

**T.C. KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, KARS.**

**TEZ DANIŞMANLARI**

**Prof. Dr. Neşet KÖKSAL**

**Yrd. Doç. Dr Tülay DİKEN ALLAHVERDİ**

**DENEYSEL TIKANMA SARILIĞI MODELİNDE ALFA LİPOİK  
ASİT'İN KARACİĞER HASARINI ÖNLEMEDEKİ ETKİNLİĞİ**

**Dr. Hasan ALTUN**

**KARS- Temmuz 2014**

## ÖNSÖZ

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında çalışmaya başladığım andan bugüne kadar geçen süre içinde her türlü yardımı benden esirgemeyen, değerli bilgi ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen, yetişmemde çok büyük katkıları olan anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Neşet Köksal' a sonsuz şükranlarımı sunarım. Bu tezin hazırlanmasında da değerli katkıları olan Yrd. Doç. Dr. Tülay DİKEN ALLAHVERDİ'ye, asiatanlık eğitimindeki katkıları nedeniyle Genel Cerrahi Anabilim Dalındaki hocalarım Prof. Dr. Mehmet Fatih AVŞAR, Doç. Dr. Yusuf GÜNERHAN, Yrd. Doç. Dr. Barlas SÜLÜ, Yrd. Doç. Dr. Kemal KILIÇ, Yrd. Doç. Dr. Bülent Çağlar BİLGİN, Yrd. Doç. Dr. Turgut ANUK, Yrd. Doç. Dr. Bülent güvendi 'ye, çok değerli mesai arkadaşlarım Dr. Elif DEMİR, Dr. Musa Sinan EREN ve Dr. M. Fatih KORKMAZ'a, bu tezin hazırlanmasında değerli katkılarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hüseyin ÜSTÜN, Yrd. Doç. Dr. Hacer Ece ARSLAN'a, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi' Ye, istatistik çalışmalarında bilgilerini benimle paylaşan Sağlık Meslek Yüksek okulu öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL ve Biyomühendislik fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Muhammed ŞAKİROĞLU' nadeneyse bana yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Pınar AKSU, mesai arkadaşlarım servis ve ameliyathane hemşireleri ve personeline teşekkür ederim.

Asistanlık süresindeki yoğun çalışma tempomda bana hoşgörü gösteren ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Gülüm'e ve Nilbera kuzum'a sonsuz teşekkür ederim.

Saygılarımla. Haziran, 2014.

**Dr. Hasan Altun**

# İÇİNDEKİLER

## ÖNSÖZ

### 1. Giriş ve Amaç

### 2. Genel bilgiler

- 2.1. Karaciğerin Anatomi ve Histolojisi
- 2.2. Safra Yolları Anatomi Ve Histolojisi
- 2.3. Tıkanma Sarılığı
- 2.4. Tıkanma Sarılığında Ortaya Çıkan Değişiklikler

- A. Genel Değişiklikler
- B. Karaciğerdeki Histopatolojik Değişiklikler

- Akut Değişiklikler
- Kronik Değişiklikler

### 3. Antioksidanlar

- 3.1. Süperoksid Dismutaz
- 3.2. Glutasyon peroksidaz

### 4. Lipid peroksidasyon

- 4. 1 Başlangıç
- 4. 2 İlerleme
- 4. 3 Sonlanma

### 5. Alfa lipoik asit

### 6. Materyal ve Metod

- Anestezi ve Cerrahi İşlem
- Tedavi
- Örnekleme

### 7. Değerlendirme

- 7.1. Biyokimyasal Değerlendirme
- 7.2. Anti oksidanların ölçümü

- 7.2.1 LPO homojenatı tamponu ( % 10 KCl )
- 7.2.2 SOD homojenat tamponu (50 mM pH 7,8, 10 mM EDTA içeren Fosfat Tamponu)
- 7.2.3 GSH Homojenat Tamponu (50 mM pH 7.4, Tris - HCl Tamponu)

- a. Lipid peroksidasyon (LPO) miktarı ölçümü
- b. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü
- c. Total glutatyon (GSH) miktarı ölçümü

7.3 Patolojik Değerlendirme

7.4 İstatistiksel Analiz

## 8. Bulgular

8.1 Biyokimyasal bulgular

8.2 Histopatolojik bulgular

9. Tartışma

10. Sonuç

11. Kaynaklar

12. Abstract

## SİMGE VE KISALTMALAR

- SOR; Serbest O<sub>2</sub> radikalleri
- PAI-1; Plasminogen activator inhibitor-1
- AST; Aspartat aminotransferaz
- ALT; Alanin aminotransferaz
- ALP; Alkalen fosfataz
- GGT; Gama-glutamil transpeptidaz
- T.BİL; Total bilirubin
- D.BİL; Direkt bilirubin
- BDL; Safra kanalı ligasyonu ( bile duct ligation)
- BDL+LA; Safra kanalı ligasyonu+ lipoik asit
- SOD; Süperoksit dismutaz
- GSH-PX; Gulutasyon peroksidaz
- GSH; Gulutasyon
- LPO; Lipit peroksidasyonu
- MDA; Malondialdehid
- NF-κB; Nuclear Factor kappa B
- PNL/LEN; Poli-nükleer lökositler/ Lenfositler
- DM; Diyabetes mellitüs
- HIV; Human Immunodeficiency Virus

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıkanma sarılığı,cerrahi teknikler ve etkin antibiyotiklerdeki gelişmelere karşın, pek çok sisteme olumsuz etkileri olması, sık görülmesi, yüksek morbidite ve mortalite oranları nedeniyle Genel Cerrahi ve Gastroenteroloji'nin en önemli problemlerinden biridir. Major komplikasyonlarisepsis, renal ve hepatik disfonksiyon, gastrointestinal kanama, koagülopati,kardiyovasküler disfonksiyon, periferik vazokonstriksiyon'dur.Tıkanma sarılığındaki sistemik değişikliklerin oluşmasında endotoksemi'nin ve bunun sonucunda monositler, makrofajlar gibi immün cevapta etkili hücreler ve endotelial hücreleri aktive ederek birçok sitokinlerin üretimini arttırmasıdır(1).Sitokinler, serbest oksijen radikalleri'nin (SOR) aşırı üretilmesine neden olur(2). Kontrol edilemeyen inflamatuvar süreç multiorgan yetmezliğine ve ölüme neden olabilir(3,4,5).

Tıkanma sarılıklı hastalarda doku hasarı patogeneziyle lipit peroksidasyonu ilişkili bulunmuştur. Lipit peroksidasyonu hücre membranındaki oksidatif hasarın ve hücre ölümünün önemli bir nedeni olarak bilinmektedir. Doku hasarı oluşumunda SOR ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik ana nedenlerden biridir(6).

SOR temizleyicileri tıkanma sarılıklı rat'larda azalır ve SOR'lerinin yaptığı organ hasarına duyarlılık artar. Glutasyon oksijen radikallerine karşı hücrel savunmada glutasyon peroksidazenzimi ile birlikte önemli rol oynar. MDA (Malondialdehid) lipit peroksidasyonunun son ürünüdür ve oksidatif stres için iyi bir belirteçdir. Lipit peroksidasyonuyla hasarlanan dokuda MDA düzeyleri artar(5,7).Tıkanma sarılığı oluşturulan ratlarda SOR'lerini ortamdan uzaklaştıran glutasyon perosidazve superoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır ve SOR'lerinin oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar(8).

Alfa lipoik asid ( $\alpha$ -LA) tiyol grubu içeren ve antioksidan özelliği olan bir moleküldür.Vücutta dihidrolipoik asid (DHLLA)'ya indirgenir. Diyetle yeterli miktardabulunmakla birlikte mitokondride bulunan lipoik asid sentaztarafından sentezlenebilmektedir. (9).

Kolestaza bağlı olarak hepatositlerde safra asitlerinin toksik etkisi ile hepatosit hasarı olmaktadır. Karaciğer üzerine olumlu etkileri olan alfa lipoik asid, hücrel bütünlüğün korunmasına katkıda bulunurlar.

Bu tezde, ratlarda oluşturulan deneysel tıkanma sarılığı modelinde alfa lipoik asit'in karaciğer hasarını önlemedeki etkinliği araştırılmıştır.

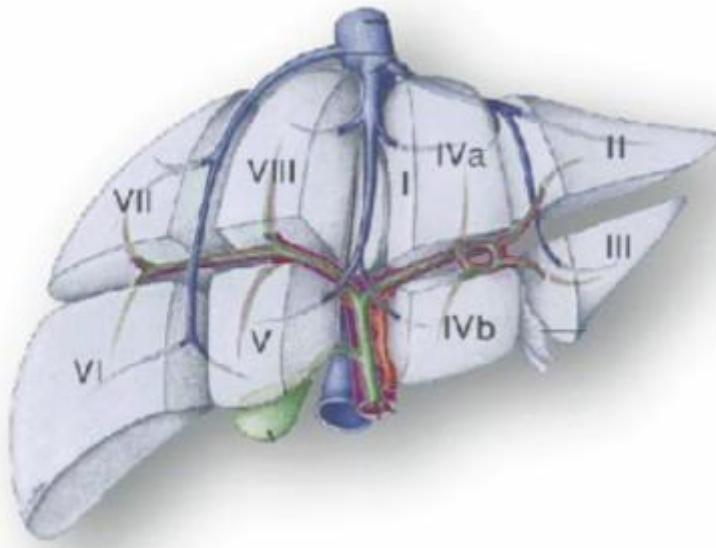
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Karaciğerin Anatomi ve Histolojisi

1200-1600gr arasında değişen ağırlığı ile ağırlığımızın yaklaşık%2'sini oluşturan karaciğer vücudumuzun en büyük organıdır. Karın boşluğunun üst tarafında sağ hipokondrium ve epigastriumdan sol hipokondriuma kadar uzanır. Glisson kapsülü adı verilen peritonla örtülüdür. Arka-alt bölümünde v.cava inferior ve hepatik venlere yakın bölümü peritonsuzdur (bare area). Visseral ve diyafragmatik olarak iki yüzü vardır. Diyafragmatik yüzün diyafragma ile, viseral yüzün hepatik fleksura, transvers kolon, safra kesesi, duodenum, mide ve özofagus ile komşuluğu vardır(10,11).

Glisson kapsülü iki yaprağa ayrılarak diyafragmaya yapışır ve ön ve arka koroner ligamanları oluşturur. Koroner ligamanlar sağ ve solda birleşerek sağ ve sol trianguler ligamanları oluştururlar. Falsiform ligamen Koroner ligamanların önde birleşmesinden oluşur. Embriyolojik dönemden kalan sol umbilikal venin kalıntısı olan ligamentum teres hepatis falsiform ligaman içinde yer almaktadır. (12,13).

Fransız cerrah olan Couinaud karaciğerin fonksiyonel anatomisini tarif etmiştir. Fonksiyonel anatomi portal ven ve major hepatik venlerin dağılımı esas alınarak yapılmıştır. Orta hepatik venin bulunduğu çizgi karaciğeri iki analoba ayırır. Sağ karaciğer lobu, sağ hepatik venin bulunduğu portal fissür ile anterior ve posterior sektörlere ayrılır. Hepatik fissürler, sağ karaciğerdeki sektörleri inferior ve süperior segmentlere ayırır. Sol karaciğer, sol portal fissür ile medial ve lateral sektörlere ayrılır. Lateral sektör segment II ve III'ü, medial sektör segment IV'den oluşur. (13)( şekil 1).



**Şekil 1:**Karaciğerin fonksiyonel anatomisi (14)

Karaciğerin arteriyel beslenmesi a.hepatika propria tarafından sağlanır. A.hepatika propria trunkus çöliakus'un bir dalı olan a.hepatika kommunis'in devamıdır ve hepatoduodenal

ligamaniçinde vena porta ve koledok ile birlikte seyrederek. Porta hepatis seviyesinde sağ ve soliki dala ayrılır. Vena portanın dalları ile birlikte karaciğer içinde dağılır (11).

Karaciğerin, portal ve hepatik olmak üzere iki ana grup veni vardır. Portalven süperior mezenterik ven, inferior mezenterik ven ve splenik ven'in birleşmesi ile oluşur. Hilusta sağ ve sol iki dala, bazen de üç dala ayrılır. Portal ve karaciğeriçinde segmentlere göre dağılır. Sinusoidleri birleştigi santral venler birleşerek vena hepatikalarıoluştururlar. Karaciğerin sağ lobunun kanı sağ hepatik ven,karaciğer sol lobunun 2. ve 3. segmentleri sol hepatik venile v. cava inferior'aboşalır ve bazen v. Cava inferior'a açılmadan önce orta hepatik venle birleşir(10,11).

Karaciğerin derin lenf damarlarının çoğu porta hepatisise gelerek buradakihepatik lenf düğümlerine, bunların bir kısmı da safra kesesi boynunun etrafındakilenf nodülleri ile bursa omentalis çevresindeki lenf nodüllerine açılır. Hepatik lenfnodlarından çıkan lenf damarları da çöliak lenf nodlarından geçerek ductusthoracicus'a açılırlar. Derin lenf damarlarının bir kısmı, v. hepatica'ları takip ederekdiafragmadaki foramen vena cava'ya gelirler. Daha sonra süperior frenik lenfnodlarına, buradan da parasternal lenf nodlarına açılırlar. Karaciğerin yüzeyel lenfdamarlarının çoğu porta hepatisise giren derin lenf damarları ile birleşerek hepatik lenfnodlarına, daha sonra da çöliak lenf nodlarına açılırlar. Buralardan çıkan lenfdamarları da sağ truncus lymphaticus ve daha sonra da ductus thoracicus'a açılırlar(12).

Karaciğerin inervasyonu medulla spinalis'in T9 ve L1 segmentlerinden gelen parasempatik liflerle ve vagus sinirinden gelen parasempatik liflerle olur.

Karaciğerin histolojisinde lobül yapısı görülür. Lobül yapısının ortasında birhepatik ven dalı yani santral ven bulunur. Santral ven'den perifere doğru ışınsal tarzdauzanan sinüzoidler ve parankim hücreleri bulunur. Klasik bir lobül altıgenşeklindedir. Bu altıgenin köşelerinde de portal ven, hepatik arter ve safra kanalınınbulunduğu portal triadlar yerleşmiştir. Portal ven ve hepatik arterin uç dallarısınüzoidlerle temas halindedir. Sinüzoidler terminal hepatik venüllere drene olurlar.Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasında disse aralığı bulunur. Endotel tabakası hücreleri arasında da fagositoz fonksiyonu olan Kupfer hücreleri bulunur(10,12).

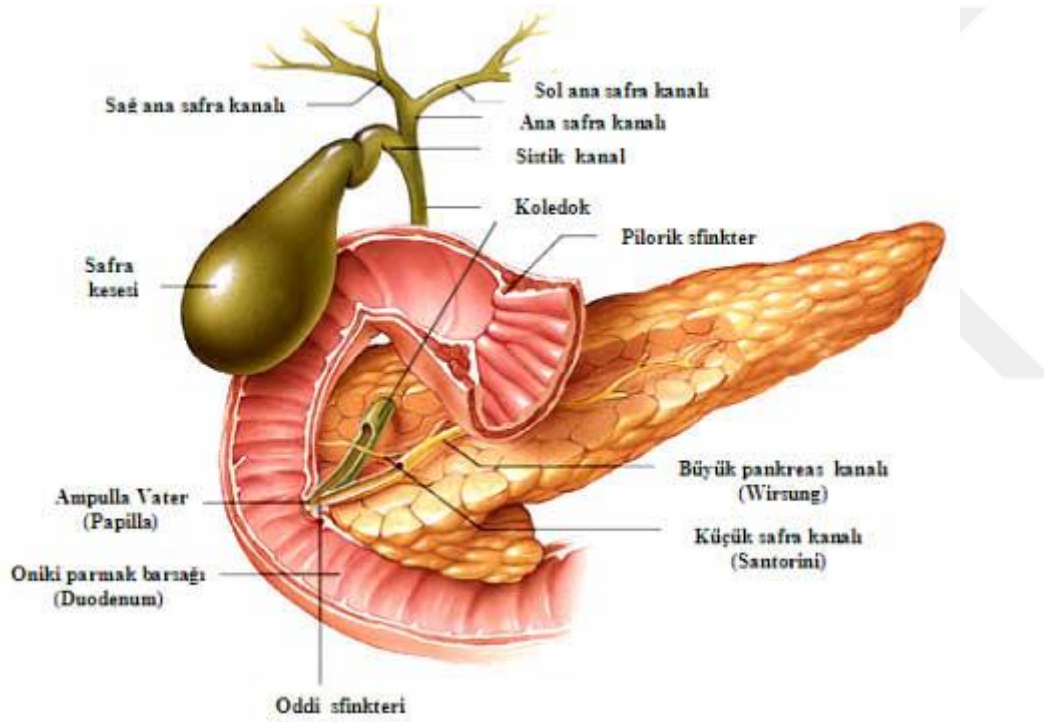
Safra yolları, kanaliküller olarak başlar. Hepatositler tarafından oluşturulansafra bu kanaliküllere drene olur. Daha sonra safra bu kanaliküller ile intralobülerduktuslara, oradan da daha büyük safra kanallarına dökülerek ekstrahepatik safrayollarını oluştururlar (12,13).



## 2.2 Safra Yolları Anatomi Ve Histolojisi

Ekstrahepatik safra yolları sağ ve sol hepatic kanallarla başlar ve birleşerek duktus hepaticus communis'i oluştururlar. Duktus hepaticus communis sistik kanal ile birleştikten sonra duktus koledokus adını alır(12,13)

Ekstrahepatik safra kanallarının üst ya da proksimal kısmı sağ ve sol hepaticduktuslarla başlar ve sistik kanalla koledokun birleşim yerine kadar devam eder. Ekstrahepatik safra kanallarının orta kısmı koledoktan başlar ve pankreas üst sınırınakadar devam eder. Ekstrahepatik safra kanallarının distal kısmı ise pankreasın üstsınırından ampuller bölgeye uzanan koledokun intrapancreatik kısmıdır ve bu bölgenin değişik anatomik ve klinik özellikleri vardır (15,16) (Şekil-2).



Şekil 2: Ekstrahepatik safra yolları anatomisi(17).

Koledok yaklaşık 9 cm uzunluğunda olup duodenumun 2. kıtasının arkayüzünden duodenuma açılır. İnsanların %90'ında, koledok duodenuma açılmadan önce pankreas kanalıyla birleşir ve yaklaşık 1 cm.'lik bir ortak kanal oluştururlar. Bu ortak kanal Oddi sfinkteriyle çevrilidir.

## 2.3 Tıkanma sarılığı

Plazma bilirubin konsantrasyonu 0,5 mg/100 ml kadardır. Deri, bilirubin konsantrasyonu 2 mg/100 ml'ye çıktığı zaman sararmaya başlar. Sarılık başlıca hemolitik ve safra yollarında tıkanma nedeniyle oluşmaktadır(18).

Safra hepatositler tarafından üretilir ve hepatik hücrelerin arasındaki küçük safra kanaliküllerine salgılanır, daha sonra interlobüler septumlara doğru akar. Burada kanaliküller terminal safra kanallarına dökülür ve daha sonra giderek daha büyük kanallara dökülerek sonundaana hepatik kanal'a ulaşır. Buradan da ya doğrudan duodenuma, ya da sistik kanal yoluyla safra kesesine yönelir(19).

Karaciğerin safra sekretuar basıncı 12-25cmH<sub>2</sub>O'dur. Safra kesesi kontraksiyonu olduğunda bu basınç 30 cmH<sub>2</sub>O'ya kadar yükselir. Bu basınç 30 cmH<sub>2</sub>O'un üzerine çıktığında karaciğerden safra salgısı baskılanır. Basınç yükselince başta kolesterol olmak üzere safra tuzları ve fosfolipidlerin karaciğerden salınımı azalır. Normal bir safra akımının olabilmesi için ekstrahepatik safra yolu basıncının 10-15 cm H<sub>2</sub>O olması gerekir(20). Safra asitleri barsak içindeki endotoksinleri ve bakterileri deterjan etki ile bağlamakta, emilimlerini ve bakterilerin aşırı üremesini engellemektedir(21).

Tıkanma Sarılığikonjenital, safra taşları, neoplazmlar, striktürler, parazit gibi nedenlerle oluşabilir. Hiperbilirubinemi ve barsakta safra asitlerinin yokluğuyla karakterize olan tıkanma sarılığında, safra yolları cerrahisi yüksek mortalite ve morbidite riski taşır (18-22)

## **2.3 Tıkanma Sarılığında Ortaya Çıkan Değişiklikler**

### **A. Genel Değişiklikler**

Kolanjit, koagülasyon defektleri, fibrozis, siroza ilerleyen karaciğer hasarı ve multiorgan yetmezliğıtıkanma sarılığının ciddi komplikasyonlardır. Postoperatif komplikasyonların çoğu sepsis, renal yetmezlik ve pulmoner disfonksiyonla ilgilidir.

Tıkanma sarılığı olan hastalarda ve deney hayvanlarında sistemik endotoksemi bildirilmiştir. Bu muhtemelen portal venöz kandan yetersiz endotoksin klirensi ve gastrointestinal sistemden artmış endotoksin absorpsiyonu nedeniyle oluşur(23).

Postoperatif renal yetmezlik insidansı bu hastalarda artmıştır(24). Üzerinde durulması gereken bir konu da tıkanma sarılığındaki antibiyotik kullanımınıdır. Tıkanma sarılığı olan hastalarda kullanılacak aminoglikozid grubu antibiyotiklerin nefrotoksisite riskini arttırdığı ve eş zamanlı furosemid kullanımı ile sonuçların daha da kötüleştiğı bildirilmiştir. Gelişebilecek renal yetmezliğin önlenmesi için preoperatif resusitasyon, sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması ve cerrahi işlem sırasında gereğinde mannitol verilmesi ile postoperatif renal disfonksiyon sıklığının azaltılabileceğı vurgulanmıştır (23).

Tıkanma sarılığı olan hastalarda, kardiyovasküler instabilite, hipotansiyon ve şok'a predispozisyon olduğu bildirilmiştir. Bu hastalarda görülebilen hiperdiamik şok'daki azalmış vasküler cevapdanendotoksemi ve sepsis dışında santral ve periferel mekanizmalar da sorumlu gibi görünmektedir. Norepinefrin ve Anjiotensin II'ye cevap keskin değildir ve sistemik vazodilatasyon vardır(23).

Anoreksi ve kilo kaybı, özellikle maligniteye bağlı uzun süreli tıkanmasarılığının göze çarpan özelliklerindedir. Hipodipsiye ikincil volüm kaybı ve safra tuzlarının diüretik etkileri kilo kaybını artırır. Ratlarda, safra kanalı ligasyonundan sonraki ilk haftada anoreksi ve besin alımında bozulma görülür. Safra kanalı ligasyonundan sonraki 2-3 gün'de negatif nitrojen dengesi meydana gelir. Bu değişiklikler internal biliyer drenaj, besin alımı ve kilo alımı devam ettikçe normale döner(23).

Sarılıklı hastalarda evisserasyon ve herni oluşumu insidansında artış olduğu bildirilmiştir(25). Yara iyileşmesinin erken safhalarındaki fibroblast ve makrofaj infiltrasyonu, sarılıklı hastalarda belirgin derecede bozulmuştur. İnsizyon hatlarındaki iyileşmede anjiogenezde gecikme bildirilmiştir(26).

Koagülasyon bozuklukları multifaktöriyeldir. Faktör II, VII, IX ve X sentezi için gerekli olan, vitamin K esansiyel bir faktördür. Vitamin K'nın intestinal sistemden emilimi için safra tuzlarına ihtiyaç duyar. Endojen depolar sınırlı olmasına rağmen tekrar döngü mekanizması, klinik eksikliğin belirtilerinin gelişmesi için gereken zamanı uzatır (23).Fibrinojen eksikliği şiddetli karaciğer yetmezliği ile birlikte sık görülür(27). Karaciğer yetmezliğinde dissemine intravasküler koagülasyon (DİC) ile ilgili olan hipofibrinolizis yaygındır. Splenomegali veya DİC'e sekonder trombositopeni oluşabilir. Zamanla siroz ve karaciğer yetmezliği, karaciğerde yapılan pıhtılaşma faktörlerinin seviyelerinde düşüşe yol açar ve koagülopati, vitamin K verilmesine rağmen dirençli hale gelir (23).

Bakteriyelproliferasyonun olduğu biliyer obstrüksiyon, kolanjit ile sonuçlanır. Süpüratifkolanjitte safra drenajı sağlanmazsa mortalite oranı yüksektir. Bu yüksek mortalite oranı, genelde bakteriyemi ile sonuçlanmasından kaynaklanmaktadır. Cerrahiye rağmen, %20-50' lik mortalite oranları bulunmaktadır. En yaygın mikroorganizmalar enterik kaynaklıdır ve E.coli baskın olan mikroorganizmadır. Klebsiella ve enterokoklar da yaygındır. Bakteroides ve klostridyum dahil olmak üzere anaeroblar daha az tespit edilmektedir. Kanda ve safrada yüksek seviyelere ulaşan ve bilinen patojenlere karşı invitro etkinlik gösteren antibiyotiklerin kullanımına rağmen septik komplikasyonların insidansı hala yüksektir (23,28).

Tıkanma sarılığının tedavisi için yapılan cerrahiden sonraki mortalite oranları kolanjit olmasa bile yüksektir. Cerrahiden önce mortaliteyi etkileyen yaş, malignite gibi nedenler düzeltilemeyeceği için çabalar, preoperatif olarak hepatik fonksiyonel kapasitenin iyileştirilmesi ve nutrisyonel bozuklukların düzeltilmesi üzerinde odaklanmıştır(23).

## **B. Karaciğerdeki Histopatolojik Değişiklikler**

### **Akut Değişiklikler**

Akut biliyer obstrüksiyonun başlıca özellikleri kanaliküler kolestaz ve portal kanal değişiklikleridir. Sentrilobüler kanaliküllerdeki kolestaz görülen en erken değişikliktir. Portal traktın kenarları boyunca görülen safra kanalikülleri proliferasyonu her ne kadar değişmez bir bulgu ve obstrüksiyonun karakteristiği olsa da spesifik değildir. Portal alanların çoğunluğunu tutan periduktal portal ödem ve marjinal kanaliküler proliferasyon, değişik derecelerde gözlenir. En belirgin tutulum daha büyük kanallarda gözlenir. İntraasiner safra kanallarının epitelinde irregülarite, fokal hiperplazi, ödem veya hepsi birden izlenebilir. Sıklıkla proliferasyon olan kanaliküllerde az miktarda nükleer atipi görülür. Biliyer obstrüksiyonun göstergesi olan duktal kolestazda, biliyer epitel safra pigmentleri intralüminal çöküntüler oluşturarak boyarlar. Bu ancak olguların %10'unda bulunur. Staza bağlı safra çevre dokuya ekstrasvazasyonu, ksantogranüloamatöz yanıtı provoke ederek, periportal safra infarktına neden olabilir. Ancak bu durum geç bir bulgu olup histopatolojik incelemede nadiren bulunur. Safra portal trakt çevresine ekstrasvazasyonu, nötrofil infiltrasyonuna neden olur. Nötrofiller sıklıkla kanaliküller çevresinde küme oluştururlar. İnflamatuvar elamanlar içinde bir miktar mononükleer hücre bulunmakla birlikte, baskın olan hücre tipi nötrofillerdir. Akut biliyer obstrüksiyonun tam gelişmiş tablosu portal ödem, kolestaz, safra kanalikül proliferasyonu ve portal PNL birikimidir(29,30,31,32,33, 34).

### **Kronik Değişiklikler**

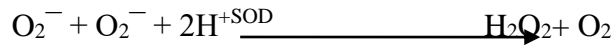
Temel özellikler kronik kolestaz ve fibrozistir. Akut biliyer obstrüksiyondan farklı olarak fibrozis daha fazladır. Portal infiltrasyonda daha fazla sayıda lenfosit bulunur. Kanaliküllerin, kolanjiollerin ve intraasiner safra kanallarının lümeninde uzun süre kalan safra, olasılıkla suyun emilmesine bağlı olarak yoğunlaşır ve bir tabaka haline gelir. Kronik kolestatik durumlarda safra stazı temelde periportal olma eğilimindedir. Kronik kolestazda görülen diğer değişiklikler farklı derecelerde kolanjiyosellüler proliferasyon ve portaortal bağlantısı bulunan periportal fibrozistir. Uzun süren tıkanma sarılığında interlobüler safra kanalları yok olabilir.

Bu durumda, kronik obstrüktif değişlikleri sirozdan ayırmak imkansız hale gelir. Son aşama olarak mikronodüler biliyer siroz oluşur(29, 30, 31, 32, 33, 34).

### 3. ANTİOKSİDANLAR

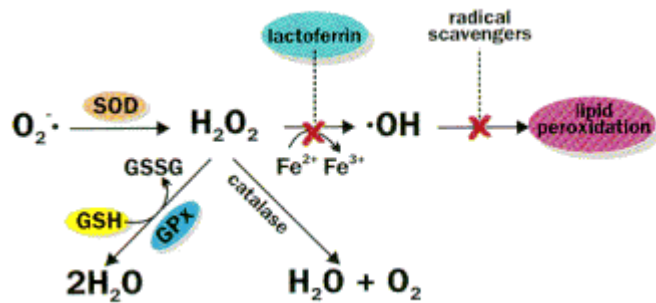
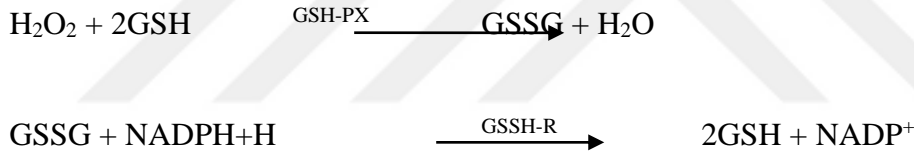
#### 3.1 Süperoksid Dismutaz(SOD):

Süperoksid serbest radikalini iki hidrojen iyonu ile reaksiyona sokarak hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür(35, 36)(şekil-4)



#### 3.2 Glutasyon peroksidaz(GSH-PX):

Hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. İntraselluler lipidleri ve membran lipidlerini peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Tepkime sonucunda okside glutasyon (GSSG) oluşmaktadır. Oluşan okside glutasyon, glutasyon reduktazın (GSSG-R) etkisi ile tekrar glutatyona dönüşür.(37, 38) (şekil-3)



Şekil-3: SOD ve GSH yolları(39).

### 4. LİPİD PEROKSİDASYON

Serbest oksijen radikallerinin membranlarda etkisi sonucu, lipid peroksidasyonu oluşur. Günümüzde, birçok hastalığın patogeneğinde lipid peroksidasyonu sorumlu tutulmaktadır(40).

Lipid peroksidasyonunun biyolojik etkileri özellikle poliansatüre yağ asitlerinin bulunduğu hücre membranlarında ve lizozom, mitokondri gibi organellerde görülür. Biyolojik membranlarda artmış peroksidasyon, doymamış ve doymuş yağ asidi oranında bir düşmeye neden olur. Bu reaksiyon sonucu yağ asidi hidroperoksitleri ve aldehit bileşikleri oluşarak doku yıkımı görülür (41).Organizmada, lipid peroksidasyonu üç basamakta gerçekleşir (40,41,42).

#### **4.1.Başlangıç**

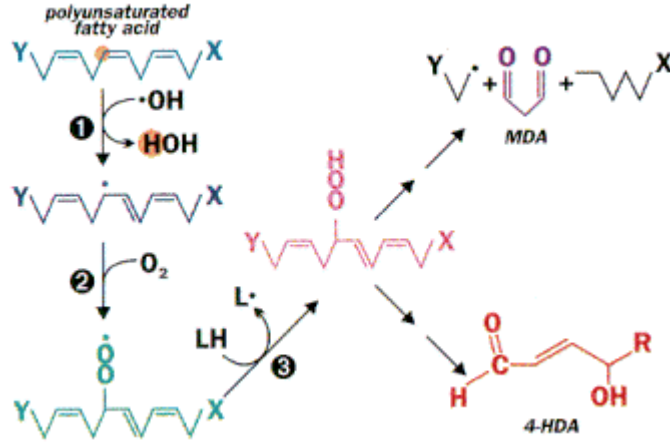
Serbest radikal oluşturacak şekilde enerji aktarımı oluşması ile başlar.Poliansatüre yağ asitleri oksidasyona oldukça duyarlıdır ve reaksiyonsonucu yağ asidi radikali oluşur. Başlangıç fazından sonra uygun koşullar olursa serbest radikalın tetikleyici rolü sonucu farklı radikal ürünleri ortaya çıkar (41,42).

#### **4.2. İlerleme**

Başlangıç aşamasının ürünü olan yağ asidi radikaline oksijenin eklenmesi ile lipid peroksil radikali oluşur. İlerleme fazında, lipid peroksil radikallerinden lipid hidroperoksitler ve diğer radikal ürünleri oluşur. Lipid hidroperoksitler genellikle demir ve bakır gibi metallerin varlığında anstabil olup lipid alkoksiradikaller ve lipid peroksil radikallerine dönüşür (41). Hidroksil radikal, lipid peroksil radikallerin ve alkoksil radikallerin çoğu poliansatüre yağ asitlerinin direkt oksidasyonuna neden olabilir. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı sonucunda, lipid peroksidasyonunu ilerletenradikaller ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler gibi radikal olmayan ürünler oluşur (40,41).

#### **4.3.Sonlanma**

Bu reaksiyonlar sonucu oluşan hidroperoksitler, aldehitler ve epoksitler gibi lipid peroksidasyon ürünleri ve direkt olarak serbest radikaller, protein, enzim ve nükleik asitlerle reaksiyona girip onları inaktive eder (40,41,42).(şekil-5)



Şekil-4: lipid peroksidasyonunda MDA oluşumu(39)

## 5. ALFA LİPOİK ASİT

Alfa lipoik asit ( $\alpha$ -LA) tiyol grubu içeren, antioksidan özelliği olan bir moleküldür. Ditiyolan halkası sayesinde yüksek bir indirgeme özelliğine sahiptir(9). Bezelye, pirinç, yumurta, domates, karaciğer, kalp gibi yiyeceklerde yeterli miktarda bulunur. Bununla birlikte mitokondride bulunan lipoik asid sentaz tarafından sentezlenebilmektedir(43). Vücutta dihidrolipoik asit'e (DHLA) indirgenir. DHLA antioksidan etkisinin yanında özellikle demir varlığında prooksidan etki gösterebilir (9).

Alfa lipoik asit türevleri oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek ortamdaki uzaklaştırmaktadır. C vitamini ve glutatyon ile reaksiyona girerek hücre membranını korur. E vitamininin geri dönüşümünde katkı sağlar. Antioksidan etki yanında dihidrolipoat demiri indirgeyerek prooksidan etki gösterir. Aynı zamanda alfa lipoik asit'in iskemi-reperfüzyon hasarlarında, DM, katarak, HIV aktivasyonunda, radyasyon etkilerinde ve oksidatif stres olaylarında faydalı olduğu görülmüştür. Alfa lipoik asit myoglobin, prolaktin, tioredoksin ve NF- $\kappa$ B gibi redox düzenleyicisi olarak görev yapar. (44-59). Fibrozis'de rol alan plasminogen aktivatör inhibitör-1'i (PAI-1) durdurarak fibrozisi azaltır. (60)

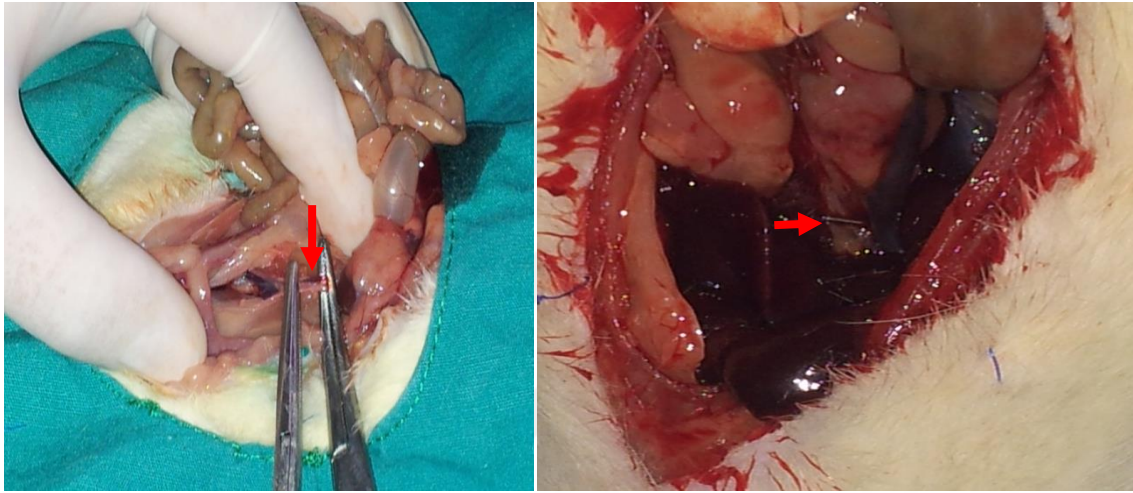
## 6. MATERYAL VE METOD

Deneyel çalışma Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinde yapıldı. Çalışmada 22°C sıcaklıkta, standart fare yemi ve çeşme suyu ile beslenerek laboratuvar ortamında en az bir hafta barındırılmış ağırlıkları 200-240 gr olan 18 adet Wistar-Albino tipi ratlar kullanıldı.

Ratlar rastlantısal olarak 3 gruba ayrıldı. **Grup I (Sham gurubu)** (no=6): Laparotomi yapıp koledok mobilize edildi.

**Grup II (Tıkanma sarılığı grubu-BDL)** (n0=6): Laparotomide ortak safra kanalı klips ile kapatılarak tıkanma sarılığı oluşturuldu.

**Grup III (Tıkanma sarılığı +  $\alpha$  lipoik asit grubu-BDL+LA)** (no=6): Laparotomide ortak safra kanalı klips ile kapatılarak tıkanma sarılığı oluşturuldu ve tedavi amacıyla 10 gün boyunca, 50 mg/kg/gün dozunda  $\alpha$  lipoik asit (Thioctacid 600 T sol5x24ml/600mgMeda Pharma GmbH & Co. KG, 61352 Bad Homburg) IM verildi.



**Resim 1:** A-Koledok explorasyonu (klempe edilmiş), B-Damar klipsi ile kapatılmış hali

### 6.1 Anestezi ve Cerrahi İşlem

Genel anestezi için 100 mg/kg ketamin HCl (Alfamine 10cc) ve 25 mg/kg xylazine HCl (Alfazyne flk 30 cc) ratların sağ arka bacaklarından intramuskuler olarak uygulandı. Anesteziyi takiben tüm hayvanların karın bölgesi tıraş edildi, %10 povidon iodyene ile cilt temizliğinden sonra ratlar supin pozisyonuna getirildi. İnsizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde ameliyat alanı steril örtü ile örtüldü. Ksifoid' in hemen altından başlanarak yaklaşık 3 cm'lik orta hat insizyonu ile cilt ve cilt altı dokular geçilerek karına girildi. Sham grubunda ana hepatik safra kanalı bulunup yalnızca mobilize edildi ve karın kapatıldı. Grup II ve III'de koledok çevre dokulardan prepare edildi. İzole olarak damar klipsi ile ana safra kanalı kapatılarak tıkanma sarılığı oluşturuldu. Sıvı resüsitasyonu amacı ile batına 1 ml serum fizyolojik bırakıldıktan sonra karın ön duvarı 3/0 ipek, cilt 3/0 prolen ile kapatıldı.



Cerrahi işlem sonrası 3. ve 7. günlerde ratlardan intrakardiak 2 cc kan alınarak yerine 2 cc serum fizyolojik verildi. Cerrahi işlem sonrası 10. gün genel anesteziyi takiben tüm ratlara laparotomi yapıldı. İkinci ve 3. grupta safra kanallarının dilate olduğu görüldü. Biyokimyasal analiz ve histopatolojik değerlendirme için karaciğer uygun şekilde çıkarıldı. Histopatolojik değerlendirme için alınan karaciğer dokusu %10 formol ile fikse edildi. Biyokimyasal inceleme (glutasyon, superoksit dismutaz, malonil dialdehid) için alınan karaciğer dokusu fosfat tamponu içerisine kondu. AST, ALT, GGT, ALP, T.BİL ve D.BİL analizleri için ratların aortundan enjektörle kan alındı. Bütün bu örnekleme işlemi her bir rat için ortalama 7 dakikada tamamlandı. Ratlar hipovolemiye sokularak sakrifiye edildi.

## **6.2 Biyokimyasal Değerlendirme**

Kafkas Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastansı Biyokimya A.D. laboratuvarında postoperatif 3., 7. ve 10. günlerde alınan kan örnekleri tüplere konularak 5000 devir/dk santrifüj edildi. Serumları ayrılarak çalışılincaya kadar -20°C' de saklandı.

Kan alma işlemi sonrası hipovolemiye sekonder sakrifiye edilen ratların karaciğer dokuları pH 7.4 olan fosfat tamponu ile dolu cam tüplere konuldu. Karaciğer dokusunda, anahtar antioksidan olan glutasyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyeleri ölçüldü. -20 C' de saklanan postoperatif 3., 7. ve 10. günlerde alınan kanların serum örneklerinden karaciğer doku hasarını gösteren AST, ALT, safra yolları patolojisinde kullanılan GGT, ALP, T.BİL ve D.BİL çalışıldı. Bu değerler Kafkas üniv. Araştırma ve uygulama hastanesi biyokimya laboratuvarında (beckman coulter au680 cihazı ile) spektrofotometre yöntemi ile ölçüldü.

## **7.2 Anti oksidanların ölçümü**

### **7.2.1 MDA homojenatı tamponu ( % 10 KCl):**

10 g KCl alınarak 100 ml saf suda çözüldü.

MDA ölçüm karışımı:

A - % 8 Sodyum lauril sülfat (SLS): 0.8 gr SLS alınıp distile su ile 10 ml' de çözüldü.

B - % 0.08 Tiyobarbütirik (TBA): 0.48 gr TBA alınarak 1-2 damla 1 M NaOH ilavesi ile hacmi 60 ml' ye tamamlandı.

C – % 20 Asetik asit: 13 ml glasiyel asetik asit alındı üzerine 65 ml distile su eklendi.

**7.2.2SOD homojenat tamponu (50 mM pH 7,8, 10 mM EDTA içeren Fosfat Tamponu):**

1.7 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 0.73 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözüldü ve pH 7,8' e ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

SOD ölçüm karışımı:

A – 0.3 mM Ksantine: 0.0018 g ksantine alınarak hacmi distile su ile 40 ml' ye tamamlandı.

B – 0.6 mM EDTA: 0.0035 g EDTA alındı ve hacmi distile su 20 ml' ye tamamlandı (2 damla 5 M NaOH ile çözüldü).

C – 150 µM NBT (Nitro blue tetrazolium): 0.0024 g NBT alınarak 20 ml distile suda çözüldü.

D – 0.4 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 0,5088 g alınarak 12 ml distile suda çözüldü.

E – 1.2 g / L BSA (Bovine Serum Albumine): 0.0061 g tartıldı ve 6 ml distile suda çözüldü.

SOD enziminin aktivitesini ölçmek için gereken çözelti (167 U/L Xanthine oksidaz): Orijinal ambalajından (1 ml' sinde 32 mg protein ve 0.3 U enzim ihtiva eden enzim) 34.79 µl alındı ve üzerine 2 ml soğuk 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi eklendi.

SOD enziminin aktivitesini ölçmek için gereken çözelti ( 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>):

0.7928 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> alındı ve 3 ml distile suda çözüldü. (bu çözelti her seferinde taze olarak hazırlandı ve soğuk olarak kullanıldı).

SOD enziminin aktivitesini ölçmek için gereken çözelti (0.8 mM CuCl<sub>2</sub>): 0.0108 g CuCl<sub>2</sub> alındı ve 100 ml distile suda çözüldü.

### **7.2.3GSH Homojenat Tamponu (50 mM pH 7.4, Tris - HCl Tamponu):**

1.514 g Tris-HCl alınarak 200 ml saf suda çözüldü ve pH 7.4' e ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 250 ml' ye tamamlandı.

GSH ölçüm tamponu (200 mM pH 8.2, 0.2 mM EDTA içeren Tris-HCl Tamponu):

6.05 g Tris-HCl ve 0.0146 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözüldü ve pH 8.2' ye ayarlandıktan sonra son hacim distile su ile 250 ml' ye tamamlandı.

GSH miktarını ölçmek için gereken çözelti ( 10 mM DTNB ): 0.03963 g DTNB alındı ve 10 ml' ye metanol ile tamamlandı.

### **Lipid peroksidasyon (LPO) miktarı ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu LPO' nun son ürünlerinden olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu MDA' nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel alır. Bir molekül MDA iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere reaksiyona girer. LPO ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre MDA' nın asidik ortamda TBA ile oluşturduğu rengin 532 nm' de ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı.(61)

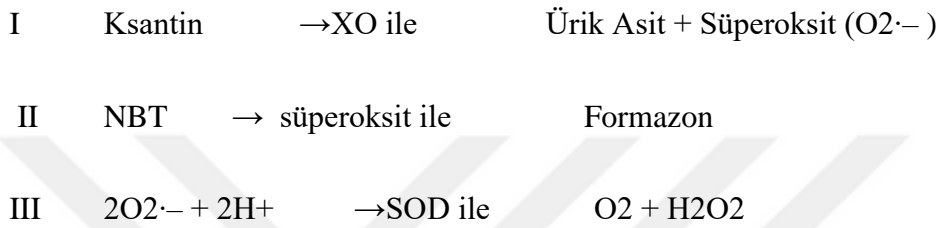
LPO ölçümü: 0.5 g doku üzerine 4.5 ml %10 KCl ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 5000 g 4 oC' de 20 dakika santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat, 100 µl % 8 sodyum lauril sulfat (SLS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl %

0.08 TBA ve 150 µl distile su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100 oC' de 60 dakika inkubasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2.5 ml n-bütanol ilave edildi ve ölçüm alındı.

LPO miktarının hesaplanması: Oluşan kırmızı renkli maddenin absorbanası 532 nm' de 3 ml' lik cam küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/g doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 6 tekrar yapılarak verildi.

### **Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri, şayet ortamda NBT (nitroblutetrazolium) mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluştururlar. Bu bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorbanans verir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından hidrojen peroksit'e dönüştürüldüğü için formazon oluşumu azalacak buna bağlı olarak da 560 nm' de ölçülen absorbanans azalacaktır. Absorbanstaki azalmanın miktarı bize SOD aktivitesini verecektir. Özetle; SOD aktivitesi aşağıda verilen II nolu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle ölçülebilmektedir.



SOD ölçümü: SOD aktivitesi Sun ve arkadaşları tarafından tarif edilen yönteme göre ölçüldü. (62) Pençe dokuları homojenize edildikten sonra 18.000 g' de 1 saat santrifüj edildi. Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0.3 mM ksantin, 0.6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0.4 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1.2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantin oksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkubasyona bırakıldı ve 100 µl 0.8 mM CuCl<sub>2</sub> ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.

SOD aktivitesi' nin hesaplanması: Oluşan formazon miktarları 560 nm' de 3 ml' lik kuvarz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak aşağıdaki geliştirilen formülden aktivite değerleri EÜ elde edildi ve SOD aktivitesi mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 6 tekrar yapılarak verildi.

$$EÜ/mg doku = \Delta A_{kör} - \Delta A_{numune} / \Delta A_{kör}$$

### **Total glutatyon (GSH) miktarı ölçümü:**

**Ölçüm prensibi:** Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

GSH miktarının ölçülmesi: Sedlak ve Lindsay' in geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. (63) Bu amaçla 0.5 g doku üzerine 4.5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) ilave

edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 12.000 g 4 oC' de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0.2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH = 8.2), 500 µl süpernatant, 100 µl DTNB ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslendi. Karışım 37 oC' de 30 dakika inkubasyona bırakıldı ve sonra ölçümleri alındı.

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm' de 3 ml' lik kuvarz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi altı tekrar yapılarak belirlendi.

### 7.3 Patolojik Değerlendirme

Formaldehid solüsyonunda fikse edilen karaciğere ait doku örnekleri 4 mm'lik parçalara bölünerek histopatolojik inceleme için standart laboratuvar takiplerinden sonra parafine gömülerek 4 mikrometre kalınlığında kesitler hazırlandı. Hemotoksilen-eozin ve Mason trikrom ile boyandı. Dokuların histopatolojik değerlendirmesi örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen bir patolog tarafından yapıldı.

Histopatolojik değerlendirmede;

safr kanalikül sayısı

safr kanalikül hasarı

portal mesafede inflamatuvar cevap ve hücre sayısı (PNL/LEN)

hidropik hepatosit dejenarasyonu

nekroz

fibrozise bakıldı.

Histopatolojik değerlendirme ışık mikroskopunda x400, fibrozis için x200 büyütme alanına göre yapıldı.(64, 65, 66, 67)

**Fibrozis skorlaması (66):**

Fibrozis yok	0
Bazı portal alanlarda fibröz genişleme var +/- kısa fibröz septa	1
Yaygın olarak portal alanlarda fibröz genişleme +/- kısa fib.septa	2
Yaygın fibröz portal alanlarda genişleme + portoportal köprüleşme	3

Tüm portal alanlarda fibröz genişleme +P-P köprü + P-C köprü	4
P-P ve P-C köprü + nodül	5
Siroz	6

Skor 1 kriterlerindeki portal alandaki fibrosis genişlemesini; mason trikrom renk koyulaşması ve safra kanalikülülerinin etrafını sarmasıyla değerlendirdik.

#### **Safra duktus hasariskorlaması (64, 65, 66, 67):**

Safra duktus epitelinde şişme-soluklaşma	skor 1
Lümen hücreepikallerinin kabara çivisi gibi çıkıntı yapması, lümen düzgünlüğünün bozulması	skor 2
Lümenin oblitere olması ve/veya duktusun parçalanması	skor 3

#### **Hepatositlerde hidropik dejenerasyonskorlaması (64, 65, 66, 67):**

Central venden ışınsal dağılan hepatositlerde hafif pattern bozukluğu (proliferasyonda da olur)

Stoplazmik granülerliğini kaybedip daha homojen ve soluk renkte olması	skor 1
Asıl hepatositlerde poligonalliğin bozukluk spherik hal alması	skor 2
Yer yer bazı şiş hücrelerin patlaması	skor 3

Histopatolojik değerlendirme yapılırken skorlam; safra kanalikül sayısı ve hasarsındaki değerler için skorlamasayılan kanalikül sayısına göre 1-4 skor 1, 5-9 skor 2, 9-13 skor 3 olarak değerlendirildi. Portal mesafede inflamatuvar cevap ve hücre sayısı değerleri için skorlama sayılan hücre sayısına göre 1-9 skor1, 9-18 skor 2, 12-27 skor 3 olarak değerlendirildi. Nekroz için skorlama yapılmadı. Gözlenen değerler baz alındı. Fibrozis Ishak'a göre değerlendirildi (64, 65, 66, 67).

#### **7.4 İstatistiksel Analiz**

Çalışmada üzerinde durulan AST, ALT, GGT, ALP, T.BİL, D.BİL, GSH, LPO, SOD değerlerinin istatistiksel analizi için ANOVA testi yapıldı. Gruplar arasındaki farklar için ise Duncan çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı ve tüm analizler SPSS 16.2.

**Kafkas üniversitesi eğitim araştırma hastanesi Patoloji A.D. Laboratuvarı ve Kafkas Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Biyokimya A.D. Laboratuvarı'nda 01/08/2013-01/02/2014 tarihleri arasında yapıldı.**



## **8. BULGULAR**

### **8.1 Biyokimyasal bulgular**

**Tablo 1:** AST için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler			
		Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	P değeri
<b>Grup</b>	2	671027.5903	335513.7951	19.61	<.0001
<b>Gün</b>	2	95062.5417	47531.2708	2.78	0.0733

**Tablo 2:** Grupların AST değerine göre Duncan gruplanması

<b>Grup</b>	<b>Ortalama</b>	<b>N</b>	<b>Duncan Grupları</b>
Grup 1	155.33	18	A
Grup 2	455.28	18	B
Grup 3	380.78	18	B

AST için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 A kümesinde, grup 2 ile grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi. Günler arası AST değerleri, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

**Tablo 3:** ALT için çoklu Anova

<b>Kaynak</b>	<b>Kareler</b>			<b>F değeri</b>	<b>P değeri</b>
	<b>SD</b>	<b>Toplamı</b>	<b>KarelerOrtalaması</b>		
<b>Grup</b>	2	125343.22	62671.61	3.44	0.0411
<b>Gün</b>	2	247613.04	123806.52	6.80	0.0027

**Tablo 4:** Grupların ALT değerine göre Duncan gruplanması

<b>Grup</b>	<b>Ortalama</b>	<b>N</b>	<b>Duncan Grupları</b>
Grup 1	51.83	18	A
Grup 2	165.89	18	B
Grup 3	173.33	18	B

ALT için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 A kümesinde, grup 2 ile grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi. Günler arası ALT değerleri, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu.



**Tablo 5:** GGT için çoklu Anova

Kaynak	Kareler			F değeri	P değeri
	SD	Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	330.27	165.13	3.67	0.0337
<b>Gün</b>	2	59.041	29.52	0.66	0.5240

**Tablo 6:** Grupların GGT değerine göre Duncan gruplanması

Grup	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	3.083	18	A
Grup 2	8.444	18	B
Grup 3	9.611	18	B

GGT için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 A kümesinde, grup 2 ile grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlendi. Günler arası GGT değerleri, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

**Tablo 7:** ALP için çoklu Anova

Kaynak	Kareler			F değeri	P değeri
	SD	Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	144404.28	72202.14	8.18	0.0010
<b>Gün</b>	2	5888.29	2944.14	0.33	0.7181

**Tablo 8:** Grupların ALP değerine göre Duncan gruplanması

Grup	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	216.92	18	A

Grup 2	365.00	18	B
Grup 3	357.11	18	B

ALP için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 ve grup 2 A kümesinde, grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi. Günler arası ALP değerleri, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

**Tablo 9:** T.BİL için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	937.20	468.60	61.09	<.0001
<b>Gün</b>	2	7.75	3.87	0.51	0.6068

**Tablo 10:** Grupların T.BİL değerine göre Duncan gruplanması

Grup	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.10	18	A
Grup 2	9.66	18	B
Grup 3	10.81	18	B

T.BİL için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 A kümesinde, grup 2 ile grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi. Günler arası T.BİL değerleri, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

**Tablo 11:** D.BİL için çoklu Anova

Kaynak	Kareler			F değeri	P değeri
	SD	Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	549.61	274.80	62.09	<.0001
<b>Gün</b>	2	3.19	1.59	0.36	0.6989

**Tablo 12:** Grupların D.BİL değerine göre Duncan gruplanması

Grup Adı	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.02	18	A
Grup 2	7.39	18	B
Grup 3	8.20	18	B

D.BİL için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 A kümesinde, grup 2 ile grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi. Günler arası D.BİL değerleri, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

**Tablo 13:** SOD( $\mu\text{l/g}$ ) için çoklu Anova

Kaynak	Kareler			F değeri	P değeri
	SD	Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	0.00569052	0.00284526	11.86	0.0012

**Tablo 14:** Grupların SOD değerine göre Duncan gruplanması

Grup	Ortalama	N	Duncan Grupları
------	----------	---	-----------------

Grup 1	0.36	6	A
Grup 2	0.31	6	B
Grup 3	0.34	6	A

SOD için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında anlamlı fark bulundu. Grup 1 ile Grup 3 A kümesinde, Grup 2 B kümesinde yer aldı. En büyük değer A kümesinde en düşük değer B kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 17:** GSH( $\mu\text{l/g}$ ) için çoklu Anova

Kaynak	Kareler			F değeri	P değeri
	SD	Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	0.011	0.005	4.29	0.0371

**Tablo 18:** Grupların GSH değerine göre Duncan gruplanması

Grup	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.20	6	B
Grup 2	0.16	6	A
Grup 3	0.22	6	B

GSH için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında anlamlı fark bulundu. Grup 2 A kümesinde, Grup 1 A,B kümesinde, Grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 15:** MDA( $\text{nmol/g}$ ) için çoklu Anova

Kaynak	Kareler			F değeri	P değeri
	SD	Toplamı	KarelerOrtalaması		
<b>Grup</b>	2	0.087	0.043	2.33	0.1365

**Tablo 18:** Grupların MDA değerine göre Duncan gruplanması

Grup Adı	ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.0599	6	A
Grup 2	0.0625	6	A
Grup 3	0.0615	6	A

MDA için, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

## 8.2 Histopatolojik bulgular

### İstatiksel değerlendirme

**Tablo 19:**Safra kanalikül sayısı için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	5.61	2.80	5.33	0.0204

**Tablo 20:**Safra kanalikül sayısı değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Groupları	ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	1.0	6	A
Grup 2	2.5	6	B
Grup 3	1.6	6	A

Safra kanalikül sayısı için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 ve grup 3 A kümesinde, grup 2 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 21:**Safra kanalikül hasarı için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	9.18	4.59	79.63	<.0001

**Tablo 22:**Safra kanalikül hasarı değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Groupları	ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	1.25	6	A
Grup 2	3.00	6	B
Grup 3	3.00	6	B

Safra kanalikül hasarı için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 A kümesinde, grup 2 ve grup 3 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 23:**Portal mesafede inf hücre pmnl için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	3.85	1.92	6.14	0.013

**Tablo 24:**Portal mesafede inf hücre pmnl değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Groupları	ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.75	6	A
Grup 2	2.00	6	B
Grup 3	1.33	6	A

Portal mesafede inf hücre pmnl için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 ve grup 3 A kümesinde, grup 2 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 25:**Portal mesafede inf hücre lenf. için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	2.27	1.13	2.06	0.16

**Tablo 26:**Portal mesafede inf hücre lenf değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Groupları	ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	1.50	6	A

Grup 2	2.16	6	A
Grup 3	1.33	6	A

Portal mesafede inf hücre lenf için, p değeri 0.05'ten büyük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark gözlenmedi.

**Tablo 27:**Hidropik hepatosit dejenerasyonu için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	6.00	3.00	13.00	0.0008

**Tablo 28:**Hidropik hepatosit dejenerasyonu değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Groupları	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.50	6	A
Grup 2	2.00	6	B
Grup 3	1.00	6	A

Hidropik hepatosit dejenerasyonu için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 ve grup 3 A kümesinde, grup 2 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 29:**Nekroz için çoklu Anova

Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	10.02	5.01	5.25	0.0214

**Tablo 30:**Nekroz değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Grupları	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.25	6	A
Grup 2	1.83	6	B
Grup 3	0.16	6	A

Nekroz için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 ve grup 3 A kümesinde, grup 2 B kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

**Tablo 31:**Fibrozis için çoklu Anova

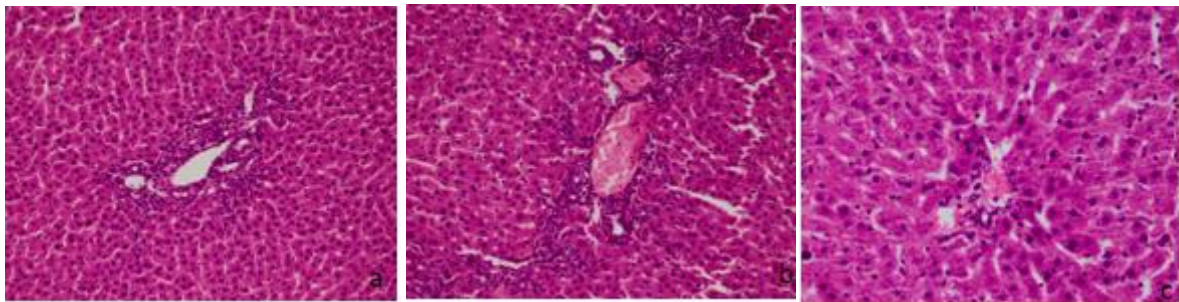
Kaynak	SD	Kareler		F değeri	P değeri
		Toplamı	KarelerOrtalaması		
Grup	2	15.41	7.70	15.82	0.0003

**Tablo 32:**Fibrozis değerine göre Duncan gruplanması

Duncan Grupları	Ortalama	N	Duncan Grupları
Grup 1	0.50	6	A
Grup 2	3.0	6	B
Grup 3	1.66	6	C

fibrozis için, p değeri 0.05'ten küçük olduğu için gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı anlamlı fark bulundu. Grup 1 ve A kümesinde, grup 2 B kümesinde , grup 3 C kümesinde yer aldı. En büyük değer B kümesinde en düşük değer A kümesinde gözlemlendi.

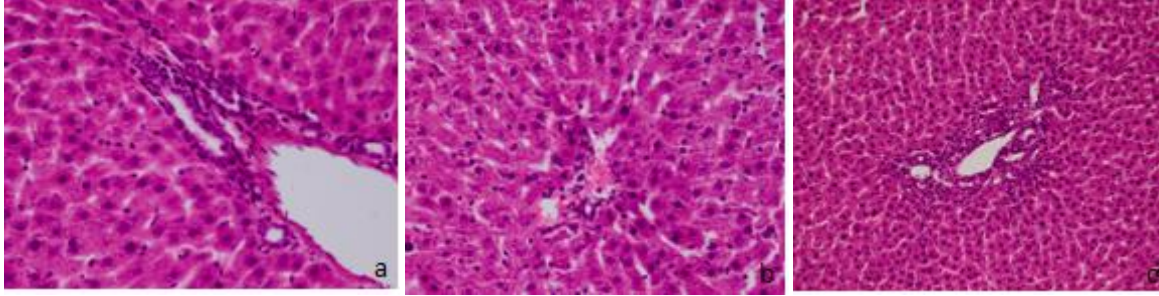
Mikroskopik değerlendirme



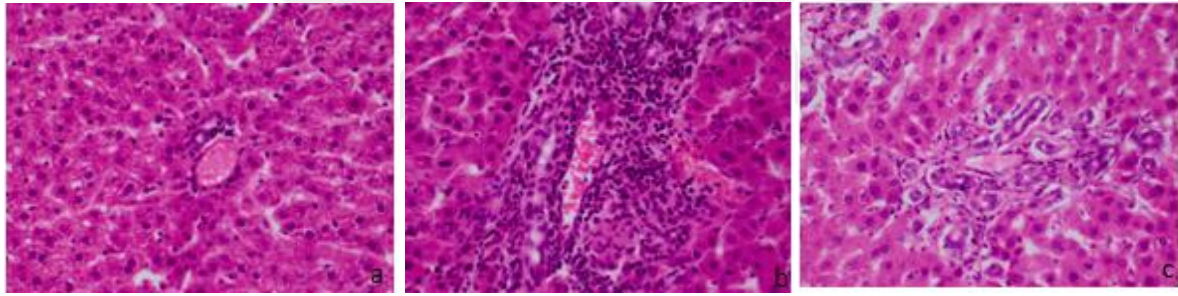
**Şekil 6:** Safra duktul sayısı:(a)BDL+LA grubuna ait safra duktul sayısında azalma, (b) BDL



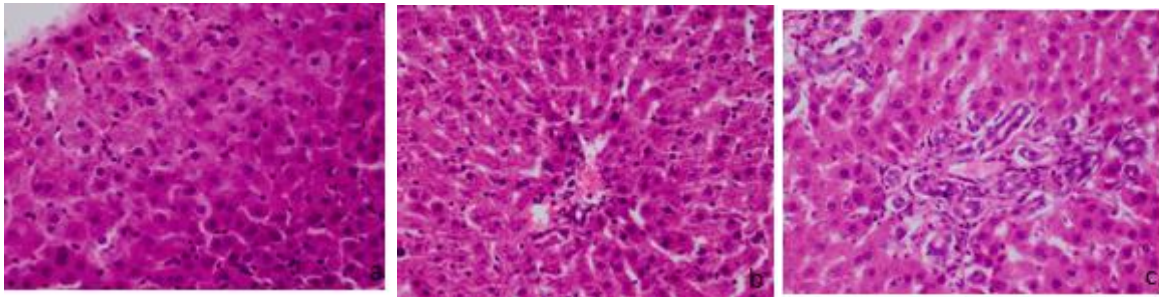
grubuna ait artmış duktul sayısı, (c) Sham grubuna ait normal duktus(a ve b x200 büyültme alanı, c x400 büyültme alanı, HE).



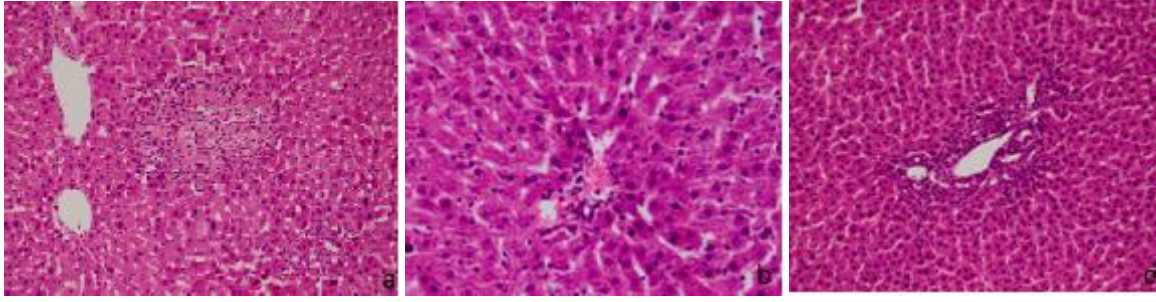
**Şekil 7:** safra duktul hasarı: (a) BDL grubuna ait Lümenin oblitere olması ve/veya duktusun parçalanması, (b) Sham grubuna ait normal dutuslar(x400 büyültme alanı, HE), (c) BDL+LA grubuna ait karaciğer dokusu (x200 büyültme alanı, HE).



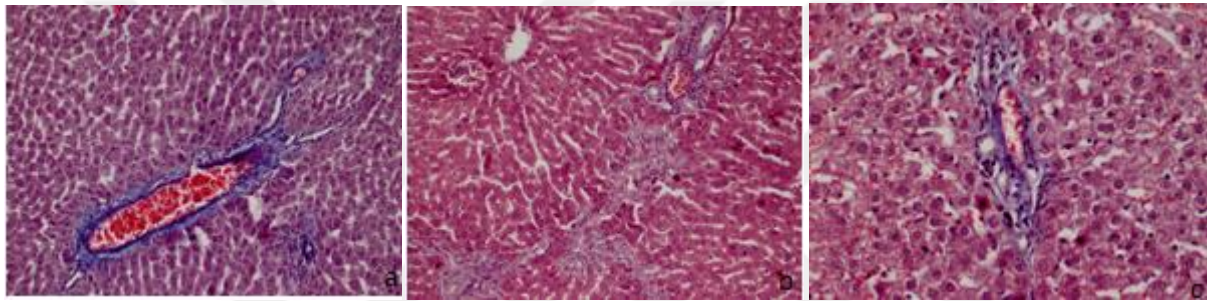
**Şekil 8:** portal mesafede inflamatuvar hücreler(a)Sham grubuna ait normal karaciğer dokusu, (b) BDL grubuna ait çok sayıda PNL/LEN infiltrasyonu, (c) BDL+LA grubuna ait PNL/LEN infiltrasyonunda azalma (x400 büyültme alanı, HE).



**Şekil 9:** Hepatositlerde hidropik dejenerasyon (a) BDL grubuna ait Hepatositlerde hidropik dejenerasyon alanı, (b) Sham grubuna ait normal karaciğer dokusu, (c) BDL+LA grubuna ait karaciğer dokusu (x400 büyültme alanı, HE).



**Şekil 10:** Nekroz (a) BDL grubuna ait nekroz alanı (x200 büyültme alanı, HE) , (b) Sham grubuna ait normal karaciğer dokusu (x400 büyültme alanı, HE), (c)BDL+LA grubuna ait karaciğer dokusu (x200 büyültme alanı, HE).



**Şekil 11:** Fibrozis (a)Sham grubuna ait bazı portal alanlarda fibröz genişleme var +/- kısa fibröz septa, (b) BDL grubuna aitYaygın fibröz portal alanlarda genişleme + portoportal köprüleşme, (c) BDL+LA grubuna ait bazı portal alanlarda fibröz genişleme var +/- kısa fibröz septa (a ve c x400 büyültme alanı, b x200 büyültme alanı, Mason trikrom).

## 9. TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı sebep olduğu komplikasyonlar, mortalite ve morbidite'ye olumsuz etkileri nedeni ile genel cerrahinin önemli problemlerindedir. Major komplikasyonları sepsis, renal ve hepatik disfonksiyon, gastrointestinal kanama, koagülopati, kardiyovasküler disfonksiyon, periferik vazokonstriksiyon'dur .(1)

Tıkanma sarılığında gelişen Endotoksemi ise proinflamatuvar süreci tetikleyerek serbest oksijen radikalleri üretimine neden olur (1,2,3,4,5). Doku hasarı oluşumunda SOR (Serbest

O<sub>2</sub> radikalleri) ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik ana nedenlerden biridir. (6).

Glutasyon, oksijen radikallerine karşı hücrel savunmada büyük rol oynar. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Lipit peroksidasyonu ile hasarlanan dokuda MDA düzeyleri artar (5,7) Malondialdehid mutajenik ve kanserojenik bir üründür. Tıkanma sarılığı oluşturulan ratlar da serbest oksijen radikallerini ortamdaki uzaklaştıran glutasyon peroksidaz, ve superoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır, böylece serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar (8).

Alfa lipoik asit antioksidan özelliği olan bir moleküldür. Fizyolojik sistemlerde mitokondride bulunan lipoik asit sentaz tarafından sentezlenir.(9). Alfa lipoik asit türevleri oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek ortamdaki uzaklaştırmaktadır. C vitamini ve glutasyon ile reaksiyona girerek hücre membranını korur. E vitamininin geri dönüşümünde katkı sağlar(43-59). Alfa lipoik asit fibrozis'de rol alan PAI-1 inhibitörünü durdurarak fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. (60)

Bu çalışmada AST, ALT değerleri için Sham grubu ile BDL ve BDL+LA grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. BDL grubu ile BDL+LA arasında anlamlı fark gözlenmedi. AST ve ALT, karaciğer hepatosit hasarını gösteren enzimler olarak bilinmektedir(68). Karaciğer hasarında alfa lipoik asidin etkisine bakılan literatür çalışmalarında AST ve ALT değerleri için lipoik asit verilen hayvanlar ile verilmeyen hayvanlar arasında anlamlı fark gözlenmiştir (69, 70, 71, 72). Bu çalışmada anlamlı fark gözlenmemesinin nedeni, diğer çalışmalarda kurgulanan model ile bu çalışmanın tasarımının farklı olması olabilir(69, 70, 71, 72). Literatürlerde iskemi / reperfüzyon modeli oluşturularak çalışma yapılmış. Tek doz alfa lipoik asit uygulanmış.(70, 71)

Bu çalışmada GGT, ALP, Sham grubu ile BDL ve BDL+LA grubu arasında anlamlı olarak fark bulundu. BDL grubu ile BDL+LA arasında anlamlı fark gözlenmedi. GGT ve ALP kolestazda yükselen ve laboratuarda sık kullanılan safra yolları ile ilgili enzimlerdir (68). GGT ve ALP Karaciğer hasarında alfa lipoik asidin etkisine bakılan literatür çalışmalarında GGT ve ALP lipoik asit verilen hayvanlar ile verilmeyen hayvanlar arasında sonuçlar bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiş(69,72). Eldeki çalışmada GGT ve ALP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasının nedeni safra yollarındaki hasarın BDL grubu ile BDL+LA grupları arasında patolojik olarak fark olmaması da dikkate alındığında kaynaklanabilir.

Yaptığımız çalışmada T.BİL, D.BİL SHAM grubu ile BDL ve BDL+LA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. BDL grubu ile BDL+LA arasında anlamlı fark gözlenmedi. Tıkanma sarılığında T.BİL, D.BİL değerleri yükselmektedir (68). Bu çalışmada Alfa Lipoik asidin karaciğer üzerinde etkisine bakılan diğer hayvan çalışmalarına uyum olduğu gözlenildi.(69,72)



SOD ile GSH için SHAM ile BDL+LA arasında istatistiksel olarak fark yok iken(p değeri 0,05'ten büyük)BDL grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (p değeri 0,05'ten küçük). SOD için En büyük değer sham grubunda en küçük değer BDL grubunda yer aldı. GSH için En büyük değer BDL+LA grubunda en küçük değer BDL grubunda yer aldı.Bu çalışmada elde edilen GSH ve SOD sonuçları ile diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlar arasında uyumlu olduğu gözlemlendi(69,70,71,72.)

MDA açısından gruplar arasında fark gözlemlenmedi. Ama BDL+LA grubunun ortalama değerleri kontrol grubuna daha yakın ölçüldü. Karaciğer hasarında alfa lipoik asidin etkisine bakılan literatür çalışmalarında MDA çalışılmıştır(69,71). Yapılan çalışmalarda MDA, LA verilen grup ile verilmeyen grup arasında anlamlı fark gözlemlenmiştir (69,71). Bu çalışmada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi. Yukarıdaki sonuçlara paralel olarak gruplar arasında fark gözlemlenmemesinin çalışmanın tasarımından kaynaklanabilir.

Eldeki çalışmada karaciğer histolojisi değerleri için Sham grubu ve BDL+LA ile BDL grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. Karaciğer histopatolojik değerlendirmede hematoksilen ezozin ile boyanan preparatlarda safra kanalikül sayısı, safra kanalikül hasarı, portal mesafede inflamatuvar cevap ve hücre sayısı (PNL/LEN), hidropik hepatosit dejenarasyonu, hepatositlerde lipid vakuolizasyon, nekroz değerlendirildi. Literatürlerde alfa lipoik asit karaciğer dokusunu çok iyi bir şekilde koruduğu gösterilmiş(70, 71, 72.). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer çalışmalara uyum olduğu gözlemlendi.

Karaciğerde fibrozis değerleri için Sham grubu ve BDL+LA ile BDL grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu. Fibrozisi değerlendirmede Mason trikrom ile boyanan preparatlarda değerlendirildi. Literatürlerde alfa lipoik asit karaciğer dokusunda fibrozisi çok iyi bir şekilde geriletmişti gösterilmiş(69, 72). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer çalışmalara uyum olduğu gözlemlendi.

## **10. SONUÇ**

Yapılan deneysel çalışmada elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik veriler, ratlara verilen alfa lipoik asit'in tıkanma sarılığında oluşacak karaciğer parankim hasarı üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermiştir.

## **11. KAYNAKLAR**

1. Su CH, P'eng FK, Lui WY. Factors affecting morbidity and mortality in biliary tract surgery. *World J Surg.* 1992; 16(3):536-40.
2. Liu TZ, Lee KT, Chern CL et al. Free Radical-Triggered Hepatic Injury of Experimental Obstructive Jaundice of Rats Involves Overproduction of Proinflammatory Cytokines and Enhanced Activation of Nuclear Factor B. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2001: 31,383-390
3. Papakostas C, Bezirtzoglou E, Pitiakoudis M, Polychronidis A, Simopolulos C. Endotoxemia in the portal and the systemic circulation in obstructive jaundice. *Clin Exp Med.*2003;3(2):124-8.
4. Sakrak O, Akpinar M, Bedirli A, Akyurek N, Aritas Y. Short and long-term effects of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage *Hepatogastroenterology.* 2003;50(53):1542-6.
5. Padillo FJ, Muntane J, Montero JL, Briceno J, Mino G, Solarzano G, Sitges-Serra A, Pera Madzaro C. Effect of internal biliary drainage on plasma levels of endotoxin cytokines, and C-reactive protein in patients with obstructive jaundice. *World J Surg.* 2002;26(11):1328-32.
6. Wang P, Gong G, Wei Z et al. Ethyl Pyruvate Prevent Intestinal Inflammatory Response and Oxidative Stress in a Rat Model of Extrahepatic Cholestasis. *Journal of Surgical Research* 2009: 1-8
7. Akca T, Canbaz H, Tataro. lu C vd. The Effect of N-Acetylcysteine on Pulmonary Lipid Peroxidation and Tissue Damage. *Journal of Surgical Research* 2005: 129, 38-45
8. Ogetman Z, Dirlik M, Caglikulekci M, Canbaz H, Karabacak T, Yaylak F, Tamer L, Kanik A, Aydin S. The effect of aminoguanidine on blood and tissue lipid peroxidation in jaundiced rats with endotoxemia induced with LPS. *J Invest Surg.* 2006;19(1):19-30.
9. Çakatay U. Pro-oxidant actions of  $\alpha$ -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Med Hypotheses* 2006;66(1):110-7
10. Emre A. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi: Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002; 1083-1086
11. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi. 1995; 341-344
12. Müslümanoğlu M. Safra Kesesi Selim Hastalıkları. Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002;1177-1180

13. Gazzaniga M. Eksrahepatik Safra Yollarının Cerrahi Anatomisi. Sayek, İ(editör). Temel Cerrahi. Ankara: Güneş Kitabevi. 2004; 1355-1358
14. <http://www.onkochirurgie.de/contenttr/multimodal.php> internet sitesinden alınmıştır 03/06/2014 tarihinde alınmıştır
15. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1996;827-829
16. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter JC. Sarılık, bilirubin metabolizması. Mısırlıoğlu S (çeviren). Cecil Essentials Of Medicine. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1995; 323
17. <http://www.bilgisayarkurdu.com/forum/konu/safra-yollari-anatomisi-koledok-kanali-anatomisi>. internet sitesinden 03/06/2014 tarihinde alınmıştır.
18. Tontuş O, Coşkun S, Erençül C, Pişkinpafla M. Obstrüktif sarılıklı hastalarda cerrahi morbidite ve mortaliteyi etkileyen risk faktörleri. Klin Den Cerrahi Derg 1993;228-31.
19. Yüzen Y, Öncel T, Engin S, Aldemir S, Akyıldız A: Tıkanma sarılıklarında mortalite ve morbiditeyi etkileyen faktörler. Ulusal Cerrahi Derg 1993;9:238-43.
20. Guyton A. C. , Hall J. E. Tıbbi Fizyoloji Bolum 64: 9th de. 1996; 827-829
21. Ding JW, Andersson R, Soltesz V, Willen R, Bengmark S: The role of bile and bile acids in bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. Eur Surg Res 1993;25:11-19.
22. Greig JD, Krukowski ZH, Matheson NA. Surgical morbidity and mortality in one hundred twenty-nine patient with obstructive jaundice. Br J Surg 1988;75:216-9.
23. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stres. Mol Aspects Med.2000; 21: 49-98
24. Conner MJ, Sumner H, Schwartz M. The clinical and pathologic correlations in mechanical biliary obstruction and acut cholangitis. Ann Surg. 1982; 195(4): 419-4
25. Biondo-Limoes MLP, Araujo CFR, Henrique J, ve ark. Jaundice in second intention wound healing in rats. Acta Cir Bras. 2004; 19(3): 176-185
26. Çağlıküleççi M, Özçay N, Oruç T, ve ark. The effect of recombinant growth hormone on intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructiv jaundice. Turk J Gastroenterology. 2002; 13 (1): 17-23
27. Stocker R, Glazer AN, Ames BN. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin. Proc. Natl. Acad. Sci. 1987; 84: 5918
28. Pitt HA, Couse NF. Biliary sepsis and toxic cholangitis. Moody FG (editör). Surgical treatment of digestive disease. Chicago: Yearbook Medical Publishers, 1990; 332
29. Barwick KW, Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. Ackerman LW (editör). St Louis-Missouri: Mosby-Year Book Inc. 1996; 857-942

30. Rodrigo R, Avalos N, Orellana M, Bosco C, Thielemann L. Renal Effects of Experimental Obstructive Jaundice: Morphological and Functional Assessment. Arch Med Res. 1999; 30: 275–285
31. Ito H, Asahi H, Horiuchi S. Role of oxygen radicals in the pathogenesis of acute gastric mucosal lesion under obstructive jaundice (abstract). Nippon Geka Gakkai Zasshi, 1993; 94(3): 225- 233
32. Koss LG, Zajicek J. Aspiration biopsy, Koss LG (editör). Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. Philadelphia: JB Lippincott Company. 1992 1234-1402
33. Lee MD. Cholestasis and biliary obstruction. Diagnostic Liver Pathology. St. Louis: Mosby Company, 1994; 81-107
34. Snover DC. Nonneoplastic liver disease. Sternberg SS (editör). Diagnostic Surgical Pathology. New York: Raven Press Ltd. 1994;1459-1516
35. Kinnula V.L, Paakko P, Soini Y. Antioxidant enzymes and redox regulating thiol proteins in malignancies of human lung. FEEBS, 2004;1-6
36. Kinnula V.L, Crapo J.D. Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors. Free Radical Biology and Medicine. 2004; 36(6):718-744
37. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 2005; 45: 51-88.
38. Armstrong RN. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. Chemical Research in Toxicology 1997; 10(1): 2-18
39. First printed in R&D Systems' 1997 Catalog. Minireviews Reactive Oxygen Species (ROS) Date 1/1/1997
40. Comporti M. Lipid Peroxidation and Biogenic Aldehydes: From the Identification of 4-Hydroxynonenal to Further Achievements in Biopathology. Free Rad Res. 1997; 28: 623-635
41. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation : its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr. 1993; 57: 715-724
42. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. Bioch Bioph Res Com. 2005; 338: 668-676
43. E.Gülçin karaca; lipoik asit: evrensel antioksidan, afyon kocatepe university fen bilimleri dergisi journal of science
44. Rimm, E. B.; Stampfer, M. J.; Ascherio, A.; Giovannucci, E.; Colditz, G. A.; Willett, W. C. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. N. Engl. J. Med. 328:1450-1456; 1993.

45. Stampfer, M. J.; Hennekens, C. H.; Manson, J. E.; Colditz, G. A.; Rosner, B.; Willett, W. C. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N. Engl. J. Med.* 328:1444-1449; 1993.
46. Rosenberg, H. R.; Culik, R. Effect of  $\alpha$ -lipoic acid on vitamin C and vitamin E deficiencies. *Arch. Biochem. Biophys.* 80:86-93; 1959.
47. Kagan, V. E.; Shvedova, A.; Serbinova, E.; Khan, S.; Swanson, C.; Powell, R.; Packer, L. Dihydrolipoic acid: A universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. *Biochem. Pharmacol.* 44:1637-1649; 1992a.
48. Scott, B. C.; Aruoma, O. I.; Evans, P. J.; O'Neill, C.; van der Vliet, A.; Cross, C. E.; Tritschler, H.; Halliwell, B. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants: A critical evaluation. *Free Rad. Res.* 20:119-133; 1994. Bast, A.; Haenen, G. R. M. M. Interplay between lipoic acid and glutathione in the protection against microsomal lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta.* 963:558-561; 1988.
49. Bast, A.; Handelman, G. J.; Han, D.; Tritschler, H.; Packer, L.  $\alpha$ -Lipoic acid reduction by mammalian cells to the dithiol form and release into the culture medium. *Biochem. Pharmacol.* in press; 1994.
50. Ou, P.; Tritschler, H. J.; Wolff, S. P. Thiocctic (Lipoic) acid: A therapeutic metal-chelating antioxidant? *Biochem. Pharmacol.* in press; 1994.
51. Podda, M.; Tritschler, H. J.; Ulrich, H.; Packer, L.  $\alpha$ -Lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* submitted; 1994
52. Romero, F. J.; Ordonez, I.; Arduini, A.; Cadenas, E. The reactivity of thiols and disulfides with different redox states of myoglobin: Redox and addition reactions and formation of thiyl radical intermediates. *J. Biol. Chem.* 267:1680-1688; 1992.
53. Gleason, F. K.; Holmgren, A. Thioredoxin and related protein in procaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 54:271-297; 1988.
54. Hayashi, T.; Ueno, Y.; Okamoto, T. Oxidoreductive regulation of nuclear factor kappa B: Involvement of a cellular reducing catalyst thioredoxin. *J. Biol. Chem.* 268:11380 - 11388; 1993.
55. Suzuki, Y. J.; Aggarwal, B. B.; Packer, L.  $\alpha$ -Lipoic acid is a potent inhibitor of NF- $\kappa$ B activation in human T cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189:1709-1715; 1992.
56. Suzuki, Y. J.; Ulrich, H.; Packer, L. Redox regulation of NF- $\kappa$ B DNA binding activity by dihydrolipoate and  $\alpha$ -lipoate. *Arch. Biochem. Biophys.* submitted; (1994).



57. Gandhi, V. M.; Wagh, S. S.; Natraj, C. V.; Menon, K. K. G. Lipoic acid and diabetes II: Mode of action of lipoic acid. *J. Biosci.* 9:117-127; 1985.
58. Wagh, S. S.; Gandhi, V. M.; Natraj, C. V.; Menon, K. K. G. Lipoic acid and diabetes: Part III. Metabolic role of acetyl dihydrolipoic acid. *J. Biosci.* 10:171-179; 1986.
59. Wagh, S. S.; Natraj, C. V.; Menon, K. K. G. Mode of action of lipoic acid in diabetes. *J. Biosci.* 11:59-74; 1987.
60. Ae-Kyung Min a, Mi-Kyung Kim a, Hye-Young Seo b, Hye-Soon Kim a, Byoung Kuk Jang a, Jae Seok Hwang a, Hueng-Sik Choi c, Ki-Up Lee d, Keun-Gyu Park a,\*, In-Kyu Lee b,\*: Alpha-lipoic acid inhibits hepatic PAI-1 expression and fibrosis by inhibiting the TGF- $\beta$  signaling pathway *Biochemical and Biophysical Research Communications* 393 (2010) 536–541
61. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-8.
62. Sun Y, Larry WO, Ying LA. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 1988, 34: 497-500.
63. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
64. Burhan Aksu, Hasan Umit, Mehmet Kanter, Ahmet Guzel, Mustafa Inan, Sabiha Civelek, Cevat Aktas, Hafize Uzun; Effects of sphingosylphosphorylcholine against cholestatic oxidative stress and liver damage in the common bile duct ligated rats; *Journal of Pediatric Surgery* (2009) 44, 702–710
65. Sang Lee , Sendia Kim, Hau D. Le , Jonathan Meisel , Robbert A.M. Strijbosch , Vania Nose , Mark Puder ; Reduction of hepatocellular injury after common bile duct ligation using omega-3 fatty acids; *Journal of Pediatric Surgery* (2008) 43, 2010–2015
66. Kamal Ishak', Amelia Baptista, Leonardo Bianchi, Francesco Callea, Jan De Grootes, Fred Gudat et al; Histological grading and staging of chronic hepatitis; *Journal of Hepatology* 1995; 22: 69fX99 Printed in Denmark. All rights reserved *Journal of Hepatology* ISSN 0168-8278
67. Elizabeth m. Brunt; Grading and Staging the Histopathological Lesions of Chronic Hepatitis: The Knodell Histology Activity Index and Beyond ; *Hepatology at the Millennium* 241-246
68. Ahmet UYGUN, Zülfikar POLAT; Viral Hepatit Dışı Serum Transaminaz Düzeyinde Artışa Neden Olan Hastalıklar güncel gastroenteroloji 13/4 ARALIK 2009 211-224  
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara

69. Shima Omar Ali , Hebatallah Abd El-moeti Darwish, Nabila Abd El-fattah Ismail; Modulatory effects of curcumin, silybin-phytosome and alpha-R-lipoic acid against thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats ; Biochemistry Department, Faculty of Pharmacy, Cairo University, Kasr Al-Aini Street, Cairo, Egypt, *Chemico-Biological Interactions* 216 (2014) 26–33
70. Fritz Dünschede, Kirsten Erbes, Achim Kircher, Stefanie Westermann, Joachim Seifert, Arno Schad , Kempfski Oliver, Alexandra K Kiemer, Junginger Theodor; Reduction of ischemia reperfusion injury after liver resection and hepatic inflow occlusion by  $\alpha$ -lipoic acid in humans *World J Gastroenterol* 2006 November 14; 12(42): 6812-6817 *World Journal of Gastroenterology* ISSN 1007-9327 2006 The WJG Press. All rights reserved.
71. Ender Dulundu, Yahya Ozel,Umit Topaloglu, Özer Sehirli, Feriha Ercan,Nursal Gedik, Goksel Şener; Alpha-Lipoic Acid Protects against Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats *Pharmacology* 2007;79:163–170 DOI: 10.1159/000098953 Received: September 25, 2006 Accepted: October 17, 2006 Published online: January 24, 2007
72. M.H. SOMI, H. KALAGEYCHI, B. HAJIPOUR\*, G. MUSAVI\*\*, A. KHODADADI\*\*,N. SHOKRI\*\*\*, R. HASHEMI\*\*\*, I. BAGHERI\*\*\*, F. MUTAB LALEH\*\*; Lipoic acid prevents hepatic and intestinal damage induced by obstruction of the common bile duct in rats, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2013; 17: 1305-1310

## 12. ÖZET

DeneySEL Tıkanma Sarılığı Modelinde Alfa Lipoik Asit'in Karaciğer Hasarını Önlemedeki Etkinliği

**Amaç:** Tıkanma sarılığı, sık görülmesi, pek çok sisteme olumsuz etkileri olması nedeniyle Genel Cerrahi ve Gastroenteroloji kliniklerinin önemli problemlerinden biridir. Çalışmamızın

amacı tıkanma sarılığı oluşturulan ratlarda, alfa lipoik asid'in oluşan karaciğer hasarını önlemedeki etkinliğini araştırmaktır.

**Materyal ve Metot:** 18 adet wistar albino cinsi rat rastgele üç eşit gruba ayrılmıştır: Grup I; Laparotomi ve ana safra kanalı preparasyonu uygulanan ancak ligasyon uygulanmayan sham grubu, Grup II; Ana safra kanalı preparasyonu sonrası ligasyonu uygulanan Ligasyon grubu, Grup III; Ana safra kanalı ligasyonu sonrası 10 gün boyunca alfa lipoik asid verilen lgasyon+ALA grubu. Postoperatif kan örnekleri 3, 7, 10. günü alınırken, 10. günde tüm ratlara laparotomi sonrası biokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

**Bulgular:** Kan biokimyasal analizlerinde en düşük total bilirubin, direk bilirubin, AST, ALT, ALP ve GGT değerleri grup I'de görülmüştür. Grup I ve grup II-III arasında anlamlı fark bulunurken grup II ve grup III arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz en düşük değerler grup II de saptanırken, grup I ve III arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Malondialdehidler bakımından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi.

Karaciğer histopatolojik değerlendirmesinde safra kanalikül sayısı, hidropik hepatosit dejenerasyonu, polimorf nükleer hücre infiltrasyonu ve nekroz açısından en düşük değerler grup I de saptanırken, en büyük değer grup II de gözlendi. Fibrozis açısından en düşük değerler grup I de saptanırken, en büyük değer grup III de gözlendi. Üç grup arasında anlamlı fark gözlendi.

**Sonuç:** Biyokimyasal ve histopatolojik veriler, ratlara verilen alfa lipoik asit'in tıkanma sarılığında oluşacak karaciğer parankim hasarı üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermiştir.

## **Efficiency of Alpha Lipoic Acid in Preventing Liver Injury in an Experimental Obstructive Junction Model**

### **ABSTRACT**

**Aim:** Obstructive junction poses serious problems for general surgery and gastroenterology due to high reoccurrence and negative effects on multiple systems. The aim of this study was

to investigate the preventive aspects of alpha lipoic acid in a model in which rats with obstructive junction.

**Materials and Methods:** A total of 18 wistar albino rats were used and divided equally into three groups: Group I (the sham groups in which laparotomy and but ligation did not), Group II (Ligation applied after common bile duct preparation), and Group III (Ligation and ALA applied after common bile duct preparation). Postoperative blood samples were taken at the 3, 7, and 10th days, and biochemical and histopathological analyses were conducted after laparotomy at the 10th day.

**Results:** The lowest total bilirubin, direct bilirubin, AST, ALT, ALP, and GGT values were observed in Group I. Group I was found to be significantly different than Groups II-III whereas the difference between Group II and Group III was found to be insignificant. The lowest values of superoxide dismutase and glutathione peroxidase were observed at Group II and no difference was observed between Groups I and III. No difference among groups were observed for Malondialdehyde. During histopathological analyses of liver, bile canaliculate numbers, hydrophic hepatocyte degeneration, polymorph nuclear cell infiltration, and necrosis was found to be the lowest in the Group I and the highest in the Group II. The lowest value for fibrosis was detected in Group I, whereas the highest value was observed in the Group III. All three groups were found to be statistically different.

**Conclusion:** The biochemical and histopathological data indicates that the alpha lipoic acid given to rats could have positive effects on liver parenchymal damage in obstructive junction