



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ANTALYA EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ
GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ**

**SIÇAN KARACİĞERİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ
ELAFİN DÜZEYİNE ETKİSİ**

Dr. Abdullah Hilmi YILMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANTALYA/2022



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ANTALYA EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ
GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ**

**SIÇAN KARACİĞERİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ
ELAFİN DÜZEYİNE ETKİSİ**

Dr. Abdullah Hilmi YILMAZ

Tez danışmanı: Doç. Dr. Arif ASLANER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANTALYA/2022

TEŞEKKÜR

Bize cerrahinin bir aile olduğunu öğreten her zaman desteğini arkamızda hissettiğimiz sayın hocam Doç Dr Osman Zekai ÖNER'e,

Cerrahi eğitimim süresince bize her zaman destek olan bilgisini, tecrübesini aktaran asistanlığımın ilk yılında beraber çalıştığım Prof Dr Mehmet Tahir ORUÇ'a,

Cerrahi eğitimimde tecrübelerini dinlemekten her zaman keyif aldığım ve eğitimci kimliğini her zaman arayacağım, yetişmemde çok büyük emekleri olan bilgi ve becerilerinden yararlandığım saygıdeğer hocam ve kıymetli abim Doç Dr Tuğrul ÇAKIR'a,

Cerrahi eğitimim ve tez yazım sürecinde her durumda bana yardımcı olan tez danışmanlığımı da yapan sayın hocam Doç Dr Arif ASLANER'e,

Uzmanlık eğitimimde çok büyük emek ve fedakârlıkları olan, haklarını ödeyemeyeceğim başta Doç. Dr. Uğur Doğan olmak üzere kliniğimizin birbirinden kıymetli büyükleri Uzm. Dr. Cemal Özben Ensari, Doç. Dr. Burhan Mayır, Doç. Dr. Umut Rıza Gündüz, Doç. Dr. Bülent Dinç, Doç. Dr. Barış Rafet Karakaş, Yard. Doç. Dr. Kemal Eyvaz, Doç. Dr. İsmail Gömceli, Doç. Dr. Ümit Koç, Doç. Dr. Mehmet Nuri Koşar, Doç. Dr. N. Haluk Belen, Uzm. Dr. Mustafa Kemal Yavuz, Uzm. Dr. M. Kazım Kazan, Uzm. Dr. Mehmet Aksoy, Uzm. Dr. Ayşe Arduçoğlu Merter, Uzm. Dr. Ayla Yılmaz, Uzm. Dr. Sami Kolsuz, Uzm. Dr. İrfan Dönmez, Uzm. Dr. Serkan Ceylan, Uzm. Dr. Hasan Özey Tuğutlu, Uzm Dr Nedim Akgül, Uzm. Dr. Ahmet Tan, Uzm. Dr. Halit Özgül ve Uzm. Dr. Metin Yalçın'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen Doç Dr Hamit Yaşar Ellidağ ve Uzm Dr Şenay Yıldırım'a teşekkür ederim.

Beraber çalışmaktan ve aile olmaktan çok mutlu olduğum bütün asistan arkadaşlarıma ve kliniğimizin tüm hemşire ve personellerine teşekkür ederim.

Hayatıma ait birçok öğretiyi çok küçükken aşıl原因, yoluma ışık tutan ve bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan rahmetlik babam Ahmet Hamdi Yılmaz'a ve annem Fatma Yılmaz'a, rahmetlik babamında yol arkadaşı olan ve onun eksikliğini hiçbir zaman hissettirmeyen kayınpederim Mehmet Yıldırım'a ve kayıinvalidem Ayşe Yıldırım'a teşekkür ederim.

Başta bu tez ve asistanlık dönemi olmak üzere hayatımdaki tüm zor anlarımı paylaşıp bana destek olan, varlığıyla mutluluk ve güç veren, her zaman yanımda hissettiğim yol arkadaşım ve sevgili eşim Zeynep Yılmaz'a teşekkür ederim.

Dr Abdullah Hilmi YILMAZ

Antalya/2022



Evlatlarım Betül Aksa, Ahmet Zahid, Faruk Sami'ye ve canım eşim Zeynebim'e ithafen...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLOLAR DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	xi
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. KARACİĞER CERRAHİ ANATOMİ	2
2.2. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI FİZYOPATOLOJİSİ	7
2.3. ELAFİN.....	9
3.GEREÇ ve YÖNTEMLER	11
3.1. Gruplar.....	11
3.2. Cerrahi İşlem	12
3.3. Biyokimyasal Analiz	15
3.4. Histopatolojik Değerlendirme	15
3.5. İstatistiksel Analiz	16
4.BULGULAR.....	17
5.TARTIŞMA	31
6.SONUÇLAR	36
KAYNAKLAR	37
EKLER.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP: Alkalen Fostataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

AMP:Adenin Monofosfat

AST: Aspartat Aminotransferaz

ATP : Adenin Trifosfat

Ca : Kalsiyum

Cl : Klor

dk : Dakika

gr: gram

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

H: Hidrojen

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HE : Hematoksilen Eozin

IL-32: İnterlökin-32

IL-1 β : İnterlökin 1 beta

NF κ B: Nükleer faktör- kappaB

İMA : İskemi Modifiye Albümin

K : Potasyum

Na : Sodyum

OH- : Hidroksil Radikali

O₂ : Moleküler Oksijen

O₂- : Süperoksit Radikali

rpm : Devir

SMA : Süperior Mezenterik Arter

SOR : Serbest Oksijen Radikali

TAS: Total Antioksidan Status

TOS: Total Oksidan Status

TNF : Tümör Nekroz Faktör

MMPaz: Matriks metallopeptidaz

ARDS: Akut respiratuar distres sendromu

GVHD: Graft-versus-host hastalığı

HCC: Hepatoselüler kanser

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Karaciğer ligamentleri(15).....	3
Şekil 2: Karaciğer lobları ve segmentleri(15)	3
Şekil 3: Karaciğerin segmentleri (15)	4
Şekil 4: Çölyak Turunkus ve dalları(15).....	5
Şekil 5: Hepatik arterlerin varyasyonları (15).....	5
Şekil 6: Portal ven ve dalları (yeni 1)	6
Şekil 7: Pringle Manevrası	7
Şekil 8: Gruplar arası Elafin düzeyleri.....	17
Şekil 9: Gruplar arası IMA/ALB oranı	18
Şekil 10: Gruplar arası Albumin düzeyleri	18
Şekil 11: Gruplar arası IMA düzeyleri.....	19
Şekil 12: Gruplar arası TOS düzeyleri	19
Şekil 13: Gruplar arası TAS düzeyleri	20
Şekil 14: Gruplar arası AST düzeyleri	20
Şekil 15: Gruplar arası ALT düzeyleri.....	21
Şekil 16: Gruplar arası ALP düzeyleri	21
Şekil 17: Gradelere göre ratların dağılımı	23
Şekil 18: Histopatolojik gradelere göre Elafin düzeyleri.....	27
Şekil 19: Histopatolojik gradelere göre IMA/ALB oranı.....	27
Şekil 20: Histopatolojik gradelere göre Albumin düzeyleri.....	28
Şekil 21: Histopatolojik gradelere göre İMA düzeyleri.....	28
Şekil 22: Histopatolojik gradelere göre TOS düzeyleri	29
Şekil 23: Histopatolojik gradelere göre TAS düzeyleri.....	29
Şekil 24: Histopatolojik gradelere göre AST düzeyleri	30
Şekil 25: Histopatolojik gradelere göre ALT düzeyleri	30
Şekil 26: Histopatolojik gradelere göre ALP düzeyleri	31

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Karaciğer hasar gradelemesi.....	16
Tablo 2: Değişkenlere ait grup karşılaştırmaları ve tanımlayıcı istatistikler	17
Tablo 3: Histopatolojik Grade değerleri	22
Tablo 4: Elafin düzeyleri ile serum parametreleri arasındaki ilişki	25
Tablo 5: Gradelere arasındaki karşılaştırma	26

RESİMLER DİZİNİ

resim1: Laparotomi sonrası eksplorasyon.....	13
resim2: Hepatoduodenal ligamanın klemp ile dönülmesi.....	14
resim3: Hepatoduodenal ligamanın buldog klemp ile klemlenmesi	14
resim4: 30 dk iskemi sonrası hepatoduodenal ligaman üzerindeki buldog klempinin açılması	15
resim5: Karaciğer histopatolojik Grade 0 hasarlanma. (A ve B Hematoksilen Eozin(HE) x40)	23
resim6: Karaciğer histopatolojik Grade 1 hasarlanma. (A HE x40, B HE x100, C HE x200)	24

ÖZET

AMAÇ

Bu çalışmada karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında serum elafin düzeyini de ölçerek, bazı biyokimyasal parametreler ve histopatolojik durumlar incelenerek bir serin proteaz inhibitörü olan elafinin etkisini göstermeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu amaçla 40 adet dişi wistar albino rat 5 gruba ayrıldı.

Grup 1 Sham(kontrol),

Grup 2 30 dk iskemi 0 dk reperfüzyon,

Grup 3 30 dk iskemi 1 saat reperfüzyon,

Grup 4 30 dk iskemi 2 saat reperfüzyon,

Grup 5 30 dk iskemi 3 saat reperfüzyon.

Deney sonunda intrakardiyak kan örnekleri ve karaciğerden doku örnekleri alınarak ratlar kurban edildi. Kan örneklerinden serum elafin, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), albumin, iskemi modifiye albümin (İMA), total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS) düzeyleri ve iskemi modifiye albümin/Albumin oranı (İMA/Albumin) incelendi. Doku örnekleri hematoksilin eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

BULGULAR

Serum elafin seviyesi kontrol grubuna göre grup 2’de bir miktar yükselirken daha sonra anlamlı olarak düşmeye başladı ve grup 5’te en düşüktü ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı. İMA/Albumin oranı kontrol grubunda(grup 1) düşükken diğer gruplarda yüksekti. İMA/Albumin oranı en yüksek grup 5 olmasına rağmen bu dört grup arasında istatistiksel fark yoktu. Albumin seviyeleri arası gruplar arası fark olmasına rağmen değerler birbirine çok yakındı. İMA seviyesi en düşük kontrol grubuydu, en yüksek grup 5’ti ve diğer üç grup arasında istatistiksel fark yoktu. TOS seviyesi en düşük kontrol grubuydu ve en yüksek ise grup 5 daha sonra grup 4’tü ve anlamlıydı. TOS seviyesinde diğer iki grup arası anlamlı fark yoktu. TAS seviyesi grup 2, 4 ve 5’te yüksek, grup 3’te düşük ve kontrol grubunda en düşüktü. AST ve ALT seviyesi kontrol grubunda düşükken, diğer gruplarda anlamlı olarak yüksekti ve grup 5 en yüksek gruptu. ALP seviyesinde gruplar arası anlamlı fark yoktu. Histopatolojik olarak bakıldığında Grup 3, 4 ve 5’te Grade 1 olan rat sayıları artmaktaydı.

Serum elafin seviyesi ile AST, ALT ve TOS seviyesi arasında negatif korelasyon vardı ve anlamlıydı. Histopatolojik Grade 0 ile Grade 1 subgrup analizinde; Elafin seviyesi grade 1’de daha düşüktü ve anlamlıydı. AST, ALT, TOS seviyeleri ve İMA/Albumin oranı Grade 1’de daha yüksekti ve anlamlıydı.

SONUÇ

Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında reperfüzyon süresi arttıkça elafin düzeyi azaldı. Reperfüzyon süresi arttıkça hem hepatosit hasarı hem de oksidan kapasite arttı ve bu bulgular elafin düzeyi ile negatif korelasyon gösterdi. Bu nedenle, elafin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu bir görev görebilir ve karaciğer hasarını göstermede klinisyenler yardımcı olabilir.

Anahtar kelimeler: elafin, iskemi reperfüzyon, karaciğer, karaciğer hasarı



Effect of ischemia-reperfusion injury on elafin level in rat liver

ABSTRACT

AIM

In this study, we aimed to show the effect of elafin, a serine protease inhibitor, by measuring the serum elafin level in liver ischemia-reperfusion injury, and examining some biochemical parameters and histopathological conditions.

MATERIALS AND METHODS

40 female wistar albino rats divided into 5 groups.

Group 1 Sham(control),

Group 2 30 min ischemia and 0 min reperfusion,

Group 3 30 min ischemia and 1 hour reperfusion,

Group 4 30 min ischemia and 2 hours reperfusion,

Group 5 30 min ischemia and 3 hours reperfusion.

At the end of the experiment, intracardiac blood samples and tissue samples from the liver were taken and the rats were sacrificed. Serum elafin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), albumin, ischemia modified albumin (IMA), total antioxidant status (TAS) , total oxidant status (TOS) levels and ischemia modified albumin/Albumin (IMA/Albumin) ratio were examined. Tissue samples were stained with hematoxylin eosin and evaluated under light microscope.

RESULTS

While serum elafin level increased slightly in group 2 compared to the control group, then it started to decrease significantly and was the lowest in group 5, which was statistically significant. While the ratio of IMA/Albumin was low in the control group (group 1), it was higher in the other groups. Although group 5 had the highest IMA/Albumin ratio, there was no statistical difference between these four groups. Although there were differences between groups in albumin levels, the values were very close to each other. The IMA level was the lowest in the control group, the highest in

group 5, and there was no statistical difference between the other three groups. The lowest TOS level was the control group and the highest was group 5, then group 4 and it was significant. There was no significant difference in TOS level between the other two groups. TAS level was high in groups 2, 4 and 5, low in group 3 and lowest in the control group. While AST and ALT levels were low in the control group, they were significantly higher in other groups and group 5 was the highest group. There was no significant difference between groups in ALP level. Histopathologically, the number of Grade 1 rats was increasing in Groups 3, 4 and 5.

There was a negative correlation between serum elafin level and AST, ALT and TOS levels and it was significant. In the histopathological Grade 0 and Grade 1 subgroup analysis; Elafin level was lower in grade 1 and was significant. AST, ALT, TOS levels and IMA/Albumin ratio were higher and significant in Grade 1.

CONCLUSION

In hepatic ischemia-reperfusion injury, elafin level decreased as the reperfusion time increased. As the reperfusion time increased, both hepatocyte damage and oxidant capacity increased, and these findings were negatively correlated with elafin level. Therefore, elafin may have a protective role in hepatic ischemia-reperfusion injury and may assist clinicians in demonstrating liver injury.

Key words: elafin, ischemia reperfusion, liver, liver injury

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İskemi dokuya giden kan akımının azalması ya da kesilmesidir. Reperfüzyon ise iskemik dokuda azalan ya da kesilen kan akımının tekrar geri gelmesi olarak tanımlanır. Dokunun yaşamını sürdürebilmesi için reperfüzyon gereklidir. Reperfüzyon nedeniyle ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini(SOR) doku tolere edemezse iskemi reperfüzyon hasarı oluşur(1).

Şok, travma, karaciğer cerrahisi sırasında uygulanan pringle manevrası ve karaciğer transplantasyonu en sık karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı nedenlerindendir(2). İskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisi ile alaklı birçok mekanizma tanımlanmıştır. ATP'nin azalması ve tüketiminin artması, oksidatif fosforilasyonun azalması, hücre içi pH azalması, hücre içi Na^+ ve Ca^{+2} artışı ve fosfolipitlerinin bozulmasını sağlayan proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu çok fazla SOR oluşarak, oksidatif strese neden olmaktadır(3-5).

Elafin, antimikrobiyal aktivitede, apoptoziste, yara iyileşmesinde, doku hasarında ve özellikle inflamasyonda önemli rol oynayan bir serin proteaz inhibitörüdür(6,7). Bu çalışmada pringle manevrası yapılan ratlarda elafinin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarındaki düzeyleri ve etkisi incelendi.

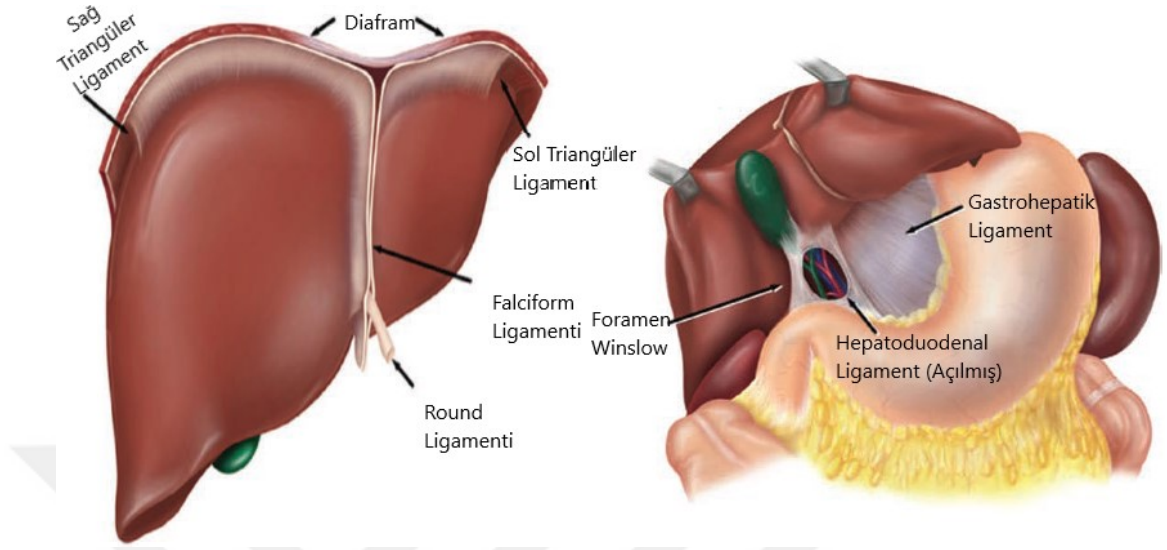
2. GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER CERRAHİ ANATOMİ

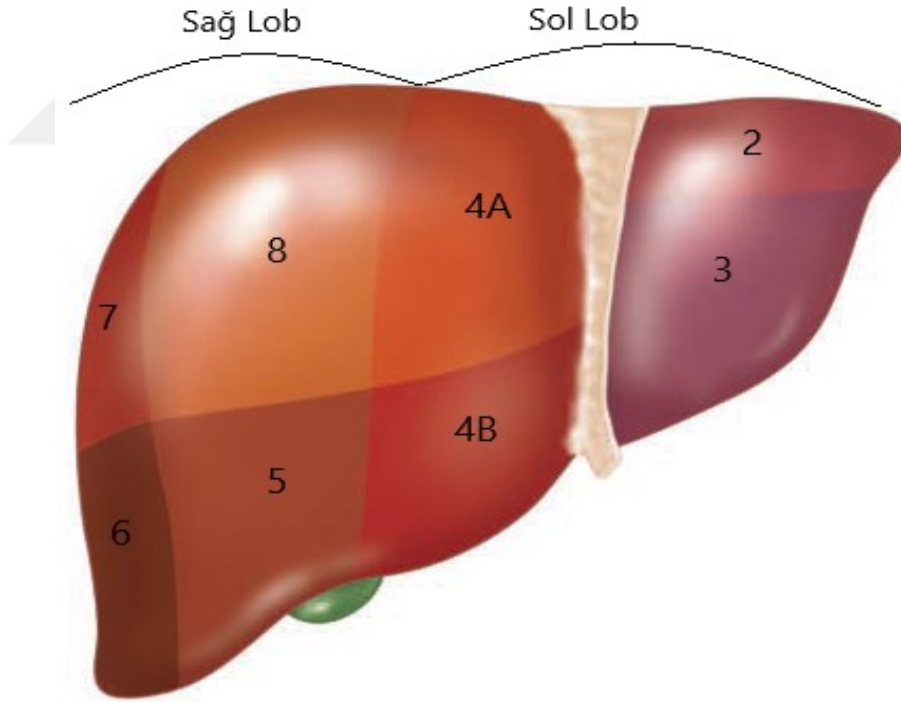
Karaciğer, erişkin ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturan vücudun en büyük organıdır(1400-1800 gr). Karaciğere portal ven ve hepatik arterle kan gelir ve hepatik venlerle venöz drenaj olur. Portal ven(%80), nütrisyonel içerik olarak zengin kanı barsaklardan karaciğere taşır. Hepatik arter(%20) ise karaciğerin ve safra yollarının oksijen içeriği zengin kan gereksinimini karşılar. Karaciğerde üretilen safra intrahepatik safra ağacıyla toplanıp ekstrahepatik safra yoluyla barsağa dökülür(8).

Karaciğer ligamentlerle sabitlenmiştir. Ligamentum Rotundum, Falsiform ligamenti, hepatogastrik ligament ve hepatoduodenal ligament en bilinen ligamentleridir. Falsiform ligament, karaciğeri karın ön duvarına tespitler. Sağ ve sol triangüler ligamentler karaciğer ile diyaframa arasındadır. Hepatoduodenal ligament porta hepatis olarak da adlandırılır ve portal ven, hepatik arter ve ana safra yolunu(koledok) içerir(9)(şekil 1).

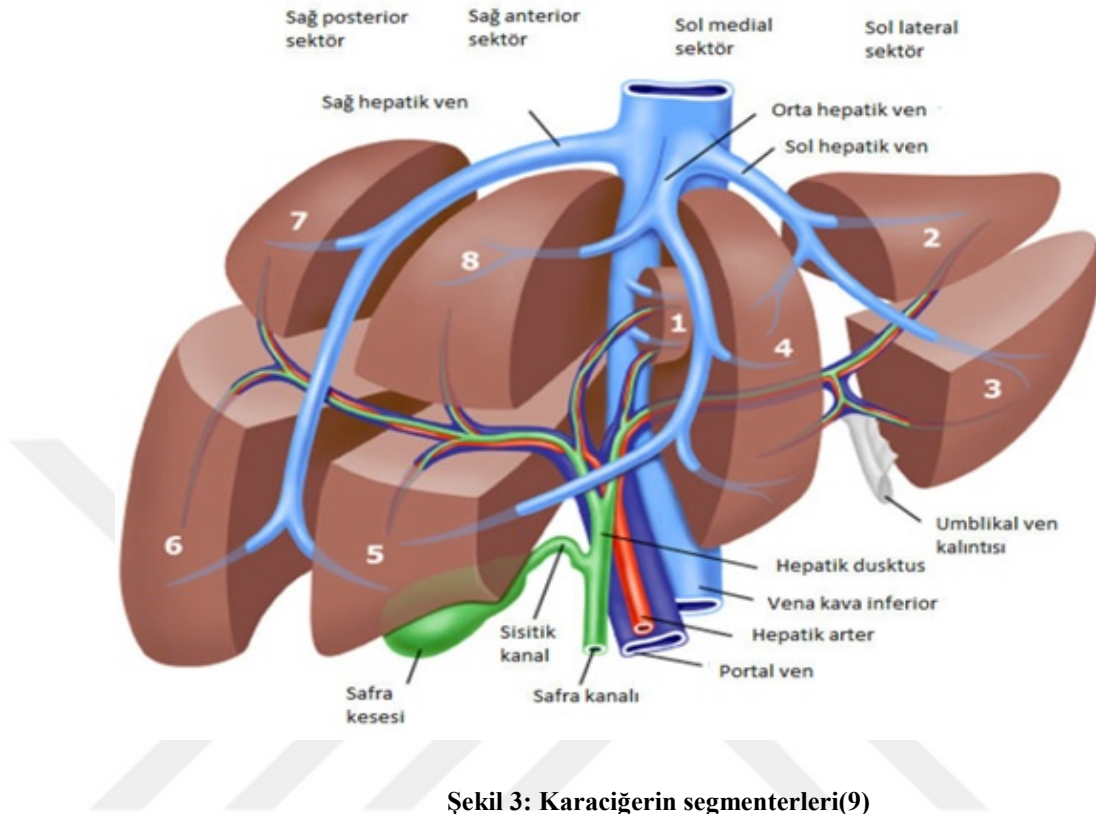
Günümüzde sağ ve sol karaciğeri ayıran hat, falsiform ligamenti değildir; safra kesesi yatağından başlayıp inferior vena kavanın soluna doğru Cantlie hattı olarak adlandırılan kavisli bir hat ayırır. Couinaud, bu hattın sağında 4 tane, solunda 3 tane karaciğer segmenti tanımlamıştır(Şekil 2 ve 3). Kaudat lobu ayrı değerlendirmiş ve segment 1 olarak tanımlamıştır. Sol lobun medial ve lateral segmentlere ayrımını falsiform ligament yapar. Lateral segmentler, segment 2 ve 3'ten meydana gelmektedir. Falsiform ligamenti ve Cantlie hattı arasındaki alan medial segmenttir ve segment 4(4A ve 4B) olarak adlandırılır. Segment 2,3 ve 4 sol karaciğeri oluşturur. Sol hepatektomi terimi, bu alanların çıkarılmasını içerir. Cantlie hattının sağında kalan segmentler(5, 6, 7 ve 8) ise sağ karaciğeri meydana getirir ve bu alanların çıkarılması sağ hepatektomi olarak isimlendirilir(8)(şekil 2 ve 3).



Şekil 1: Karaciğer ligamentleri(9)

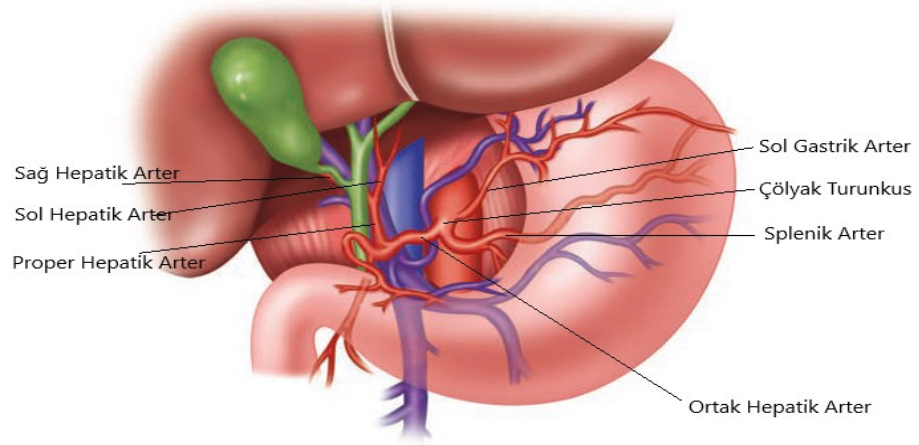


Şekil 2: Karaciğer lobları ve segmentleri(9)

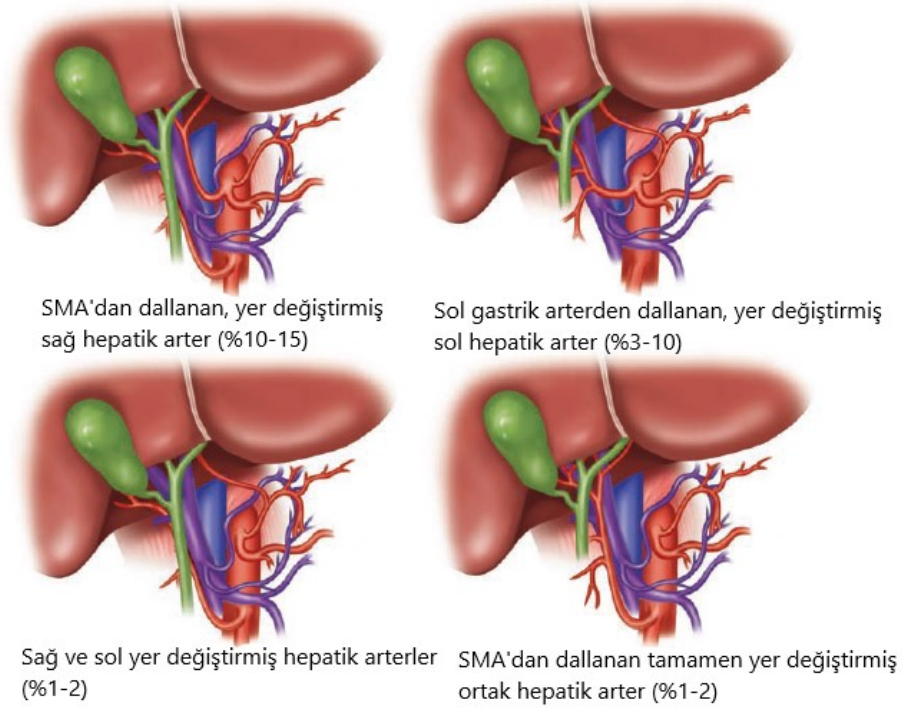


Şekil 3: Karaciğerin segmenterleri(9)

Abdominal aortanın dalı olan çölyak turunkus 3 önemli dala ayrılır. Bunlar dalağa giden splenik arter, mideye giden sol hepatic arter ve common(ortak) hepatic arterlerdir. Ortak hepatic arter, duodenumun arkasına doğru giden gastroduodenal dalını verdikten sonra proper hepatic arter olarak devam eder. Bu dalda sol ve sağ hepatic arter olarak karaciğere girer(8). Hepatic arterlerde varyasyonlar görülebilir. Süperior mezenterik arterden (SMA) çıkan replaced(yer değiştirmiş) veya aksesuar sağ hepatic, sol gastrik arterden çıkan replaced veya aksesuar sol hepatic arter en çok rastlanan varyasyonlardır(9)(şekil 4 ve 5).

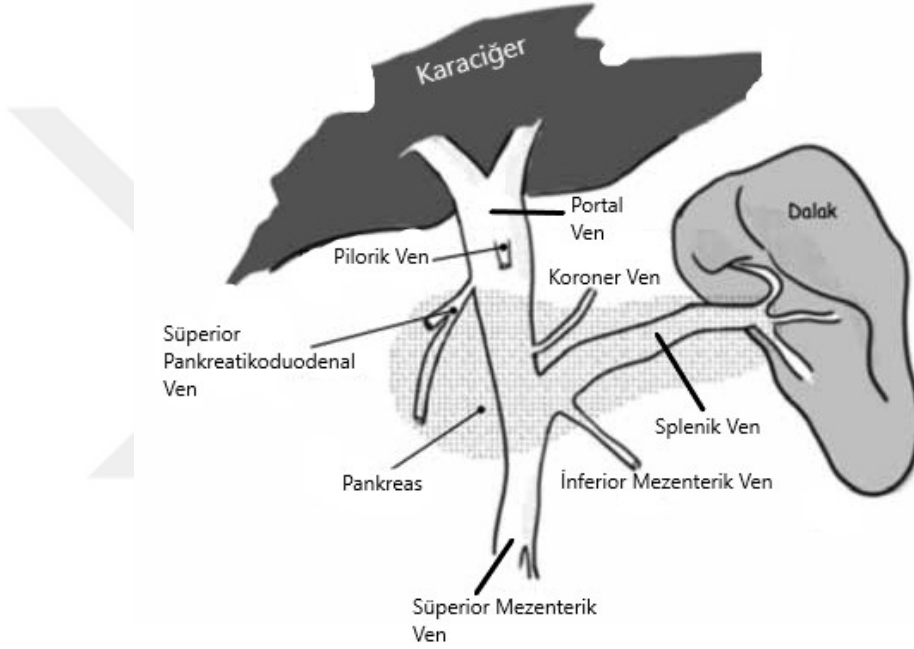


Şekil 4: Çölyak trunkus ve dalları (9)



Şekil 5: Hepatik arterlerin varyasyonları (9)

İnferior mezenterik ven splenik vene dökülür ve splenik vende süperior mezenterik venle birleşip portal veni oluşturur. Portal vene açılan küçük çapta venler de vardır. Bunlar; koroner ven(sol gastrik ven), pilorik ven ve süperior pankreatikoduodenal vendir. Karaciğer hilus seviyesinde portal ven iki dal olarak sağ ve sola ayrılır ve karaciğere girer(8)(Şekil 6).

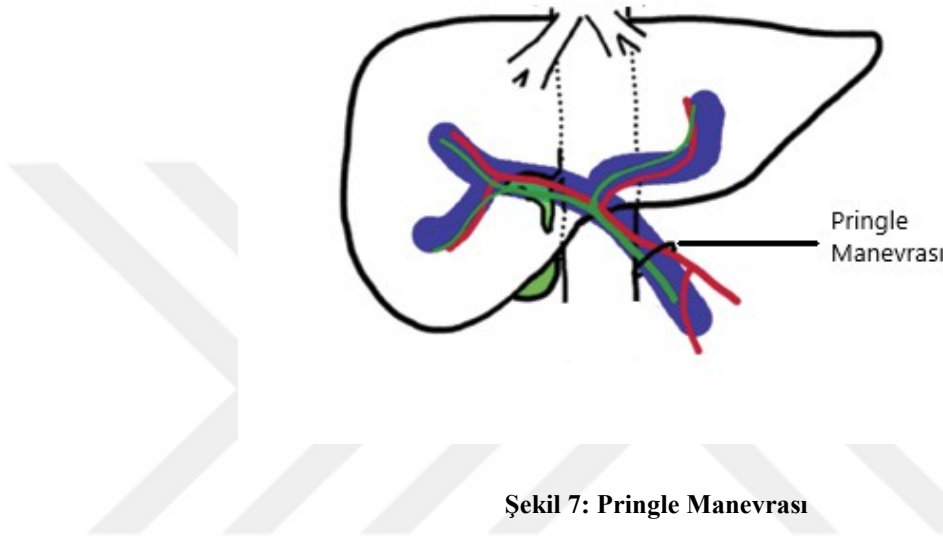


Şekil 6: Portal ven ve dalları (8)

Venöz drenaj ise üç ana ven olan hepatik venler aracılığıyla vena kava inferiora olmaktadır. Sağ hepatik ven 5, 6, 7 ve 8. segmentleri drene ederken, orta hepatik ven 4, 5 ve 8. segmentleri drene eder. Sol hepatik ven ise 2 ve 3. segmentleri drene eder. Vena kavaya direk drene olan kaudat lobdur(segment 1)(9)(Şekil 3).

Pringle manevrası karaciğer ameliyatında kanamayı azaltmak amacıyla 1908 de J.Hogarth Pringle tarafından tariflenmiştir. Porta hepatis'e elle, vasküler bir klemple veya damar halkası kullanarak baskı oluşturup kanamanın durdurulması amaçlanır (10). Pringle manevrası karaciğere giden nütrisyonel ve oksijenlenmiş kanı keseceğinden; bu manevrada süre ilerledikçe iskemiye ve nekroza kadar gidiş görülebilir. Sağlıklı karaciğer, devamlı uygulanan Pringle manevrasını 45-60 dk kadar tolere edebilir.

Karaciğer rezeksiyonunun 1 saatten fazla olacağı düşünülen vakalarda aralıklı klempleme ile Pringle manevrası daha avantajlıdır(15dk iskemi – 5 dk reperfüzyon)(Şekil 7)(11).



Şekil 7: Pringle Manevrası

2.2. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

Kanın yetersiz oksijenlenmesi, kanın oksijen kapasitesinin azalması, arter tıkanıklığı, kanama gibi nedenlerden dolayı dokulara giden oksijen eksikliği ve kan akışının azalması iskemi durumudur. İskemi dokuları oksijensiz bırakır. Dokularda besin eksikliğine ve toksik madde birikmesine yol açar(12).

Karaciğer nakillerinde, karaciğer rezeksiyonu yaparken devamlı veya aralıklı pringle manevrası sırasında, travma, sepsis, hipovolemik şok gibi durumlarda karaciğerde iskemi oluşabilmektedir(13). Bu gibi iskemik durumlardan sonra karaciğere tekrardan kan akışı olduğunda, karaciğerde hasarlanma oluşabilir. Bu duruma iskemi-reperfüzyon hasarı denir(14,15).

Karaciğer iskemisi durumunda metabolik yol anaerobik ATP üretimine kaydırılır. Metabolik aktiviteler azaltılır. ATP tüketilmesi ve glikolizin artması, laktat

oluşumunu arttırır ve H^+ , Na^+ , and Ca^{+2} gibi sitoplazmik iyonların dengesini bozar. Bu durum mitokondriyal membran geçirgenliğini bozar ve hepatositler üzerinde hasara neden olur(16,17). Mitokondride oksidatif fosforilasyonun azalması sonucu keton cisimleri ve laktik asit birikir, pH değerleri düşer ve metabolik asidoz meydana gelir(5).

Laktik asit ve keton cisimleri gibi asidik maddelerin aşırı üretimi sinyal yollarını bozar, hücrenin normal fonksiyonel dengesini etkiler, $Na^+ / K^+ -ATPaz$ 'ı bozarak mitokondriyal hasara neden olur(18). Asidik pH, reperfüzyondan sonra yükselir ve normale dönmeye başlar, bu da pH bağımlı proteaz ve fosfolipazları aktifleştirerek doku ve organ hasarını fazlaştırır(19).

İskemide ATP bağımlı iyon kanalları hasarlanarak Na^+ , Cl^- , Ca^{+2} hücre içine girer. Hücre içi Na^+ ve Ca^{+2} artması sonucu, su hücre içine girer ve hücre şişer. Ca^{+2} protein kinaz ve fosfolipaz C gibi enzimleri aktive ederek fosfolipidlerin yıkılmasına, serbest radikallerin ortaya çıkmasına yol açar(12,20,21).

İskemide ATP den AMP, inozin, adenosin ve hipoksantin oluşturulur. Normal dokularda hipoksantin aerobik metabolizmada ksantin dehidrogenazla ksantin ve ürik aside dönüştürülür. İskemik dokuda ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüştürülür. Ksantin oksidaz oksijene gereksinimi olduğu için iskemik dokuda çalışamaz. İskeminin devam etmesi sonucu hücre irreversibl döneme girer ve nekroza gider. Reperfüzyonda dokuya gelen oksijen sayesinde ksantin oksijenaz hipoksantini metabolize eder ve serbest oksijen radikalleri(SOR) ortaya çıkar (22,23).

Serbest oksijen radikalleri; süperoksit anyonu(O_2^-), hidroksil anyonu(OH^-), hidrojen peroksit(H_2O_2), hipoklorik asit($HOCl$) ve peroksinitrit($ONOO^-$)'tir(12).

Serbest oksijen radikalleri, mikropların öldürülmesinde ve bazı sinyal yollarında fizyolojik olarak görev alsa da; hücrelerin birden fazla bileşenlerine genellikle zarar verir. Plazma, mitokondri ve lizozomal zarların lipid peroksidasyonunu bozar, proteinlerin çapraz bağlanmasını etkileyerek hasarlı proteinler ve inaktif enzimler

oluşturabilir. Nükleer ve mitokondriyal DNA'daki timin ile reaksiyona girip DNA'da kırılmalar meydana getirebilir(12).

Reperfüzyondan sonra birkaç saat içinde karaciğere nötrofil alımı başlar(24). Nötrofil etkisiyle oluşan oksidatif hasar aslında 6-24 saatlik reperfüzyonda gözlemlenir(25). Reperfüzyondan sonra nötrofiller, hidrojen peroksitten(H_2O_2)'den hipoklorik asit oluşturan miyeloperoksidaz ve matriks metallopeptidaz(MMPaz) gibi proteazlar üreten karaciğer hücrelerini tahrip edebilirler. Bu oksidanlar, proteaz aracılı hepatosit hasarına direkt neden olurlar(26).

Aktif nötrofillerin yani polimorfonükleer lökositlerin, hücreler arası göçünü trombosit-endotelial hücre yapışma molekülü 1(PECAM-1) kolaylaştırır(27). Aktif nötrofiller ekstrasvasküler alana ulaştıktan sonra serbest oksijen radikalleri, proteazlar ve elastazlar oluşturarak mikrovasküler permeabilite artışı, hücrede ödem, tromboz ve hücre ölümü meydana gelir(25).

2.3. ELAFİN

Elafin, ilk defa 1981'de bronşiyal mukustan, daha sonra 1990'da deri ve akciğerden karakterize edilmiş serin proteaz inhibitörüdür(28-30). Elafinin öncüsü olan pre-elafin, trappin-2 olarak da bilinmektedir. Pre-elafin, cementin ve elafin olmak üzere 2 kısımdan meydana gelmektedir. Özellikle triptaz gibi proteazlar bu iki kısmı ayırır ve elafini serbestleştirir(31).

Özellikle inflamasyonun ortaya çıkardığı hasar mekanizmalarında rol alan nötrofil elastaz, proteinaz 3 ve pankreatik elastaz elafinin üç ana hedefleridir. Elafin, bu serin proteazların merkezindeki reaktif serin aminoasidini bloke ederek inhibitör etki eden bir polipeptittir(32). Elafin, kolon, akciğer, deri, tükürük bezi, vajen mukozası, plasenta ve fetal membranlarda sentezlenir(31,33). Elafin genellikle kolon, bronş, keratinositler gibi epitelyal hücrelerden üretilmesine rağmen alveolar makrofaj ve bazı T hücrelerinde üretildiği gösterilmiştir(34).

IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin, keratinosit ve bronş epitel hücrelerinde in vitro elafin üretimini arttırdığı gösterilmiştir(33). Elafin, ubiquitin-proteazom yoluna etki ederek monositlerde nükleer faktör- kappaB(NF κ B)'yi inaktive eder ve doğrudan anti-inflamatuar etki gösterir(35).

Elafinin dolaylı yoldan anti-inflamatuar ve doku hasarını azaltma etkisi ise nötrofil ilişkili inflamasyonda nötrofil elastazı ve proteinazı inhibe etmesidir(6). Pre-elafinin, nötrofil elastaz inhibisyonu ile dentritik hücreleri in vivo aktive edebildiği gösterildi(36). İnflame dokularda pro-inflamatuar bir sitokin olan IL-32, IL-1 β ve TNF- α üretimini artırır. IL-32, proteinaz-3 ile etkileşime girmektedir ve elafin, proteinaz-3 aktivitesi engelleyebildiği için IL-32 üretimi azalabilir ve anti-inflamatuar etki ortaya çıkabilir(37).

Pre-elafin(trappin-2)'in, *Pseudomonas aeruginosa* 'ya karşı bir opsonin gibi davranıp makrofajlar tarafından bakterisidal etkiyi arttırdığı ve bu bakteriye karşı akciğer hasarını azalttığı gösterildi(38,39). Sadece *Pseudomonas aeruginosa* 'ya karşı değil *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* gibi gram pozitif bakterilere, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* gibi gram negatif bakterilere ve *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* gibi mantarlara karşı da direk öldürücü etki eder(33,39,40). Elafin anti-viral etki de gösterir. Elafinin pre-elafinden(trappin-2) insan immün yetmezlik virüsü-1(HİV-1)'e karşı çok daha güçlü anti-viral etkisi mevcuttur. Elafin tedavisi sonrasında insan immün yetmezlik virüsünün genital epitelyal hücrelerine bağlanması inhibe edilerek yine anti-viral etki gösterilmiştir(41).

Elafinin çeşitli etkilerinden başka, yara iyileşmesinde, hücre göçünde, apoptozda ve doku homeostazında önemli görevler alan doku transglutaminazının(TG-2) çapraz bağlanma aktivitesinin bir substratı olarak tanımlanmıştır(7). Elafin, TG-2 ile etkileşime girip TG-2'yi orta şiddette inhibe ettiği görüldüğünden elafinin azalması mukozal hasar oluşturabilir(42). Gastrointestinal sistemi etkileyen Çölyak hastalığı gibi bazı kronik hastalıklarda mukozal hasar mekanizması elafinin azalması ile açıklanabilir.

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmada ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 40 adet dişi wistar albino rat kullanıldı. Hem ameliyat öncesi hem ameliyat sonrası dönemde denekler sabit çevre koşulları (sıcaklık:23°C ve nem: %55.5) standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

Çalışma Akdeniz Üniversitesi Deneysel Tıp ve Hayvan Laboratuvarında; Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 18.01.2021 tarihli ve B.30.2.AKD.0.05.07.00/7 sayılı izni ile yapıldı.

3.1. Gruplar

Ratlar 5 gruba randomize edildi.

Grup 1 (Sham): Sadece laparotomi yapıldı. Kan ve doku örnekleri alınarak hayvanlar sakrifiye edildi.

Grup 2 (30 dk iskemi 0 dk Reperfüzyon): Laparotomi sonrası ortak safra kanalı, portal ven ve hepatik arter (karaciğer pedikülü) klemplenerek 30 dakika iskemi yapıldı. Klemp açılarak 0 dakika reperfüzyon yapıp doku ve kan örnekleri alınarak denekler sakrifiye edildi.

Grup 3 (30 dk iskemi 1 saat Reperfüzyon): Laparotomi sonrası ortak safra kanalı, portal ven ve hepatik arter (karaciğer pedikülü) klemplenerek 30 dakika iskemi yapıldı. Klemp açılarak 1 saat reperfüzyon yapıp doku ve kan örnekleri alınarak denekler sakrifiye edildi.

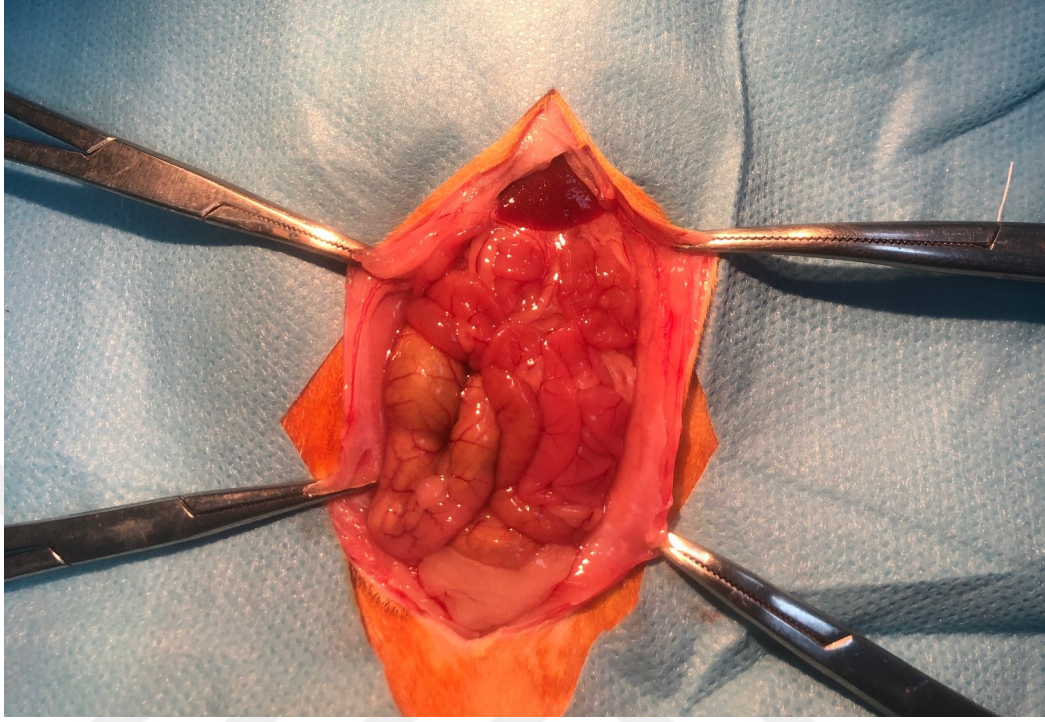
Grup 4 (30 dk iskemi 2 saat Reperfüzyon): Laparotomi sonrası ortak safra kanalı, portal ven ve hepatik arter (karaciğer pedikülü) klemplenerek 30 dakika iskemi yapıldı. Klemp açılarak 2 saat reperfüzyon yapıp doku ve kan örnekleri alınarak denekler sakrifiye edildi.

Grup 5 (30 dk iskemi 3 saat Reperfüzyon): Laparotomi sonrası ortak safra kanalı, portal ven ve hepatik arter (karaciğer pedikülü) klemplenerek 30 dakika iskemi yapıldı.

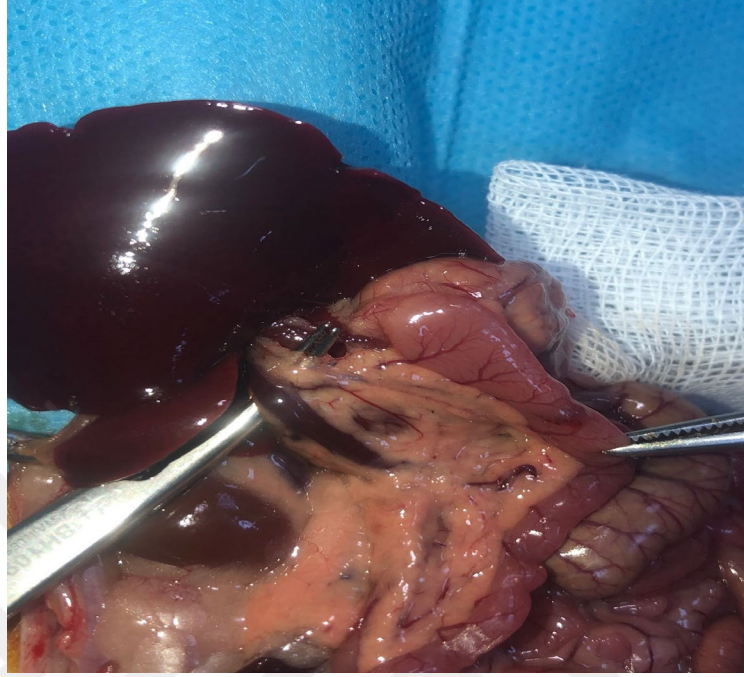
Klemp açılarak 3 saat reperfüzyon yapıp doku ve kan örnekleri alınarak denekler sakrifiye edildi.

Cerrahi İşlem

Bütün denekler 50 mg/kg ketamine ve 20 mg/kg xylasin intraperitoneal enjeksiyon yapılarak genel anestezi ile uyutuldu. Cerrahi müdahale bütün deneklere aynı cerrah tarafından yapıldı. Sırt üstü pozisyonda karın tüyleri temizlendikten sonra karın cildi povidon iyot ile silinerek cilt antisepsisi uygulandı. Median laparotomi yapıldı. Grup 1 (Sham) hariç diğer tüm gruplara karaciğer pedikülü bulunarak bulldog klemp ile kapatılıp 30 dakika iskemi yapıldı. İskemi sırasında karın organları ısıtılmış steril izotonik ile nemlendirildi ve karın geçici kapatıldı. 30 dk iskemi sonrası bulldog klempleri açılarak Grup 2'ye 0 dk reperfüzyon, Grup 3'e 1 saat reperfüzyon, Grup 4'e 2 saat reperfüzyon ve Grup 5'e 3 saat reperfüzyon uygulandı, intrakardiyak kan örnekleri alındı ve karaciğer serbestlenerek total hepatektomi yapıldı. Grup 1(Sham)'e ise laparotomi yapıp intrakardiyak kan örnekleri alındı ve karaciğer serbestlenerek total hepatektomi yapıldı.



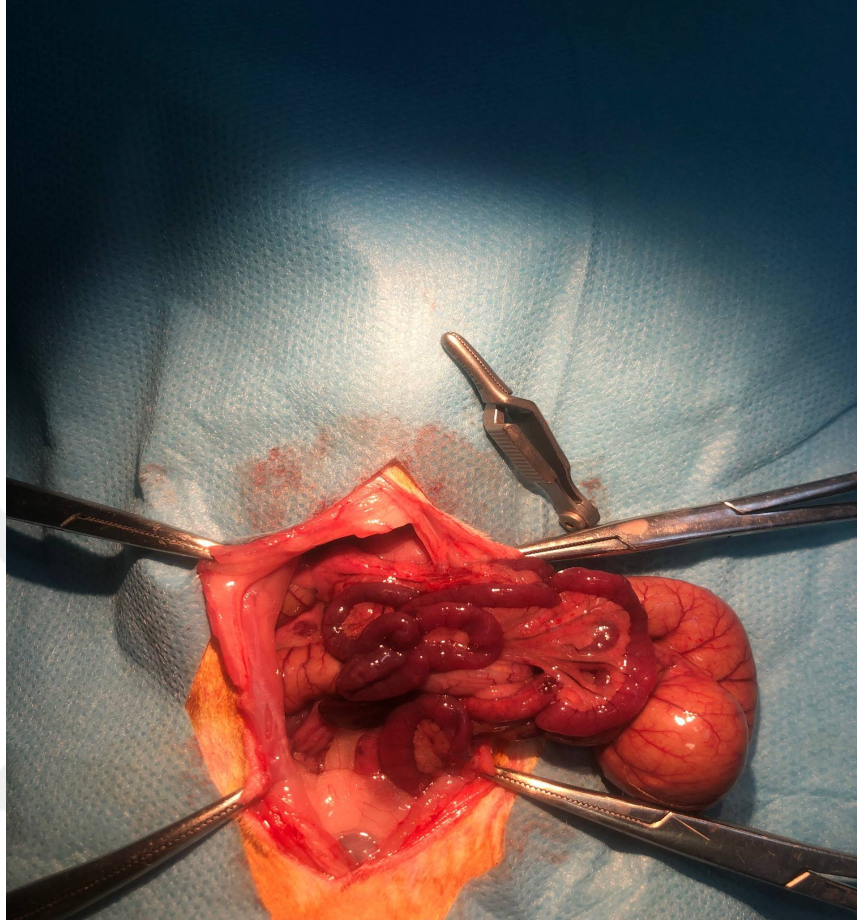
resim1: Laparotomi sonrası eksplorasyon



resim2: Hepatoduodenal ligamanın klemp ile dönülmesi



resim3: Hepatoduodenal ligamanın buldog klempi ile klemplenmesi



resim4: 30 dk iskemi sonrası hepatoduodenal ligaman üzerindeki buldog klempinin açılması
(Ödemli ve dilate barsak ansları görülmektedir)

3.2. Biyokimyasal Analiz

Kanlar sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine alındı. Kanlar Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Bölümünde 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Örneklerde Elafin, ALT, AST, ALP, iskemi modifiye albümin(İMA), albümin, total antioksidan status (TAS), total oksidan status(TOS) çalışıldı.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Karaciğer örnekleri %10 formaldehit solüsyonu içinde saklandı. Yaklaşık 4-5 mikron parafin bloklar hazırlandı. Hematoksilen-eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda patolog tarafından değerlendirildi. Karaciğer dokuları kanama, nekroz,

lökosit infiltrasyonu, hepatositlerde vakuolizasyon, hepatositler arası bağlantılar literatüre benzer şekilde değerlendirildi ve patolojik olarak gradelendirildi(43).

Tablo 1: Karaciğer hasar gradelendirilmesi

GRADE 0	Hafif ya da hasar yok
GRADE 1	Hafif hasar, fokal nükleer piknoz ve sitoplazmik vakuolizasyon
GRADE 2	Orta-ağır hasar, yaygın nükleer piknoz, sitoplazmik hipereozinofili ve hücreler arası köprü kaybı
GRADE 3	Şiddetli nekroz, hepatik kordonlarda ayrışma, kanama ve nötrofil infiltrasyonu

3.4. İstatistiksel Analiz

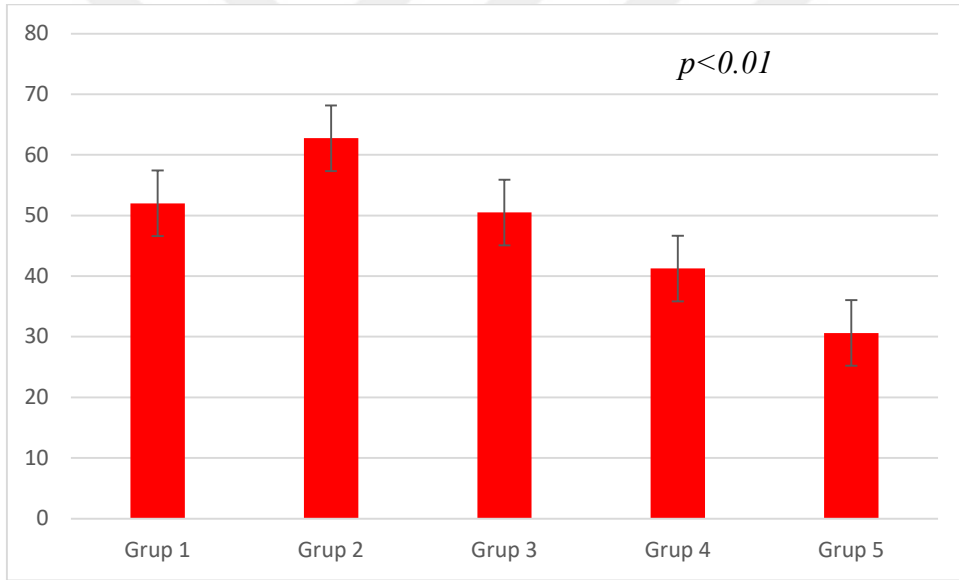
Çalışmanın istatistik analizleri Statistical Package for Social Sciences version 25.0 software for Windows (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp., USA) kullanılarak yapılmıştır.

Değişkenlerin normallik varsayımı Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile test edilmiştir. Değişkenlere ait açıklayıcı istatistikler değişken tipine ve varsayımların sağlanma durumuna göre ortalama±standart sapma, medyan (25th ve 75th persentil), ve frekanslar n (%) şeklinde verilmiştir. Çalışmada yer alan değişkenlerin tek değişkenli analizleri için değişken tipine ve varsayımların sağlanma durumuna göre Fisher-Freeman Halton Exact, ve Kruskal-Wallis tests ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda aralarında anlamlı farklılık bulunan grupların ikişerli karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır ve Bonferroni düzeltmesi (0.05/grup sayısı) uygulanarak değerlendirilmiştir. Elafin ile diğer parametreler arasındaki ilişkiler Spearman Korelasyon analizi ile incelenmiştir.

4. BULGULAR

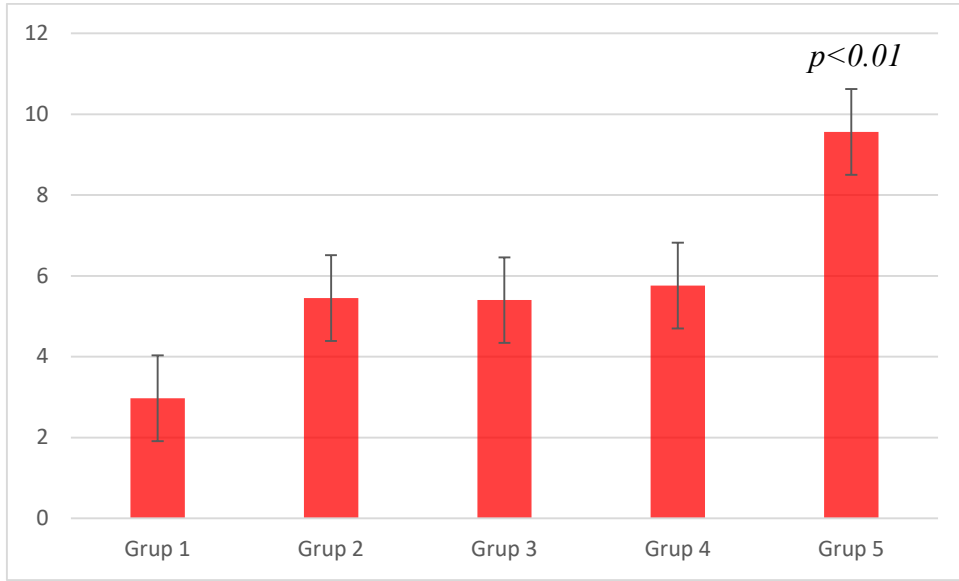
Çalışmada 40 Wistar albino rat tesadüfen 5 farklı gruba ayrılmıştır. Her grupta 8 rat bulunmaktadır. Elde edilen verilerin grup karşılaştırmaları ve tanımlayıcı istatistikleri Tablo 2’de verilmiştir. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık çıkan ortalamaların ikili karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. İkili karşılaştırmalar sonucunda aralarında anlamlı farklılık olmayan ortalamalar aynı harfle gösterilmiştir.

Elafin düzeyleri bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). En düşük Elafin ortalaması Grup 5’te ve en yüksek Elafin ortalaması Grup 2’de tespit edilmiştir. Elafin değerleri bakımından Grup 1 ve Grup 3 arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Buna karşın diğer gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 8).



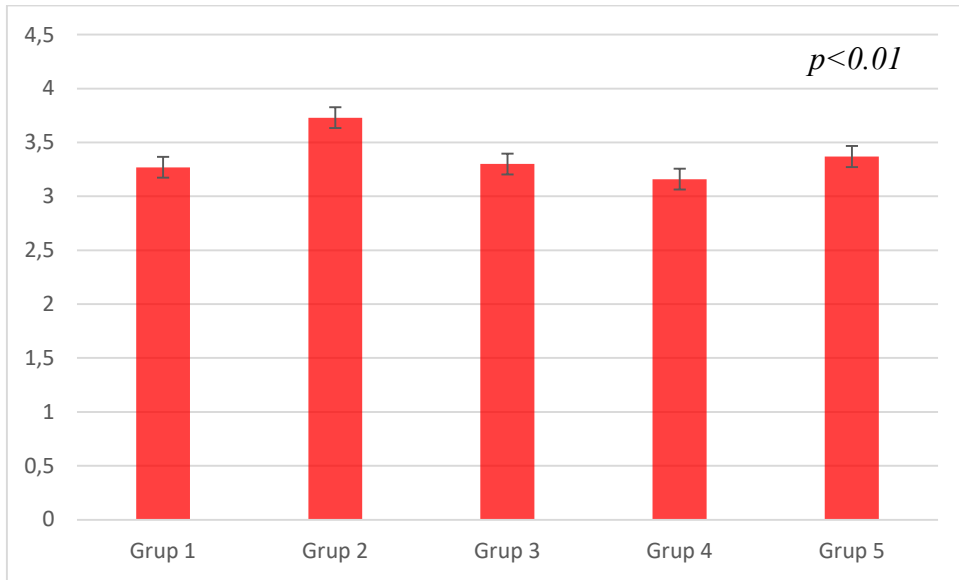
Şekil 8. Gruplar arası Elafin düzeyleri

IMA/ALB oranı bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). IMA/ALB oranı en düşük Grup 1’de tespit edilmiştir. Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Grup 5’e ait IMA/ALB oranı diğer tüm gruplarından anlamlı derecede yüksektir ($p<0.01$) (Şekil 9).



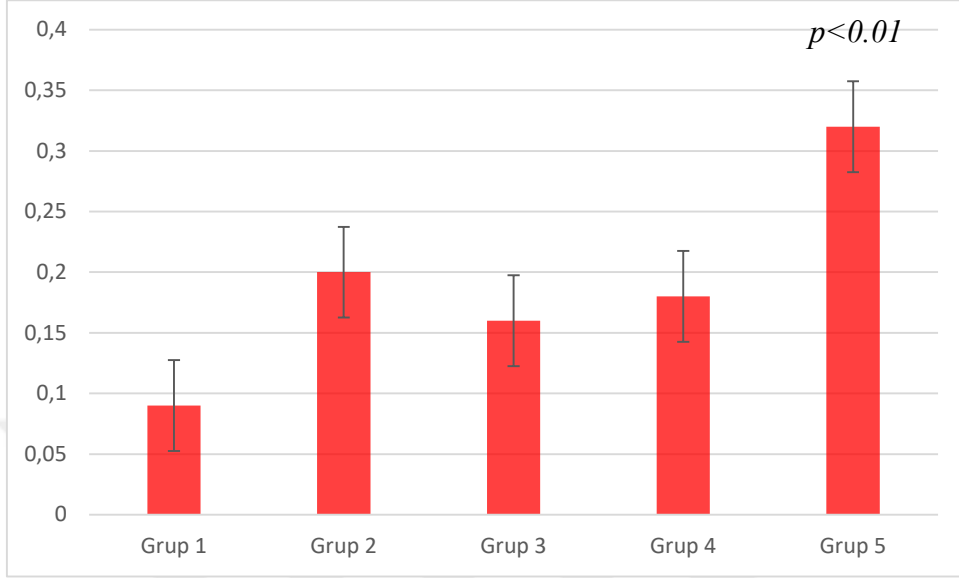
Şekil 9. Gruplar arası IMA/ALB oranı

Albumin değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Ortalama en yüksek albümin değeri Grup 2’de tespit edilmiştir. Grup 2, Grup 3 ve Grup 5’e ait Albumin değerleri birbiriyle benzerdir($p>0.05$). Grup 1, Grup 3 ve Grup 4’e ait albümin değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlı değildir($p>0.05$). Buna karşın Grup 2 ve Grup 5’e ait Albumin değerleri Grup 1 ve Grup 4’ten anlamlı derecede farklıdır($p<0.01$). En düşük ortalama albümin değeri Grup 4’te tespit edilmiştir (Şekil 10).



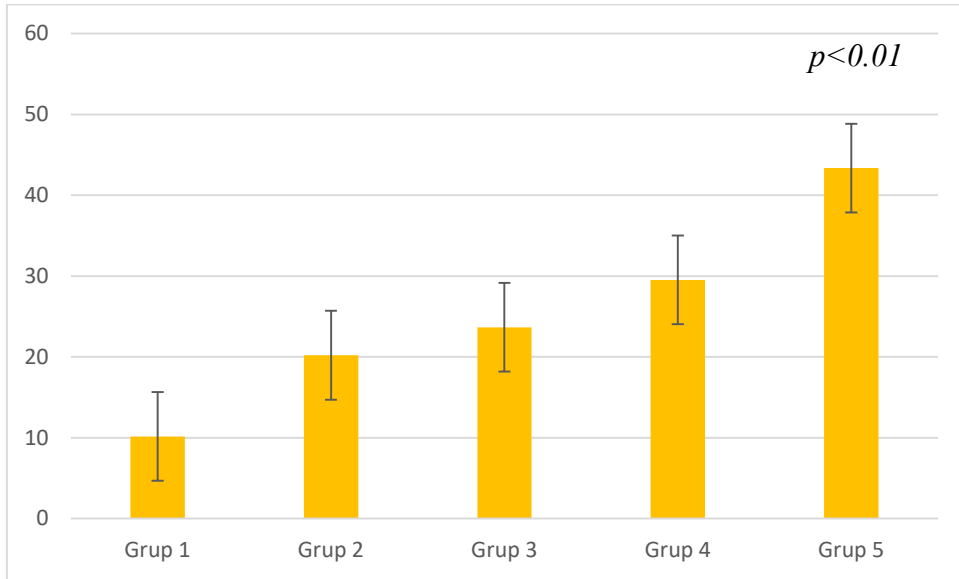
Şekil 10. Gruplar arası Albumin düzeyleri

IMA değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). En düşük ortalama IMA değeri Grup 1’de en yüksek IMA değeri de Grup 5’te tespit edilmiştir (Şekil 11).



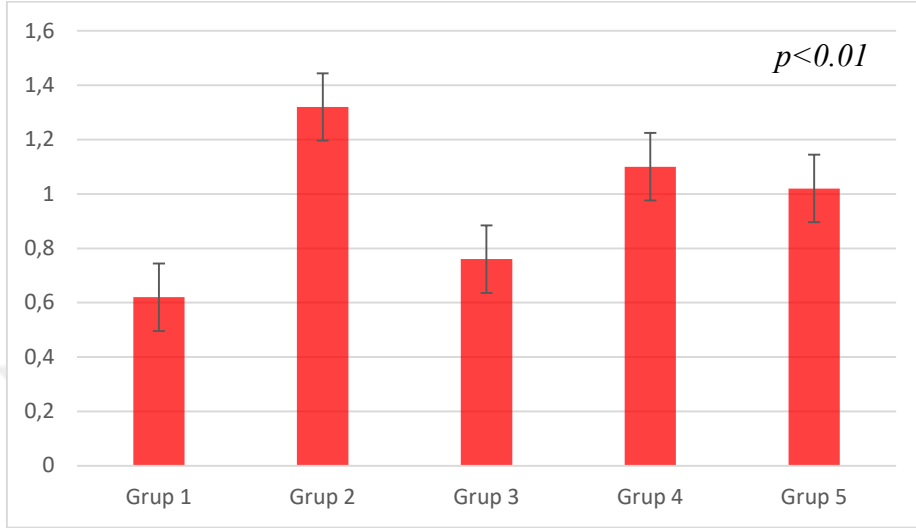
Şekil 11. Gruplar arası IMA düzeyleri

TOS değerleri bakımından grup ortalamaları arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Ortalama TOS değeri, en düşük değer Grup 1’de en yüksek değer de Grup 5’tedir. TOS değerleri bakımından Grup 2 ve Grup 3 arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlı değildir($p>0.05$)(Şekil 12).



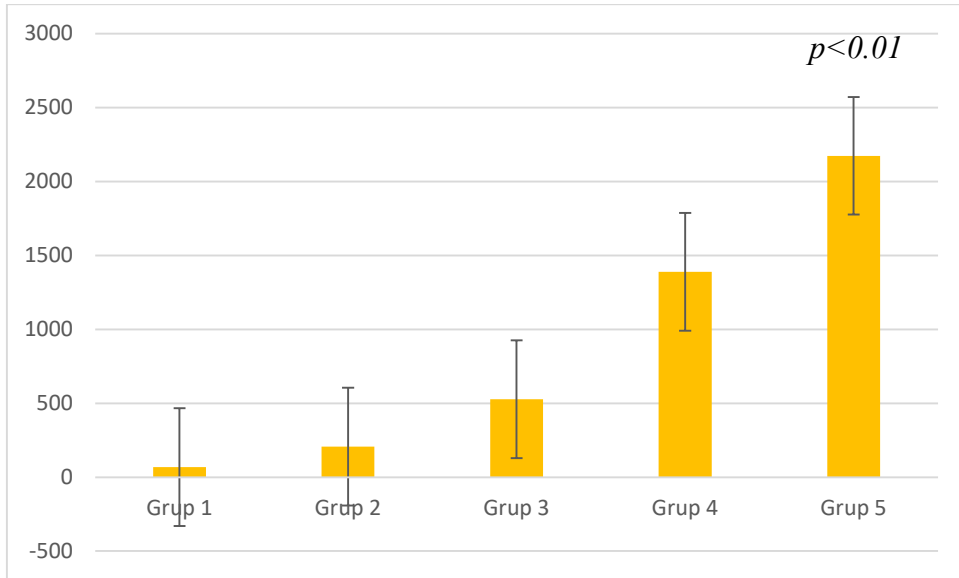
Şekil 12. Gruplar arası TOS düzeyleri

TAS değerleri bakımından grup ortalamaları arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Ortalama TAS değeri en düşük değeri Grup 1’de en yüksek değeri Grup 2’de almıştır. TAS değerleri bakımından Grup 2, Grup 4 ve Grup 5 arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlı değildir($p>0.05$) (Şekil 13).



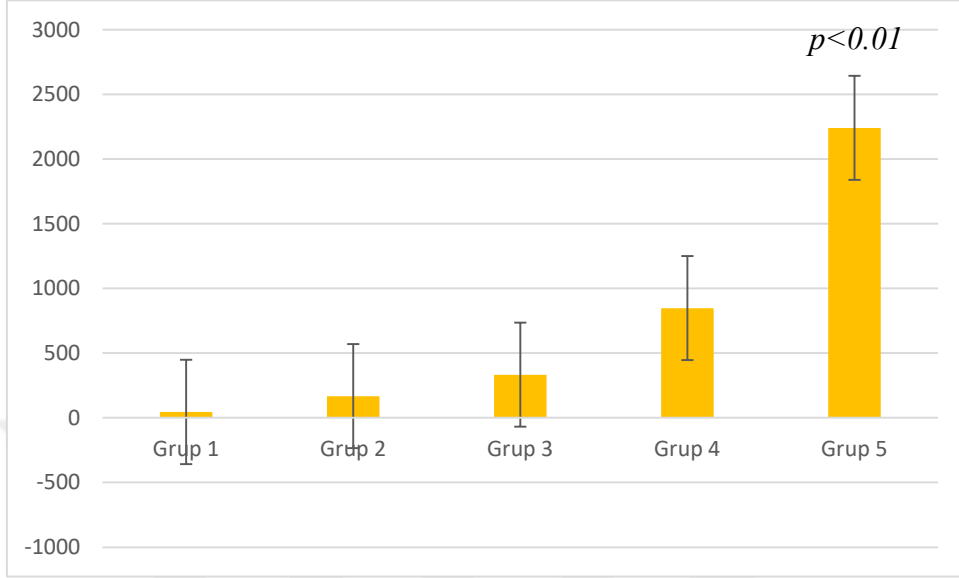
Şekil 13. Gruplar arası TAS düzeyleri

AST değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Ortalama AST değeri en düşük Grup 1’de tespit edilmiştir. Grup 5’e ait ortalama AST değeri diğer gruplardan oldukça büyüktür($p<0.01$) (Şekil 14).



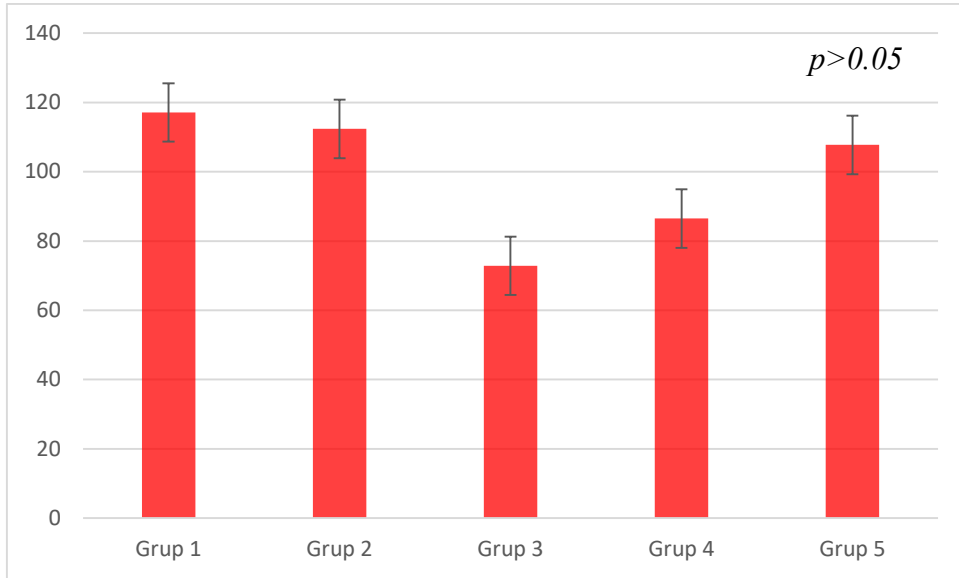
Şekil 14. Gruplar arası AST düzeyleri

Benzer şekilde ALT değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Ortalama ALT değeri en düşük Grup 1’de tespit edilmiştir. Grup 5’e ait ortalama ALT değeri diğer gruplardan oldukça büyüktür($p<0.01$) (Şekil 15).



Şekil 15. Gruplar arası ALT düzeyleri

ALP değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlı değildir($p>0.05$) (Şekil 16).



Şekil 16. Gruplar arası ALP düzeyleri

Tablo 2. Değişkenlere ait grup karşılaştırmaları ve tanımlayıcı istatistikler

	Grup 1 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	Grup 2 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	Grup 3 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	Grup 4 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	Grup 5 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	P*
Elafin	52.00 $\pm$ 5.39c 52.0(47.0~56.2)	62.75 $\pm$ 10.49d 66.0(52.0~71.0)	50.50 $\pm$ 10.19c 49.5(60.5~41.5)	41.25 $\pm$ 7.20b 42.0(35.5~47.7)	30.62 $\pm$ 4.53a 32.5(27.2~34.0)	0.000
İMA/ALB	2.97 $\pm$ 1.75a 3.0(1.2~4.2)	5.45 $\pm$ 3.14b 4.8(3.1~7.2)	5.40 $\pm$ 4.81b 3.6(2.2~7.7)	5.76 $\pm$ 2.09b 5.9(3.6~7.7)	9.56 $\pm$ 3.63b 9.2(6.3~13.5)	0.007
Albumin	3.27 $\pm$ 0.13a 3.3(3.1~3.4)	3.73 $\pm$ 0.21b 3.8(3.5~3.9)	3.30 $\pm$ 0.26ab 3.3(3.1~3.5)	3.16 $\pm$ 0.14a 3.1(3.0~3.2)	3.37 $\pm$ 0.33b 3.4(3.2~3.6)	0.000
İMA	0.09 $\pm$ 0.06a 0.10(0.03~0.13)	0.20 $\pm$ 0.12b 0.17(0.11~0.26)	0.16 $\pm$ 0.13b 0.12(0.07~0.24)	0.18 $\pm$ 0.06b 0.19(0.11~0.24)	0.32 $\pm$ 0.14c 0.28(0.20~0.46)	0.008
TOS	10.17 $\pm$ 2.12a 10.2(7.9~12.3)	20.21 $\pm$ 4.90b 20.5(16.2~24.2)	23.67 $\pm$ 2.92b 22.8(21.8~25.2)	29.53 $\pm$ 3.46c 29.9(26.3~30.5)	43.37 $\pm$ 10.79d 44.6(32.2~52.3)	0.000
TAS	0.62 $\pm$ 0.04a 0.60(0.60~0.67)	1.32 $\pm$ 0.12c 1.30(1.22~1.37)	0.76 $\pm$ 0.05b 0.80(0.70~0.80)	1.10 $\pm$ 0.31c 0.95(0.82~1.40)	1.02 $\pm$ 0.21c 1.0(0.85~1.07)	0.000
AST	68.37 $\pm$ 14.37a 72.0(57.0~78.0)	207.12 $\pm$ 82.88b 190.0(132.0~292.25)	527.87 $\pm$ 317.97c 471.0(306.5~544.5)	1389.37 $\pm$ 386.83d 1440.5(977.0~1722.2)	2173.25 $\pm$ 864.58e 1854.0(1662.0~3063.0)	0.000
ALT	45.25 $\pm$ 18.50a 40.0(36.0~44.25)	167.75 $\pm$ 56.18b 151.0(128.5~232.25)	332.87 $\pm$ 175.92c 265.5(257.5~320.75)	847.87 $\pm$ 239.79d 842.0(661.25~1023.25)	2240.62 $\pm$ 510.97e 2020.0(1884.5~2627.0)	0.000
ALP	117.12 $\pm$ 57.24 106.5(73.25~156.0)	112.37 $\pm$ 33.77 109.0(84.75~119.25)	72.87 $\pm$ 36.97 63.5(39.75~113.0)	86.50 $\pm$ 26.69 82.0(74.0~85.0)	107.75 $\pm$ 39.23 112.5(81.5~136.25)	0.230

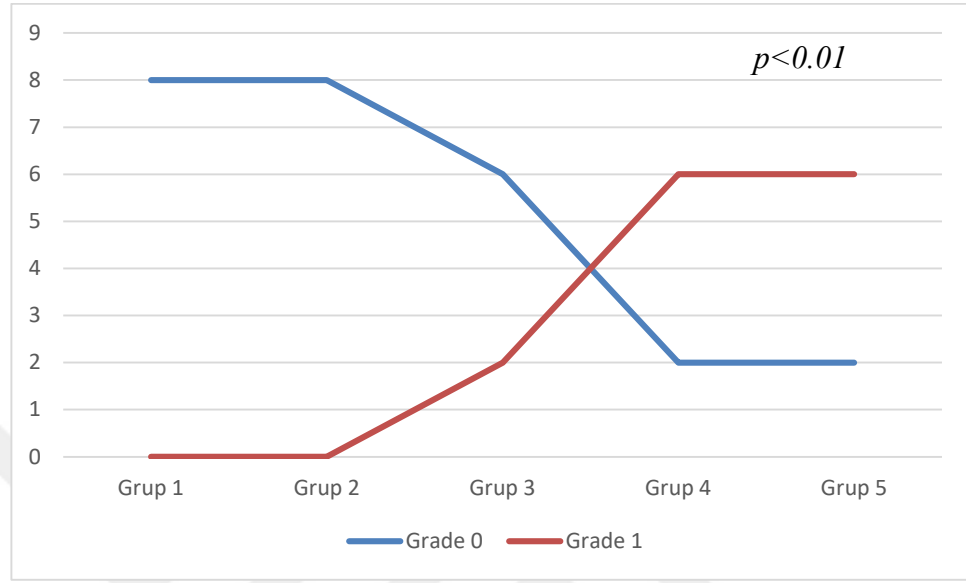
*Kruskal-Wallis tests, İkili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi, Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı fark yoktur(p>0.05). SD: Standart Sapma

Gruplarda yer alan ratların karaciğer dokularının histopatolojik hasar grade durumlarına ait sayılar ve yüzdeleri n(%) Tablo 3’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre Gruplar ile grade arasında anlamlı bir ilişki vardır(p<0.01). Grup 1 ve Grup 2 de ratların %100’ü grade 0 grubundadır. Grup 3’te ratların %75’i grade 0 da %25’i grade 1 de yer almıştır. Grup 4 ve Grup 5’te ratların %75’i grade 1’de yer almıştır. Şekil 17’de ratların Grade sınıflarındaki dağılımları gösterilmiştir. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5’te Grade 1 de yer alan rat sayıları artmaktadır.

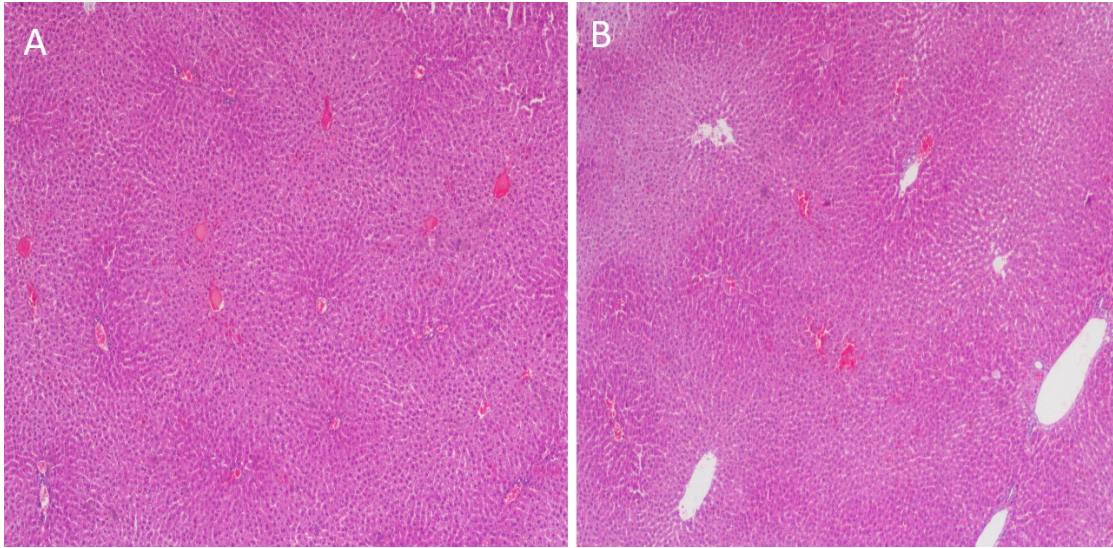
Tablo 3. Histopatolojik Grade değerleri

	Grade		p*
	0	1	
Grup 1	8(100.0%)	0(0.0%)	0.000
Grup 2	8(100.0%)	0(0.0%)	
Grup 3	6(75.0%)	2(25.0%)	
Grup 4	2(25.0%)	6(75.0%)	
Grup 5	2(25.0%)	6(75.0%)	

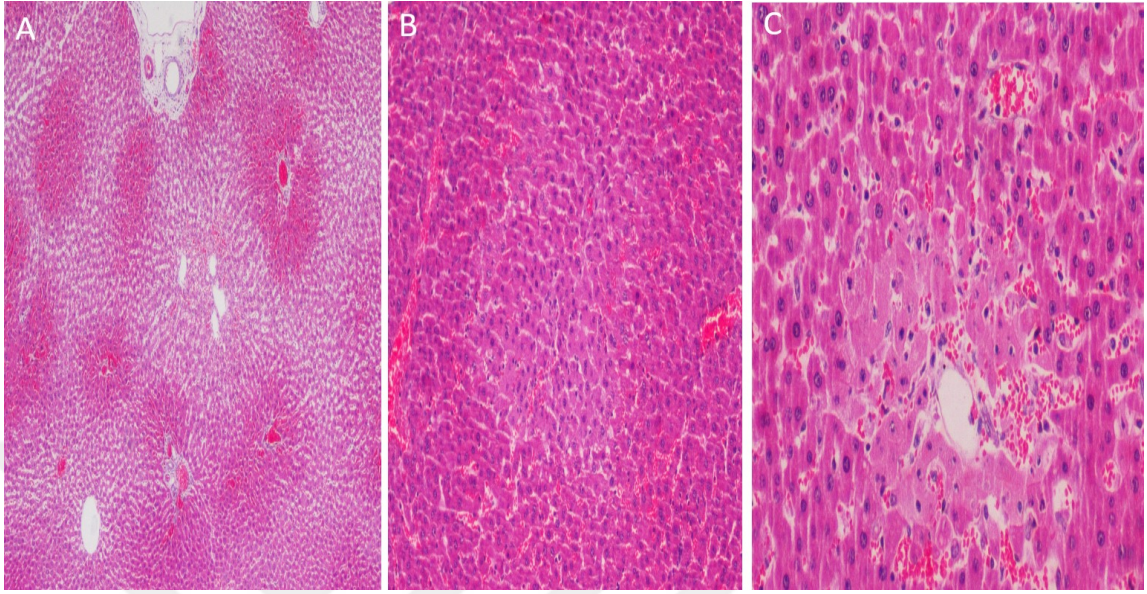
* Fisher-Freeman Halton Exact



Şekil 17. Gradelere göre ratların dağılımı



resim5: Karaciğer histopatolojik Grade 0 hasarlanma. (A ve B Hematoksilen Eozin(HE) x40)



resim6: Karaciğer histopatolojik Grade 1 hasarlanma. (A HE x40, B HE x100, C HE x200)

Elafin düzeyleri ile serum parametreleri arasındaki ilişkiler Tablo 4’te verilmiştir. Elafin ile AST arasındaki ilişki negatif yönlü ve anlamlıdır ($Rho=-0.708$, $p=0.000$). Elafin ile ALT arasında negatif yönlü anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($Rho=-0.730$, $p=0.000$). Elafin ile TOS arasında negatif ve anlamlı bir ilişki vardır ($Rho=-0.600$, $p=0.000$). Elafin ile Albumin arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($Rho=0.115$, $p=0.480$). Elafin ile IMA/ALB arasındaki ilişki istatistiki olarak anlamlı değildir ($Rho=-0.193$, $p=0.233$). Elafin ile IMA arasındaki ilişki anlamlı değildir ($Rho=-0.129$, $p=0.428$). Elafin ile TAS arasındaki ilişki istatistiki olarak anlamlı değildir ($Rho=-0.137$, $p=0.398$). Elafin ile ALP arasındaki ilişki istatistiki olarak anlamlı değildir ($Rho=0.013$, $p=0.938$).

Tablo 4. Elafin düzeyleri ile serum parametreleri arasındaki ilişki

	Elafin	P
Albumin	0.115 ^{N.S.}	0.480
IMA/ALB	-0.193 ^{N.S.}	0.233
İMA	-0.129 ^{N.S.}	0.428
TOS	-0.600**	0.000
TAS	-0.137 ^{N.S.}	0.398
AST	-0.708**	0.000
ALT	-0.730**	0.000
ALP	0.013 ^{N.S.}	0.938

Spearman Korelasyon Analizi, **p<0.01, N.S.: Non-Significant (fark yok)

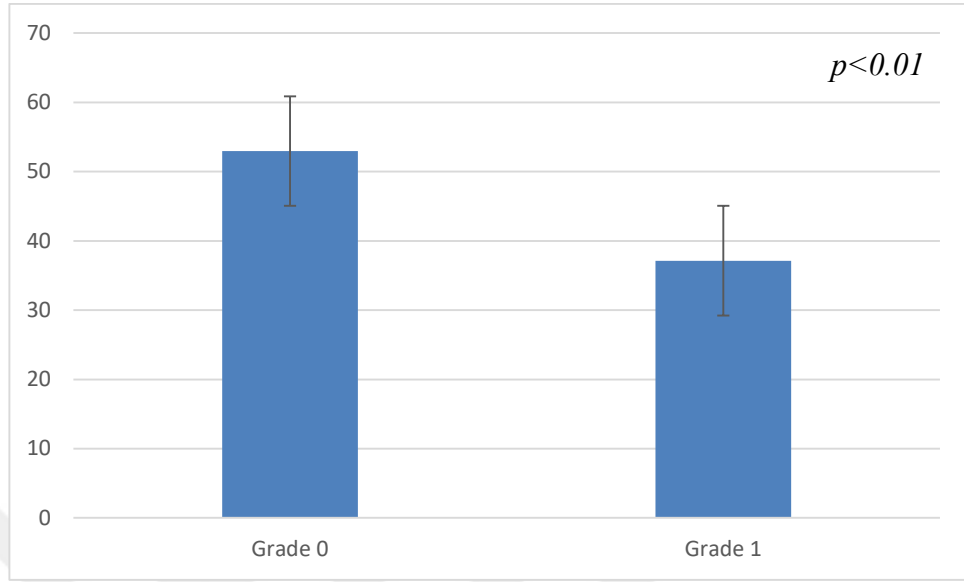
Serum parametreleri bakımından gradeler arasındaki farklılıkların test sonuçları Tablo 5’te verilmiştir. Bu sonuçlara göre Grade 0 ve Grade 1 olan ratların Elafin değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır(p=0.000). Grade 1’de yer alan ratların Elafin değerleri daha düşük bulunmuştur (Şekil 18). IMA/ALB değerleri bakımından gradeler arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır(p=0.023). Grade 1’de yer alan ratların IMA/ALB değerleri Grade 0’da yer alan ratlardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Şekil 19). Albumin değerleri bakımından gradeler arasındaki farklılık anlamlı değildir(p=0.076) (Şekil 20). IMA değerleri bakımından gradeler arasındaki farklılık anlamlı değildir(p=0.051) (Şekil 21). Grade 0 ve Grade 1 olan ratların TOS değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır(p=0.000). Grade 1’de yer alan ratların TOS değerleri daha yüksek bulunmuştur (Şekil 22). TAS değerleri bakımından gradeler arasındaki farklılık anlamlı değildir(p=0.154) (Şekil 23). Grade 0 ve Grade 1 olan ratların AST değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır(p=0.000). Grade 1’de yer alan ratların AST değerleri daha yüksek

bulunmuştur(Şekil 24). Grade 0 ve Grade 1 olan ratların ALT değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak anlamlıdır(p=0.000). Grade 1’de yer alan ratların ALT değerleri daha yüksek bulunmuştur (Şekil 25). ALP değerleri bakımından gradeler arasındaki farklılık anlamlı değildir(p=0.944) (Şekil 26).

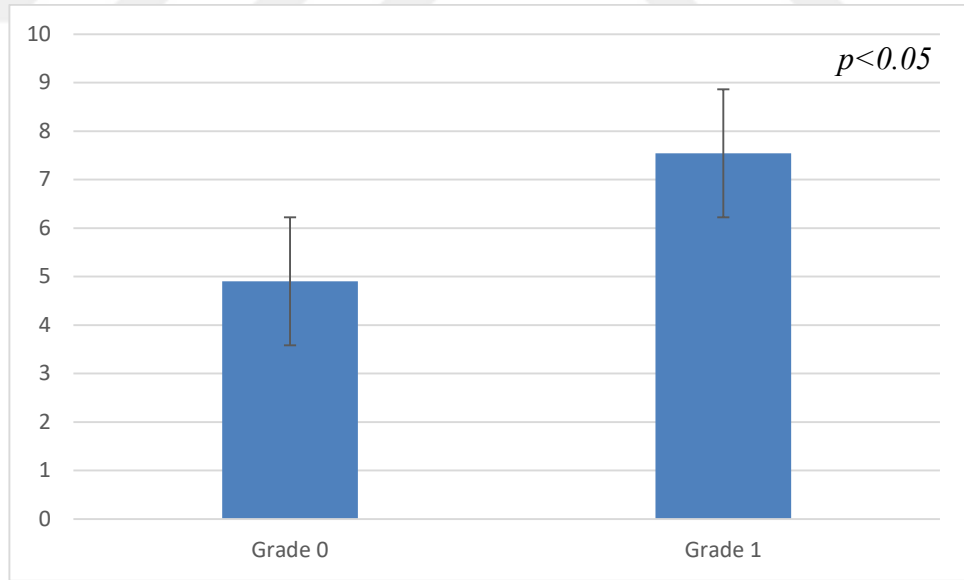
Tablo 5. Gradeler arasındaki karşılaştırma

	Grade 0 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	Grade 1 Ortalama $\pm$ SD Medyan(25th-75th)	P*
Elafin	52.96 $\pm$ 11.02 51.50(46.75~61.25)	37.14 $\pm$ 11.03 35.0(28.75~43.25)	0.000
İMA/ALB	4.90 $\pm$ 3.46 3.95(2.65~6.25)	7.54 $\pm$ 3.84 7.60(3.95~9.25)	0.023
Albumin	3.43 $\pm$ 0.29 3.40(3.20~3.62)	3.25 $\pm$ 0.26 3.25(3.10~3.40)	0.076
İMA	0.16 $\pm$ 0.11 0.13(0.10~0.21)	0.24 $\pm$ 0.13 0.23(0.12~0.28)	0.051
TOS	19.56 $\pm$ 8.22 21.0(12.35~24.80)	36.22 $\pm$ 11.62 30.0(29.10~48.50)	0.000
TAS	0.93 $\pm$ 0.32 0.80(0.67~1.30)	1.02 $\pm$ 0.26 1.0(0.80~1.17)	0.154
AST	467.15 $\pm$ 645.27 214.0(78.0~503.25)	1627.28 $\pm$ 864.59 1501.0(1111.25~1797.25)	0.000
ALT	379.76 $\pm$ 577.08 176.5(44.25~304.25)	1371.50 $\pm$ 924.19 1004.5(665.75~2001.0)	0.000
ALP	100.80 $\pm$ 48.13 99.0(64.50~132.75)	96.57 $\pm$ 27.08 85.0(78.25~114.75)	0.944

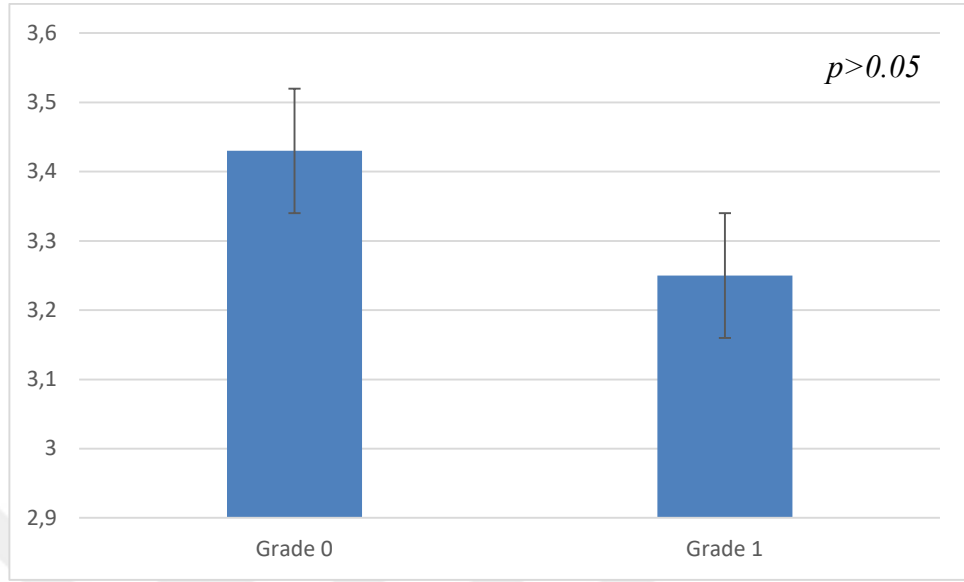
*Mann-Whitney U Test, SD:Standart Sapma



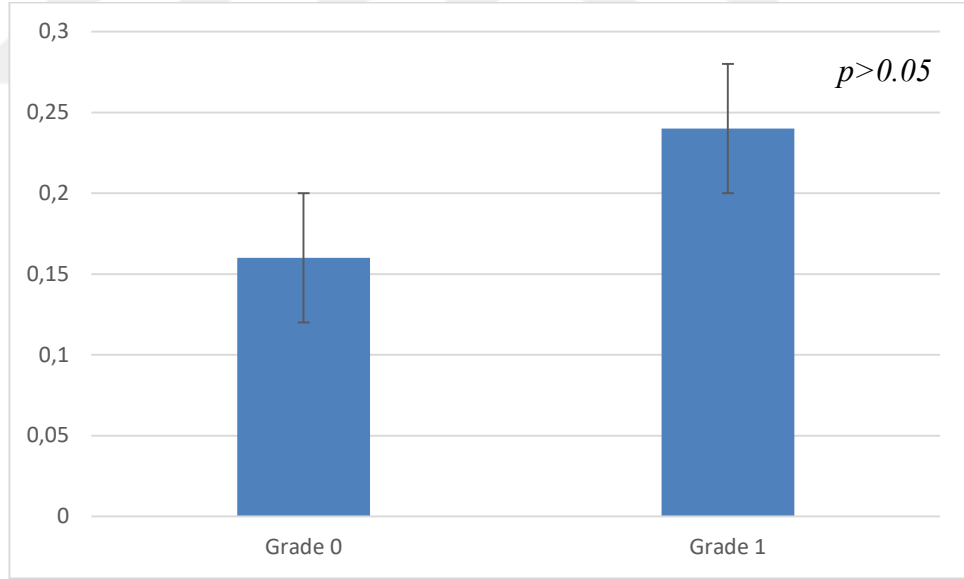
Şekil 18. Histopatolojik gradelere göre Elafin düzeyleri



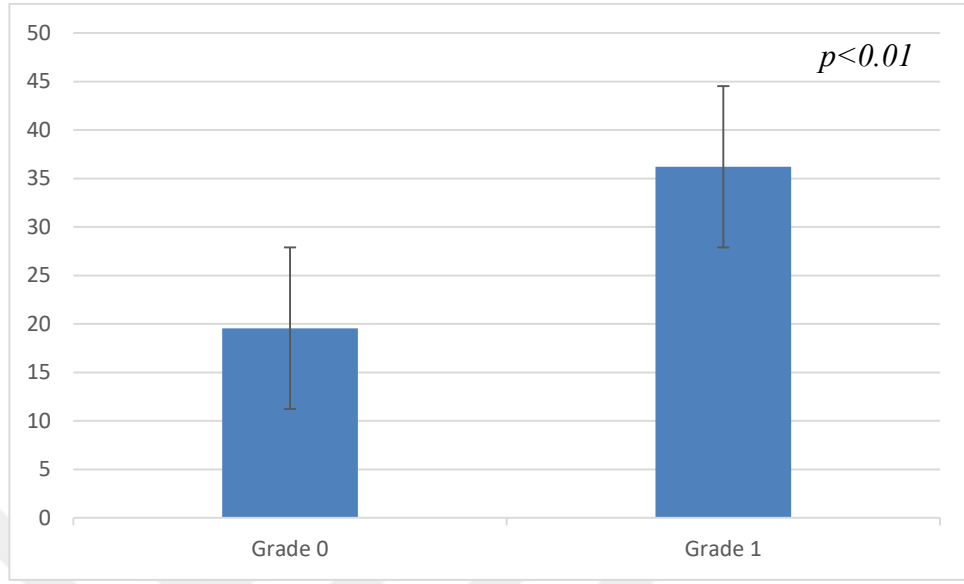
Şekil 19. Histopatolojik gradelere göre IMA/ALB oranı



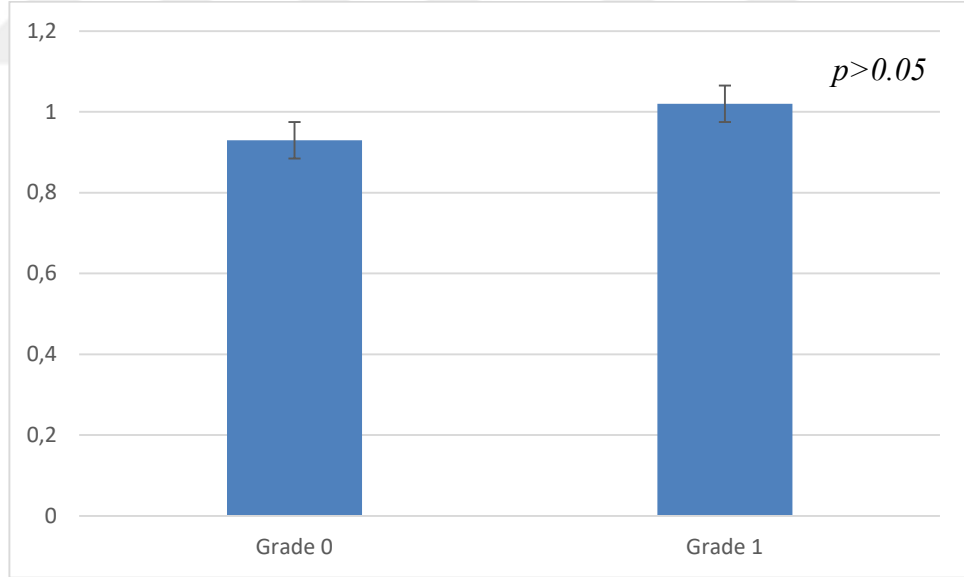
Şekil 20. Histopatolojik gradelere göre Albumin düzeyleri



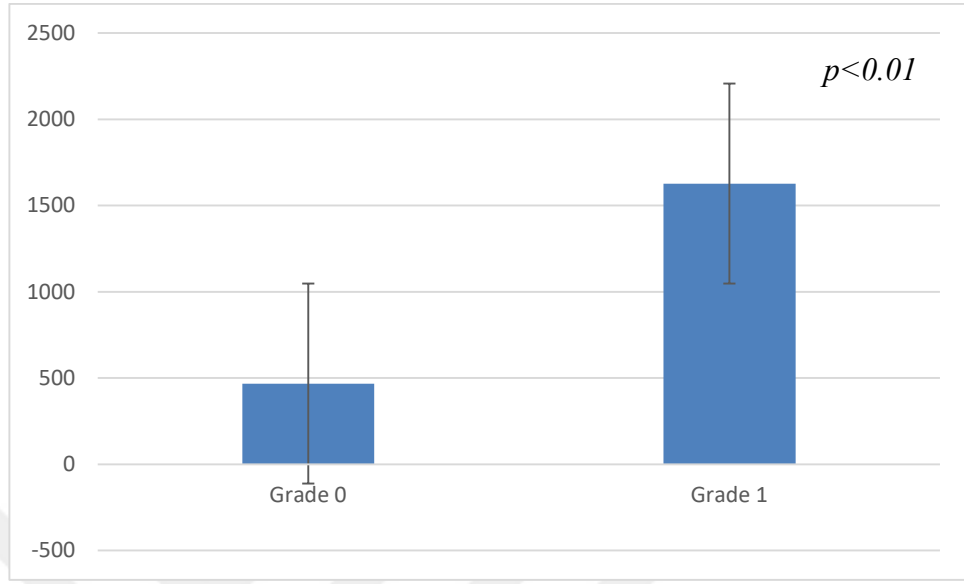
Şekil 21. Histopatolojik gradelere göre IMA düzeyleri



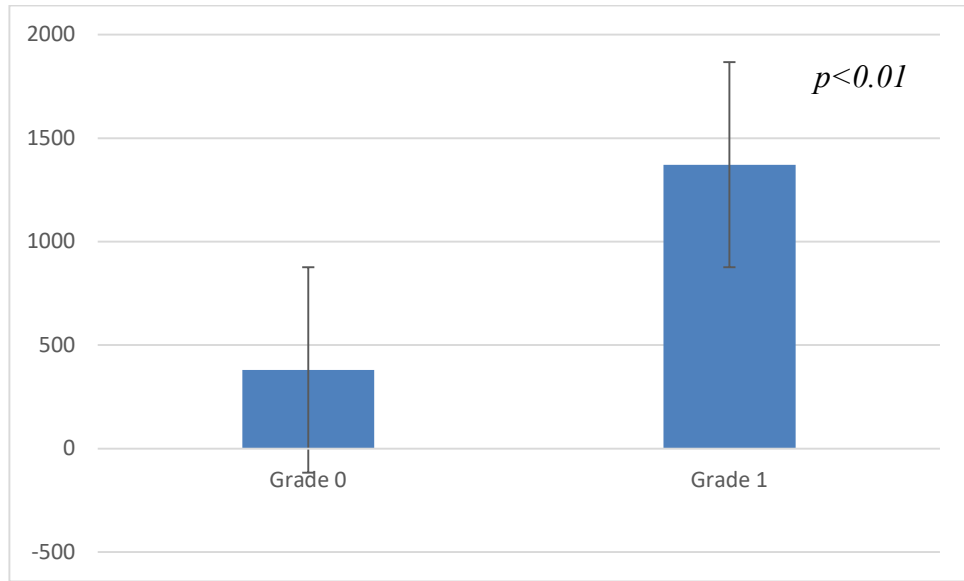
Şekil 22. Histopatolojik gradelere göre TOS düzeyleri



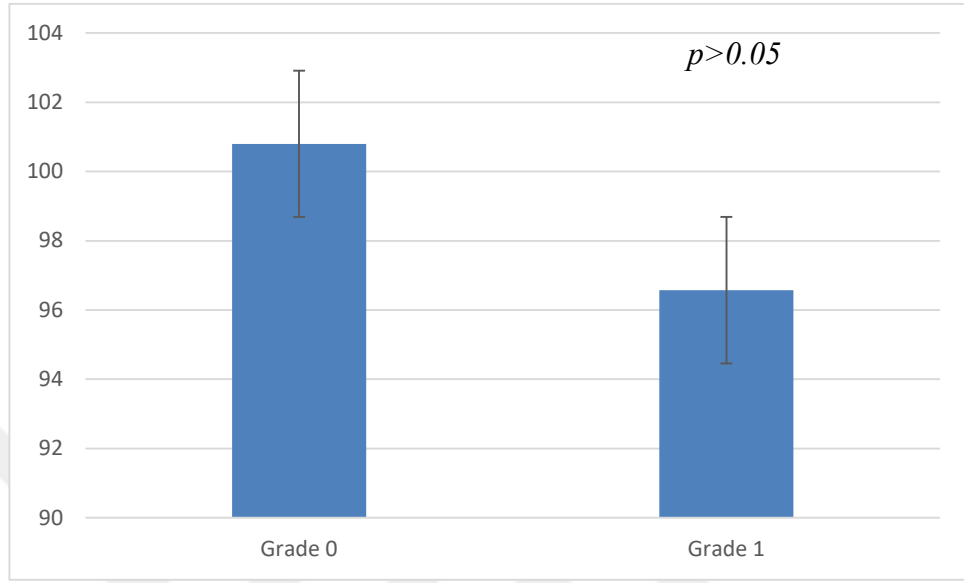
Şekil 23. Histopatolojik gradelere göre TAS düzeyleri



Şekil 24. Histopatolojik gradelere göre AST düzeyleri



Şekil 25. Histopatolojik gradelere göre ALT düzeyleri



Şekil 26. Histopatolojik gradelere göre ALP düzeyleri

5. TARTIŞMA

Karaciğer sentez ve çeşitli fonksiyonlarını devam ettirebilmek için diğer organlara göre daha fazla kan akımına sahiptir. Bundan dolayı iskemik reperfüzyon hasarına karşı fazlaca hassastır. Hasarın başlangıcında serbest oksijen radikalleri ön plandayken ilerleyen saatlerde nötrofil aracılı hasar ön plana çıkmaktadır(44). İskemide oksidatif fosforilasyon dengesi değişerek ATP'den AMP, inozin, adenosin ve hipoksantin oluşturulur. Normal dokularda hipoksantin aerobik metabolizmada ksantin dehidrogenazla ksantin ve ürik aside dönüştürülür. Normal dokularda görev alan ksantin dehidrogenaz iskemik dokuda ksantin oksidaza dönüştürülür. Oksijene ihtiyacı olan

ksantin oksidaz iskemik dokularda çalışmaz. Reperfüzyonla dokuya tekrardan oksijen gelir ve bu oksijen sayesinde ksantin oksijenaz çalışmaya başlar, hipoksantini metabolize eder ve serbest oksijen radikalleri(SOR) ortaya çıkar (22,23).

Albumin yapısında bazı durumlarda değişiklikler olur. Bunlar iskemi, asidoz, serbest oksijen radikallerinin hasarı gibi durumlardır. Yapı ve özelliği değişen albümine ‘‘iskemi modifiye albümin(İMA)’’ denilir. İMA enfeksiyonlarda, inmede, karaciğer hasarında, travmada, akut koroner sendromlarda yükselebilir(45,46). Normalde İMA/Albumin oranı yaklaşık %1-2 iken iskemide oran artar ve %6-8’e gelir(46). Bizim çalışmamız da literatür ile uyumlu olarak reperfüzyon süresi arttıkça hem İMA değeri hem de İMA/Albumin oranı artmaktaydı. Histopatolojik karaciğer hasarı Grade 1 olan ratlarda İMA/Albumin oranı da yüksek bulunmuştur.

Dokularımız iskemi reperfüzyon hasarını fizyolojik eşik kadar tolere edebilmektedir ancak fizyolojik eşik değeri aşıldığında ortaya hasarlanmalar meydana gelmektedir. Dokularımızdaki iskemi reperfüzyon hasarını tespit etmeye ve hasarı önlemeye yönelik çok çeşitli belirteçler gösterilmiş ve stratejiler ortaya konulmuştur. Bizde bu sebeple karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında bir serin proteaz inhibitörü olan elafinin düzeyini ve etkisini araştırdık.

Çeşitli proteaz inhibitörleri iskemi reperfüzyon hasarlarında terapötik olarak kullanılmaya çalışılmıştır ve azımsanmayacak etkileri de mevcuttur. Lentsch ve ark. farelerde karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında sekretuar lökosit proteaz inhibitörleri(SLPI)’nin TNF- α gibi sitokinleri azaltarak karaciğer ve akciğerde hasarı azalttığını ve nötrofil birikimini azalttığını bulmuşlardır(47). Cowan ve ark. elafinin, tavşanlarda heterotropik kalp nakli sonrası, koroner arterlerde hasarlanmayı ve miyokardiyal doku nekrozunu azalttığını yayınlamıştır(48). Tiefenbacher ve ark. iskemik ve infarktli kalp modellerinde, ratlara verilen elafin tedavisinin kalp fonksiyonları üzerine olumlu etkiye sahip olduğunu ve kalp dokusu üzerinde hasarlı alanları azalttığını göstermiştir(49).

İnflamasyon, antimikrobiyal aktivite, homeostazis gibi çok çeşitli alanlarda rol oynayan elafinin, çeşitli hastalıklarda ve durumlarda doku ve serum seviyesinde değişiklikler olmaktadır.

Elgharib ve ark. yapmış olduğu çalışmada, sedef hastalarında sağlıklı kontrollere göre serum elafin seviyesinin daha fazla olduğunu göstermiştir. Yine benzer bir çalışmada sedef hastalarının siklosporinle tedavisi sonrası serum elafin seviyelerinde azalma tespit edilmiştir(50,51) Sistemik skleroz, Pemfigus vulgaris gibi bazı cilt hastalıklarında da serum elafin seviyesinin arttığı gösterilmiştir(52,53) Wang ve ark. yaptığı çalışmada akciğerlerin etkilendiği ciddi bir hastalık olan akut respiratuar distres sendromunda(ARDS), elafin ve nötrofil elastaz düzeyi arasındaki dengenin bozulması prognozun kötüleşmesiyle ilgili bulunmuştur. ARDS’de elafin düzeyinin azalmasının ve nötrofil elastaz düzeyinin artmasının APACHE II kriterleriyle birleştirilmesi durumunda prognozu tahmin etme gücü artmaktadır(54).

Deriyi, karaciğeri ve gastrointestinal sistemi etkileyen, allojenik kemik iliği naklinin başlıca komplikasyonu olan graft-versus-host hastalığında(GVHD) elafin tanısasal ve prognostik çok önemli rol oynamaktadır. Bu hastalıkta, hastalığın derecesi ve mortalite riski elafin seviyesiyle korele olduğu görülmüştür. Yine bu hastalığın özellikle deri tutulumunda yapılan deri biyopsilerinde elafinin arttığı gösterilmiştir(55) Yine benzer bir çalışmada, akut GVHD tanınmasında elafinin bir biyobelirteç olarak kullanılabilir bulmuşlardır ve bu hastaları erken tanımada elafinin yararlı olabileceği görülmüştür(56).

Elafinin kanser biyolojisiyle de ilişkisi mevcuttur. Elafinin çeşitli malinitelerde de moleküler bir biyobelirteç olabileceği görülmüştür(57). Bazı meme kanseri türünde ve over kanserinde elafinin aşırı eksprese edildiği durumlar düşük sağkalımla ilişkili bulunmuştur(58). Elafinin hepatoselüler kanserdeki(HCC) etkisini araştıran bir çalışmada da, artmış elafin ekspresyonu agresif tümör özellikleriyle ilişkili bulunmuştur. HCC’li hastalarda artmış elafin kötü prognozu göstermiştir. Yine aynı çalışmada elafinin HCC metastazını desteklediği gösterilmiştir(59). Yukarda bahsettiğimiz çalışmaların

aksine bazı çalışmalarda da elafin kanser aleyhine etkilerde bulunur. Caruso ve ark. meme kanserinde elafin ekspresyonunun retinoblastom bağımlı büyüme durmasına bu da apoptozise neden olarak hücre proliferasyonunun inhibe edilmesine yol açtığını gösterdiler(60). Bir başka çalışmada da elafin, insan melanom hücrelerinde apoptozis yoluyla hücrenin ölümünü tetiklediği gösterilmiş ancak normal melanosit hücrelerinde bu etki gösterilememiştir(61). Bu iki çalışma elafinin bazı kanserlere karşı etkisinin olduğunu gösterdi.

Doku homeostazında ve yara iyileşmesinde görev alan TG-2'nin elafin ile ilişkisi önemlidir. Elafin, TG-2'nin çapraz bağlanma aktivitesinde önemli rol alan bir substrat olarak tanımlanmıştır(7). TG-2'nin gluten peptitleriyle olan ilişkisi, Çölyak hastalığının patogeneğinde önemli bir keşiftir(62). Tridegin plazma faktör XIIIa inhibisyonu yapar ayrıca daha düşük potens ve enzim konsantrasyona bağımlı olmadan transglutaminazı inhibe etme yeteneğine sahiptir (63). Galipeau ve ark. elafini tridegin ile karşılaştırmış, elafinin TG-2'yi orta seviyede inhibisyon yaptığını bulmuşlardır. Böylece, elafin ve TG-2 etkileştiği ve elafin azalmasının mukozal hasar ile korele olduğu görülmüştür. Bu da Çölyak hastalığında mukozal hasarın patolojisini anlamamıza yardımcı olmuştur(42).

Elafin, gastrointestinal sistemi etkileyen akut veya kronik hastalıklarda da etkileriyle ön plana çıkmaktadır. Motta ve ark. farklı fare kolit modellerinde, elafinin intestinal inflamasyonu engellediğini göstermişlerdir. Böylece Ülseratif kolit ve Crohn gibi kronik inflamasyonla giden hastalıklarda elafinin terapötik kullanımı düşünülmüştür(64). Crohn ve Ülseratif kolitli hastaların intestinal mukozasında elafin ekspresyonunun azaldığı bulundu. Böylece elafinin azalması ile inflamasyonun ve kolonik elastolitik aktivitenin arttığı ilişkisi öne sürüldü(65). Başka bir çalışmada hem Crohn hem de ülseratif kolit hastalığında serum elafin seviyelerinin azaldığı saptanmıştır. Her iki hastalıkta da kolon mukozasında hastalıktan etkilenmiş alanda elafin ekspresyonunun, sağlam mukozal alanlara göre azaldığı saptanmıştır(66).

Ratlarda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı ile birlikte değerlendirilen elafin çalışmaları genellikle terapötik elafin üzerine yoğunlaşmıştır. Bizim çalışmamız ise rat

karaciğerinde sabit iskemi süresinde farklı reperfüzyon zamanlarında elafin düzeyini ölçen literatürdeki ilk çalışmadır.

Elafinin karaciğer iskemi reperfüzyonunda etkisini ve düzeyini değerlendirdiğimiz çalışmamızda; elafinin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında azaldığını tespit ettik. Kontrol grubuna göre karaciğerde iskemi yapıp reperfüze olmadan alınan serum örneklerinde(grup 2) elafinde hafif bir artış yaşandı. Ancak karaciğerde reperfüzyon süresi artınca ölçülen elafin seviyesi azaldı. Elafin seviyesinin azalması karaciğer parankimal hasarı gösteren ALT ve AST ile negatif korelasyon gösterdi. Aynı zamanda elafinin azalması oksidan kapasiteyi gösteren TOS ile de negatif korelasyon gösterdi. Elafin seviyesi azaldıkça karaciğerde hem total oksidan kapasite hem de hepatosit hasarı artıyordu.

Karaciğer iskemi reperfüzyonunda değerlendirdiğimiz karaciğer dokularının histopatolojik özelliğine bakacak olursak; reperfüzyon süresi uzadıkça hasarın arttığı gözlemlendi. Deneklerin toplamı değerlendirildiğinde; hafif karaciğer hasarı olanlar(Grade 1) ile hasar olmayanlar(Grade 0) karşılaştırıldığında; hafif karaciğer hasarı olanlarda elafin değeri düşüktü ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı. ALT, AST, TOS ve İMA/Albumin oranı hafif karaciğer hasarı olan Grade 1 deneklerde Grade 0'a göre daha yüksekti ve bu da istatistiksel olarak anlamlıydı.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda pringle manevrasıyla ratlarda oluşturduğumuz karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında, reperfüzyon süresi arttıkça elafin düzeyi azaldı. Aynı zamanda reperfüzyon süresi arttıkça hem hepatosit hasarı hem de oksidan kapasite arttı ve bu bulgular elafin düzeyi ile negatif korelasyon gösterdi. Bu nedenle, elafin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu bir görev görebilir ve karaciğer hasarını göstermede klinisyenlere yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Lu, T. F., Yang, T. H., Zhong, C. P., Shen, C., Lin, W. W., Gu, G. X., ... & Xu, N. (2018). Dual effect of hepatic macrophages on liver ischemia and reperfusion injury during liver transplantation. *Immune network*, 18(3).
2. Nastos, C., Kalimeris, K., Papoutsidakis, N., Tasoulis, M. K., Lykoudis, P. M., Theodoraki, K., ... & Arkadopoulos, N. (2014). Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
3. Aragno, M., Cutrin, J. C., Mastrocola, R., Perrelli, M. G., Restivo, F., Poli, G., ... & Boccuzzi, G. (2003). Oxidative stress and kidney dysfunction due to ischemia/reperfusion in rat: attenuation by dehydroepiandrosterone. *Kidney international*, 64(3), 836-843.
4. Jaeschke, H., & Woolbright, B. L. (2012). Current strategies to minimize hepatic ischemia–reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. *Transplantation reviews*, 26(2), 103-114.
5. Siriussawakul, A., Zaky, A., & Lang, J. D. (2010). Role of nitric oxide in hepatic ischemia–reperfusion injury. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(48), 6079.
6. Ho, S. C., Lee, K. Y., Chan, Y. F., Kuo, L. W., Ito, K., Adcock, I. M., ... & Kuo, H. P. (2009). Neutrophil elastase represses IL-8/CXCL8 synthesis in human airway smooth muscle cells through induction of NF-κB repressing factor. *The Journal of Immunology*, 183(1), 411-420.,
7. Baranger, K., Zani, M. L., Labas, V., Dallet-Choisy, S., & Moreau, T. (2011). Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) is, like its homologue trappin-2 (pre-elafin), a transglutaminase substrate. *PloS one*, 6(6), e20976.
8. Abbasoğlu, O. (2019). Karaciğer, Safra Yolları ve Pankreas Cerrahisi. Ankara: Dünya Tıp Kitabevi. s:(3-13)
9. Brunicaudi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, et al. Schwartz's Principles of Surgery, 11th edition: McGraw-Hill Education; 2019.
10. Pringle, J. H. (1908). V. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Annals of surgery*, 48(4), 541.
11. van Gulik, T. M., de Graaf, W., Dinant, S., Busch, O. R., & Gouma, D. J. (2007). Vascular occlusion techniques during liver resection. *Digestive surgery*, 24(4), 274-281.
12. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2017.
13. Hardy, K. J., Tancheroen, S., & Shulkes, A. (1995). Comparison of continuous versus intermittent ischaemia-reperfusion during liver resection in an experimental model. *British journal of surgery*, 82(6), 833-836.

14. Lee, S. H., Culbertson, C., Korneszczyk, K., & Clemens, M. G. (2008). Differential mechanisms of hepatic vascular dysregulation with mild vs. moderate ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 294(5), G1219-G1226
15. Zhai, Y., Petrowsky, H., Hong, J. C., Busuttil, R. W., & Kupiec-Weglinski, J. W. (2013). Ischaemia–reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 10(2), 79-89.
16. Kanoria, S., Glantzounis, G., Quaglia, A., Dinesh, S., Fusai, G., Davidson, B. R., & Seifalian, A. M. (2012). Remote preconditioning improves hepatic oxygenation after ischaemia reperfusion injury. *Transplant International*, 25(7), 783-791.
17. Abu-Amara, M., Yang, S. Y., Tapuria, N., Fuller, B., Davidson, B., & Seifalian, A. (2010). Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review. *Liver Transplantation*, 16(9), 1016-1032.
18. Sastre, J., Serviddio, G., Pereda, J., Minana, J. B., Arduini, A., Vendemiale, G., ... & Vina, J. (2007). Mitochondrial function in liver disease. *Front Biosci*, 12(12), 1200-1209.
19. Caraceni, P., Domenicali, M., Vendemiale, G., Grattagliano, I., Pertosa, A., Nardo, B., ... & Bernardi, M. (2005). The reduced tolerance of rat fatty liver to ischemia reperfusion is associated with mitochondrial oxidative injury¹. *Journal of Surgical Research*, 124(2), 160-168.
20. Tapuria, N., Kumar, Y., Habib, M. M., Amara, M. A., Seifalian, A. M., & Davidson, B. R. (2008). Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury—a review. *Journal of Surgical Research*, 150(2), 304-330.
21. Wang, H. G., Pathan, N., Ethell, I. M., Krajewski, S., Yamaguchi, Y., Shibasaki, F., ... & Reed, J. C. (1999). Ca²⁺-induced apoptosis through calcineurin dephosphorylation of BAD. *Science*, 284(5412), 339-343.
22. Kuboki, S., Shin, T., Huber, N., Eismann, T., Galloway, E., Schuster, R., ... & Lentsch, A. B. (2008). Hepatocyte signaling through CXC chemokine receptor-2 is detrimental to liver recovery after ischemia/reperfusion in mice. *Hepatology*, 48(4), 1213-1223.
23. Toledo-Pereyra LH. Organ Preservation for Transplantation. 3rd ed. Austin, TX: Landes Bioscience; 2010.
24. Jaeschke, H. A. R. T. M. U. T., & Farhood, A. N. W. A. R. (1991). Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 260(3), G355-G362.
25. Hasegawa, T., Malle, E., Farhood, A., & Jaeschke, H. (2005). Generation of hypochlorite-modified proteins by neutrophils during ischemia-reperfusion injury in rat liver: attenuation by ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 289(4), G760-G767.

26. Gujral, J. S., Bucci, T. J., Farhood, A., & Jaeschke, H. (2001). Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis?. *Hepatology*, 33(2), 397-405.
27. Collard, C. D., & Gelman, S. (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 94(6), 1133-1138.
28. Hochstrasser K, Albrecht GJ, Schonberger OL, Rasche B, Lempart K. An elastasespecific inhibitor from human bronchial mucus. Isolation and characterization. *BiolChem Hoppe-Seyler*.1981;362(10):1369-75.
29. Schalkwijk J, Chang A, Janssen P, De Jongh GJ, Mier PD. Skin-derived antileucoproteases (SKALPs): characterization of two new elastase inhibitors from psoriatic epidermis. *Br J Dermatol*. 1990;122(5):631-41.
30. Wiedow O, Schroder JM, Gregory H, Young JA, Christophers E. Elafin: an elastasespecific inhibitor of human skin. Purification, characterization, and complete amino acid sequence. *J Biol Chem*. 1990;265(25):14791-5.
31. Guyot N, Zani M-L, Berger P, Dallet-Choisy S, Moreau T. Proteolytic susceptibility of the serine protease inhibitor trappin-2 (pre-elafin): evidence for tryptase-mediated generation of elafin. *Biol Chem*. 2005;386(4):391-9.
32. Shaw, L., & Wiedow, O. (2011). Therapeutic potential of human elafin. *Biochemical Society transactions*, 39(5), 1450-1454.
33. Williams SE, Brown TI, Roghanian A, Sallenave J-M. SLPI and elafin: one glove, many fingers. *Clin Sci*. 2006;110(1):21-35.
34. Marischen L, Wesch D, Schroder J-M, Wiedow O, Kabelitz D. Human gammadelta T cells produce the protease inhibitor and antimicrobial peptide elafin. *Scand J Immunol*. 2009;70(6):547-52.
35. Butler, M. W., Robertson, I., Greene, C. M., O'Neill, S. J., Taggart, C. C., & McElvaney, N. G. (2006). Elafin prevents lipopolysaccharide-induced AP-1 and NF- κ B activation via an effect on the ubiquitin-proteasome pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 281(46), 34730-34735.
36. Roghanian A, Williams SE, Sheldrake TA, Brown TI, Oberheim K, Xing Z, et al. The antimicrobial/elastase inhibitor elafin regulates lung dendritic cells and adaptive immunity. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 2006;34:634-42.
37. Novick D, Rubinstein M, Azam T, Rabinkov A, Dinarello CA, Kim SH. Proteinase 3 is an IL-32 binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006;103:3316-21.
38. Simpson, A. J., Wallace, W. A., Marsden, M. E., Govan, J. R., Porteous, D. J., Haslett, C., & Sallenave, J. M. (2001). Adenoviral augmentation of elafin protects the lung against acute injury mediated by activated neutrophils and bacterial infection. *The Journal of Immunology*, 167(3), 1778-1786.

39. Wilkinson, T. S., Dhaliwal, K., Hamilton, T. W., Lipka, A. F., Farrell, L., Davidson, D. J., ... & Simpson, A. J. (2009). Trappin-2 promotes early clearance of *Pseudomonas aeruginosa* through CD14-dependent macrophage activation and neutrophil recruitment. *The American journal of pathology*, 174(4), 1338-1346.
40. Baranger, K., Zani, M. L., Chandenier, J., Dallet-Choisy, S., & Moreau, T. (2008). The antibacterial and antifungal properties of trappin-2 (pre-elafin) do not depend on its protease inhibitory function. *The FEBS journal*, 275(9), 2008-2020.
41. Drannik, A. G., Nag, K., Yao, X. D., Henrick, B. M., Jain, S., Ball, T. B., ... & Rosenthal, K. L. (2012). Anti-HIV-1 activity of elafin is more potent than its precursor's, trappin-2, in genital epithelial cells. *Journal of virology*, 86(8), 4599-4610.
42. Galipeau, H. J., Wiepjes, M., Motta, J. P., Schulz, J. D., Jury, J., Natividad, J. M., ... & Verdu, E. F. (2014). Novel role of the serine protease inhibitor elafin in gluten-related disorders. *The American journal of gastroenterology*, 109(5), 748.
43. Sözen, S., Kisakürek, M., Yildiz, F., Gönültaş, M., & Dinçel, A. S. (2011). The effects of glutamine on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Hippokratia*, 15(2), 161.
44. Tapuria, N., Junnarkar, S., Abu-Amara, M., Fuller, B., Seifalian, A. M., & Davidson, B. R. (2012). Modulation of microcirculatory changes in the late phase of hepatic ischaemia–reperfusion injury by remote ischaemic preconditioning. *HPB*, 14(2), 87-97.
45. Yin, M., Liu, X., Chen, X., Li, C., Qin, W., Han, H., ... & Wang, H. (2017). Ischemia-modified albumin is a predictor of short-term mortality in patients with severe sepsis. *Journal of Critical Care*, 37, 7-12.
46. Gaze, D. C. (2009). Ischemia modified albumin: a novel biomarker for the detection of cardiac ischemia. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 24(4), 333-341.
47. Lentsch, A. B., Yoshidome, H., Warner, R. L., Ward, P. A., & Edwards, M. J. (1999). Secretory leukocyte protease inhibitor in mice regulates local and remote organ inflammatory injury induced by hepatic ischemia/reperfusion. *Gastroenterology*, 117(4), 953-961.
48. Cowan, B., Baron, O., Crack, J., Coulber, C., Wilson, G. J., & Rabinovitch, M. (1996). Elafin, a serine elastase inhibitor, attenuates post-cardiac transplant coronary arteriopathy and reduces myocardial necrosis in rabbits after heterotopic cardiac transplantation. *The Journal of clinical investigation*, 97(11), 2452-2468.
49. Tiefenbacher, C. P., Ebert, M., Niroomand, F., Batkai, S., Tillmanns, H., Zimmermann, R., & Kübler, W. (1997). Inhibition of elastase improves myocardial function after repetitive ischaemia and myocardial infarction in the rat heart. *Pflügers Archiv*, 433(5), 563-570.
50. Elgharib, I., Khashaba, S. A., Elsaid, H. H., & Sharaf, M. M. (2019). Serum elafin as a potential inflammatory marker in psoriasis. *International Journal of Dermatology*, 58(2), 205-209.

51. Alkemade, H. A., De Jongh, G. J., Arnold, W. P., van de Kerkhof, P. C., & Schalkwijk, J. (1995). Levels of skin-derived antileukoproteinase (SKALP)/elafin in serum correlate with disease activity during treatment of severe psoriasis with cyclosporin A. *Journal of investigative dermatology*, 104(2), 189-193.
52. Olewicz-Gawlik, A., Trzybulska, D., Graniczna, K., Kuznar-Kaminska, B., Katulska, K., Batura-Gabryel, H., ... & Mozer-Lisewska, I. (2017). Serum alarm antiproteases in systemic sclerosis patients. *Human Immunology*, 78(9), 559-564.
53. Aya, B. Y., Rofaida, S. R., Alaa, A. E. S., Amira, K. A., Fatma, A. E. S., & Ahmed, G. S. (2022). Trappin-2/Elafin and Clusterin serum levels in pemphigus vulgaris and correlation with the severity score: a case-control study. *Egyptian Journal of Dermatology and Venerology*, 42(1), 53.
54. Wang, T., Zhu, Z., Liu, Z., Yi, L., Yang, Z., Bian, W., ... & Zhu, X. (2017). Plasma neutrophil elastase and elafin as prognostic biomarker for acute respiratory distress syndrome: a multicenter survival and longitudinal prospective observation study. *Shock: Injury, Inflammation, and Sepsis: Laboratory and Clinical Approaches*, 48(2), 168-174.
55. Paczesny, S., Braun, T. M., Levine, J. E., Hogan, J., Crawford, J., Coffing, B., ... & Ferrara, J. L. (2010). Elafin is a biomarker of graft-versus-host disease of the skin. *Science translational medicine*, 2(13), 13ra2-13ra2.
56. Solán, L., Carbonell, D., Muñiz, P., Dorado, N., Landete, E., Chicano-Lavilla, M., ... & Buño, I. (2021). Elafin as a predictive biomarker of acute skin graft-versus-host disease after haploidentical stem cell transplantation using post-transplant high-dose cyclophosphamide. *Frontiers in Immunology*, 12, 1.
57. Bouchard, D., Morisset, D., Bourbonnais, Y., & Tremblay, G. M. (2006). Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *The lancet oncology*, 7(2), 167-174.
58. Labidi-Galy, S. I., Clauss, A., Ng, V., Duraisamy, S., Elias, K. M., Piao, H. Y., ... & Drapkin, R. (2015). Elafin drives poor outcome in high-grade serous ovarian cancers and basal-like breast tumors. *Oncogene*, 34(3), 373-383.
59. Labidi-Galy, S. I., Clauss, A., Ng, V., Duraisamy, S., Elias, K. M., Piao, H. Y., ... & Drapkin, R. (2015). Elafin drives poor outcome in high-grade serous ovarian cancers and basal-like breast tumors. *Oncogene*, 34(3), 373-383.
60. Caruso, J. A., Hunt, K. K., & Keyomarsi, K. (2010). The neutrophil elastase inhibitor elafin triggers rb-mediated growth arrest and caspase-dependent apoptosis in breast cancer. *Cancer research*, 70(18), 7125-7136.
61. Yu, KS, Lee, Y., Kim, CM, Park, EC, Choi, J., Lim, DS, ... & Koh, SS (2010). Proteaz inhibitörü elafin, insan melanom hücrelerinde p53'e bağlı apoptozu indükler. *Uluslararası kanser dergisi* , 127 (6), 1308-1320.

62. Molberg, Ø., Mcadam, S. N., Körner, R., Quarsten, H., Kristiansen, C., Madsen, L., ... & Sollid, L. M. (1998). Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nature medicine*, 4(6), 713-717.
63. FINNEY, S., SEALE, L., SAWYER, R. T., & WALLIS, R. B. (1997). Tridegin, a new peptidic inhibitor of factor XIIIa, from the blood-sucking leech *Haementeria ghilianii*. *Biochemical Journal*, 324(3), 797-805.
64. Motta, J. P., Magne, L., Descamps, D., Rolland, C., Squarizoni-Dale, C., Rousset, P., ... & Sallenave, J. M. (2011). Modifying the protease, antiprotease pattern by elafin overexpression protects mice from colitis. *Gastroenterology*, 140(4), 1272-1282.
65. Motta, J. P., Bermúdez-Humarán, L. G., Deraison, C., Martin, L., Rolland, C., Rousset, P., ... & Vergnolle, N. (2012). Food-grade bacteria expressing elafin protect against inflammation and restore colon homeostasis. *Science translational medicine*, 4(158), 158ra144-158ra144.
66. Zhang, W., Teng, G., Wu, T., Tian, Y., & Wang, H. (2017). Expression and clinical significance of elafin in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*, 23(12), 2134-2