



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



SIÇANLARDA OLUŞTURULAN HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI MODELİNDE GERANİOLÜN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Emre TUNÇ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali Vedat DURGUN

İSTANBUL - 2021

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

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN HEPATİK İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI MODELİNDE
GERANİOLÜN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Emre TUNÇ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali Vedat DURGUN

İSTANBUL – 2021

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bana her konuda destek olan ve yardımlarını esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mehmet Faik Özçelik ve önceki Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ertuğrul Göksoy olmak üzere, bütün Anabilim Dalı öğretim üyelerine;

Tez çalışmamın planlanması ve sürdürülmesinde her aşamada bana rehberlik eden ve benden hiçbir desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ali Vedat Durgun'a;

Uzmanlık tezimin deneysel aşamalarında bilgi, tecrübe ve sabırlarıyla yol gösteren Prof. Dr. İbrahim Murat Bolayırılı'ya ve Uzm. Dr. Nuray Kepil'e;

Zor bir sanat olan cerrahi sanatını birlikte öğrendiğim, stresi ve heyecanı birlikte paylaştığım uzman, asistan ve tüm sağlık çalışanı arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim, daima bana güvenen ve bugünlere gelmemi sağlayan kıymetli annem Aynur Tunç, babam Erol Tunç ve kardeşim Selinay Tunç'a;

Bana her zaman destek olan, zor zamanlarımda hep varlığını hissettiren, sıkıntılarıma katlanan ve büyük özveride bulunan sevgili eşim Çiğdem Tunç'a fedakârlığı, anlayışı ve sabrı için sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Emre Tunç

İÇİNDEKİLER

SİMGE VE KISALTMALAR	i
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ETİK KURUL ONAYI.....	v
DESTEK BİRİMİ	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer anatomisi.....	3
2.1.1. Sıçan Karaciğerinin Anatomisi	6
2.2. Karaciğerin Histolojisi	6
2.3. Karaciğerin Fizyolojisi	9
2.4. Pringle Manevrası.....	10
2.5. İskemi/Reperfüzyon Hasarı	11
2.6. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı	13
2.6.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarına Erken Dönem Yanıt	14
2.6.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarına Geç Dönem Yanıt.....	15
2.7. Antioksidan savunma mekanizmaları	16
2.7.1. Enzimatik antioksidanlar.....	17
2.7.2. Non- enzimatik antioksidanlar	19
2.8. Geraniol	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ	47
7. KAYNAKLAR	48
8. ÖZGEÇMİŞ	59
9. İNTİHAL DEĞERLENDİRME RAPORU	61

SİMGE VE KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotransferaz
AMP	: Adenozin monofosfat
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DAMP	: Hasar ilişkili moleküler patern
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELİSA	: Enzimatik İmmünassay
ER	: Endoplazmik retikulum
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HADYEK	: Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
HbA1c	: Hemoglobin A1c
HE	: Hemotoksilen eozin
HMGB-1	: High Mobility Group Box-1
HOCl	: Hipokloröz asit
i.m.	: İntramusküler
I/R	: İskemi/ Reperfüzyon
ICAM	: İntraselüler adezyon molekülü
IFN-γ	: Interferon gamma
IL	: İnterlökin
K	: Potasyum

KD	: Ksantin dehidrogenaz
kg	: Kilogram
KO	: Ksantin oksidaz
l.	: Litre
Lig.	: Ligament
MAX	: Maksimum
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
MIN	: Minimum
ml	: Mililitre
MPO	: Miyeloperoksidaz
Na	: Sodyum
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF-κB	: Nükleer Faktör kappa B
ng	: Nanogram
O₂⁻	: Süperoksit anyonu
OH⁻	: Hidroksil radikali
ORT	: Ortalama
PAMP	: Patojen ilişkili moleküler patern
pg	: Pikogram
ROOH	: Hidroperoksit
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
SS	: Standart sapma
TLR	: Toll like reseptör
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü- alfa
TrxR	: Tioredoksin redüktaz
U.	: Ünite
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
VKİ	: Vena kava inferior
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Karaciğerin segmental anatomisi	4
Şekil 2: Karaciğer kanlanması şematik çizimi	4
Şekil 3: Sıçan karaciğeri segmental anatomisi	6
Şekil 4: Karaciğer lobül yapısının şematik çizimi	7
Şekil 5: Karaciğer asinüs yapısının şematik çizimi	8
Şekil 6: Pringle manevrasının şematik çizimi	11
Şekil 7: Enzimatik ve non-enzimatik antioksidan moleküller [46]	17
Şekil 8: Geraniol (3,7-Dimetilocta-2,6-dien-1-ol) Molekülünün Yapısı.....	20
Şekil 9: Deney masasında anestezi altındaki denek ve deney düzeneği.....	25
Şekil 10: Hepatik pedikülün klemplenmesi.....	26
Şekil 11: Serum ALT düzeyinin gruplara göre dağılımı	29
Şekil 12: Serum AST düzeyinin gruplara göre dağılımı	30
Şekil 13: Serum Laktik asit düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	31
Şekil 14: Serum TNF- α düzeyinin gruplara göre dağılımı	32
Şekil 15: Karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	33
Şekil 16: Karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	34
Şekil 17: Karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı.....	35
Şekil 18: Suzuki parametrelerinin ve skorunun gruplara göre dağılımı	36
Şekil 19: Kontrol grubunda histopatolojik incelemede normal karaciğer parankimi (HE, X200).....	38
Şekil 20: I/R grubunda portal ven ve santral vende konjesyon (HE, X40)	38
Şekil 21: I/R grubunda perisantral hepatositlerde vakuolizasyon (HE, X200)	39
Şekil 22: 100 mg/kg geraniol + I/R grubunda normal subkapsüler karaciğer parankimi (HE, X200).....	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Deney grupları	23
Tablo 2: Çalışmada ölçülen biyokimyasal parametrelerin dağılımı.....	28
Tablo 3: Çalışmada ölçülen biyokimyasal parametrelerin ve Suzuki skorlarının gruplara göre dağılımı	28
Tablo 4: Serum ALT düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)	29
Tablo 5: Serum AST düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)	30
Tablo 6: Serum Laktik asit düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)	31
Tablo 7: Serum TNF- α düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)	32
Tablo 8: Karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis Testi)	33
Tablo 9: Karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis Testi)	34
Tablo 10: Karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis Testi)	35
Tablo 11: Suzuki parametrelerinin ve skorunun gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis testi)	36

ETİK KURUL ONAYI

Tarih ve Sayı: 10/12/2020-253785



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı



Sayı :35980450-050.01.99-
Konu :Prof. Dr. Ali Vedat DURGUN'a ait
Etik Kurul Onayı Hk.

Sayın Prof. Dr. Ali Vedat DURGUN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı

İlgi :22/10/2020 tarihli, 57885 sayılı yazı

Sorumluluğunu üstlendiğiniz **Emre TUNÇ**'a ait "Sıçanlarda Oluşturulan Hepatik İskemi Reperfüzyon Hasarı Modelinde Geraniol'ün Etkisi" başlıklı projeniz Kurulumuzun 30.10.2020 tarihli toplantısında görüşülmüş olup, 2020/30 no'lu Etik Kurul Onayı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Ufuk KOLAK
Başkan

EK :
Etik Kurul Onayı

DESTEK BİRİMİ

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi BAP desteği ile gerçekleştirilmiştir.

(BAP, 2021-35581)



ÖZET

Sıçanlarda Oluşturulan Hepatik İskemi Reperfüzyon Hasarı Modelinde Geraniolün Etkisi

GİRİŞ: Hepatik iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı; karaciğer rezeksiyonları, travma, şok gibi durumlarda gelişebilen önemli bir klinik durumdur. Geraniol; doğada yaygın bulunan ve antioksidan, hepatoprotektif özellikleri gösterilmiş izoterpen grubu bir moleküldür.

AMAÇ: Sıçanlarda deneysel karaciğer I/R hasarı oluşturarak, geraniolün hasara etkisini araştırmayı amaçladık .

YÖNTEM VE GEREÇ: 350-400 gr ağırlığında, 28 adet Wistar Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol grubu, I/R grubu, 50 mg/kg geraniol+ I/R grubu ve 100 mg/kg geraniol+ I/R grubu olarak 4' e ayrıldı. İskemi süreleri 15 dk, reperfüzyon süreleri 20 dk olarak belirlendi. İskemiye geraniol uygulamasının 15. dk'sında başlandı. Serumlardan ALT, AST, TNF- α laktik asit düzeyleri ölçüldü. Karaciğer dokularından SOD, CAT ve GPx aktivite düzeyleri ölçüldü. Karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi.

BULGULAR: Geraniol molekülünün intraperitoneal olarak 50 mg/kg ve 100 mg/kg uygulanmasının, AST, laktik asit ve TNF- α düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür. Serum ALT düzeyinin ise 50 mg/kg uygulanan grupta anlamlı şekilde azaldığı gösterilmesine rağmen, 100 mg/kg uygulanan grupta olan azalmada anlamlılık saptanmamıştır. SOD ve GPx enzim aktivitelerinin 100 mg/kg grubunda anlamlı şekilde arttığı gösterilmiş, ancak 50 mg/kg grubunda enzim düzeylerinde artış olmasına rağmen anlamlılık saptanmamıştır. Yine CAT enzim aktivitesinin 50 mg/kg ve 100 mg/kg gruplarında artmış olduğu gösterilmesine rağmen, artış anlamlı

bulunmamıştır. Suzuki skorunun, 50 mg/kg ve 100 mg/kg grubunda anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır.

SONUÇ: Çalışmada geraniol molekülünün, hepatik hasarı biyokimyasal ve histopatolojik olarak azalttığı ve antioksidan savunma enzimlerini arttırdığı gösterilmiş, böylece yapılacak geniş merkezli, kapsamlı çalışmalarla desteklenirse hepatik I/R hasarını engellemede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Geraniol, Karaciğer, İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Oksidatif Stres



ABSTRACT

The Role of Geraniol on Hepatic Ischemia Reperfusion Injury Model in Rats

INTRODUCTION: Hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury; It is an important clinical condition that can develop in cases such as liver resections, trauma, shock. Geraniol; is an isoterpene group molecule that is common in nature and has antioxidant and hepatoprotective properties.

Aim: We aimed to investigate the effect of geraniol on damage by inducing experimental liver I/R injury in rats.

METHODS: Twenty-eight male Wistar Albino rats weighing 350-400 g were used. The rats were divided into 4 groups as control group, I/R group, 50 mg/kg geraniol+ I/R group and 100 mg/kg geraniol+ I/R group. Ischemia times were determined as 15 minutes and reperfusion times as 20 minutes. Ischemia was started at the 15th minute of geraniol administration. ALT, AST, TNF- α lactic acid levels were measured in the serums. SOD, CAT and GPx activity levels were measured from liver tissues. Liver tissues were examined histopathologically.

RESULTS: It was observed that intraperitoneal administration of 50 mg/kg and 100 mg/kg geraniol molecule significantly reduced AST, lactic acid and TNF- α levels. Although it was shown that serum ALT level decreased significantly in the group administered 50 mg/kg, no significant decrease was found in the group administered 100 mg/kg. SOD and GPx enzyme activities were shown to increase significantly in the 100 mg / kg group, but no significance was found in the 50 mg / kg group, although there was an increase in enzyme levels. Although it was shown that the CAT enzyme activity increased in the 50 mg/kg and 100 mg/kg groups, the increase was not found to be significant. Suzuki score was found to be significantly decreased in the 50 mg/kg and 100 mg/kg groups.

CONCLUSION: In the study, it was shown that the geraniol molecule reduced hepatic damage biochemically and histopathologically and increased antioxidant defense enzymes, so it was concluded that it could be used to prevent hepatic I/R damage if supported by large-centered and comprehensive studies.

KEYWORDS: Geraniol, Liver, Ischemia/Reperfusion Injury, Oxidative Stress



1. GİRİŞ

Hücrel hasar oluşum mekanizmaları içerisinde klinik olarak en sık karşılaşılan sebep olan iskemi; dolaşımın çeşitli etkenlere bağlı tam olarak kesilmesi veya kısmi olarak kesintiye uğramasıyla hücrelerin, dokuların ve organların ihtiyacı olan oksijen ve metabolitleri alamaması, hücre içerisinde metabolizma ile oluşan atık maddeleri de hücreden uzaklaştıramaması olarak tanımlanır [1].

Reperfüzyon ise iskemi sonrasında dokuya mekanik veya medikal yollarla kan akımının yeniden sağlanmasıdır. Reperfüzyon sonrası iskemik dokuya oksijen sağlanmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri (SOR) immünolojik, vasküler ve metabolik olayları aktive ederek reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır.

İnsan vücudunda oksidan denge, metabolizma ile sürekli oluşturulan SOR ile bu radikallerin zararlı etkilerinin ortaya çıkmasını engellemeye yönelik nötralizasyon basamaklarını içeren karmaşık süreçler sonucunda sağlanır. Oksidatif stresi engellemeye yönelik ajanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve tiyoredoksin redüktaz (TrxR) gibi enzimleri içeren enzimatik antioksidanlar ve bazı vitaminler (Vitamin A,C,E), mineraller (Selenyum, Çinko), ürik asit, β -karoten, bilirubin, melatonin, glutatyon, flavonoidler, terpenler gibi molekülleri içeren non-enzimatik antioksidanlardan oluşurlar [2,3].

Tıbbi pratikte birçok klinik durumda iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı oluşabilmekte, yapılan çalışmalarda bu hasarın önlenmesine yönelik birçok farmakolojik ajan ve cerrahi teknik kullanılmaktadır [4,5]. Miyokard enfarktüsü, iskemik serebrovasküler olay, mezenterik vasküler tıkanıklıklar gibi vasküler temelli olaylarla iskemi gelişmekte, sonrasında trombolitik tedavi ile dokuların reperfüzyonu I/R hasarı oluşturabilmektedir. Yine yanık, ileus, şok gibi klinik senaryolarda hipovolemiye bağlı dokuların perfüzyonu bozularak iskemi gelişmekte, resusitasyon sonrası reperfüze olan dokular I/R hasarı oluşturmaktadır. Travmalarda gelişen hipovolemi durumu veya travmada kanamanın durdurulmasına yönelik acil olarak

yapılan klempaj, kardiyovasküler cerrahide damarların planlı klempajı, I/R hasarı gelişmesine neden olabilmektedir.

Hepatik I/R hasarı, anlaşılması için erken evre yanıt ve geç evre yanıt olmak üzere iki aşamada incelenen, Kupffer hücreleri, dendritik hücreler, CD4 T lenfositler gibi hücrelerin ve IL-1, IL-6, TNF- α , ICAM-1, VCAM-1 gibi sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin rol oynadığı karmaşık metabolik süreçlerle oluşan önemli bir klinik antitedir [6].

Geraniol; antioksidan, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antitümöral, antimikrobiyal etkileri gösterilmiş, non-enzimatik antioksidanlar grubunda olan izoterpen türü bir alkaloiddir [7]. Geraniol bu etkilerini; glutatyonun artmasını sağlaması, lipid peroksidasyonunu azaltması, NF- κ B ve COX-2 inhibisyonu yapması, IL-10 aktivitesini arttırması gibi birçok farklı mekanizma ile oluşturmaktadır [7].

Çalışmamızda, sıçanlarda deneysel hepatik I/R hasarı oluşturulması öncesinde intraperitoneal yolla verilecek antioksidan, hepatoprotektif geraniol molekülünün iki farklı dozunun, hepatik I/R hasarını engelleme potansiyelini biyokimyasal ve histolojik parametrelerle incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer anatomisi

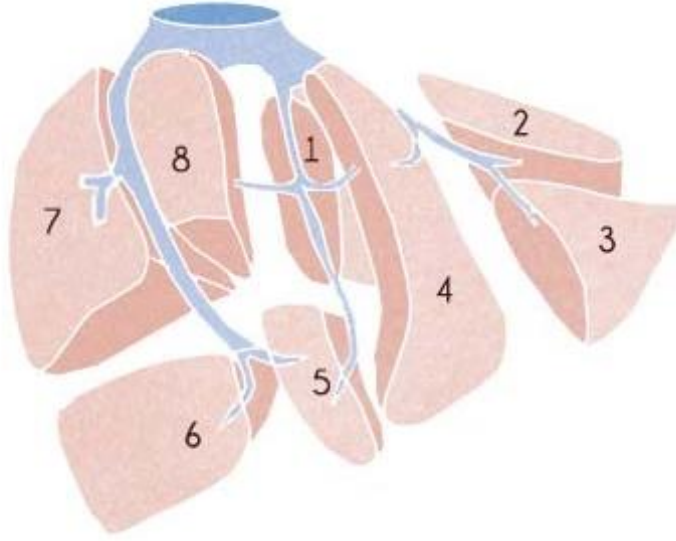
Karaciğer insan vücudundaki en büyük parankimal organ olup ağırlığı erişkinlerde ortalama 1200-1600 gramdır. Karaciğerin büyük bir bölümü sağ hipokondrium ve sağ lomber bölgede bulunmakta, bir kısmı ise midenin ön yüzü ile diyafragmanın orta ve sol kısımları arasına kama şeklinde uzanmaktadır [8].

Karaciğerin sagittal düzlemde; parietal tarafını oluşturan antero-superior ve posterior yüzeyi, visseral tarafını oluşturan inferior yüzeyi olmak üzere toplam üç yüzeyi bulunmaktadır. Karaciğerin antero-superior yüzeyi; üstte diyafragma kubbesi, perikard, plevra ve akciğer alt yüzleri, önde ise sağ 5. kosta ve 10. kosta ile ilişkilidir. Karaciğerin posterior yüzeyi; diyafragmanın vertikal bölümü, retrohepatik V. Cava Inferior (VKİ), sağ adrenal bez, sağ böbreğin üst polü ve T10-11. vertebraların gövdeleriyle komşudur. Karaciğerin inferior yüzeyi ise distal özofagus, mide, duodenumun birinci ve ikinci bölümleri, pankreas başı ve pankreas boynunun proksimal bölümü, koledok, portal ven, arteria hepatica propria, safra kesesi, kolonun sağ fleksurası, sağ böbrek, VKİ ve kısmen sağ adrenal bez ile komşudur [9].

Karaciğerin karın içerisinde sabitlenmesinde lig. falciforme hepatis, lig. coronarium, lig. hepatorenale, lig. triangulare dextrum ve sinistrum lig. teres hepatis gibi bağların yanı sıra oluşan negatif hava basıncı, karaciğerin vasküler yapılarının asıcı özelliği ve karın kaslarının tonusu da rol oynar [10].

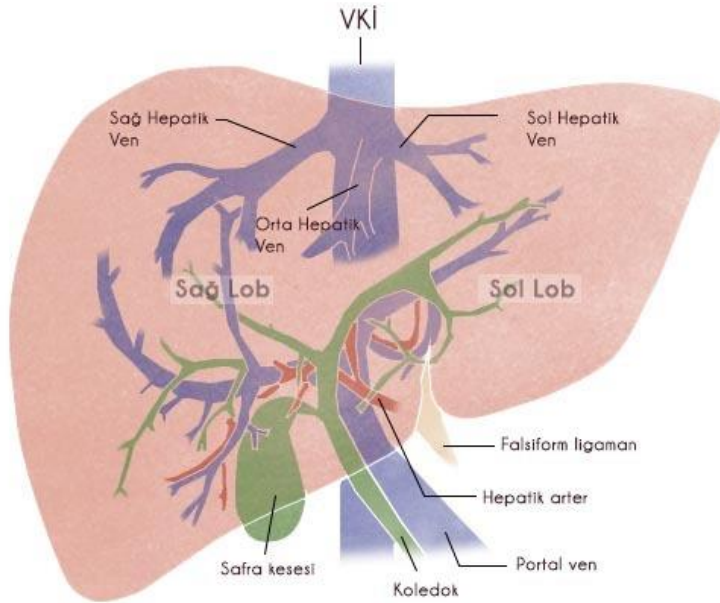
Karaciğerin işlevsel olarak lob ve segmentlere ayrılmasında günümüzde en çok kabul gören model Couinaud'un önerdiği bölümlenmedir [9]. Couinaud'un hepatik venler ve portal venlerin dağılımına göre önerdiği bölümlenme ile karaciğer sektör ve segmentlere ayrılmaktadır. Hepatik venleri içeren üç portal fissür tarafından karaciğer; sağ paramedian, sağ lateral, sol paramedian ve sol lateral sektörlerle ayrılmaktadır. Bu sektörler de hepatik fissürler ile sekiz segmente bölünmektedir. (Şekil 1) Bu sekiz segment saat yönünde dizilmiş olup segment 2 sol lateral sektörü, segment 3 ve 4 sol paramedian sektörü, segment 6 ve 7 sağ lateral sektörü, segment 5 ve 8 ise sağ

paramedian sektörü oluşturmaktadır. Kaudat lob ise segment 1'i oluşturmaktadır [11,12].



Şekil 1: Karaciğerin segmental anatomisi

Karaciğerin kanlanmasının %75'i portal ven, %25'i ise hepatik arter yoluyla olur. Karaciğerin oksijenasyonunun ise yaklaşık %50-70'ini portal ven, %30-50'sini ise hepatik arter sağlar [8]. (Şekil 2)



Şekil 2: Karaciğer kanlanmasının şematik çizimi

Trunkus çölyakus; diyafragmadaki aortik açıklığın hemen altında aorttan çıkarak splenik arter, sol gastrik arter ve ortak hepatik arter olmak üzere üç dal verir.

Ortak hepatik arter pankreasın üst sınırı boyunca sağa doğru ilerler ve omentum minusun sağ tarafından hepatik hiluma doğru uzanır. Hepatik hilum seviyesinde, portal venin önünde ve ana safra kanalının solunda yer alır. Gastroduodenal arter dalını verdikten sonra, hepatica propria adını alarak sağ ve sol hepatik arteri oluşturacak şekilde ikiye ayrılır. Karaciğerin arteriyel dallanması çeşitli varyasyonlar göstermekle birlikte tariflenen arteriyel dallanma en sık gözlenen model olup, erişkinlerin ancak %60'ında bulunmaktadır [8].

Portal ven; superior mezenterik ven ve splenik venin, pankreas boynu arkasında birleşmesiyle oluşan, 7-10 cm uzunluğunda, 0.8-1.4 cm çapında venöz yapıdır. Kapak sisteminin bulunmaması basıncının her dalından ölçülmesini sağlar. Normal erişkinlerde portal ven basıncı ortalama 5-10 mmHg (7-10 cm H₂O)'dir [11]. Portal ven, arteria hepatica propria ile birlikte hepatoduodenal ligaman içerisinde karaciğere girerek mide, pankreas, dalak, ince barsaklar ve kolonun büyük kısmının venöz kan akımının, sistemik dolaşım öncesinde ilk olarak karaciğerden geçmesini sağlamaktadır [13].

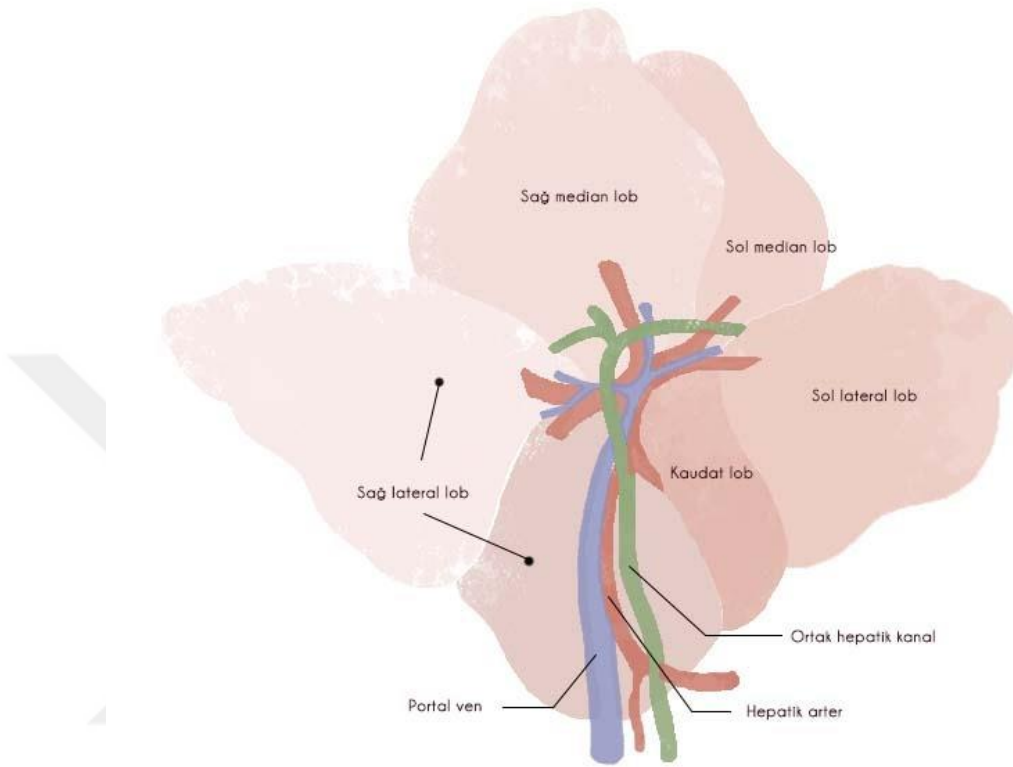
Üç ana hepatik ven, karaciğerin supero-posterior yüzeyinden seyreterek karaciğerin kanının vena cava inferiora drenajını sağlar. Sağ hepatik ven, sağ karaciğer lobu anterior ve posterior sektörleri arasında bulunan sağ fissürde ilerleyerek segment 5-8'i, sol hepatik ven segment 2 ve 3'ün arasında bulunan sol fissürden geçerek segment 2 ve segment 3'ü, orta hepatik ven ise segment 5 ve segment 8'i içeren sağ karaciğer anterior sektörü ve segment 4'ün arasındaki portal fissürde uzanarak segment 4, segment 5 ve kısmen segment 8'i drene eder. Segment 1 ile sağ posterior sektöre ait bazı venöz dallar, doğrudan VKİ'a drene olur [8].

Karaciğerin sempatik innervasyonu, T7-T10 düzeylerindeki sempatik sinirlerin çölyak gangliyon sonrası postgangliyonik sinirler şeklinde karaciğere ulaşması ile sağlanır. Parasempatik innervasyonu ise sağ ve sol vagus sinirlerinin hepatik dalları ile sağlanır. Bu sempatik ve parasempatik lifler birleşir, sağ ve sol hepatik pleksusu oluşturarak karaciğer ve safra yollarının uyarımını sağlarlar [11].

Karaciğerin lenfatik drenajı perisinüzoidal Dissé aralığı ve periportal Mall yarıkları aracılığıyla koledok, hepatik arter, retropankreatik, çölyak, hiler sistik kanal lenf nodlarına ve daha yukarıda kardiyofrenik lenf nodlarına olur [13].

2.1.1. Sıçan Karaciğerinin Anatomisi

Sıçan karaciğeri 4 lob içermekte olup bu lobların ayrılmasında insan karaciğerinde olduğu gibi hepatik venler ve portal venler rol oynamaktadır. (Şekil 3)



Şekil 3: Sıçan karaciğeri segmental anatomisi

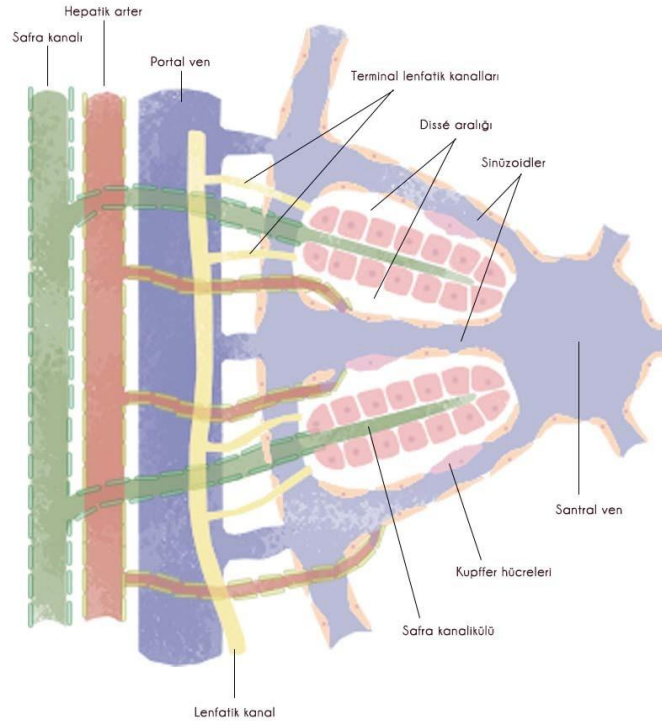
Sıçan karaciğeri, insan karaciğeri ile aynı isimli ancak çok daha ince bağlar ile karın içinde sabitlenmiştir. Ortak safra kanalının ve safra kesesinin sıçanlarda olmaması nedeniyle, hepatoduodenal ligaman içerisinde ortak hepatik kanal, portal ven ve hepatik arter yer alır [14].

2.2. Karaciğerin Histolojisi

Erişkin karaciğerinin yaklaşık %80'ini hücresel kordonlar şeklinde düzenlenmiş hepatositleri içeren karaciğer parankimi, %20'sini ise karaciğeri saran Glisson kapsülünü de oluşturan ve hücrelere destek olan bağ dokusunu içeren stroma kısmı oluşturur. Bu bağ dokusu, karaciğeri en küçük yapısal birimi olan hepatik lobüllere ayırır. Her klasik altıgen prizma şeklindeki lobülde, santral venden ışınsal

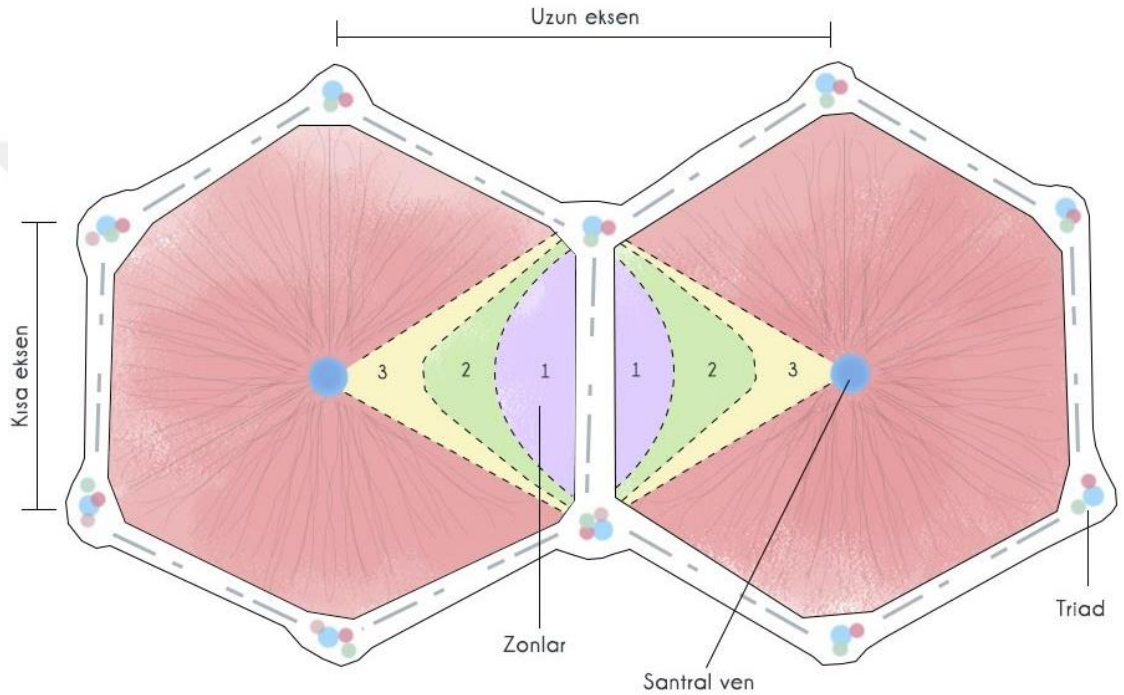
olarak kordon yapısı oluşturarak uzanan hepatositler ve çevresindeki sinüzoidler için destekleyici ağ yapısını oluşturan retiküler lif formunda stroma bulunur [15].

İnsan karaciğerinde diğer memelilerden farklı olarak, bağ dokusu miktarının az olmasından ve hepatik lobüllerin birbirine yakın komşuluğundan dolayı, hepatik lobüllerin sınırları net değildir. Lobüller içerisinde hepatosit kordonlarının arasındaki mesafede kesintili ve pencereci epitel içeren hepatik sinüzoidler yer almakta, bu sinüzoidler ile hepatositler arasında makromolekül alışverişini sağlayan Dissé aralığı bulunmaktadır. Üç klasik lobülün birbirleri ile temas halinde olduğu, bağ dokusunun görece fazla olduğu alan portal triad (portal alan) olarak bilinmekte ve bu alanda lenfatik damarların yanı sıra bir hepatik arteriyol, portal venden gelen bir adet venül ve intrahepatik safra kanallarının (Hering kanalları) açıldığı kolanjiyollerin birleşmesi ile oluşan safra kanalı bulunmaktadır. Karaciğer parankimi ile portal alan arasında periportal Mall yarıkları bulunur. Hepatositlerin mikrovillus yapılarının yer aldığı Dissé aralığı, santral venden portal alana doğru uzanmakta ve kan akımı ile hepatositler arasında alışverişin sağlandığı bir bariyer olarak görev yapmaktadır. Dissé aralığında aynı zamanda, A vitamini ve yağ depolayan mezenkimal kökenli özelleşmiş hücreler olan İto hücreleri (hepatik satellit hücreler) ve özelleşmiş makrofajlar olan Kupffer hücrelerinin uzantıları da bulunmaktadır [16,17]. (Şekil 4)



Şekil 4: Karaciğer lobül yapısının şematik çizimi

Karaciğerin histolojik olarak incelenmesinde bir diğer terminoloji ise hepatik arter ve portal venin terminal dalları kaynaklı kanlanmaya göre olan karaciğer asinüsü kavramıdır. Asinüs yapısının tespiti ve anlaşılması, klasik hepatik lobülden daha zor olmakla birlikte, birçok hastalığa bağlı metabolik ve patolojik değişimleri göstermek açısından daha faydalıdır. Karaciğer asinüsünün iki ekseni mevcut olup, kısa ekseni iki hepatik lobülün sınırı boyunca uzanmaktadır. Uzun ekseni ise kısa eksene en yakın iki santral ven arasındaki hayali hattır. Asinüs yapısında hepatositler, hepatik arter ve portal venüle uzaklıklarına göre üç eliptik zona ayrılmıştır [15]. (Şekil 5)



Şekil 5: Karaciğer asinüs yapısının şematik çizimi

Zon-1 (Periportal Zon): Kan akımının ilk ulaştığı zon olup dolayısıyla oksijenin, hormonların, besinlerin ilk uğradığı ve toksinlere ilk maruz kalan zondur. Glikojen ve plazma protein sentezinin çoğu bu zonda bulunan hepatositler tarafından gerçekleştirilir.

Zon-2 (İntermediate Zon): Zon-1 ve Zon-3 arasındaki ara bölgedir.

Zon-3 (Santral Zon): Santral ven çevresindeki hepatositlerden oluşup, en zayıf oksijenlenen kısım olması nedeniyle iskemik nekroza ve metabolizma değişiminde yağ birikimine en yatkın zondur. Aynı zamanda ilaç ve alkol detoksifikasyonun çoğu bu zonda yapılır [15,17].

2.3. Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğer depolama, sentez, salgılama ve metabolize etme gibi birçok alanda fonksiyon gösteren, vücudumuzun en büyük bez yapısıdır. Çiftli kan akımı mevcut olup, portal venden 1050 ml/dk, hepatik arterden de 300 ml/dk olmak üzere toplam 1350 ml/dk kan akımı karaciğer sinüzoidlerine geçmektedir. Bu miktar kardiyak outputun %27'sini oluşturmakla birlikte, karaciğerin zengin (95 ml/dk/100 gr) kanlanması göstermektedir [18].

Karaciğerin başlıca görevlerinden biri ana bileşenleri; su, elektrolitler gibi inorganik moleküller ve çeşitli pigmentler, fosfolipitler, kolesterol gibi organik moleküller olan, alkali kompleks yapıdaki safranin salgılanmasıdır. Erişkin karaciğeri hepatositler aracılığıyla günlük ortalama 600-1000 ml arasında safra salgılayabilir. Safranin iki temel görevi mevcut olup birincisi lipidlerin ve yağda çözünen vitaminlerin sindirilmesi ve emilmesine yardımcı olmak, ikincisi ise bilirubin, kolesterol gibi metabolizma son ürünlerinin dışkı yoluya uzaklaştırılmasını sağlamaktır [13,18].

Karaciğerin önemli görevlerinden biri de diyetle alınan ürünlerin glikoz, lipid ve protein metabolizması ile işlenmesidir. Karaciğer karbonhidrat metabolizmasında çeşitli roller oynayarak kısa, uzun açlık periyotlarında ve tokluk sırasında kan şekerinin normal aralıkta tutulmasını sağlar. Açlık durumunda, depolamış olduğu glikojeni glikojenoliz yoluyla glukozu çevirerek ve laktat, aminoasit, gliserol gibi öncüllerden de novo glukoz sentezleyerek glukoz ihtiyacını karşılar. Tokluk durumunda glukoz fazlasını glikojen sentezi ve glikoliz-lipogenez yoluyla uzaklaştırır [13].

Karaciğer; enerji eldesi için yağ asitlerinin okside edilmesi, kolesterolün, fosfolipidlerin, lipoproteinlerin sentezlenmesi, protein ve karbonhidratlardan yağ asidi elde edilmesi gibi metabolik yollarda görev alarak lipid metabolizmasında önemli rol oynar [18].

Karaciğer, proteinlerin deaminasyonu yoluyla amonyak ve çeşitli aminoasitleri ortaya çıkararak protein metabolizmasına katılır. Bunun yanında albümin, faktör 2,7,9,10 gibi koagülasyon faktörleri, protein C, protein S gibi kofaktörler, kompleman

kaskat proteinleri gibi plazma proteinlerinin birçoğunun sentezinden sorumludur [8,13].

Karaciğer insan metabolizmasında önemli roller oynayan vitaminlerin ve minerallerin önemli bir deposudur. Karaciğerde en fazla depolanan vitamin A vitamini olup, karaciğerdeki depoları sayesinde alınmaması durumunda; A vitaminin 10 ay, D vitaminin 3-4 ay, B12 vitaminin ise 1 yılı aşkın süre eksikliği görülmemektedir. Hemoglobinin içerisindeki demir dışında, vücuttaki demirin büyük çoğunluğu da yine karaciğerde, ferritin içerisinde depolanmış şekilde bulunmaktadır [18].

Karaciğer aktif kimyasal ortamı ile penisilin, sülfonamid, ampicilin ve eritromisin gibi birçok ilacın detoksifiye edilmesi ve uzaklaştırılmasını sağlar. Benzer şekilde endokrin organlardan salınan tiroksin ve steroid yapıdaki hormon da karaciğerde metabolize edilir. Yine kalsiyumun da ana uzaklaştırılma yollarından biri karaciğerden safraya sekrete edilerek, barsaktan feçes ile atılmasıdır [18].

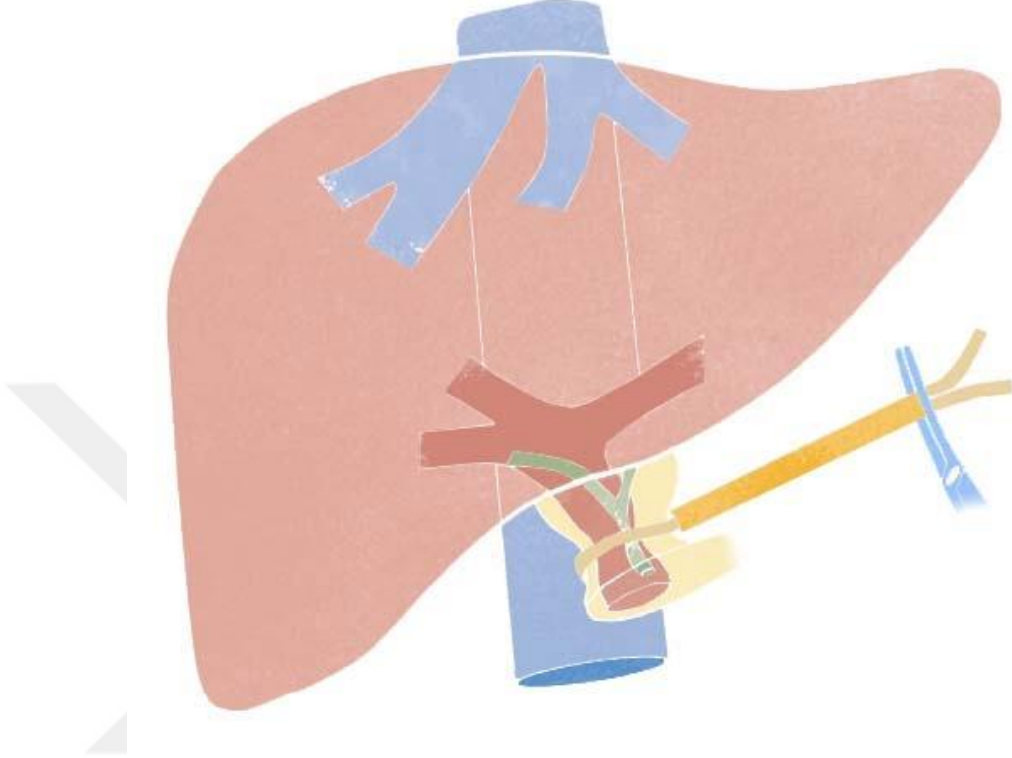
Karaciğerin bu fizyolojik özelliklerinin dışında muazzam özelliklerinden bir tanesi de yıllar boyunca cerrahlara ve hastalara değişik tekniklerle tedavi imkânı sunan yüksek rejenerasyon kapasitesidir. Yapılan çalışmalarda karaciğer rejenerasyonunda hepatosit büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü gibi faktörlerin, TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin ve genetik kontrol mekanizmalarının rol aldığı görülmüştür. [8]

2.4. Pringle Manevrası

1908 yılında Annals of Surgery’de yayımlanan bir makalede J. Hogarth Pringle, karaciğer yaralanmasına bağlı ciddi kan kaybı nedeniyle hayatını kaybeden dört hastası ile ilgili deneyimini paylaşmakta, portal ven ve hepatik arterin sıkıştırılması ile karaciğerden olan kanamanın durduğu gözlemini anlatmaktadır [19,20].

Pringle tarafından tanımlanmasından beri etkili, uygulanışı kolay ve güvenli olması nedeniyle en sık kullanılan karaciğer vasküler oklüzyon tekniği olan karaciğer pedikül klampajı (Pringle Manevrası), bir damar klempini, teyp ya da parmaklar arasında hepatik arter, koledok ve portal venin pulsasyon alınmayana kadar sıkıştırılmasıdır [11]. (Şekil 6) Pringle manevrasının başarılı bir şekilde uygulanabilmesi, etkili oklüzyonun sağlanması için karaciğere kan akımı sağlayan başka bir aberran veya

replase bir damarın varlığı araştırılmalıdır. Hepatik pedikülün tam ve doğru klampajı yapılsa dahi, hepatik venlerden geri akım nedeniyle kan akımının devam edeceği akılda tutulmalıdır [11].



Şekil 6: Pringle manevrasının şematik çizimi

Pringle manevrası ile karaciğer rezeksiyonları ve karaciğer nakilleri gibi elektif ameliyatların yanı sıra, travmatik karaciğer yaralanmaları gibi acil durumlarda; mortalite ile ilişkili olan hipotansiyonun, kan kaybının ve kan transfüzyonu ihtiyacının azaltılması amaçlanmaktadır [13].

2.5. İskemi/Reperfüzyon Hasarı

Hücreler, çevresel değişimlere, maruz kaldıkları hasarlayıcı ajanlara ve gelişen stres koşullarına çeşitli mekanizmalarla yanıt vererek homeostazis denilen kararlı yapılarını korumaya çalışırlar. Enfeksiyöz ajanlar, hipoksi ve iskemi, toksinler, immünolojik reaksiyonlar, genetik anormallikler ve yaşlanma hücresel hasar nedenlerinden bazılarıdır. Hücrelerin bu hasarlara vereceği yanıtın şekli ve yaygınlığı, hasarın etkilerinin geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olması, hasarın hücrenin ölümüne neden olup olmayacağı; hasarın oluşma mekanizması, hasarlayıcı ajanın

şiddeti, hasarlayıcı ajana maruz kalma süresi, hasarlanan hücrenin uyum kapasitesi ve hücrenin genetik özelliklerine bağlı olarak değişmektedir [1].

Hasar oluşum mekanizmaları içerisinde klinik olarak en sık karşılaşılan sebep olan iskemi; dolaşımın çeşitli etkenlere bağlı tam olarak kesilmesi veya kısmi olarak kesintiye uğramasıyla hücrelerin, dokuların ve organların ihtiyacı olan oksijen ve metabolitleri alamaması, hücre içerisinde metabolizma ile oluşan atık maddeleri de hücreden uzaklaştıramaması olarak tanımlanır [1].

Hücrenin oksijen ihtiyacının karşılanamaması, plazma membranındaki ATP bağımlı Na^+/K^+ ATPaz pompası aktivitesini azaltarak hücre içerisine su ve Na girmesine olur. Bu durum hücresel iskeminin en erken belirtilerinden olan hücresel şişme ve endoplazmik retikulum (ER) dilatasyonu gelişmesi ile sonuçlanır. Oksijen eksikliğinde enerji ihtiyacının karşılanması için hücreler, anaerobik glikolize yönelmekte ve bu yolağın son ürünü olan laktik asit ve inorganik fosfat birikimi ile hücresel pH düşerek birçok hücre içi enzim çalışamaz hale gelmektedir. Buna bağlı olarak ER'dan ribozomların ayrılması protein sentezinin azalmasına neden olur. Öte yandan hipoksiyle ATP bağımlı Ca kanalları aktivitesi azalır ve hücre içerisinde düşük seviyede tutulan Ca 'un artmasına bağlı olarak hücre içi Ca homeostazisi de bozulur. Artan hücre içi Ca seviyeleri fosfolipazlar, proteazlar ve endolipazlar gibi çeşitli enzimleri aktive ederek hücre içi yapılarda hasar oluşturur. Bu aşamaya kadar geri dönüşümlü olan bu süreç; hücre içerisinde su, Na ve H konsantrasyonunun artmasına, K 'un azalmasına, membran geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak hücre ve organellerin şişmesine neden olur [21]. Anaerobik metabolizmanın artışı, mitokondriyal hasar, polimorfonükleer lökosit birikimi, kemokinlerin, SOR'lerinin, $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve vazoaktif ajanların salınımı hasarı derinleştirir. Hipoksinin devam etmesiyle hasar geri dönüşümsüz hale gelir ve bu durum kendini morfolojik olarak mitokondrinin şiddetli vakuolizasyonu, plazma membranında ileri derecede hasar ve lizozomal şişme ile gösterir [1].

İskemi durumunda ATP üretiminin durmasına rağmen, hücresel enerji ihtiyacının devam etmesinden dolayı ATP; AMP ve adenosin'e parçalanmaya devam eder. Oluşan adenosin hücre dışında inozin ve hipoksantine hidrolize olur. Normal şartlarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz (KD) yoluyla ksantine okside edilir. Ancak iskemi durumunda KD, ksantin oksidaz (KO)'a dönüştürülür. KD, substrat

olarak nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) kullanmasına rağmen, KO moleküler oksijeni kullanır. Sonuç olarak iskemi durumunda hipoksantinin ürik asit oluşturmak üzere metabolize edilmesinde, elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanan ve sonuçta SOR oluşturan KO kullanılır [1,22].

İskemik dokunun yeniden kanlanmasıyla, bazı dokularda I/R hasarı denilen durum gelişerek, paradoksik olarak hücre hasarlanmasını arttırabilir. Anaerobik glikoliz ile düşen hücre içi pH'ı nekrotik hücre ölümüne karşı koruyucu rol oynarken, reperfüzyon ile pH'ın yükselmesi bazı proteaz ve fosfolipazların aktive olmasıyla, hücre hasarlanmasına ve hatta ölümüne neden olarak pH paradoksu denilen durumu oluşturur [23]. Reperfüzyon ile iskemik dokuya oksijen sunulması, iskemi sürecinde dokuda artmış bulunan hipoksantin, KO tarafından ürik aside çevrilmesine ve bu reaksiyonda moleküler oksijenin redükte olarak bol miktarda SOR oluşmasına neden olur. SOR'leri lipid peroksidasyonu oluşturarak membran hasarına, protein modifikasyonuna etki ederek proteinlerin hatalı katlanmasına ve oluşturduğu DNA hasarına bağlı mutasyonlarla hücre ölümüne neden olurlar [1].

Tıbbi pratikte birçok klinik durumda I/R hasarı oluşabilmekte, yapılan çalışmalarda bu hasarın önlenmesine yönelik birçok farmakolojik ajan ve cerrahi teknik kullanılmaktadır [4,5]. Miyokard enfarktüsü, iskemik serebrovasküler olay, mezenterik vasküler tıkanıklıklar gibi vasküler temelli olaylarla iskemi gelişmekte, sonrasında trombolitik tedavi ile dokuların reperfüzyonu I/R hasarı oluşturabilmektedir. Yine yanık, ileus, şok gibi klinik senaryolarda hipovolemiye bağlı dokuların perfüzyonu bozularak iskemi gelişmekte, resusitasyon sonrası reperfüze olan dokular I/R hasarı oluşturmaktadır. Travmalarda gelişen hipovolemi durumu veya travmada kanamanın durdurulmasına yönelik acil olarak yapılan klempaj, kardiyovasküler cerrahide damarların planlı klempajı, I/R hasarı gelişmesine neden olabilmektedir. Transplantasyon yapılan organlarda da I/R oluşmakta, sonucunda oluşan bu hasar %10'a varan erken nakil başarısızlığına sebep olabilmektedir [24].

2.6. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

Toledo ve ark'nın 1975 yılında yaptıkları deneysel karaciğer transplantasyonu çalışması ile karaciğerde I/R hasarı kavramı tıbbi literatüre girmiştir [25]. Karaciğer I/R hasarı, karaciğer nakillerinde organın çıkarılması sonrasında saklanması sürecinde gelişen soğuk I/R hasarı ve karaciğer travmalarında, karaciğer rezeksiyonlarında,

hipovolemik şok durumlarında gelişen sıcak I/R hasarı olmak üzere iki ana kategoride incelenebilir [26]. Sıcak I/R hasarı da Jaeschke ve ark. tarafından gelişen süreçler gözetilerek erken evre ve geç evre olarak iki aşamada incelenmiştir [27].

2.6.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarına Erken Dönem Yanıt

İmmun sistemde önemli rol oynayan ve dolaşımdaki bir dizi küçük proteinden oluşan kompleman kaskadı, reperfüzyon ile ortaya çıkan hücresel proteinler ile aktiveleşerek I/R hasarının erken evresinde Kupffer hücrelerinin uyarılmasında görev yapmaktadır [28]. Karaciğer I/R hasarının başlangıç evresinde reperfüzyon ile aktive olan Kupffer hücreleri, oksidatif stres, parankimal ve vasküler hasarlanma oluşturan süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi SOR salınımına neden olurlar [27].

Karaciğer I/R hasarı sonrası uyarılan Toll-like reseptörleri (TLRs); Kupffer hücreleri, dendritik hücreler ve hepatositler gibi çeşitli karaciğer hücrelerinde bulunmakta ve I/R hasarı oluşmasında kilit rol oynamaktadır. TLR'ler patojen ilişkili moleküler patern (PAMP) ve hasar ilişkili moleküler patern (DAMP) aracılığı ile aktive olmaktadır. Nonenfeksiyöz bir durum olan hepatik I/R hasarında ise oksidatif strese bağlı olarak, en yaygın çalışılan DAMP olan high mobility group box 1 (HMGB1) salınmakta ve bu protein TLR4 reseptörünün ligandı olmaktadır. TLR reseptörlerinin uyarılması; nonparankimal hücrelerin, Kupffer hücrelerinin ve dendritik hücrelerden TNF- α , IL-6 ve ICAM-1 gibi inflamatuvar moleküllerin salınımı için gerekli iken, TLR4 reseptör uyarımı da hepatositlerden HMGB1 salınmasını sağlamaktadır [29–31].

CD4 T lenfositler, iskemi sonrası karaciğer dokusuna ulaşır epitelial hücreler, fibroblastlar ve endotelial hücrelerden IL-17 salınmasını sağlayarak iskemik dokuya nötrofil göçünde rol oynar. CD4 T lenfositler endotel aktivasyonu ile, platelet yapışmasını artırarak ve nötrofil migrasyonunda oynadığı rol ile iskemi sonrası mikrovasküler hasarı artırarak hücre ölümüne neden olur [32–34].

I/R hasarı sonrası salınan proinflamatuvar sitokinler de inflamatuvar yanıtın gelişmesinde önemli rol oynarlar. Ağırlıklı olarak Kupffer hücrelerinden salınmasına rağmen, karaciğerdeki birçok hücreden salınan TNF- α , hepatositlerden ve Kupffer hücrelerinden nötrofil kemoatraktanlarının salınmasına, vasküler endotel hücrelerinde ICAM-1, VCAM-1 ve P-Selektin gibi adezyon moleküllerinin artırılmasına neden

olurlar [35–37]. IL-1 β da karaciğer I/R hasarına erken inflamatuvar yanıtta rol oynayan sitokinlerden biridir. Yine Kupffer hücrelerinden ve hepatik stellate hücrelerden salınan IL-12 ve IL-23'ün de, TNF- α ve IFN- γ salınımını arttırarak I/R hasarına erken inflamatuvar yanıtta görev aldığı düşünülmektedir. [38,39].

NF- κ B karaciğer hücreleri de dahil birçok hücre tipinde inflamatuvar gen ekspresyonunu düzenleyen majör transkripsiyon faktörüdür [28]. NF- κ B'nin karaciğer I/R hasarındaki rolü karmaşık ve aktive olduğu hücreye bağlı olarak değişmektedir. Genel olarak NF- κ B proinflamatuvar stimuluslar ve oksidatif stres ile aktive olmakta, proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu sağlamaktadır. Özel olarak Kupffer hücrelerinde TNF- α ve IL-6 salınımı, hepatositlerde TNF- α salınımı, endotel hücrelerinde ise IL-8 ailesi, E- Selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin salınımı ile erken inflamatuvar yanıtta görev alır [40–42]

2.6.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarına Geç Dönem Yanıt

I/R hasarına geç dönem yanıtta; kemoatraktanlar ve vasküler adezyon moleküllerinin koordineli çalışmasıyla dolaşımdan iskemik karaciğer dokusuna ulaşan nötrofillerin, oksidanlar ve proteazlar ile hepatositlerde oluşturduğu hasar rol almaktadır [28].

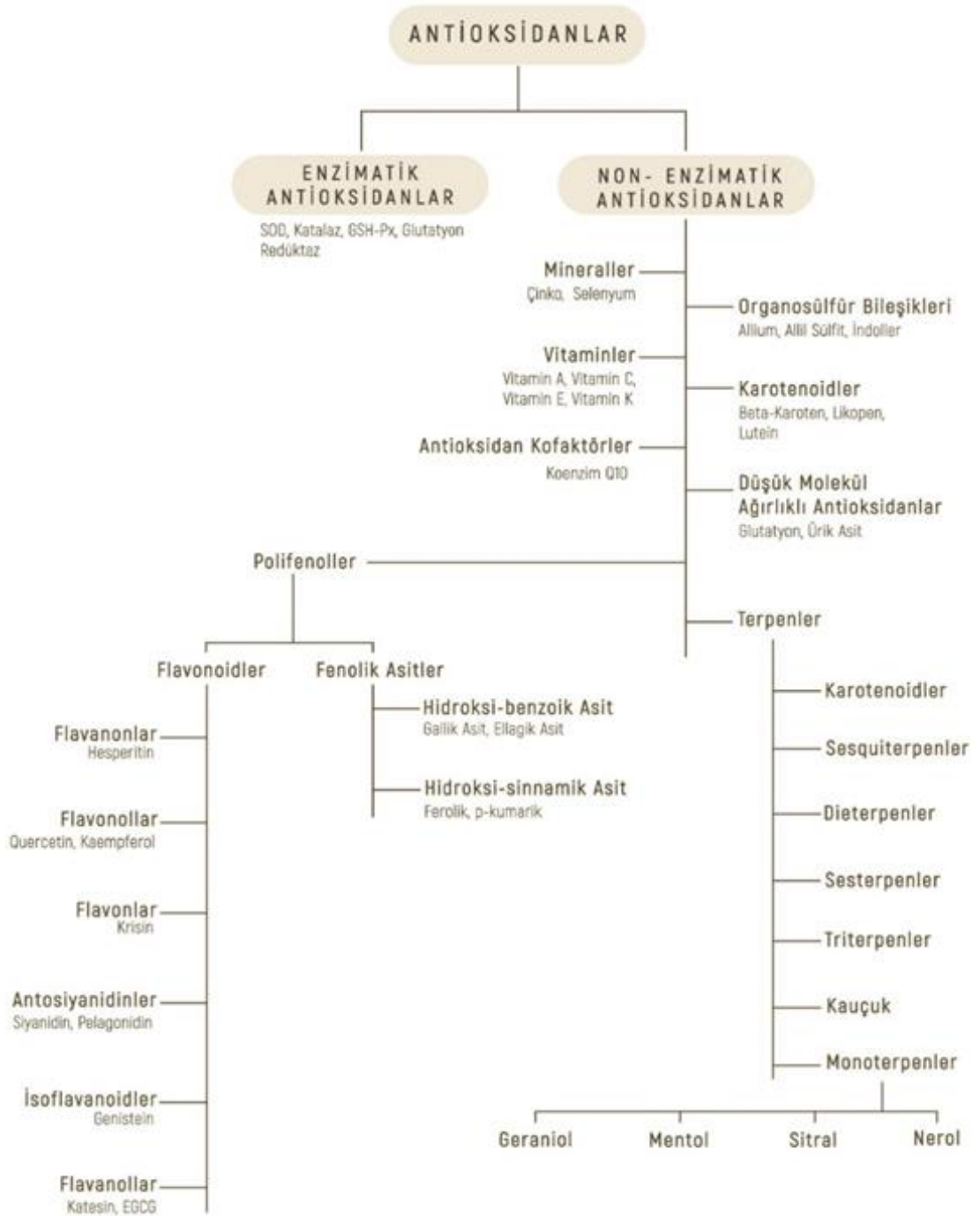
Kemokinler; birçok hücre çeşidinden salınan bir grup küçük protein ailesinden oluşmakta, geç dönem yanıtta nötrofil migrasyonunun yanında nötrofil aktivasyonunda da rol oynamaktadır. Geç dönem yanıtta nötrofil adezyonu ve vasküler yaktan karaciğer parankimine nötrofil migrasyonunda, nötrofillerin ve vasküler endotelin yüzeyinde eksprese edilen adeziv moleküller görev almaktadır. Vasküler endotel yüzeyden eksprese edilen P-Selektin nötrofil yüzeyindeki ilgili ligandına bağlanırken, nötrofil yüzeyinde eksprese edilen L-Selektin endotel yüzeyindeki ligandına bağlanır. Yine nötrofil yüzeyinde eksprese edilen integrinler ile vasküler endotelde eksprese edilen ICAM-1, VCAM-1 adezyon molekülleri, nötrofillerin vasküler endotel tarafından yakalanarak vasküler yaktan karaciğer parankimine geçişini sağlar [43–45].

SOR'leri erken dönemde iskemik hepatositler içerisinde üretilirken, geç dönemde karaciğer parankimine göç eden nötrofiller tarafından salınarak, I/R

durumunda hepatosit hasarında önemli rol oynarlar [29,30]. Karaciğer parankimine göç eden nötrofillerin yüzeyindeki integrinler ile hepatosit yüzeyindeki ICAM-1 molekülleri birleşmesiyle nötrofillerin içerisindeki NADPH oksidaz enziminin aktivasyonu sağlanır. Bu enzim NADPH molekülünün oksidasyonu sırasında moleküler oksijenden süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot -}$) oluşmasına neden olmakla beraber, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi de süperoksit anyonundan; çevre dokulara diffüze olabilen, güçlü radikal oksijen türevi olan hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumunu sağlar. H_2O_2 , hidroksil radikaline ($OH^{\cdot}$) indirgenebilirken, nötrofil granüllerinden salınan miyeloperoksidaz (MPO) ile yine bir radikal oksijen türevi olan hipokloröz aside ($HOCl$) dönüşebilir. Yine geç evre yanıtta aktive olmuş nötrofillerden, granüler ekzositozla proteazlar ve hidrolitik enzimler salınarak, hücre içi kalsiyum birikimi ve mitokondriyal hasar yoluyla hücre ölümü gerçekleşebilir [28].

2.7. Antioksidan savunma mekanizmaları

İnsan vücudunda oksidan denge, metabolizma ile sürekli oluşturulan SOR'leri ile bu radikallerin zararlı etkilerinin ortaya çıkmasını engellemeye yönelik nötralizasyon basamaklarını içeren karmaşık süreçler sonucunda sağlanır. Bu oksidan dengenin, dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektronlarıyla organik ve inorganik moleküllerde hasar oluşturan SOR'leri lehine bozulmasıyla, oksidatif stres denilen durum gelişir [1]. Oksidatif stresi engellemeye yönelik antioksidan ajanlar, yapıları ve çalışma prensipleri açısından enzimatik ve non- enzimatik olmak üzere temel iki grupta incelenirler [2]. (Şekil 7)



Şekil 7: Enzimatik ve non-enzimatik antioksidan moleküller [46]

2.7.1. Enzimatik antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar grubu, SOD, CAT, GPx, GR ve TrxR enzimlerini içermekle birlikte, bu enzimlerin aktiviteleri oksidatif stres durumunda en etkili savunma mekanizmasını oluşturmaktadır [3].

SOD; aerobik solunum yapan organizmaların tamamında bulunmakla birlikte, radikal oksijen türevi süperoksit molekülünün, moleküler oksijen ve H_2O_2 dönüşümünü sağlayan bir metalloproteindir. Kofaktör olarak bulundurduğu metal iyonuna göre Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD, Ni-SOD olmak üzere çeşitli gruplara ayrılrsa da ökaryotlarda, sitoplazma ve hücre dışında Cu/Zn SOD, mitokondride ise Mn-SOD bulunur [47]. SOD aktivitesi radikal oksijen türevlerine karşı ilk savunma basamağı olmakla birlikte, SOD bakterilerin hücre içi fagositoz mekanizmalarında görev almaktadır [48]. Organizmalarda SOD aktivite kaybı ise membran lipid peroksidasyonu, protein dekarboksilasyonu ve DNA kırılması gibi oksidatif hasar şiddeti ile ilişkilidir [49].

SOD



CAT tüm organizmalarda ortak bulunan antioksidan bir enzim olmakla beraber peroksizomlarda, iki basamaklı reaksiyon ile H_2O_2 'nin bir molekül oksijen ve iki molekül suya çevrilmesinden sorumludur [50].

CAT



GPx her biri selenosistein içeren dört alt birimden oluşan çoğunlukla sitosolik yerleşimli antioksidan enzimdir. GPx, kofaktör olarak glutatyon (GSH) kullanarak H_2O_2 ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini ve okside glutatyon (GSSG) oluşumunu sağlar. GPx, CAT'dan daha yüksek afinite ile organik hidroperoksitlerinin indirgenmesini sağlayarak membran lipidlerinin ve hemoglobinin oksidatif strese karşı korunmasında önemli rol oynar [2,51,52].

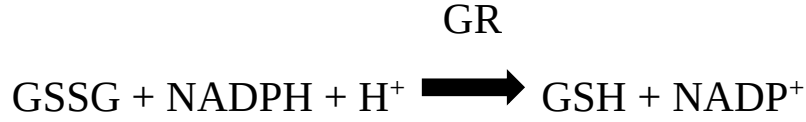
GPx



GPx



GR; sitosolik bir protein olup GSSG'nin NADPH kullanılarak redükte edilmesinde görev alarak oksidatif strese karşı ikinci basamak savunmada görev alır. GR, GSSG ve GSH arasındaki dengenin korunmasını sağlayarak, dengenin GSSG lehine bozulması sonucunda ortaya çıkacak DNA hasarından hücreleri korur [52].



Tiyoredoksin antioksidan sistemi; TrxR, tiyoredoksin ve NADPH içermekle birlikte oksidatif stres durumlarında önemlidir. DNA ve proteinlerin onarımında ribonükleotid redüktazın yanısıra, methionin sülfoksit redüktazı da redükte ederek görev alırlar [3].

2.7.2. Non- enzimatik antioksidanlar

Non-enzimatik antioksidanlar düşük molekül ağırlıklı bileşikler arasında, bazı vitaminler (Vitamin A,C,E), mineraller (Selenyum, Çinko), ürik asit, β -karoten, bilirubin, melatonin, glutatyon, flavonoidler, terpenler yer alır [2,3].

A vitamini diğer adıyla retinol, karaciğerde üretilen β -karotenin parçalanması sonucunda oluşmakta, peroksil radikallerine direk bağlanmasıyla, lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidan savunma mekanizmasında yer almaktadır [53].

Askorbik asit de denilen C vitamini; süperoksit radikallerinin, hidrojen peroksitin, hidrojen radikallerinin ve eşlenmemiş elektronların uzaklaştırılmasını sağlayarak antioksidan özellik gösterir. C vitamini aynı zamanda E vitamini radikalini, E vitaminine çevirerek antioksidan özelliğini sürdürmesini sağlamasıyla antioksidan savunma sistemine destek olur [54].

E vitaminin en aktif formu α -tokoferol olup, hücrelerdeki majör membran bağlı antioksidandır. Lipid peroksidasyonu sırasında üretilen peroksil radikale elektron vererek peroksidasyonun durdurulmasında görev alır [2].

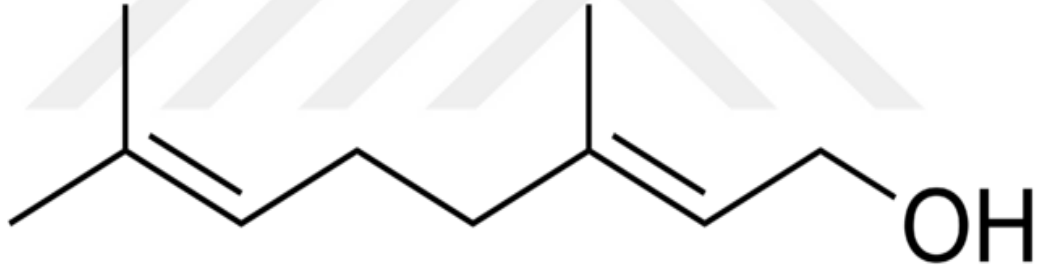
Flavonoidlerin antioksidan potansiyelleri içerdikleri hidroksil gruplarının sayısı ve düzenlenmesine bağlı olmakla birlikte, SOR'lerini uzaklaştırarak antioksidan özellikler gösterirler [55].

Bitkilerden elde edilen ve düşük moleköl ağırlıkları nedeniyle çoğunlukla uçucu yağ şeklinde bulunan terpenler de antioksidan özellik gösterirler [56].

2.8. Geraniol

Terpenler; hidrokarbon bileşiklerinin geniş bir grubu olup, sebze, meyve gibi diyet bileşenlerinin yanı sıra, iğne yapraklı bitkilerden bazı böceklerle kadar doğada yaygın şekilde birçok organizmada bulunurlar. Terpenler doğada yaygın bir yapıtaşı olan, kimyasal olarak $(C_5H_8)_n$ olarak ifade edilen izopren (2-metil-1,3-butadien) birimlerinin oligomer oluşturmasıyla meydana gelirler. Terpenlerin büyük kısmı hidrokarbon yapıda olmasına rağmen; alkol, keton, aldehit gibi oksijen içeren yapılar da olabilirler. İçerdikleri izopren grubu sayısına göre isimlendirilen terpen gruplarından; iki izopren grubu içerenler monoterpen olarak adlandırılırlar [46,57].

Geraniol, monoterpenler sınıfına ait 10 C atomu içeren bir alkoldür. Geraniolün formülü $C_{10}H_{18}O$, moleküler ağırlığı 154.25 gr/mol, erime noktası $15^{\circ}C$, kaynama noktası $230^{\circ}C$ ve yoğunluğu 0.889 g/cm^3 'dür [58]. (Şekil 8)



Şekil 8: Geraniol (3,7-Dimetilocta-2,6-dien-1-ol) Molekülünün Yapısı

Geraniol suda çözünmeyip alkol ve eterde çözünen, renksiz, kokusu gül kokusuna benzeyen uçucu sıvı bir madde olup, koku ve tatlandırıcı endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Geraniolün bitkilerden elde edilen miktarının kısıtlı olması ve son yıllarda artan pazar ihtiyacı, molekölün efektif şekilde biyosentezinin yapılması ihtiyacını doğurmuştur [7]. Yapılan genetik mühendislik çalışmaları sonucunda en yüksek verimli geraniol üretimi, geraniol sentaz ve farnezil difosfat sentaz eksprese eden *Saccaromyces Cerevisia*'dan elde edilmiştir [59].

Geraniol metabolizmasına ait çalışmalar 1980'li yılların başlarında yapılmaya başlanmış olup, lipofilik bir madde olan geraniolün karaciğerde alil gruplarından hidroksile edilmesi ratlarda ve böceklerde yapılan çalışmalarda yaygın olarak

gözlenen bir reaksiyondur. Bitki fiberlerinin geraniolü tutarak kolona kadar ulaştırmasına bağlı olarak enteral alımı sonrası maddenin biyoyararlanımı yaklaşık %16 civarındadır. Kan dolaşımında yarı ömrü kandaki protein ve hücrelere bağlanması ve vücut kompartmanlarına dağılması nedeniyle 12 dakikadır [60,61].

Geraniol molekülünün etkisini araştırmak için son yıllarda birçok alanda in vivo ve in vitro çalışmalar yapılmıştır. Antitümöral etkisinin araştırıldığı in vivo ve in vitro çalışmalarda apopitozisin indüklenmesi, anjiyogenezin durdurulması, hücre siklusunun duraklatılması gibi birçok farklı mekanizma ile kolon kanseri, karaciğer kanseri, prostat kanseri, akciğer kanseri, cilt kanseri gibi birçok kanser türünde etkili olduğu görülmüştür [7].

Yapılan çalışmalarla; glutatyonun artmasını sağlaması, lipid peroksidasyonunu azaltması, NF- κ B ve COX-2 inhibisyonu yapması, IL-10 aktivitesini arttırması gibi birçok farklı etki ile geraniolün, antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda karaciğer iskemisi, ülseratif kolit, serebral iskemik modelleri gibi birçok farklı deneysel hayvan çalışması modeli kullanılmış ve farklı dokularda bu etkinin varlığı teyit edilmiştir [7].

Literatür incelendiğinde geraniol molekülünün *Candida albicans* ve *Trichophyton rubrum* gibi fungal patojenlerde; ergosterol sentezinin inhibe edilmesi, mitokondrilerdeki kalsiyum dengesinin bozulması gibi yollarla antimikrobiyal etkisinin olduğu gösterilmiştir [62,63].

Deneysel hayvan çalışmalarında, molekülün farklı dozlarda ve farklı veriliş yolları ile uygulanmasının değişik mekanizmalarla karaciğer hasarını azalttığı ve karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir [7]. Enteral yolla 200 mg/kg verilmesinin metiyonin-kolin eksikliği ile indüklenmiş karaciğer yağlanması modelinde karaciğer hasarında histolojik skoru, karaciğer dokusunda fibrozisi ve apopitozisi azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca aynı şekilde IL-6 ve TNF- α 'yı ve MPO'yu baskılayarak karaciğer inflamasyonunu azaltmaktadır [64]. 100 mg/kg intraperitoneal uygulanmasının karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı, 50 mg/kg intraperitoneal uygulanmasının H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif strese bağlı karaciğer hasarını engellediği gösterilmiştir [65,66].

Streptozosin ile indüklenmiş deneysel diyabetik hayvan modellerinde geraniolün insülin yanıtını düzenleyerek 45 gün sonra plazma glukoz seviyesini azalttığı ve HbA1c'yi düşürdüğü gözlenmiştir. Bu etkisinin yanında kandaki lipidleri azalttığı ve dolayısıyla metabolik sendrom ve kardiyovasküler sistem hastalıkları açısından da koruyucu olduğu gösterilmiştir [67,68].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun (HADYEK) 2020/30 sayılı onayı sonrasında, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) biriminden 2021-35581 proje koduyla fon alınarak yapılmıştır. Çalışmada İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Araştırma Enstitüsü'nden 28 adet 8-10 haftalık Wistar-Albino erkek sıçan temin edilmiş ve deneyler yine aynı merkezin ameliyathane ve barınak imkânları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Deney Grupları ve Cerrahi İşlem:

Çalışmada ön araştırmalar sonucunda uygun olduğu görülen 350-400 gr ağırlığında, 28 adet Wistar Albino türü erkek sıçan denek olarak kullanılmıştır. Sıçanlar, oda sıcaklığının 24 ± 2 °C olduğu standart sıcaklık ve nem koşullarında 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünün sağlandığı odalarda, dörtlü gruplar halinde standart kafeslerde barındırılmıştır. Sıçanlar işlem öncesi ad libitum şeklinde standart sıçan yemi ile ve su kısıtlaması olmadan beslenmişlerdir.

Tablo 1: Deney grupları

DENEY GRUPLARI	UYGULANAN PROTOKOL				
Grup A (Kontrol grubu) (n: 7)					SAKRİFİKASYON
Grup B (I/R grubu) (n: 7)			İSKEMİ 15 DK	REPERFÜZYON 20 DK	SAKRİFİKASYON
Grup C (50 mg/kg geraniol+ I/R) (n: 7)	50 MG/KG GERANİOL UYGULAMASI	15 DK	İSKEMİ 15 DK	REPERFÜZYON 20 DK	SAKRİFİKASYON
Grup D (100 mg/kg geraniol+ I/R) (n: 7)	100 MG/KG GERANİOL UYGULAMASI	15 DK	İSKEMİ 15 DK	REPERFÜZYON 20 DK	SAKRİFİKASYON

Grup A (Kontrol grubu): Deneklere anestezi uygulaması ardından, medikal tedavi uygulanmadan ve I/R hasarı oluşturulmadan laparotomi uygulandı. Karaciğer doku ve kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi.

Grup B (I/R grubu): Deneklere anestezi uygulaması ardından medikal tedavi yapılmadan, laparotomi yapıp, hepatik pedikül dönülerek 15 dakika klempe edildi. 15. dakikada klempe açılarak, 20 dakika reperfüzyon ardından karaciğer doku ve kan örnekleri alınıp denekler sakrifiye edildi.

Grup C (50 mg/kg geraniol+ I/R grubu): Deneklere anestezi uygulaması ardından 50 mg/kg geraniol intraperitoneal olarak verilerek laparotomi yapıldı. Geraniol uygulamasının 15. dakikasında hepatik iskemi oluşturmak üzere hepatik pedikül dönülerek 15 dakika klempe edildi. 15. dakikada klempe açılarak 20 dakika reperfüzyon sağlandı ve sonrasında kan ve karaciğer doku örnekleri alınarak denekler sakrifiye edildi.

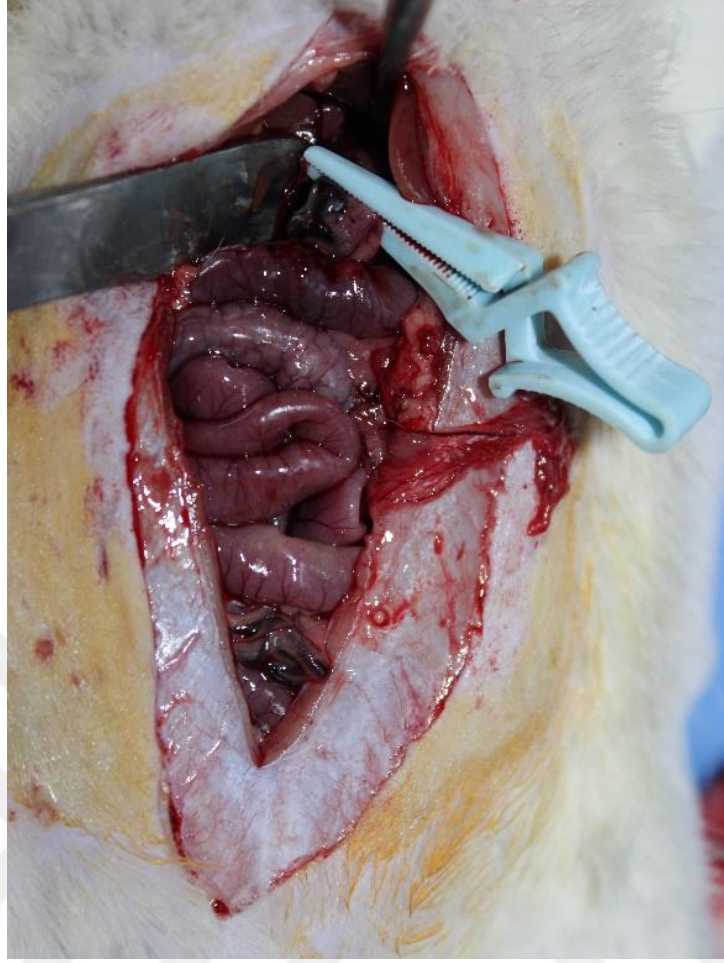
Grup D (100 mg /kg geraniol+ I/R grubu): Deneklere anestezi uygulaması sonrası 100 mg/kg geraniol intraperitoneal olarak verilerek laparotomi yapıldı. Geraniol uygulamasının 15. dakikasında hepatik iskemi oluşturmak üzere hepatik pedikül dönülerek 15 dakika klempe edildi. 15. dakikada klempe açılarak 20 dakika reperfüzyon sağlandı ve sonrasında kan ve karaciğer doku örnekleri alınarak denekler sakrifiye edildi.

Tüm cerrahi işlemler; ameliyathane koşullarında steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Sıçanlar üzerinde diurnal hormonal değişikliklerin etkileri göz önünde bulundurularak, tüm işlemler saat 08.00-11.00 arasında gerçekleştirildi. Deney hayvanlarına intramüsküler (i.m.) yol ile 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne, %2, Alfasan, Woerden, Holland) ve 80 mg/kg ketamin (Ketalar, Pfizer Pharma, GMBH Germany) anestezisi uygulandı.



Şekil 9: Deney masasında anestezi altındaki denek ve deney düzeneği

Deney hayvanı, sırt üstü pozisyonda, sıcaklığı ılık ve sabit olan diseksiyon tablasına tespit edildi. Cerrahi uygulama bölgesinin %10'luk polivinilpirolidon iyot kompleksiyle (Batticon, Adeka) temizliği yapıldı. (Şekil 5) Sonrasında deney hayvanının karın bölgesinden yapılan 3-4 cm'lik bir orta hat kesisi laparotomi gerçekleştirildi. İzole edilen hepatik pediküle atravmatik vasküler klemp uygulanarak 15 dakika süre ile iskemi gerçekleştirildi. (Şekil 6) 15 dakika süren iskeminin ardından atravmatik vasküler klemp açılarak 20 dakika süre ile reperfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Biyokimyasal ve patolojik inceleme için karaciğer doku örnekleri alındıktan sonra tüm denekler intrakardiyak yoldan kan alınarak kurban edildi.



Şekil 10: Hepatik pedikülün klemplenmesi

Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme

Serum AST, ALT, laktik asit ve TNF- α düzeyleri için alınan kan örnekleri 1500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri analiz işlemine kadar -80 C° ’de muhafaza edildi. AST (E-BC-K236-M, USA, Elabscience), ALT (E-BC-K235-M, USA, Elabscience) laktik asit (E-BC-K044-M, USA, Elabscience) düzeyleri spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Serum TNF- α düzeyleri enzimatik immünassay (ELİSA) yöntemi ile analiz edildi (E-CL-R0019, USA, Elabscience).

Biyokimyasal analiz için alınan karaciğer dokusu çalışma anına kadar -80°C’de saklandı. Çalışma günü +4 C°’de dokular çözüldü. Ağırlıkları hassas terazi (Dikomsan, FGH) ile ölçülerek ve 2 ml’lik ependorflara alındı. Üzerlerine ağırlıkları (mg) kadar boncuk (bead) ve 1 ml fosfat tamponu (pH:7.2) (Phosphate Buffer Saline, Invitrogen, USA) eklenerek homojenizasyon cihazında (Next Advance Bullet Blender Storm 24) 10 dk boyunca homojenize edildi. Hazırlanan doku homojenatları 1,5 ml’lik

ependorflara alındı. Ependorflar 5000 rpm’de 10 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantta, oksidatif stres göstergelerinden SOD (E-EL-R1424, USA, Elabscience) CAT (E-BC-K031-S, USA, Elabscience) ve GPx (E-EL-R2491, USA, Elabscience) düzeyleri ELİSA yöntemiyle tayin edildi.

Histopatolojik inceleme için alınan karaciğer doku örnekleri İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Laboratuvarı’nda incelendi. %10’luk formalinde fikse edilmiş ve parafine gömülmüş olan karaciğer örneklerinden 5 µm’lik kesitler alınarak, hematoksilin-eozin ile boyandı. Karaciğer doku örnekleri hepatosit hasarı yönünden incelendi. Hücre histolojisindeki değişimler konjesyon, nekroz, sitoplazmik vakuolizasyon ve eozinofili, nükleer piknozis ve inflamatuvar hücre yoğunluğu yönünden, tek bir patolog tarafından değerlendirildi. Tüm bu ölçütler Suzuki ve arkadaşlarının 1993’te tanımladıkları patolojik skorlama sistemine göre değerlendirildi [69].

Hepatosit hasarı; 0: hasar yok, 1: minimal hasar, 2: ılımlı derecede hasar, 3: orta derecede hasar, 4: şiddetli derecede hasar şeklinde derecelendirildi.

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca, min-max değerler kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen (nonparametrik) değişkenler gruplar arasında değerlendirilirken Kruskal Wallis Testi kullanılmıştır. Ölçümsel verilerin birbirleri ile analizinde Spearman Korelasyon Testi’nden faydalanılmıştır. P-değerinin 0.05’in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmada ölçülen serum ALT, AST, laktik asit, TNF- α düzeyleri ve karaciğer doku SOD, GPx, CAT enzim aktivite düzeyleri Tablo 2’de verilmiştir. Bu değerlerin ve Suzuki skorlarının gruplara göre dağılımları Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Çalışmada ölçülen biyokimyasal parametrelerin dağılımı

	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
ALT (U/L)	58,21	$\pm 74,11$	25,22	6,70	278,40
AST (ng/ml)	28,08	$\pm 44,69$	9,83	4,31	196,00
Laktik asit (mikromol/ml)	2,32	$\pm 3,25$	,70	,11	10,63
TNF- α (pg/ml)	70,05	$\pm 100,70$	21,20	10,24	431,00
SOD (pg/mg protein)	4,54	$\pm 1,84$	4,73	1,20	7,82
GPx (pg/mg protein)	561,13	$\pm 212,15$	551,60	211,60	983,00
Katalaz (pg/mg protein)	29,97	$\pm 7,46$	28,50	20,40	51,20

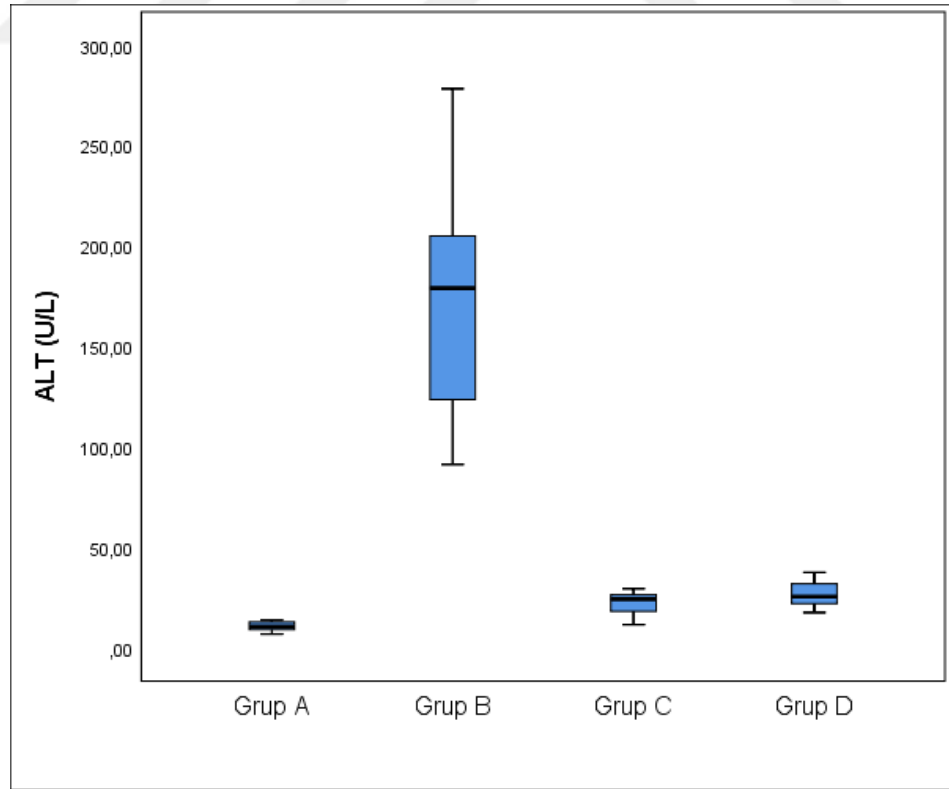
Tablo 3: Çalışmada ölçülen biyokimyasal parametrelerin ve Suzuki skorlarının gruplara göre dağılımı

	Grup A			Grup B			Grup C			Grup D		
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan
ALT (U/L)	11,80	$\pm 4,91$	10,60	172,25	$\pm 64,96$	179,10	21,95	$\pm 6,78$	24,14	26,84	$\pm 7,37$	25,44
AST (ng/ml)	7,01	$\pm 2,16$	7,08	87,36	$\pm 59,18$	89,00	9,09	$\pm 1,42$	9,20	8,86	$\pm 2,49$	9,86
Laktik asit (mikromol/ml)	,66	$\pm ,08$	,66	7,36	$\pm 2,82$	5,42	,58	$\pm ,21$	,66	,69	$\pm ,06$	,68
TNF- α (pg/ml)	20,36	$\pm 7,90$	16,10	221,70	$\pm 98,65$	200,50	18,39	$\pm 6,44$	16,80	19,74	$\pm 4,66$	19,00
SOD (pg/mg protein)	5,56	$\pm ,76$	5,66	2,02	$\pm ,61$	2,30	4,85	$\pm 1,29$	5,11	5,74	$\pm 1,52$	5,40
GPx (pg/mg protein)	697,70	$\pm 157,44$	650,00	288,96	$\pm 57,86$	285,50	549,31	$\pm 97,03$	532,40	708,54	$\pm 176,86$	743,80
CAT (pg/mg protein)	33,77	$\pm 9,00$	31,40	23,62	$\pm 2,40$	24,00	30,71	$\pm 6,32$	29,90	31,77	$\pm 7,44$	30,90
Suzuki Skoru	,29	$\pm ,49$	,00	2,29	$\pm ,49$	2,00	,29	$\pm ,49$	,00	,14	$\pm ,38$	,00

Gruplar arasında serum ALT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre grup B deneklerin serum ALT düzeyi, kontrol grubu olan grup A deneklere göre anlamlı şekilde yükselmiştir. (p:0,001). I/R öncesinde 50 mg/kg geraniol uygulanan grup C deneklerin serum ALT düzeylerinde, sadece I/R yapılan grup B deneklere göre anlamlı şekilde azalma gözlenmiştir. (p:0,031) I/R öncesinde 100 mg/kg geraniol uygulanan grup D deneklerin serum ALT düzeylerinde, grup B deneklere göre azalma gözlenmiş olup, bu azalmada istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. (p:0,177)

Tablo 4: Serum ALT düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)

	ALT (U/L)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	11,80	±4,91	10,60	6,70	21,60
Grup B	172,25	±64,96	179,10	91,20	278,40
Grup C	21,95	±6,78	24,14	11,40	29,40
Grup D	26,84	±7,37	25,44	17,53	37,50

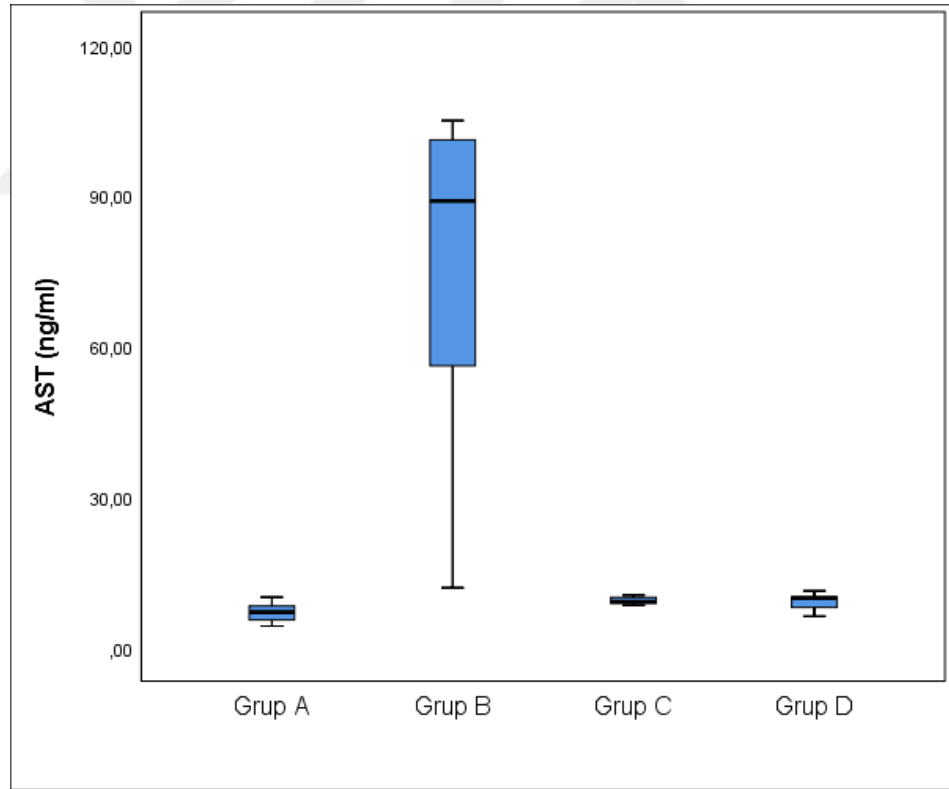


Şekil 11: Serum ALT düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında serum AST düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre Grup B deneklerin serum AST düzeyi, grup A deneklere göre anlamlı şekilde artmıştır. (p:0,001) Grup C deneklerin ve grup D deneklerin serum AST düzeyleri, grup B deneklere göre anlamlı şekilde azalmıştır. (p:0,02, p:0,046) Grup C ve grup D denekler arasında anlamlı fark saptanmamıştır. (p:1,00)

Tablo 5: Serum AST düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)

	AST (ng/ml)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	7,01	$\pm 2,16$	7,08	4,31	10,05
Grup B	87,36	$\pm 59,18$	89,00	11,95	196,00
Grup C	9,09	$\pm 1,42$	9,20	6,30	10,46
Grup D	8,86	$\pm 2,49$	9,86	4,50	11,32

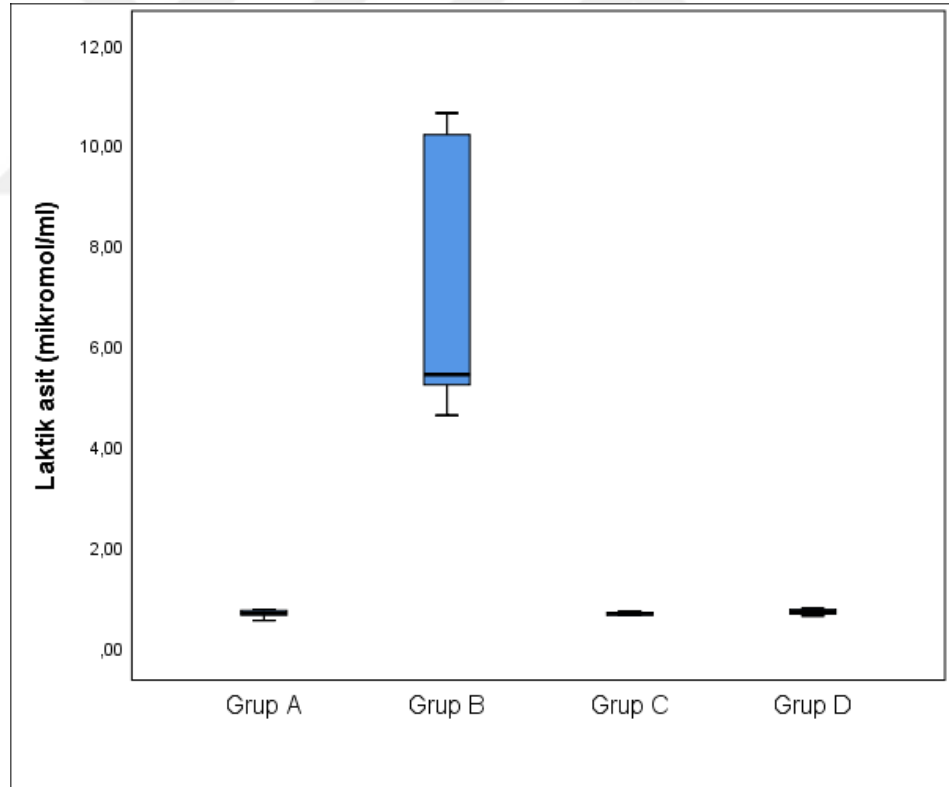


Şekil 12: Serum AST düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında serum laktik asit düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre grup B deneklerin serum laktik asit düzeyleri, grup A deneklere anlamlı şekilde yükselmiştir. (p:0,07) Grup C ve Grup D deneklerin serum laktik asit düzeyleri ise grup B deneklere göre anlamlı şekilde azalmıştır. (p:0,04, p:0,015) Grup C ve grup D denekler arasında anlamlı fark saptanmamıştır. (p:1,00)

Tablo 6: Serum Laktik asit düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)

	Laktik asit (mikromol/ml)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	,66	$\pm$,08	,66	,52	,74
Grup B	7,36	$\pm$ 2,82	5,42	4,61	10,63
Grup C	,58	$\pm$,21	,66	,11	,71
Grup D	,69	$\pm$,06	,68	,61	,76

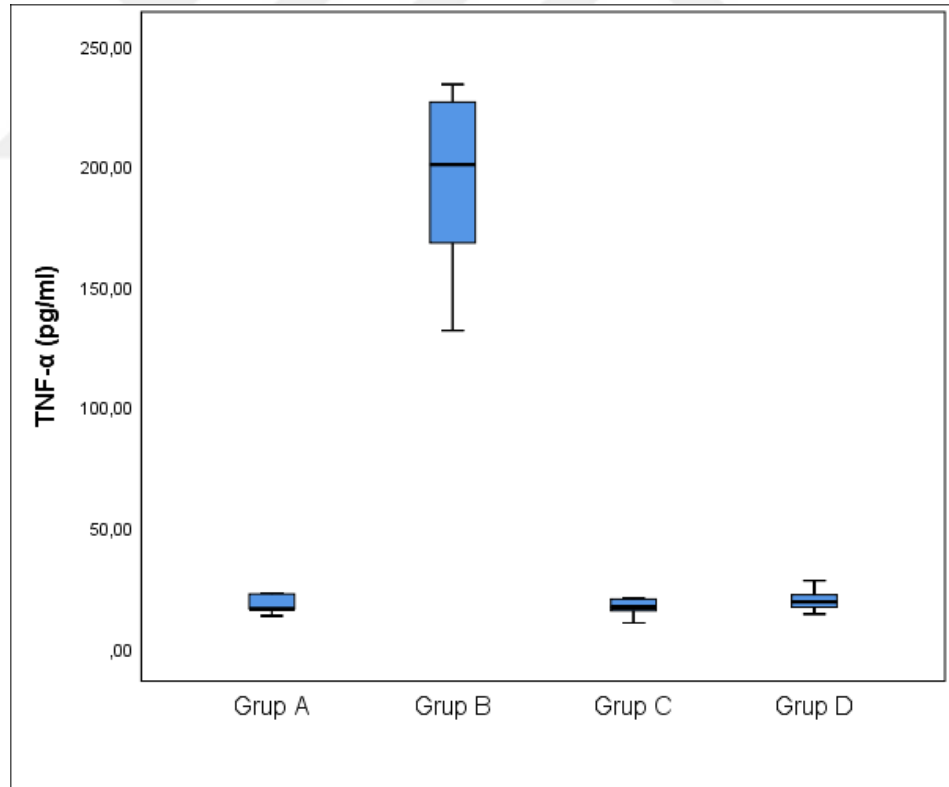


Şekil 13: Serum Laktik asit düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında serum TNF- α düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre Grup B deneklerin serum TNF- α düzeyleri, grup A deneklere göre anlamlı şekilde yükselmiştir. (p:0,011) Grup C ve grup D deneklerin serum TNF- α düzeyleri, grup B deneklere göre anlamlı şekilde azalmıştır. (p:0,004, p:0,015) Grup C ve grup D denekler arasında anlamlı fark saptanmamıştır. (p:1,00)

Tablo 7: Serum TNF- α düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması (Kruskal Wallis Testi)

	TNF- α (pg/ml)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	20,36	$\pm 7,90$	16,10	13,20	36,50
Grup B	221,70	$\pm 98,65$	200,50	131,60	431,00
Grup C	18,39	$\pm 6,44$	16,80	10,24	30,80
Grup D	19,74	$\pm 4,66$	19,00	13,90	27,80

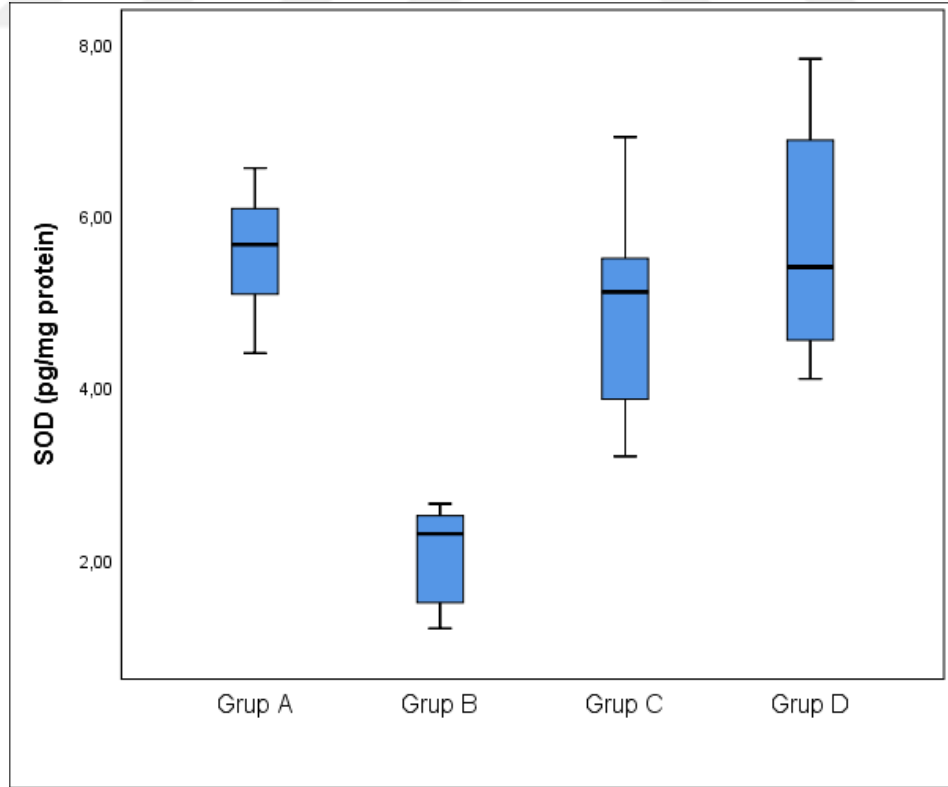


Şekil 14: Serum TNF- α düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre Grup B deneklerin karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyleri, grup A deneklere göre anlamlı şekilde azalmıştır. (p: 0,003) Grup D deneklerin karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyleri, grup B deneklere göre anlamlı şekilde artmıştır. (p: 0,003) Grup C deneklerin karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyleri, grup B deneklere göre artmış, ancak istatistiki olarak anlamlılık saptanmamıştır. (p: 0,059)

Tablo 8: Karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis Testi)

	SOD (pg/mg protein)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	5,56	$\pm,76$	5,66	4,40	6,55
Grup B	2,02	$\pm,61$	2,30	1,20	2,65
Grup C	4,85	$\pm 1,29$	5,11	3,20	6,91
Grup D	5,74	$\pm 1,52$	5,40	4,10	7,82

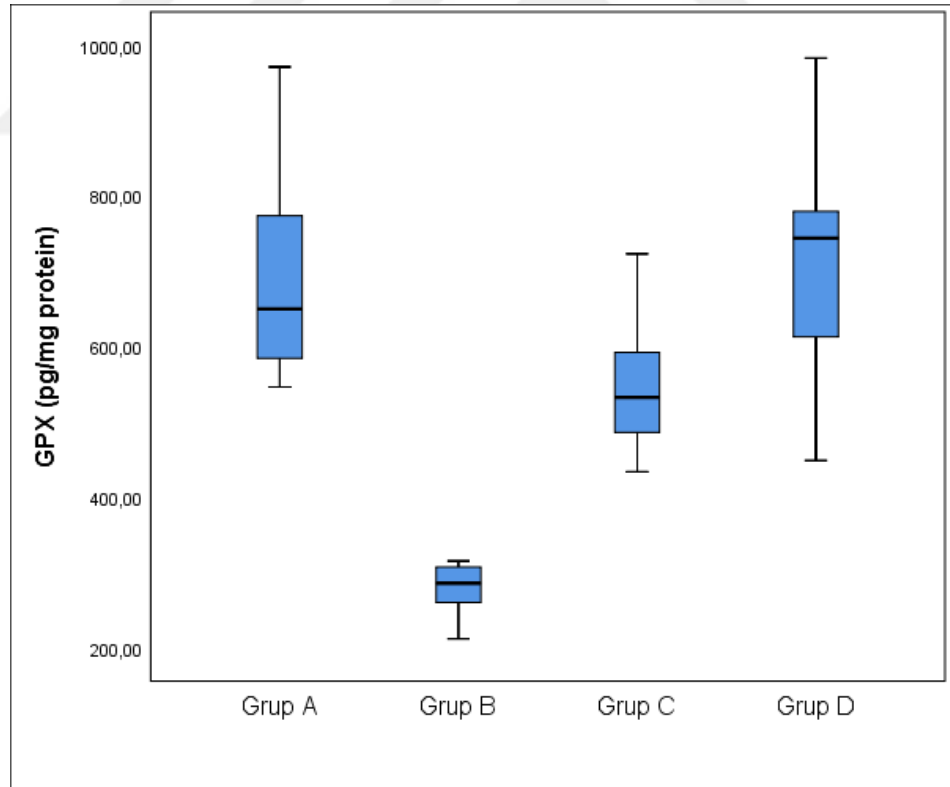


Şekil 15: Karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre grup B deneklerin karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyleri, grup A deneklere göre azalmıştır. (p: 0,002) Grup D deneklerin karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyleri, grup B deneklere göre anlamlı şekilde artmıştır. (p: 0,001) Grup C deneklerin karaciğer doku SOD enzim aktivite düzeyleri, grup B deneklere göre artmış, ancak istatistiki olarak anlamlılık saptanmamıştır. (p: 0,150)

Tablo 9: Karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis Testi)

	GPx (pg/mg protein)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	697,70	±157,44	650,00	546,20	971,40
Grup B	288,96	±57,86	285,50	211,60	391,60
Grup C	549,31	±97,03	532,40	433,60	723,00
Grup D	708,54	±176,86	743,80	448,50	983,00

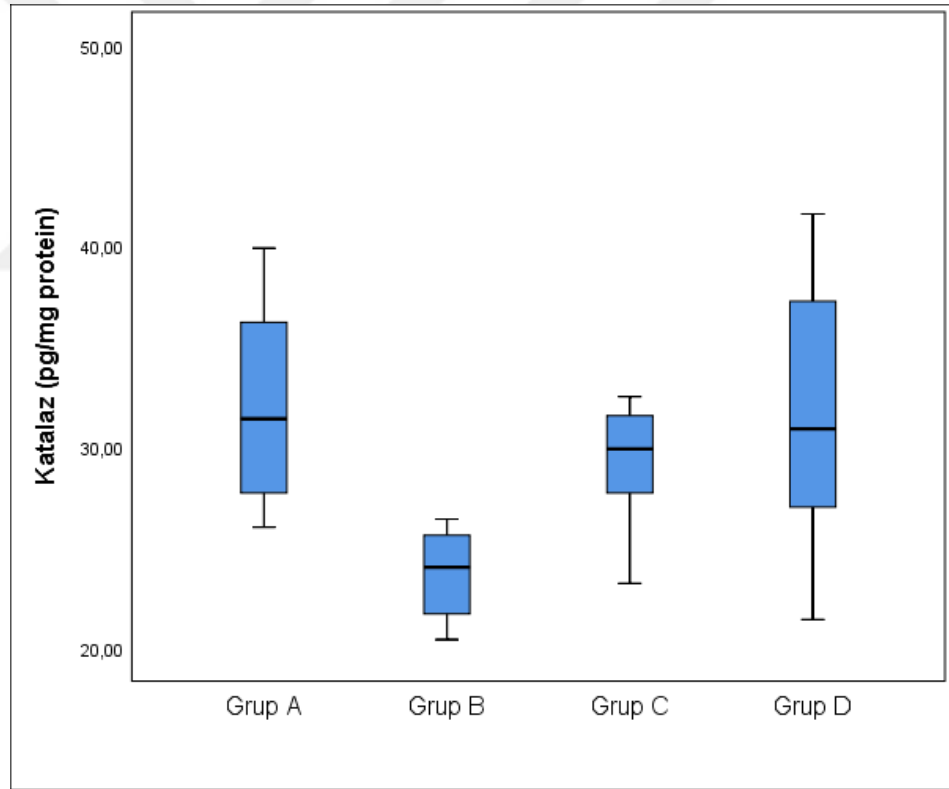


Şekil 16: Karaciğer doku GPx enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyleri karşılaştırılmıştır. Buna göre grup B deneklerin karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyleri, grup A deneklere göre azalmıştır. (p:0,22) Grup C ve grup D deneklerin karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyleri, grup B deneklere göre artmış, ancak istatistiki olarak anlamlılık saptanmamıştır.(p:0,097, 0,077)

Tablo 10: Karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis Testi)

	CAT (pg/mg protein)				
	Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Grup A	33,77	±9,00	31,40	26,00	51,20
Grup B	23,62	±2,40	24,00	20,40	26,40
Grup C	30,71	±6,32	29,90	23,20	43,40
Grup D	31,77	±7,44	30,90	21,40	41,60

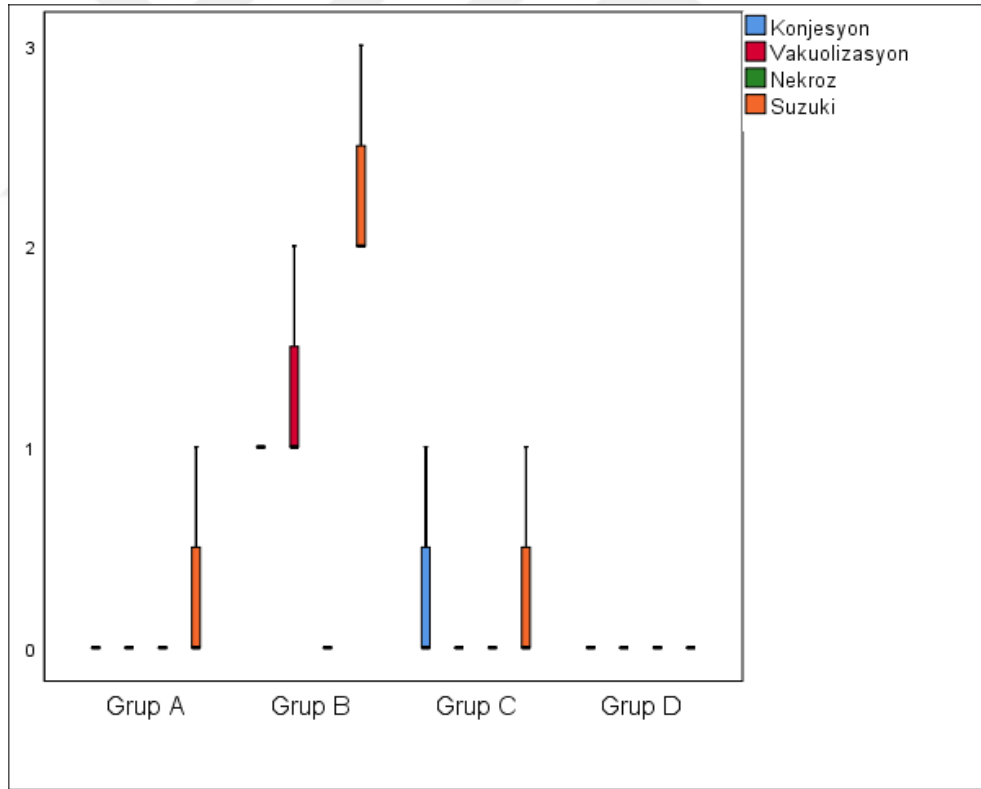


Şekil 17: Karaciğer doku CAT enzim aktivite düzeyinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arasında histopatolojik olarak değerlendirilen Suzuki skorları karşılaştırılmıştır. Buna göre Grup B deneklerin Suzuki skorları grup A deneklere göre anlamlı şekilde artmıştır. (p: 0,004) Grup C ve grup D deneklerin Suzuki skorları ise grup B deneklere göre anlamlı şekilde azalmıştır. (p:0,04, p:0,01) Grup C ve grup D denekler arasında anlamlı fark saptanmamıştır. (p:1,00)

Tablo 11: Suzuki parametrelerinin ve skorunun gruplara göre dağılımı (Kruskal Wallis testi)

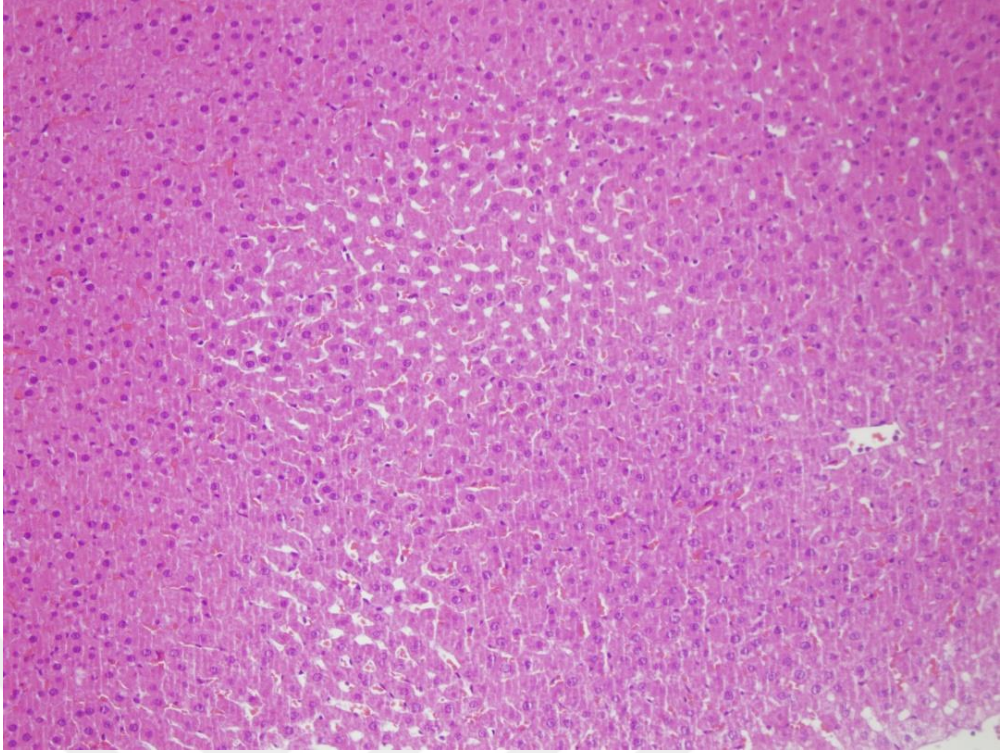
		Ort	s.s.	Medyan	Min	Max
Konjesyon	Grup A	,14	$\pm,38$	,00	,00	1,00
	Grup B	1,00	$\pm,00$	1,00	1,00	1,00
	Grup C	,29	$\pm,49$	,00	,00	1,00
	Grup D	,14	$\pm,38$	,00	,00	1,00
Vakuolizasyon	Grup A	,14	$\pm,38$	,00	,00	1,00
	Grup B	1,29	$\pm,49$	1,00	1,00	2,00
	Grup C	,00	$\pm,00$	,00	,00	,00
	Grup D	,00	$\pm,00$	,00	,00	,00
Nekroz	Grup A	,00	$\pm,00$	,00	,00	,00
	Grup B	,00	$\pm,00$	,00	,00	,00
	Grup C	,00	$\pm,00$	,00	,00	,00
	Grup D	,00	$\pm,00$	,00	,00	,00
Suzuki Skoru	Grup A	,29	$\pm,49$	,00	,00	1,00
	Grup B	2,29	$\pm,49$	2,00	2,00	3,00
	Grup C	,29	$\pm,49$	,00	,00	1,00
	Grup D	,14	$\pm,38$	,00	,00	1,00



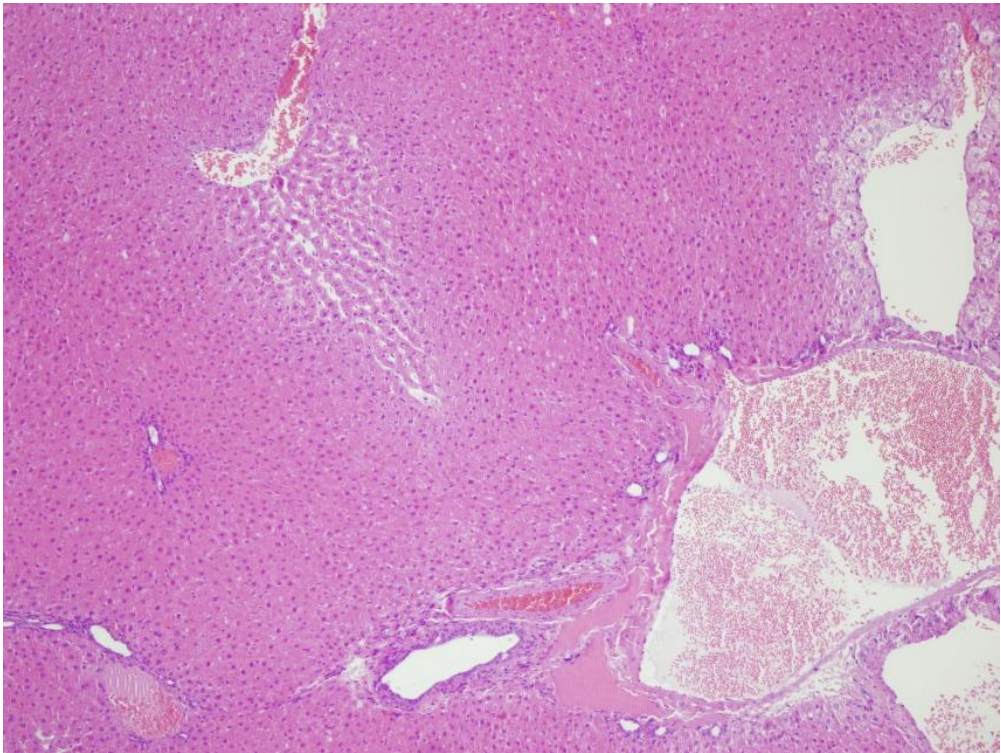
Şekil 18: Suzuki parametrelerinin ve skorunun gruplara göre dağılımı

Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

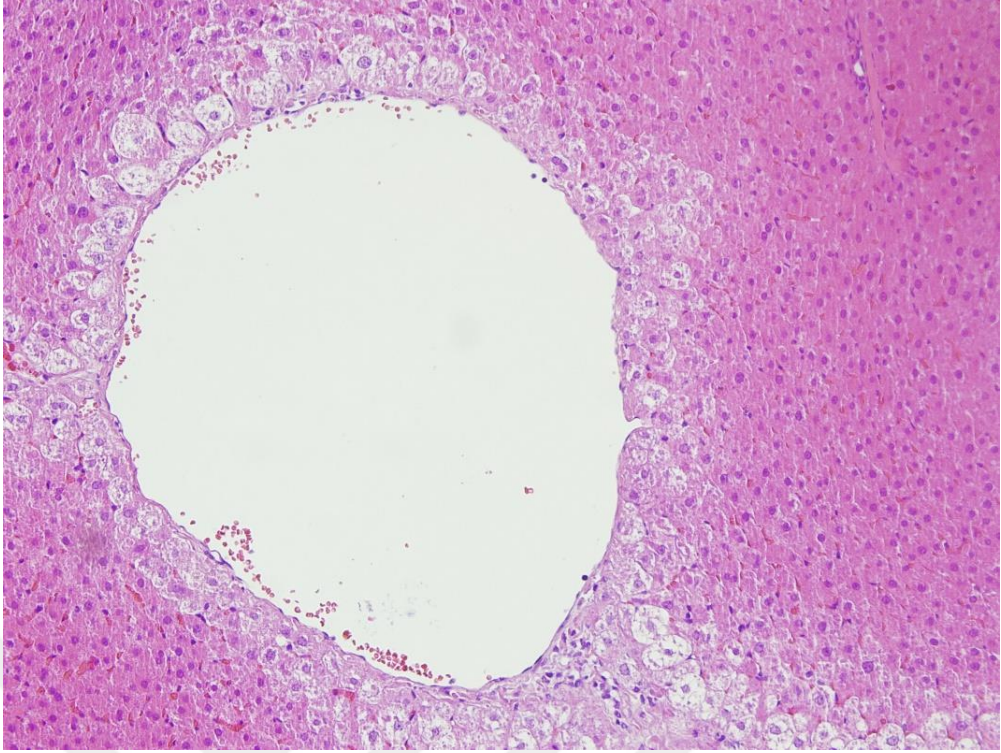
Histopatolojik olarak tüm gruplar tek bir patolog tarafından hepatik hasarı gösteren Suzuki Sınıflandırmasına göre konjesyon, vakuolizasyon ve nekroz parametreleri ile incelendi. Kontrol grubu incelendiğinde deneklerden bir tanesinde minimal vakuolizasyon (Suzuki skoru:1) , bir tanesinde minimal konjesyon (Suzuki skoru:1) saptanmakla birlikte, diğer denekler normaldi.(Suzuki skoru:0) (Şekil 19) I/R grubu incelendiğinde deneklerin tümünde minimal konjesyon, 2 tanesinde az miktarda vakuolizasyon ve diğerlerinde minimal vakuolizasyon saptandı. Böylece I/R grubunda 2 denekte orta derece karaciğer hasarı (Suzuki skoru:3) , diğer 5 denekte ise ılımlı derece karaciğer hasarı (Suzuki skoru:2) saptandı. (Şekil 20, Şekil 21) 50 mg/kg geraniol+ I/R grubu incelendiğinde 2 denekte minimal konjesyon (Suzuki skoru:1) saptanmakla birlikte diğer deneklerin normal olduğu görüldü. (Suzuki skoru:0). 100 mg/kg geraniol+ I/R grubu incelendiğinde ise 1 denekte minimal konjesyon saptanmakla birlikte (Suzuki skoru:1), diğer deneklerin normal olduğu tespit edildi. (Suzuki skoru:0). (Şekil 22) Histolojik olarak incelendiğinde deneklerden hiçbirinde nekroz tespit edilmedi.



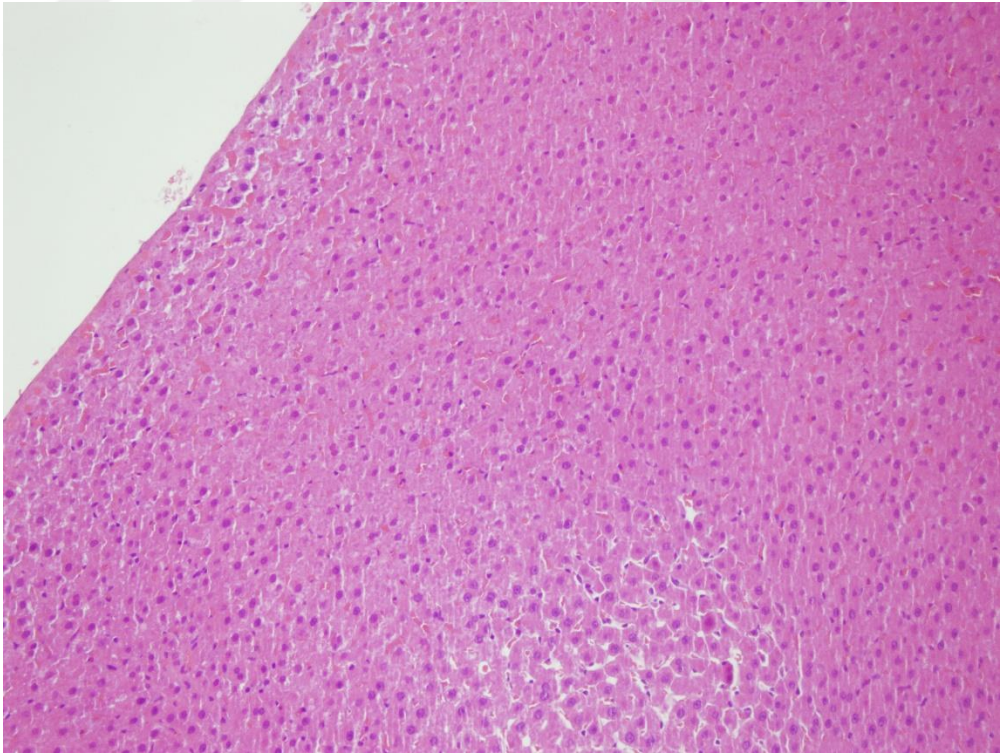
Şekil 19: Kontrol grubunda histopatolojik incelemede normal karaciğer parankimi (HE, X200)



Şekil 20: I/R grubunda portal ven ve santral vende konjesyon (HE, X40)



Şekil 21: I/R grubunda perisantral hepatositlerde vakuolizasyon (HE, X200)



Şekil 22: 100 mg/kg geraniol + I/R grubunda normal subkapsüler karaciğer parankimi (HE, X200)

5. TARTIŞMA

Hücrelerin dokuların ve organların ihtiyacı olan oksijen ve metabolitleri alamaması ve metabolizma sonucunda oluşan atıkları uzaklaştıramaması olarak tanımlanan iskemi, klinik olarak en sık görülen hücresel hasarlanma sebebidir. [1]

İskemi durumunda hipoksik kalan hücrelerde Na^+/K^+ ATPaz pompasının aktivitesinin azalması sonucunda, hücre içerisine giren su ve Na hücre şişmesine neden olur. Hipoksik hücrelerin enerji elde etme amacıyla anaerobik glikolize yönelmesi, hücre içerisinde laktik asit, inorganik fosfat birikimi ve dolayısıyla pH düşüşü ile sonuçlanır. Hücre içi pH'ın düşüşü birçok hücre içi enzimi çalışamaz hale getirirken Ca kanal aktivitesinin azalmasına bağlı olarak artan hücre içi Ca, fosfolipazlar, proteazlar ve endolipazlar gibi hücre içi enzimleri aktive ederek hücresel hasar oluşturur. Hücre içi su ve iyon dengesi homeostazisinin hipoksiye bağlı bozulması, mitokondriyal hasar gelişmesi, polimorfonükleer lökosit birikimi, kemokinlerin, SOR'lerin, $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve vazoaktif ajanların salınımı hasarı derinleştirir. Hipoksinin devam etmesiyle hasar geri dönüşümsüz hale gelir [1].

İskemik dokunun reperfüzyonu, iskemiye bağlı düşerek hücreyi nekrotik ölüme karşı koruyan hücre pH'ını yükselterek ve yine pH yükselmesine bağlı aktive olan proteaz ve fosfolipazların etkisiyle hücre hasarlanmasını paradoksik olarak arttırabilir. pH paradoksu olarak adlandırılan bu hasarlanma durumunda, reperfüzyon ile hücreye ulaşan moleküler oksijenin, enzimatik aktiviteler sonucunda redükte olarak SOR'leri oluşturması da önemli rol oynar [23]. İnsan vücudunda, bu SOR'lerinin zararlı etkilerini engellemeye ve oksidan dengenin sağlanmasına yönelik çalışan karmaşık antioksidan savunma mekanizmaları mevcuttur [2].

Günlük tıbbi pratikte birçok klinik durum I/R hasarı oluşturması nedeniyle I/R hasarı klinik önemini korumaktadır. Miyokard enfarktüsü, iskemik serebrovasküler olay, mezenterik vasküler tıkanıklar gibi vasküler temelli olaylarda ve şok, yanık, ileus, travma gibi hipovolemiye bağlı perfüzyonun bozulduğu durumlarda iskemi

gelişmekte, sonrasında yapılan müdahaleler ile dokuların perfüzyonunun sağlanması sonucunda reperfüzyon hasarı gelişmektedir [70–73]

Hepatik I/R hasarı kavramı ilk kez deneysel karaciğer transplantasyonu çalışması ile tıbbi literatüre girse de birçok farklı klinik senaryonun hepatik I/R hasarı oluşturduğu gösterilmiştir [25]. Karaciğer transplantasyonlarında organın çıkarılarak saklanması soğuk I/R hasarı süreci olarak adlandırılır. Karaciğer rezeksiyonlarında ve karaciğer travmalarında kanamanın azaltılmasına yönelik uygulanan pringle manevrası ve çeşitli klinik senaryolarla gelişen hipovolemik şok durumundaki hasar ise sıcak I/R hasarı olarak adlandırır [26].

Hepatik I/R hasarının karaciğer nakillerinde erken greft başarısızlığının ve diğer karaciğer cerrahilerinde önemli bir mortalite ve morbidite sebebi olması, özellikle son dekatta bu hasar mekanizmalarını anlamaya yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur [9]. Hasar mekanizmalarının anlaşılmasına başlanması ile birlikte deneysel çalışmalarda bu hasarı engellemeye yönelik birçok farmakolojik ajan ve cerrahi teknik denenmiştir [4,5].

Hepatik I/R hasarını azaltmaya yönelik uygulanan tedavi stratejilerinden biri dokunun uzun süre iskemik bırakılmadan önce, kısa aralıklarla iskemi ve reperfüzyon periyotlarına maruz bırakılması şeklinde uygulanan iskemik önkoşullandırma metodudur. Çeşitli cerrahi teknikler ve değişik süre periyotlarıyla uygulanabilen bu yöntem, endojen oksidan antioksidan dengesini düzenleyerek sinüzoidal endotel hücrelerini ve hepatositleri I/R hasarından korur [74–76].

Hepatik I/R hasarını engellemeye yönelik tedavi stratejilerinden bir diğeri ise farmakolojik ajanların kullanımıdır. Çeşitli çalışmalarda antioksidan ajanlar da dahil olmak üzere askorbik asit [77], gadolinium [78], SOD [79], CAT [80], eritropoetin [81], N-asetil sistein [82], glutamin [83], glutatyon [84], melatonin [85], crocin [86], quercetin [87], pregabalin [88], genistein [89], ibuprofen [90] gibi birçok farmakolojik ajan kullanılmıştır.

Geraniol; glutatyonu arttırması, lipid peroksidasyonunu azaltması, NF-κB ve COX-2 inhibisyonu yapması ve IL-10 aktivitesini arttırması gibi birçok farklı etki mekanizması ile antioksidan ve anti-inflamatuvar özellik gösteren monoterpen grubu bir alkaloiddir. Çalışmalarda molekülün farklı uygulama yolları ve dozlarında

antioksidan, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antitümöral, antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır [7]. 200 mg/kg enteral uygulaması ile metiyonin-kolin eksiklikliği ile indüklenmiş steatohepatit modelinde karaciğer hasarını azalttığı gösterilmiş, 100 mg/kg intraperitoneal uygulaması ile karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı, 50 mg/kg intraperitoneal uygulaması ile de H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif strese bağlı karaciğer hasarını engellediği tespit edilmiştir [64–66].

Biz de çalışmamızda hepatoprotektif ve antioksidan özellikleri literatürde irdelenen bu molekülün literatürle uyumlu [7] dozları olan 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarını intraperitoneal olarak Wistar Albino türü erkek sıçanlara uygulayarak, deneysel şekilde pringle manevrası ile oluşturduğumuz hepatik I/R hasarına karşı molekülün etkisini araştırdık. Çalışmada geraniol uygulamasından sonra molekülün farmakokinetik özelliklerine uygun olacak şekilde 15. dakikada pringle manevrası ile hepatik iskemi oluşturduk [60]. Çalışmamızda I/R sürelerini, pringle manevrasının klinik kullanımını ve bu konuda yapılmış deneysel çalışmaları göz önünde bulundurarak, 15 dakika iskemi ve 20 dakika reperfüzyon olacak şekilde belirledik. Deneklerin serum örneklerinde ALT, AST, TNF- α ve laktik asit düzeylerinin, karaciğer doku örneklerinden SOD, GPx ve CAT enzim aktivitelerinin ölçümünü gerçekleştirdik. Ayrıca karaciğer doku örneklerini hepatik hasarı gösteren konjesyon, vakuolizasyon ve nekroz parametrelerini içeren Suzuki skorlamasına göre değerlendirdik [69].

Çalışmamızda hepatik hasar belirteci olan ALT, AST düzeylerinde kontrol grubuna göre I/R grubunda anlamlı bir artış saptamıştır. 50 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ve 100 mg/kg geraniol+ I/R grubunda AST'de I/R grubuna göre anlamlı azalma tespit edilmiştir. 50 mg/kg geraniol grubunda ALT'de I/R grubuna göre anlamlı azalma gözlenirken, 100 mg/kg geraniol grubunda ALT düzeyinde öngördüğümüz ve literatürle uyumlu olacak şekilde azalma gözlenmemiştir. ALT düzeyinde beklenen azalma olmaması durumunun bir benzeri Andrade ve ark. tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada da tespit edilmiş, geraniol inhale eden sıçanların ALT düzeyleri azalmamakla kalmayıp, diğer gruplardakinden yüksek bulunmuştur. Çalışmada AST düzeyinde bu durum görülmemiştir [91]. Çalışmada bu yükseklik geraniolün inhalasyon yoluyla 30 gün uygulanmasının, hepatotoksik etkiler oluşturmaya bağlanmıştır. Bahsedilen çalışmanın yapılma biçimi geraniolün

uygulanma yolu ve süresinin çalışmamızdan tamamen farklı olması ve çalışmamızda ALT düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalması, durumun hepatotoksik etkilendenmeden çok, deneyin kısıtlı sayıda denekle yapılmış olması ile açıklanabilir. Fareler üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda geraniolün hepatotoksik dozu 120 mg/kg olarak belirlenmiştir [60]. Literatür incelendiğinde, kliniğimizde antioksidan özelliği bilinen flavonoid grubu genistein molekülü kullanılarak yapılmış deneysel hepatik I/R çalışmasında da, ALT ve AST düzeylerinin çalışmamıza benzer şekilde I/R grubunda kontrol grubuna göre arttığı, genistein grubunda ise azaldığı gösterilmiştir [89]. Yine kliniğimizde yapılmış medikal kontrol grubu olarak N-asetil sistein molekülünün kullanıldığı ve antioksidan özelliğe sahip pregabalin molekülünün, hepatik I/R hasarı modelinde etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada da çalışmamıza uygun olarak ALT, AST düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [88]. Ulaş ve ark.'nın 2018 yılında sıçanlara intraperitoneal olarak flavonoid grubu bir başka molekül olan quercetin vererek yaptıkları deneysel hepatik I/R çalışmasında, çalışmamıza benzer şekilde molekülün verilerek I/R yapılan grupta, sadece I/R yapılan gruba göre ALT ve AST düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir [87]. Tıbbi pratiğimizde mukolitik olarak kullanılan ambroksol molekülü ile sıçanlar üzerinde yapılmış deneysel hepatik I/R çalışmasında da çalışmamıza benzer şekilde, antioksidan ambroksol molekülünün verildiği gruplarda serum ALT, AST düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [92].

TNF- α ; hepatik I/R sürecinde, ağırlıklı olarak Kupffer hücrelerinden salınmakla birlikte karaciğerin tüm hücrelerinden salınabilen, hasara erken dönem yanıtta yer alan önemli sitokinlerden biridir [37]. Adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve nötrofil aktivasyonu sağlayan sitokinlerin salınımını arttırması ile hepatik I/R hasarı erken dönem yanıtta geç dönem yanıtta geçişte kilit rol oynamaktadır [93]. Çalışmamızda hepatik I/R hasarında kilit rol oynayan bu sitokinin serumdaki düzeylerini değerlendirdiğimizde, kontrol grubuna göre I/R grubunda anlamlı bir artış saptamıştır. 50 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ve 100 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ise I/R grubuna göre serum TNF- α düzeyinde anlamlı azalma tespit edilerek hipotezimiz ile uyumlu şekilde geraniol verilen grupların I/R hasarından daha az etkilendiği gösterilmiştir. Hepatik I/R hasarında koruyucu etkileri gösterilmiş silibinin, melatonin, glutatasyon, glutamin, curcumin gibi maddeler ile yapılan çalışmalarda da, çalışmamızla uyumlu şekilde iskemi ile artan serum TNF- α düzeylerinin ilgili moleküllerin verilmesi ile azaldığı gösterilmiştir [83,84,94–96].

İskemi durumunda anaerobik glikoliz yolağının aktive olması ile yolağın son ürünleri olan laktik asit ve inorganik fosfatın birikimi hücre içi pH'ı düşürmektedir. pH'ın düşmesi hücre içi enzimleri çalışamaz hale getirerek karaciğer hücre hasarının derinleşmesine neden olur [21]. Laktik asit fonksiyone karaciğerde, bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda pirüvata çevrilmektedir. Cori siklusu denilen bu laktat-pirüvat dönüşümünü gerçekleştirmesi karaciğerin önemli fizyolojik özelliklerinden biridir [97]. Doku perfüzyonu ile doğrudan bağlantılı olup miyokard enfarktüsü, şok, nekrotizan doku enfeksiyonu gibi durumlarda da yükselen laktik asit, iskemi ve karaciğer yetmezliğini göstermesi açısından önemli parametrelerden biridir. Çalışmamızda I/R grubunda serum laktik asit düzeyinin diğer gruplara göre belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. 50 mg/kg geraniol+ I/R grubu ve 100 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ise laktik asit düzeylerinin I/R grubuna göre daha düşük olduğu, fakat farklı doz ilaç verilen bu iki arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Peralta ve ark.'nın sıçanlar üzerinde yaptıkları deneysel hepatik I/R çalışmasında da, iskemik ön koşullanmanın adenosin monofosfat ile aktive edilmiş protein kinaz yoluyla hepatik hasarı ve bununla paralel şekilde bulgularımızda uyumlu olarak laktik asit düzeyini azalttığı gösterilmiştir [98].

SOD, anerobik solunum yapan organizmaların tamamında bulunan ve radikal oksijen türevi süpreoksit molekülünü, moleküler oksijen ve H_2O_2 ' ye dönüştüren bir metalloproteindir. SOD aktivitesi SOR'lerine karşı ilk savunma olup, bu aktivitedeki azalma oksidatif hasarın şiddeti ile ilişkilidir [49]. Çalışmamızda I/R grubunda karaciğer doku SOD aktivite düzeyinin diğer gruplara göre belirgin olarak düşük olduğu görülmüştür. 100 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ise karaciğer doku SOD düzeyinin I/R grubuna göre anlamlı olacak şekilde daha yüksek olduğu görülmesine rağmen, 50 mg/kg geraniol+ I/R grubunda artış gözükmeyle birlikte I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir. Bitkilerden elde edilen saponin grubu antioksidan özelliği bilinen dioscin molekülü ile sıçanlar üzerinde yapılan deneysel hepatik I/R çalışmasında da çalışmamıza benzer şekilde molekülün verildiği grupta SOD aktivitesinde artış ve hepatik hasarlanmada azalma gözlenmiştir [99]. Antioksidan özellikleri nedeniyle kullanımda olan all-trans retinoic asit, ambroksol, proantosiyanidin gibi moleküllerle yapılan deneysel hepatik I/R çalışmalarında antioksidan moleküllerin kullanılmasıyla çalışmamızdakine benzer şekilde SOD aktivitesinde artışı tespit edilmiştir [92,100,101]. Geraniol molekülünün farmakolojik

özelliklerinin irdelendiği bir çalışmada ise çalışmamızdan ve literatürden farklı olarak 4 hafta süre ile yüksek doz oral geraniol verilen sıçanlarda anlamlı SOD enzim aktivite artışı saptanmamıştır [60].

Çalışmamızda I/R grubunda karaciğer doku GPx düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuş olup, 100 mg/kg geraniol+ I/R grubunda bu aktivitenin I/R grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği tespit edilmiştir. 50 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ise I/R grubuna göre enzim aktivite düzeyinde artış görülmesine rağmen, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilememiştir. Organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlayarak oksidatif strese karşı membran lipidlerinin ve hemoglobinin korunmasında önemli rol oynayan GPx'in karaciğer dokusundaki aktivitesinin, geraniol verilen gruplarda yükselmiş olması, molekülün hepatik I/R hasarına karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır [52]. Literatür incelendiğinde hepatik I/R hasarında etkisi gösterilmiş genistein, infliksimab, gallik asit ve crocin gibi moleküllerin de GPx üzerinde benzer etkilerinin olması, çalışmamızı destekler niteliktedir [89,102–104].

CAT, H_2O_2 'nin bir molekül oksijen ve iki molekül suya çevrilmesini sağlayarak oksidatif stresi engellemeye yönelik çalışan enzimlerden biridir [50]. CAT aktivitesinin araştırıldığı deneysel hepatik I/R çalışmalarına ilişkin literatür incelendiğinde hepatik I/R hasarında etkisi gösterilmiş antioksidan moleküller olan crocin, dioscin ve tokoferol gibi maddelerle CAT aktivitesinin anlamlı şekilde arttığı görülmüştür [99,104,105]. Çalışmamızda, I/R grubunda literatür ile uyumlu şekilde CAT karaciğer doku aktivitesi en düşük olarak saptanmıştır. 50 mg/kg geraniol+ I/R ve 100 mg/kg geraniol+ I/R grubunda, I/R grubuna göre CAT aktivitesi yüksek olmakla beraber, istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme tespit edilmemiştir. Geraniol molekülü verilen deneklerde CAT karaciğer doku enzim aktivitesinde artış eğilimi görülmesine rağmen, bu artışın istatistiki olarak anlamlılık gösterememesi, çalışmanın kısıtlı sayıda denek ile yapılmış olmasına bağlanmıştır.

Çalışmamızda karaciğer doku örnekleri konjesyon, vakuolizasyon ve nekroz gibi parametrelerin incelenmesini içeren Suzuki sınıflamasına göre değerlendirilmiştir [69]. Lai ve ark.'nın 2019 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada antioksidan olarak kullanılan asetil-3-aminoetil salisilat molekülünün HMGB-1/TLR4 yolağını engelleyerek karaciğer hasarını engellediği ve Suzuki skorunu düşürdüğü tespit

edilmiştir [106]. Kamada metodu ile karaciğer transplantasyonu yapılan sıçanlarda hepatik I/R hasarının incelendiği bir diğer çalışmada da zolendronat lipozomun uygulandığı sıçanlarda, uygulanmayanlara göre AST, ALT, LDH ve GGT gibi değerlerin yanında Suzuki skorunun da düşük olduğu tespit edilmiştir [107]. Değerlendirmemizde diğer parametrelere ve literatür incelememize uygun şekilde I/R grubunda hepatik hasarın göstergesi olan Suzuki skorunun da diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. 50 mg/kg geraniol+ I/R grubunda ve 100 mg/kg geraniol+ I/R grupları arasında ise Suzuki skoru açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Deneklerin hiçbirinde nekroz gelişmemiş olması iskemi süresinin kısa olması ile açıklanabilir.



6. SONUÇ

Çalışmalarda geraniol molekülünün farklı uygulama yolları ve dozlarında antioksidan, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antitümöral, antimikrobiyal etki gibi birçok etkisinin olduğu gösterilmiştir. Molekülün bu özellikleri göz önünde bulundurularak, I/R hasarının ciddi sonuçlar doğurduğu planlı ve acil karaciğer ameliyatlarında, karaciğer iskemisi oluşan durumlarda kullanılabileceği düşünülmüştür. Biz de çalışmamızda sıçanlarda deneysel karaciğer I/R hasarı oluşturarak geraniol molekülünün biyokimyasal ve histopatolojik olarak I/R hasarını azaltabileceğini gösterdik. Hakkında oluşmuş literatüre çalışmamızla katkı sunduğumuz bu düşüncenin tıbbi pratiğimizde karşılık bulması, molekülün klinikte insanlar üzerinde uygulanabilmesi için, daha ileri düzeyde, kapsamlı, çok merkezli ve çok sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu da yadsınamaz bir gerçektir.

7. KAYNAKLAR

1. Vinay Kumar, MBBS, MD Frcp, Abul K. Abbas M, Jon C. Aster, MD P. Robbins Essential Pathology. Elsevier. 2021
2. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J. 2012 Jan;5(1):9–19.
3. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol. 2017;44(2):532–53.
4. Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-E-Silva O. Ischemia/Reperfusion Injury Revisited: An Overview of the Latest Pharmacological Strategies. Int J Mol Sci. 2019 Oct;20(20).
5. Wu M-Y, Yiang G-T, Liao W-T, Tsai AP-Y, Cheng Y-L, Cheng P-W, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol. 2018;46(4):1650–67.
6. Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. Am J Physiol. 1991 Mar;260(3 Pt 1):G355-62.
7. Yu Lei, Peng Fu, Xie Jun PC. Pharmacological Properties of Geraniol – A Review. World J Pharm Res. 2017;2489–503.
8. Townsend C.M, Beauchamp R.D, Evers B.M et al. Sabiston Textbook of Surgery, 20th Ed Elsevier. 2017. 1689–1699 p.
9. Behrns KE. Surgical Anatomy and Technique: A Pocket Manual. Vol. 70, Mayo Clinic Proceedings. 1995. 1022 p.
10. Arıncı K, Elhan A. Anatomi, 1. Cilt, 7. Baskı. Güneş Tıp Kitabevi A 2020; s:265-273. No Title.
11. EMRE A, TEKANT Y, editors. Hepatopankreatobiliyer Cerrahi. 1. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2009. 11–27 p.
12. COUINAUD C. [Liver lobes and segments: notes on the anatomical architecture and surgery of the liver]. Presse Med. 1954 May;62(33):709–12.

13. Brunicaudi F.C. Schwartz Principles of Surgery.11th Edition. McGraw-Hill. 2019
14. Vdoviaková K, Vdoviaková K, Petrovová E, Krešáková L, Maloveská M, Teleky J, et al. Importance Rat Liver Morphology and Vasculature in Surgical Research. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2016 Dec;22:4716–28.
15. Ovalle WK. Netter's Essential Histology with Correlated Histopathology.3th Edition.Elsevier.2021.
16. Gartner LP. Text Book Of Histology Fourth Edition. Vol. 14. Elsevier. 2017.
17. Yogesh Ashok S. MBBS MD. Textbook of Human Histology. CBS Publishers.2020.
18. John E. Hall, PhD. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 13th Edition. Elsevier. 2016.
19. Pringle JH. V. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due to Trauma. *Ann Surg*. 1908 Oct;48(4):541–9.
20. Helling TS, Azoulay D. Historical foundations of liver surgery. *Historical Foundations of Liver Surgery*. 2020. 1–147 p.
21. Simon Herrington C. Muir's Textbook Of Pathology.15th Edition. CRC Press.2014
22. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int*. 1999 Feb;49(2):91–102.
23. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Ischemia/Reperfusion. *Compr Physiol*. 2016 Dec;7(1):113–70.
24. Mendes-Braz M, Elias-Miró M, Jiménez-Castro MB, Casillas-Ramírez A, Ramalho FS, Peralta C. The current state of knowledge of hepatic ischemia-reperfusion injury based on its study in experimental models. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:298657.
25. Toledo-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. *Am J Surg*. 1975 May;129(5):513–7.
26. Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003 Aug;18(8):891–902.
27. Jaeschke H. Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact*. 1991;79(2):115–36.

28. Konishi T, Lentsch AB. Hepatic Ischemia/Reperfusion: Mechanisms of Tissue Injury, Repair, and Regeneration. *Gene Expr.* 2017 Nov;17(4):277–87.
29. Tsung A, Klune JR, Zhang X, Jeyabalan G, Cao Z, Peng X, et al. HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4 dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling. *J Exp Med.* 2007 Nov;204(12):2913–23.
30. Tsung A, Hoffman RA, Izuishi K, Critchlow ND, Nakao A, Chan MH, et al. Hepatic ischemia/reperfusion injury involves functional TLR4 signaling in nonparenchymal cells. *J Immunol.* 2005 Dec;175(11):7661–8.
31. Nace GW, Huang H, Klune JR, Eid RE, Rosborough BR, Korff S, et al. Cellular-specific role of toll-like receptor 4 in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Hepatology.* 2013 Jul;58(1):374–87.
32. Laan M, Cui ZH, Hoshino H, Lötval J, Sjöstrand M, Gruenert DC, et al. Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways. *J Immunol.* 1999 Feb;162(4):2347–52.
33. Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Pagé N, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 Sep;108(3):430–8.
34. Khandoga A, Biberthaler P, Enders G, Axmann S, Hutter J, Messmer K, et al. Platelet adhesion mediated by fibrinogen-intercellular adhesion molecule-1 binding induces tissue injury in the postischemic liver in vivo. *Transplantation.* 2002 Sep;74(5):681–8.
35. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DAJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest.* 1990 Jun;85(6):1936–43.
36. Wanner GA, Ertel W, Müller P, Höfer Y, Leiderer R, Menger MD, et al. Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation. *Shock.* 1996 Jan;5(1):34–40.
37. Colletti LM, Cortis A, Lukacs N, Kunkel SL, Green M, Strieter RM. Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat. *Shock.* 1998 Sep;10(3):182–91.

38. Leifeld L, Cheng S, Ramakers J, Dumoulin F-L, Trautwein C, Sauerbruch T, et al. Imbalanced intrahepatic expression of interleukin 12, interferon gamma, and interleukin 10 in fulminant hepatitis B. *Hepatology*. 2002 Oct;36(4 Pt 1):1001–8.
39. Husted TL, Blanchard J, Schuster R, Shen H, Lentsch AB. Potential role for IL-23 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Inflamm Res Off J Eur Histamine Res Soc* . [et al]. 2006 May;55(5):177–8.
40. Li JD, Peng Y, Peng XY, Li QL, Li Q. Suppression of nuclear factor-kappaB activity in Kupffer cells protects rat liver graft from ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc*. 2010 Jun;42(5):1582–6.
41. Luedde T, Assmus U, Wüstefeld T, Meyer zu Vilsendorf A, Roskams T, Schmidt-Supprian M, et al. Deletion of IKK2 in hepatocytes does not sensitize these cells to TNF-induced apoptosis but protects from ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest*. 2005 Apr;115(4):849–59.
42. Lakshminarayanan V, Drab-Weiss EA, Roebuck KA. H₂O₂ and tumor necrosis factor-alpha induce differential binding of the redox-responsive transcription factors AP-1 and NF-kappaB to the interleukin-8 promoter in endothelial and epithelial cells. *J Biol Chem*. 1998 Dec;273(49):32670–8.
43. Sawaya DEJ, Zibari GB, Minardi A, Bilton B, Burney D, Granger DN, et al. P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion. *Shock*. 1999 Sep;12(3):227–32.
44. Yadav SS, Howell DN, Gao W, Steeber DA, Harland RC, Clavien PA. L-selectin and ICAM-1 mediate reperfusion injury and neutrophil adhesion in the warm ischemic mouse liver. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6):G1341-52.
45. Farhood A, McGuire GM, Manning AM, Miyasaka M, Smith CW, Jaeschke H. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *J Leukoc Biol*. 1995 Mar;57(3):368–74.
46. Güneş M. Oksidatif Strese Maruz Kalan Ratlarda Geraniol ve Geraniol Ksantat Maddelerinin Bazı Metaller Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
47. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol*. 2018 Jun;217(6):1915–28.

48. Ma X, He P, Sun P, Han P. Lipoic acid: an immunomodulator that attenuates glycinin-induced anaphylactic reactions in a rat model. *J Agric Food Chem*. 2010 Apr;58(8):5086–92.
49. Yang W, Li J, Hekimi S. A Measurable Increase in Oxidative Damage Due to Reduction in Superoxide Detoxification Fails to Shorten the Life Span of Long-Lived Mitochondrial Mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* [Internet]. 2007 Dec 1;177(4):2063–74. Available from: <https://doi.org/10.1534/genetics.107.080788>
50. Nandi A, Yan L-J, Jana CK, Das N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:9613090.
51. Gathwala G, Aggarwal R. Selenium supplementation for the preterm Indian neonate. *Indian J Public Health*. 2016;60(2):142–4.
52. Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *J Food Biochem*. 2020 Mar;44(3):e13145.
53. Jee J-P, Lim S-J, Park J-S, Kim C-K. Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft fur Pharm Verfahrenstechnik eV*. 2006 Jun;63(2):134–9.
54. Barros AIRNA, Nunes FM, Gonçalves B, Bennett RN, Silva AP. Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). *Food Chem*. 2011 Sep;128(1):165–72.
55. Terpin P, Polak T, Segatin N, Hanzlowsky A, Ulrih NP, Abramovič H. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. *Food Chem*. 2011 Sep;128(1):62–9.
56. Zielińska-Błajet M, Feder-Kubis J. Monoterpenes and Their Derivatives-Recent Development in Biological and Medical Applications. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep;21(19).
57. Zhang Y-F, Huang Y, Ni Y-H, Xu Z-M. Systematic elucidation of the mechanism of geraniol via network pharmacology. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13:1069–75

58. Lapczynski A, Bhatia SP, Foxenberg RJ, Letizia CS, Api AM. Fragrance material review on geraniol. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(11 SUPPL.):160–70.
59. Jiang G-Z, Yao M-D, Wang Y, Zhou L, Song T-Q, Liu H, et al. Manipulation of GES and ERG20 for geraniol overproduction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab Eng.* 2017 May;41:57–66.
60. Pavan B, Dalpiaz A, Marani L, Beggiato S, Ferraro L, Canistro D, et al. Geraniol Pharmacokinetics, Bioavailability and Its Multiple Effects on the Liver Antioxidant and Xenobiotic-Metabolizing Enzymes [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Pharmacology*. 2018. p. 18. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2018.00018>
61. De Fazio L, Spisni E, Cavazza E, Strillacci A, Candela M, Centanni M, et al. Dietary Geraniol by Oral or Enema Administration Strongly Reduces Dysbiosis and Systemic Inflammation in Dextran Sulfate Sodium-Treated Mice. *Front Pharmacol.* 2016;7:38.
62. Leite MCA, de Brito Bezerra AP, de Sousa JP, de Oliveira Lima E. Investigating the antifungal activity and mechanism(s) of geraniol against *Candida albicans* strains. *Med Mycol.* 2015 Apr;53(3):275–84.
63. Pereira F de O, Mendes JM, Lima IO, Mota KS de L, Oliveira WA de, Lima E de O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. *Pharm Biol.* 2015 Feb;53(2):228–34.
64. Chen J, Fan X, Zhou L, Gao X. Treatment with geraniol ameliorates methionine-choline-deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016 Jul;31(7):1357–65.
65. Ceyhan E, Canbek M. Determining the Effects of Geraniol on Liver Regeneration Via the Nuclear Factor κ B Pathway After Partial Hepatectomy. *Altern Ther Health Med.* 2017 May;23(3):38–45.
66. Ozkaya A, Sahin Z, Gorgulu AO, Yuce A, Celik S. Geraniol attenuates hydrogen peroxide-induced liver fatty acid alterations in male rats. *J Intercult Ethnopharmacol.* 2017;6(1):29–35.
67. Prasad SN, Muralidhara. Protective effects of geraniol (a monoterpene) in a diabetic neuropathy rat model: attenuation of behavioral impairments and biochemical perturbations. *J Neurosci Res.* 2014 Sep;92(9):1205–16.

68. Jayachandran M, Chandrasekaran B, Namasivayam N. Effect of geraniol, a plant derived monoterpene on lipids and lipid metabolizing enzymes in experimental hyperlipidemic hamsters. *Mol Cell Biochem.* 2015 Jan;398(1–2):39–53.
69. Suzuki S, Nakamura S, Sakaguchi T, Ochiai H, Konno H, Baba S, et al. Alteration of reticuloendothelial phagocytic function and tumor necrosis factor- α production after total hepatic ischemia. *Transplantation* [Internet]. 1997;64(6):821–7. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/9326405>
70. Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest.* 2013 Jan;123(1):92–100.
71. Wang J, Zhang W, Wu G. Intestinal ischemic reperfusion injury: Recommended rats model and comprehensive review for protective strategies. *Biomed Pharmacother.* 2021 Jun;138:111482.
72. Cope Z. Principles of Surgery. Vol. 2, Bmj. 1948. 300–300 p.
73. Kubiak BD, Albert SP, Gatto LA, Vieau CJ, Roy SK, Snyder KP, et al. A clinically applicable porcine model of septic and ischemia/reperfusion-induced shock and multiple organ injury. *J Surg Res.* 2011 Mar;166(1):e59-69.
74. Rodríguez A, Taurà P, García Domingo MI, Herrero E, Camps J, Forcada P, et al. Hepatic cytoprotective effect of ischemic and anesthetic preconditioning before liver resection when using intermittent vascular inflow occlusion: a randomized clinical trial. *Surgery.* 2015 Feb;157(2):249–59.
75. Suyavaran A, Thirunavukkarasu C. Preconditioning methods in the management of hepatic ischemia reperfusion- induced injury: Update on molecular and future perspectives. *Hepato Res.* 2017 Jan;47(1):31–48.
76. Adam ANI. Some mechanisms of the protective effect of ischemic preconditioning on rat liver ischemia-reperfusion injury. *Int J Gen Med.* 2014;7:483–9.
77. Lee W-Y, Lee J-S, Lee S-M. Protective effects of combined ischemic preconditioning and ascorbic acid on mitochondrial injury in hepatic ischemia/reperfusion. *J Surg Res.* 2007 Sep;142(1):45–52.
78. Bailey SM, Reinke LA. Antioxidants and gadolinium chloride attenuate hepatic parenchymal and endothelial cell injury induced by low flow ischemia and reperfusion in perfused rat livers. *Free Radic Res.* 2000 Jun;32(6):497–506.

79. Ildefonso JA, Arias-Díaz J. [Pathophysiology of liver ischemia-reperfusion injury]. *Cir Esp*. 2010 Apr;87(4):202–9.
80. Yabe Y, Nishikawa M, Tamada A, Takakura Y, Hashida M. Targeted delivery and improved therapeutic potential of catalase by chemical modification: combination with superoxide dismutase derivatives. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999 May;289(2):1176–84.
81. Fu W, Liao X, Ruan J, Li X, Chen L, Wang B, et al. Recombinant human erythropoietin preconditioning attenuates liver ischemia reperfusion injury through the phosphatidylinositol-3 kinase/AKT/endothelial nitric oxide synthase pathway. *J Surg Res*. 2013 Aug;183(2):876–84.
82. Keles MS, Demirci N, Yildirim A, Atamanalp SS, Altinkaynak K. Protective effects of N-acetylcysteine and Ginkgo biloba extract on ischaemia-reperfusion-induced hepatic DNA damage in rats. *Clin Exp Med* [Internet]. 2008;8(4):193–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10238-008-0005-1>
83. Nickkholgh A, Li Z, Yi X, Mohr E, Liang R, Mikalauskas S, et al. Effects of a Preconditioning Oral Nutritional Supplement on Pig Livers after Warm Ischemia. Lemasters JJ, editor. *HPB Surg* [Internet]. 2012;2012:783479. Available from: <https://doi.org/10.1155/2012/783479>
84. Suyavaran A, Ramamurthy C, Mareeswaran R, Subastri A, Lokeswara Rao P, Thirunavukkarasu C. TNF- α suppression by glutathione preconditioning attenuates hepatic ischemia reperfusion injury in young and aged rats. *Inflamm Res* [Internet]. 2015;64(1):71–81. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0785-6>
85. Kireev R, Bitoun S, Cuesta S, Tejerina A, Ibarrola C, Moreno E, et al. Melatonin treatment protects liver of Zucker rats after ischemia/reperfusion by diminishing oxidative stress and apoptosis. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2013;701(1):185–93. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299912009697>
86. Mard SA, Akbari G, Dianat M, Mansouri E. Protective effects of crocin and zinc sulfate on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats: a comparative experimental model study. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2017;96:48–55. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332217320978>

87. Uylaş MU, Şahin A, Şahintürk V, Alataş İÖ. Quercetin dose affects the fate of hepatic ischemia and reperfusion injury in rats: An experimental research. *Int J Surg* [Internet]. 2018;53:117–21. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919118306423>
88. Umman V. Sıçanlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Deneysel Modelinde ‘Pregabalin’in İskemik Hasar Üzerine Etkisi. Genel Cerrahi uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 2019.
89. Akinci O, Durgun V, Kepil N, Ergun S, Tosun Y, Goksoy E. The role of genistein in experimental hepatic ischemia–reperfusion model in rats. *Bratisl Lek Listy*. 2019;120(8):558–62.
90. Konukoglu D, Taşci I, Cetinkale O. Effects of cyclosporin A and ibuprofen on liver ischemia-reperfusion injury in the rat. *Clin Chim Acta*. 1998 Jul;275(1):1–8.
91. Andrade BFMT, Braga CP, Dos Santos KC, Barbosa LN, Rall VLM, Sforcin JM, et al. Effect of Inhaling Cymbopogon martinii Essential Oil and Geraniol on Serum Biochemistry Parameters and Oxidative Stress in Rats. *Biochem Res Int*. 2014;2014:493183.
92. Jiang K, Wang X, Mao X, Lao H, Zhang J, Wang G, et al. Ambroxol Alleviates Hepatic Ischemia Reperfusion Injury by Antioxidant and Antiapoptotic Pathways. *Transplant Proc* [Internet]. 2013;45(6):2439–45. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041134513004958>
93. Perry BC, Soltys D, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Tumor necrosis factor- α in liver ischemia/reperfusion injury. *J Investig Surg Off J Acad Surg Res*. 2011;24(4):178–88.
94. Kyriakopoulos G, Tsaroucha AK, Valsami G, Lambropoulou M, Kostomitsopoulos N, Christodoulou E, et al. Silibinin Improves TNF- α and M30 Expression and Histological Parameters in Rat Kidneys After Hepatic Ischemia/Reperfusion. *J Investig Surg Off J Acad Surg Res*. 2018 Jun;31(3):201–9.
95. Sun C-K, Chen C-H, Chang C-L, Chiang H-J, Sung P-H, Chen K-H, et al. Melatonin treatment enhances therapeutic effects of exosomes against acute liver ischemia-reperfusion injury. *Am J Transl Res*. 2017;9(4):1543–60.

96. Lin CM, Lee JF, Chiang LL, Chen CF, Wang D, Su CL. The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion-induced liver injury. *Transplant Proc.* 2012 May;44(4):974–7.
97. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clin Proc.* 2013 Oct;88(10):1127–40.
98. Peralta C, Bartrons R, Serafin A, Blázquez C, Guzmán M, Prats N, et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Hepatology.* 2001 Dec;34(6):1164–73.
99. Tao X, Wan X, Xu Y, Xu L, Qi Y, Yin L, et al. Dioscin attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats through inhibition of oxidative-nitrative stress, inflammation and apoptosis. *Transplantation.* 2014 Sep;98(6):604–11.
100. Rao J, Zhang C, Wang P, Lu L, Zhang F. All-trans retinoic acid alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury by enhancing manganese superoxide dismutase in rats. *Biol Pharm Bull.* 2010;33(5):869–75.
101. Song X, Xu H, Feng Y, Li X, Lin M, Cao L. Protective effect of grape seed proanthocyanidins against liver ischemic reperfusion injury: particularly in diet-induced obese mice. *Int J Biol Sci.* 2012;8(10):1345–62.
102. Yucel AF, Pergel A, Aydin I, Alacam H, Karabicak I, Kesicioglu T, et al. Effect of infliximab on acute hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(11):21287–94.
103. Bayramoglu G, Kurt H, Bayramoglu A, Gunes HV, Degirmenci İ, Colak S. Preventive role of gallic acid on hepatic ischemia and reperfusion injury in rats. *Cytotechnology.* 2015 Oct;67(5):845–9.
104. Akbari G, Mard SA, Dianat M, Mansouri E. The Hepatoprotective and MicroRNAs Downregulatory Effects of Crocin Following Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1702967.
105. Soltys K, Dikdan G, Koneru B. Oxidative stress in fatty livers of obese Zucker rats: rapid amelioration and improved tolerance to warm ischemia with tocopherol. *Hepatology.* 2001 Jul;34(1):13–8.
106. Lai X, Gong J, Wang W, Cao D, Wang M, Liu Y, et al. Acetyl-3-Aminoethyl Salicylate Ameliorates Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury and Liver Graft Survival Through a High-Mobility Group Box 1/Toll-Like Receptor 4-

Dependent Mechanism. Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis
Int Liver Transplant Soc. 2019 Aug;25(8):1220–32.

107. Zhao Q-H, Han F, Wu K, Zhang J, Xia T-F, Chen J, et al. Protective Effects of Apoptosis of Kupffer Cells Induced by Zoledronate Liposomes Following Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. Ann Transplant. 2018 Nov;23:815–21.

