

T.C.
Sağlık Bakanlığı
Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi
2.Genel Cerrahi Kliniği
şef:Prof.Dr.Servet Rüştü KARAHAN

**DENEYSEL TIKANMA İKTERİNDE CURCUMİNİN OKSİDATİF STRES
VE HEPATİK HASAR İLİşKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
(Deneysel Çalışma)

Dr.Osman Bilgin GÜLÇİÇEK

İSTANBUL 2008

ÖNSÖZ

Bana her konuda destek olup yönlendiren, bilgi, beceri ve deneyimlerini aktaran ve uzmanlık eğitimim boyunca bu günlere gelmemde çok büyük emeği geçen, ilgi ve sevgisini hiçbir zaman eksiltmeyen çok değerli hocam sayın Prof.Dr.Servet Rüştü KARAHAN'a;

Bilgi ve deneyimlerinden her fırsatta yararlanma imkanı bulduğum, cerrahiye ve hayata dair fikirleriyle bana ışık tutan klinik şef muavinlerimiz sayın Doç.Dr.Hakan GÜVEN ve sayın Op.Dr.AYHAN ÖZSOY'a;

Tezimin hazırlanma aşamasında ilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen, kıymetli vakitlerini bana ayıran sayın Op.Dr.Oğuzhan KARATEPE ve sayın Op.Dr.Muharrem BATTAL'a;

Tezimin yazım aşamasında bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım sayın Op.Dr.Gökhan ADAŞ'a;

Daima yanımda olan, ilgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sayın Op.Dr.Selahattin KARACA, Op.Dr.Emin GÜRBÜZ, Op.Dr.Yaşar DOĞAN ve Op.Dr.Yücel POLAT'a;

Rotasyonlarım esnasında deneyimlerinden istifade ettiğim sayın Op.Dr.Kazım SARI, sayın Op.Dr.Yavuz ERYAVUZ, sayın Doç.Dr.Orhan YALÇIN ve sayın Doç.Dr. Enis YÜNEY'e;

Uzmanlık eğitimimi başarıyla sürdürmemi sağlayan Başhekimimiz sayın Uz.Dr.Hayri ÖZGÜZEL'e;

Asistanlık sürem boyunca kendileriyle çalışmaktan her zaman memnun olduğum sevgili asistan arkadaşlarım ile kliniğimizin değerli hemşire ve personeline sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	
2.1.Karaciğer anatomi ve histolojisi.....	3
2.2.Safra yolları anatomi ve histolojisi.....	6
2.3.Safra fizyolojisi.....	8
2.3.1.Bilirubin metabolizması.....	10
2.3.2.Sarılığın sınıflandırılması.....	11
2.4.Tıkanma sarılığı.....	13
2.5.Tıkanma sarılığı ve oksidatif stres.....	14
2.6.Karaciğer tarama testleri.....	15
2.7.Antioksidanlar.....	16
2.8.Curcumin.....	16
3.MATERYAL VE METOD	
3.1.Deney hayvanları.....	19
3.2.Cerrahi prosedür ve tedavi.....	19
3.3.Oksidatif stresin değerlendirilmesi.....	21
3.4.Karaciğer histolojik kesitlerinin değerlendirilmesi.....	22
3.5.İstatistiksel değerlendirme.....	23
4.SONUÇLAR	
4.1.Biyokimyasal sonuçlar.....	24
4.2.Histopatolojik sonuçlar.....	26
5.TARTIŞMA.....	28
6.ÖZET.....	32
7.KAYNAKLAR.....	33
8.EKLER.....	40

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıkanma sarılığı cerrahi mortalite ve morbiditeyi artıran safra akımının kesilmesi ve safra asitlerinin karaciğerde birikimi sonucu meydana gelen klinik durumdur. Etyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamasına rağmen, safra asitlerinin yaptığı hasara bağlı serbest oksijen radikallerinin salınımı ve buna bağlı olarak kupfer hücreleri ve nötrofillerin olaya müdahalesi ile sonuçlanan klinik tablo sadece karaciğere sınırlı kalmayıp sistemik etkileri ile uzak organ hasarlarına neden olmaktadır (1). Oksidatif hasar sonucu açığa çıkan mediatörler, serbest radikallerin miktarını artırarak koagülasyon kaskadının aktivasyonu, mikrosirkülasyonun bozulması ve çoklu organ yetmezliğine giden klinik tablolara yol açmaktadır (2).

Yapılan klinik çalışmalarda tıkanma sonrası dolaşımda bulunan TNF α ve Il-6 düzeyinin anlamlı olarak arttığı ve retükuloendotelial sistem fonksiyonunun azaldığı tespit edilmiş, ilave olarak endotoksemiye eğilimin arttığı da gösterilmiştir (3). Klinikte geniş yelpazede sonuçlara neden olan kolestaz ile ilgili literatürde oldukça fazla çalışma mevcuttur. Fakat temel sorunların en önemlisi kolestazın yol açtığı oksidatif hasarı direkt olarak engelleyen, geriye döndüren veya cerrahi tıkanma ikterinde hastaların operasyona kadar hazırlık aşamasında zaman kazanmasını sağlayan bir uygulama yada ilaç klinik kullanımda bulunmamaktadır. Yapılan çalışmaların ana amacı kolestazın yarattığı organ hasarları ile bu hasarlara neden olan temelde oksidatif hasar parametrelerini önlemeye yöneliktir. Bu amaçla çeşitli antioksidan parametreler birçok klinik ve deneysel çalışmada yapılmış, karaciğer ve uzak organlar üzerine etkileri araştırılmıştır.

Curcumin (diferuloyl methane; 1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) genellikle literatürde turmeric (Curcuma longa) yada halk arasında zerdeçal veya safran olarak bilinen antioksidan bir maddedir. Klinikteki etkileri oldukça popüler bir ajan olan curcuminin antioksidan, sitoprotektif, antiinflamatuvar ve antikanserojen etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur (4).

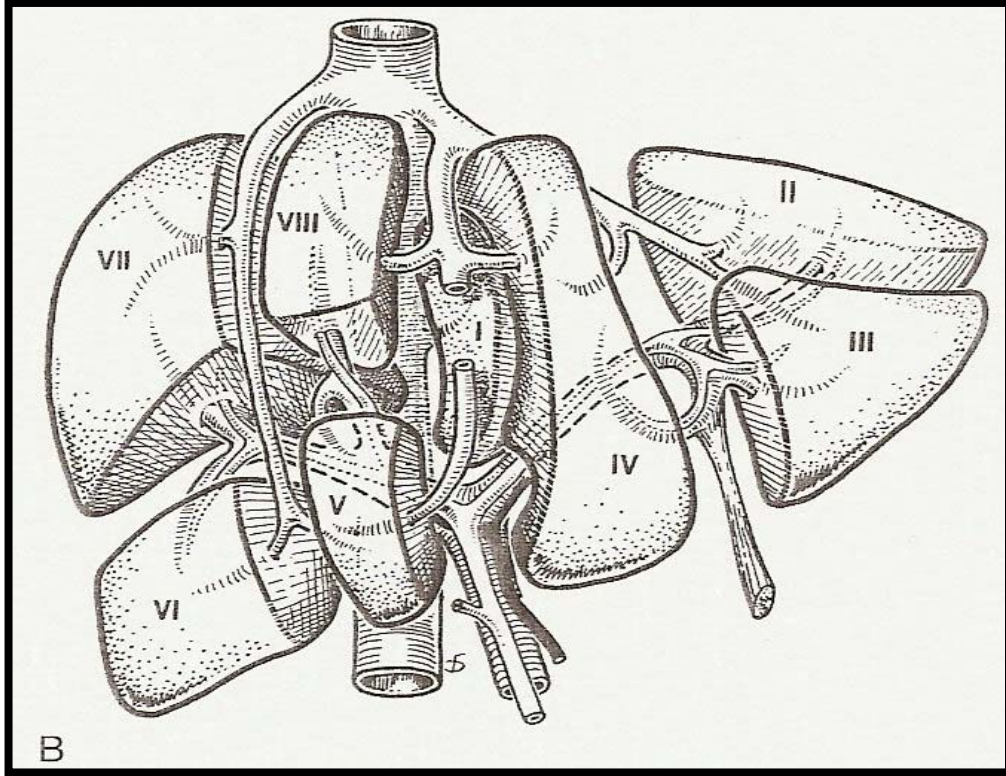
Bu çalışmadaki amacımız daha önce oksidatif hasarı önleyici etkileri ve karaciğer iskemisinde olumlu etkileri bilinen curcuminin tıkanma ikterindeki fizyolojik, biyokimyasal ve klinik olumlu veya olumsuz etkilerini deneysel olarak araştırmak sonuçları literatür eşliğinde değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Anatomi Ve Histolojisi

Vücudumuzun en önemli organlarından biri olan karaciğer 1200-1600gr arasında değişen ağırlığı ile en büyük organımızdır. Vücut ağırlığımızın yaklaşık %2'sini oluşturur. Vücuttaki en büyük bez olan karaciğer, karın boşluğunun üst tarafında sağ hipokondrim ve epigastriumdan sol hipokondriuma kadar uzanır. Üzeri *Glisson Kapsülü* adı verilen peritonla örtülüdür. Karaciğerin arka-alt bölümünde v.cava inferior ve hepatic venlere yakın bölümü peritonsuzdur. Buraya *çıplak alan* (bare area) adı verilir. Karaciğerin viseral ve diyafragmatik olmak üzere iki yüzü vardır. Diyafragmatik yüz üstte diyafram ile komşudur. Viseral yüz; hepatic fleksura, transvers kolon, safra kesesi, duodenum, mide, özefagus ile komşudur(5, 6). Peritonun yaptığı glisson kapsülü iki yaprağa ayrılarak diyaframa yapışır. Böylece ön ve arka koroner ligamanlar oluşur. Koroner ligamanlar sağ ve solda birleşerek sağ ve sol trianguler ligamanları oluştururlar. Koroner ligamanların önde birleşmesi ile falsiform ligaman oluşur. Ligamentum Teres Hepatis; falsiform ligaman içindedir Genel olarak embriyolojik dönemden kalan sol umbilikal ven kalıntısının oluşturduğu bağıdır. (7, 8)

1957 yılında Fransız cerrah Couinaud'un yaptığı fonksiyonel anatomi tanımı karaciğerin segmental anatomisi için en uygun yaklaşımdır. Fonksiyonel anatomi portal ven ve major hepatic venlerin dağılımı esas alınarak yapılmıştır. Orta hepatic venin bulunduğu çizgi Cantlie çizgisine uyar (ana fissür). Cantlie çizgisi karaciğeri iki ana loba ayırır. Sağ karaciğer lobu sağ hepatic venin bulunduğu portal fissür ile anterior (anteromedial) ve posterior (posterolateral) sektörlere ayrılır. Hepatic fissürler sağ karaciğerdeki sektörleri inferior ve süperior segmentlere ayırır. Sol karaciğer sol portal fissür ile medial ve lateral sektörlere ayrılır. Buna göre posterior sektör segment 2'den, sol medial sektör segment 3 ve segment 4'ten, sağ anterior sektör segment 5 ve segment 8'den, sağ posterior sektör ise segment 6 ve segment 7'den oluşur. (Şekil-1) (8)



Şekil-1: Karaciğerin segmenter anatomik görünümü

(From Blumgart LH, Hann LE: Surgical and radiologic anatomy of the liver and biliary tract. In Blumgart LH, Fong Y [eds]: Surgery of the Liver and Biliary Tract. London, WB Saunders, 2000, pp 3-34.)

Karaciğeri arteriyel beslenmesi a.hepatika propriadan olur. Bu arter trunkus çöliakusun bir dalı olan a.hepatika kommunis'ten çıkarak hepatoduodenal ligaman içinde vena porta ve koledok ile birlikte uzanır. Porta hepatis seviyesinde sağ ve sol iki dala ayrılır. Vena portanın dalları ile birlikte karaciğer içinde dağılır. Hepatik arter karaciğer kanlanmasının %20'sini oksijenlenmenin ise %50'sini sağlar (6).

Karaciğerin porta ve hepatik olmak üzere iki ana grup veni vardır. Portal ven; splenik ven ve sup.mezenterik venin pankreas boynu hizasında birleşmesi ile oluşur. Hilusta sağ ve sol iki dala, bazen de üç dala ayrılır. Portal ven karaciğer içinde segmentlere göre dağılır. Portal ven akımı, karaciğerin kanlanmasının %80'ini, oksijenlenmesinin ise %50'sini sağlar(6). Sentral venler birleşerek vena hepatikaları oluştururlar. Karaciğerin sağ lobunun kanı sağ hepatik ven ile v.cava inferior'a boşalır. Sol hepatik ven karaciğer sol lobunun 2. ve 3. segmentlerinin kanını alır ve orta hepatik venle birleşerek v. Cava inferiora dökülür (5,8)

Karaciğerin derin seviyesi lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e gelerek buradaki hepatik lenf düğümlerine, bunların bir kısmı da safra kesesi boynunun etrafındaki lenf nodülleri ile bursa omentalis çevresindeki lenf nodüllerine açılır. Hepatik lenf nodlarından çıkan lenf damarları da coeliac lenf nodlarından geçerek ductus thoracicus'a açılırlar. Derin lenf damarlarının bir kısmı v.hepaticaları takip ederek diafragmadaki foramen vena cavaya gelirler. Daha sonra superior phrenic lenf nodları'na, buradan da parasternal lenf nodlarına açılırlar. Karaciğerin yüzeysel lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e giren derin lenf damarları ile birleşerek hepatic lenf nodlarına, daha sonra da coeliac lenf nodlarına açılırlar. Buralardan çıkan lenf damarları da sağ truncus lymphaticus ve daha sonrada ductus thoracicus'a açılırlar (7).

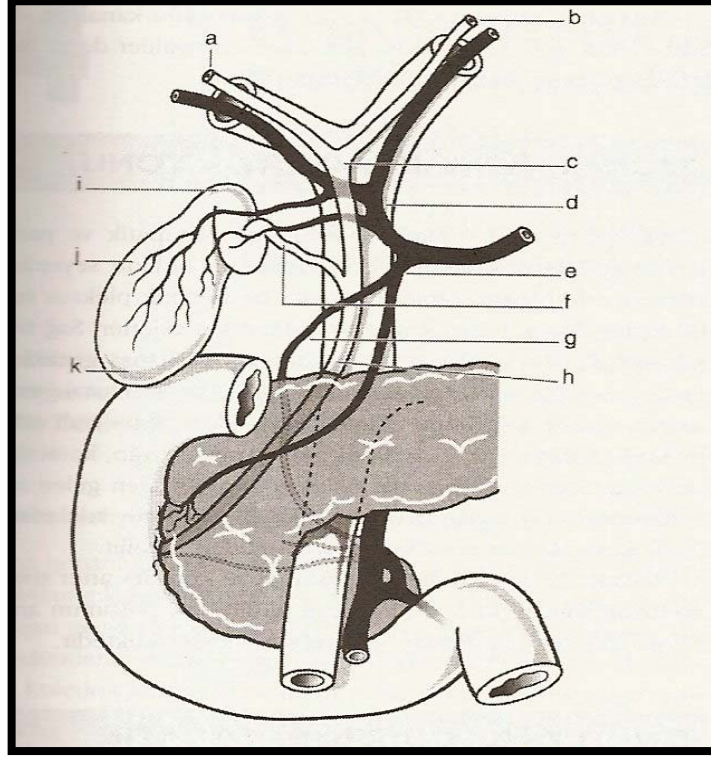
Karaciğerin innervasyonu medulla spinalis'in T9 ve L1 segmentlerinden gelen sempatik liflerle ve vagus sinirinden gelen parasempatik liflerle olur.

Karaciğerin histolojisinde lobül yapısı görülür. Lobül yapısının ortasında bir hepatic ven dalı yani santral ven bulunur. Santral venden perifer'e doğru ışınal tarzda uzanan sinüzoidler ve parankim hücreleri bulunur. Klasik bir lobül altıgen şekindedir. Bu altıgenin köşelerinde de portal ven, hepatik arter ve safra kanalının bulunduğu portal triadlar yerleşmiştir. Portal ven ve hepatik arterin uç dalları sinüzoidlerle temas halindedir. Sinüzoidler terminal hepatik venüllere drene olurlar. Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasında disse aralığı bulunur. Endotel tabakası hücreleri arasında da fagositoz fonksiyonu olan Kupfer hücreleri bulunur.(5, 7). Safra yolları kanaliküller olarak başlar. Hepatositler tarafından oluşturulan safra bu kanaliküllere drene olur. Daha sonra safra bu kanaliküller ile intralobüler duktuslara oradan da daha büyük safra kanallarına dökülür. Sağ ve sol hepatik kanallar birleşerek duc.hepaticus communis oluştururlar. Duc.hepaticus communis, sistik kanal ile birleştikten sonra duc.choledochus olarak uzanır. (6,7).

2.2. Safra Yolları Anatomi Ve Histolojisi

Safra yolları ve karaciğer ön barsağın ventral yüzündeki divertikülden oluşmuştur. Bu divertikülün kraniyal bölümünden karaciğer, kaudal bölümünden pankreas ve ara bölümünden de safra kesesi meydana gelir.

Klinik uygulamada eksrahepatik safra kanalı üç kısımda incelenir (9).



Şekil-2: Safra yolları anatomisi, a) sağ hepatik kanal, b) sol hepatik kanal, c) ana hepatik kanal, d) hepatik arter, e) gastroduodenal arter, f) sistik kanal, g) gastroduodenal arter, h) ana safra kanalı, i) safra kesesi boynu, j) safra kesesi korpusu, k) safra kesesi fundusu

(From Blumgart LH, Hann LE: Surgical and radiologic anatomy of the liver and biliary tract. In Blumgart LH, Fong Y [eds]: Surgery of the Liver and Biliary Tract. London, WB Saunders, 2000, pp 3-34.)

Eksrahepatik safra kanallarının üst ya da proksimal kısmı, sağ ve sol hepatik duktusların bileşkesinden başlar ve sistik kanalla koledoğun birleşim yerine kadar devam eder. Eksrahepatik safra kanallarının orta kısmı sağ ve sol hepatik duktusların bileşkesinin iki cm. distalinden başlar ve pankreas üst sınırına kadar devam eder. Eksrahepatik safra kanallarının distal kısmı, ampuller bölgeye uzanan koledoğun intrapankreatik kısmıdır ve bu bölgenin

değişik anatomik ve klinik özellikleri vardır (9,10). Hepatik kanal yaklaşık 4 cm. uzunluğundadır ve sistik kanal ile birleştikten sonra koledok adını alır. Koledok yaklaşık 9 cm. uzunluğunda olup duodenumun 2.kıtasının arka yüzünden ince barsağa açılır. İnsanların %90'ında koledok barsağa açılmadan önce pankreas kanalıyla birleşir ve yaklaşık 1 cm.'lik bir ortak kanal oluştururlar. Bu ortak kanal oddi sfinkteriyle çevrilidir. Koledok 4 ana bölüme ayrılır:

- 1-Supraduodenal bölüm
- 2-Retroduodenal bölüm
- 3-İntrapankreatik veya retropankreatik bölüm
- 4-İntramural veya intraduodenal bölüm

Safra kesesi karaciğerin alt yüzüne yerleşmiş 50cc. kadar hacmi olan bir organımızdır. Fundus, korpus, infundibulum ve boyun olmak üzere dört anatomik bölümü vardır. Boyun kısmı aşağı doğru cepleşerek infundibulum veya Hartman cebi'ni oluşturur. Kese ile karaciğer arasında doğrudan ilişkili küçük safra kanalları olabilir. Bunlara Luschka kanalları denir.

Ekstrahepatik safra yollarının normal anatomik yapısı sadece insanların 1/3'ünde bulunur.Safra yollarının diğer varyasyonları: safra kesesi agenezisi, birden fazla safra kesesi, ektopik safra kesesi, yüzen safra kesesi, arkaya yerleşik safra kesesi, septalı ve kum saati şeklinde safra kesesi, sistik kanal yokluğu ve aksesuar hepatik kanal varlığı(9). Sistik kanal yaklaşık 3-5cm. uzunluğunda ve 2-4mm. çapındadır. İnsanların %75'inde koledoğa dik bir açı yaparak birleşir. Hemen arkasında sağ hepatik arter bulunur. Sistik kanalın hepatik kanalla birleşmesi çok değişkenlik gösterir. Sistik kanal hepatik kanala paralel seyredebilir, yapışık olabilir, duodenuma hepatik kanal ile birlikte açılabilir. (6,7).

2.3. Safra Fizyolojisi

Karaciğerin önemli fonksiyonlarından biri de günlük 600-1200ml safra salgılamaktır. Safranın iki önemli işlevi vardır. Bunlardan birincisi, yağların sindirim ve emilimindeki işlevidir. Safra asitleri yağların pankreas lipazı tarafından parçalanabilecek küçük parçalara ayrılmasını sağlarlar. Ayrıca yağların sindirim ürünlerinin barsak mukozasından emilim ve taşınmasına yardım ederler. Safranın ikinci işlevi ise kolesterol ve bilirubin gibi yıkılım ürünlerinin atılmasını sağlamaktır(11). Karaciğerden safra salgılanması iki aşamada gerçekleşir. Birincisi hepatositler tarafından safranın üretilmesidir. Bu ilk salgıda safra asitleri, kolesterol ve diğer organik maddeler bulunur. İkinci aşama ise üretilen safranın interlobüler septumlara ve buradan da safra kanallarına akışıdır. Safra kanallarından geçerken bu salgya sodyum ve bikarbonat iyonları da eklenir. Büyük safra kanallarına geçen safra salgısı ya duodenuma dökülür ya da safra kesesinde depolanır. Safra salgısı duodenumda gereksinim doğuncaya kadar safra kesesinde depo edilir. Safra kesesinin hacmi 50 ml kadardır (11,12). Safranın bileşiminde safra tuzları, bilirubin, kolesterol, lesitin ve normal plazma elektrolitleri bulunur. Safra kesesinde konsantre edilme aşamasında kalsiyum iyonları hariç su ve elektrolitlerin büyük kısmı safra kesesi mukozası tarafından emilir. Safra tuzlarının diğer bileşenleri, kolesterol ve lesitin reabsorbe edilmez. Böylece safra kesesinde safra ileri derecede konsantre edilmiş olur(11). Yemeklerden yaklaşık 30 dakika sonra yağ içeren besinlerin duodenuma geçmesiyle kese duvarında ritmik kontraksiyonlar başlar ve safra duodenuma boşalır. Aynı anda ortak safra kanalında da bir kontraksiyon ve oddi sfinkterinde ise gevşeme olur. Safra kesesinde kontraksiyonları başlatan en güçlü uyaran *kolesistokinin* hormonudur. Bunun dışında safra kesesi vagus ve enterik sinir sistemindeki asetilkolin salgılayan sinir lifleri tarafından da uyarılır. Safra kesesinin etkili boşalabilmesi için hem safra kesesinde kontraksiyon olmalı hem de oddi sfinkterinde gevşeme olmalıdır. Buna yardım eden üç faktör vardır(11):

1-Kolesistokininin oddi sfinkterinde gevşetici etkiye sahiptir.

2-Safra kesesinde başlayan peristaltik dalgalar distale doğru ilerleyerek oddi sfinkterinde gevşemeye yardım eder.

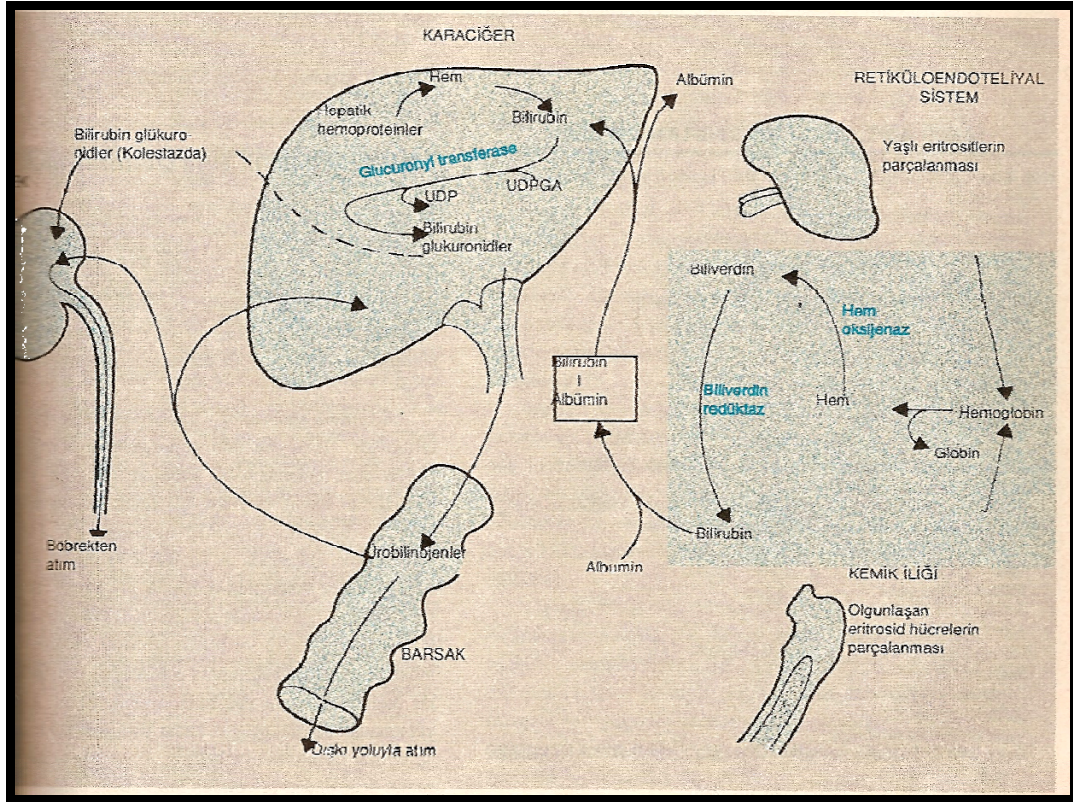
3-Peristaltik dalganın duodenum duvarına ilerlemesi hem oddi sfinkterinde hem de duodenumda gevşemeye neden olur. Sonuç olarak safra duodenumdaki peristaltik dalgaların gevşeme fazı ile senkron olacak şekilde duodenuma dökülür.

Karaciğer hücreleri her gün yaklaşık 0.6 gr safra tuzu sentezler. Safra tuzlarının ön maddesi daha sonra kolik ve kenodeoksikolik asite dönüşen kolesteroldür. Bu asitler de daha sonra glisin ve taurin ile birleşerek gliko ve tauro konjuge safra asitlerini oluştururlar. Safra tuzlarının barsak lümeninde iki önemli etkileri vardır. Bunlardan birincisi *emülsifiye edici (deterjan edici)* fonksiyonlarıdır. Bu etki ile partiküllerin yüzey gerilimini azaltarak yağların küçük parçalara ayrılması ve karıştırılması sağlanır. İkinci etkileri ise yağ asitlerinin, monogliseritlerin, kolesterol ve diğer lipitlerin barsak kanalından emilimine yardım eder. Bunu lipidlerle *miçel* denilen kompleksler oluşturarak yaparlar. Miçeller safra tuzlarının elektriksel yükleri nedeniyle ileri derecede çözünür maddelerdir. Lipidler bu yapı içinde mukozadan geçebilme özelliği kazanarak absorbe olurlar. Barsağa geçmiş olan safra tuzlarının yaklaşık %94 kadarı, distal ileumdan aktif transportla geri emilir. Portal kana geçen safra tuzları böylece tekrar karaciğere geçer. Safra tuzlarının bu dolaşımına *entero hepatik dolaşım* denir(11).

Safranın normal salınma basıncı 12-25 cmH₂O kadardır. Bu basınç 300 mmH₂O üzerine çıktığında karaciğerden safra salgısı inhibe olur. Basınç yükselince başta kolesterol olmak üzere safra tuzları ve fosfolipidlerin karaciğerden salınımı azalır. Normal bir safra akımının olabilmesi için ekstrahepatik safra yolu basıncının 10-15 cmH₂O olması gerekir.(11)

2.3.1. Bilirubin Metabolizması

Normal serum bilirubin düzeyi 0.5-1.0 mg/dl arasındadır. Günde yaklaşık 4 mg/kg bilirubin yapılır. Bunun %80-85'i yaşlanmış eritrosit hücresi içindeki hemoglobulinin hem grubunun katabolizmasından kaynaklanır. Hem grubu retiküloendotelial sistemde parçalanarak biliverdine, bu da okside olarak suda erimez bir tetrapirrol olan bilirubine dönüşür. Bilirubinün %15-20'si de kemik iliğinde olgunlaşmakta olan eritrosit hücrelerinin yıkımından ve sitokrom P-450 ve sitokrom-C gibi eritrosit kökenli hemoproteinlerin hem gruplarından oluşur (Şekil-3) (12).



Şekil-3: Bilirubin metabolizmasının oluşum ve atılım yolu

(Andreoli T.E., Bennett J.C., Carpenter J.C.: Sarılık, bilirubin metabolizması bölüm 40: Cecil Essentials Of Medicine 3rd ed. 1995; 323)

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

1-Alım, 2-Konjugasyon, 3-Safra içine atılım.

Non-konjuge bilirubin suda erimez ve safraya atılmaz. Ancak polar olmayan bu molekül yağdan zengin ortamda erir ve kolaylıkla kan-beyin engelinden ve plasentadan geçer. Bilirubin bir şeker olan glikuronik asitle bağlanarak suda çözünür özellik kazanır ve safraya atılabilir. Karaciğerin endoplazmik retikulumunda UDP-glukuronil transferaz enziminin katalize ettiği bir işlemle bilirubin mono ve diglukuronidler oluşur. Konjuge bilirubinin safraya atılımının bozulduğu durumlarda pigment hepatositlerden plazmaya geri geçer. Konjuge bilirubin hem suda erir, hem de non-konjuge bilirubine oranla albumine daha gevşek bağlanır. Böylece plazma düzeyleri yükseldiğinde glomerullardan kolaylıkla süzülür ve idrara geçer. Non-konjuge bilirubin glomerullardan süzülmez ve idrarla atılamaz. Safra ile atılan konjuge bilirubin barsaktan geri emilmez ancak barsaktaki bakterilerin etkisiyle *ürobilinojen* adı verilen renksiz tetrapirellere dönüştürülür. Ürobilinojenin yaklaşık %20'si geri emilerek enterohepatik dolaşıma katılır az bir bölümü de idrarla atılır. Dışkıdaki ürobilinojenin çoğu barsak bakterileri tarafından okside edilerek sterkobiline döner. Dışkının tipik rengini veren de bu maddedir.(Şekil-3) (12, 13)

2.3.2. Sarılığın Sınıflandırılması

1- Non-konjuge (indirekt) Hiperbilirubinemi

A-Aşırı Yapım

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

B-Azalmış Karaciğer Alımı

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

C-Azalmış Konjugasyon

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

2-Konjuge (Direkt) Hiperbilirubinemi

A-Karaciğer Salgılama Bozukluğu

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

B-Eksrahepatik (Mekanik) Safra Obstrüksiyonu

- 1-Safra taşları
- 2-Pankreas başı tümörleri
- 3-Safra yolları tümörleri
- 4-Ampulla vater tümörleri
- 5-Safra yolu darlıkları (Kolesistektomi sonrası, primer sklerozan Kolanjit)
- 6-Doğumsal bozukluklar (Safra yolu atrezileri)
- 7-Paraziter hastalıklar (Ascariasis)

2.4. Tıkanma Sarılığı

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında safra barsağa geçemeyince safra tuzları ve bilirubin birikir. Safra tuzları ve bilirubin toksik etkileri olup sistemik ve hepatik fonksiyonlarda birtakım değişiklikler oluştururlar. (1) Safra yolu tıkanıklığında safra basıncı artar ve karaciğerde birtakım histopatolojik değişiklikler görülür. Safra yolu tıkanıklığı uzun sürerse çocuk ve erişkinlerde siroz gelişimine öncülük eder. Safra yolunun akut tıkanıklıklarında en erken bulgu kanaliküler kolestaz olup daha sonra safra duktus hücreleri proliferer olur. Olay kronikleşirse periduktal bağ dokusu artışı ve fibröz tabakalar ortaya çıkar(14). Bu durum periportal ve periseptal alanlarda değişikliklerle kendini gösterir, devam eden kolestaz neticesi karaciğerde yapısal anomaliler ve nodüler parankimal hiperplazi görülür. Sonuç olarak obstrüktif bilier sirozun tipik görüntüsü oluşur (15, 16) Siroz patogenezinde temel patoloji olan karaciğer fibrozu, karaciğerde başta kollagen olmak üzere hücre dışı matriks proteinlerinin birikimi ile karakterizedir (17). Hücre dışı matriks proteinleri hasarlı karaciğerdeki disse aralığındaki satellit hücreler tarafından üretilirler. Bunlar da karaciğer fibrozunu oluşturur. Üretilen hücre dışı matriks proteinleri; kollagen tip-1, tip-3 tip-4 ile fibronektin, laminin ve proteoglikanlardır. Bunlardan en çok üretileni de kollagen tip-1 ve tip-3'dür. (18)

2.5. Tıkanma Sarılığı Ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres ve satellit hücre aktivasyonu kollagen sentezini artırarak karaciğer fibrozu gelişiminde etkilidir. Oksidatif stresin oluşabilmesi için ya serbest radikaller artmalı ya da antioksidan savunma mekanizmaları zayıflamalıdır. (19). Serbest radikaller en dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran ve oldukça reaktif kimyasal parçalardır. Soluduğumuz oksijenin %5'i serbest oksijen radikallerine dönüşmektedir. Şayet antioksidan defans mekanizması zayıflarsa bu serbest oksijen radikalleri organizmaya zararlı olabilmektedir. Tek bir elektronun oksijene ilave olmasıyla süperoksit anyon radikali oluşmaktadır. Oluşan bu süperoksit anyonu, süperoksit dismutaz ile hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Hidrojen peroksit, serbest radikal olmadığı halde yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilir ve en toksik oksijen radikali olan hidroksil radikale dönüşebilir(19). Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirinin alfa-metilen gruplarındaki hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar(20).

Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu bununla birlikte lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalın hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Yağ asidi zincirinden serbest radikal etkisi ile hidrojen atomu uzaklaştırılırsa yağ asidi zinciri radikal özelliği kazanır(19,20).

Lipid peroksidasyonunun; zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Malondialdehit, oksidatif stres sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olarak lipid hasarı göstergesi, luminal, oksidatif stresin hücre sitoplazma düzeyi göstergesi, lusigenin ise oksidatif stresin hücre mitokondriyal düzey hasar göstergesi olarak kullanılmaktadır.(20, 21)

2.6. Karaciğer Tarama Testleri

Karaciğer hastalıklarında tarama testleri ikiye ayrılır:

1-Bilier obstrüksiyon testleri

(Serum bilirubini, serum alkale fosfatı, 5'-nükleotidaz, gamma glutamil transpeptidaz).

2-Hepatosellüler hasar testleri (Aspartat aminotransferaz-AST, Alanin aminotransferaz-ALT).

Serum bilirubin düzeyi, bilirubin yapımı, konjugasyonu ve safraya salgılanmasının sonucunu yansıtır. Serum bilirubin düzeyinin belirlenmesi spesifik bir test değildir, karaciğer işlev testi olarak orta derecede duyarlıdır. Serum alkale fosfat aktivitesi, karaciğer, kemik, barsak ve plasenta kökenli bir grup izoenzimi yansıtır. Serum düzeyleri kolestazda, tam veya tam olmayan safra yolu tıkanıklığında yükselir. Alkale fosfat hepatositlerin plazma membranında yerleşiktir. Kolestaza eşlik eden serum ve safra asidi düzeylerinin artması sonucunda alkale fosfat içeren hepatosit membranı parçaları çözünerek dolaşıma katılır. Karaciğer safra asidi düzeylerinin artması; alkale fosfat düzeyinin yükselmesine katkıda bulunur. 5'-nükleotidaz, gamma glutamil transpeptidaz ve diğer hepatosit plazma membran enzimleri de safra kanalı tıkanıklığı ya da kolestazda benzer şekilde dolaşıma karışırlar(13).

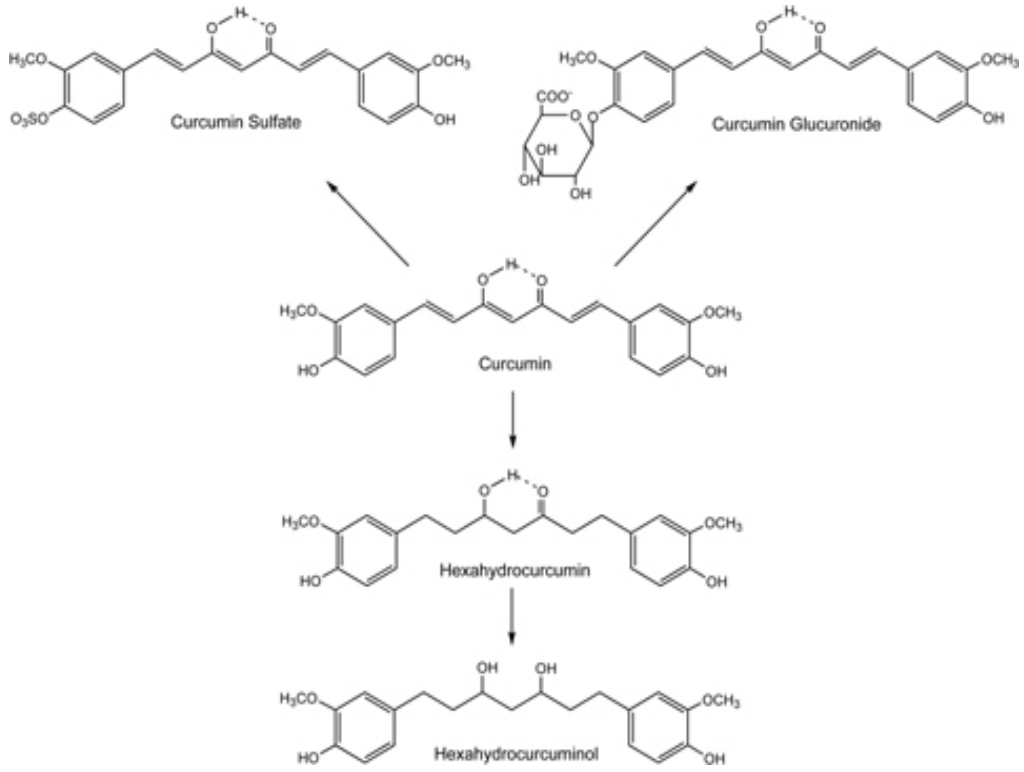
Aspartat (AST) ve alanin (ALT) aminotransferazlar karaciğer hücrelerinde büyük miktarlarda bulunan hücre içi aminotransferaz enzimleridir. Karaciğer hücrelerinde hasar veya hücre ölümünden sonra dolaşıma salınırlar. Serum transaminazları karaciğer hasarına duyarlı ama spesifik olmayan testlerdir. Yüksek serum transaminaz aktivitesi hepatik nekrozun ağırlığını yansıtır. Normalin 15 katı kadar transaminaz yüksekliği safra kanal obstrüksiyonunda nadirdir ve hemen daima akut hepatosellüler nekrozu gösterir. (13)

2.7. Antioksidanlar

Serbest oksijen radikallerinin etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidanlar adı verilen çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engellemeleri yanında protein, nükleik asitler ve karbonhidratların korunmasını sağlarlar.(21). Serbest radikaller ve reaksiyon ürünleri biyomoleküller, fagositler ve myofibroblastların aktivitelerini artırırılar. Lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyon ürünleri ile oluşturulan fibrozun, bazı hayvan modellerinde antioksidanların kullanımı ile azaldığı gösterilmiştir.(22). Satellit hücrelerin aktivasyonlarının antioksidan etkisiyle bloke edildiği gösterilmiştir. Hücre kültürü ortamında, sıçan stellat ve kupffer hücreleri fonksyonlarına antioksidanların etkileri araştırılmış ve bu iki hücrenin düzenleyici fonksyonları aynı zamanda karaciğer hasarından da sorumlu tutulmaktadır. (23)

2.8. Curcumin

Curcumin hint safranı baharatı olarak diette bulunan polifenol türevi bitkisel bir üründür. Curcuma longa bitkisinin kökünden üretilir. Parlak sarı rengini de polifenolik pigmentten alır. (24) Asidik ve nötral ph'da antioksidan etkisi yanında siklooksijenaz, glutatyon-s-transferaz üzerine etkileri, immun modulasyon etkisi, angiogenezis ve hücre-hücre adezyon etkisi vardır. Gen transkripsiyonu ve apoptozisi indükleyerek kanser hastalarında olumlu etkileri görülmüştür. Özellikle kolon ve rektum kanserindeki olumlu etkileri faz II çalışmalarında gösterilmiştir (25). Toksik etkileri yoktur ve çok miktarda verilebilir (26, 27). Barsak ve karaciğerde curcumin glukuronid ve curcumin sülfata konjuge edilir yada hekzahidrocurcumine indirgenir (şekil-4) (28). Fakat metabolitleri aynı biyolojik aktiviteye sahip değildir.



Şekil-4: Curcuminin kimyasal yapısı ve metabolitleri

Curcumin reaktif oksijen metabolitleri ve reaktif nitrojen metabolitlerini etkisiz hale getirerek antioksidan etki gösterir (29,30). Curcuminin direkt antioksidan etkisi yanında inflamatuvar enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek ve önemli bir intrasellüler antioksidan olan glutatyonun sentezini artırarak dolaylı antioksidan etkisi de vardır. Bunu da glutamat sistein ligaz geninin transkripsiyonunu artırarak yapar. (31) Fosfolipaz A-2 (Pla2), siklooksijenaz-2 (Cox-2) ve 5-lipoksijenaz (5-Lox) enzimlerini inhibe ederek antiinflamatuvar etki de gösterir. (32). Ayrıca 5-Lox'ın katalitik etkisini direkt olarak da inhibe edebilir. Nuclear faktör-kappa B (NF-kB) bağlı gen transkripsiyonunu inhibe edip Cox-2 indüksiyonunu inhibe etmiş olur. (33). Curcuminin prokarsinojenler tarafından indüklenmiş sitokrom p-450 aktivite artışını inhibe ettiği de hayvan deneylerinde gösterilmiştir (34-37). Bundan başka curcuminin vasküler endotel hücrelerinde angiogenezi engeller ve böylece invaziv tümörlerin angiogenezis yoluyla yeni damarlar geliştirmeleri engellenmiş olur (38).

Stresle indüklenmiş Hsp 70 ekspresyonunun potent bir stimülatörü olduğu bildirilmiştir. Curcumin ayrıca ısı veya toksik nedenlerden olan streslere karşı da koruyucu etkisini gösterir (39,40). Ghoneim ve Madan'ın çalışmalarında curcumin, dokuda antioksidan enzim ekspresyonunu ve aktivitesini artırmakta, nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmektedir. Bu durum değişik stres faktörlerinde hücresele koruyucu etki göstermektedir (42,43).

Curcumin tedavisi ile total süperoksit dismutaz aktivitesinin arttığı, malondialdehit konsantrasyonunun ve myeloperoksidaz aktivitesinin azaldığı belirtilmektedir. Ayrıca karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarından sonra antioksidatif biyomolekül ekspresyonunu artırıp, nötrofil infiltrasyonunu ve reaktif oksijen metabolitlerini azalttığı Shen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada gösterilmiştir. Ratlarda curcumin tedavisi ile reperfüzyondan sonra nitrik oksit sentaz aktivitesi azalmıştır. Fakat endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesi etkilenmemiştir. (41) Chan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise lipopolisakkarit enjekte edilmiş sıçan karaciğerinde oral curcumin tedavisi ile nitrik oksit sentaz ekspresyonunu %50-70 oranında azaldığı tespit edilmiştir (44)

Litaratürde curcumin ile ilgili olarak antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri hakkında bir çok araştırma olmasına rağmen tıkanma sarılığı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Amacımız daha önce oksidatif hasarı önleyici etkileri ve karaciğer iskemisinde olumlu etkileri bilinen curcuminin tıkanma ikterindeki olumlu veya olumsuz etkilerini araştırmaktır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edilen Wistar-Albino tipi 220-340 gram ağırlığında, 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar; 22 ± 2 C'de sabit oda sıcaklığında tutuldular, %21 protein içeren standart sanayi sıçan yemi ile beslendiler, taze çeşme suyu verildi, kafes bakımları ise günlük kontrollerle düzenli yapıldı.

3.2. Cerrahi Procedür ve Tedavi

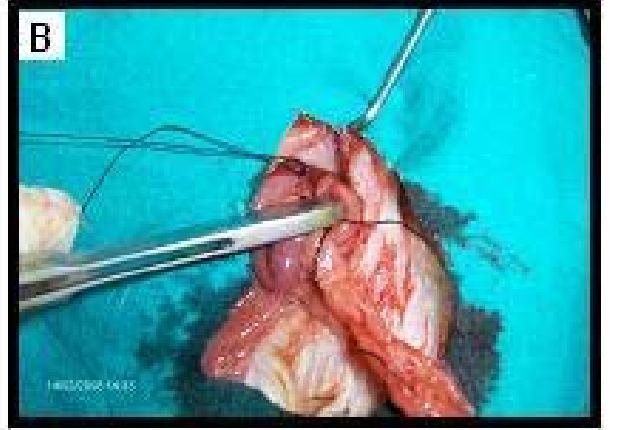
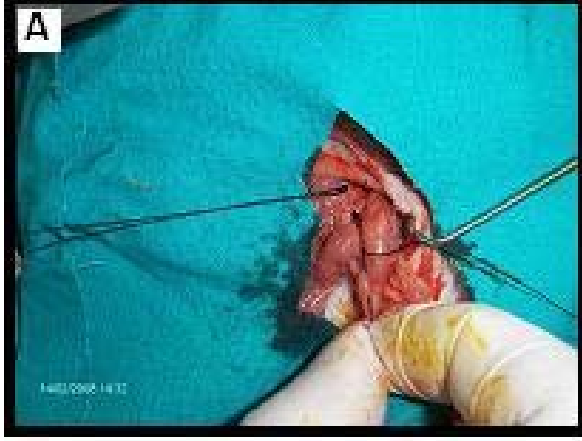
Her grupta 10 adet hayvan olmak üzere toplam 3 grup oluşturuldu.

Grup I (n=10): Sham Grubu Laparotomi sonrası ana safra kanalı ortaya konup batın kapatıldı ve bunu takiben hayvanlara 7 gün süre ile standart yem ve su verildi.

Grup II (n=10): Kontrol Grubu Laparotomi sonrası ana safra kanalı ortaya konup 4/0 ipek ile bağlanan hayvanlara operasyon öncesi 15 gün ve sonrasındaki 7 gün curcumine eşit volümde izotonik serum, standart yem ve su verildi.

Grup III (n=10): Deney Grubu Laparotomi sonrasında ana safra kanalı ortaya konup 4/0 ipek ile bağlanan hayvanlara cerrahi öncesi 15 gün ve sonrası 7 gün süre ile curcumin 20mg/kg dozunda standart yem ve su verildi.

Ketamin anestezisi, 10 mg/kg, intraperitoneal ve 5 mg/kg xylazine (Rompun; Bayer, İstanbul, Türkiye) verildi. Cerrahi işlemleri sırasında cerrahi sterilizasyon kurallarına uyuldu. Karın traşi yapıldıktan sonra orta hat 2 cm insizyonla laparotomi yapıldı. Karaciğer lobları ve duodenum arasında koledok bulunduktan sonra, koledok proksimalinden iki kez ve distalinden bir kez 4/0 ipeklerle bağlanarak kesildi (Resim 1). Sham operasyonu yapılan sıçanlarda abdomen koledok ligasyonu yapılmadan kapatıldı. Karın duvarı ve cilt 3/0 ipek kullanılarak ayrı ayrı tabakalar halinde, devamlı sütürlerle kapatıldı. İşlem sonunda deney gruplarının her biri ayrı kafeslere konuldular.



Resim-1: Koledoğun bulunması (A) ve kolestazın oluşturulması (B)

Çalışma sonunda sıçanlara yüksek doz ketamin verilerek sakrifikasyon yapıldı, sonrasında kardiyak ponksiyon ile kan ve karaciğer doku örnekleri toplandı. Kan örneklerinin serumları ayrıştırılarak -80 C'de bekletildi ALT, AST, alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT) ve direkt bilirubin düzeyleri otoanalizörde çalışıldı. Bütün hayvanlarda karaciğer 3 eşit parçaya ayrıldı, ayrılan bu parçalar histopatolojik olarak değerlendirilmek üzere %10 formolin içerisinde konuldu. Daha sonra patoloji laboratuvarında alınan parçalar parafin içerisinde konularak 2 gün bekletildi. Her bir karaciğer parçası homojenize ve santrifüj edilerek oksidatif stres parametreleri (MDA,SOD, NO, Glutatyon, GPX ve MPO) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biokimya Laboratuvarında çalışıldı. Patoloji Laboratuvarına gönderilen her bir karaciğer parçasından 2 şer adet 5 µm' lik kesitleri sirius red ve fast green boyama yöntemleri ile biyokimyasal total kollagen ölçümü için ayrıldı (34)

3.3. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi

Alınan karaciğer numuneleri homojenize oluncaya kadar buz içerisinde tutuldu. Dokular serum fizyolojik içinde homojenize edildi, sonrasında 4,000g'de 15 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlar bu çalışmada kullanıldı. Tüm bu prosedürler deney boyunca 4°C'de gerçekleştirildi. Süpernatantların protein seviyeleri Lowry's methodu ile çalışıldı. Süpernatantların malondialdehit (MDA) seviyeleri (nmol/mg) ve glutatyon peroksidaz (GPx) (mIU/mg) enzim seviyeleri ölçüldü. MDA seviyeleri tiyobarbitürik asit reaktif madde metoduyla ölçüldü. Numuneler oda ısısında 1 saatliğine balık yağı ve ksantin-oksidaz ile muamele edildikten sonra, MDA seviyeleri belirlendi. 340 nm'deki NADPH absorbans değişiklikleriyle GSH-Px aktivitesi ölçüldü. MDA ve GSH seviyeleri de aynı metod ile belirlendi. Bu ölçümlerde dokunun µmol/g birimi kullanıldı. Tarayıcı enzim aktiviteleri, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktiviteleri Flohé and Gunzler (1984) metoduna göre ölçüldü. Glutatyon transferaz aktivitesi Warholm ve arkadaşları tarafından tarif edilen teknikle belirlendi. Katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri Aebi ve Sun metodu ile ölçüldü. Tüm enzim ölçümleri böbrek dokusunda, dokunun gramındaki aktivite birimi olarak belirlendi.

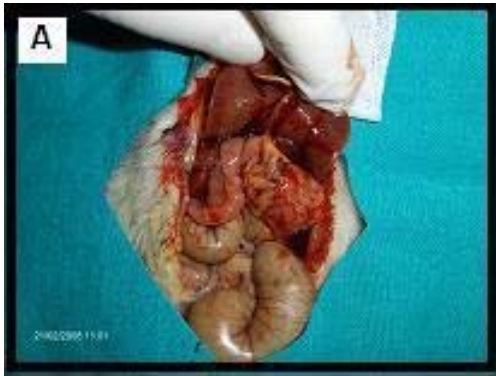
MDA ölçümü amacıyla karaciğer dokuları TCA ile (% 10 v/v) olacak şekilde homojenize edilerek, santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar % 0,067 TBA ile kaynatıldı. Ölçümler spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi (38)

Glutatyon ölçümü amacıyla karaciğer dokuları TCA ile (% 10 v/v) olacak şekilde homojenize edilerek, santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantların üzerine Na₂HPO₄ çözeltisi ile ditiyobis nitro benzoik asit içeren Elman ayırıcı eklendi ve 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar mmol GSH/ g doku olarak ifade edildi (39).

3.4. Karaciğer Histolojik Kesitlerinin Değerlendirilmesi

Histopatolojik analizler Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği'nde yapıldı. Karaciğer doku örnekleri %4 PBS-buffered paraformaldehit içinde fikse edildi ve parafin içine konuldu. Hematoksilen ve eosin ile boyanan 5 mikrometrelik karaciğer doku kesitleri ışık mikroskopunda x200 büyütmede ordinal skala kullanılarak hepatik hasarın şiddetini belirleyen nokta sayım metodu ile değerlendirildi: grade 0 = minimal hasar veya hasar yok; grade 1 = Sitoplazma vakuolizasyonu ve fokal nükleer piknozis olan orta derece hasar; grade 2 = Geniş nükleer piknozis ve intersellüler sıvı kaybıyla olan orta-ağır hasar ve orta düzeyde nötrofil infiltrasyonu; grade 3 = Hepatik kord disintegrasyonu olan ağır hasar, hemoraji ve geniş PMN infiltrasyonu.

Yukarıdaki sınıflama kullanılarak istatistiksel değerlendirme yapıldı.



Resim-2: (A) ve (B) 7 günlük kolestaz sonucunda rat karaciğeri ve iç organlarının makroskopik görünümü

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizlerin yapılmasında bir istatistiksel bilgisayar programı olan Sigma Stat Software version 3.0 (SPSS Inc., Chicago , USA) kullanıldı. Sonuçlar $\text{mean} \pm \text{SEM}$ Şeklinde açıklandı. Gruplar arası karŐılaŐtırmalarda post-hoc multiple Holm-Sidak testini uygulayan tek yol varyans analiz metodu (ANOVA), nonparametrik Kruskal-Wallis testi ve post-hoc multiple Dunn testi kullanıldı. Parametreler arasındaki grupların korelasyon analizleri Spearman Rank Order Correlations ile yapıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Biyokimyasal serilerin sonuçları ekler kısmındaki tablolarda belirtilmiştir. Gruplar arası MDA, glutatyon, AST, NO, ALP, direkt bilirubin, CAT, MPO, ALT, GPX, GGT, SOD düzeyleri ölçülmüştür. Grup I ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($P<0.05$). Grup II, grup III arasında MDA, glutatyon, AST, NO, ALP, direkt bilirubin, CAT, MPO, ALT, GPX, GGT, SOD ile karşılaştırıldığında grup III lehine anlamlı fark vardır ($P<0.05$) (Tablo 1-2)

Comparison	Group	Mean	Std Dev	SEM
MDA	Group I	13,938	2,275	0,804
	Group II	35,125	2,900	1,025
	Group III	22,625	1,512	0,535
Glutatyon	Group I	11,212	4,025	1,423
	Group II	1,550	0,917	0,324
	Group III	4,600	2,345	0,829
ALT	Group I	56,625	5,397	1,908
	Group II	120,375	4,438	1,569
	Group III	98,250	3,105	1,098
GPX	Group I	40,475	6,195	2,190
	Group II	50,987	6,117	2,163
	Group III	47,750	4,541	1,606
D.Bil	Group I	0,660	0,248	0,0877
	Group II	7,875	0,175	0,0620
	Group III	6,638	0,277	0,0981
CAT	Group I	47,125	6,379	2,255
	Group II	15,588	3,138	1,109
	Group III	34,313	1,870	0,661

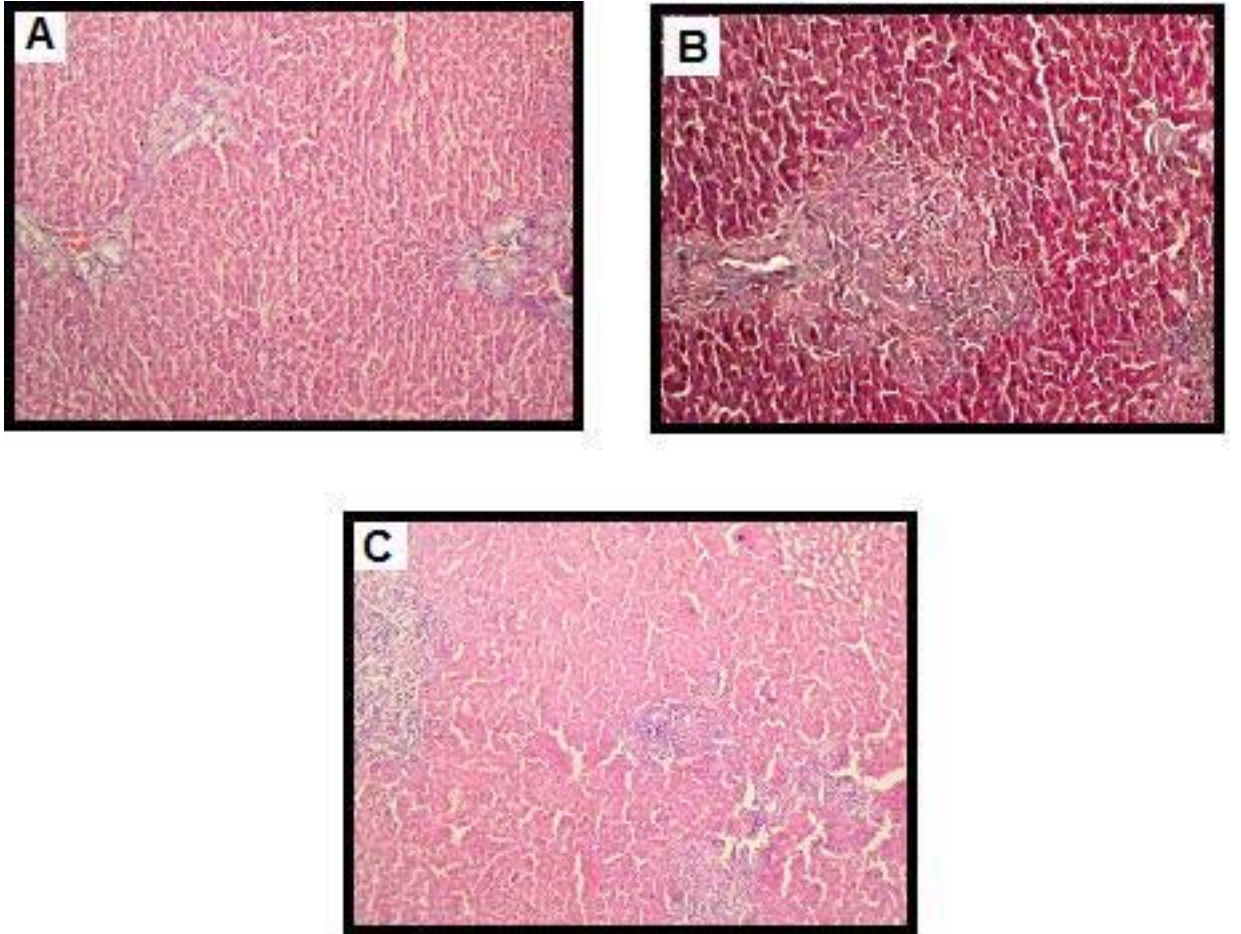
Tablo 1: Grupların biokimyasal parametreleri açısından kendi aralarında karşılaştırılması

Comparison	Group	Median	25%	75%
AST	Group I	239,000	232,000	247,500
	Group II	1292,500	1200,000	1375,00
	Group III	445,000	429,000	470,00
NO	Group I	0,750	0,500	0,825
	Group II	0,400	0,395	0,415
	Group III	0,320	0,305	0,350
ALP	Group I	417,500	410,500	435,00
	Group II	1562,500	1500,000	1600,00
	Group III	945,000	936,500	970,00
MPO	Group I	35,500	33,000	36,500
	Group II	48,000	45,500	54,500
	Group III	36,500	33,000	39,000
SOD	Group I	2,000	1,500	3,000
	Group II	3,000	2,250	4,000
	Group III	2,800	2,000	3,400

Tablo 2: Grupların her birinin karşılaştırma sonuçları

4.2. Histopatolojik Sonuçlar

Gruplar histopatolojik olarak karşılaştırıldığında grup I ile diğer gruplar arasında fibrozis düzeyleri açısından anlamlı fark vardır ($P<0.05$). Grup II ve grup III karşılaştırıldığında (Tablo 3) grup III'te fibrozisin grup II'ye göre daha düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü(Resim 3-4).



Resim 3 A) x 100 Curcumin ile tedavi grubunda karaciğer dokusunda histopatolojik olarak grade I fibrozis B) x 400 Kontrol grubunda grade II fibrozis C) x 100 Kontrol grubunda grade III fibrozis

Hayvan(n=10)	Group I	Group II	Group III
Hayvan 1	1	2	1
Hayvan 2	0	3	1
Hayvan 3	0	3	1
Hayvan 4	0	3	1
Hayvan 5	1	3	2
Hayvan 6	0	3	2
Hayvan 7	0	3	1
Hayvan 8	0	3	3
Hayvan 9	0	3	1
Hayvan 10	0	2	1

Tablo 3: Karaciğerde histopatolojik değişiklikler

Grade 0 = minimal hasar veya hasar bulgusu yok; **grade 1** = Sitoplazma vakuolizasyonu ve fokal nükleer piknozis olan hafif hasar; **grade 2** =Geniş nükleer piknozis ve intersellüler sınır kaybıyla olan orta-ağır hasar ve orta düzeyde nötrofil infiltrasyonu; **grade 3** =Hepatik kord disintegrasyonu olan ağır hasar, hemoraji ve geniş PMN infiltrasyonu

5. TARTIŞMA

Kolestaz ,ekstrahepatik yada intrahepatik bilier basıncın artması ve safra tuzlarının karaciğer içinde birikimi ile karakterize patofizyolojik bir durumdur. Safra tuzları deterjan etkisi göstererek hücre ölümüne, oksidatif hasara, glutasyon düzeylerinin düşmesine ve lipit peroksidasyonuna, patolojik olarak ise safra duktus hücreleri proliferasyonuna, portal traktüs değişikliklerine ve uzun sürede peri duktal bağ dokusu artışı ve fibrozisin gelişimi ile sonuçlanan bir tabloya neden olur (47).

Lipid peroksidasyonu, doku hasarının bir göstergesi olması yanında, kollojen üretimini artırmak gibi bazı patolojik olaylara da aracılık eder (48). Zamanla fibroz alanlar yakın portal traktüse ilerleyerek porta-portal fibroz septalar oluşturarak periportal ve inter lobüler fibroz gelişir (49). Reaktif oksijen radikallerinin devreye girmesi ile nötrofil ve makrofajlar aktive olur ve inflamatuvar yanıt ile sonuçlanan patofizyolojik olaylar zinciri devam eder. Karaciğer hasarına neden olan asıl olay ortadan kaldırılamadığında bu süreç bilier sirozla sonuçlanır. Literatürde safra yolu obstrüksiyonu ve bunun sonuçları ile ilgili en önemli çalışmalardan bir tanesi Slott ve ark. yaptığı çalışmadır (50). Safra kanalı ligasyonu yada safra yolu tıkanmasından sonra kanal içi basıncın %60 oranında yükseldiğini ve bunun sonucunda 6 saat gibi kısa bir süre içinde DNA sentezinin artarak safra kanalı epitel hücrelerinde proliferasyonun başladığını göstermişlerdir (50). Ayrıca Pastor ve ark. (51) sıçanlarda safra kanalı obstrüksiyonu oluşturmuşlar ve 28 günde sekonder bilier siroz gelişmiştir. Karaciğerde bu modelde GPx, GSH ve SOD' da düşme, MDA düzeyinde ise anlamlı yükselme bulunmuştur. Cabre ve ark. (52) yaptıkları çalışmada CCl₄ ile sıçanlarda oluşturulan karaciğer fibrozu modelinde lipid peroksidasyonunun arttığını ve karaciğer GPx ve GSH düzeylerinin azaldığını göstermişler ve lipid peroksidasyonu ile GPx arasında negatif bir korelasyon olduğunu saptamışlardır ($r = -0,47$; $p < 0,001$). Lopez ve ark. (53) sıçanlarda uyguladıkları karaciğer safra kanalı bağlanarak oluşturulan kolestatik modelinde, karaciğer ve eritrositlerde GSH düzeylerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Son yıllarda giderek artan çalışmalar ile oksidatif stresin önlenmesinin kolestatik karaciğer hasarını önlemede önemli bir rol

oynayabileceği düşünülmektedir. Safra yolu tıkanıklıkları üzerine antioksidanların etkileriyle ilgili Kawada ve ark. (54) yaptığı çalışmada hücre kültürü ortamında, sıçan hepatik stellat hücre ve kupffer hücrelerinin fonksiyonları üzerine antioksidan ajanların etkilerini araştırmışlardır. Bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları, aynı zamanda karaciğer hasarından sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada resveratrol, quersetin ve asetilsistein bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları yoluyla oluşan hasarı azaltmışlardır. Bu etki, kullanılan ajanların antioksidan özelliklerine bağlanmıştır. Shiesh ve ark. (55) safra kanalı ligasyonu uygulanan domuzlarda, 14. günde safra tuzlarını ve MDA düzeylerini karşılaştırmışlar, bu değerleri kontrol grubundan belirgin derecede yüksek bulmuşlardır. Bu değerlerde işlem öncesi antioksidan özellikli 1 mg /kg melatonin enjeksiyonu uygulanan grupta kontrol düzeylerine yakın sonuçlar elde etmişler ve safra taşı gelişiminin önlediğini göstermişlerdir. Bao XO ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bicyclol'un karaciğerde HSP27/70 artırarak asetaminofenin neden olduğu hepatik hasarı azalttığını göstermişlerdir (56). Bu çalışmalara ilave olarak Song M ve arkadaşları Tetrathiomolybdate tıkanma ikterinde TNF-alpha ve TGF-beta1 salınımını azaltarak hepatik hasarı ve fibrozisi önlediğini tespit etmişlerdir (57). Litaratürde görüldüğü gibi tıkanma ikterinde oksidatif hasarın antioksidanlar vasıtasıyla önlenmesi hepatik hasar gelişimini engellemekte ve ayrıca karaciğer dokusunda HSP 70 düzeylerinin artması doku üzerine sitoprotektif etki göstermektedir.

Bizim çalışmamızda kullandığımız curcuminin literatürde sitoprotektif, antioksidan , antikanserojen etkilerini gösteren bir çok çalışma mevcuttur. Karaciğer ile ilgili ise Shen ve arkadaşlarının yaptığı ve reperfuzyon hasarını HSP 70'i artırarak ve anti inflamatuvar etki göstererek azalttığını bildiren çalışma mevcuttur (41). Kolestatik sarılıktaki hasar üzerine etkisini araştıran çalışma mevcut değildir. Curcumin reaktif oksijen metabolitleri ve reaktif nitrojen metabolitlerini etkisiz hale getirerek antioksidan etki gösterir, direkt antioksidan etkisi yanında inflamatuvar enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek ve önemli bir intrasellüler antioksidan olan glutatyonun sentezini artırarak dolaylı antioksidan etkisi de vardır. Bunu da glutamat sistein ligaz geninin

transkripsiyonunu artırarak yapar. Bu düzeyde antioksidan etkisi olan ve karaciğer dokusunda HSP 70 düzeyini artırdığı bilinen curcuminin bizim yaptığımız çalışmada tıkanma ikteri modelinde de olumlu etki sağladığını tespit ettik.

Çalışmamızda oksidatif hasarı değerlendirmek için kullanılan MDA, SOD, NO, Glutasyon düzeyleri curcumin ile beslenen grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Diğer değerlendirme parametreleri içinde en önemlisi MPO idi. MPO düzeyi genelde inflamasyonun derecesinin önemli bir göstergesi olarak kullanılır (57). Çalışmamızda oksidatif hasara ilave olarak MPO düzeyleri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Sonuçlarımız curcuminin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerini desteklemektedir ve literatürle uyumludur. (41) Ayrıca histopatolojik incelemede curcuminin karaciğerdeki fibrozis düzeyini anlamlı olarak azalttığı ve tıkanma ikteri hasarını kısmi olarak düşürdüğü tespit edildi. Curcuminin tıkanma ikterli ratlarda oksidatif hasarı gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik açıdan anlamlı olarak azalttığı söylenebilir. Bu çalışma literatürde curcuminin tıkanma ikteri üzerine olumlu etkilerini gösteren ilk çalışmadır. İkterli hastalarda temel sorunlardan birisi de bu hastaların cerrahiye kadar geçen sürede iktere bağlı eşlik eden sorunlardan dolayı genel durumlarının bozulmasıdır. Bu genel durum bozukluğu klinikte hastalar için hayatı tehdit eden sonuçlar doğurabilir. Bizim çalışmamızda curcumin ile beslenmenin tıkanma ikteri modelinde oksidatif hasarı azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca tıkanma ikteri oluşturulan ratların, ikterin son dönemine doğru hareket kabiliyetleri azalmış ve hatta ölümler gözlenmiştir. Fakat curcumin ile öncesinde tedavi edilen gruptaki ratlarda herhangi bir ölüme rastlanmamış ve hatta hareket kabiliyetleri diğer gruba göre anlamlı farklar içermekte idi.

Curcumin tedavisinde en önemli sorunlardan bir tanesi ki bu bizim çalışmamızın da en önemli eksiklerinden bir tanesidir, klinik pratiğe uygularken iv yada im formlarının şu an için bulunmamasıdır. Shen SQ et al deneyinde curcumin mezenter venleri içerisine direk uygulanmış (DMSA da

özölerek) ve sonuçta hepatik iskemik reperfuzyon üzerine olumlu etkileri gözlenmiştir (41). Bu durum cesaret vericidir ve daha sonraki çalışmalara da ışık tutabilir. Çünkü bu derece etkili bir anti oksidanın iv formlarının bulunması cerrahi nutrisyonda oldukça önemli olabilir.

Sonuç olarak yaptığımız deneysel çalışmada tıkanma sarılığında karaciğerde meydana gelen fibrozisin ve oksidatif hasarın curcumin verilmesi ile anlamlı olarak azaldığını gösterdik. Curcuminin bu amaçla klinik olarak kullanılması için daha geniş karşılaştırmalı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle ameliyat öncesi tıkanma sarılıklı hastalarda hazırlık aşamasında curcumin tek başına veya nutrisyonel destek amaçlı olarak kullanılması karaciğer üzerindeki olumlu etkilerin hastaya faydalı olacağını düşünmekteyiz.

6. ÖZET

Bu çalışmanın amacı curcuminin karaciğer oksidatif stresi üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

30 sıçan onarlı üç gruba ayrıldı. Kolestaz koledokun iki kez bağlanması ile sağlandı. Grup I sham-operasyonlu, grup II koledokun kesilip bağlandığı, grup III curcumin tedavisi verilen grup olarak belirlendi. Grup III'teki sıçanlara curcumin 20 mg/kg dozunda koledokun bağlanmasından 15 gün öncesinden başlanarak ve bağlandıktan sonra 7 gün daha devam edecek şekilde gastrogavaj yöntemi ile günde birkez verildi. Kontrol grubu olan grup II'ye eşit miktarda salin, curcumin yerine verildi. Karaciğer oksidatif stres belirteçleri karaciğer dokusundaki malondialdehid (MDA), SOD, NO, MPO ve redüklenmiş glutatyon gibi lipid peroksit miktarlarındaki değişime göre değerlendirildi. Karaciğer örnekleri ışık mikroskobu altında incelendi.

MDA, SOD, NO, MPO ve GSH karaciğer doku miktarları curcumin ve koledok bağlanan gruplar (grup II) arasında anlamlı derecede farklıydı. (sırasıyla $P = 0.006$ ve 0.001). Grup III'te, genişlemiş hepatosit ve ödemde belirgin azalma gösterilmiştir. Işık mikroskobunda histopatolojik olarak sirotik karaciğer dokusu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha azdı.

Bu çalışmanın sonuçları göstermiştir ki curcumin oksidatif stresi minimize ederek, lipid peroksidasyonunu azaltarak, glutatyonu redükleyerek ve sonuç olarak da inflamatuvar sitokin ekspresyonunu azaltıp inflamatuvar hasarı inhibe ederek karaciğer fonksiyonlarını geliştirip karaciğer hasarını azaltmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1- Kahng KU, Roslyn JJ. Maingot's abdominal operations. In: Jaundice. Zinner MJ (Eds), 1997;Vol 1: 315-351

2-Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. Kocatepe Tıp Derg 2004;5:1-8.

3-Rauen U, Viebahn R, Lauchart W, de Groot H. The potential role of reactive oxygen species in liver ischemia/reperfusion injury following liver surgery. Hepatogastroenterology 1994; 41: 333-336

4-Aggarwal BB, Kumar A, Aggarwal MS, Shishodia S. Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): a spice for all seasons. In: Preuss H, ed. Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention. Boca Raton: CRC Press;2005:349-387.

5-Emre A. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi: Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, Nobel Tıp Kitabevleri 2002; cilt II, sf 1083-1086

6-Yıldırım M.: Topografik Anatomi 2.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri.2004; 251-253

7-Arıncı K., Elhan A.: Anatomi Cilt 1. Güneş Kitabevi 1995; 341-344

8-Jamieson G.G.: Karaciğer Anatomisi: Genel Cerrahi Operasyonlarının Anatomisi, Nobel Tıp Kitabevleri 2007; 8-22

9-Müslümanoğlu M. Safra Kesesi Selim Hastalıkları: Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları , Nobel Tıp Kitabevleri 2002; cilt II, sf 1177-1180

10-Gazzaniga M. Eksrahepatik Safra Yollarının Cerrahi Anatomisi: Sayek (İ): Temel Cerrahi 3.Baskı, Güneş Kitabevi 2004; sf 1355-1358

11-Guyton A. C. , Hall J. E. Tıbbi Fizyoloji Bölüm 64: 9th de. 1996; 827-829

12-Andreoli T.E., Bennett J.C., Carpenter J.C.: Sarılık, bilirubin metabolizması bölüm 40: Cecil Essentials Of Medicine 3rd ed. 1995; 323

13-Andreoli T.E., Bennett J.C., Carpenter J.C.: Karaciğer Hastalığında Laboratuar Testleri bölüm 39: Cecil Essentials Of Medicine 3rd ed. 1995; 320-322

14-Diagnostik liver pathology: Cholestasis an biliary obstruction. In: Randall G. Lee, MD (Eds). :Chapter 4 81-107 Mosby Company, 1994

15-Diagnostik liver pathology: Cholestasis an biliary obstruction. In: Randall G. Lee, MD (Eds). :Chapter 4 81-107 Mosby Company, 1994

16-Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. Gastroenterology 1990;99:466-77.

17-Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stres. Mol Aspects Med2000; 21:49-98

18- Rojkind M, Giambrone MA, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. Gastroenterology 1979;76:710-9.

19-Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. Kocatepe Tıp Derg 2004;5:1-8.

20-Southorn PA. Free radicals in medicine. Chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin Proc 1988;63:381-9.

21-Krahenbuhl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. Hepatology 1995;22:607-12.

22-Tahan V, Ozaras R, Canbakan B, Uzun H, Aydin S, Yildirim B, Aytekin H, Ozbay G, Mert A, Senturk H. Melatonin reduces dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. J Pineal Res 2004 Sep;37:78-84

23-Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. Hepatology 1998;27:1265-74.

24-Aggarwal BB, Kumar A, Aggarwal MS, Shishodia S. Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): a spice for all seasons. In: Preuss H, ed. Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention. Boca Raton: CRC Press; 2005:349-387.

25-Eigner D, Sholz D. *Ferula asa-foetida* and *curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. J Ethnopharmacol 1999, 67, 1–6.

26-Ammon HP and Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. Planta Med 57: 1–7, 1991.

27-Ireson C, Orr S, Jones DJ, Verschoyle R, Lim CK, Luo JL, Howells L, Plummer S, Jukes R, Williams M, Steward WP, and Gescher A. Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production. Cancer Res 61: 1058–1064, 2001.

28-Ireson CR, Jones DJ, Orr S, et al. Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(1):105-111

29-Sreejayan, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol.* 1997;49(1):105-107.

30-Sreejayan N, Rao MN. Free radical scavenging activity of curcuminoids. *Arzneimittelforschung.* 1996;46(2):169-171.

31-Dickinson DA, Iles KE, Zhang H, Blank V, Forman HJ. Curcumin alters EpRE and AP-1 binding complexes and elevates glutamate-cysteine ligase gene expression. *Faseb J.* 2003;17(3):473-475.

32-Hong J, Bose M, Ju J, et al. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis.* 2004;25(9):1671-1679.

33-Plummer SM, Holloway KA, Manson MM, et al. Inhibition of cyclooxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF-kappaB activation via the NIK/IKK signalling complex. *Oncogene.* 1999;18(44):6013-6020

34-Ciolino HP, Daschner PJ, Wang TT, Yeh GC. Effect of curcumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* 1998;56(2):197-206.

35-Rinaldi AL, Morse MA, Fields HW, et al. Curcumin activates the aryl hydrocarbon receptor yet significantly inhibits (-)-benzo(a)pyrene-7R-trans-7,8-dihydrodiol bioactivation in oral squamous cell carcinoma cells and oral mucosa. *Cancer Res.* 2002;62(19):5451-5456.

36-Singh SV, Hu X, Srivastava SK, et al. Mechanism of inhibition of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by dietary curcumin. *Carcinogenesis*. 1998;19(8):1357-1360.

37-Thapliyal R, Maru GB. Inhibition of cytochrome P450 isozymes by curcumins in vitro and in vivo. *Food Chem Toxicol*. 2001;39(6):541-547.

38-Thaloor D, Singh AK, Sidhu GS, Prasad PV, Kleinman HK, Maheshwari RK. Inhibition of angiogenic differentiation of human umbilical vein endothelial cells by curcumin. *Cell Growth Differ*. 1998;9(4):305-312

39-Ishida T, Taketoh J, Nakatsune E, Kan-o S, Naito E, Takeda S, Mutoh J, Ishii Y, and Yamada H. Curcumin anticipates the suppressed body weight gain with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice. *J Health Sci* 2004; 50: 474-482

40-Kato K, Ito H, Kamei K, Iwamoto I. Stimulation of the stress-induced expression of stress proteins by curcumin in cultured cells and in rat tissues *in vivo*. *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 152-160

41-Shen SQ, Zhang Y, Xiang JJ, Xiong CL. Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World J Gastroenterol* 2007; 13(13): 1953-1961

42- Ghoneim AI, Abdel-Naim AB, Khalifa AE, El-Denshary ES. Protective effects of curcumin against ischaemia/reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol Res* 2002; 46: 273-279

43- Madan B, Ghosh B. Diferuloylmethane inhibits neutrophil infiltration and improves survival of mice in high-dose endotoxin shock. *Shock* 2003; 19: 91-96

44- Chan MM, Huang HI, Fenton MR, Fong D. In vivo inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties. *Biochem Pharmacol* 1998; 55: 1955-1962

45- Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 533-540

46- Pan MH, Lin-Shiau SY, Lin JK. Comparative studies on the suppression of nitric oxide synthase by curcumin and its hydrogenated metabolites through down-regulation of I κ B kinase and NF κ B activation in macrophages. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1665-1676

47- Baiocchi L, Tisone G, Russo MA, Longhi C, Palmieri G, Volpe A, Almerighi C, Telesca C, Carbone M, Toti L, Leonardi FD, Angelico M. TUDCA prevents cholestasis and canalicular damage induced by ischemia-reperfusion injury in the rat, modulating PKC α -ezrin pathway. *Transpl Int*. 2008 Apr 23.

48- Geesin JC, Hendricks LJ, Falkenstein PA, Gordon JS, Berg RA. Regulation of collagen synthesis by ascorbic acid: characterization of the role of ascorbate-stimulated lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1991;290:127-32.

49- Diagnostik liver pathology: Cholestasis and biliary obstruction. In: Randall G. Lee, MD (Eds). :Chapter 4 81-107 Mosby Company, 1994

50- Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990;99:466-77.

51-Pastor A, Collado PS, Almar M, Gonzalez-Gallego J. Antioxidant enzyme status in biliary obstructed rats: effects of N-acetylcysteine. *J Hepatol* 1997;27:363-70.

52- Cabre M, Camps J, Paternain JL, Ferre N, Joven J. Time-course of changes in hepatic lipid peroxidation and glutathione metabolism in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:694-9.

53- Lopez PM, Finana IT, De Agueda MC, Sanchez EC, Munoz MC, Alvarez JP, De La Torre Lozano EJ. Protective effect of melatonin against oxidative stress induced by ligation of extra-hepatic biliary duct in rats: comparison with the effect of Sadenosyl L-methionine. *J Pineal Res* 2000;28:143-9.

54-Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology* 1998;27:1265-74.

55-Shiesh SC, Chen CY, Lin XZ, Liu ZA, Tsao HC. Melatonin prevents pigment gallstone formation induced by bile duct ligation in guinea pigs. *Hepatology* 2000;32:455-60

56-Bao XQ, Liu GT. Bicyclol: a novel antihepatitis drug with hepatic heat shock protein 27/70-inducing activity and cytoprotective effects in mice. *Cell Stress Chaperones*. 2008 Apr 8

57-Song M, Song Z, Barve S, Zhang J, Chen T, Liu M, Arteel GE, Brewer GJ, McClain CJ. Tetrathiomolybdate protects against bile duct ligation-induced cholestatic liver injury and fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 May;325(2):409-16. Epub 2008 Feb 25.

8. EKLER

8.1. Biokimyasal Sonuçlar

Tablo I: Grupların MDA (Malondialdehid) düzeyleri

MDA düzeyleri	Mean	Std Dev	SEM
Grup I	13,938	2,275	0,804
Grup II	35,125	2,900	1,025
GRupIII	22,625	1,512	0,535

Bütün çift kör çoklu karşılaştırma metotları(Holm-Sidak method): Ayrıntılı anlamlılık seviyesi = 0,05

Tablo II: Gruplar arası MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Means	t	P
MDA2 vs. MDA	21,188	18,424	<0,001
MDA2 vs. MDA3	12,500	10,869	<0,001
MDA3 vs. MDA	8,688	7,554	<0,001

Tablo I-II:Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır.; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001).Alfa ile temsil edilen testin kapasitesi = 0,050: 1,000

Tablo III: Grupların Glutasyon düzeyleri

Gulutasyon	Mean	Std Dev	SEM
Grup I	11,212	4,025	1,423
Grup II	1,550	0,917	0,324
Grup III	4,600	2,345	0,829

Tablo IV: Gruplar arası glutasyon düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Means	t	P
Glutasyon vs Glutasyon2	9,662	7,051	<0,001
glutasyon vs Glutasyon3	6,612	4,825	<0,001
Glutasyon3 vs Glutasyon2	3,050	2,226	0,037

Tablo III-IV: Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır.; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001). Alfa ile temsil edilen testin kapasitesi = 0,050: 1,000 Bütün çift kör çoklu karşılaştırma metotları (Holm-Sidak method): Ayrıntılı anlamlılık seviyesi = 0,05

Tablo V: Grupların AST düzeyleri

AST düzeyleri	Median	25%	75%
Grup I	239,000	232,000	247,500
GrupII	1292,500	1200,000	1375,000
Grup III	445,000	429,000	470,000

Tablo VI: Gruplar arası AST düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
AST2 vs AST	16,000	4,525	Yes
AST2 vs AST3	8,000	2,263	No
AST3 vs AST	8,000	2,263	No

Tablo V-VI: $H = 20,489$. Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır ($P = <0,001$); istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır ($P = <0,001$) Diğerlerinden ayrılan grup veya grupları izole etmek için çoklu karşılaştırma metotları kullanıldı.

Not:Derecelerdeki çoklu karşılaştırmalar çözüm için ayarlamaya neden olmazlar

Tablo VII: Grupların NO düzeyleri

NO	Median	25%	75%
Grup I	0,750	0,500	0,825
Grup II	0,400	0,395	0,415
Grup III	0,320	0,305	0,350

Tablo VIII: Gruplar arası NO düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
NO vs NO3	15,125	4,278	Yes
NO vs NO2	6,438	1,821	No
NO2 vs NO3	8,688	2,457	Yes

H = 18,557. (P = <0,001)

Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001) Diğerlerinden ayrılan grup veya grupları izole etmek için çoklu karşılaştırma metotları kullanıldı.

Tablo IX: Grupların ALP düzeyleri

ALP	Median	25%	75%
Grup I	417,500	410,500	435,000
Grup II	1562,500	1500,000	1600,000
Grup III	945,000	936,500	970,000

Tablo X: Gruplar arası ALP düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
ALP2 vs ALP	16,000	4,525	Yes
ALP2 vs ALP3	8,000	2,263	No
ALP3 vs ALP	8,000	2,263	No

H = 20,525. (P = <0,001) Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001)) Diğerlerinden ayrılan grup veya grupları izole etmek için çoklu karşılaştırma metotları kullanıldı.

Tablo XI: Grupların direkt bilirubin düzeyleri

D. Bilirubin	Mean	Std Dev	SEM
Grup I	0,660	0,248	0,0877
Grup II	7,875	0,175	0,0620
Grup III	6,638	0,277	0,0981

Bütün çift kör çoklu karşılaştırma metotları (Holm-Sidak method): Ayrıntılı anlamlılık seviyesi = 0,05

Tablo XII: Gruplar arası direkt bilirubin düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Means	t	P
D.Bil2 vs. D.Bil	7,215	60,757	<0,001
D.Bil3 vs. D.Bil	5,978	50,336	<0,001
D.Bil2 vs. D.Bil3	1,237	10,421	<0,001

Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001). Alfa ile temsil edilen testin kapasitesi = 0,050: 1,000All

Tablo XIII: Grupların CAT düzeyleri

CAT	Mean	Std Dev	SEM
Grup I	47,125	6,379	2,255
Grup II	15,588	3,138	1,109
Grup III(u/mgprot)	34,313	1,870	0,661

Bütün çift kör çoklu karşılaştırma metotları (Holm-Sidak method):
Ayrıntılı anlamlılık seviyesi = 0,05

Tablo XIV: Gruplar arası CAT düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Means	t	P
CAT vs. CAT2	31,538	14,862	<0,001
CAT(u/mgprot)3 vs. CAT2	18,725	8,824	<0,001
CAT vs. CAT(u/mgprot)3	12,813	6,038	<0,001

Tablo XIII- XIV: Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001). Alfa ile temsil edilen testin kapasitesi = 0,050: 1,000

Tablo XV: Grupların MPO düzeyleri

MPO	Median	25%	75%
Grup I	1,150	1,000	1,375
Grup II	1,500	1,425	1,600
Grup III	1,355	1,300	1,390

Tablo XVI: Gruplar arası MPO düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
MPO(u/g2 vs MPO(U/g)	11,063	3,129	Yes
MPO(u/g2 vs MPO3	7,313	2,068	No
MPO3 vs MPO(U/g)	3,750	1,061	No

H = 10,222 with 2 degrees of freedom. (P = 0,006) Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = 0,006) Diğerlerinden ayrılan grup veya grupları izole etmek için çoklu karşılaştırma metotları kullanıldı.

TabloXVII: Grupların ALT düzeyleri

ALT	Mean	Std Dev	SEM
Grup I	56,625	5,397	1,908
Grup II	120,375	4,438	1,569
Grup III	98,250	3,105	1,098

Tablo XVIII: Gruplar arası ALT düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Means	t	P
ALT2 vs. ALT	63,750	28,882	<0,001
ALT3 vs. ALT	41,625	18,858	<0,001
ALT2 vs. ALT3	22,125	10,024	<0,001

Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır ($P = <0,001$). Alfa ile temsil edilen testin kapasitesi = 0,050: 1,000

Tablo XIX: Grupların GPX -1düzeyleri

GPX-1	Mean	Std Dev	SEM
Grup I	40,475	6,195	2,190
Grup II	50,987	6,117	2,163
Grup III	47,750	4,541	1,606

Tablo XX: Gruplar arası GPX-1 düzeylerinin karşılaştırılması

Comparison	Diff of Means	t	P
GPX-12 vs. GPX-1	10,513	3,709	0,001
GPX-13 vs. GPX-1	7,275	2,566	0,018
GPX-12 vs. GPX-13	3,237	1,142	0,266

Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = 0,004). Alfa ile temsil edilen testin kapasitesi = 0,050: 0,853

Tablo XXI: Grupların GGT düzeyleri

GGT	Median	25%	75%
Grup I	35,50	33,00	36,50
Grup II	48,000	45,500	54,500
GrupIII	36,500	33,000	39,000

Tablo XXII: GGT düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
Grup 2 vs Grup 1	15,063	4,260	Yes
Grup 2 vs Grup 3	6,125	1,732	No
Grup 3 vs Grup 1	8,938	2,528	Yes

H = 18,393. (P = <0,001) Tedavi grubunun ortalama değerlerinin farkları rastlantısal olarak beklenen değerden daha fazladır; istatistiksel olarak belirgin bir fark vardır (P = <0,001) Diğerlerinden ayrılan grup veya grupları izole etmek için çoklu karşılaştırma metotları kullanıldı.

0.050 altındaki P değerleri ve pozitif korelasyon katsayısı değişkenleri çifti birlikte yükselme eğilimindedir.0.050 altındaki P değeri ve negatif korelasyon katsayısı değişkenleri çifti için ise diğerleri yükselirken biri düşme eğilimindedir.0.050 den daha büyük P değerli çiftler için iki değişken arasında belirgin bir ilişki yoktur.

Tablo XXIII:SOD düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
SOD KC(U/mgprot)3 vs SOD KC	12,938	3,815	Yes
SOD KC(U/mgprot)3 vs SOD KC2	9,857	2,808	Yes
SOD KC2 vs SOD KC	3,080	0,878	No