

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
ANESTEZİYOLOĞI VE REANİMASYON SERVİS ŞEFLİĞİ

LEVOSİMENDAN VE N-ASETİLSİSTEİN'NİN KARACİĞER
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA OLAN ETKİSİNİN
DENEY HAYVAN MODELİNDE İNCELENMESİ

Serkan SUAKITICI

Hv. Tbp. Kd. Ütğm.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi K.lığı'nın
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Programı İçin Öngördüğü

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL

2013

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
ANESTEZİYOLOĞI VE REANİMASYON SERVİS ŞEFLİĞİ

LEVOSİMENDAN VE N-ASETİLSİSTEİN'NİN KARACİĞER
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA OLAN ETKİSİNİN
DENEY HAYVAN MODELİNDE İNCELENMESİ

Serkan SUAKITICI
Hv. Tbp. Kd. Ütđm.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi K.lığı'nın
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Programı İçin Öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıőtır.

TEZ DANIŞMANI
Sezai ÖZKAN
Prof. Tbp. Kd. Alb.

İSTANBUL
2013

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına:

“LEVOSİMENDAN VE N-ASETİLSİSTEİN’NİN KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA OLAN ETKİSİNİN DENEY HAYVAN MODELİNDE İNCELENMESİ” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Anesteziyoloji ve Reanimasyon Servisi’nde uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İMZA

Tez Danışmanı : Prof. Tbp. Kd. Alb. Sezai ÖZKAN

Başkan : Prof. Tbp. Kd. Alb. Sezai ÖZKAN

Üye : Doç. Tbp. Kd. Alb. Ali SIZLAN

Üye : Doç. Tbp. Alb. Hüseyin ŞEN

ONAY:

Hv. Tbp. Kd. Ütğm. Serkan SUAKITICI’nın 24 / 06 / 2013 tarihinde savunduğı bu tez akademi kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER
Prof. Hv. Tbp. Tümgeneral,
Komutan Bilimsel Yardımcısı,
Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı,
Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Bu tez konusu GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Servis Şefliği tarafından Eylül 2012 tarihinde verildi ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Servisi'nde yapıldı.

Bu çalışmada, ratlarda oluşturulan karaciğer iskemi/reperfüzyon modelinde levosimendan ile N-asetilsisteinin karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarına olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bana her türlü yardım ve desteklerini sağlayan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan başta değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Tbp. Kd. Alb. Sezai ÖZKAN'a, Sayın Prof. Tbp. Kd. Alb. Güner DAĞLI'ya, Sayın Doç. Tbp. Alb. Hüseyin ŞEN'e ve Sayın Yrd. Doç. Tbp. Kd. Yzb. Süleyman DENİZ'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam sırasında bana verdikleri destekten dolayı başta Sayın Doç. Tbp. Alb. Osman Metin İPÇİOĞLU, Sayın Doç. Tbp. Yb. Abdullah HAHOĞLU, Sayın Doç. J. Tbp. Yb. Ömer ÖZCAN ve Sayın Yrd. Doç. Tbp. Bnb. İsmail YILMAZ olmak üzere tüm Biyokimya ve Patoloji Servisi'ne teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Uzm. Tbp. Bnb. B. Barış GÜVEN'e, Uzm. Tbp. Bnb. Bülent ATİK'e, Uzm. Tbp. Bnb. N. Atilla SEZER'e, tüm meslektaşlarıma, yardımcı sağlık personeli arkadaşlarıma ve diğer klinik personeli arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, bugünlere gelmemde büyük katkıları olan annem, babam, her zaman beni destekleyen ve yanımda olan sevgili eşim Pelin SUAKITICI'ya ve canım oğlum Mert Ege SUAKITICI'ya

Teşekkürler...

Serkan SUAKITICI
Hv. Tbp. Kd. Ütgm.

ÖZET

LEVOSİMENDAN VE N-ASETİLSİSTEİN'NİN KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA OLAN ETKİSİNİN DENEY HAYVAN MODELİNDE İNCELENMESİ

Bu çalışmada amacımız ratlarda oluşturulan karaciğer iskemi/reperfüzyon modelinde; bir inotropik ajan olan levosimendan ile bir antioksidan ve glutatyonun öncüsü olan N-asetilsisteinin karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarına olan etkilerini incelemektir. 38 rat randomize 5 gruba ayrıldı. Gruplara iskemi öncesinde belirlenen miktar ve sürede serum fizyolojik, N-asetilsistein, Levosimendan ve N-asetilsistein ile Levosimendanın yükleme dozları verildi ve infüzyon çalışma sonuna kadar devam etti. Hepatik pedikül atravmatik damar klembi ile ligate edildi ve 60 dk iskemi oluşturuldu. Sonrasında klemp açıldı ve 60 dk reperfüzyon sağlandı. Deney sonrası alınan karaciğer doku örneklerinden histopatolojik inceleme yapıldı ve doku MDA ve MPO bakıldı. Alınan kan örneklerinden ise serum TNF- α , AST, ALT ve MPO düzeyleri çalışıldı. Histopatolojik hasar skoru, plazma MPO, AST, ALT, ve doku MPO değerleri çalışma gruplarında kontrol grubundan anlamlı düşük bulundu. Çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında N-asetilsistein ve levosimendanın ayrı ayrı ve birlikte kullanımı inflamasyon ve oksidatif stresi baskılayarak karaciğer iskemi reperfüzyon hasarını azaltmaktadır.

Anahtar Kelimeler : Rat, oksidatif stres, inflamasyon, antioksidan
Yazar : Hv. Tbp. Kd. Ütğm. Serkan SUAKITICI
Danışman : Prof. Tbp. Kd. Alb. Sezai ÖZKAN

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFICACY OF LEVOSIMENDAN AND N-ACETYLCYSTEINE ON LIVER ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY

Our aim in this study, to examine effects of levosimendan, which is a inotropic agent in phosphodiesterase inhibitors group and N-acetylcysteine which is an antioxidant and glutathione precursor, on hepatic ischemia / reperfusion in rat model. 38 rats were divided randomly into five groups. Before ischemia normal salin, levosimendan, N-acetylcysteine, levosimendan with N-acetylcysteine were given in calculated dose and specified time for loading dose and infusion continued to end of the study. Hepatic pedicle was ligated with atraumatic vascular clamp and ischemia was induced in 60 minutes. After clamp was opened and 60 minutes reperfusion was performed. After the experiment, liver tissue samples were taken, examined about histopathological and tissue MDA and MPO. Blood samples were taken from the serum, TNF- α , AST, ALT and MPO levels were examined. Histopathological and serum AST, ALT, MPO and tissue MPO levels were found significantly decreased in the study groups than control. Looking at the results of our study, N-acetylcysteine and levosimendan reduce hepatic ischemia-reperfusion injury, when used together or alone by suppression of inflammation and oxidative stress

Key Words : Rat, oxidative stress , inflammation, antioxidant
Author : Serkan SUAKITICI, MD
Advisor : Sezai ÖZKAN, MD, Prof.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer Anatomisi	3
2.2. Karaciğer Histolojisi	5
2.3. Karaciğer Fizyolojisi	7
2.4. İskemi	9
2.5. Reperfüzyon	12
2.5.1. Serbest Radikaller	14
2.5.2. Nitrik Oksit ve Endotelin	19
2.5.3. Sitokinler	19
2.5.4. Kemokinler	20
2.5.5. Adezyon Molekülleri	20
2.5.6. Lipid Mediyatörler	21
2.5.7. Nötrofiller	21
2.5.8. Kupffer Hücreleri	22
2.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	22
2.6.1. Süperoksit Dismutaz	22
2.6.2. Katalaz	23

2.6.3. Glutasyon Peroksidaz	23
2.6.4. Sitokrom Oksidaz	24
2.7. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı	24
2.8.İskemi Reperfüzyon Hasarında Tedavi	27
2.8.1. İskemik Önkoşullanma	27
2.8.2. Antikompleman Tedavi	28
2.8.3. Antilökosit Tedavi	28
2.8.4. Antioksidan Tedavi	28
2.9. Levosimendan	29
2.10. N-Asetilsistein	32
3. MATERYAL VE METOD	36
3.1. Gruplar	36
3.2. Anestezi ve Cerrahi Prosedür	38
3.3. Biyokimyasal Ölçümler	42
3.4. Histopatolojik İnceleme	43
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	43
4. BULGULAR	44
4.1. Işık Mikroskop Bulguları	44
4.2. Biyokimyasal Değerler	52
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ	65
7. KAYNAKLAR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	: AlaninAminotransferaz
AMP	: Adenozinmonofosfat
AST	: AspartatAminotransferaz
ATP	: Adenozintrifosfat
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik adenozin mono fosfat
Cl ⁻	: Klor
CO ₂	: Karbondioksit
GSH	: Glutasyon
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FAD	: Flavın adenin dinükleotid
FÖK	: Flavın adenin dinükleotid
ET	: Endotelin
H ₂ CO ₂	: Karbonik asit
HOCL	: Hipoklorik asit
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
İL	: İnterlökin
İÖK	: İskemik ön koşullanma
İR	: İskemi reperfüzyon
İRİH	: İskemi reperfüzyon hasarı
K ⁺	: Potasyum
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
Na ⁺	: Sodyum
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NAS	: N-asetilsistein
NO	: Nitrik Oksit

O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PDE	: Fosfodiesteraz
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
ROT	: Reaktif oksijen türevler
SOD	: Süperoksitdismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TNF	: Tümör nekrozis faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Karaciğer segmenter anatomik görünümü	4
Şekil 2.2. Karaciğer lobül yapısı	6
Şekil 2.3. İskemide hücresel değişiklikler	10
Şekil 2.4. Hücre zedelenmesinde Ca^{++} artışının sebepleri ve sonuçları	11
Şekil 2.5. Reperfüzyonda oksijen radikali oluşumu	14
Şekil 2.6. Serbest oksijen radikalinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri	16
Şekil 2.7. Levosimendan kimyasal yapısı	29
Şekil 2.8. N-Asetilsistein kimyasal yapısı	33
Şekil 4.1. Gruplara göre karaciğer hasar skor dağılım grafiği	52
Şekil 4.2. Serum AST dağılım grafiği	53
Şekil 4.3. Serum ALT dağılım grafiği	54
Şekil 4.4. MPO (serum) dağılım grafiği	55
Şekil 4.5. Doku MPO dağılım grafiği	57
Şekil 4.6. Doku MDA dağılım grafiği	57

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Levosimendanın mekanizma ve farmakolojik etkileri	30
Tablo 3.1. Karaciğer hasar skorlaması	43
Tablo 4.1. Gruplara ait karaciğer hasar skorları	51
Tablo 4.2. Gruplara ait karaciğer hasar skoru istatistiksel analizi	51
Tablo 4.3. Grupların serum AST, ALT dağılımı	52
Tablo 4.4. Grupların serum AST, ALT istatistiksel analizi	53
Tablo 4.5. Grupların serum TNF- α ve MPO dağılımı	54
Tablo 4.6. Grupların serum TNF- α ve MPO istatistiksel analizi	55
Tablo 4.7. Grupların doku MDA ve MPO dağılımı	56
Tablo 4.8. Grupların doku MDA ve MPO istatistiksel analizi	56

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Cutdown ile juguler katater yerleştirilmesi	40
Resim 3.2. Cilt hazırlığı	40
Resim 3.3. Anterior laparotomi	41
Resim 3.4. Pedikül eksplorasyonu ve ligasyonu	41
Resim 3.5. Ligasyon sonrası karaciğer	42
Resim 4.1. Grup I, Karaciğer parankimi	44
Resim 4.2. Grup II, Karaciğer parankimi	45
Resim 4.3. Grup II, Ağır nekroz	46
Resim 4.4. Grup III, Fokal nekroz	47
Resim 4.5. Grup III, Orta düzey vakuolizasyon	47
Resim 4.6. Grup IV, Hafif konjesyon ve hafif vakuolizasyon	48
Resim 4.7. Grup IV, Basit hücre nekrozu	49
Resim 4.8. Grup V, Minimal vakuolizasyon ve minimal konjesyon	50
Resim.4.9. Grup V, Düzgün seyirli hepatosit kordonları, sinuzoidler normal çapta	50

1. GİRİŞ

Arter veya venöz kan akımının azalması yada tamamen durmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu, doku veya organların oksijen (O₂)’den yoksun kalması durumu iskemi olarak tanımlanır. İskemi hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesine bağlı geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre hasarı oluşturarak hücre ölümüne yol açmaktadır.

İskemi reperfüzyon hasarı (İRH), hipoksik organın tekrar oksijenlenmesi ardından ortaya çıkan hücresel hasarlanmadır. Karaciğerde İRH ilk kez 1975’de Toledo-Pereyra ve arkadaşlarının deneysel olarak gerçekleştirdikleri karaciğer naklinde gözlenmiştir. Nakledilen karaciğerde ilerleyici trombozis, konjesyon ve organ yetmezliği ile sonuçlanan greft nekrozu gelişmiştir (1).

Karaciğer iskemisi nakil cerrahisi dışında, travma, kanser, safra yolu tıkanmaları ve darlıkları nedeniyle ameliyat edilen hastalarda, ayrıca cerrahi girişim olmaksızın bir hemodinamik veya kardiyojenik şok periyodunu takiben oluşabilmektedir. Karaciğer İRH patofizyolojisi, karaciğer hasarına yol açan birçok mekanizma ile meydana gelir.

Karaciğer İRH mikroskopik olarak incelendiğinde santral nötrofil lökosit infiltrasyonu, bölgesel hemoraji ve nekroz, konjesyon, sinuzoidler ve kılcal damarlarda genişleme, bölgesel hepatoselüler vakuolizasyon, hepatosit şişmesi gibi değişiklikler görülür (2, 3).

İRH’den sorumlu olduğu düşünülen patofizyolojik mekanizmaları bloke edebileceği düşünülen birçok hepatosit koruyucu ajan; allopurinol, α-tokoferol, mannitol, dopamin, prostoglandin, aktive karbon hemoperfüzyonu, glukagon, melatonin, karnitin, klorpromazin, aprotonin, metilprednizolon, deferoksamin, siklosporin, katalaz, aspartik asit, ubiquinon, trombosit aktive edici faktör antagonistleri, adenosin trifosfat (ATP), verapamil, nifedipin, süperoksit dismutaz tanımlanmış ve bunların İRH üzerine iyileştirici etkileri deneysel iskemi/reperfüzyon (İR) modellerinde araştırılmıştır (4).

N-asetilsistein (NAS)'in antioksidan özelliği ortaya konmuştur. Sistein, elektron vererek organik molekülleri indirgeyen, sülfür içerikli, thiol grubu bir antioksidandır. Thiol grubu antioksidanlar myoglobin oxoferil kompleksini etkili bir şekilde indirgerler. NAS glutatyon prekürsörü ve analogu olarak mukolitik, oksidatif stres kaynaklı hastalıklar, çeşitli solunum yolu hastalıkları ve sepsiste koruyucu ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

Levosimendan, akut ve dekompanze kalp yetersizliğinin tedavisinde kullanılan kardiyovasküler bir ilaçtır. Kontraktil proteinlerin kalsiyum (Ca^{++})'a duyarlılığını artırarak pozitif inotropik etki sağlarken, potasyum (K^+) duyarlı ATP kanallarını açarak vazodilatasyon ve antiiskemik etki oluşturur (5).

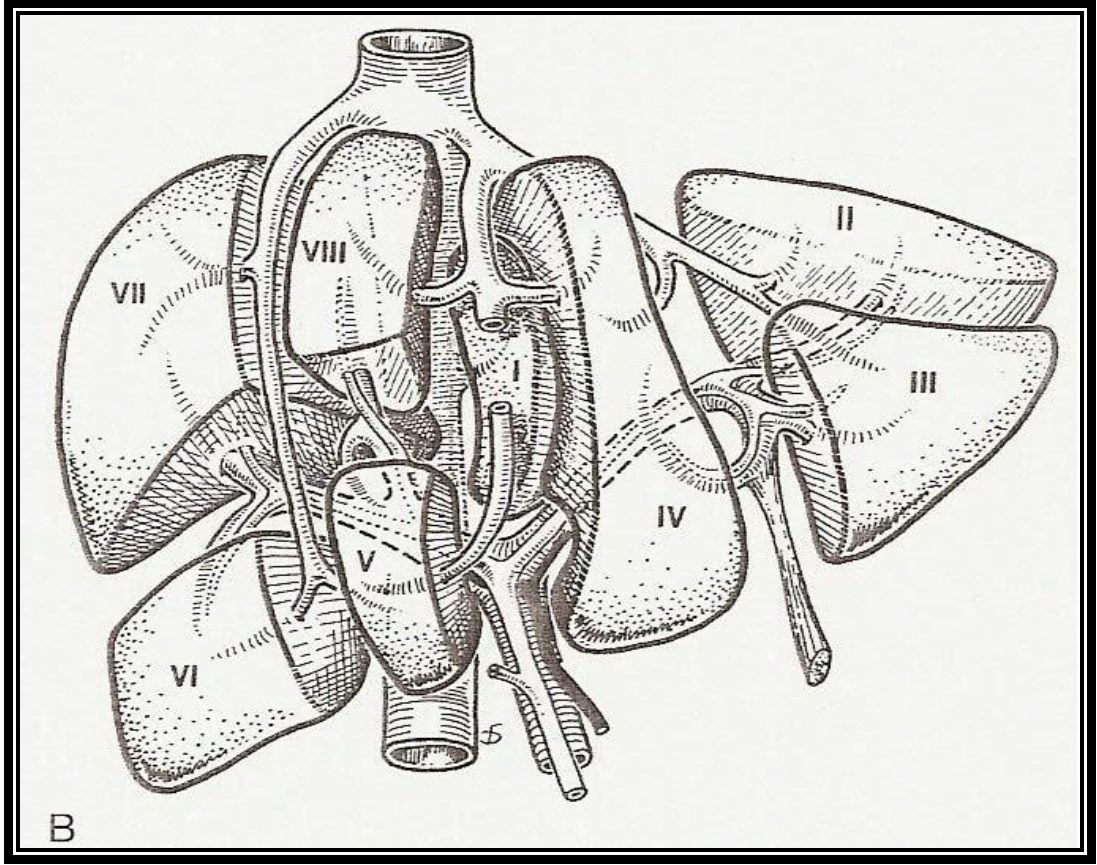
Biz bu çalışmamızda deneysel karaciğer iskemi reperfüzyon modeli oluşturarak NAS ve levosimendanın ayrı ayrı ve birlikte karaciğer İRH'a olan etkilerini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi

Karın boşluğunun üst tarafında sağ hipokondrium ve epigastriumdan sol hipokondriuma kadar uzanan karaciğer vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturur. 1200-1600 gr arasında değişen ağırlığı ile karaciğer vücudumuzun en büyük organıdır. Karaciğer "Glisson Kapsülü" adı verilen peritonla örtülüdür. Karaciğer arka-alt bölümünde hepatik venlere ve v.cava inferiora yakın bölümü peritonsuzdur ve buraya çıplak alan (bare area) olarak adlandırılır. Karaciğerin viseral ve diyafragmatik olmak üzere iki yüzü bulunur. Diyafragmatik yüz üstte diyafram ile komşu iken viseral yüz; hepatik fleksura, transvers kolon, duodenum, safra kesesi, mide ve özefagus ile komşudur (6, 7).

Fransız cerrah Couinaud'un 1957 yılında yaptığı fonksiyonel anatomi tarifi karaciğerin segmental anatomisi için en uygun olanıdır. Orta hepatik venin bulunduğu hat cantlie çizgisine uyamaktadır (ana fissür). Cantlie çizgisi karaciğeri iki ana loba ayırmaktadır. Sağ karaciğer lobu sağ hepatik venin bulunduğu portal fissür ile anterior (anteromedial) ve posterior (posterolateral) sektörlere ayrılmaktadır. Hepatik fissürler sağ karaciğerdeki sektörleri inferior ve süperior segmentlere ayırmaktadır. Sol karaciğer sol portal fissür ile medial ve lateral sektörlere ayrılır. Bu tarife 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 meydana gelir (8) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Karaciğer segmenter anatomik görünümü (9).

Karaciğerin kan akımı 100–150 ml/kg/dk'dır. Karaciğerin arteriyel beslenmesi trunkus çöliakusun bir dalı olan ve a.hepatika kommunis'ten çıkan a.hepatika propria ile sağlanır. A.hepatika propria hepatoduodenal ligaman içinde vena porta ve koledok ile birlikte seyretmektedir. Porta hepatis seviyesinde sağ ve sol iki dala ayrılır. Vena portanın dalları ile birlikte karaciğer içinde dağılır. Hepatik arter karaciğer kanlanmasının %20'sini sağlarken oksijenlenmenin ise %50'sini sağlar (7).

Karaciğerin portal ve hepatik iki ana grup veni vardır. Portal ven; splenik ven ve superior 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 sağlarken oksijenlenmesinin ise %50'sini sağlar (10). Sentral venler birleşerek vena hepatikaları oluşturur. Sağ hepatik ven karaciğer sağ lobunun kanını v.cava inferior'a boşaltır. Sol hepatik ven

karaciğer sol lobunun 2. ve 3. segmentlerinin kanını alır ve orta hepatik venle birleştikten sonra v. cava inferiora dökülür (6, 8).

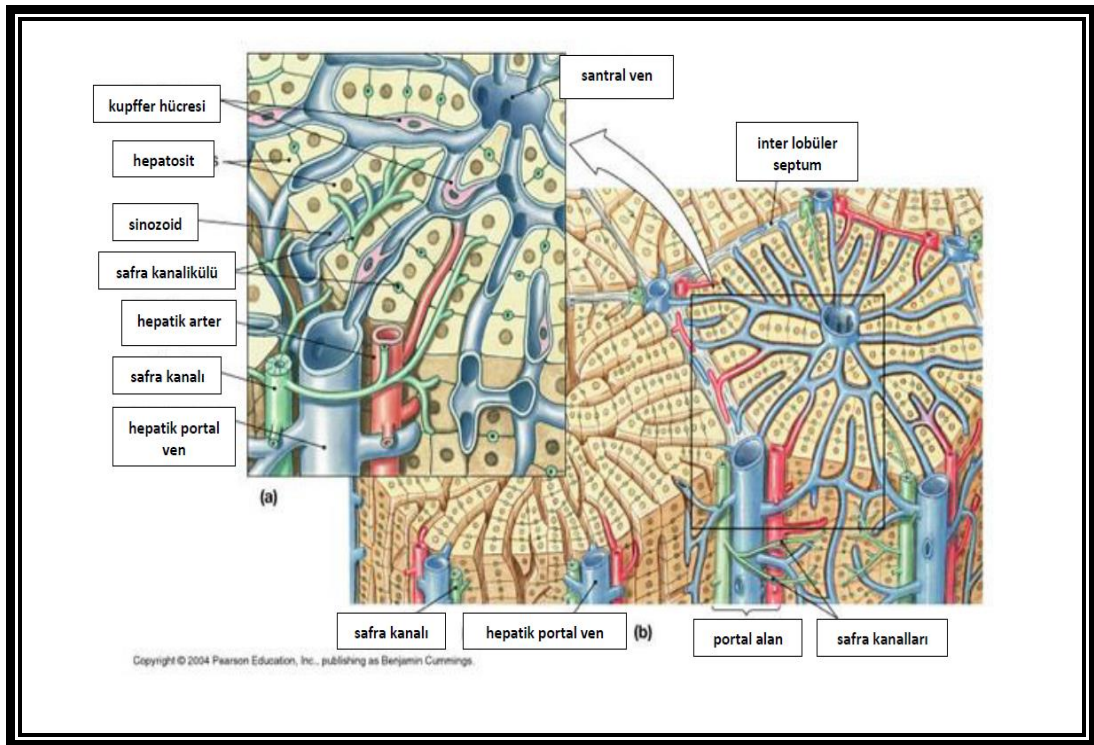
2.2. Karaciğer Histolojisi

Hepatositler karaciğer hücrelerinin yaklaşık %60-70'ini oluşturmaktadırlar. Hepatositler polihedral şekilli, 6–8 yüzeyi olan yaklaşık olarak 20–30 µm çaplı hücrelerdir. Merkezi yerleşimli 1 yada 2 nukleolusa sahiptirler. Fonksiyonu itibarı ile bol miktarda endoplazmik retikulum, ribozom ve golgi cisimcikleri vardır. Oldukça fazla sayıda mitokondri bulundurmaktadırlar. Endoplazmik retikulum, ribozom organelinin varlığı ya da yokluğuna göre granüllü ya da granülsüz olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak granüllü formu protein sentezinden sorumludur. Granülsüz formu hepatositlerde özellikle safra yapımı, salgılanması ve toksik maddelerin detoksifikasyonundan sorumludur (11).

Endotelial hücreler karaciğer hücrelerinin yaklaşık %20-30'unu oluşturmaktadır. Karaciğer fonksiyonel ünitesindeki sinüzoidler, endotel hücrelerinin bir araya gelerek bağlanmasıyla oluşturdukları tubuler yapılardır. Endotel hücrelerinin arasındaki bağlantılar geniş porlar içermektedir. Disse aralığına geçen mayi, endotel hücreleri arasından süzülerek ya da primer endotel hücrelerinin aktif transportu ile protein ve elektrolit transferiyle oluşturulmaktadır (12).

Epithelial kökenli hepatositler bir araya gelerek karaciğerin en küçük yapısal birimi ve fonksiyonel ünitesi olan lobülleri oluşturur. Lobüller yaklaşık 0,7 x 2 mm boyutlarında poligonal yapılardır. Lobüller birleşerek lobları meydana getirir. Karaciğer lobüllerinin sınırlarını belirleyen, hilustan organ içine giren ve parankimi odacıklar şeklinde bölen glisson kapsülüdür. Segmentler ise içinde birden çok lobül barındıran, sınırlarını vasküler ana dalların belirlediği, cerrahi prosedür için önemli olan ve karaciğeri topoğrafik olarak alanlara bölen ünitelerdir. Lobüller arasındaki yakın komşuluğa rağmen her bir lobülün çevresinde bir portal boşluk bulunur. Bu boşlukta her bir lobül için 3–6 adet portal triad yer alır. Portal triad venül, arteriol ve safra kanalı içerir. Ek olarak lenfatiklerde bu portal boşlukta yer alır (13).

Lobülün ortasında bir santral ven yer alır ve hepatositler bu venden portal boşluğa doğru bir veya iki kat hücreden oluşan ışınal bir dizilim gösterir. Bu hepatosit dizileri arasında kapiller ağ içeren sinuzoidler bulunur (Şekil 2.2.). Hepatositler ile kapiller endotel hücreleri arasında disse aralığı bulunur. Hepatositlerin mikrovillusları bu aralığa uzanırken, kapiller endotel yüzündeki porlarda bu aralığa açılır. Bu özel porlu yapı sayesinde hepatositler ile kapiller damarlar arasında makromolekül transferi gerçekleşebilmektedir (13).



Şekil 2.2. Karaciğer lobül yapısı (14).

Vücudun retiküloendotelial sisteminin önemli bir kısmını kupffer hücreleri oluşturmaktadır. Karaciğerin doku makrofajlarıdır ve karaciğer sinuzoidlerinin yüzeyini döşemektedirler. Karaciğerin primer fagositer hücreleri olma özelliği ile dolaşımdan, barsaklardan ve kolonik floradan dolaşıma katılan bakteri, virüs ve endotoksinleri etkisiz hale getirirler (7).

Presinuzoidal Hücreler (İto Hücreleri), sinuzoidleri oluşturan endotel hücrelerinin hemen altında yer alır. Sinuzoidlerin kan akımının

düzenlenmesine, kasılıp gevşeyerek katkıda bulunurlar. Yapılan mikroskopik bakılarda yağ vakuollerince zengin olduğu için A vitamini deposu oldukları düşünülmektedir. Aynı zamanda kollajen üretimi ve depolanmasından da sorumludurlar. Bu sebeple hepatit zemininde gelişen fibrozisten sorumlu tutulmaktadır (15).

Karaciğer sinuzoidleri ve disse aralığı sinuzoidleri oluşturan endotel hücreleri ile hepatik lobüldeki ışınal dizilimli hepatositler arasındaki interstisyel boşluğa disse aralığı adı verilmektedir. Sinuzoidlerden kanın geçişi esnasında disse aralığına plazma sıvısı akmaktadır. Hepatik lobül köşelerindeki bağ dokudan zengin olup içinde portal triadı bulunduran ve kiernan aralığı adı verilen bölgede lenfatik damarlar mevcuttur. Disse aralığına geçen plazma sıvısı, hepatositlerin metabolik artıkları, yüksek molekül ağırlıklı proteinler, kolesterol ve yağ asitleri bu lenfatiklere drene olmaktadır (16).

2.3. Karaciğer Fizyolojisi

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

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

Karaciğer aynı zamanda yağ asitleri ile nötral yağları sentez ve katabolize eden bir organdır. Yağ asitleri 4 karbonlu keton cisimciklerine ve aktif asetat gibi 2 karbonlu bileşiklere dönüştürülür. Benzer şekilde gliserol de

parçalanarak aktif asetata dönüştürülür. Kolesterol sentezi ve esterleştirilmesi temel olarak karaciğerde meydana gelen olaylardır. Karaciğer fosfolipid ve lipoproteinlerin de sentezinde ve parçalanmasında da önemli rol oynar.

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

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

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

Karaciğer aynı zamanda vücudun detoksifikasyon merkezidir. Karaciğer oksidasyon, redüksiyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle, steroid hormonlar gibi iç kaynaklı, ilaç ve kimyasal madde gibi dışkaynaklı birçok maddeyi yıkıma veya değişime uğratır.

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

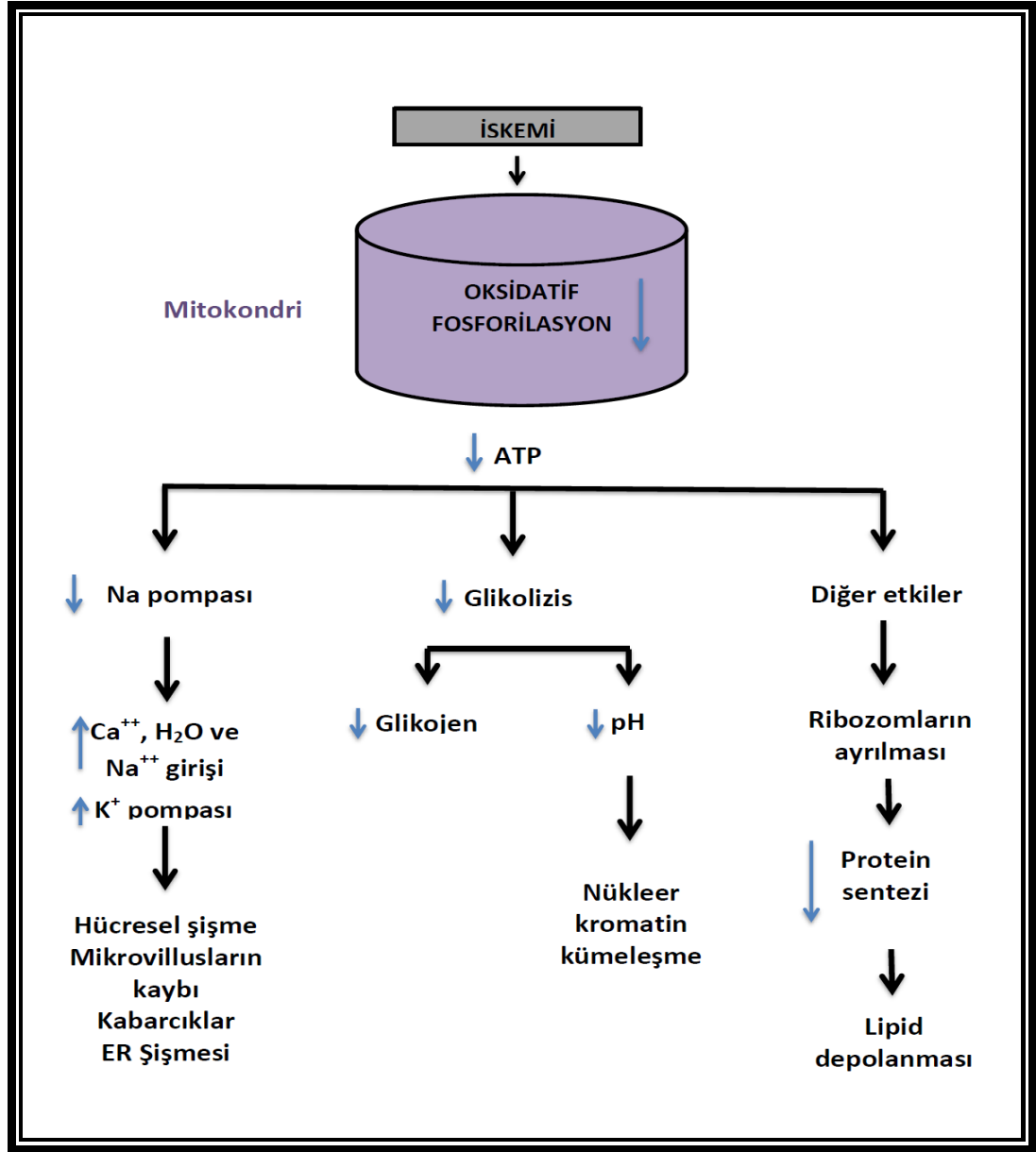
Karaciğerin yapılan kan akımı ölçümleri, kalp dakika hacminin dörtte birinin karaciğere gittiğini ortaya koymuştur. Bu da normal bir kişide dakikada ortalama 1500 ml lik bir kan akımı anlamına gelir. Karaciğer kan akımının yaklaşık dörtte biri a.hepatikalar tarafından sağlanır. Diğer kısmı ise vena porta tarafından sağlanır. Vena porta iç basıncı ortalama 7-10 mmHg kadardır. A.hepatika içindeki basınç ise, sistemik arteriyel basınç kadardır. Karaciğer sinüzoidlerinde ise basınç, ortalama 4-8 mmHg'ya kadar düşer. V.hepatikalardaki basınç 3-6 mmHg kadardır. V.cava içerisinde basınç ise,

diyafragma düzeyinde 2-5 mmHg kadardır. Bu basınç farkları kanın kalp yönünde akmasını sağlar. Vena porta kanının oksijen içeriği sistemik venöz kana oranla daha yüksektir (17).

2.4. İskemi

İskemi, arteriyel veya venöz kan akımı azalması veya tamamen kesilmesi ile organ veya dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması olayıdır (18, 19). İskemi, organı perfüze eden kan akımındaki azalmaya bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre hasarına yol açabilir. Yine iskemi sonucu hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikimi sonucu hücre ölümü meydana gelebilir (22, 23).

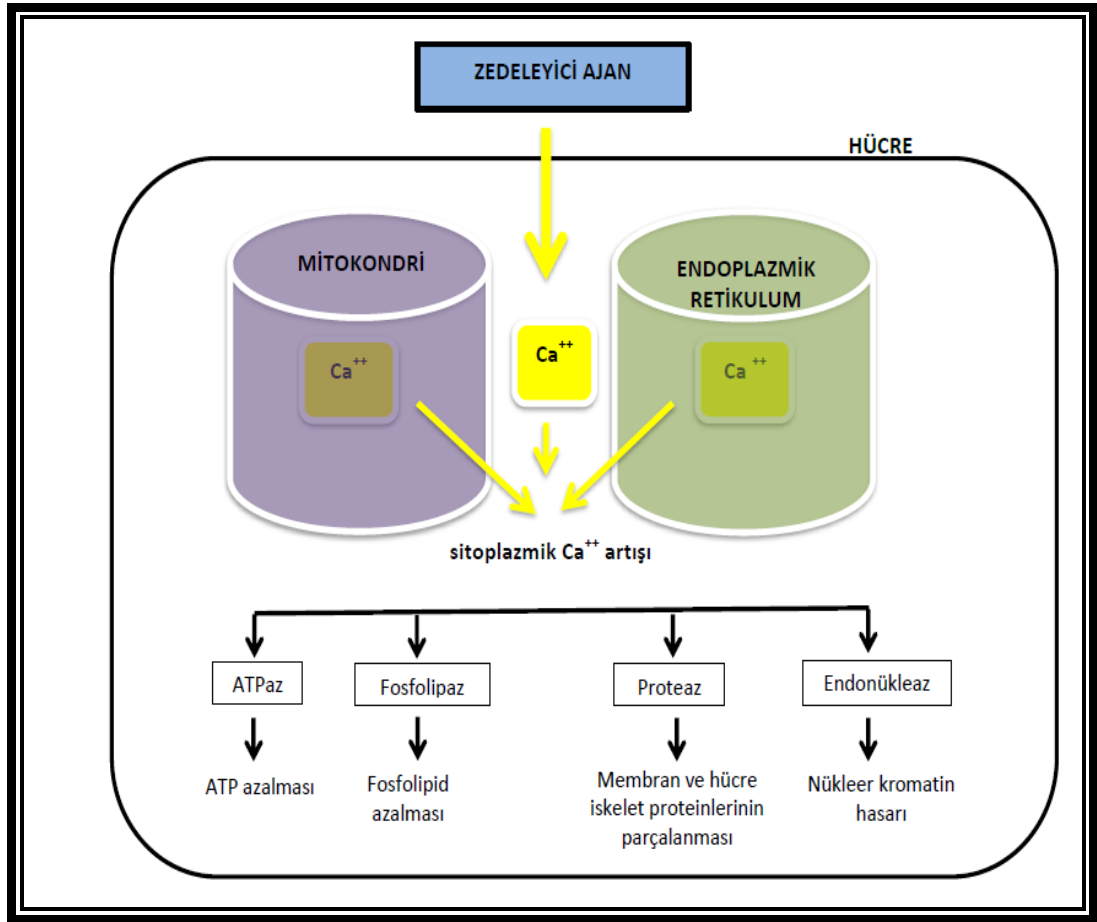
İskemi sürecinde dokudaki oksijen bağımlı metabolik süreçler çalışmamakta ve oksidatif fosforilasyon yapılamamaktadır. Ayrıca mitokondrial elektron transport zinciri efektif çalışmamaktadır. Anaerobik mekanizmalarla glikoliz sürecinde ATP üretilmeye çalışılır ve laktik asit birikimi olur ve asidoz gelişir. Hücrenin canlılığını koruması için gerekli enerji ATP ile sağlanmaktadır. ATP üretiminin yetersizliği ATP'nin adenin ve hipoksantine kadar yıkımı ile sonuçlanmaktadır. Bu yıkım beraberinde ROT (reaktif oksijen türevleri)'un oluşumu ile sonuçlanmaktadır. ATP'nin yetersizliği ve sonucunda oluşan ROT, hücre hasarını oluşturmaktadır (Şekil 2.3.) (20-23).



Şekil 2.3. İskemide hücresel değişiklikler

İskemi nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan ATP bağımlı Na^+/K^+ pompasında işlev yetersizliğine yol açarak K^+ 'un hücre dışına çıkmasına ve sodyum (Na^+) ve klor (Cl^-) iyonlarının hücre içine girmesine neden olur. Oluşan iyon dengesizliği hücre içerisinde izoozmotik su birikimiyle akut hücre şişmesine neden olur. Anaerobik glikoliz sonucu oluşan asidoz, karbondioksit (CO_2) birikimiyle oluşan karbonik asit (H_2CO_3) ile daha da derinleşir (24).

ATP bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler Ca^{++} u dengelemektedir. ATP metabolizması sonucunda, hücre içinde adenozin monofosfat (AMP) konsantrasyonunda artış olur. İntrasellüler Ca^{++} artışı sonucunda proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipazların aktivasyonu araşidonik asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik asit direk etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır (18, 24) (Şekil 2.4.). Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar. Hasara, mitokondrilerde şiddetli vakualizasyon ve matrikste Ca^{++} dan zengin şekilsiz yoğunluk birikimi eşlik eder (24).



Şekil 2.4. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik Ca^{++} artışının sebepleri ve sonuçları (24).

Uzamış hipoksi; membran potansiyeli, iyon geçişi ve endotelial hücrelerin iskelet yapısını bozmakta ayrıca intrasellüler volümü arttırmaktadır.

Membran hasarının potansiyel nedenleri (18) :

1. Membran fosfolipitlerinin ilerleyici kaybı: İskemiye bağlı Ca^{++} artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonu yıkımın artmasına yol açabilir.
2. Hücre iskelet anormallikleri: Hücre içi Ca^{++} 'un artması ile aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilirler.
3. Serbest oksijen radikalleri: İndirgenmiş O_2 türevleri hücre membranına ve elemanlarına zarar verirler. Serbest oksijen radikalleri iskemik dokularda, özellikle kan akımının düzelmesinden sonra artar ve büyük ölçüde reperfüzyon sırasında zedelenme alanına gelen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.
4. Lipid yıkım ürünleri: Fosfolipidlerin parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu ürünler membranlar üzerinde hasar oluşturur.

2.5. Reperfüzyon

İskemik dokulara kan akımının yeniden sağlanması ile geri dönüşümlü hasarlanan hücreler onarılırken, geri dönüşümsüz hasarlanan hücreler etkilenmez. Bununla beraber iskemik hasarın süre ve şiddetine göre birçok hücre nekroz ve apopitozis nedeniyle ölebilir.

Reperfüzyon, iskekiye yol açan etkeni ortadan kaldırır ve dokuya kan akımını yeniden sağlar. Bir yandan dokunun enerji dengesini düzeltirken diğer taraftan metabolik artıkların uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Bununla birlikte reperfüzyon aynı zamanda iskeminin yarattığı hasarı daha da artırabilir.

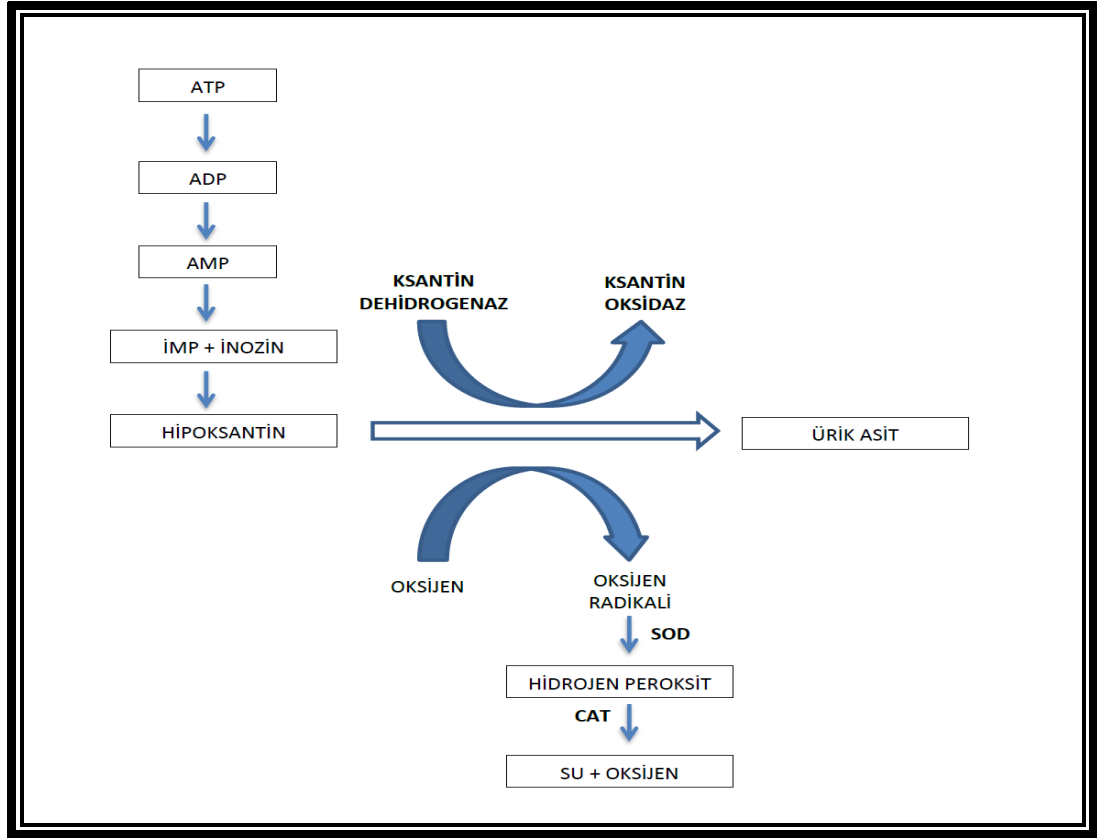
Reperfüzyon hasarı; endotelial faktörler, serbest oksijen radikalleri ve nötrofiller arasındaki ilişki ile meydana gelir. Hasarı asıl tetikleyen olayın endotel hücrelerindeki zedelenme olduğu tahmin edilmektedir. Tam olarak mekanizmaları açık olmasa da iskemik dokuların yeniden kanlanmasının daha fazla hasar oluşturabilmesi şöyle açıklanabilir:

1. Kan akımının yeniden sağlanması ile etkilenen hücreler henüz kendi iyonik çevrelerini tam olarak düzeltememişken yüksek konsantrasyon kalsiyumla karşı karşıya kalır ve artan hücre içi kalsiyum hücre bütünlüğünün kaybına neden olur.

2. Hasar görmüş hücrelerin yeniden kanlanması iltihabi hücrelerin yeniden bölgeye gelmesine neden olur. Bu hücreler membran hasarı yanında mitokondrial permabilite geçişini biraz daha artıran yüksek düzeylerde serbest oksijen radikallerini açığa çıkartır. Etkilenmiş fakat henüz yaşayan hücrelerde mitokondri hasarı tam olmayan oksijen azalmasını ve böylece serbest radikal türevlerinin üretiminin artmasını sağlar. Bununla birlikte iskemik olarak zedelenen hücrelerde antioksidan savunma mekanizmaları da etkilenmiştir (25).

Yapılan bir çalışmada İR hasarında sorumlu mediyatörlerin serbest oksijen radikalleri (SOR) olduğu gösterilmişti. Reperfüzyonun başlaması ile reoksijenasyon sırasında lökosit, endotel ve parankim hücrelerinden serbest oksijen radikalleri salınırlar. SOR'leri mitokondrilerdeki permabiliteyi bozar ve hücrenin ATP üretimini engelleyerek hücre ölümüne neden olur. İskemik hasar, parankim ve endotel hücrelerinden sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin salınımı dokuya PMNL'leri çeker ve daha fazla hasara yol açarlar (26).

Reperfüzyonun sağlanması ile birlikte sitotoksik olaylar serisi başlar. Bu olayları başlatan faktörlerin en önemlisi SOR'dir (33). Reperfüzyon sonucu dokuya kan ve O₂ sağlanır. Dokuda iskemi süresince biriken hipoksantin atılmaya çalışılır. Oksijen varlığında ksantin oksidaz enzimi aktive olarak SOR'ni oluşturur (27) (Şekil 2.5.).



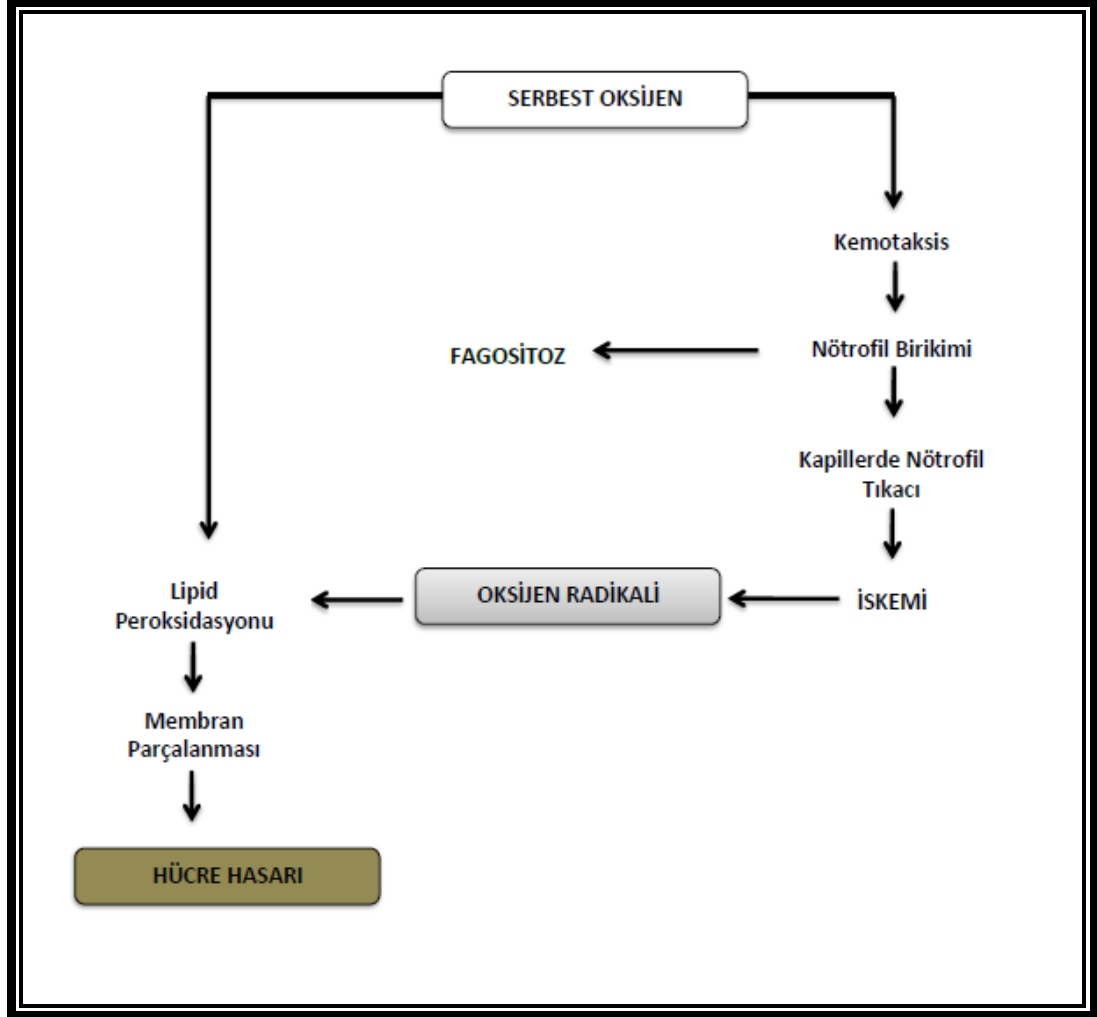
Şekil 2.5. Reperfüzyonda oksijen radikali oluşumu (30).

2.5.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran moleküllerdir. Son yıllarda birçok hastalık oluşumundaki yapısal ve fonksiyonel bozukluklardan sorumlu tutulurlar. Oldukça aktif olan bu moleküller, özellikle demir gibi geçiş metallerinin varlığında ortaya çıktıkları gibi birçok ağır metallere maruz kalınımında ayrıca metilmalonik asid ve aminolevülinik asid gibi toksik maddelerin artışı durumlarında da miktarları yükselebilmektedir (28).

Serbest oksijen radikalleri hem dokuya doğrudan zarar vermekte hem de PMNL'lerin hasarlı dokuda birikmesine yol açar. Nötrofil ve monositler primer lizozomal granüllerinde bir hemoprotein enzimi olan myeloperoksidaz (MPO) içerirler. Nötrofiller dolaşımda bulunan PMNL'lerin % 90'ından fazlasını oluştururlar. Dokuya gelen aktive PMNL'ler MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarır. Bu

enzimler dokudaki hasarı arttırırken daha fazla radikal oluşmasına neden olur (29) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Serbest oksijen radikalinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri (30).

Hücre içi moleküllerin oksidasyonunun çoğunluğu iki elektronun Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) veya Flavin adenin dinükleotid (FAD) gibi uygun alıcılara transfer edilmesi şeklinde olur. Son basamak olan oksijenin suya redüksiyonu oksijene güçlü bir şekilde bağlanan sitokrom c oksidaz tarafından katalizlenir. Bu işlem sırasında herhangi bir ara ürün oluşmaz. Ancak oksijenin elektronik yapısı her defasında bir elektron eklenmesi ile redüksiyon oluşturmaya yatkın olduğu için ortaya çıkan oksijen radikalleri hücresel hasara neden olurlar. Radikal oldukça etkin eşleşmemiş

elektronu dış yörüngesinde bulunduran bir molekül olarak tanımlanır. Bu yörüngeyi tamamlamak için başka bir molekülden bir elektronun koparıldığı zincirleme reaksiyonlara yol açar. Oksijene her defasında elektron transfer edilmesi süperoksid anyonu, hidrojen peroksid ve hidroksil serbest radikali oluşumuna neden olur. Bunlar içerisinde hidroksil radikali lipid peroksidasyonu ve diğer toksik radikalleri oluşturduğu için en tehlikeli serbest radikaldir. Hidrojen peroksid tek başına bir serbest radikal olmamasına karşın, Fenton veya Haber-Weis reaksiyonları yoluyla demir veya bakır varlığında hidroksil radikali oluşumuna yol açar (31, 32).

Hücredeki oksidatif işlemler genellikle elektronların oksijene su oluşturmak amaçlı bir ara ürün salınmaksızın transferi ile sonuçlanmasına karşın, az miktarda oksijen radikali elektron transfer reaksiyonlarından kaçarak oluşur. Metal katalizi reaksiyonlara OH radikali veya demir-oksijen türleri membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Bunun yanı sıra reaktif aldehydlerde (malondialdehit gibi ürünler) ortaya çıkar. Sitokrom P 450 sistemi de endoplazmik retikulumda oksijen radikallerini üretebilirler. Oksijen radikalleri aynı zamanda bakteriyel enfeksiyon gibi inflamasyon olayları sırasında hücrelerde üretilir. Akut enfeksiyonda oksijen radikallerinin üretilmesi ve bakterinin öldürülmesi etkin bir işlem iken, uzamış infeksiyonlarda fagositlerin ölmeye başlamasına bağlı salınan toksik oksijen radikalleri çevre hücreleri de etkiler. Kozmik radyasyon, kimyasal madde, ilaçların alınması ve sigara kullanımı da reaktif oksijen türlerinin oluşmasına öncülük eder (31).

Reaktif oksijen türleri hücrelerde bulunan her sınıftan ana makromoleküllerle etkileşip hasar yapabilir. Plazma ve membranda bulunan fosfolipidler hidroksil radikali ile çoklu doymamış yağ asidinden bir hidrojenin koparılması ile başlayan, bir serbest radikal zincir reaksiyonu olan lipid peroksidasyonuna çok duyarlıdır. Ortaya çıkan lipid radikalleri, oksijen ile etkileşip lipid peroksi radikallerini ve malondialdehit (MDA) oluştururlar. MDA suda çözünür bir molekül olup kandaki düzeyleri ölçülebilir.

Lipid peroksidasyonunun en önemli etkisi, membran geçirgenliğini artırarak, kalsiyum ve diğer iyonların hücre içine geçmesi sonucu hücrede

şişme meydana getirmesidir. Benzer bir geçirgenlik artışı da hücre organel membranlarında olur, iyon dağılımı bozulur ve hücre içi harabiyet meydana gelir. Oksijen radikallerinin en önemli etkisi hem mitokondriyal, hem de çekirdekdeki deoksiribonükleik asit (DNA)'ın hasarlanması sonucu oluşan mutasyonlardır. Ferröz iyonlarının nonspesifik olarak DNA'ya bağlanması hidroksil radikallerinin etkileyeceği bölgeyi belirleyebilir ve sonuçta sarmal kopabilir. Elektron transport zinciri toksik oksijen radikallerinin en büyük kaynağı olduğundan, mitokondriyal DNA oksijen radikal hasarından daha fazla etkilenir. Nükleer DNA tamir mekanizması kadar aktif ve etkili olan koruyucu histon tabakası yoluyla da hasardan korunurlar. Mitokondriyal DNA hasarı enerji metabolizmasını etkileyen mutasyonlarla sonuçlanır (31-33).

Reaktif oksijen türevlerinin en önemli intrasellüler kaynağı mitokondridir. Oluşan bu reaktif oksijen türevleri mitokondriyal DNA'ya zarar verir. Mitokondri elektron transport sisteminde süperoksid üreten iki bölgenin bulunduğu gösterilmiştir. Elektron transport sisteminde kullanılan oksijenin %1-2'si bu şekilde süperoksid oluşumu ile sonuçlanır. Glikozun aerobik solunumu ile yıkılması sırasında, tüm anabolik ve katabolik süreçlerde moleküler düzeyde elektron kaçışları olur. Bu sırada bir miktar oksidan moleküller ortaya çıkabilir (34).

Entoksikasyonlar, radyoaktivite, allerjik durumlar, travma, iskemi ve hemoraji gibi durumlarda da elektron transport sisteminden kaçaklar olur ve oksidan moleküller oluşur. Yine değişik mekanizmalarla hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarının arttığı durumlarda oksidan enzimler aktive olur ve çok sayıda mediatör ve oksidan madde oluşmaya başlar (35,36). Nötrofillerde hücre zarlarında bulunan Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidaz enzimi aracılığıyla moleküler oksijeni redükte ederek süperoksid radikali oluşturabilir.

Aktive olmuş nötrofiller aynı zamanda MPO enzimi salgılayarak, hidrojen peroksit ve klorür iyonlarından hipoklorik asit (HOCL) oluşmasını katalize ederler. HOCL, güçlü bir oksidandır ve sülfidril grubu veya nitrojen içeren bileşikler ve DNA gibi birçok maddeyle kolayca reaksiyona girebilir (36).

Organizmada serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açan endojen ve ekzojen kaynaklar bulunmaktadır (37).

Endojen kaynaklar:

1. Mitokondriyal ve endoplazmik retikulum elektron transport zinciri
2. Nötrofil fagositoz sistemi
3. Ksantin oksidaz sistemi
4. Araşidonik asit metabolizması
5. Enzimatik olmayan reaksiyonlar
6. Lenfosit, fibroblast ve endotelden düzenleyici moleküller olarak salgılanma
7. Diğer oksidazlar

Ekzojen kaynaklar:

1. İyonizan radyasyon (X-ışını)
2. Hepatotoksinler (Karbon tetraklorür)
3. Ksenobiyotikler
4. Redoks siklusu yapan maddeler
5. Kemoterapötikler (Adriamisin)
6. Hava kirliliği, UV ışınları, sigara

İRH sonrasında oluşan serbest radikaller, vücudun mevcut enerji üretim kaskadındaki oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinin bir numaralı substratı olan O_2 'nin radikalleridir. Metabolizmanın gereği olarak O_2 mitokondrilerde sitokrom oksidaz sistemi ile elektronları kaybederek H_2O ve CO_2 'ye indirgenmektedir. Bu oksidatif metabolizma ile vücudun enerji ihtiyacı ATP'lerde depolanmaktadır. Bu reaksiyonlar sürecinde elektron kaçakları olabilmekte ve serbest radikaller fizyolojik süreçte de oluşabilmektedir (38). Mevcut antioksidan enzimler fizyolojik süreçte detoksifikasyon için yeterlidirler ancak İRH detoksifikasyon kapasitesini aştığı için ROT hasarı görülmektedir. ROT oluşumunda diğer bir kaynak inflamatuvar hücrelerdir (nötrofil, NK hücre, makrofaj). İnflamatuvar hücreler bakteriyel ve virütik hücrelerin lizisinde bu radikalleri kullanır. Nötrofiller ROT sentezi için MPO aktivitesini kullanır.

ROT'lar hücrelere 4 ana mekanizma ile zarar verirler:

1. Membran lipid peroksidasyonu yaparak
2. Nonperoksidatif mitokondrial hasar yaratarak
3. DNA hasarı yaratarak
4. Proteinlerde sülfidril çapraz bağlarını oluşturarak (12, 37, 39, 40).

2.5.2. Nitrik Oksit (NO) ve Endotelin (ET)

Endotelin vasküler endotel kaynaklı 21 aminoasitten oluşan bir vazokonstriktör polipeptiddir. Yapılan çalışmalarda ET'nin 3 izotipi tespit edilmiştir ve farklı dokularda farklı miktarlarda sentezlenmektedir. NO genellikle inflamasyon sürecinde nötrofiller, hepatositler, kupffer hücreleri gibi inflamatuvar hücrelerden sentezlenirler. Güçlü vazodilatatör moleküllerdir. NOS tarafından L-Arjinin'den sentezlenmektedir. Tip1 n-NOS (nöronal), tip2 i-NOS (indüklenebilen), tip3 e-NOS (endotelial) olmak üzere üç izotipi vardır. İR sürecinde etkin olan formu tip2 i-NOS'dur ve bunun sentezinin düzenlenmesinde NF- κ B etkilidir (41-43).

2.5.3. Sitokinler

Sitokin salgılanması kendi kendini denetler ve düzenler. Sitokinler hedef hücrede membran reseptörlerine bağlanarak etki ederler. Sitokinler, inflamasyona verdikleri yöne göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak iki ana gruba ayrılırlar. Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar, inflamasyonu alevlendirirler, diğer yardımcı sitokinlerin salınımı artırırlar ve inflamatuvar hücreleri aktive ederler. İmmün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler TNF- α ve IL-1'dir. Proinflamatuvar yardımcı sitokinler ise IL-6 ve IL-8'dir. Antiinflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde ve iyileşme sürecinde salınırlar. Bunlar IL-4, IL-10, IL-11, IL-13'dür (44-46). Sitokinler etkilerini, gen ekspresyonunu düzenleyerek gösterirler ve hücrede sentezlenen maddelere yön verirler. Kemik iliği üzerine hematopoietik etkileri vardır. İlk etapta hücre hasarı ile birlikte Kupffer hücrelerinin aktivasyonu ile TNF- α , IL-1 ve IL-6 sentezlenir

(47, 48). TNF- α ve IL-1, IL-8 sentezini uyarır ve adezyon molekülleri sentezini artırır (49-52). Yapılan çalışmalarda, ratların karaciğerinde iskemi-reperfüzyon sonrası TNF- α üretimi kontrol grubuna göre daha fazla tespit edilmiştir (53). TNF- α , IL-1 salınımını artırır ve IL-1 de nötrofillerden serbest radikal salınımını tetikler (54). IL-1 ile TNF- α 'nın inflamatuvar mekanizmalar üzerine sinerjistik etkileri vardır ve birbirlerinin etkilerini potansiyalize ederler. IL-1'in yarılanma ömrü 6 dakikadır ve kısa yarılanma ömrü kandaki tespitini zorlaştırmaktadır.

2.5.4. Kemokinler

Kemotaktik sitokinler kemokin olarak adlandırılmaktadır. Küçük molekül ağırlıklı (5–15 kD) bileşiklerdir. Akut ve kronik inflamasyonda sitokinlerin yardımıyla salgılanırlar. Anjiojenik özellikleri ile neovaskülarizasyona sebep olmaktadır. İnflamasyonun kronikleşmesi sürecinde oldukça fazla etkinliğe sahiptirler. Platelet faktör-4, CINC (sitokinle indüklenen nötrofil kemoçekicisi), MIP1–2 (makrofaj inhibitör protein), MCP–1.2.3 (monosit kemoçekicisi) bunlardan birkaçıdır (55).

2.5.5. Adezyon Molekülleri

İnflamasyon sürecinde adezyon; adezyon moleküllerinin sentezlenmesi, kan akımının yavaşlaması, lökositlerin vasküler endotel hücrelerine affinitelerinin artması ile oluşmaktadır. Bu aktivasyonda sitokinler, kemokinler, lipid mediatörler rol oynamaktadır. ICAM–1, ELAM–1, VCAM–1, selektinler, integrinler bunlardan bazılarıdır. ELAM–1 aktivasyonu TNF- α ve IL–1 salınımı ile artar. ICAM–1 İR modelinde sinüzoidal endotel hücrelerinden sentez edilmektedir. Sentezleri, TNF- α ve IL–1 sitokinleri ile artar (56). İR sonrası doku mikrosirkülasyonu yavaşlar, inflamatuvar mediatörlerden ICAM–1'in nötrofildeki karşılığı olan L-Selektin lökosit membranından tomurcuklanır ve ICAM-1 ile birleşerek lökosit adezyon ve migrasyonunu gerçekleştirir (57).

2.5.6. Lipid Mediatörler (Araşidonik Asit Metabolitleri)

Araşidonik asit poliansatüre bir yağ asiti olup hücre membranındaki fosfolipidlerde bol miktarda bulunmaktadır. Hücre membran fosfolipidlerinden fosfolipazların aktivasyonu ile araşidonik asit sentezlenir ve lipooksijenaz ve siklooksijenaz ile katalizlenen iki ana yolağa yönelir. Araşidonik asit siklooksijenaz yolağa girerse prostaglandin G₂ ve prostaglandin H₂ oluşmaktadır. PGH₂ çok labil bir bileşiktir ve hemen stabil formlara dönüşme eğilimindedir. PGH₂ bulunduğu dokuya göre farklı formlarda bulunabilir. Örneğin plateletlerde TXA₂, vasküler endotelial hücrelerde PGI₂ formunda bulunur. TXA₂ platelet agregasyonunu artırır ve vazokonstrüksiyona sebep olur. PGI₂ platelet agregasyonunu baskılar ve vazodilatasyon oluşturur. Bu iki mediatör dolaşımda denge halindedir. Siklooksijenaz yolak nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlarla baskılanabilmektedir. Lipooksijenaz yolak daha ziyade nötrofillerde kullanılmaktadır. Lipooksijenazların katalizlediği tepkime ile AA'ten 5-HPETE sentezlenmektedir. 5-HPETE'den de lökotrienler sentezlenmektedir. Lökotrienler güçlü kemotaktik ajanlardır, vazokonstrüktördürler ve vasküler permeabiliteyi artırarak doku ödemeine sebep olurlar (58).

2.5.7. Nötrofiller

Lökositlerin %60–70'ini oluşturmaktadırlar. Enfeksiyon ve inflamasyon halinde bu oran %90–95'lere kadar yükselmektedir. Nötrofiller İR hasarında kilit rol oynarlar. Reperfüzyonun erken dönemlerinde sitokinler ve lipid mediatörlerle aktive olan nötrofiller hasara uğramış bölgelerde toplanır. Bu toplanma sitokin ve kemokinlerin tetiklediği adezyon moleküllerinin sentezindeki artışla sağlanmaktadır. Nötrofillerden salgılanan oksidazlar, elastazlar ve proteazlar doku ve endotel hücre hasarını daha da artırmaktadır. Nötrofillerdeki ROT sentezini myeloperoksidaz ve NADPH katalizlemektedir (58).

2.5.8. Kupffer Hücreleri

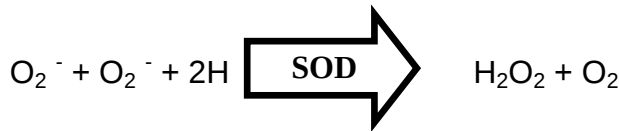
Retiküloendotelial sistemin karaciğerde bulunan hücreleridir. Dolaşımdaki monositlerden köken almaktadırlar. Karaciğerde fonksiyonel ünite de sinüzoidal endotelin hemen üstünde lümene bakar şekilde dizilmektedirler (59). Tipik doku makrofajlarıdır. Hepatik iskemi-reperfüzyon modelinde reperfüzyonla birlikte IL-1 ve TNF-α ilk Kupffer hücrelerinden salgılanmakta ve hasarı başlatmaktadır (60).

2.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Organizmanın fizyolojik ya da patolojik süreçlerinde görülen, metabolizma dahilinde ya da patolojik safhada ürettiği ROT'u elimine etmeye yarayan savunma mekanizmalarıdır. İki ana grubu vardır. İlk grup serbest radikal oluşumunu engellemekte, ikinci grup ise oluşan serbest radikalleri detoksifiye etmektedir. İntrasellüler ya da ekstrasellüler olabilmektedirler. ROT oluşumunu önleyen antioksidanlar SOD, katalaz, mitokondrial sitokrom oksidaz, glutatyon peroksidazdan oluşmaktadır (60).

2.6.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Patolojik ya da fizyolojik süreçte, metabolizma sırasında ya da hipoksi sonrasında, ortamdaki O₂ konsantrasyonundaki ani artışla birlikte O₂'den ksantin oksidaz enzimiyle süperoksit (O₂⁻) sentezlenmektedir. Süperoksit, süperoksit dismutaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla hidrojen peroksit (H₂O₂) üretmektedir.



SOD aktivitesi hücre ömrünün sonuna doğru azalmaya başlamaktadır. Bu sebeple apoptozis mekanizmasında rol oynadığı düşünülmektedir. SOD enzimi kofaktör olarak metal iyonu taşımaktadır ve bu metal iyonunun çeşidine göre 3 ana enzim tanımlanmıştır. İnsanda 2 tipi mevcuttur. Sitosolik

ve mitokondrial tipleri bulunmaktadır. Sitozolik tipinin yapısında Cu ve Zn içeren dimerik bir form bulunmaktadır (Cu-Zn SOD). Mitokondrial tipinde de tetramerik formda Mn bulunur (MnSOD). Prokaryotlarda bulunan Fe içeren bir izomer daha tanımlanmıştır (61).

2.6.2. Katalaz

Dört adet hem grubu içeren hemoproteindir. Eritrositler katalaz enzimini yüksek miktarlarda bulundurmaktadır. Katalaz enzimi antioksidan etkinliğin %98'inden fazlasını karşılamaktadır. Hidrojen peroksidi suya ve oksijene indirger. Katalaz enzimi 2 ana mekanizma kullanır: Birincisi oksidatif stresin düşük olduğu dönemlerde peroksidatik reaksiyon, ikincisi ise oksidatif stresin yüksek olduğu dönemlerde katalitik reaksiyondur (62).

Peroksidatif mekanizma;



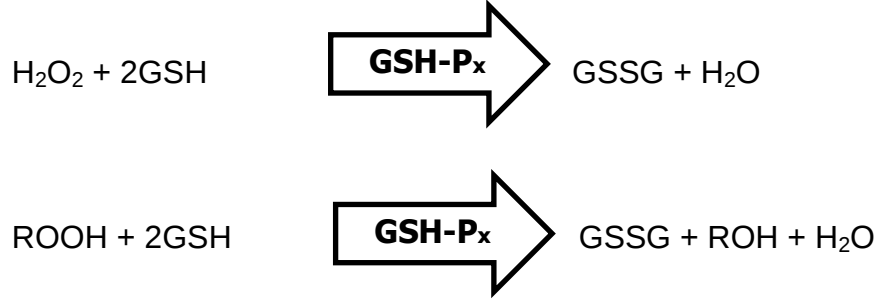
Katalitik mekanizma;



2.6.3. Glutasyon Peroksidaz

Hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik yapıdadır. Dört selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Tepkime sonucunda okside glutasyon (GSSG) oluşmaktadır. Enzim aktivitesinin %60-75'i hücrelerin sitoplazmasında, %25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesi eritrositler ve hepatositlerde çok yüksektir. İntrasellüler lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Ayrıca hücre membranında oluşan lipid peroksidasyonunda da etkilidir. ROT maruziyeti sonrası membranda fosfolipid hidroperoksitler oluşur ve bunları alkole indirgeyerek

membran bütünlüğünü korur. Bu enzime de fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilir (63-65).



Tepkime sonucunda oluşan okside glutatyon, glutatyon redüktazın (GSSG-R) etkisi ile tekrar glutatyonla dönüşür.



2.6.4. Sitokrom Oksidaz

Oksidatif fosforilasyonun son basamağıdır ve elektron transport zincirinde bulunur. Bu mekanizma fizyolojik bir mekanizmadır ve ATP üretiminde etkindir (66).



2.7. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

Klinik olarak karaciğer İRH sıklıkla transplantasyon, iskemik serebrovasküler olay, miyokard infarktüsü, şok, resüsitasyon ve turnike uygulamaları sonrasında görülmektedir (67). Kompleks karaciğer yaralanması, tümörler, kist ve granulomların cerrahisi esnasında parankimal kanamayı azaltma ve cerrahi tekniği uygulama kolaylığı için sıklıkla portal triadın klemplenmesi olan pringle manevrası tercih edilmektedir. Karaciğer ile ilgili cerrahi girişimler ve karaciğer transplantasyonu gibi birçok durumda

geçici olarak kan akımının durması ile iskemi, kan dolaşımının tekrar sağlanması ile de reperfüzyon oluşmaktadır.

Pringle manevrası boyunca sıcak iskemi süresinin uzaması karaciğer perfüzyonunu bozarak hepatik nekroz ile sonuçlanacak olaylar zincirinin başlamasına neden olmaktadır. Pringle manevrası organizmada hemodinamik değişikliklere neden olmaktadır. Bu manevra sonrası splenik kanın porto-sistemik dolaşıma dönme olanağı vardır. Bu nedenle insanlarda portal triadın klemplenmesinden sonra denek hayvanlarında sıkça görülen kardiyovasküler kollaps görülmez (68). Karaciğerdeki iskemi ve IRH'ı azaltmak için değişik metodlarda denenmiştir.

Bunlar operasyon sırasında aralıklı portal triad klempajı yapılarak perfüzyonun sağlanması (69) ve operasyon sırasında karaciğere topikal hipotermi uygulaması olarak sayılabilir (70). Karaciğer tarafından tolere edilebilen normotermik iskeminin üst süresi tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde normotermik, elektif şartlarda yapılan hepatik cerrahide portal triad klempajında sıcak iskemi zamanının 90 dakikaya kadar uzatılabileceği kabul edilmektedir. İskeminin 90. dakikasından sonra ise karaciğerdeki değişikliklerin geri dönüşsüz olduğu da çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (71), karaciğer sıcak iskemisini 30 veya 45 dakika takiben perfüzyon oluşturulan rat modelinde kupffer hücrelerinden reaktif oksijen radikallerinin saatlerce salındığı gözlenmiştir (72).

Karaciğerdeki IRH'a yol açan faktörler oksijen radikalleri, lökosit migrasyonu ile aktivasyonu, endotelial hücre hasarı, mikrosirkülasyondaki düzensizlikler ve koagülasyon sisteminin aktivasyonu olarak özetlenebilir. Serbest radikaller hücrede sarkolemma, sarkoplazmik retikulum ve ekstrasellüler kollajen matriks veya kontraktıl proteinler gibi organellerde bozukluklar, bunları takiben kalsiyuma bağlı mekanizmalarda bozukluklar oluşturur. Serbest sitozolik kalsiyumun artışı protein kinazları, fosfolipazları ve diğer yıkıcı enzimleri aktive eder ve subsellüler hasarın artmasına yol açar.

Aşırı Ca^{++} yüklenmesi, oksijen radikalleri ile başlayan hasarı artırır. Oksidatif stres hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olur ve

MDA açığa çıkar (73). MDA lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesidir. ROT'un en önemli etkisi hücre zarı hasarıdır. Bu hasarı membran yapısında bulunan lipidleri perokside ederek göstermektedir. İlerleyici hasar sonrası savunma mekanizmaları yetersiz kaldığında hücre zarı parçalanır ve hücre ölümü gerçekleşir. Lipid peroksidasyonu lipid molekülleri arasındaki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan H atomunun çıkarılması ile lipidlerin denatüre olmasıdır. Oluşan lipid peroksit, oksijen varlığında peroksit ve hidroperoksite, sonra da daha kararlı bir molekül olan MDA kadar yıkılır (74). Hücre membranlarının hasarlanması hepatositlerin homeostazını bozarak apoptoz veya nekroza neden olmaktadır (75).

Büyük miktardaki serbest radikaller ve hızlı kan akımı tromboz riskini artırır, bu da karaciğer hücre hasarının büyümesine neden olabilir (76). Mikrodolaşımdaki bozukluğun sinüzoidal endotelial hücre hasarı ve endotelin ve NO gibi vazodilatatör ve vazokonstriktör moleküller arasındaki dengesizliğe bağlı olduğu düşünülmektedir (77).

Karaciğerde İRH iki fazda meydana gelmektedir:

1. Erken faz (0–2 saat); Ca^{++} artışı ve serbest O_2 radikallerinin oluşumu etkilidir. İntrasellüler Ca^{++} düzeyi normal hepatosit fonksiyonunun devamı için önemlidir. Hücre içinde Ca^{++} artışı hepatosit hasarını başlatan erken mekanizmalardan biridir. Ayrıca apoptoz ve nekroz yollarını da aktive eder. İskeminin ardından reperfüzyonun hepatositlerdeki Ca^{++} miktarını arttırdığı gösterilmiştir. İskemi boyunca hücrede Ca^{++} artışı saptanmazken reperfüzyon sırasında hızlı bir Ca^{++} artışının olduğu görülmektedir.
2. Geç faz (6–48 saat); nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin ve trombositlerin karaciğere göçü ile inflamasyon yanıtı uyarılmakta ve sinüzoidal kan akımında değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Hepatositlerdeki hasar serbest O_2 radikalleri ve ekstrasellüler sitokinler ile meydana gelir (22). Karaciğer iskemisini takiben sinüzoidal hücre apoptozu reperfüzyon sonrasında hızla ortaya çıkmaktadır (77).

Karaciğerdeki İRH kolestazi indüklemekte bu da erken ve genellikle geçici olarak safra sekresyonunda azalmaya neden olmaktadır. Safra akımındaki bu değişiklikler artmış ALT ve AST düzeyleri, karaciğer MPO

aktivitesi ve serum bilirubin değerleri ile beraberdir. MPO İR modelinde oluşan PMNL hasarının en önemli parametrelerinden biridir. Yapısında -hem-grubu ihtiva etmektedir. PMNL'nin hasardaki etkinliği, sentezlediği süperoksit radikallerinden kaynaklanmaktadır. MPO enzim aktivitesi de süperoksit radikali oluşumunu katalizleyen enzimdir ve NADP'yi kofaktör olarak kullanmaktadır. Yapılan model çalışmalarda ve inflamasyonda MPO aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (19, 78).

İnsan hepatositlerinde reperfüzyon sonrası lipid peroksidasyonu ve buna bağlı olarak şiddetli hasarın oluşması için yaklaşık 2.5 saatten uzun bir hipoksi dönemine gereksinim duyulduğu tahmin edilmektedir (79).

2.8. İskemi Reperfüzyon Hasarında Tedavi

Deneyssel alışmalarda İRH'ı önleyen veya sınırlayan birçok tedavi şekli vardır. Bunların klinik pratikte kullanımları şüpheli sonuçlar vermektedir veya insan çalışmalarında kullanılmamaktadır. İRH'ı azaltmada kombine stratejilerin etkinliğini bulan çalışma sayısı azdır.

2.8.1. İskemik Önkoşullama (İÖK)

Dokunun ciddi İR öncesi, kısa süreli İR periyotlarına maruz bırakılmasıdır. 1986 yılında Murry ve arkadaşları köpek miyokardını dört kısa periyot İR'ye maruz bırakmış ve daha uzun süreli iskemi periyotlarında İR'ye önceden maruz kalanların, kalmayanlara göre iskemiye daha iyi tolere ettiğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda önkoşullama (preconditioning) tanımı ileri sürülmüştür (80). İÖK periyotlarının sayısı ve süresi arttıkça koruyuculuğu da artar (81).

İR hasarının önlenmesi için İÖK yanında farmakolojik önkoşullama da (FÖK) uygulanabilmektedir. Bu amaçla antioksidanlar, nitrik oksit, glutamin, glisin ve enteral beslenme tedavileri gibi birçok madde deneyssel olarak uzun süredir uygulanmaktadır (82).

2.8.2. Antikompleman Tedavi

Kompleman sisteminin aktivasyonunun engellenmesi ile İRH'nın azaldığı birçok hayvan çalışmasında gösterilmiştir. İnsan C₅ spesifik antikorunun kardiyopulmoner bypass ile koroner bypass ameliyatı geçirenlerde kompleman aktivasyonunu, lökosit aktivasyonunu, myokard hasarını, kan kaybını ve kognitif disfonksiyonu anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (83). Ancak antikompleman tedavinin insanda kullanımı hakkında yeterli klinik veri yoktur.

2.8.3. Antilökosit Tedavi

Lökositlerin neden olduğu İRH'ı engellemeyi amaçlayan deneysel tedaviler; inflamatuvar mediatör salınımı veya reseptör bağlanması, lökosit adezyon molekülü sentezi veya lökosit endotel adezyonunun inhibisyonu üzerine odaklanmıştır. PAF, histamin, Lökotrien B₄, ve TNF- α gibi inflamatuvar mediatörlerin sentezinin veya reseptör düzeyinde etkilerinin engellenmesi ile İRH'da fayda sağlanmıştır. Aspirin, glukokortikoidler, altın, D-penisilamin gibi antiinflamatuvar ilaçlar lökosit adezyon molekülü sentezini veya sitokin oluşumunu azaltırlar. Bu modellerin insanlardaki klinik kullanımına ait bilgiler henüz yetersizdir (18).

2.6.4. Antioksidan Tedavi

İRH sonucu oluşan oksidatif stresi azaltmak için antioksidan tedaviler veya farklı ekzojen yöntemler kullanılmaktadır.

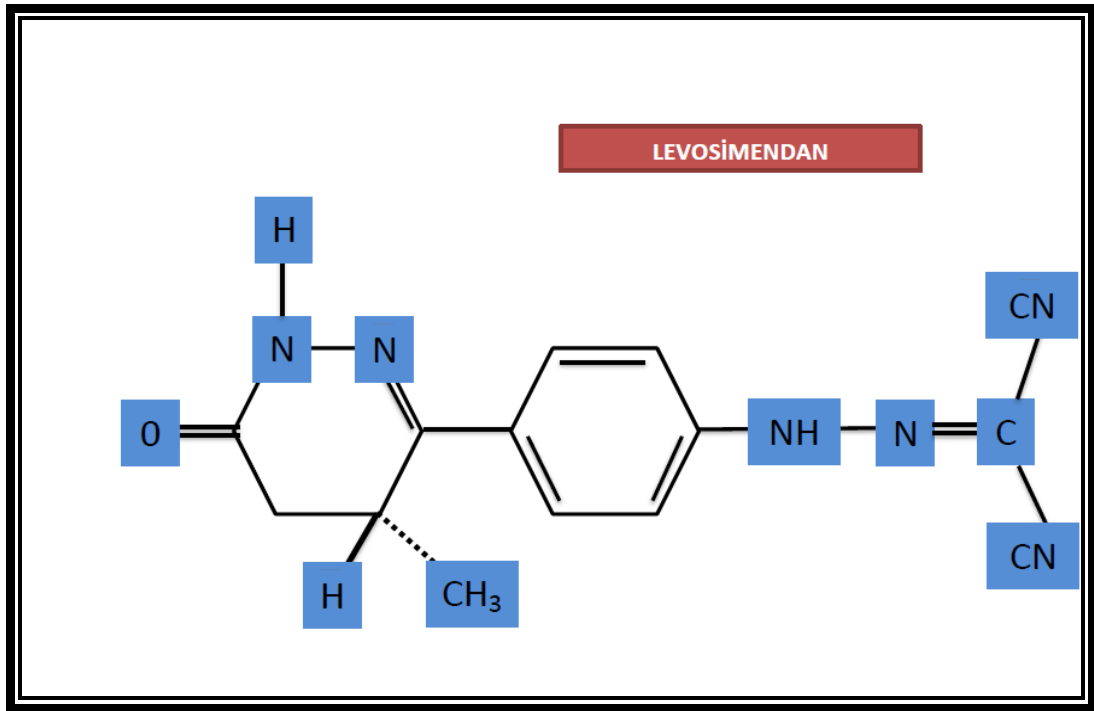
Antioksidanlar iki sınıfa ayrılırlar:

1. Koruyucu antioksidanlar; zincirleme reaksiyonun başlama hızını düşürürler.
2. Zincir bozan antioksidanlar, zincirleme reaksiyonun ilerlemesini engellerler.

Koruyucu antioksidanlar, ROOH ile reaksiyona giren katalaz ve peroksidazları ayrıca dietilen triamin penta asetat ve etilen diamin tetraasetat gibi metal iyonlarını şelatlayan bileşikler içerir. Zincir bozan antioksidanlar ise fenoller ve aromatik aminlerdir (84).

2.9. Levosimendan

Levosimendan, troponin C (TnC)'ye yüksek bağlanma afinitesi olan, (R)-[[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-okso-3-piridazinil) fenil] hidrazono) propandinitril] yapısında, kapalı formülü C₁₄ H₁₂ N₆ O olan, pyridazinone - dinitrile türevidir (Şekil 2.7.), cAMP ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artırmaksızın kalbin kontraksiyonunu arttıran, inotropik ve vazodilatör etkilere sahip bir ilaçtır (85, 86).



Şekil 2.7. Levosimendan kimyasal yapısı (85).

Levosimendan kalp yetersizliğinin akut alevlenmesinin kısa dönem tedavisi için geliştirilmiş, miyokardın Ca⁺⁺'a duyarlılığını artıran ve vazodilatör etkiye sahip yeni bir inotropik ajandır. Teorik olarak bu ajan, hücre içi Ca⁺⁺ ve cAMP düzeylerini artırmaksızın, Tn-C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin Ca⁺⁺'a duyarlılığını artırarak kardiyak performansı iyileştirir (38). Ayrıca, levosimendan fosfodiesterazı (PDE) selektif olarak inhibe eder. Diğer Ca⁺⁺ duyarlılaştırıcıların PDE inhibisyonu terapötik dozlarda izlenirken, levosimendanın bu etkisi yalnızca terapötik düzeyin üzerindeki dozlarda izlenmektedir (87, 88). Levosimendan miyosit ve damar duvarlarındaki ATP

bağımlı K^+ kanallarını açarak, sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona, miyokardiyal önyük ve artıyükte azalmaya neden olmaktadır. Levosimendanın K-ATP kanal açıcı etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (85, 87, 89)

Tablo 2.1. Levosimendanın mekanizma ve farmakolojik etkileri (90)

ETKİ YERİ	ETKİ MEKANİZMASI	FARMAKOLOJİK ETKİ	TERAPÖTİK ETKİ
Kardiyak troponin-C-Ca kompleksi	Kalsiyum duyarlılığı artırır	Pozitif inotropik etki	✓ Ejeksiyon fraksiyonunda artış ✓ Antistunning
Sarkolemmal K_{ATP} kanallarını aktive eder	Hiperpolarizasyon	Tüm vasküler yataklarda vazodilatasyon (koroner ve periferik damarlarda)	✓ Preload ve after load'da düşme ✓ Antiiskemik ✓ Perfüzyonda artış ✓ Nörohumoral düzelme
Kalp hücrelerinde mitokondriyal K_{ATP} kanallarını aktive eder	İskemi-reperfüzyon hasarında mitokondriyal koruma	Önkoşullanma, Antiapoptotik	✓ Kardiyoprotektif etki ✓ Antiiskemik etki ✓ Uzun vadeli yarar

Sürekli sabit dozda infüzyon yapıldığında kararlı duruma 4. saatte ulaşır; ancak daha hızlı etki istendiğinde yükleme dozu infüzyonu ile plazma doruk konsantrasyonuna 12 dk sonra ulaşılır. Levosimendanın yarılanma ömrü 1 saattir. Sadece küçük bir kısmı (~% 4) plazmada serbesttir, > %90 plazma proteinlerine bağlanır. Karaciğer ve barsaklarda metabolize edilir, ekskresyon yoluyla karaciğer ve böbreklerde elimine edilir, 1/3'ü idrarla, 1/3'ü feçesle atılır. Ancak, barsaktaki bakteriler feçesteki metabolitlerin bir kısmını redüksiyonla aromatik bir amin olan aktif OR-1855 metabolitine dönüştürürler. Levosimendan dozunun yaklaşık % 5'i önce aktif bir metabolit olan OR-1855'e, daha sonra da daha aktif olan OR-1896'ya asetile edilir. OR-1896'nın oluşumu yavaştır ve doruk konsantrasyona infüzyonun kesilmesinden 1-2 gün sonra ulaşır; % 40'ı plazma proteinlerine bağlanır ve yarılanma ömrü yaklaşık 80 saattir. Bu yüzden levosimendanın farmakolojik etkileri ilacın kesilmesinden sonra bir haftaya kadar devam eder.

Seyreltme işlemi %5 glukoz çözeltisi ve %0.9 NaCl ile yapılır, intravenöz infüzyon ile uygulanır. Levosimendan için başlangıçta önerilen tedavi dozu 10 dakikada 6-24 mcg/kg yüklemeyi takiben 24 saat boyunca 0.05-0.2 mcg/kg/dk dan 24 saatlik sürekli infüzyondur. Hemodinamik etki yükleme dozu verildikten 5 dakika sonra başlamaktadır ve pik etkisine 10-30 dakika sonra ulaşmaktadır. Böbrek yetersizliği ve karaciğer sirozu gibi durumlarda OR-1896 aktif metabolitin etkisi arttığından yarılanma ömrü uzamaktadır. Levosimendan'ın ventrikül doluşu yada çıkış yolunu etkileyen belirgin mekanik obstrüksiyon, ciddi böbrek yetersizliği (kreatinin klirensi < 30 ml/dk), ileri derecede karaciğer yetersizliği, ciddi hipotansiyon (sistolik kan basıncı < 85 mm Hg) ve taşikardi (kalp hızı>120/dk) ve "torsade de pointes" öyküsü bulunan hastalarda kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir. En sık görülen yan etkileri baş ağrısı, hipotansiyon, bulantı, sersemlik, taşikardi, miyokard iskemisi, atriyal fibrilasyon, ekstrasistol ve ventrikül taşikardisidir (85, 87, 91).

Levosimendan, hücre içi Ca^{++} ve cAMP düzeylerini artırmaksızın, TnC'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin kalsiyuma duyarlılığını yükselterek kardiyak performansı iyileştirir. Pozitif inotropik etkisi kalsiyum konsantrasyonuna bağımlıdır. Sistolde TnC'nin N-terminal ucuna bağlanıp, kalsiyum-TnC bağlantısını stabilize eder. Buna karşın, kalsiyum konsantrasyonu ve sensitizasyonu diyastolde azaldığı için diyastolik relaksasyonun etkilenmediği yada iyileştiği ileri sürülmüştür (85, 87).

Levosimendan rutinde kullanılan diğer inotropik ajanlardan farklı olarak kalbin oksijen tüketimini, hücre içi kalsiyum düzeyini, apoptozisi ve aritmi riskini artırmadan miyokardın kasılma gücünü artırır. Levosimendanın miyokardiyal kontraktiletiyi artırmadaki asıl etki mekanizması sitoplazmik kalsiyuma kardiyak TnC'nin duyarlılığını artırmasına dayanır. Levosimendan vasküler düz kas hücrelerindeki ATP duyarlı potasyum kanallarının açılmasını sağlayarak arteriyel ve venöz dilatasyona neden olur. Bu etki mekanizması koroner, pulmoner ve sistemik vazodilatasyondan sorumludur (85, 87, 90).

Levosimendanın miyokardiyal İR modellerinde kardioprotektif etkilerin olduğu gösterilmiştir (90). Ayrıca kardiak indeksi, sol ventrikül end-diastolik volümü ve ejeksiyon fraksiyonu artırır. Gastrik mukozal kan akımı, kreatinin klirensi, idrar debisini artırır. Pulmoner vazodilatör potensi olduğu da gösterilmiştir. Akut respiratuar distress sendromu ve septik şok modellerinde pulmoner arter basıncı, pulmoner kapiller wedge basıncı ve pulmoner vasküler rezistansı azalttığı gösterilmiştir. Levosimendan renal medulla ve korteks, intestinal ve hepatik vasküler direnci azaltarak bu organların kan akımını artırır (85, 87, 90). Septik şok ve septik miyokardiyal disfonksiyonda levosimendanın faydalı olabileceği düşünülmektedir (91, 92).

2.10. N-Asetilsistein

NAS beyaz kristal toz halinde olup 104-110°C'de erir. Molekül ağırlığı 163 gr/mol olup molekül formülü $C_5H_9NO_3S$ 'dir (Şekil 2.8). Az miktarda hidrojen sülfür açığa çıkarmasına bağlı olarak hafif kükürtsü kokudadır. Suda ve diğer çözücülerde % 22 oranında çözülür. Fizyolojik koşullarda pH'sı stabildir.

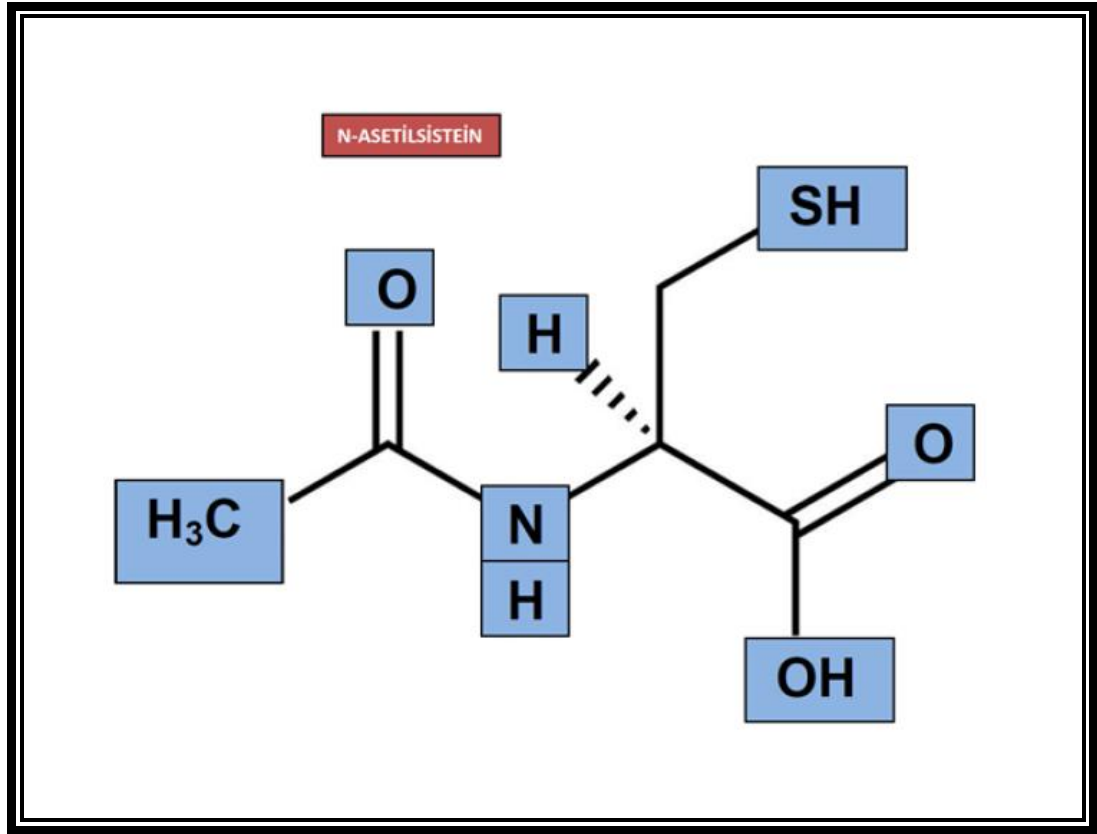
NAS L-sistein aminoasidinin N-asetil derivativesidir. NAS bir glutatyon prekürsörüdür. Glutatyon ise eksojen ve endojen sitotoksik maddelerin ve oksidan radikallerin hücreye zarar vermesini önleyen glisin, glutamat ve sistein aminoasitlerinden oluşan tripeptid bir antioksidandır (93). NAS günümüz tıbbında en çok mukolitik özelliği dolayısıyla kullanılmaktadır. NAS bu mukolitik etkiyi yapısındaki serbest sülfüdril (tiol) grubunun disülfid bağları açmasıyla ve mukus viskozitesini azaltarak meydana getirir. Yine yapısındaki sülfidril grupları ile, OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileyerek serbest radikalleri temizlemekte ayrıca lipid peroksidasyonunu da azaltabilmektedir.

GSH major serbest radikal giderici bir ajandır. Bir GSH prekürsörü olan NAS'ın serbest radikalleri detoksiye edebilmesinin anlaşılması son yıllarda bu ajanın klinik kullanımını yaygınlaştırmıştır (94). NAS, serbest radikalleri ve reaktif elektrolitleri detoksifiye eder. NAS ayrıca ortamdaki H_2O_2 düzeyini azaltarak H_2O_2 'nin zararlı etkilerinden hücreyi korur. Toksik

radikallere karşı NAS'ın koruyucu etkisi, GSH biyosentezini arttırması ve GSH prekürsörü olması nedeniyledir (95).

GSH prekürsörü olan NAS, antioksidan etkisini 3 şekilde gösterir;

1. Serbest radikallerle doğrudan reaksiyon,
2. İntraselüler GSH seviyesini artırarak,
3. Karaciğerde GSH sentezini artırıp, kan yoluyla transportunu sağlayarak.



Şekil 2.8. N-asetilsistein kimyasal yapısı

Tedavide Kullanımı:

1. Akciğer hastalıkları tedavisinde: Sekresyon viskozitesini azaltarak mukolitik etki gösterir. Produktif öksürükle seyreden solunumsal hastalıklarda kullanılır (94, 96). NAS'ın %10-20 lik solüsyonları trakeobronşial sistemde tıkaç oluşturan sekresyonları açmak için bolus şeklinde endotrakeal tüpten verilebilir. Akut ve kronik bronşit, kardiovasküler sistem hastalıkları gibi temelinde oksidatif stresin yer aldığı hastalıklarda NAS ile tedavi edilenlerin

atak şiddetleri anlamlı olarak azalmış, ortalama hastane kalış ve tedavi süreleri belirgin biçimde kısalmıştır (97).

2. Parasetamol toksisitesi: Yüksek doz parasetamol GSH'yı baskılayıp alkilleyici bileşiklere dönüşüp veya karaciğer hücre membranına hasar vererek hücre nekrozuna neden olur. NAS reaktif parasetamol metabolitlerinin tükettiği mitokondrial ve sitozolik GSH depolarını doldurarak etkisini gösterir.

3. Kistik fibroz ve mekonyum ileusu: NAS içeren solüsyonlar oral yada rektal enema uygulaması şeklinde özellikle kistik fibrozlu hastaların ince barsaklarında oluşan mekonyum ileusu olgularında başarıyla uygulanmaktadır (94, 98).

4. Septik şok: Deneysel çalışmalarda NAS'ın heptosplanik kan akımını arttırdığı izlenmiştir. Septik şokta hücre içi antioksidan GSH'nın azaldığı ve bunun hücre membranı oksijen radikallerine karşı bir zafiyet ortaya çıkardığı tespit edilmiştir. Septik şokta NAS'ın oksijenizasyonu ve statik akciğer kompliyansını 24 saatte arttırdığı, bu durumun mortaliteye bir etkisi olmadığı fakat mekanik ventilatör gereksimini kısaltarak erken taburcu olma imkanı sağladığı bildirilmiştir (99).

5. Antidot olarak kullanım: Altın, kobalt ve diğer ağır metaller, karbontetraklorür, halotan, arsenik, metimerkür, asetaldehid, interferon, kumarin, bromobenzen, doxorubisin ve naftalin zehirlenmelerinde antidot olarak kullanılmaktadır (94, 98).

6. Kardiovasküler sistem üzerine etkisi: Küçük damarlarda direkt vazodilatatör etki yapar. Ayrıca pozitif inotrop ve güçlü vazodilatotör etkileri vardır (100). Sepsisli hastalarda kardiyak fonksiyonları düzelttiği ve gastrik pH'ın azalmasını önlediği gösterilmiştir (101).

7. Diğer klinik kullanım alanları: Siklofosamid ile oluşan hemorojik sistitte NAS'ın tiol gruları sistide yol açan akrölenin aldehid grupları ile reaksiyona girerek toksik molekülleri nötralize eder.

Nefrolitiyazis ve sistinüri profilaksisinde diyetle alınan sistini daha çok çözünür sistin disülfid haline getirerek yaralı etkileri görölmüştür (94). NAS yüksek dozlarda mutajenik metabolitlerin aktivasyonunu engeller. Bu etkisi ile

karsinogenezin farklı evrelerinde farklı mutajen ve karsinojenlere karşı koruma sağlayabilir (102).

Yan etkileri:

NAS'ın toksisitesi son derece nadir görülür. Anaflaksi, ürtiker ve bronkospazm gibi aşırı duyarlılık reaksiyonları gelişebilir (94).

3. MATERYAL VE METOD

Deneysel çalışmamızda Wistar-albino cinsi, sağlıklı, erişkin, 16-20 haftalık, erkek, 250–300 gr ağırlığında ratlar kullanıldı. Ratlar deney hayvanları laboratuvarlarında ortam ısısı 20-22 C° olacak şekilde ve 12 saat gece, 12 saat gündüz olan sirkadien ritimde tutuldu. Çalışma protokolü ve deneysel metod Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 87.2012.mar protokol kodu ile onay alındıktan sonra çalışma yapıldı. Çalışmamızda 38 adet rat rasgele olarak 5 gruba ayrıldı.

3.1. Gruplar

Grup I (Sham Grubu, Yalancı opere, n=6): Bu gruptaki hayvanlara genel anestezi altında sadece laparotomi yapıldı ve İR süresi (130 dk) kadar beklendi. Çalışma sonunda karaciğer çıkarılarak doku örneği elde edildi ve sağ atriumdan kan örneği alındı. Yüksek doz anestezik ile ötanazi uygulandı. Bu süre zarfında İR uygulanmadı.

Grup II (İskemi/Reperfüzyon + Salin Grubu, Kontrol grubu, IR+S, n=8): Bu gruptaki hayvanlara genel anestezi altında laparotomi yapıldı ve 60 dk iskemi sonrası, 60 dk reperfüzyona alındı. İskemi başlamadan 10 dk önce intravenöz salin infüzyonuna başlandı ve İR süresince infüzyona devam edildi. Çalışma sonunda karaciğer çıkarılarak doku örneği elde edildi ve sağ atriumdan kan örneği alındı. Yüksek doz anestezik ile ötanazi uygulandı.

Grup III (İskemi/Reperfüzyon + N-asetilsistein Grubu, İR+NAS, n=8): Bu gruptaki hayvanlara genel anestezi altında laparotomi yapıldı ve 60 dk iskemi sonrası, 60 dk reperfüzyona alındı. İskemi başlamadan 10 dk önce 150 mg/kg NAS yükleme dozu 10 dakika intravenöz infüzyon ile uygulandı. İR süresince 20 mg/kg/saat NAS infüzyona devam edildi(135, 138). Çalışma sonunda karaciğer çıkarılarak doku örneği elde edildi ve sağ atrium enjeksiyonu ile kan örneği alındı. Yüksek doz anestezik ile ötanazi uygulandı.

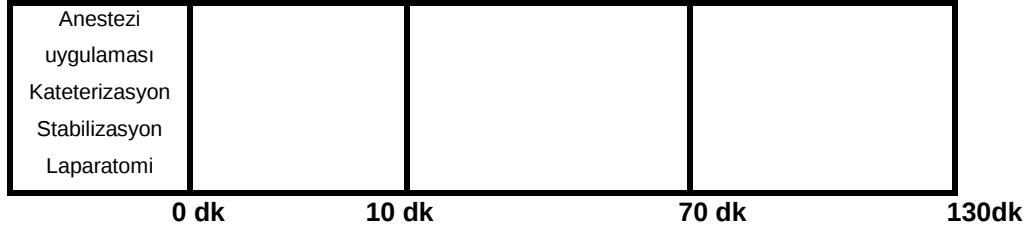
Grup IV (İskemi/Reperfüzyon + Levosimendan Grubu, İR+L, n=8): Bu gruptaki hayvanlara genel anestezi altında laparotomi yapıldı ve 60 dk iskemi sonrası, 60 dk reperfüzyona alındı. İskemi başlamadan 10 dk önce 12 mcg/kg levosimendan 10 dakika yükleme dozu intravenöz infüzyon ile

uygulandı. İR süresince 0,2 mcg/kg/dakika levosimendan infüzyona devam edildi (103). Çalışma sonunda karaciğer çıkarılarak doku örneği elde edildi ve sağ atrium enjeksiyonu ile kan örneği alındı. Yüksek doz anestezi ile ötanazi uygulandı.

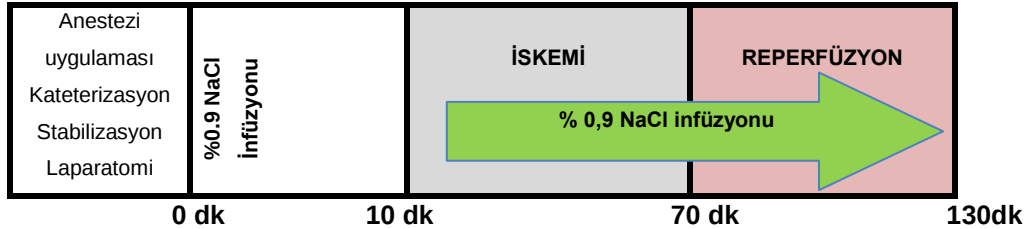
Grup V (İskemi/Reperfüzyon + N-asetilsistein Grubu + Levosimendan Grubu, İR+NAS+L, n=8): Bu gruptaki hayvanlara genel anestezi altında laparotomi yapıldı ve 60 dk iskemi sonrası, 60 dk reperfüzyona alındı. İskemi başlamadan 10 dk önce 12 mcg/kg levosimendan + 150 mg/kg NAS 10 dakika yükleme dozu intravenöz infüzyon ile uygulandı. İR süresince 0,2 mcg/kg/dakika levosimendan ve 20 mg/kg/saat NAS infüzyonuna devam edildi. Çalışma sonunda karaciğer çıkarılarak doku örneği elde edildi ve sağ atrium enjeksiyonu ile kan örneği alındı. Yüksek doz anestezi ile ötanazi uygulandı. Çalışmadaki bütün hayvanlara eşit miktarda sıvı intravenöz yoldan verildi.

Çalışma gruplarının şematik görünümü

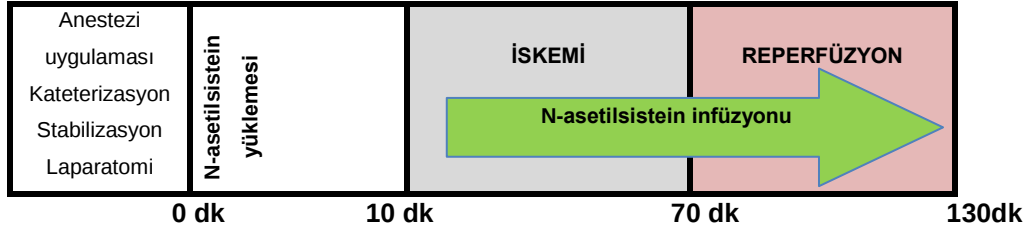
Grup 1 (Sham) (Yalancı opere)



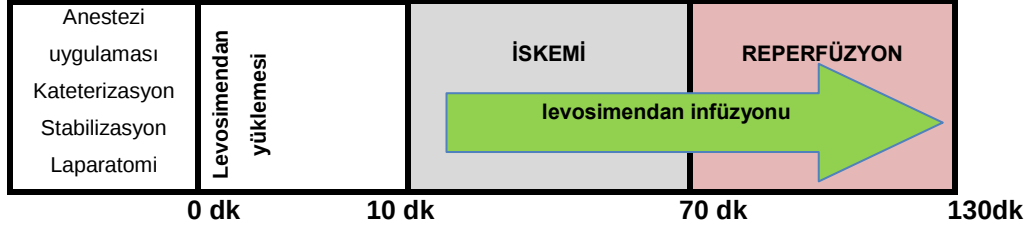
Grup 2 (İR+S) (Kontrol Grubu)



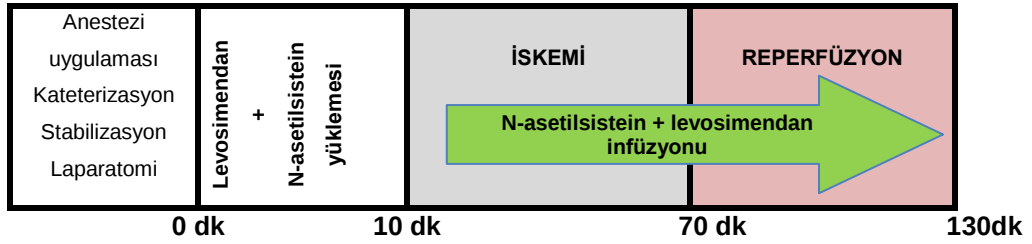
Grup 3 (İR+NAS)



Grup 4 (İR+L)



Grup 5 (İR+L+NAS)



3.2. Anestezi ve Cerrahi Prosedür

Deneyisel çalışma, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Deneyisel Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar operasyon öncesi 8 saat süre ile aç bırakıldı. Deneyde kullanılacak tüm sıçanlar yapılacak işlemler öncesinde tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Cerrahi işlem ve İR süresince ratlara genel anestezi uygulandı. Anestezi intraperitoneal ketamin 100 mg/kg ve klorpromazin 5 mg/kg kombinasyonu ile sağlandı. Deney süresi uzun olduğu için başlangıç dozunun 1/3'ü 1 saat aralarla idame olarak tekrarlandı.

Bu çalışma esnasında hayvanlar genel anestezi ile uyutulduktan sonra sağ juguler venden cutdown yöntemi kullanılarak 26 G anjiocat ile damar yolu açıldı (Resim 3.1.). İntravasküler koagülasyonu engellemek için 150 IU/kg heparin intravenöz uygulandı. Karın ön duvarındaki tüyleri traş edildi. Traş sonrasında cilt %10'luk povidon-iyot solüsyonu ile temizlendi (Resim 3.2.).

Orta hat insizyonu ile cilt ve cilt-altı dokular geçildi, karaciğer görüldü ve laparotomi tamamlandı (Resim 3.3.). Grup I'deki cerrahi işlem sadece laparotomiyi içermekte idi. Laparotomi sonrası 130 dakika beklendi ve yüksek doz anestezi ile ötenazi uygulandı. Grup II, III, IV, V'de laparotomi sonrasında çekum, hayvanın sol ön ayağına doğru çekilip barsak batın dışına alınacak şekilde traksiyon uygulandı ve karaciğer inferiorunda ve ince barsak mezosunun retroperiton bağlantısının olduğu bölgede portal ven eksplore edildi (Resim 3.4.). Grup II, III, IV, V'e hesaplanan miktarda serum fizyolojik, NAS, levosimendan ve NAS ile levosimendan'ının yükleme dozları 10 dakikada infüzyon ile verildikten sonra portal ven ve hepatik arter total olarak atravmatik mikrovasküler klemp ile klemplendi (Resim 3.5.). Gruplara göre hesaplanan miktarda serum fizyolojik, NAS, levosimendan ve NAS ile levosimendan intravenöz olarak eşit miktarda sıvı verilecek şekilde hazırlandı ve İR süresince verildi.

Toplam çalışma süresi (130 dakika) tüm gruplarda aynı tutulmuştur. Deney sonunda karaciğer çıkarılarak doku örneği elde edildi ve sağ atrium enjeksiyonu ile kan örneği alındı. Ötenazi yüksek doz tiyopental ile yapıldı.

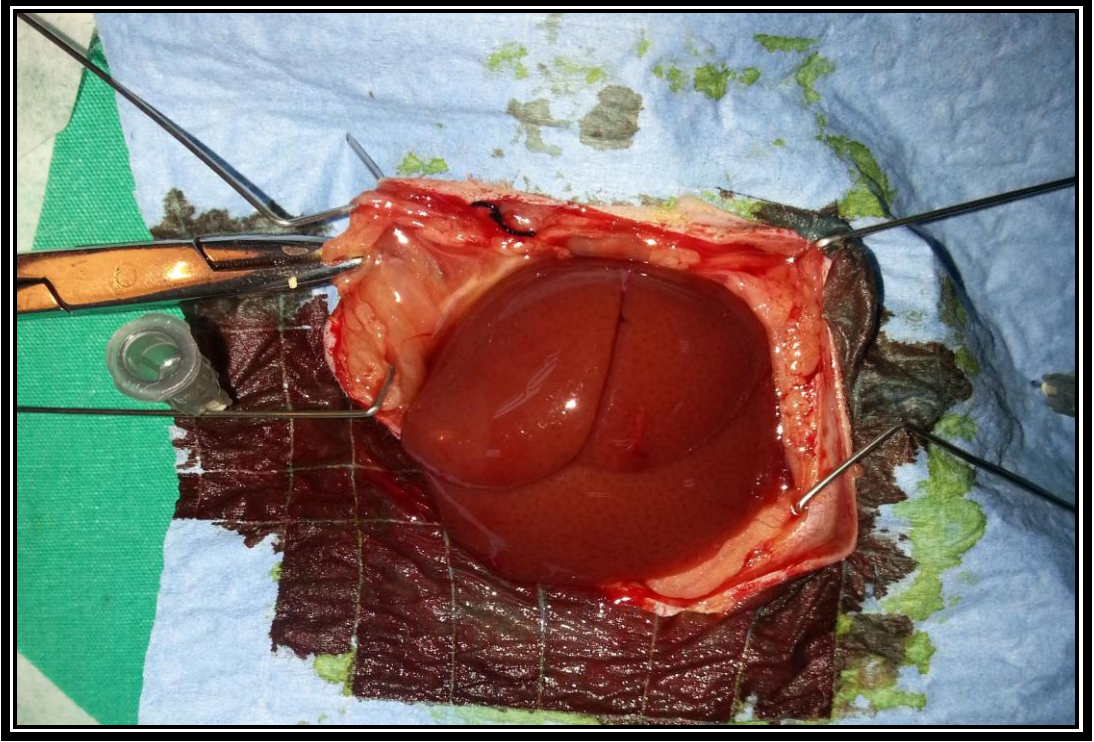
Deney sonrası alınan karaciğer doku örneklerinin bir kısmı Patoloji Laboratuvarında histopatolojik olarak incelenmek üzere %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine kondu. Geri kalan kısmı ise Biyokimya Laboratuvarında dokuda inflamasyon belirteci (MPO) ve oksidatif stres belirteci (MDA) bakılmak üzere ependorflara kondu. Alınan kan örnekleri yine Biyokimya laboratuvarında inflamasyon belirteçleri (TNF- α ve MPO) ve karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT) bakılmak üzere serumlara ayrıldı. Tüm örnekler -80 C° derecede muhafaza edildi.



Resim 3.1. Cutdown ile juguler katater yerleştirilmesi



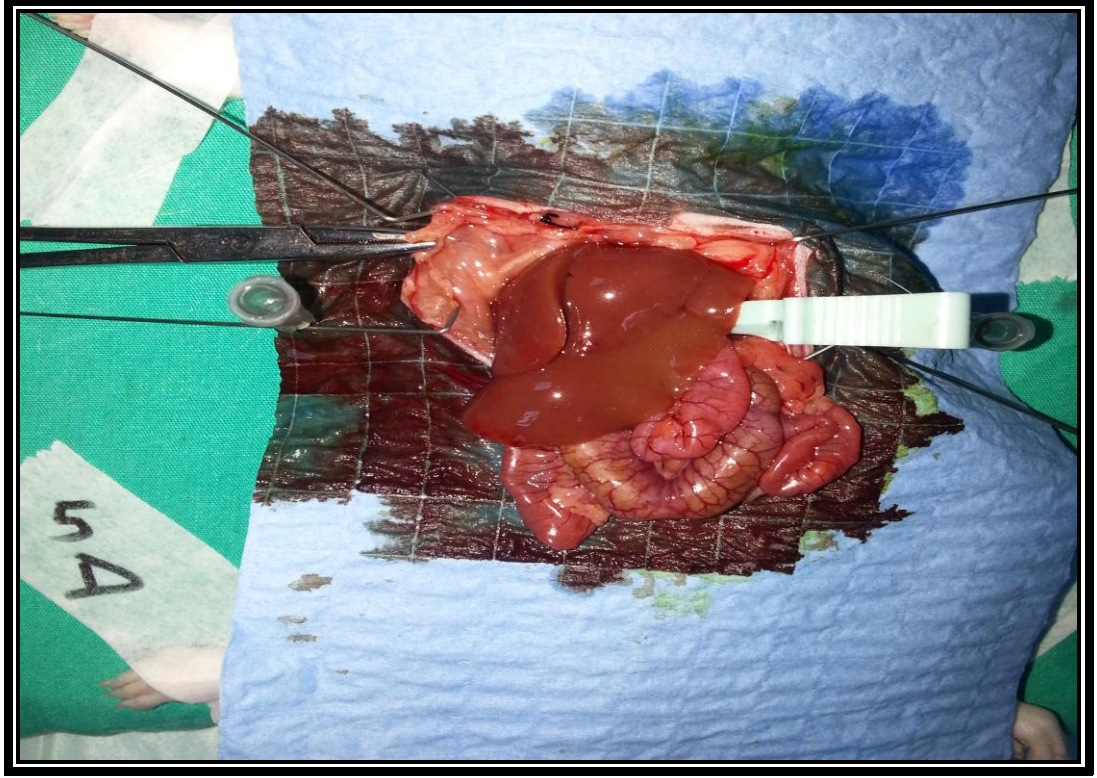
Resim 3.2. Cilt hazırlığı



Resim 3.3. Anterior laparotomi



Resim 3.4. Pedikül eksplorasyonu ve ligasyonu



Resim 3.5. Ligasyon sonrası karaciğer

3.3. Biyokimyasal Ölçümler

Dokuda oksidatif stres elirteci olarak MDA ve inflamasyon belirteci olarak MPO, serumda inflamasyon belirteci olarak TNF- α ve MPO, karaciğer fonksiyon testleri olarak da AST, ALT ölçümü yapıldı.

Dokular analiz için derin dondurucudan çıkarılarak çözünmesi sağlandıktan sonra 4 ml serum fizyolojik ile karıştırılarak homojenizatör ile homojenize edildi. Daha sonra örnekler 2500 rpm hızında 20 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı.

Elde edilen tüm serumlar her parametre için uygun kitlerde Elisa yöntemi ile çalışıldı. Yıkama işlemi pasteur marka LP35 mikropilaka yıkayıcıda yapıldı. Kitler 450 nm filtrede okutuldu. Okuma işlemi CIOM marka CA-2000 mikropilaka okuyucuda yapıldı.

Karaciğer dokusunda oksidan parametrelerin analizi ile elde edilecek sonuçların standart olarak ifade edilebilmesi için ek olarak doku protein düzeyleri de ölçüldü. Elde edilen MDA ve MPO değerleri protein başına oranlanarak düzeltildi.

3.4. Histopatolojik İnceleme

Tüm histopatolojik değerlendirmeler grupları bilmeyen bir patoloğ tarafından gerçekleştirildi. Histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda bekletilen böbrek dokularından parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom yardımı ile kesitler alınarak hematoxilen eozin (H+E) ile boyandı. Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı.

İRH'a bağlı karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler için Suzuki skorlamasında bakılan konjesyon, vakuolizasyon ve nekroz düzeylerine bakıldı (104) (Tablo 13).

Tablo 3.1. Karaciğer hasar skorlaması (104).

Derece	Sinuzoidal konjesyon	Vakuolizasyon	Nekroz
0	Yok (-)	Yok (-)	Yok (-)
1	Az (+)	Az (+)	Basit hücre nekrozu (+)
2	Orta (++)	Orta (++)	0-30% (++)
3	Fazla (+++)	Fazla (+++)	30-60% (+++)
4	Çok fazla (++++)	Çok fazla (++++)	>%60 (++++)

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

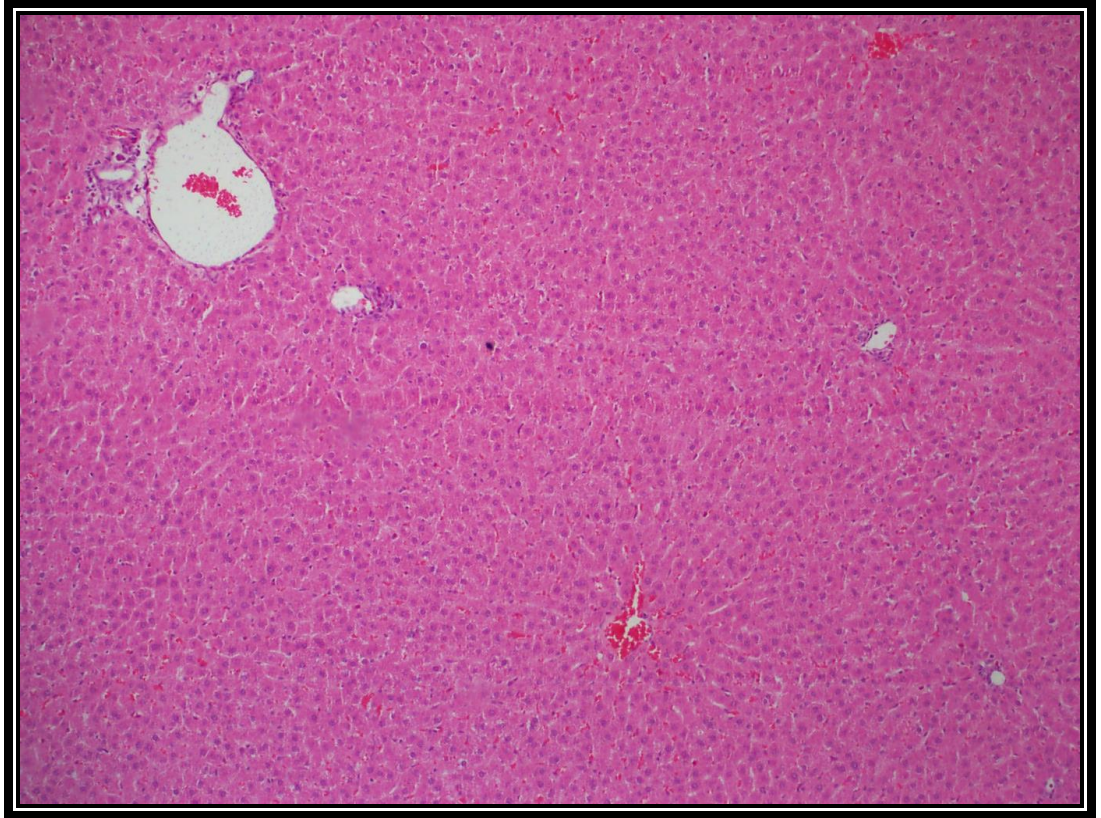
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS 20.0, verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotları (frekans sayımı, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan) kullanıldı. İstatistiksel analizler Kruskal Wallis H test ve Mann Whitney U test kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık 0.95 önem düzeyinde p değerinin 0.05' den küçük olması durumunda kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Işıık Mikroskop Bulguları

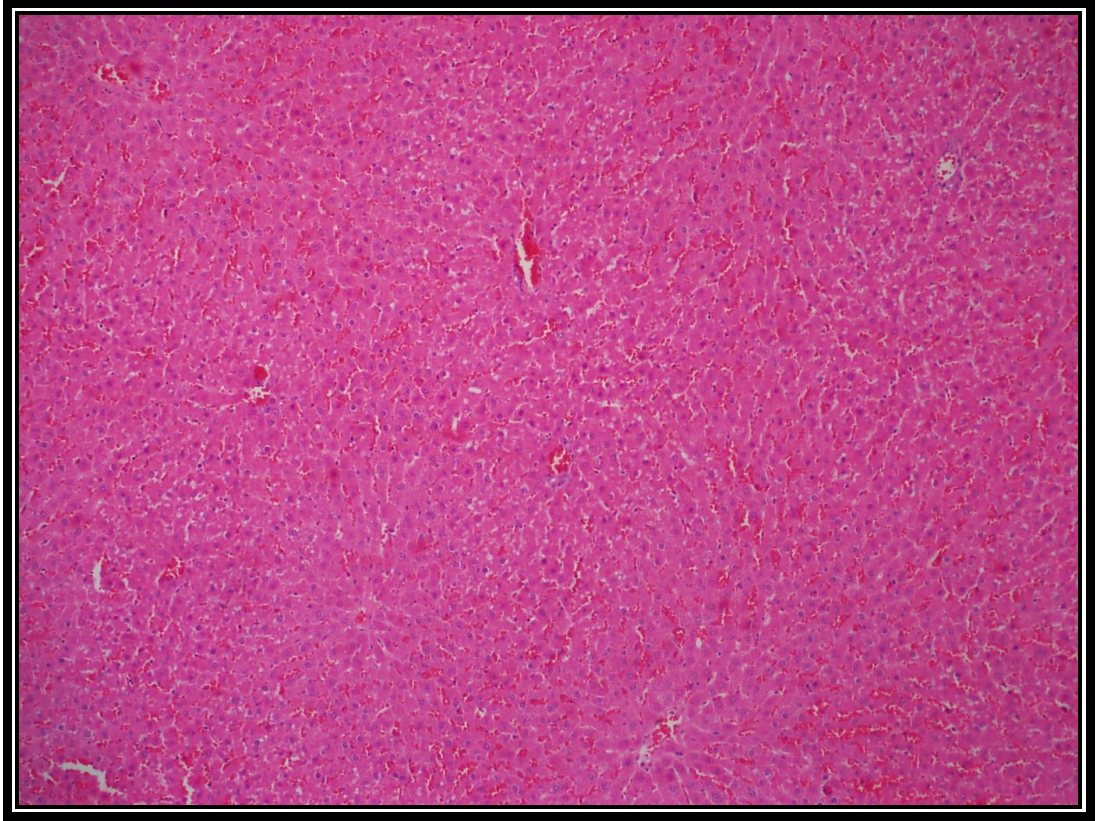
Karaciğer dokusunun histopatolojik olarak incelenmesinde deney grupları arasında farklı mikroskopik görünümeler ortaya çıktı.

Grup I' de, hepatositler ve portal alanların yapıları normal görünümde izlendi. Hepatositler, vena sentralis çevresinde ışınal tarzda yerleşmiş hücre kordonları şeklinde bulunuyordu. Aralarında bulunan sinuzoidler normal genişlikte ve yapıda gözlemlendi. Stoplazmik vakuolizasyon ve parankimal nekroz izlenmedi (Resim 4.1.). Sinuzoidal konjesyon, 4 (%66,7) tane (-), 2 (%33,3) tane (+) ve ortalama skor $0,33 \pm 0,52$ olarak bulundu. Stoplazmik vakuolizasyon, 6 (%100) tane (-) ve ortalama skor (-) olarak bulundu. Hücre nekrozu, 6 (%100) tane (-) ve ortalama skor (-) olarak bulundu.

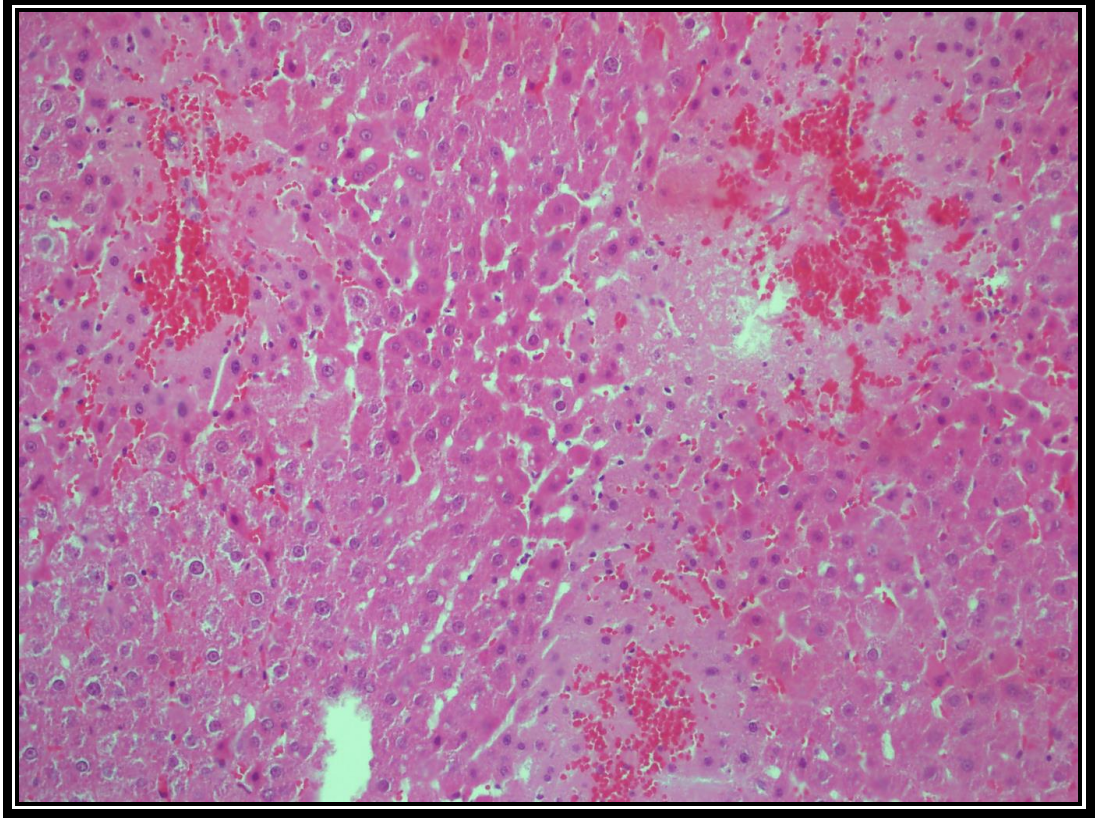


Resim 4.1. GrupI, Karaciğer parankimi (100X, H&E)

Grup II'de, hepatosit hücre kordonlarının bütünlüğü bozulmuş, karaciğer parankimi içinde rastgele dağılmış, hepatosit nekroz alanları izlendi. Parankimal alanlarda nötrofil infiltrasyonu, sinuzoidlerde çok fazla konjesyon, çok fazla stoplazmik vakuolizasyon ve iskemik nekroza özgü soluk boyanan, mumyalaşmış hepatositler gözlemlendi (Resim 4.2.) (Resim 4.3.). Sinuzoidal konjesyon, 3 (%37,5) tane (++), 2 (%25) tane (+++), 3 (%37,5) tane (++++), ve ortalama skor $3 \pm 0,93$ olarak bulundu. Stoplazmik vakuolizasyon, 2 (%25) tane (+), 3 (%37,5) tane (+++), 3 (%37,5) tane (++++), ve ortalama skor $2,88 \pm 1,25$ olarak bulundu. Hücre nekrozu, 2 (%25) tane (-), 2 (%25) tane (+), 2 (%25) tane (++), 2 (%25) tane (+++), için bütün skorlar 2 tane idi ve ortalama skor $1,5 \pm 1,2$ olarak bulundu.

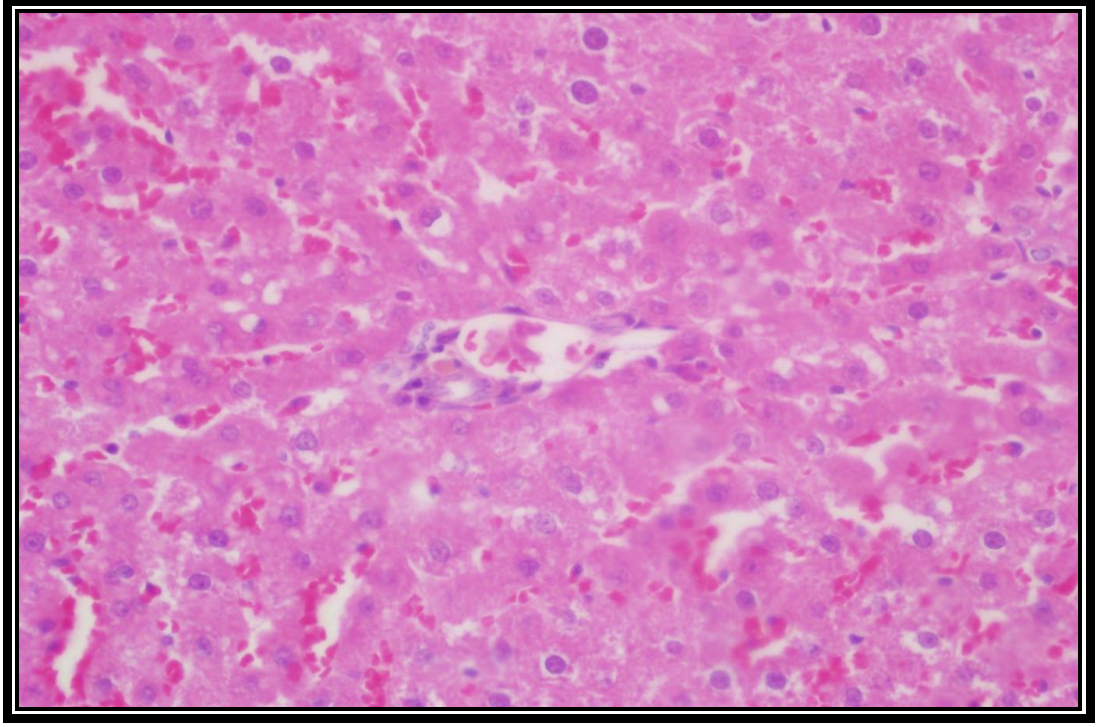


Resim 4.2. Grup II, Karaciğer parankimi (100X, H&E)

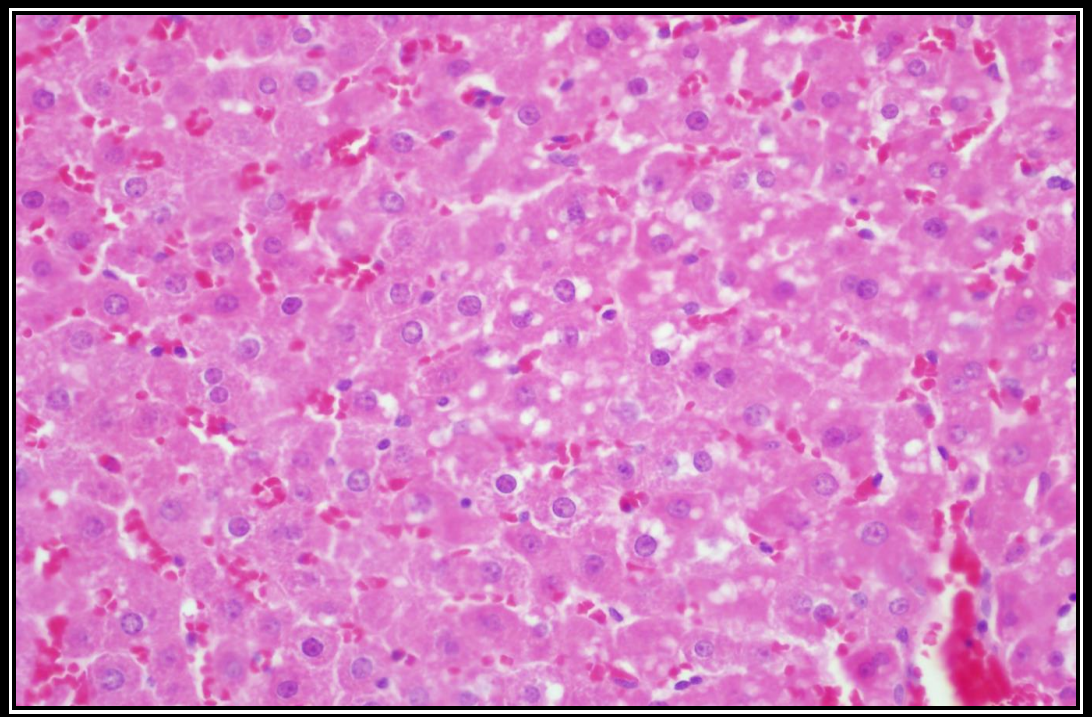


Resim 4.3. Grup II, Ağır nekroz (400X, H&E)

Grup III'te karaciğer parankiminde izole basit hücre nekrozu dışında hepatosit hasarına rastlanmadı. Sinuzoid genişlemesi İR grubuna göre oldukça azalmış, orta düzeyde konjesyon ve orta düzeyde stoplazmik vakuolizasyon gözlendi (Resim 4.4.) (Resim 4.5.). Sinuzoidal konjesyon, 2 (%25) tane (+), 4(%50) tane (++), 2 (%50) tane (+++) ve ortalama skor $2 \pm 0,76$ olarak bulundu. Stoplazmik vakuolizasyon, 2 (%25) tane (-), 5 (%62,5) tane (+), 1 (%12,5) tane (++) ve ortalama skor $0,88 \pm 0,64$ olarak bulundu. Hücre nekrozu, 5 (%62,5) tane (-), 2 (%25) tane (+), 1 (%12,5) tane (++) ve ortalama skor $0,5 \pm 0,76$ olarak bulundu.

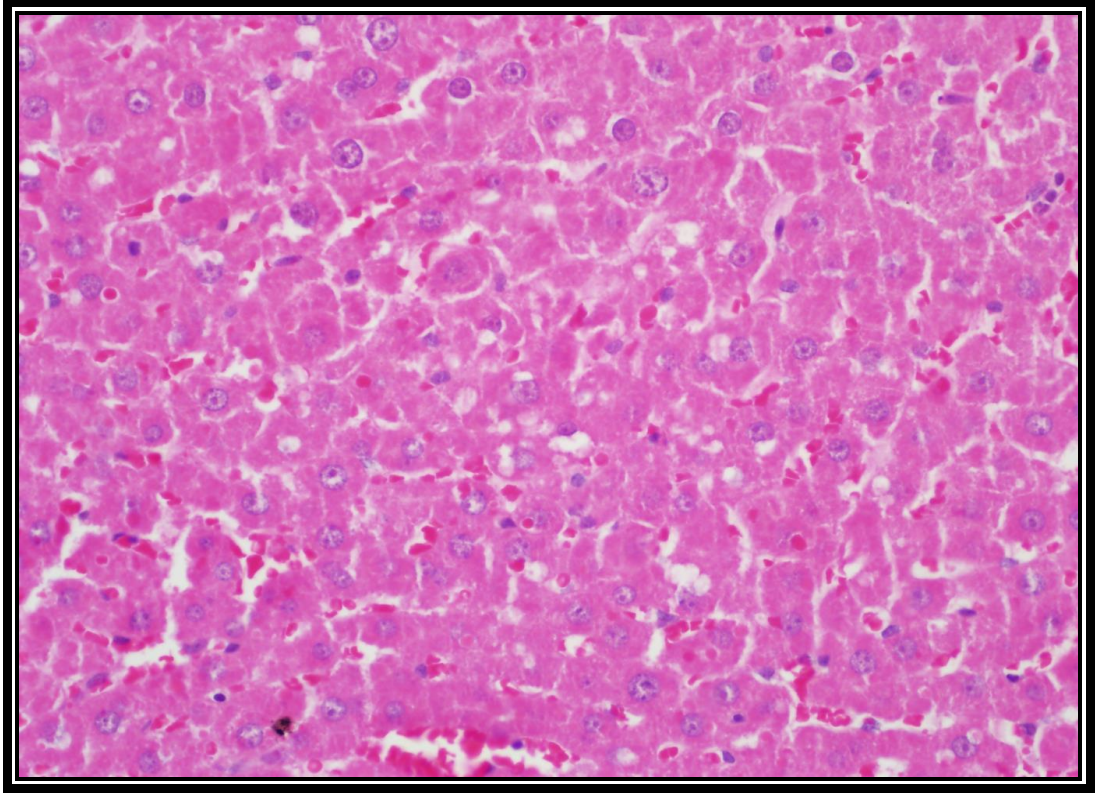


Resim 4.4. Grup III, Fokal nekroz (400X, H&E).

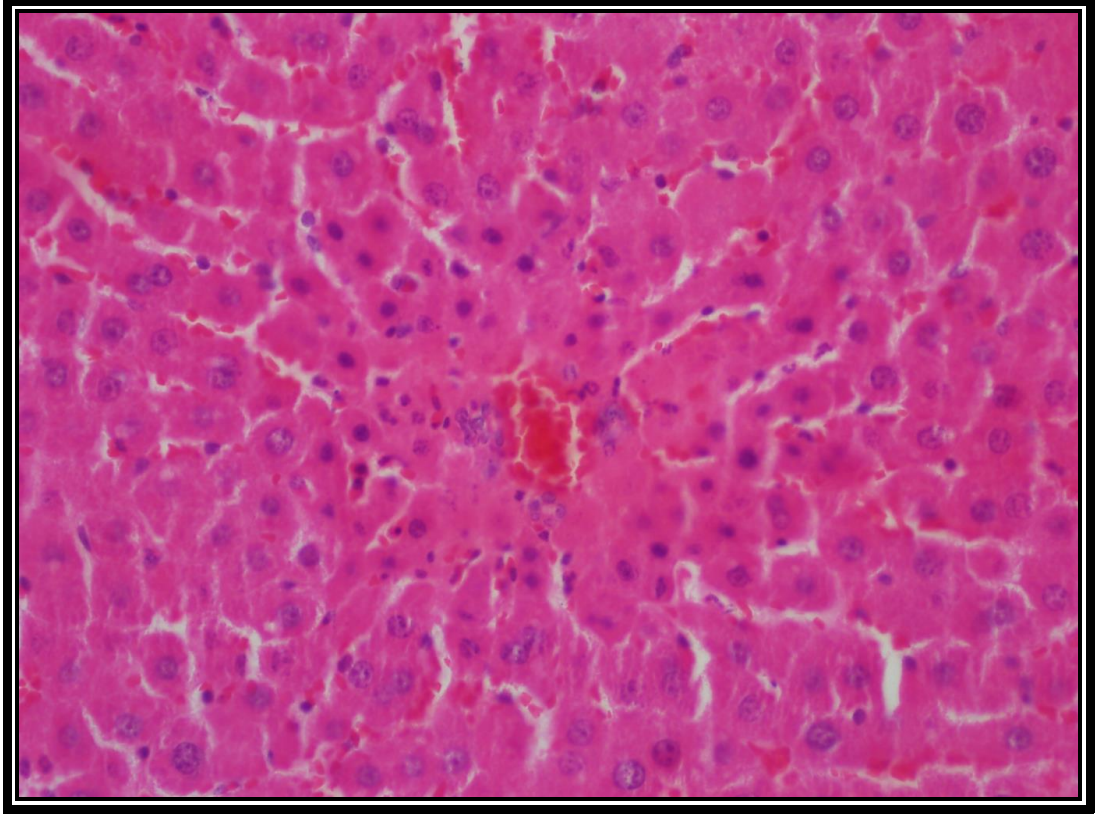


Resim 4.5. Grup III, Orta düzey vakuolizasyon (400X, H&E).

Grup IV'te parankim bütünlüğünün korunduğu İR grubundan oldukça azalmış daha az sayıda sinuzoid genişlemesi, az sayıda stoplazmik vakuolizasyon ve hücre infiltrasyonu, az sayıda da basit hücre nekrozu gözlemlendi (Resim 4.6.) (Resim 4.7.). Sinuzoidal konjesyon, 3 (%37,5) tane (-), 4 (%50) tane (+), 1 (%12,5) adet (++) ve ortalama skor $0,75 \pm 0,71$ olarak bulundu. Stoplazmik vakuolizasyon, 6 (%75) tane (-), 1 (%12,5) tane (+), 1 (%12,5) tane (+++) ve ortalama skor $0,5 \pm 1,07$ olarak bulundu. Hücre nekrozu, 6 (%75) tane (-), 2 (%25) adet (+) ve ortalama skor $0,25 \pm 0,46$ olarak bulundu.

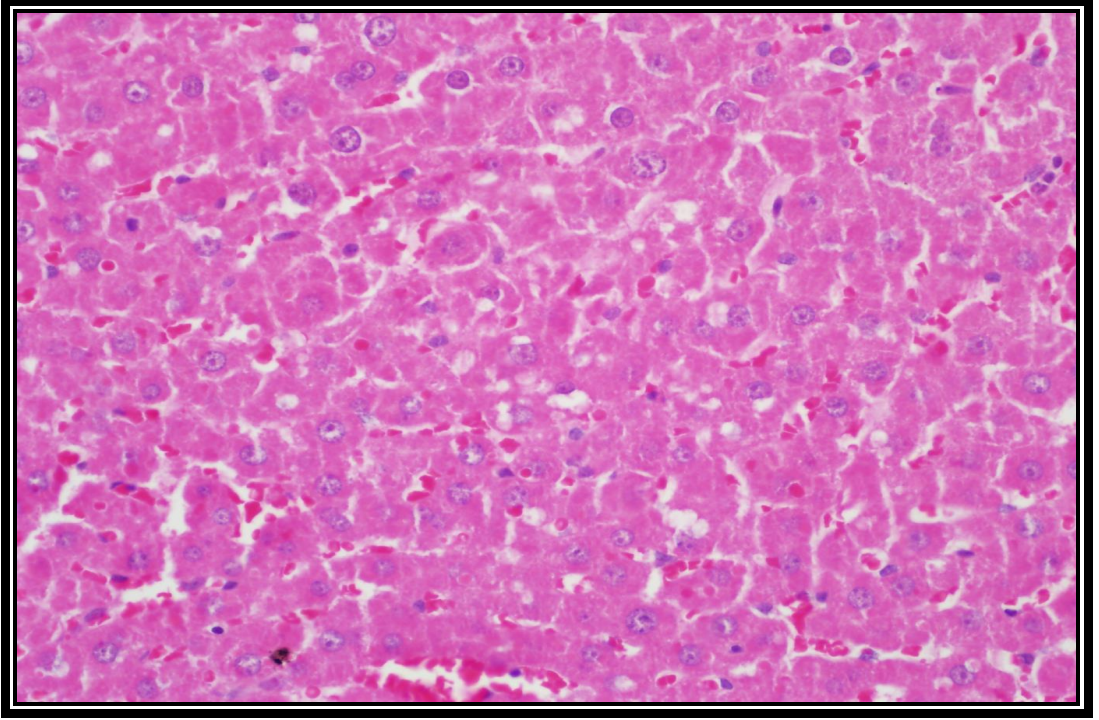


Resim 4.6. Grup IV, Hafif konjesyon ve hafif vakuolizasyon (400X, H&E).

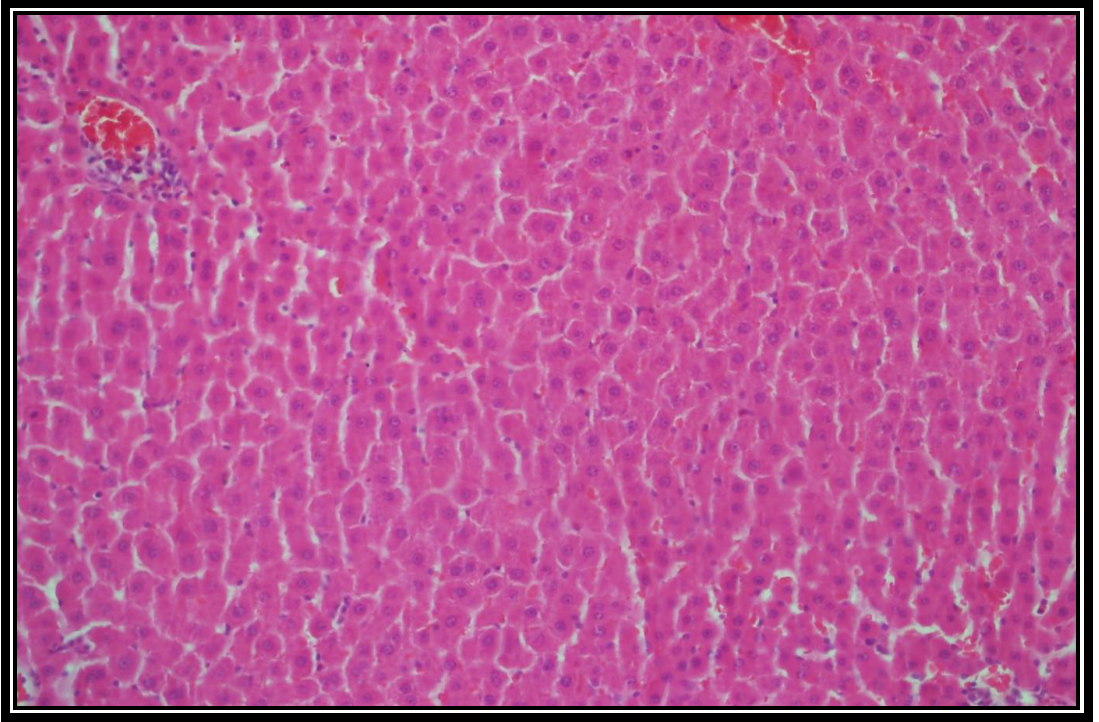


Resim 4.7. Grup IV, Basit hücre nekrozu (400X, H&E).

Grup V'te karaciğer dokusu, pek çok alanda sham grubuyla benzerlik göstermekteydi. Hepatosit kordonları oldukça düzgün seyirli, sinuzoidler normal çapta, az konjesyon izlenmedi (Resim 4.8.) (Resim 4.9.). Sinuzoidal konjesyon, 4 (%50) tane (-) 3 (%33,3) tane (+), 1 (%12,5) tane (++) ve ortalama skor $0,63 \pm 0,74$ olarak bulundu. Stoplazmik vakuolizasyon, 6 (%75) tane (-), 1 (%12,5) tane (+), 1(%12,5) tane (++) ve ortalama skor $0,38 \pm 0,74$ olarak bulundu. Hücre nekrozu, 7 (%87,5) tane (-), 1 (%12,5) tane (+) ve ortalama skor $0,13 \pm 0,35$ olarak bulundu.



Resim 4.8. Grup V, Minimal vakuolizasyon ve minimal konjesyon (400X, H&E).



Resim 4.9. Grup V, düzgün seyirli hepatosit kordonları, sinuzoidler normal çapta, (200X, H&E).

Sinuzoidal konjesyon ortalama skoru en düşük değer Grup I için $0,33 \pm 0,52$ olarak ve en yüksek değer Grup II'de için $3 \pm 0,93$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Stoplazmik vakuolizasyon ortalama skoru en düşük değer Grup I için 0 ± 0 olarak ve en yüksek değer Grup II için $2,88 \pm 1,25$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Hücre nekrozu ortalama skoru en düşük değer Grup I için 0 ± 0 olarak ve en yüksek değer Grup II için $1,5 \pm 1,2$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$) (Tablo 4.1.). Konjesyon, vakuolizasyon ve nekroz ortalama skor değerleri gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu için gruplar ikili olarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 4.2.) (Şekil 4.1.).

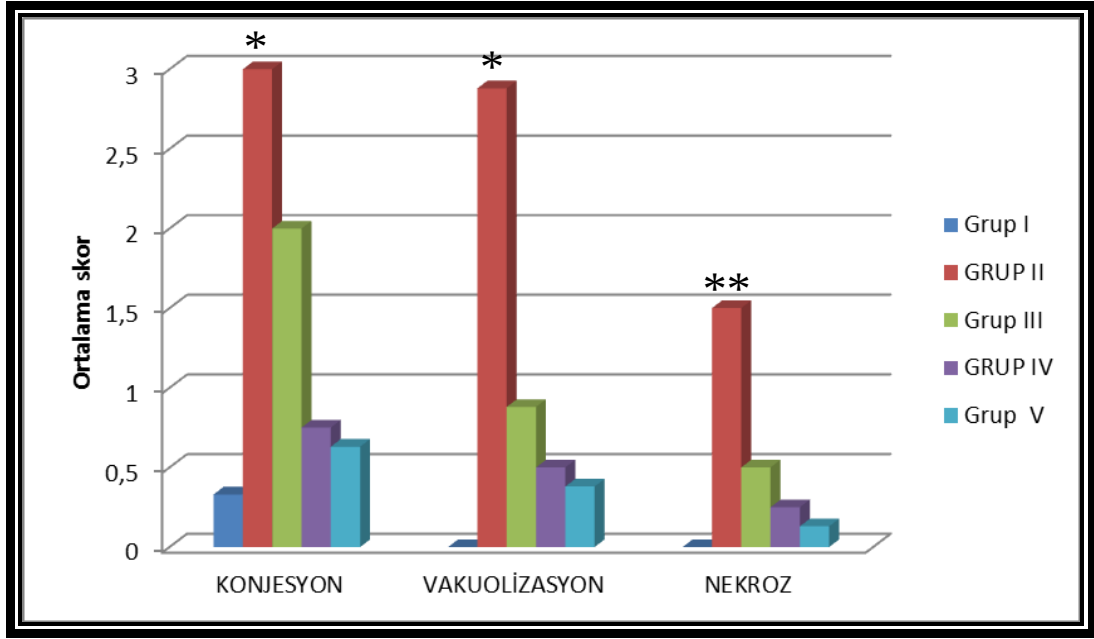
Tablo 4.1. Gruplara ait karaciğer hasar skorları

Gruplar		GRUP 1				GRUP 2					GRUP 3				GRUP 4				GRUP 5			
Skorlar		0 (-)	1 (+)	2 (++)	3 (+++)	0 (-)	1 (+)	2 (++)	3 (+++)	4 (++++)	0 (-)	1 (+)	2 (++)	3 (+++)	0 (-)	1 (+)	2 (++)	3 (+++)	0 (-)	1 (+)	2 (++)	3 (+++)
KONJESYON	Skor	4	2	0	0	0	0	3	2	3	0	2	4	2	3	4	1	0	4	3	1	0
	Ort±SD	$0,33 \pm 0,52$				$3 \pm 0,93$					$2 \pm 0,76$				$0,75 \pm 0,71$				$0,63 \pm 0,74$			
VAKUOLİZASYON	Skor	6	0	0	0	0	2	0	3	3	2	5	1	0	6	1	0	1	6	1	1	0
	Ort±SD	0 ± 0				$2,88 \pm 1,25$					$0,88 \pm 0,64$				$0,5 \pm 1,07$				$0,38 \pm 0,74$			
NEKROZ	Skor	6	0	0	0	2	2	2	2	0	5	2	1	0	6	2	0	0	7	1	0	0
	Ort±SD	0 ± 0				$1,5 \pm 1,2$					$0,5 \pm 0,76$				$0,25 \pm 0,46$				$0,13 \pm 0,35$			

Tablo 4.2. Gruplara ait karaciğer hasar skoru istatistiksel analizi

Gruplar		1-2	1-3	1-4	1-5	2-3	2-4	2-5	3-4	3-5	4-5
KONJESYON	p*	<0.001**	<0.001**	0.25	0.46	0.046**	<0.001**	<0.001**	0.01**	0.01**	0.69
VAKUOLİZASYON	p*	<0.001**	0.01**	0.20	0.20	0.01**	<0.001**	<0.001**	0.12	0.11	0.94
NEKROZ	p*	0.01**	0.11	0.20	0.39	0.08	0.02**	0.01**	0.52	0.24	0.54

*:Mann Whitney U; **:İstatistiksel anlamlılık mevcut.



* Grup II ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlılık mevcut.

** Grup II ile Grup I, IV, V arasında istatistiksel anlamlılık mevcut.

Şekil 4.1. Gruplara göre karaciğer hasar skor dağılım grafiği

4.2. Biyokimyasal değerler

4.2.1. Serum AST ve ALT

Karaciğer fonksiyon testleri olan AST ve ALT açısından gruplar değerlendirildi. AST açısından en düşük değer Grup I için $37,05 \pm 23,99$ olarak ve en yüksek değer Grup II için $101,13 \pm 14,91$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$). ALT açısından en düşük değer Grup I $31,48 \pm 5,12$ ve en yüksek değer Grup II $77,61 \pm 22,18$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Grupların serum AST, ALT dağılımı

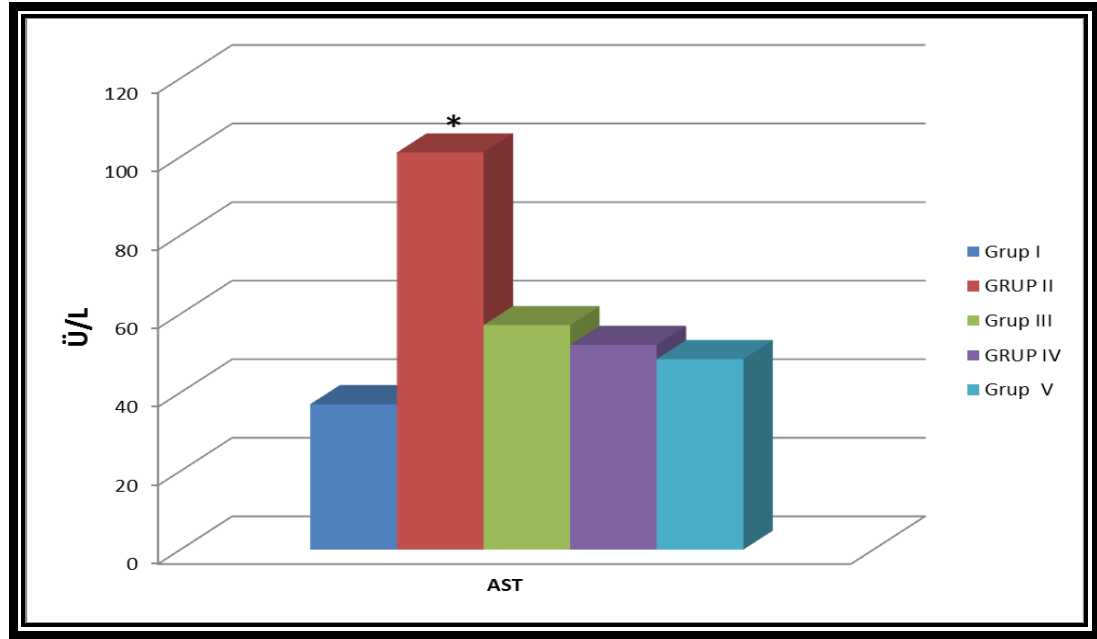
	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	GRUP 5
AST	37,05±23,99	101,13±14,91	57,18±11,2	52,14±11,95	48,53±14,88
ALT	31,48±5,12	77,61±22,18	35,19±6,93	32,34±10,15	33,81±5,62

AST ve ALT değerleri gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu için gruplar ikili olarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı, Grup II' nin AST ve ALT ortalamasının diğer bütün gruplarda yüksek oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 4.4.) (Şekil 4.2.) (Şekil 4.3.)

Tablo 4.4. Grupların serum AST, ALT istatistiksel analizi

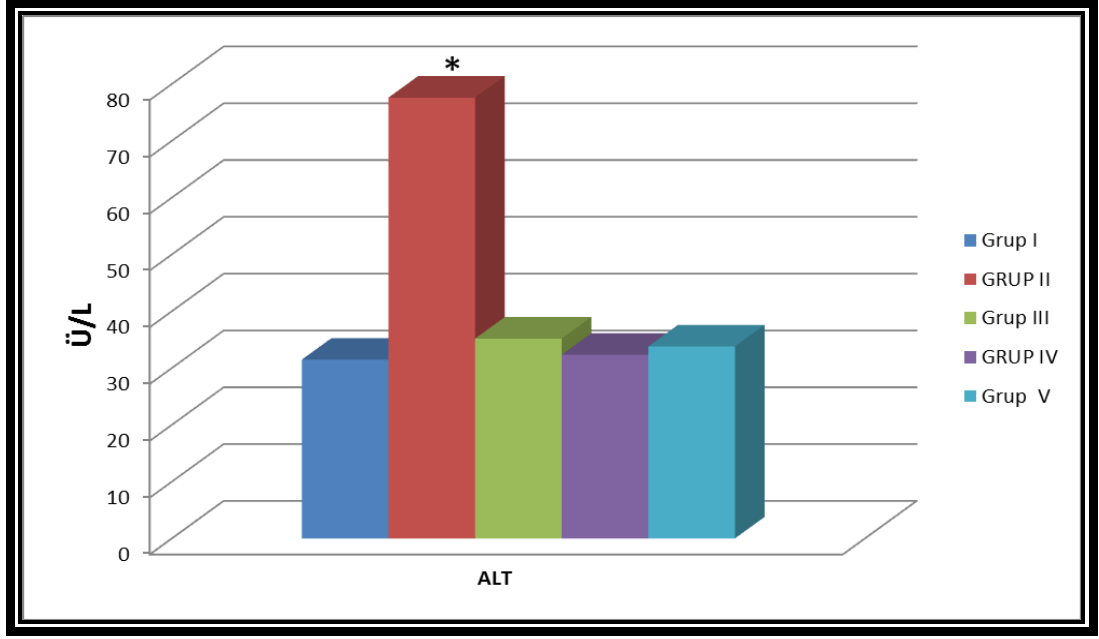
		1-2	1-3	1-4	1-5	2-3	2-4	2-5	3-4	3-5	4-5
AST	p*	0.003**	0.071	0.071	0.121	0.001**	0.001**	0.001**	0.294	0.115	0.563
ALT	p*	0.005**	0.302	0.245	0.519	0.002**	0.003**	0.002**	0.834	0.99	0.674

*:Mann Whitney U; **:İstatistiksel anlamlılık mevcut.



* Grup II ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlılık mevcut.

Şekil 4.2. Serum AST dağılım grafiği



* Grup II ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlılık mevcut.

Şekil 4.3. Serum ALT dağılım grafiği

4.2.2. Serum TNF- α ve MPO

Elde edilen serum örneklerinden inflamasyon belirteçleri olan TNF- α ve MPO çalışıldı. TNF- α değeri en düşük Grup I' de $176,67 \pm 56,15$, en yüksek Grup II' de $245,88 \pm 62,12$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.23$). MPO (kan) en düşük Grup I' de $7,64 \pm 0,63$, en yüksek Grup II' de $24,25 \pm 6,05$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$) (Tablo 4.5.)

Tablo 4.5. Grupların serum TNF- α ve MPO dağılımı

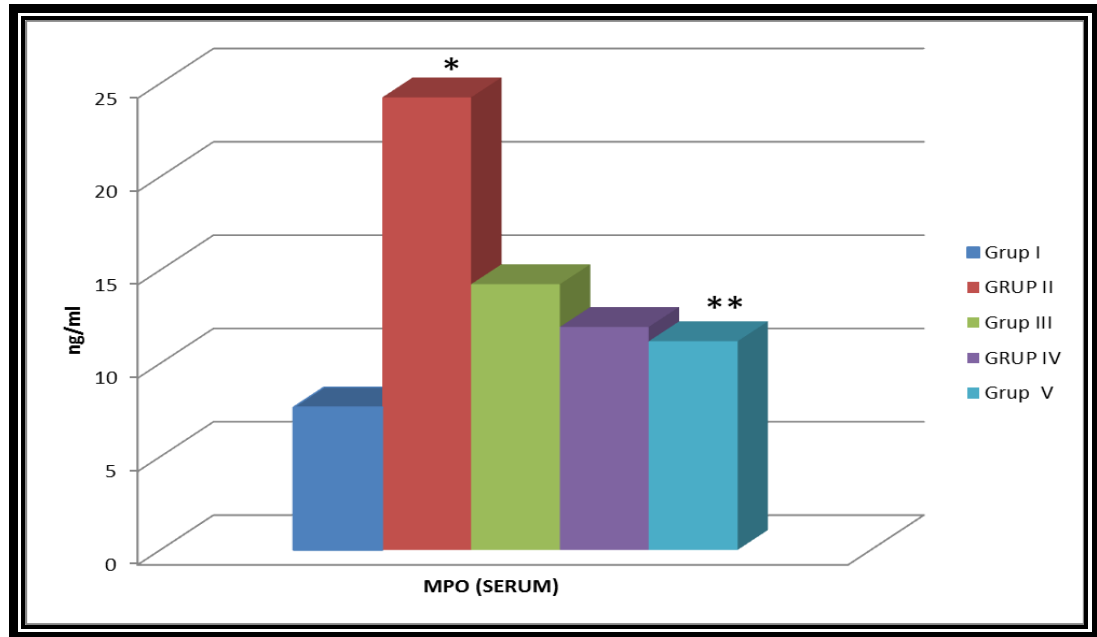
	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	GRUP 5
TNF- α	$176,67 \pm 56,15$	$245,88 \pm 62,12$	$220,5 \pm 45,02$	$211,13 \pm 51,35$	$210,88 \pm 86,41$
MPO	$7,64 \pm 0,63$	$24,25 \pm 6,05$	$14,24 \pm 2,83$	$11,95 \pm 5,36$	$11,18 \pm 3,53$

MPO (serum) değeri ortalaması için Grup I' in ortalamasının Grup II, III ve IV' den düşük oluşu, Grup II 'nin MPO ortalamasının diğer bütün gruplarda yüksek oluşu, Grup III' ün ortalamasını Grup V' den yüksek oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). TNF- α değeri, grupların birbiri ile yapılan alt istatistiksel incelemesinde de anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 4.6.) (Şekil 4.4.)

Tablo 4.6. Grupların TNF- α ve MPO İstatistiksel Analizi

Gruplar		1-2	1-3	1-4	1-5	2-3	2-4	2-5	3-4	3-5	4-5
TNF- α	p*	0.07	0.09	0.27	0.52	0.25	0.21	0.19	0.29	0.46	0.75
MPO (KAN)	p*	0.002**	0.002**	0.010**	0.156	0.002**	0.005**	0.001**	0.093	0.040**	0.916

*:Mann Whitney U; **:İstatistiksel anlamlılık mevcut.



* Grup II ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlılık mevcut.

** Grup V ile Grup III arasında istatistiksel anlamlılık mevcut.

Şekil 4.4. MPO (SERUM) dağılım grafiği

4.2.3. Doku MDA ve MPO

Doku MDA ve MPO açısından gruplar değerlendirildi. Dokuda MDA değeri en düşük Grup I' de $23,43 \pm 4,07$, en yüksek Grup II' de $88,02 \pm 9,03$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$). Dokuda MPO değeri en düşük Grup I' de $833,25 \pm 16,3$, en yüksek Grup II' de $1911,8 \pm 623,9$ bulundu. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo 4.7.).

Tablo 4.7. Grupların doku MDA ve MPO dağılımı

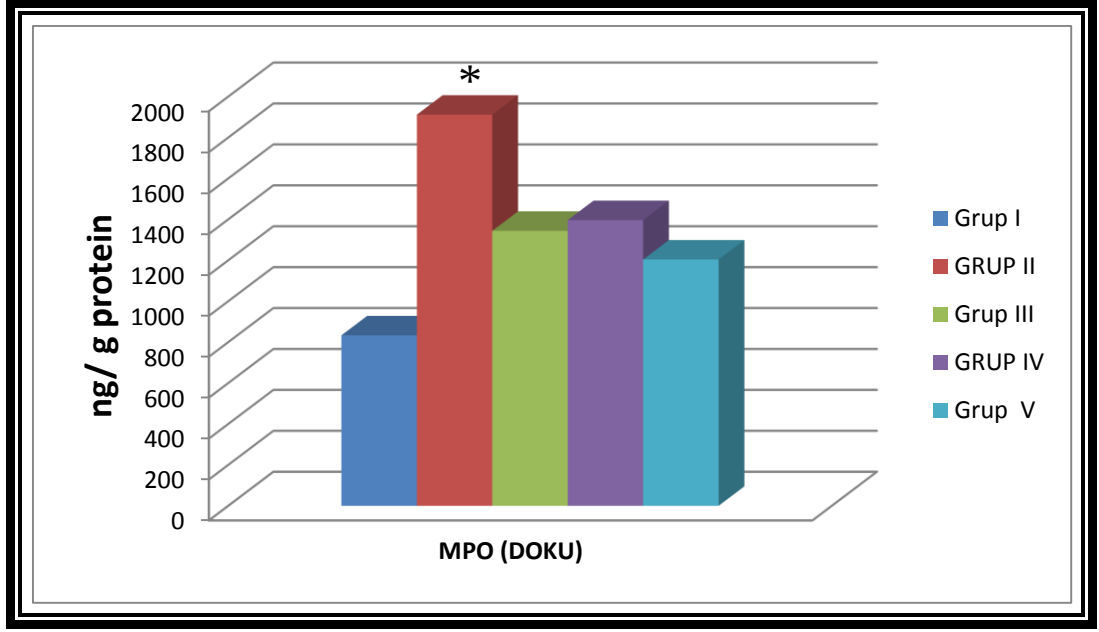
DOKU	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	GRUP 5
MDA	$23,43 \pm 4,07$	$88,02 \pm 9,03$	$36,27 \pm 21,92$	$33,92 \pm 29,53$	$36,68 \pm 35,56$
MPO	$833,25 \pm 16,3$	$1911,8 \pm 623,9$	$1344,1 \pm 433,28$	$1396,47 \pm 424,98$	$1203,91 \pm 448,12$

Doku MDA ve MPO grupları arasında farklılık istatistiksel olarak anlamlı olduğu için gruplar ikili olarak karşılaştırıldı. Dokuda MPO değerinin Grup I 'in diğer bütün gruplarda düşük oluşu, Grup II' nin diğer gruplardan yüksek oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Dokuda MDA değerinin Grup II 'de diğer gruplardan yüksek oluşu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 4.8.) (Şekil 4.5.) (Şekil 4.6.).

Tablo 4.8. Grupların Doku MDA ve MPO İstatistiksel Analizi

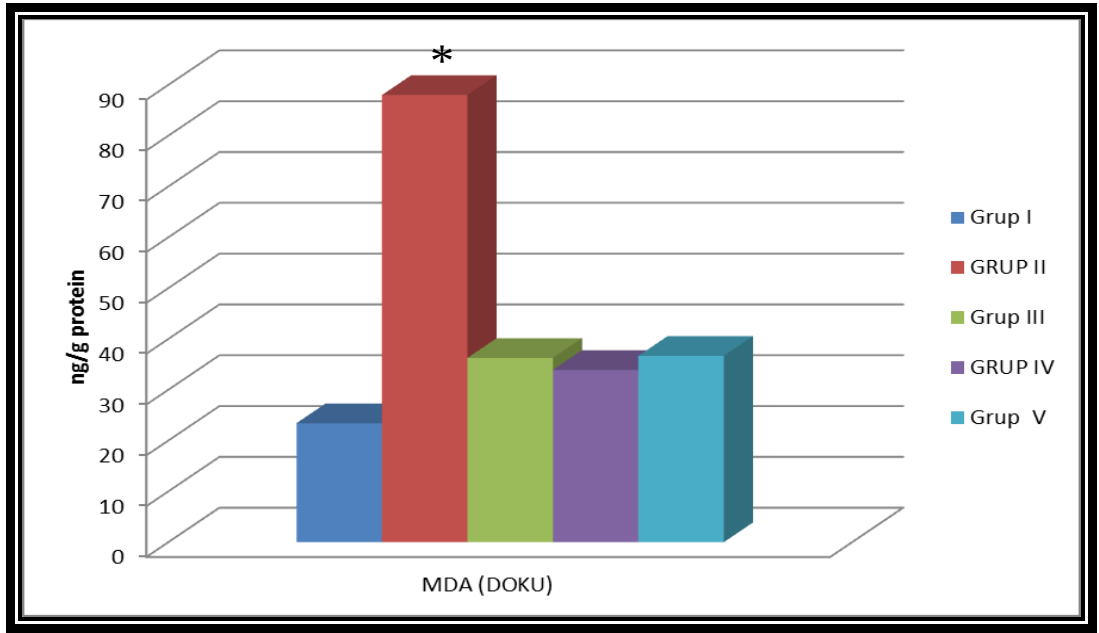
DOKU		1-2	1-3	1-4	1-5	2-3	2-4	2-5	3-4	3-5	4-5
MPO	p*	0.002**	0.002**	0.002**	0.020**	0.012**	0.012**	0.012**	0.563	0.294	0.401
MDA	p*	0.002**	0.916	0.09	0.094	0.002**	0.002**	0.002**	0.916	0.529	0.294

*:Mann Whitney U; **:İstatistiksel anlamlılık mevcut.



* Grup II'de istatistiksel anlamlılık mevcut.

Şekil 4.5. Doku MPO dağılım grafiği



* Grup II'de istatistiksel anlamlılık mevcut.

Şekil 4.6. Doku MDA dağılım grafiği

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda rat iskemi reperfüzyon modelinde levosimendan ve NAS'ın ayrı ayrı ve birlikte karaciğer İRH'ye olan etkisini araştırdık. Levosimendan ve NAS'ın serum AST, ALT, MPO, doku MPO ve MDA düzeyini ve karaciğer histopatolojik hasar skorunu anlamlı düzeyde azalttığını bulduk.

Karaciğer iskemi reperfüzyon modellerini incelediğimizde %20, %50, %70, %100 hepatik iskemi kullanan modeller tespit ettik. Hemodinamik stabilite bozulmadan hasar oluşturulan total(%100) karaciğer iskemi süresinin en az 25 dk olduğu saptamışlardı. Deneysel çalışmalarda belirtilen en uzun sıcak iskemi süresi 90 dk iken kabul edilebilir sıcak iskemi süresi yaklaşık 60 dk olarak belirtilmişti (73, 105).

Daha önce yapılan çalışmalarda parsiyel iskemi modellerinin tam iskemi kliniğiyle örtüşmediği yönündeki eleştiriler göz önünde bulundurulmuş ve modelimizde total iskemi uygulaması tercih edilmiştir. Kendi oluşturduğumuz modelde klinik uygulamalara yakınlığı, kabul edilebilir oluşu ve çeşitli yayınlarda da bildirilmesi nedeniyle total sıcak iskemi süresi 60 dk olarak belirlenmiş ve uygulanmıştır. Yalancı opere grup ile iskemi reperfüzyon uyguladığımız grup karşılaştırıldığında hem histopatolojik, hemde biyokimyasal olarak anlamlı fark tespit ettik. Total karaciğer iskemisi oluşması için 60 dk'lık klemp süresinin yeterli olduğunu düşünüyoruz.

İRH'yi azaltmak amacıyla birçok ajan ve yöntem ile bir çok çalışma yapılmıştır. Hasarı önlemek amacıyla hepatik kan akımın artırılması ve inflamatuvar olayların kontrol altına alınması günümüzde giderek önem kazanan tedavi yöntemlerindendir. Antioksidanlar, serbest radikal ve nötrofil inhibitörleri, iskemik önkoşullama, hipotermi gibi fizyolojik, farmakolojik ve yapısal tedavi prensipleri karaciğer hasarını azaltmak veya önlemek için denenmiştir (18, 75, 105, 106). Ancak halen ideal bir yöntem bulunamamıştır.

Çalışmamızda antiiskemik ve antiinflamatuvar özelliği daha önce gösterilmiş (87, 107), ağırlıklı olarak inotrop ve vazodilatatör özelliğinden dolayı kalp yetmezliğinde kullanılan ve bir fosfodiesteraz inhibitörü olan

levosimendan ile akciğer, karaciğer ve böbrek dokularına ait deneysel iskemi reperfüzyon modellerinde, meydana gelen doku hasarını önlemede etkili olduğu bulunmuş NAS'ın (108-113)

Byrka-Owczarek ve ark. (114) bağırsakta NAS'ın etkinliğinin zayıf olduğunu belirtmişlerdir. Karaciğerin sıcak ya da soğuk iskemisinin etkilerinin azaltılmasında NAS'ın genellikle etkili olduğu düşünülürken, Chavez ve ark. (115) deneysel karaciğer iskemisi sonrası reperfüzyon hasarını önlemede NAS'ı etkisiz bulmuşlardı. Montero ve ark. (110) NAS'ın karaciğer reperfüzyon hasarında hiçbir yararı olmadığını bildirmişlerdir. Yine Mojžiš ve ark (116) NAS'ın iskemi reperfüzyon temelinde oluşan mide mukozası hasarını daha da artırdığını ortaya koymuşlardır.

Masahiro ve ark. (135) rat myokard iskemi reperfüzyon modelinde NAS'ın değişik doz ve uygulama şekillerinin iskemi reperfüzyon hasarına etkisini inceledikleri bir çalışmada oklüzyondan 30 dk önce başlanan 150 mg/kg/saat NAS infüzyonunun, oklüzyondan 30 dk önce yapılan 150 mg/kg bolus NAS'tan daha düşük MPO seviyesi olduğunu bulmuşlardı ve enfarkt alanını daha iyi sınırladığını göstermişlerdi. NAS kan konsantrasyonunun özellikle erken reperfüzyon dönemde sürdürülmesinin NAS'ın yararlı etkilerini görebilmek için önemli olduğunu belirtmişlerdi. Başka bir çalışmada Cuzzorea ve ark. (138) 45 dk splenik arteriyel oklüzyon ve 60 dk reperfüzyon uyguladıkları hayvan çalışmasında reperfüzyondan 5 dk önce 20 mg/kg NAS bolus ve 20 mg/kg/saat infüzyon uygulamışlar ve NAS'ın MPO ve MDA düzeylerini azalttığını bildirmişlerdi. Başka bir çalışmada Lee ve ark. (134) ratlarda NAS'ın parsiyel hepatektomi sonrası iskemi reperfüzyon hasarına etkisini araştırdıkları bir çalışmada parsiyel hepatektomi sonrasında 30 dk iskemi 60 dk reperfüzyon uygulamışlardı. NAS'ın parsiyel hepatektomi sonrası uygulanan iskemi reperfüzyon hasarında enzimatik ve morfolojik olarak iyileşme sağladığını belirtmişlerdi.

Biz çalışmamızda NAS'ı 10 dk yükleme dozunu 150 mg/kg, idame infüzyon dozunu 20 mg/kg/saat olarak belirledik ve uyguladık. Çalışmamızda NAS doku MDA ve MPO düzeylerinde anlamlı bir azalma sağlamış ve

histopatolojik olarak da karaciğer iskemi reperfüzyon hasar skorunu anlamlı azaltmıştır.

Levosimendan için önerilen klinik doz 6-24 mcg/kg bolus sonrası 24 saat 0,05-0,2 mcg/kg/dk infüzyon olarak verilmektedir. Pık etkisine ulaşmak için 10-30 dk gerekli olduğu belirtilmektedir (87).

Ayganım ve ark. (117) levosimendanın karaciğer iskemi reperfüzyon hasarına etkisine baktıkları bir çalışmada 45 dk total iskemi sonrası 60 dk reperfüzyon uygulamışlardı. Aynı çalışmada levosimendani iskemi öncesi 10 dk 12 mcg/kg/dk dozunda yükleme ve 45 dk iskemi süresince 0,2 mcg/kg/dk infüzyon şeklinde uygulamışlardı. Levosimendanın hücresel etki düzeyinin göstergeleri olan serum AST, ALT değerlerini karşılaştırmışlar ve AST ve ALT değerlerinde anlamlı fark olmadığını bulmuşlardı. Histopatolojik skor değerlendirmesinde levosimendan uygulanmasının karaciğer hasarını histopatolojik düzeyde azalttığını belirtmişlerdi. Çalışmamızda levosimendan infüzyonuna reperfüzyon süresince de devam edildi. Levosimendan verilen grupta serum AST, ALT değerlerinin ve histopatolojik hasar skorunun anlamlı azaldığını tespit ettik.

İRH'nın hasarının tespiti ve hasar seviyesinin ölçümü için çeşitli hasar skorum sistemleri tanımlanmıştır. Bu skorum sistemleri, hücre hasar safhalarındaki doku değişikliklerini içermekte ve bulgunun seviyesine göre puanlanmaktadır. Her ne kadar göreceli de olsa, mevcut doku hasarını en somut ortaya koyan yöntem histopatolojik incelemedir.

Crockett ve ark. (139) yaptığı çalışmada, karaciğer İR uygulanmış grupta sinuzoidal konjesyon, sitoplazmik vakuolizasyon, hepatosellüler nekroz ve nötrofil infiltrasyonu gözlemiş ve ALT düzeylerini yüksek olarak bulmuşlardır. Inglott ve ark. (140) İR uygulanmış karaciğer dokusunda polimorfonükleer hücre infiltrasyonu, hepatosit nekrozu, sinuzoidal genişleme ile ALT ve AST düzeylerinde artış saptamışlardır. Peralta ve ark. (141) İR uygulanmış karaciğer dokusunda yaygın hepatosit nekrozu , hemoraji, nötrofil infiltrasyonu, apopitotik hücre sayısında artış ile ALT ve AST düzeyi yükselmesi bulmuşlardır.

Çalışmamızda grupları histopatolojik olarak sinuzoidal konjesyon, stoplazmik vakuolizasyon ve hücre nekrozu yönünden suzuki hasar skoru (104) ile değerlendirdik. En az hasar skorunu NAS ve levosimendanin birlikte kullanılması sonrası tespit ettik.

İRH sonrasında karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için değişik yöntemler kullanılabilirse de bugün için bunların en çok kabul göreni hücresel etki düzeyini en iyi gösteren ve en çok kullanılanları AST, ALT ve LDH aktivitesi tayini ile histopatolojik değişimlerin incelenmesidir (73, 112).

Yabe ve ark. (113) karaciğerde İR sonucunda AST ve ALT düzeylerinin artırdığını ve bu artışın İR sonucu oluşan serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasara bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Başka bir çalışmada iskemik kalplerde levosimendanın Amrinon'a göre daha güçlü bir inotropik etki gösterdiği bulunmuştur ve bu etkinin fosfodiesteraz inhibe edici özelliğine ek olarak kalsiyuma duyarlılığı artırıcı özelliğine bağlı olduğu düşünülmüştür (136). Küçük ve ark. (105) 1 saat total karaciğer iskemisi sonrası 2 saat reperfüzyon modelinde amrinon uygulamasının serum AST, ALT ve LDH değerlerinin düşürdüğünü ve histopatolojik olarak hasarı azalttığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda levosimendan ve NAS'ın ayrı ayrı ve birlikte serum AST, ALT değerlerine etkilerini, serum fizyolojik verilen grupla karşılaştırdık. NAS ve levosimendanin ayrı ayrı ve birlikte kullanıldığı gruplarda serum AST, ALT düzeylerini serum fizyolojik verilen gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulduk. Birlikte kullanılan grupta AST, ALT düzeyleri daha düşük bulunsa da bu fark anlamlı değildi.

MPO, inflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL 1, IL 8 ve IFN-gama) ve adezyon molekülleri nötrofil adezyonunu gösterir ve inflamasyon belirteci olarak kullanılır (49-55).

Hücresel savunma sisteminin %60-70'lik bir kısmını oluşturan PMNL'lerin vücut savunmasında önemli etkinliği mevcuttur. PMNL'lerin savunma mekanizmaları arasında myeloperoksidaz enzim aktivitesi ile oluşturdukları ROT hasarı bulunmaktadır. Aktive olmuş ve inflamasyon

bölgesine çekilmiş olan PMNL'lerin oluşturmuş olduğu hasar miktarı, inflamasyon bölgesindeki MPO düzeyi ile ölçülebilmektedir (19, 78).

İR sonucu oluşan serbest radikallerin en önemli hedef yapılarından birisi de lipidlerdir. Bazı araştırmacılar lipid peroksidasyonun iskemi reperfüzyon hasarında anahtar rol oynadığını belirtmişlerdir (128). Serbest oksijen radikalleri çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomu alarak lipid peroksidasyonunu başlatır ve sonuçta hidroperoksitler oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda hücre membranı akışkanlığını yitirir ve membran bütünlüğü bozulur. Bu durum hücre fraksiyonlarının çevreye salıverilmesine ve hücre ölümüne yol açar. Diğer taraftan çevreye salınan bu subsellüler yapılar inflamatuvar olayları tetikler ve hasarı daha da ağırlaştırır (129). Malondialdehit oksidatif stress belirteci olarak dokuda bakılan lipid peroksidasyonu son ürünüdür ve SOR oluşumunun iyi göstergesidir. İRH sonucu artan SOR ve hidrojen peroksidin, lipid peroksidasyonu ve protein hasarını başlatarak hücre apoptozisi ve doku nekrozuna yol açtığı ve lipid peroksidasyonu sonucu MDA, TBARS açığa çıktığı bildirilmiştir (130).

Katircioğlu ve ark. (132) tavşan spinal İR modelinde, iskemi öncesi 12 mcg/kg 10 dk levosimendan yüklemesini takiben 30 dk iskemi süresince 0,2 mcg/kg/dk infüzyon uygulayıp 24 saat reperfüzyon sağladıkları çalışmalarında, Tarlov skoru ve MDA değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulmuşlardır. Spinal kord iskemi reperfüzyon hasarında levosimendan grubunda daha iyi histopatolojik sonuçlar elde etmişlerdir.

Özkaya ve ark. (131) iskemi öncesinde başlatılan levosimendan infüzyonunun barsaklarda nötrofil birikimini, lipid peroksidasyonunu ve histolojik hasar skorunu azalttığını belirtmişlerdir. Şener ve ark. (133) karaciğer iskemi reperfüzyon modelinde NAS ve melatoninin ayrı ayrı ve birlikte doku MDA düzeylerini düşürdüğünü doku MPO aktivitesini azalttığını, ikisinin birlikte kullanıldığında sinerjist etki ile iskemi reperfüzyon hasarını daha fazla azaltabileceklerini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda lokal inflamasyon belirteci olarak doku MPO ve sistemik inflamasyon tespiti için serum TNF- α ve serum MPO düzeylerine baktık ve

grupların inflamasyon ve oksidatif strese etkilerini karşılaştırdık. Levosimendan ve NAS'ın ayrı ayrı ve birlikte verildiği gruplarda doku MDA'yı, serum ve doku MPO seviyelerini serum fizyolojik verilen gruptan anlamlı derecede düşük bulduk. Çalışma gruplarını kendi aralarında karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark görmedik. NAS ve levosimendanın ayrı ayrı ve birlikte, inflamasyonu baskılama ve oksidatif stresi azaltmada olumlu etkileri vardır. Fakat oksidatif stresi önlemede ve inflamasyonu baskılamada birbirlerine üstünlüklerinin olmadığını söyleyebiliriz.

TNF- α makrofajlardan salınır ve önemli bir aktivatör sitokindir. Sitotoksik etkisinden başka, inflamatuvar reaksiyon ve inflamasyonun regülasyonunda da önemli rollere sahiptir. Kupffer hücreleri karaciğere yerleşik doku makrofajlarıdır. Aktive olduklarında bir çok sitokinle birlikte TNF- α da salgırlar. Ayrıca sitokinler hipermetabolizma, karaciğerin akut faz cevabı ve proliferatif/apoptoz kaskadı da yer alan mediyatörlerdir. Travma sonrası pro- ve anti-inflamatuvar sitokinler homeostazı sağlamak için sentezlenip salgırlar. Klinik çalışmalarla pro-inflamatuvar sitokinlerin multiorgan yetmezliğine sebep olabileceği gösterilmiştir. Pro-inflamatuvar sitokin etkilerine ve reseptörlerine yönelik yapılmış bir çok çalışma olsada yapıları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Nötrofiller, inflamasyonda ve travmalarda serbest oksijen radikalleri ve birtakım lizozomal enzimler salgırlar. Bu duruma ek olarak nötrofiller uyarı aldığında TNF- α ve miyeloperoksidaz da salgırlar. Nötrofillerin inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit, kanser ve reperfüzyon hasarında, hasardan sorumlu major ajanlar olduğu düşünülmektedir. (118-126) TNF- α 'nın daha çok iltihabi olaylarda önemli rol oynadığı, enfeksiyöz ajan varlığında veya doku hasarında 4-8 saat içinde TNF artışı gözlenip 16-24 saatte en üst düzeye ulaştığı ve uyarının devamlılığına göre salınımının devam ettiği bildirilmiştir (127).

Yapılan bazı deneysel çalışmalarda levosimendanın kardiyoprotektif, antiinflamatuvar ve antiapoptotik (87, 107), antiiskemik ve antitrombotik (137) etkileri gösterilmiştir. Levosimendanın immuno-inflamatuvar yanıt

üzerine yararlı etkileri olduğu ve TNF- α 'nın plazma düzeylerinde anlamlı bir azalma sağladığı gösterilmiştir (107).

Çalışmamızda grupların serum TNF- α düzeyleri serum fizyolojik verilen kontrol grubunda en yüksek, NAS ve levosimendanın birlikte uygulandığı grupta en düşük idi. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Toplam çalışma süremizin 130 dk olması ve bölgesel bir iskemi oluşturmuş olmamızdan dolayı gruplarda serum TNF- α seviyesinde anlamlı fark tespit edemediğimizi düşündük. Sistemik inflamasyon belirteci olarak kullanılan TNF- α 'nın kısa süreli iskemi reperfüzyon modellerinde hasarı değerlendirmede uygun bir belirteç olmadığı bunun yerine bölgesel inflamasyon belirteci olarak kullanılan doku TNF- α seviyelerinin iskemi reperfüzyon hasarında daha değerli bilgiler vereceği kanaatindeyiz.

6. SONUÇ

Bu çalışmada ratlarda deneysel karaciğer İR modelinde levosimendan ve NAS'ın ayrı ayrı ve birlikte karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkisi karşılaştırılmış ve ön tedavi olarak uygulanmasının etkisi sorgulanmıştır.

İskemi öncesinde başlatılan levosimendan ve NAS infüzyonu; ayrı ayrı ve birlikte inflamasyonu ve oksidatif stresi baskılamışlardır. İnflamasyon ve oksidatif stres ile oluşacak hücre ve doku hasarını azaltmışlardır.

Karaciğer histopatolojik hasar değerlendirmemizde NAS ve levosimendan ayrı ayrı ve birlikte karaciğer sinuzoidal konjesyonu, stoplazmik vakuolizasyonu ve hücre nekrozunu azaltmıştır.

Levosimendan ve NAS'ın karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında birbirlerine üstünlükleri olmadığı görülmüştür.

Hastada iskeminin başlangıç zamanını bilmek çok zor olabilir. Araştırma sonuçlarının klinikte destek bulabilmesi için uygulamanın başlatılma zamanını, süresini, uygulama şeklini ve en etkin dozları irdeleyen ileri deneysel çalışmalara gereksinim olduğu kanaatine vardık.

7. KAYNAKLAR

1. Toledo-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. *American Journal of Surgery*. 1975;129:513–517.
2. Atila K., Çöker A., Sagol O., Çöker I, Topalak O., Astarcioglu H., Karademir S., Astarcioglu I. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clinical Nutrition* 2002;4:309-313.
3. Ferdinand Serracino-Inglott, Nagy A. Habib, Robert T., Mathie B. Hepatic ischemiareperfusion injury. *The American Journal of Surgery* 2001; 181 (2): 160-166.
4. Tredger JM. Ischemia-reperfusion injury of the liver: Treatment in theory and practice. *Biofactors* 1998;8 (1-2) :161-164.
5. Jamali IN, Kersten JR, Pagel PS ve ark. Intracoronary levosimendan enhances contractile function of stunned myocardium. *Anesth Analg* 1997;85:23-29.
6. Emre A. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi: Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, Nobel Tıp Kitabevleri 2002; cilt II,1083-1086.
7. Yıldırım M.: Topografik Anatomi 2.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri.2004; 251-253.
8. Jamieson G.G.: Karaciğer Anatomisi: Genel Cerrahi Operasyonlarının Anatomisi, Nobel Tıp Kitabevleri 2007; 8-22.
9. 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, 3-34.
10. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology. The liver as an organ*. 9. edition, Philadelphia: WB Saunders company, 1996: 883-888.

11. The 17th edition of Townsend: Sabiston Textbook of Surgery represents an historical landmark. W.B. Saunders comp. 1526-1529.
12. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Basic Pathology 5th edition, W.B. Saunders Company A Division of Harcourt Brace & Company bölüm 1-60.
13. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology. Glands associated with the digestive tract. 8. edition, London: Appleton & Lange, 1995: 301-324.
14. <http://www.as.miami.edu/chemistry/2086/Chap%2024/Chapter%2024-newPART2.htm>. 20.04.2013.
15. Sayek I, Batman F, Aydınli M. Temel Cerrahi 2004, 3. Baskı, Ankara Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Bölüm129;1293-1301.
16. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas. Fourth Edition. USA:Lippincott Williams & Wilkins, 2003;532-548.
17. Davis-Christoper. Temel Cerrahi. Sabiston 9. Baskı. 2 – 1175.
18. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. Br. J. Surg. 1994;81:637-647.
19. Baykara B., Tekmen I. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı. DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2005;19(3):185-194.
20. Bronk SF, Gores GJ. Efflux of protons from acidic vesicles contributes to cytosolic acidification of hepatocytes during ATP depletion. Hepatology 1991;14:626-633.
21. Carini R, Autelli R, Bellomo G, Albano E. Alterations of cell volume regulation in the development of hepatocyte necrosis. Exp Cell Res 1999;248:280-293.
22. Gasbarrini A, Borle AB, Farghali H, Bender C, Francavilla A, Van Thiel D. Effect of anoxia on intracellular ATP, Na⁺i, Ca²⁺i, Mg²⁺i and cytotoxicity in rat hepatocytes. J Biol Chem 1992;267:6654-6663.
23. Rosser BG, Gores GJ. Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications. Gastroenterology 1995;108:252-275.

24. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 6th edition 2000:6-36.
25. Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury ROS within and without. *Circ Res* 2000; 86: 117-118.
26. Hartomt J, Charles V, Smith RJ, Jerry RJ. Reactive oxygen species during ischemia-reflow injury in isolated perfused Rat liver. *Clin Invest* 1988; 81: 1240-1246.
27. Lewis MS, Whatley RE, Cain P, McIntyre TM ve ark. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet activating factor by endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion. *J. Clin. Invest.* 1988;82:2045-2055.
28. Philip A, Caroline E, Marianne W. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *The INT J BIOCHEM and Cell Biology* 2001;33: 940-959.
29. Devlin MT. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. ROS. Willey-Liss Inc. Publication: New York, 2002;590-593.
30. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993;21(9):1376-1386.
31. Vittorio C, Raffaele L, Caterina T, Velia D, Maria S, Giovanni S, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *J Neurol Sci* 2005; 233:145-162.
32. Chamoun F, Burne M, Donnel M, Rabbit H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury *Front Biosci* 2000;5:103-109.
33. Yau-Huei W. Hsin-Chen L. Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Mutation and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Experimental Biology and Medicine* 2002; 227:671-682.

34. Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Free Radicals in Diagnostic Medicine, (Ed) Armstrong, D., New York, 1st edition. Plenum Pres, New York ;1994:1-15.
35. Roehn JN, Hadley JG, Menzel DB, Wash R. Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide. *Arc Environ Health* 1971; 23: 142-148.
36. Badwey JA, Karnowsky ML. Active oxygen species and the functions of phagocytic leukocytes. *Ann Rev Biochem* 1980; 49:695-726.
37. Gedik E, Girgin S, Ozturk H, Obay BD, Ozturk H, Buyukbayram H. Resveratrol attenuates oxidative stress and histological alterations induced by liver ischemia/reperfusion in rats. *World J Gastroenterol*. 2008 Dec 14;14:7101-7106.
38. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *Journal of Cellular Physiology*. 2002;192:1–15.
39. Xu SQ, Li YH, Hu SH, Chen K, Dong LY. Effects of Wy14643 on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol*. 2008 Dec 7;14:6936-6942.
40. Hsu YC, Chou TY, Chen CF, Wang D, Su CL, Hu RT. Rat Liver Ischemia/Reperfusion Induced Proinflammatory Mediator and Antioxidant Expressions Analyzed by Gene Chips and Real-Time Polymerase Chain Reactions. *Transplantation Proceedings* 2008;40:2156–2158.
41. Raghavan S.A.V, Dikshit M. Vascular regulation by the L-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacological Research* 2004; 49:397–414.
42. Shah V, Haddad FG, Garcia- Cardena G. Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *Journal of Clinical Investigation*. 1997; 100:2923–2930.

43. Clemens MG. Nitric oxide in liver injury. *Hepatology*.1999; 30:1–5.
44. Oberhalzer A., Oberhalzer C., Moldower LL. Cytokine signaling refulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med*. 2000;28:3-12.
45. Akhorfy KM., Kellum JA., Matzke GR. Unintanded immunomodulation. Part II. Effects of pharmacological agents an cytokine activity. *Shock* 2000;13:346-360.
46. Beutler B, Caroni A, Cachactin: More than a tumor necrosis factor. *N. Engl. J. Med*. 1987;316:379-385
47. Horie Y, Wolf R, Russell J, Shanley TP, Granger DN. Role of Kupffer cells in gut ischemia/reperfusion-induced hepatic microvascular dysfunction in mice. *Hepatology*. 1997 Dec;26:1499-1505.
48. Kalia N, Brown NJ, Wood RF, Hopkinson K, Fairburn B, Pockley AG.Effects of intestinal ischemia-reperfusion injury on rat peripheral blood neutrophil activation. *Dig Dis Sci*. 2003 Sep;48:1677-1684.
49. Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion. *J Surg Res*. 1996;66:143-146.
50. Sorkine P, Szold O, Halpern P, Gutman M, Greemland M, Rudick V, Goldman G.Gut decontamination reduces bowel ischemia-induced lung injury in rats. *Chest*. 1997;112:491-495.
51. Köksoy C, Kuzu MA, Kuzu I, Ergün H, Gürhan I.Role of tumour necrosis factor in lung injury caused by intestinal ischaemia-reperfusion. *Br J Surg*. 2001;88:464-468.
52. Turnage RH, Guice KS, Oldham KT.The effects of hypovolemia on multiple organ injury following intestinal reperfusion.*Shock*. 1994;1:408-412.

53. Wanner GA, Ertel W, Muller P. Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation. *Shock*. 1996;5: 34–40.
54. Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M. Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin–1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Transplantation*. 1997;64:1398–1403.
55. Lichtman SN, Lemasters JJ. Role of cytokines and cytokine-producing cells in reperfusion injury to the liver. *Seminars Liver Disease*. 1999; 19: 171–187.
56. Pober JS. Cytokine-mediated activation of vascular endothelium: physiology and pathology. *American Journal of Pathology*. 1998;133:426–433.
57. Smith CW, Jaeschke H. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Journal of Leukocyte Biology* .1995; 57:368–374.
58. Schwartz S, Shires T, Spencer FC, Daly MJ, Fischer JE, Galloway AC. *Principles of Surgery Seventh Edition* McGraw-Hill, A Division of the McGraw.Hill Companies Bölüm 28;1417-1455.
59. Adams DH, Eksteen B. Aberrant homing of mucosal T cells and extra-intestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2006;6:244-251.
60. Wu R, Zhou M, Wang P. Adrenomedullin and adrenomedullin binding protein–1 downregulate TNF- α in macrophage cell line and rat Kupffer cells. *Regulatory Peptides* 2003;112:19–26.
61. Marklund SL. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. *Biochem J*. 1984. May 15;220:269-272.
62. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.

63. Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gautero H, Dhermy D, Boivin P. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res.* 1984. Sep;44:4137-4139.
64. Takahashi K, Cohen HJ. Selenium-dependent glutathione peroxidase protein and activity: immunological investigations on cellular and plasma enzymes. *Blood*, 1986;68:640-645.
65. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994, Sep 10;344:721-724.
66. Bast A, Haenen GRMM, Cees JAD. Oxidants and antioxidants: State of the art. *The American Journal of Medicine* 1997;91:2-13.
67. Taçyıldız İ, Aldemir M, Girgin S, Büyükbayram H, Baç B. Karaciğerde İ/R hasarının önlenmesinde Topikal hipotermi, Metilprednizolon ve BN 52021 uygulamasının etkibliği. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2002;18: 70-76.
68. Eidelman Y, Glat PM, Cabrera R, Rosenberg C. The effects of topical hypothermia and steroids on ATP levels in an in vivo liver ischemia model. *J. Trauma* 1994; 37:677-681.
69. Usami M, Furuchi K, Shiroiwa H, Saitoh Y. Effect of repeated portal-triad cross-clamping during partial hepatectomy on hepatic regeneration in normal and cirrhotic rats. *J Surg Res* 1994; 57:541-543.
70. Ezaki T, Seo Y, Tomoda M, Furusawa M, Kanamatsu T, Sugimachi K. Partial hepatic resection under intermittent hepatic in flow occlusion in patients with chronic liver disease. *Br. J. Surg* 1992; 79:224-226.
71. Emre S, Schwartz ME, Katz E, Miller CM. Liver resection under total vascular isolation. *Ann Surg* 1993; 217:15-19.
72. Mochida ST, Ogata K, Hirata Y, Yamada K. Provocation of massive hepatic necrosis by endotoxins after partial hepatectomy in rats. *Gastroenterology* 1990; 99:771-777.

73. Ü.Topaloğlu, M.Odabaşı, M.Güran, A.Özcan, İ.Onaran, N.Karadağ, Ö.Peker,S.Ünalmişer. Karaciğer Rezeksiyonu Esnasında Sürekli İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Prostaglandin E2'nin Rolü. Ulusal Travma Dergisi 1999; 5(2):67-73.
74. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoot K, Xin W.Free radical mechanisms in relation to tissue injury. Proc Nutr Soc. 1987;46:1-12.
75. Carden D. L., Granger D. N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. J. Pathology 2000;190:255-266.
76. Holger K.Eltzschig, Charles D.Collard. Vascular ischaemia and reperfusion injury. British Medical B. 2004;70:71-86.
77. Eduardo E. Montalvo-Jave, Tomas Escalante-Tattersfield, Jose A. Ortega-Salgado, Enrique Piña, David A. Geller Factors in the pathophysiology of the liver ischemia reperfusion injury J Surg Res. 2008 June 1; 147(1):153–159.
78. Henderson JM. Liver transplantation and rejection: an overview. Hepato-Gastroenterol 1999;46:1482-1484.
79. Welbourn CB, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury. Critical role of the neutrophil. Br J Surg 1991; 78:651-655.
80. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation. 1986;74(5):1124-1136.
81. Cutin JC, Perrelli MG, Cavalieri B, Peralta C, Rosell Catafau J, Poli G. Microvascular dysfunction induced by reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. Free Radic Biol Med. 2002;33:1200-1208.
82. Gao C, Chai W, Xu L, Zhang G ve ark. Protective Effects of Hyperoxygenated Solution Preconditioning on Intestinal Ischemia Reperfusion Injury in Rabbits J Surg Res 2006;135(2):268–274.

83. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard Cd, Dewar M, Elefteriadis J, Hines R, Kopf G, Kraker P, Li L, O'Hara R, Rinder C, Rinder H, Shaw R, Smith B, Stahl G, Sherman SK. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999;100:2499-2506.
84. Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol Rev* 2002;54(2):271-284.
85. Figgitt D.P., Gillies P.S., Goa K.L. Levosimendan. *Drugs* 2001; 61(5):613-627.
86. P.S. Pagel, H.Haikala, P.J. Pentikainen et al. Pharmacology of Levosimendan: A New Myofilament Calcium Sensitizer. *Cardiovascular Drug Reviews* 1996;14(3):286-316.
87. Antoniadis C., Tousoulis D., Koumallos N., Marinou K., Stefanadis C.. Levosimendan: Beyond its Simple Inotropic Effect in Heart Failure. *Pharmacology & Therapeutics* 2007;114:184-197.
88. Kivikko M., Lehtonen L., Collucci W.S. Sustained Hemodynamic Effects of Intravenous Levosimendan. *Circulation* 2003; 107:81-88.
89. Oguzhan Yildiz. Vasodilating Mechanisms of Levosimendan: Involvement of K⁺ Channels. *Journal of Pharmacological Sciences* 2007;104: 1–5.
90. Pollesello P., Papp Z. The Cardioprotective Effects of Levosimendan: Preclinical and Clinical Evidence. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 257–263.
91. Kamath S.R., Jaykumar I., Matha S. Levosimendan. *Indian Pediatrics* 2009 ; 46(17):593-596.

92. Noto A, Giacomini M, Palandi A, Stabile L, Reali Forster C, Iapichano G, et al. Levosimendan in septic cardiac failure. *Intensive Care Med* 2005;31:164-165.
93. Lehninger AL., Nelson DL., Cox MM., Amino acids are required for the biosynthesis of creatine and glutathione, *Principles of Biochemistry* 1999;712.
94. Ziment I. Acetylcysteine: a drug that is much more than a mucokinetic. *Biomed Pharmacother* 1988;42(8):513-519.
95. Moldeus P, Cotgreave IA, Berggren M. Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration* 1986;50 Suppl 1:31-42.
96. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid *Free Radic Biol Med* 1989;6(6):593-597.
97. De Flora S, Grassi C, Carati L. Attenuation of influenza-like symptomatology and improvement of cell-mediated immunity with long-term N-acetylcystein treatment. *Eur Respir J* 1997;10(7):1535-1541.
98. Holdiness MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcystein. *Clin Pharmacokinet* 1991;20(2):123-134.
99. Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest* 1998; 113(6):1616-1624.
100. Vale JA, Proudfoot AT, Paracetamol (acetaminophen) poisoning. *Lancet* 1995;346(8974):547-552.
101. Walsh TS, Lee A. N-acetylcysteine administration in the critically ill. *Intensive Care Med* 1999;25(5):432-434.
102. van Zandwijk N, N-acetylcysteine for lung cancer prevention. *Chest* 1995; 107(5):1437-1441.

103. Katircioğlu F, Seren M, Parlar AI, Turan NN ve ark. Levosimendan effect on spinal cord ischemia-reperfusion injury following aortic clamping. *J Card Surg* 2008;23:44-48.
104. Suzuki S, Toledo-Pereyra LH, Rodriguez FJ, Cejalvo D. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine. *Transplantation*, 1993 ; 55:1265-1272.
105. Küçük C.; Akcan A., Akyıldız H., Akgün H., Muhtaroğlu S., Sözüer E. Effects of Amrinone in an Experimental Model of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury *The Journal of surgical research* 2009;151(1):74-79
106. Cheng-You Wang, Yong Ni, Yan Liu, Zhi-Heng Huang, Min-Jie Zhang, Yong-Qiang Zhan, Hai-Bin Gao. Mild hypothermia protects liver against ischemia and reperfusion Injury. *World J Gastroenterol* 2005;11(19): 3005-3007.
107. Paraskevaïdis İ.A., Parissis J.T., Kremastinos D.T. Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Effects of Levosimendan in Decompensated Heart Failure: A Novel Mechanism of Drug-Induced Improvement in Contractile Performance of the Failing Heart. *Curr. Med. Chem. Cardiovascular & Hematological Agents* 2005;3:243-247.
108. Demir S, İnal-Erden M. Pentoxifylline and N-acetylcystein in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clinica Chimica Acta* 1998; 275:127-135.
109. Conesa EI, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Lopez B, Arregui B et al. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;281(3):R730-737.
110. Montero EF, Quireze C Jr, d'Oliveira DM. Bile duct exclusion from selective vascular inflow occlusion in rat liver: role of ischemic preconditioning and N-acetylcystein on hepatic reperfusion injury. *Transplant Proc* 2005; 37(1):425-427.

111. Galhardo MA, Júnior CQ, Riboli Navarro PG, Liver and lung late alterations following hepatic reperfusion associated to ischemic preconditioning or N-acetylcysteine. *Microsurgery*. 2007;27(4):295-9.
112. E.Uz, H. R. Yılmaz, M. Iraz, Ersin Fadiloğlu, H. Özyurt, S. Söğüt, Ö. Akyol. Effects Of Vitamin E And Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) On Methabolic Enzymes Of Rats With Experimental Liver Ischemia-Reperfusion Injury. *Ege Tıp Dergisi* 2002; 41(2):77-82.
113. Yabe Y., Kobayashi N., Nishihashi T., Takahashi R., Nishikawa M., Takakura Y., Hashida M.: Prevention of neutrofil-mediated hepatic ischemia-reperfusion injury by Superoxide dismutase and Catalase derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001;298:894-899.
114. Byrka-Owczarek K, Steplewska-Mazur K, Krason M, Bohosiewicz J, Koszutski T, Wojtynek G. The evaluation of the protective action of antioxidants on small intestine of rabbits experimentally injured by ischemia and reperfusion. *J Pediatr Surg* 2004; 39(8):1226-1229.
115. Chavez-Cartaya R, Jamieson NV, Ramirez P, Marin J, Pino-Chavez G. Free radical scavengers to prevent reperfusion injury following experimental warm liver ischemia. Is there a real physiological benefit? *Transpl Int* 1999;12:213-221.
116. Mojžiš J, Hegedúšová R, Mirossay L. Role of mucus in ischemia/reperfusion-induced gastric mucosal injury in rats. *Physiol Res* 2000; 49(4):441-446.
117. Ayganim A. Deneysel hepatik iskemi reperfüzyon modelinde levosimendan infüzyonunun karaciğere etkilerinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD Uzmanlık Tezi 2010.
118. Semenzato G.: Tumour necrosis factor a cytokine with multiple biological activities. *Br. J. Cancer*, 1990;61:354-361.
119. Zhou L. S., Shi J. S., Wang Z. R., Wang L.: Tumor necrosis factor- α in gallbladder and gallstone. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*, 2000; 8: 426-428.

120. De Waal Malefeyt R., Abrams J., Bennett B.: Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulation role of IL-10 produced by monocytes. *J. Exp. Med.* 1991;174:1309-1220.
121. Livingston D. H., Mosenthal A. C., Deitch E. A.: Sepsis and multiple organ dysfunction syndrome: a clinical-mechanistic overview. *New Horizons.* 1995;3:276-287.
122. De Maio A., de Mooney M.L., Matesic L. E., et al.: Genetic component in the inflammatory response induced by bacterial lipopolysaccharide. *Shock.* 1998;10:319-323.
123. Pruitt J. H., Copeland E. M., Moldawer L. L.: Interleukin-1 and Interleukin-1 antagonism in sepsis systemic inflammatory response syndrome and septic shock. *Shock.* 1995; 3:235-251.
124. Williams G., Giroir B.: Regulation of cytokine gene expression: tumor-necrosis factor, interleukin-1, and the emerging biology of cytokine receptors. *New Horizons.* 1995;3:276-287.
125. Tracey K. J. et al.: Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature.* 1987;330:662-664.
126. Hillegass L. M., Griswold D. E., Brickson B., Albrightson-Winslow C.: Assessment of myeloperoxidase in whole rat kidney. *J. Pharmacol. Method* 1990;24:285-295.
127. Neta R, Oppenheim JJ, Gillis S. The in-vivo effects of interleukin-1. I Bone marrow cells are induced to cycle after administration of interleukin-1. *Immunol*;139:1861-1878,1987.
128. Carmen P, Neus P, Carme X, Emilio G, Joan RC. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemiareperfusion in the rat. *Hepatology* 1999;30:1481-1489.
129. Strieter RM, Kunkel SL, Bone RC. Role of tumor necrosis factor- in disease and inflammation. *Crit Care Med* 1993;21:447-463.
130. Özçelik N, Dursun V, Pekmezci S. Mezenter iskemisi reperfüzyon hasarının önlenmesinde Allopurinol, Süperoksit Dismutaz ve Dimetil sülfoksitin etkisi. *Kolon rektum dergisi* 1993;3:10-12.

131. Özkaya O. Ratlarda intestinal iske­mi re­per­füzyon hasa­rı­na levosimendanın etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD Uzmanlık Tezi 2010.
132. Katircioglu S.F, Seren M., Parlar A.İ., Turan N, Manavbasi Y. et al. Levosimendan Effect on Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury Following Aortic Clamping. J. Card. Surg. 2008;23:44-48.
133. Şener G, Tosun O, Şehirli AO. et al. Melatonin and N-acetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. Life Sci. 2003 May 2;72(24):2707-2718.
134. Lee EJ, Silva SM, Simões Mde J, Montero EF. Effect of N-acetylcysteine in liver ischemia-reperfusion injury after 30% hepatectomy in mice. Acta Cir Bras. 2012 Apr;27(4):346-349.
135. Masahiro A., Yoshiharu T., Satoshi I. Comparison of the Protective Effect of N-acetylcysteine by Different Treatments on Rat Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. J Pharmacol Sci. 2008;106:571-577.
136. Süzer Ö., Bozkurt A.K., Süzer A., Aykaç Z., Barlas A. İzole kobay kalplerinde iskemik arrest sonrası levosimendan ve amrinonun inotropik etkilerin karşılaştırılması. GKD Cer Dergisi 1996;1:4-8.
137. Kaptan K., Erinç K., İfran A., Yıldırım V., Uzun M., Beyan C., Isık E. Levosimendan has an inhibitory effect on platelet function. American Journal of Hematology 2008;83:46–49.
138. Cuzzocrea S., Mazzon E., Costantino G., et al., Effects of n-acetylcysteine in a rat model of ischemia and reperfusion injury. Cardiovascular Research 47(2000):537-548.
139. Crockett Elahé T , Galligan James J , Uhal Bruce D, Harkema Jack et al. Protection of early phase hepatic ischemia-reperfusion injury by cholinergic agonists. BMC Clinical Pathology 2006, 6:3:1-13
140. Inglott S.Ferdinand , Virlos T Ioannis , Habib A Nagy, Williamson CN Robin et al. Adenosine preconditioning attenuates hepatic reperfusion injury in the rat by preventing the down-regulation of endothelial nitric oxide synthase BMC Gastroenterology 2002, 2; 22:1-6.

141. Peralta Carmen, Bartrons Ram'On, Serafin Anna, Bl'Azquez Cristina, et al. Adenosine Monophosphate–Activated Protein Kinase Mediates the Protective Effects of Ischemic Preconditioning on Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat. *Hepatology*. 2001, 34 (6):1164-1173.

