Tüm ratlarda 30 dakikalık iskemi uygulanmış, 3 gruba ise 1, 3 ve 24 saatlik reperfüzyon uygulanmıştır. Bu şekilde reperfüzyon sürelerinin etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak reperfüzyonun birinci saatindeki MDA, XO, SOD ve AOA değerimlerinin üçüncü ve yirmidördüncü saatlerden daha belirgin olduğunu görmüşler ve α -tokoferol, askorbik asit ve melatonin gibi antioksidanların kullanılmasını, bunun da reperfüzyonun özellikle ilk saatinde tercih edilmesi gerektiğini önermişlerdir(84).

Yapılan yayınları incelediğimizde TQ'nun karaciğer iskemi ve reperfüzyon hasarında koruyucu etkisini araştıran bir yayınlara karşılaşmadık. Bu konuda Nigella sativa. Urtica dioica ve benzeri antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olduğu düşünölen preparatların kullanıldığını ve bu preparatların da iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu özelliklerinin olduğunu tebit ettik. Yıldız ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada karaciğer iskemi ve reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda Nigella sativadan hazırlanan solüsyon intraperitoneal olarak verilmiş ve karaciğer üzerine koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ölçölen AST, ALT, LDH, MPO, TOS ve OSİ seviyeleri Nigella sativa

tedavi grubunda anlamlı derecede düşük olduğu ve TAS değerlerinin de anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak *Nigella sativa*'nın İ/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir(2).

Benzer bir çalışmada da Terzi ve arkadaşları karaciğer İ/R hasarı yapılan ratlarda *Urtica dioica*'nın karaciğer dokusuna koruyucu etkilerini araştırmışlardır. *Urtica dioica* intraperitoneal olarak verilmiş ve karaciğer üzerine koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ölçülen AST, ALT, LDH, MPO, TOS ve OSİ seviyeleri *Urtica dioica* tedavi grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Yine ölçülen TAS ve total serbest sülfidril grup değerlerinin de anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak *Urtica dioica*'nın karaciğer İ/R hasarında antioksidan kapasiteyi arttırdığı, oksidatif stresi ve karaciğer enzim seviyelerini azalttığını göstermişlerdir(85).

Yapılan alışmalar incelendiğinde karaciğer iskemi ve reperfüzyon modellerinde genel olarak 30 ile 60 dk civarında iskemi ve sonrasında da 30-60 dk civarında reperfüzyon yapıldığı görüldü(2,83,85). Ayrıca bazı yayınlarda 60 dk lık reperfüzyonun sonrası dönemde hasarın en fazla olduğu gösterilmiştir(84).Biz de çalışmamızda yeterli iskemi ve reperfüzyon süresi olduğunu düşündüğümüz 60 dk iskemi ve 60 dk reperfüzyonu uyguladık. Aynı zamanda bu çalışmanın farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinde yapılmasında faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Ratlarda TQ'nun oksidatif hasardan koruyucu etkisi çoğunlukla in vivo vedaha az oranda in vitro çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır(6,9). Bu in vitro çalışmalardan biri de MH Daba ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadır. MH Daba ve arkadaşları bu çalışmada izole rat hepatositlerinde TQ'nun hepatoprotektif aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda TQ'nun izole hepatositlerde hepatoprotektif etkilerini göstermişlerdir(86).

Biz alışmamızda TQ'nun antioksidan etkilerini bulmaya çalıştık. Bu antioksidan etkilerini ortaya koymak için çeşitli antioksidan ve oksidan parametreler kullandık. Çok sayıda parametre kullanarak sonuçlarımızı güçlendirmeyi amaçladık. Bu parametrelerden antioksidan parametre olarak TAS ve CAT oksidan parametre olarak da TOS, MPO ve OSİ alışıldı. Bunların yanında karaciğer enzimleri olarak bilinen ALT, AST ve LDH enzim düzeyleri araştırıldı. Ayrıca kollagen yapım ve yıkımına olan etkileri bulmak için Prolidaz düzeyleri de çalışıldı.

Prolidaz seviyeleri TQ grubunda hem plazmada hem de karaciğer dokusunda azalmış olarak bulundu. Prolidaz seviyelerinin düşmesi kollagen yıkımının azaldığını gösterebilir. Tarçın ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada safra kanalı ligasyonu yapılan ratlarda kollagen düzeyi ve prolidaz arasındaki korelasyonu araştırmışlar. Çalışmanın sonucunda kollagen seviyeleri ile prolidaz arasında korelasyon bulmuşlar(87). Bizim çalışmamızda karaciğer İ/R hasarı oluşturulmasında ana safra kanalı bağlanmaktadır. Çalışmamızın sonuçlarında kontrol grubunda prolidaz seviyeleri artmış tedavi grubunda ise azalmıştı. Kollagen yıkımındaki azalma ise TQ verilen grupta hücre hasarının azalmasının göstergesi olarak kabul edebiliriz. Ancak çalışmamızın süresi toplam 120 dakika idi. Bu nedenle daha uzun süreli çalışmalarda sonuçların değerlendirilmesi daha doğru yorumların yapılması için gereklidir.

Karaciğer enzimleri olarak bilinen ALT ve AST seviyeleri karaciğer parankimi ile ilgili hemen her hastalıkta değişiklik göstermektedir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda ALT ve AST seviyeleri ileri düzeyde artmıştı. Ancak TQ grubunda bu enzimlerin belirgin düzeyde azaldığını gördük. Bu nedenle TQ'nun karaciğerde parankim düzeyinde hasarı azalttığını söylemek mümkün olabilir.

TAS birçok antioksidan enzimin bir arada kullanılarak doku veya vücuttaki total antioksidan kapasitenin gösterilmeye çalışıldığı bir testtir. Bizim çalışmamızda TQ kullanılan ratlarda TAS değerleri hem dokuda hem de plazma düzeyinde anlamlı derecede artmıştı. TQ'nun kısa süreli kullanımı ile ulaşılan bu sonuçlar bize TQ nin çok güçlü bir antioksidan ajan olduğunu göstermektedir

Sonuç olarak çalışmamızda TQ'nun karaciğer İ/R hasarı oluşturulan ratlarda karaciğer hasarını azalttığını biyokimyasal ve histolojik olarak gösterdik. Ancak bu koruyucu etkilerin en üst düzeyde ortaya çıkarılması için doz ve süre açısından ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarına karşı Thymoquinone'nin karaciğer dokusu üzerine koruyucu etkilerinin olduğunu göstermiş olduk. Thymoquinone'nin iskemi reperfüzyon öncesi ve sonrası daha uzun süreli ve farklı dozlarda kullanımı ile çok daha etkili sonuçlar elde edilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Crenesse D, Laurens M, Heurteaux C. Rat liver ischemia–reperfusion-induced apoptosis and necrosis are decreased by FK506 pretreatment. *European Journal of Pharmacology* 2003; 473: 177–184.
2. Yıldız F, Çoban S, Terzi A, Ateş M, Aksoy N, Çakır H, Ocak A.R, Bitiren M. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol* 2008;14(33): 5204-5209.
3. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. 2004; 11: 56-64.
4. El Gazzar ME, Mezayen RE, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International Immunopharmacology. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006; 6: 1135-1142.

5. Antuono LF, Moretti A, Lovato AFS. Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. *Industrial Crops and Products*. 2002; 15: 59-69.
6. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res*. 2003;17:299-305.
7. Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2004;19:431-6.
8. Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol*. 2003;26:87-98.
9. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol*. 2005;5:1749-70.
10. Dere F. Karaciğer anatomisi.1994; 3: 633-635.
11. Blumgart L H, Fong Y. *Surgery of the liver and biliary tract*. Edinburgh: Churchill Livingstone. 2000;3: 5.
12. Carter D S, Russel R C G, Pitt H A, Bismuth H. *Hepatobiliary and pancreatic Surgery*. Cahpman- Hall Med. 1996;5: 688.
13. Goldsmith N A, Woodburne R T. *Surgical anatomy pertaining to liver resection*. *Surg Gynecol Obstet*. 1957;195:310-318.
14. Lygidakis N J, Tytgat G N J. *Hepatobiliary and pancreatic malignencies*. New York, Thieme Medical Publishers Inc.1989: 458.
15. Couinaud C. *Le Foi. Etudes anatomogiques et chirurgicales*. Medical Publishers Inc. 1973;1:285-31.
16. Schwartz S I. *Principles of Surgery*. Mc Graw-Hill Co, 1999; 7:1395-1433.
17. Bismuth H. *Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver*. *W J Surg*.1982;8:2.
18. Scheele J, Stangl R. *Segment orientated anatomical liver resections*. 1994; 1557 -1578.
19. Davis-Christoper. *Temel Cerrahi*. Sabiston 9. Baskı. 2 – 1175.
20. ŞenerG, YeğenBÇ, İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim*. 5.
21. Zimmerman BJ, Granger DN. *Reperfusion injury*. *Surg Clin North Am*. 1992; 72: 65-83.

22. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr.* 1990; 137:1-53.
23. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med.* 1991; 42: 225-246.
24. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: An overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun.* 1989;7: 255-64.
25. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol.* 1992; 32: 33- 42.
26. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 1988;254(5):768-74.
27. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1987;79:990-997.
28. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26:351-357.
29. Acworth IN, Bailey B. Reactive Oxygen Species. *The handbook of oxidative metabolism.* Massachusetts.ESA Inc. 1997; 1-4.
30. Williams AT, Burk RF. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radical-mediated injury. *Semin Liver Dis.* 1990; 10: 4. 279-284.
31. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49:481-493.
32. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991;9:14-22.
33. Patel SS, Goa KL, Sevoflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs.* 1996;51:4, 658–700.
34. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 1990;186:1-85.
35. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994; 344:721-724.
36. Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları.* Konya, 1995; 157.

37. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2002; 33: 110-118.
38. Shayevitz JR, Varani J, Ward PA. Halothane and isoflurane increase pulmonary artery endothelial cell sensitivity to oxidant-mediated injury. *Anesthesiology*. 1991;74: 1067-1077.
39. Barber D, Harris S. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm*. 1994; 34: 26-35.
40. Sies H. Oxidative stress. From basic research to clinical application. *Am J Med*. 1991; 91: 31-38.
41. Erden M. Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri*. 1992; 12: 201-207.
42. Ward A, McBurney A, Lunec J. Evidence for the involvement of oxygen-derived free radicals in ischaemia-reperfusion injury, *Free Radic Res*. 1994; 20: 21-28.
43. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol*. 1996; 46: 15-32.
44. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57:724-725.
45. Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy, *Lancet*. 1984; 1: 1396-1397.
46. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci*. 1991; 48: 301-309.
47. Suryaprabha P, Das UN, Ramesh G. Reactive oxygen species, lipid peroxides and essential fatty acids in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1991; 43: 251-255.
48. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. 1991; 40: 405-412.
49. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem*. 1992; 38:66-70.
50. Petkau A. Scientific basis for the clinical use of superoxide dismutase. *Cancer Treat Rev*. 1986; 13:17-44.
51. Aebi H. Catalase in vitro, *Methods. Enzymol*. 1984; 105: 121-126.

52. Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: essential nutrient and antioxidant component of the immune system. *Adv Exp Med Biol.* 1990; 262: 145-158.
53. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J.* 1990; 265: 659-665.
54. Baysal Z. Desfluran ve propofol anesteziyelerinin oksidan-antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı,Uzmanlık tezi.Şanlıurfa 2004.
55. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1998; 32: 1-8.
56. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004; 37: 112-119.
57. Ghiselli A, Serafini M, Natella F. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29: 1106-1114.
58. Harma M, Erel O: Oxidative stres in women with preeclapsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 192: 656-657.
59. Erol MK. Yoğun bakım hastalarında propofol, deksmedetomidin ve midazolam infüzyonlarının sedasyon, oksidan – antioksidan sistem üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi. Şanlıurfa 2011.
60. Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa L.*) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry.* 1992; 45: 239-242.
61. Nergiz C, Otles S. Chemical composition of *Nigella sativa L.* *Food Chemistry.* 1993; 48: 259-261.
62. Atta MB. Some characteristics of nigella (*Nigella sativa L.*) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry.* 2003; 83: 63-68.
63. Menounos P, Staphylakis K, Gegiou D. The sterols of *Nigella sativa* seed oil. *Phytochemistry.* 1986;25: 761-763.
64. Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. High performance liquid chromatography analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa L.*). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 1999; 19: 757-762.

65. Sayed MD. Traditional medicine in health care. *Journal of Ethnopharmacology*. 1980; 2: 19-22.
66. Merfort I, Wray V, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Willuhn G. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*. 1997; 46: 359-363.
67. Atta-ur-Rahman, Malik S, Hasan SS, Choudhary MI, Ni C, Clardy J. Nigellidine. A new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Letters*. 1995; 36: 1993-1996.
68. Taskin MK, Caliskan OA, Anil H, Abou-Gazar H, Khan IA, Bedir E. Triterpene saponins from *Nigella sativa*. *Journal of Chemistry*. 2005; 29: 561-569.
69. Dadgar T, Asmar M, Saifi A, Mazandarani M, Bayat H, Moradi A, Bazueri M, Ghaemi E. Antibacterial activity of certain Iranian medicinal plants against methicilin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2006; 5: 861-866.
70. Göçebe M. Prolidaz enziminin serum aktivite değerlerini kardiyak hipertrofi hastalarda tespit ederek hastalığın erken tanısı açısından prolidaz enzim aktivitesinin bir rolü olup olmayacağını incelemek. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. Şanlıurfa 2007.
71. Zuyderhoudt MC, Brugman AM, Smith JH, Jong L. Plasma prolidase in the rat; noindex of liver fibrosis. *Clinical Chemistry*. 1985;31: 4.
72. Yıldız F, Terzi A, Çoban S, Bitiren M, Çelik H, Aksoy N, Özdoğan MK, Çakır H. Purified Micronized Flavonoid Fraction Ameliorates the Injury of Spleen and Ileum Secondary to Hepatic Ischemia-Reperfusion in Rats. *Dig Dis Sci*. 2009;10: 22.
73. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 2004;37: 277-285.
74. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38:1103-1111.
75. Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res*. 2005;5:49-54.
76. Chinard P. Photometric determination of proline and ornithine. *J Biol Chem*. 1952;199: 61-65.
77. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*. 1991;196:143-151.

78. Wei H, Frenkel K. Relationship of oxidative events and DNA oxidation in SENCAR mice to in vivo promoting activity of phorbol ester-type tumor promoters. *Carcinogenesis* 1993;14: 1195-1201.
79. Baykara B, Tekmen I. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005;19:185-194.
80. Grace PA. Ischemia reperfusion injury. *Br J Surg*. 1994;5:637-47.
81. Al-Ali A, Alkhawajah AA, Randhawa MA, Shaikh NA. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2008;2:25-27.
82. Alkharfy KM, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail MS. The protective effect of thymoquinone against sepsis syndrome morbidity and mortality in mice. *Int Immunopharmacol*. 2011;2:250-254.
83. Özel Y. Ratlarda karaciğer İ/R hasarında Grape Seed Proanthocyanidin'in koruyucu etkilerinin incelenmesi. *Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi AD. Uzmanlık Tezi. İstanbul 2006.*
84. KocabaşV, BüyükbaşS, ŞahinDA, BaşarılıMK. Hemorajik şoku izleyen İ/R hasarının karaciğer oksidan antioksidan durumuna etkisi. *Selçuk Tıp Derg*.2009;4:203-210.
85. TerziA, YıldızF, Çoban S, TaşkınA, BitirenM, AksoyN.Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Yapılan Sıçanlarda *Urtica dioica*'nın Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkisi.*Düzce Tıp Dergisi*.2010;1:43-47.
86. Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes.*Toxicol Lett*. 1998;1:23-29.
87. Tarçin O, Gedik N, Karakoyun B, Tahan V, Sood G, Celikel C, Tözün N. Serum prolidase and IGF-1 as non-invasive markers of hepatic fibrosis during four different periods after bile-duct ligation in rats.*Dig Dis Sci*. 2008;7:1938-1945.