



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



**RATLARDA KARACİĞERDE OLUŞTURULAN İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE İNTRAPERİTONEAL YOLLA
VERİLEN ÇİNKO OKSİT VE N-ASETİL SİSTEİNİN ETKİSİ**

GENEL CERRAHİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Kemal Selçuk ŞENGÜN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Murat Süphan ERTÜRK

İSTANBUL – 2023

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

**RATLARDA KARACİĞERDE OLUŞTURULAN İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE İNTRAPERİTONEAL YOLLA
VERİLEN ÇİNKO OKSİT VE N-ASETİL SİSTEİNİN ETKİSİ**

GENEL CERRAHİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Kemal Selçuk ŞENGÜN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Murat Süphan ERTÜRK

İSTANBUL – 2023

ÖNSÖZ

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

Tez çalışmamın hayata geçirilmesi ve sonuçlandırılmasında her aşamada bana rehberlik eden ve her daim destek olan danışman hocam Prof. Dr. Murat Süphan Ertürk'e;

Uzmanlık tezimin deneysel aşamalarında bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren ve emek harcayan Doç. Dr. Karolin Yanar ve Doç. Dr. Nuray Kepil'e,

Deneyin gerçekleştirilmesinde büyük emeği olan çalışma arkadaşlarım Dr. Güneş Oral'a, Dr. Şadiye Akbaş'a ve Dr. Kevser Sak'a;

Yorucu ve stresli geçen asistanlık hayatım boyunca iyi ve kötü günlerimi paylaştığım tüm uzman, asistan ve sağlık çalışanı arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim, daima bana güvenen ve bugünlere gelmemi sağlayan kıymetli annem Münevver Şengün, babam Mehmet Şengün ve kardeşim İrem Şengün'e;

Fakülte hayatımdan itibaren her günümde yanımda olan, desteğini her daim hissettiğim sevgili eşim Özlem Apti Şengün'e teşekkür ederim.

Dr. Kemal Selçuk ŞENGÜN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	i
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	iii
TABLolar LİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi	3
2.2. Sıçan Karaciğerinin Anatomisi	7
2.3. İskemi ve Reperfüzyon	7
2.4. İskemi Reperfüzyon Hasarına Erken Dönem Yanıtı	9
2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarına Geç Dönem Yanıtı	10
2.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	11
2.7. Çinko Oksit Nanopartikülleri	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
3.1. Deney Grupları	14
3.2. Biyokimyasal ve Histolojik Değerlendirme.....	17
3.3. İstatistiksel Analiz	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. Biyokimyasal Parametreler	20
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Veril	35
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ	44
7. KAYNAKLAR	45
8. ÖZGEÇMİŞ	50
9. İNTİHAL RAPORU	51

KISALTMALAR

ALT :	Alanin aminotransferaz
AMP :	Adenozin monofosfat
AST :	Aspartat aminotransferaz
ATP :	Adenozin trifosfat
Ca :	Kalsiyum
CAT :	Katalaz
cm :	Santimetre
DAMP :	Hasar ilişkili moleküler patern
DNA :	Deoksiribonükleik asit
ELISA :	Enzimatik İmmünassay
ER :	Endoplazmik retikulum
GPx :	Glutasyon peroksidaz
GR :	Glutasyon redüktaz
GSH :	Glutasyon
GSSG :	Okside glutasyon
H2O2 :	Hidrojen peroksit
HMGB-1 :	High Mobility Group Box-1
İR :	İskemi/ Reperfüzyon
İRH :	İskemi-reperfüzyon hasarı
ICAM :	İntraselüler adezyon molekülü
IL :	İnterlökin
KD :	Ksantin dehidrogenaz
kg :	Kilogram
KO :	Ksantin oksidaz
l :	Litre
LDH :	Laktat dehidrojenaz

MAX : Maksimum
MDA: Malondialdehit
mg : Miligram
MIN : Minimum
ml : Mililitre
MPO : Miyeloperoksidaz
Na : Sodyum
NAC: N-Asetil sistein
NAD : Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF-κB: Nükleer faktör-kappa B
O₂⁻: Süperoksit anyonu
OH: Hidroksil radikali
ORT : Ortalama
PAMP : Patojen ilişkili moleküler patern
pg : Pikogram
ROOH :Hidroperoksit
Rpm : Dakikadaki devir sayısı
SOD : Süperoksit dismutaz
SOR : Serbest oksijen radikali
SS : Standart sapma
TLRs : Toll like reseptörler
TNF-α : Tümör nekroz faktörü- alfa
TrxR : Tiyoredoksin redüktaz
U. : Ünite
VCAM :Vasküler hücre adezyon molekülü
VKI : Vena kava inferior
Zn : Çinko
ZnO: Çinko oksit
ZnO-NP:Çinko oksit nanoparçacıkları

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Karaciğer segmental anatomi

Şekil 2: Karaciğer lobül modeli

Şekil 3: Karaciğer asinüs modeli

Şekil 4: Deney hayvanında laparotomi gerçekleştirilmesi

Şekil 5: Deney hayvanında hepatik pedikülün klempe edilmesi

Şekil 6: Serum ALT (U/L) düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 7: AST (ng/ml) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 8: LDH (U/L) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 9: TNF- α (pg/ml) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 10: Karaciğer doku SOD (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 11: Serum SOD (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 12: Karaciğer doku GPx (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 13: Serum GPx düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 14: Karaciğer doku Katalaz (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 15: Serum Katalaz (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 16: Suzuki skor puanının gruplara göre dağılımı

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Deney grupları

Tablo 2. Suzuki skorlaması

Tablo 3. Çalışmada tüm deneklerde ölçülen biyokimyasal parametrelerin dağılımı

Tablo 4. Çalışmada deneklerde incelenen serum ALT düzeylerinin dağılımı

Tablo 5. Çalışmada deneklerde incelenen serum AST düzeylerinin dağılımı

Tablo 6. Çalışmadaki deneklerde incelenen serum LDH düzeylerinin dağılımı

Tablo 7. Çalışmada deneklerde incelenen serum TNF- α düzeylerinin dağılımı

Tablo 8. Çalışmadaki deneklerde incelenen Karaciğer doku SOD (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

Tablo 9. Çalışmadaki deneklerde incelenen serum SOD (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı


Tablo 10. Çalışmadaki deneklerde incelenen Karaciğer doku GPx (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

Tablo 11. Çalışmada deneklerde incelenen serum GPx düzeylerinin dağılımı

Tablo 12. Çalışmadaki deneklerde incelenen Karaciğer doku Katalaz (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

Tablo 13. Çalışmadaki deneklerde incelenen serum Katalaz (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

Tablo 14. Gruplar arasında Suzuki parametrelerinin ve skorunun gruplara göre dağılımı

		ON-LINE PLATFORMDA DÜZENLENEN ONAY FORMU	
BASVURU BİLGİLERİ	Proje Başlığı	Ratlarda Karaciğerde Oluşturulan İskemi Reperfüzyon Modelinde, İntraperitoneal Yolla Verilen Çinko Oksit ve N-Asetil Sisteinin Etkisi	
	Proje Türü	Uzmanlık Tezi	
	Proje Yürütücüsünün Ünvanı/Adı – Soyadı	Prof. Dr. Murat Süphan ERTÜRK	
	Tez Öğrencisinin Adı-Soyadı	Uzmanlık Öğrencisi Dr.Kemal Selçuk ŞENGÜN	
KARAR.	Toplantı Tarihi	30.09.2022	
	Karar Numarası	2022/23	
ETİK KURUL ÜYELERİ	ÜNVANI/ADI/SOYADI	KURUMU	KATILIM DURUMU
	Prof. Dr. Pınar ATUKEREN (Başkan)	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katıldı..
	Prof. Dr. Çağatay TEK (Başkan Vekili)	IÜC Veteriner Fakültesi	Katıldı.
	Prof. Dr. Hasret YARDİBİ (Sorumlu Veteriner Hekim)	IÜC Veteriner Fakültesi	Katıldı.
	Prof. Dr. Gülümser DOLGUN	IÜC Sağlık Bilimleri Fakültesi	Katıldı.
	Prof. Dr. Erdiç DURSUN	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katılmadı.
	Prof. Dr. Hakan ARSLAN	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katıldı.
	Doç.Dr. Şenol EMRE	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katıldı.
	Doç. Dr. Halit Eren TAŞKIN	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katıldı.
	Öğr. Gör. Dr. Bilge BATU OTO	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katıldı.
	Dr. Öğr.Üyesi Muhittin ONUR YAMAN (Veteriner Hekim)	IÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	Katıldı.
	Arş. Gör. Şima KILIÇ (Veteriner Hekim)	IÜC Nanoteknoloji ve Biyoteknoloji Enstitüsü	Katıldı.
	Mim. Güzin AYDIN	Sivil Toplum Kuruluşu üyesi TC vatandaşı	Katılmadı.
	Uzm. Dr. Muzaffer Onur ŞERAN (Veteriner Hekim)	Sivil üye	Katıldı.

ÖZET

Ratlarda Karaciğerde Oluşturulan İskemi Reperfüzyon Modelinde İntraperitoneal Yolla Verilen Çinko Oksit ve N-asetil Sisteinin Etkisi

GİRİŞ: İskemi-reperfüzyon hasarı (İRH); hipovolemik şok, karaciğer rezeksiyon cerrahisi ve karaciğer transplantasyonu gibi çeşitli klinik durumlarda gözlenebilmektedir. İRH'ye yol açan inflamatuvar ve iskemik süreç uzadıkça oluşacak sistemik hasar da ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir.

AMAÇ: Deneysel olarak karaciğerde iskemi-reperfüzyon(İR) modeli kullanılarak, birçok molekülün karaciğerdeki İRH'ye etkisi araştırılmıştır. Bu projede sıçanlar üzerinde oluşturulan deneysel karaciğer İR modelinde, N-Asetil Sistein (NAC) ile çinko oksidin (ZnO) iki farklı dozu kullanılarak karşılaştırılmalı olarak karaciğerde İRH'ye olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM VE GEREÇ: Deneyde toplam 25 adet Wistar Albino cinsi 8-10 haftalık dişi sıçan belirtilen şekilde 5 gruba ayrıldı. Denekler, kontrol grubu (grup 1), İR grubu (grup 2), 5 mg/kg ZnO uygulaması + İR grubu (grup 3), 10 mg/kg ZnO uygulaması + İR grubu (grup 4) ve 150 mg/kg NAC uygulaması + İR grubu (grup 5) olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Deney sonunda serumdan laktat dehidrojenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) düzeylerine bakıldı. Karaciğer dokularından SOD, CAT ve GPx aktivite düzeyleri ölçüldü. Karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi.

BULGULAR: Karaciğerde deneysel iskemi reperfüzyon modelinde ZnO nanopartiküllerinin (ZnO-NP) 5 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarında, serum AST, serum GPx ve serum CAT değerinde anlamlı artış görülmüştür. Serum ALT ve LDH

değerinde ise sadece 10 mg/kg grubunda anlamlı artmış saptanmıştır. Suzuki skoru değerlendirildiğinde ise 10 mg/kg ZnO uygulanan grupta karaciğer doku hasar skorunun anlamlı olarak arttığı görülmüştür.

SONUÇLAR: Çalışmamızda ZnO-NP'leri 5 mg/kg dozda uygulandığında serumda karaciğer hasar göstergelerinde artış saptanmıştır. 10 mg/kg dozda ise hem serumda karaciğer hasar göstergesi olan enzimlerin arttığı hem de karaciğer dokusunda histopatolojik hasar gösterilmiştir. Deneysel karaciğer İRH modelinde ZnO-NP'lerinin etkin dozunun saptanabilmesi, ancak daha farklı dozlarda ve yollarla verilerek kapsamlı çalışmaların yapılabilmesi ile mümkün gözükmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Antioksidan, Çinko oksit, İskemi/Reperfüzyon, N-Asetil Sistein, Oksidatif stres

ABSTRACT

The Effect of Intraperitoneal Zinc Oxide and N-acetyl Cysteine in the Experimental Hepatic Ischemia Reperfusion Model in Rats

INTRODUCTION: Ischemia-reperfusion injury (IRI) can be observed in various clinical situations such as hypovolemic shock, liver transplantation and liver resection surgery. As the inflammatory and ischemic processes lead to IRI are prolonged, systemic damage that may occur can also lead to fatal results.

AIM: Using the ischemia-reperfusion (IR) model in the liver, the effect of many molecules on liver IRI was investigated experimentally. In this project, it was aimed to examine the effects of N-Acetyl Cysteine (NAC) and two different doses of zinc oxide (ZnO) on liver IRI using experimental liver IR model on rats.

MATERIAL AND METHODS: 25 female 8-10 weeks old Wistar Albino rats were divided into 5 groups as control group (group 1), IR group (group 2), 5 mg/kg ZnO administration + IR group (group 3), 10 mg/kg ZnO administration + IR group (group 4) and 150 mg/kg NAC administration + IR group (group 5). At the end of the study, serum lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) levels were measured. SOD, CAT and GPx activity levels were also measured from liver tissues. Liver tissues were examined histopathologically.

RESULTS: In the experimental liver ischemia reperfusion model, significant increases were observed in serum AST, serum GPx, and serum CAT values at 5 mg/kg and 10 mg/kg doses of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NP). There was a significant increase in ALT and LDH values only in the 10 mg/kg group. When the Suzuki score was evaluated, it was observed that the liver tissue damage score increased significantly in the group administered 10 mg/kg zinc oxide.

CONCLUSION: In our study, an increase in liver injury parameters was found in serum at a dose of 5 mg/kg of zinc oxide nanoparticles. At a dose of 10 mg/kg, it has been shown that enzymes, which are indicators of liver damage, increased in both serum and in liver tissue. It seems possible to determine the effective dose of ZnO-NP's in experimental liver ischemia reperfusion model only by conducting more comprehensive studies with varying doses and routes.

KEYWORDS: Antioxidant, Zinc oxide, Ischemia/Reperfusion, N-Acetyl Cysteine, Oxidative stres



1. GİRİŞ

İskemi-reperfüzyon hasarı (İRH), bir *iskemi* döneminden sonra kan akışının düzelmesi sırasında ortaya çıkan fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Bu süreçte; geri dönüşümsüz olarak hasar görmüş hücrelerin nekrozu, belirgin hücre ödemi ve yeniden kanlanmanın (reperfüzyon) dokuda düzensiz olarak dağılması sonucu, potansiyel olarak çok zararlı sonuçlar doğurabilecek reperfüzyon hasarı oluşur. Reperfüzyon hasarı; azalmış lokal perfüzyon, yoğun disfonksiyonel değişiklikler, ödem ve daha pek çok etkinin eşlik ettiği vasküler, endotelial ve mitokondriyal disfonksiyona bağlı kısır döngünün sonucudur. İskemi veya doku hipoksisi sırasında metabolik bozuklukların meydana geldiği, günümüzde iyi bilinmektedir; ancak klinik ve deneysel kanıtlar, hücre ve doku işlev bozukluklarına yol açan önemli olayların daha çok iskemiye takiben oluşan reperfüzyonla ilişkili olduğunu göstermektedir.¹

Reperfüzyon sonrası iskemik dokulara tekrar oksijen girmesiyle birlikte dokularda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşur. Oluşan SOR'lar vasküler, immunolojik ve metabolik olayları aktive edip reperfüzyon hasarına yol açmaktadır. İnsan vücudunda normalde metabolik aktivite sonucu sürekli olarak SOR molekülleri oluşmakta ve bu moleküllerin zararlı etkilerinin ortaya çıkmasını engellemek üzere dengeleyici kompleks süreçler devreye girmektedir. Oluşan bu *oksidan dengenin*, SOR lehine bozulması sonucu *oksidatif stres* oluşur. Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPx) ve tiyoredoksin redüktaz (TrxR) gibi enzimatik antioksidanların yanı sıra, bazı mineraller (çinko, selenyum), vitaminler (Vitamin A, C, E), β -karoten, bilirubin, ürik asit, melatonin, glutatyon, flavanoidler, terpenler gibi molekülleri içeren non-enzimatik antioksidanlar oksidatif stresi engellemeye yönelik ajanlardır.^{2,3}

Günümüzde birçok klinik durumda İRH oluşabilmekte ve bu hasarın önlenmesi için birçok farmakolojik ajan ve cerrahi teknik kullanılmaktadır.^{1,4} Mezenter iskemi, iskemik serebrovasküler olay, miyokard enfarktüsü gibi damar tıkanıklığı durumlarında trombolitik ajanlar kullanılarak; yanık, şok gibi hipovolemiye yol açan klinik durumlarda ise sıvı resusitasyonu ile sağlanan reperfüzyon sonrası dokularda İRH oluşmaktadır. Ayrıca elektif ve acil operasyonlarda planlı olarak yapılan vasküler klampajların açılması sonrasında da İRH oluşabilmektedir.

Karaciğerde oluşan İRH erken ve geç evre yanıt olmak üzere iki aşamada incelenmektedir. Bu süreçte Kupferr hücreleri, dendritik hücreler, CD4 T lenfositler gibi hücreler, bazı sitokinler (IL-1, IL-6, ICAM-1, VCAM-1, TNF- α) ve adezyon molekülleri rol oynamaktadır.⁵

Bazı çalışmalarda, farklı dokularda ZnO-NP'lerin sitoprotektif ve antioksidan etkileri gösterilmiş olsa da bildiğimiz kadarıyla hiçbir çalışmada ZnO-NP'lerin hepatik İRH'ye etkisi incelenmemiştir. Çalışmamızda; sıçanlarda oluşturulan deneysel hepatik İR modelinde ZnO-NP'nin iki farklı dozunun ve antioksidan etkisi bilinen⁶ NAC molekülünün intraperitoneal yolla uygulanması sonrası alınan doku ve kan örnekleri biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilmiş; ZnO-NP'nin İRH'yi engelleme potansiyelinin NAC molekülü ile karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

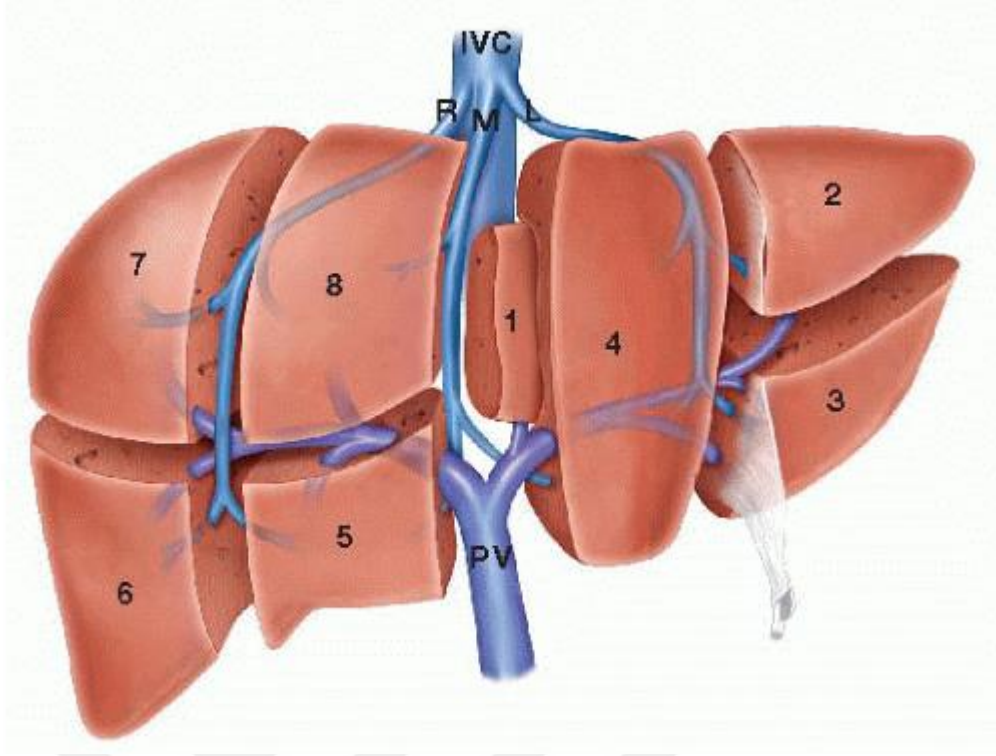
2.1. Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi

Karaciğer; batın sağ üst kadranı büyük oranda dolduran gastrointestinal sisteme ait bir solid organdır. Yaklaşık 1,2-1,6 kg ağırlığa sahiptir. Karaciğerin alt kenarı sağ kosta marjinle çakışır. Üst yüzeyi diyaframla örtülüdür, arka yüzeyinden ise vena cava inferior geçmektedir. Sol lobu abdomenin soluna doğru uzanmaktadır.

Yetişkin karaciğeri, çok sayıda hücre tipinden oluşan karmaşık bir yapıdadır. Hepatositler, kolanjiyositler, nöroendokrin hücreler, oval hücreler olarak da bilinen hepatik progenitör hücreler, miyofibroblastik mezenkimal hücreler (hepatik stellat hücreler ve portal miyofibroblastlar), yerleşik makrofajlar (Kupffer hücreleri) ve vasküler endotel hücreleri bu organda bulunan hücre çeşitleridir.⁷

Karaciğerin antero-superior, posterior ve inferior (organlara temas ettiği yüzey) olmak üzere üç yüzeyi mevcuttur. Karaciğerin antero-superior yüzeyi; yukarıda diyafragmatik kubbe, perikard, plevra ve akciğerin alt yüzeyleri ile ilişkiliyken, önde ise sağ 5. kosta ve 10. kosta ile ilişkilidir. Karaciğerin posterior yüzeyi; diyaframın vertikal kısmı, Vena Cava inferior (VKİ), sağ adrenal bez, sağ böbreğin üst polü ve T10-11. omurların gövdeleriyle bitişiktir. Karaciğerin inferior yüzeyi distal yemek borusu, mide, duodenumun birinci ve ikinci kısımları, pankreas başı ve boynu, ortak safra kanalının proksimal kısmı, portal ven, arteria hepatica propria, safra kesesi, sağ kolon fleksurası, sağ böbrek, VKİ ve kısmen sağ adrenal bez ile bitişiktir.⁸

Günümüzde karaciğerin işlevsel olarak loblara ve segmentlere bölünmesinde en çok kabul edilmiş model Couinaud tarafından önerilen modeldir. Couinaud; karaciğeri hepatik ve portal venlerin dağılımına göre sektör ve segmentlere ayırmıştır. (Şekil 1)



Şekil 1: Karaciğerin segmental anatomisi ⁹

Hepatik venleri içeren üç portal fissür ile karaciğer; sol paramedian, sol lateral, sağ paramedian ve sağ lateral sektörlere ayrılmıştır. Hepatik fissürler ile bu sektörler sekiz segmente ayrılmıştır. Segment 2 sol lateral sektör, segment 3 ve 4 sol paramedian sektör , segment 6 ve 7 sağ lateral sektör, segment 5 ve 8 sağ paramedian sektörü oluşturacak şekilde saat yönünde yönünde sıralanır. Kaudat lob segment 1'i oluşturmaktadır.^{8,10,11}

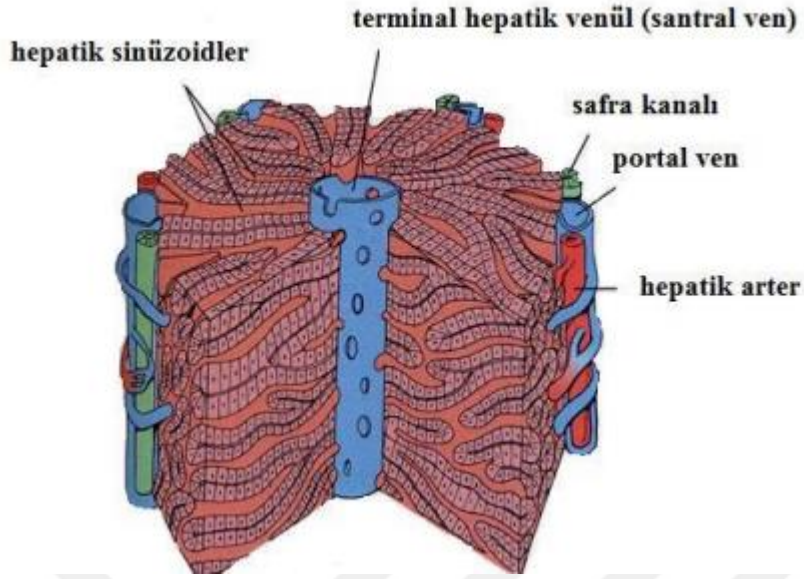
Karaciğere giren kanın yaklaşık %75'i portal sistemden gelmektedir. Kalan kanlanma hepatic arter ile gerçekleşir. Portal ven; postkapiller olmasına ve büyük ölçüde oksijeni tüketilmiş olmasına rağmen, sahip olduğu yüksek debi nedeniyle karaciğerin oksijen ihtiyacının %50 ila %70'ini sağlar.⁷

Ana portal ven; superior mezenterik ven ve inferior mezenterik venin drene olduğu splenic venin pankreas boyununun arkasında birleşmesi ile oluşur. Yaklaşık 5,5 ile 8 cm arası uzunluğa ve 1 cm çapa sahiptir. Karaciğer hilusunda sağ ve sol portal vene ayrılır. Sol portal ven segment 4 altında transvers olarak seyrederek, umbilikal fissüre

girdikten sonra segment 2,3 ve segment 4'e geri dönen dallarını verir. Ayrıca kaudat lobun sol tarafını besleyen arka dallara sahiptir. Sağ portal ven; kısa bir kısmı ekstrahepatik seyre sahiptir ve genellikle anterior ve posterior sektörel dallarını intrahepatik alanda verir. Sektörel dallar bazen ekstrahepatik alanda oluşabilir hatta nadiren ana portal venden ayrıldığı görülmektedir. ⁷

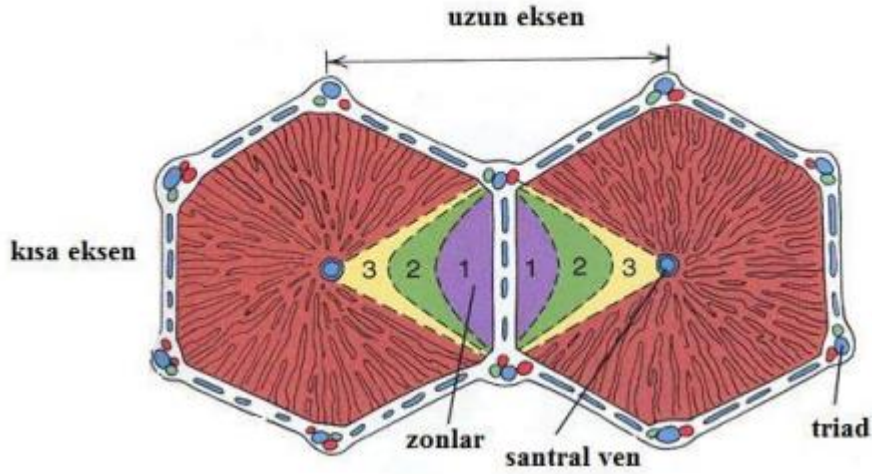
Hepatik arterin getirdiği kan yüksek oksijen oranına sahiptir. Karaciğer kan akımının yaklaşık %25ine sahip olmasına rağmen oksijenlenmenin yaklaşık %30 ile 50 arasında kısmı hepatic arterden sağlanır. Ortak hepatic arter, trunkus çöliakustan köken alır ve pankreasın üst sınırı boyunca sağa doğru seyreder ve omentum minusun sağından hepatic hiluma doğru seyreder. Hepatic hilum seviyesinde, portal venin önünde ve ana safra kanalının solunda yer alır. Ortak hepatic arter, önce gastroduodenal arter dalını verir ve sonrasında hepatica propria adını alarak sağ hepatic arter ve sol hepatic arter olarak ayrılır. Karaciğerin en sık gözlenen arteriyal dallanma modeli bu şekildedir ancak çok sayıda varyasyon mevcut olduğundan yetişkinlerin ancak %60'ında anatomi bu şekildedir. ⁷

Hepatic parenkimin mikroskopik fonksiyonel birimler halinde incelenmesinde lobül ve asinus modelleri tercih edilmektedir. Lobül modelinde; merkezde bir terminal hepatic venül bulunur. Çevresinde dört ila altı adet terminal portal triad mevcuttur ve bir çokgenin köşelerinde portal triadlar, merkezinde terminal hepatic venül bulunacak şekilde konumlanmışlardır (Şekil 2). Bu yapının merkezindeki terminal hepatic venül ve çevresini oluşturan portal triad arasında hepatositler konumlanır. Hepatositler içi kan dolu endotelle çevrili sinuzoidlerle çevrilidir. Hepatositlerle sinüzoidal endotel hücreleri arasında merkezden periferine doğru uzanan bir aralık bulunur. Bu Disse aralığıdır. Disse aralığı kan akımı ile hepatositler arasında kan alışverişinin gerçekleşmesinde bir bariyer olarak görev alır. A vitamini ve yağ depolayan İto hücreleri (hepatik satellit hücreler) ve özelleşmiş makrofajlar olan Kupffer hücrelerinin uzantıları bu aralıkta bulunur.



Şekil 2. Karaciğer lobül modeli¹²

Hepatik arter ve portal venin terminal dalları kaynaklı kanlanmaya göre olan modelleme ise asinüs modelidir. Asinüs modeli iki eksenden oluşur. Kısa eksen iki hepatik lobülün sınırı boyunca uzanmaktadır. Uzun eksen ise bu iki lobülün merkezinde bulunan santral hepatik venüller arasında oluşturulan hayali hattır. Bu modelde hepatositler hepatik arter ve portal venüle olan uzaklığına göre 3 bölgeye ayrılırlar. Bu bölgeler zon-1, zon-2 ve zon-3 olarak adlandırılır. Zon-1 kanın ilk uğradığı bölgedir. Bu nedenle beslenme ve oksijenasyonun en fazla olduğu bölgedir. Aynı zamanda toksik maddelerden en fazla etkilenen bölgedir. Glikojen ve plazma proteinleri en çok bu bölgede sentezlenir. Periportal zon olarak da bilinir. Santral zon olarak da bilinen zon-3, santral ven çevresindeki hepatositlerden oluşur. Oksijenin en az bulunduğu bölge olması nedeniyle iskemik nekroza ve metabolizma değişikliklerinde yağ birikimine en yatkın zon olarak bilinir. İlaç ve alkol detoksifikasyonunun çoğu bu bölgede gerçekleşir. Zon-2 ise bu ikisinin arasında kalan hepatositlerin oluşturduğu ara bölgedir.⁷(Şekil 3)



Şekil 3. Karaciğer asinüs modeli ¹²

2.2. Sıçan Karaciğerinin Anatomisi

İnsan karaciğerinin aksine sıçan karaciğerinde 4 lob mevcuttur. Bu loblar portal ve hepatik venlere göre ayrılmaktadırlar. Sıçanlarda safra kesesi ve sistik kanal yoktur. Hepatik arter, portal ven ve ortak hepatik safra kanalı hepatoduodenal ligaman içinde bulunur.¹³

2.3. İskemi ve Reperfüzyon

Organizmamızdaki hücreler; çevreden gelen zararlı ajanlara ve değişikliklere, gelişen olumsuz stres koşullarına karşı birçok farklı mekanizma ile yanıt verir ve homeostazis olarak adlandırılan kararlı yapılarını korumaya çalışırlar. Hücrelerde hasara neden olan bazı nedenler; enfeksiyöz ajanlar, iskemi ve hipoksi durumu, immünojenik ajanlar, genetik anomaliler, yaşlanma ve toksinlerdir. Hücrelerin bu etkenlere karşı vereceği cevabın şekli ve büyüklüğü, hasarlanan hücrenin uyum kapasitesi ve genetik özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir.

İskemi, klinikte en sık rastlanılan hasar oluşum mekanizmasıdır. Kavramsal olarak iskemi; dokunun kanlanmasının çeşitli nedenlerle tam veya kısmi olarak kesilmesi

nedeniyle hücre, doku ve organların gerekli olan oksijen ve besin ihtiyacını yeterince karşılayamaması ve beraberinde hücrede oluşan atık maddelerin hücreden uzaklaştırılmamasıdır.¹⁴

Plazma membranında bulunan ATP bağımlı Na⁺/K⁺ ATPaz pompası aktivitesi iskemi durumunda hücredeki oksijen ihtiyacının karşılanamaması nedeniyle azalır ve hücreye su ve sodyum girer. Su ve sodyum girişi hücrede şişme ve endoplazmik retikulumda (ER) dilatasyonla sonuçlanır. Bu hücrel iskeminin en erken belirtisidir. Oksijen yetersizliği nedeniyle hücreler anaerobik glikolize yönelirler. Bu yolağın son ürünü olarak hücrede oluşan laktik asit ve inorganik fosfat birikimi ile hücrenin pH değeri düşer, birçok hücre içi enzim görevini yerine getiremez hale gelir. ER'dan ribozomlar ayrılır ve protein sentezi azalır. Ayrıca kalsiyum kanallarının ATP bağımlı Ca⁺⁺ ATPaz pompası aktivitesi de azalır. Hücre içinde kalsiyum artar. Artan kalsiyum; fosfolipazları, proteazları ve endolipazları aktive ederek hücrel hasara neden olur. Hücre içinde sodyum, hidrojen ve kalsiyum artar, potasyum azalır, hücrenin geçirgenliği artar ve buna bağlı olarak hücre ve organeller şişmeye başlar. Süreç bu aşamaya kadar geri dönüşümlüdür.¹⁵

Anaerobik metabolizmanın artışı, mitokondri ve diğer organellerdeki hasar, salınan SOR, sitokinler, kemokinler, vazoaktif ajanlar ve lökosit birikimi, mevcut hasarı derinleştirir. Plazma membranında gelişen ileri derecede hasar, mitokondrinin şiddetli vakuolizasyonu ve lizozomal şişme artık hasarın geri dönüşümsüz olduğunun göstergesidir.¹⁴

İskemi durumunda hücrenin enerji ihtiyacı devam eder. Bu nedenle ATP; adenosin ve AMP'ye parçalanmaya devam eder. Oluşan adenosin hücre dışında hipoksantin ve inozine hidrolize olur. Normal bir dokuda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz (KD) enzimi ile ksantine okside edilir. İskemik bir dokuda ise KD enzimi ksantin oksidaz (KO) enzimine dönüştürülür. KD substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) kullanırken, KO moleküler oksijeni kullanır. KO aktivitesi sonucu SOR oluşur. Sonuç olarak iskemi durumunda artan KO aktivitesi sonucu SOR oluşur.^{14,16}

Reperfüzyon durumunda hücrenin tekrar kanlanması ile birlikte dokuya yeniden oksijen sunulmaya başlar. Bu nedenle pH değeri yükselir ve buna bağlı olarak bazı proteaz ve fosfolipazlar aktive olur. Bu, hücredeki mevcut hasarın artmasına ve hatta hücre ölümüne neden olan *pH paradoksu* denen durumu oluşturur. Ayrıca KO; dokuda

iskemi sürecinde artmış olarak bulunan hipoksantini ürik aside çevirirken artmış moleküler oksijeni kullanır ve bol miktarda SOR oluşumuna sebep olur. Oluşan SOR çeşitli mekanizmalarla membran hasarına, hatalı protein katlanmalarına ve hücre ölümüne sebep olur.¹⁴

Karaciğerde İRH iki ana kategoride incelenebilir. Karaciğer nakil cerrahisi, travma ve hipovolemik şok gibi durumlarda reperfüzyon sonrası oluşan hasar sıcak İRH olarak incelenirken, nakil cerrahisinde organ çıkarıldıktan sonra başlayan ve nakil tamamlandıktan sonra reperfüzyon ile sonlanan süreçte gelişen hasar soğuk İRH olarak incelenir. Sıcak İRH; erken ve geç yanıt dönemi olarak iki aşamalı incelenmektedir.^{17,18}

2.4.İskemi Reperfüzyon Hasarına Erken Dönem Yanıtı

Reperfüzyon sonrası oluşan hücrel proteinler, bir dizi küçük proteinden oluşan immun sistemin önemli bir parçası olan kompleman kaskadını aktive eder. Aktive olan kompleman kaskadı Kupffer hücrelerini uyarır.¹⁹ Bu uyarı sonrası Kupffer hücreleri süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi SOR'un salınımına sebep olur. Bunun sonucunda oksidatif stres artar ve parenkimal ve vasküler hasarlar oluşur.¹⁷

Toll-like reseptörler (TLRs), karaciğerin parenkimal hücrelerinde, Kupffer ve dendritik hücrelerde İRH sonrası erken dönem yanıtta önemli rol oynamaktadır. Bu reseptörler hasar ilişkili moleküler patern (DAMP) ve patojen ilişkili moleküler patern (PAMP) ile aktive olurlar. İRH'de artan oksidatif stres sonucu high mobility group box 1 (HMGB1) isimli DAMP salınmakta ve bu protein TLR4 reseptörüne ligand olmaktadır. Bu ilişki sonrası Kupffer hücrelerinde, dendritik hücrelerde ve diğer nonparenkimal hücrelerde TNF- α , IL-6 ve ICAM-1 gibi inflamatuvar moleküller salınırken, hepatositlerden HMGB1 salınımı gerçekleşir.²⁰

İskemi sonrasında karaciğer dokusuna ulaşan CD4 T lenfositler; fibroblastlar, endotel hücreler ve epitelyal hücrelerden IL-17 salınmasını sağlayarak iskemik dokuya nötrofil migrasyonunda görev alırlar. Ayrıca endotel aktivasyonuna yol açarak platelet yapışmasına neden olurlar. CD4 T lenfositler bu şekilde iskemi sonrası mikrovasküler hasarı artırır ve hücre ölümüne sebep olurlar.^{21,22}

Bazı proinflatuar sitokinler erken yanıtta görev alırlar. İRH sürecinde salınan HMGB1 adlı proteinin TLR4 reseptörlerine ligand olmasıyla beraber Kupffer hücrelerinden ve nonparenkimal hücrelerden TNF- α salınır. Böylece Kupffer hücrelerinden ve hepatositlerden nötrofil kemoatraktanlarının salınmasına ve endoteldeki bazı adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, P-Selektin) artırılmasına sebep olur.^{23,24} Kupffer hücrelerinden ve hepatic stellate hücrelerden salınan IL-23 ve IL-12 de, interferon- γ (IFN- γ) ve TNF- α salınımına sebep olarak İRH'de erken dönem yanıtta rol almaktadır.^{25,26} IL-1 β da enflamatuar yanıtta görev alır.²⁷

Nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) karaciğer hücreleri de dahil olarak birçok hücrede inflammatuar genlerin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörüdür. Reperfüzyon sonrasında oluşan DAMP'lar TLR tarafından algılanır ve nükleer faktör-kappa B yolağının aktive edilmesini sağlar. Bu yolağın aktive olmasıyla proinflatuar sitokinler, kemokinler ve adezyon moleküllerinin ekspresyonu artar ve daha fazla nötrofil aktivasyonu gerçekleşir.^{19,28}

2.5.İskemi Reperfüzyon Hasarına Geç Dönem Yanıtı

İRH'nin geç fazı, postiskemik karaciğere nötrofil alımı ve bunların oksidanlar ve proteazlar yoluyla hepatositlere verdiği hasar ile karakterize edilir.¹⁹

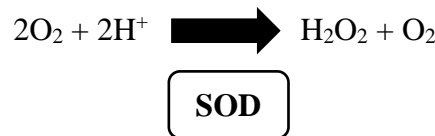
Kemokinler, çeşitli hücre tipleri tarafından salgılanan küçük yapı, heparin bağlayıcı bir grup protein ailesidir. Geç fazda nötrofillerin karaciğer parenkimine geçişinde ve nötrofil adezyonunda, endotelin ve nötrofillerin yüzeyinde eksprese olan adeziv moleküller rol oynamaktadır. Nötrofil yüzeyinde eksprese olan L-Selektin endotel üzerindeki ilgili ligandına bağlanırken, damar endotelinde eksprese olan P-Selektin nötrofil yüzeyinde ilgili ligandına bağlanır. Ayrıca nötrofil üzerindeki integrinler ile endotelde eksprese olan VCAM-1, ICAM-1, adezyon moleküllerinin işbirliğiyle nötrofiller endotel tarafından yakalanır ve parenkime migrasyonu sağlanır.^{29,30} Nötrofillerin üzerindeki integrinlerle hepatosit yüzeylerindeki ICAM-1 moleküllerinin etkileşimi sonucu nötrofillerde NADPH oksidaz enzimi aktive olur. Bu enzimin

aktivitesi ile NADPH molekülü okside edilir ve moleküler oksijenden süperoksit anyonu (O_2^-) oluşur. Oluşturulan süperoksit anyonu, süperoksit dismutaz (SOD) tarafından H_2O_2 'e çevrilir. Hidrojen peroksit çevre dokulara difüze olabilen güçlü bir radikal oksijen türevidir. Hidroksil radikaline (OH^-) indirgenebilir veya miyeloperoksidaz (MPO) ile diğer bir radikal oksijen türevi olan hipokloröz aside (HOCl) çevrilebilir. Ayrıca nötrofillerden salınan hidrolitik enzimler ve proteazlarla hücre içinde kalsiyum birikimi ve mitokondriyal hasar oluşturulur ve hücre ölümü gerçekleşebilir.¹⁹

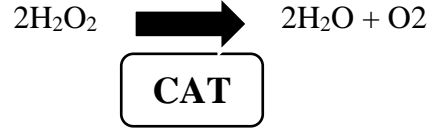
2.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Vücutta metabolizma sonucu sürekli olarak serbest oksijen radikali oluşmaktadır. Eş zamanlı olarak SOR'un zararlı etkilerine karşı koymaya yönelik nötralizan basamaklardan oluşan karmaşık süreçler mevcuttur. Oluşan dengeli durumun (oksidan denge) serbest oksijen radikalleri lehine bozulması oksidatif stresi oluşturur.¹⁴ Oksidatif stresi önlemeye yönelik bu moleküller, antioksidan ajanlardır. Enzimatik ve non-enzimatik olarak iki grupta ele alınırlar.²

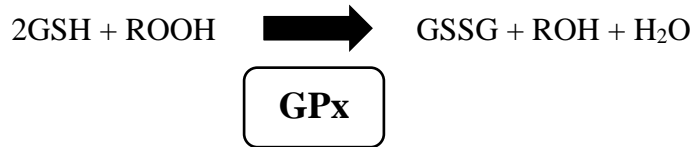
Enzimatik antioksidanlar (CAT, GPx, GR, TrxR, SOD) oksidatif stres durumunda en güçlü savunma mekanizmalarıdır. SOD; bir radikal oksijen olan süperoksit molekülünü, moleküler oksijen ve H_2O_2 'e dönüştüren bir metalloprotein yapılı enzimdir. Aerobik solunum yapan tüm organizmalarda bulunur. Bulunduğu organizma ve organelere göre kullandığı kofaktör değişmektedir. Ökaryotlarda sitoplazma ve hücre dışında bulunan SOD kofaktör olarak bakır (Cu) ve çinko (Zn) kullanırken, mitokondride bulunan SOD kofaktör olarak mangan (Mn) kullanılmaktadır.³¹ Bu enzimin aktivitesi radikal oksijen moleküllerine karşı savunmanın ilk adımını oluşturmaktadır.³² Enzimin aktivitesi kaybolursa organizmada protein dekarboksilasyonu, DNA kırılması ve membran lipid peroksidasyonu gibi oksidatif stresin sonuçları şiddetlenir.³³



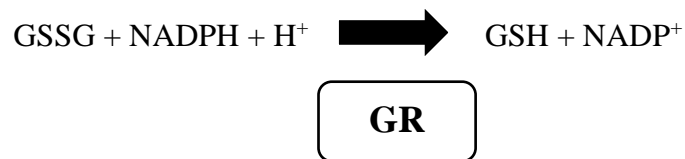
CAT, hemen hemen bütün aerobik organizmalarda bulunan önemli antioksidan enzimlerden biridir. Bu enzimin aktivitesi ile iki basamaklı reaksiyon sonucu iki hidrojen peroksit molekülü parçalara ayrılır ve iki molekül su ve bir molekül oksijen ortaya çıkar.³⁴



Glutatyon Peroksidaz (GPx) hidrojen peroksiti suya çeviren önemli bir hücre içi antioksidan enzimdir. Ayrıca esas olarak mitokondri olmak üzere mitokondri ve sitozolde lipid peroksitlerinin karşılık gelen alkole çevrilmesinde görev alır ve oksidatif strese karşı koymada rol oynar. Aktivitesi sırasında kofaktör olarak çoğunlukla selenyum kullandığından dolayı selenosistein peroksidaz olarak da bilinir. Enzim, lipid peroksidasyon sürecini inhibe ederek hücreleri oksidatif stresten korumada kritik öneme sahiptir.³⁵



Glutatyon redüktaz (GR), GPx aktivitesi sonucu oluşan okside glutatyon (GSSG)'ların NADPH kullanarak redükte edilmesinde görev alan sitosolik enzimdir. Hücre içinde artan GSSG konsantrasyonu lipid peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA hasarı ile sonuçlanır. Hücre içinde GSSG/GSH oranı yükseldiğinde GR aktivitesi artar ve bu oranın normal sınırlarda korunmasını sağlar.³⁶



Tiyoredoksin antioksidan sistemi ise oksidatif stresin arttığı durumlarda tiyoredoksin redüktaz (TrxR) enzimi aktivitesi ile hasarlanan DNA ve proteinlerin onarımında dolaylı yoldan görev yapan antioksidan sistemdir.³

Beslenme yoluyla, memeli antioksidan sisteminde non-enzimatik antioksidan olarak görev alan, su ve yağda çözünebilen bol miktarda vitamin ve mineral vücudumuza girer. A, C ve E vitaminleri antioksidan olarak görev alan vitaminlerdir. Selenyum ve çinko gibi mineraller de önemli non-enzimatik antioksidanlardandır. Ürik asit, bilirubin melatonin, glutatyon, melatonin, β -karoten, flavonoidler ve terpenler de bu grupta yer alır.³

2.7. Çinko Oksit Nanopartikülleri

Çapı 100 nm'den küçük olan parçacıklar nanopartikül olarak adlandırılır. ZnO-NP; güneş kremlerinde, biyosensörlerde, pigmentlerde, gıda katkı maddelerinde ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılan önemli nanoparçacıklardan biridir. Bazı çalışmalar ZnO-NP'lerin sitotoksik etkilere sahip olduğunu bildirmesine rağmen, diğer çalışmalar antioksidan ve antibakteriyel etkilere sahip olduğunu bildirmiştir.³⁷ Nagajyothi ve arkadaşları; mRNA ve protein düzeyinde IL6, IL-1 β , iNOS, COX-2 ve TNF- α gibi çeşitli sitokinlerin ekspresyonunun baskılanması yoluyla ZnO-NP'leri için anti-enflamatuar etki bildirmiştir.³⁸ Afifi ve Abdelazim, ZnO-NP'lerin, malondialdehit (MDA) konsantrasyonunu azaltarak ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz dahil olmak üzere antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi azalttığını bildirmiştir.³⁹

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın E-74555795-050.01.04-543099 sayılı onayı sonrası İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Deneysel Tıp Araştırma Laboratuvarı (DETALAB)'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan 25 adet 8-10 haftalık Albino-Wistar türü dişi sıçanlar DETALAB'dan temin edilmiş ve deneyler de bu merkezin barınak ve ameliyathane imkanları kullanılarak yapılmıştır.

3.1. Deney Grupları

Tablo 1: Deney grupları

DENEY GRUPLARI	DENEY PROTOKOLÜ			
Grup 1 (Kontrol grubu)				SAKRİFİKASYON
Grup 2 (İR grubu)		İSKEMİ 15 dk	REPERFÜZYON 20 dk	SAKRİFİKASYON
Grup 3 (5 mg/kg ZnO + İR grubu)	ÇİNKO OKSİT (5 mg/kg) 15 dk	İSKEMİ 15 dk	REPERFÜZYON 20 dk	SAKRİFİKASYON
Grup 4 (10 mg/kg ZnO + İR grubu)	ÇİNKO OKSİT (10 mg/kg) 15 dk	İSKEMİ 15 dk	REPERFÜZYON 20 dk	SAKRİFİKASYON
Grup 5 (150mg/kg NAC + İR grubu)	NAC (150 mg/kg) 15 dk	İSKEMİ 15 dk	REPERFÜZYON 20 dk	SAKRİFİKASYON

Deneyde yapılan ön araştırmalar sonrasında 300-350 gram ağırlığında 25 adet Albino-Wistar türü dişi sıçan kullanılması uygun görüldü. Sıçanlar standart nem ve sıcaklık (24±2 °C) koşullarında, 12 saat aydınlık/karanlık ortam döngüsü içerisinde, her birinde dört hayvan bulunan standart kafeslerde barındırılmıştır.

Grup 1 (Kontrol grubu): Deneklere anestezi uygulaması sonrasında, herhangi bir medikal tedavi uygulanmadan ve İR yapılmaksızın laparotomi yapıldı. Ardından karaciğer doku ve kan örnekleri alındı. Sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Grup 2 (İR grubu): Deneklere anestezi uygulaması sonrasında, herhangi bir medikal tedavi uygulanmadan, laparotomi yapıldı. Hepatik pedikül klempe edildi. 15 dakika beklendikten sonra klemp açıldı ve 20 dakika reperfüzyon süresi beklendi. Ardından karaciğer doku ve kan örnekleri alındı. Sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Grup 3 (5 mg/kg ZnO + İR grubu): Deneklere anestezi uygulaması sonrasında, 5 mg/kg çinko oksit intraperitoneal olarak uygulandı. İntraperitoneal uygulama ardından 15 dakika beklendikten sonra laparotomi yapıldı. Hepatik pedikül klempe edildi. 15 dakika beklendikten sonra klemp açıldı ve 20 dakika reperfüzyon süresi beklendi. Ardından karaciğer doku ve kan örnekleri alındı. Sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Grup 4 (10 mg/kg ZnO + İR grubu): Deneklere anestezi uygulaması sonrasında, 10 mg/kg çinko oksit intraperitoneal olarak uygulandı. İntraperitoneal uygulama ardından 15 dakika beklendikten sonra laparotomi yapıldı. Hepatik pedikül klempe edildi. 15 dakika beklendikten sonra klemp açıldı ve 20 dakika reperfüzyon süresi beklendi. Ardından karaciğer doku ve kan örnekleri alındı. Sakrifikasyon gerçekleştirildi.

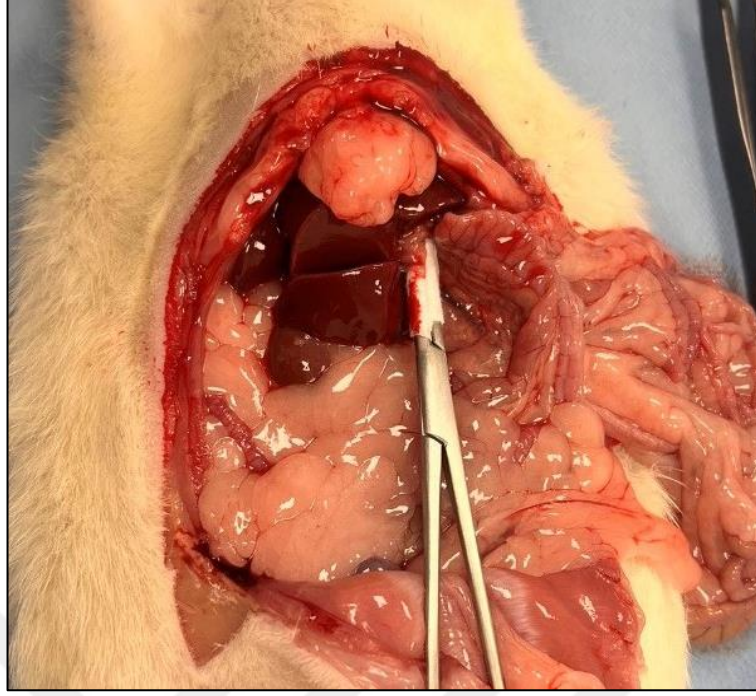
Grup 5 (150 mg/kg NAC+ İR grubu): Deneklere anestezi uygulaması sonrasında, 150 mg/kg NAC intraperitoneal olarak uygulandı. İntraperitoneal uygulama ardından 15 dakika beklendikten sonra laparotomi yapıldı. Hepatik pedikül klempe edildi. 15 dakika beklendikten sonra klemp açıldı ve 20 dakika reperfüzyon süresi beklendi. Ardından karaciğer doku ve kan örnekleri alındı. Sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Anestezi sonrası uyutulan sıçanlar ılık sıcaklıktaki operasyon tahtası üzerine sırt üstü olarak tespit edildi ve laparotomi gerçekleştirildi. (Şekil 4). Laparotomi ardından hepatik pedikül bulundu ve atravmatik klamp ile klamplandı. (Şekil 5) 15 dakika beklendikten sonra klamp açıldı ve 20 dakika reperfüzyon beklendi. Süreler kronometre yardımı ile ölçüldü. Reperfüzyon sonrası karaciğerden histolojik inceleme

ve biyokimyasal inceleme için 2 adet doku alındı. Sonrasında biyokimyasal inceleme için gerekli intrakardiyak kan örnekleri alındı ve aynı zamanda eksanguinasyon ile sakrifikasyon gerçekleştirildi. Tüm yapılan işlemler steril ortam ve cerrahi aletler eşliğinde, ameliyathane koşullarında yapılmıştır. Deney hayvanlarına anestezi amaçlı intraperitoneal yolla 8 mg /kg ksilazin ve 60 mg/kg ketamin uygulandı.



Şekil 4: Deney hayvanında laparotomi gerçekleştirilmesi



Şekil 5: Deney hayvanında hepatik pedikülün klempe edilmesi

3.2. Biyokimyasal ve Histolojik Değerlendirme

Biyokimyasal inceleme için alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar daha sonra çalışılmak üzere eppendorf tüplere aktarıldı ve analiz işlemine kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı'nda muhafaza edildi.

ALT, AST, LDH, GPx aktivite ve TNF $-\alpha$ düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kitler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (BT LAB, Zhejiang Province, China). Analizler Synergy H1 optik okuyucu ile yapılmıştır (Biotek, Freidrichshall, Almanya) Kitlerin ortak prosedürleri antikor- antijen ilişkisine dayanan sandviç tipi ELISA yöntemine dayanır.

Antikor kaplı kuyucuklara antijenik özellikteki serum ve doku homojenatlarından elde edilen süpernatantlar eklendi. Üzerine ilgili parametreye spesifik olan biyotinlenmiş antikor eklendi. Streptavidin horse radish peroksidaz (HRP) ile muamele edilerek 1 saat inkübe edildi. Beş kez tekrarlanan yıkama işleminin ardından solüsyon A ve B eklenerek 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak

amacıyla konan stop solüsyonunun ardından on dakika içinde 450 nmde absorbans ölçümü yapıldı.

Cu,Zn-SOD aktivite analizi, Sun ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. Cu,Zn-SOD aktivitesinin belirlenmesi ksantin/ksantin oksidaz ile üretilen süperoksit radikal anyonunun nitroblue tetrazoliumu indirgemesi ve renkli formazon bileşiklerinin oluşması esasına dayanır. 40 µL örnek üzerine 200 µL SOD reaktifi ve 40 µL XO pipetlendi. Yirmi dakikalık inkübasyonun ardından reaksiyonu durdurmak için 40 µL CuCl₂ eklendi. Absorbanslar reaktif körüne karşı 560 nm dalga boyunda okundu. 1 ünite Cu,Zn-SOD aktivitesi %50 oranında ksantin oksidaz aktivitesinin inhibisyonu olarak tanımlanmaktadır.⁴⁰

Katalaz (CAT) aktivitesi ölçümü Aebi'nin yöntemine göre gerçekleştirildi. 10 µL örnek üzerine 750 µL H₂O₂ içeren fosfat tamponu eklenerek 1 dakika boyunca absorbans değişimi kaydedildi. Hesaplama absorbans değişimi ve molar ekstinksiyon katsayısı (43.6 M⁻¹ cm⁻¹) kullanılarak yapıldı. Bir enzim ünitesi dakikada yıkılan 1 µmol H₂O₂ 'ye eşittir. Sonuçlar U/mg pr olarak verildi.⁴¹

Histolojik inceleme için alınan doku örnekleri; İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilimdalı Laboratuvarı'nda Sakura-2019 kapalı sistem doku takibi cihazı ile otomatik sistemde toplam 12,5 saat doku takip protokolü uygulaması sonrasında, parafin bloklar haline getirildi.⁴² 3 mikron kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra Olympus BX51 ışık mikroskopunda değerlendirildi. Karaciğerde hepatosit hasarı yönünde histopatolojik skorlama Suzuki ve ark. tarafından tanımlanan parametreler esas alınarak skorlandı.⁴³

Tablo 2. Suzuki skorlaması⁴³

SKOR	KONJESYON	VAKUOLİZASYON	NEKROZ
0	Yok	Yok	Yok
1	Minimal	Minimal	Tek hücre nekrozu
2	Az	Az	-30%
3	Orta	Orta	-60%
4	Ciddi	Ciddi	>60%

3.3.İstatistiksel Analiz

SPSS version 21.0 software (IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılımı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğuna Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleri ile Q-Q plot ve histogram grafikleri ile bakıldı. Analiz sonucunda normal dağılan değişkenler ortalama \pm standart sapma ile normal dağılmayanlar ortanca (minimum ve maksimum) değer olarak gösterildi. Kategorik veriler frekans (yüzde) ile gösterildi. Normal dağılım göstermeyen bağımsız iki grubun kıyasında Mann Whitney -U Testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen bağımsız ikiden fazla grubun kıyasında Kruskal Wallis Testi kullanıldı. İkiden fazla grupta, istatistiksel açıdan anlamlılığı oluşturan grubun tayini için post hoc test (Dunn testi) analizi yapıldı. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmada incelenen 25 adet denek hayvanlarının, incelenen biyokimyasal parametrelerinin dağılımı Tablo 3’de gösterilmiştir.

4.1.Biyokimyasal Parametreler

Tablo 3. Çalışmada tüm deneklerde ölçülen biyokimyasal parametrelerin dağılımı

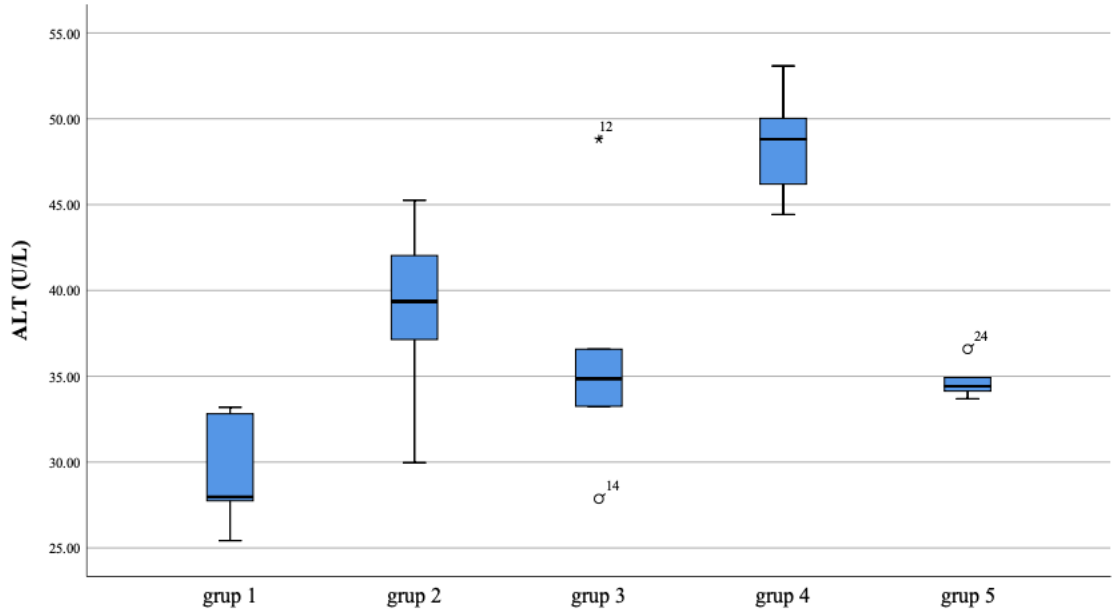
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
ALT (U/L)	37,5 \pm 7,78	34,9 (25,4-53)
AST (ng/ml)	91,7 \pm 11,85	89,9 (77,3-131,8)
Laktat dehidrojenaz (U/L)	67,5 \pm 10	64,8 (54,7-98,5)
TNF- α (pg/ml)	265,4 \pm 33,7	260,1 (216,6-342,8)
GPx (pg/mg protein) (Doku)	62,4 \pm 11,8	64,8 (35,8-84,5)
GPx (pg/mg protein) (Serum)	55,8 \pm 11,5	53,4 (39,4-90)
Katalaz (pg/mg protein) (Doku)	30,6 \pm 8,21	31,9 (12,9-43,1)
Katalaz (pg/mg protein) (Serum)	29,9 \pm 9,6	31 (15,4-49,9)
SOD (pg/mg protein) (Doku)	7,64 \pm 1,6	7,72 (4,85-10,52)
SOD (pg/mg protein) (Serum)	150,3 \pm 32,1	148,2 (97,1-210,5)

Gruplardaki denekler incelenen serum ALT (U/L) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; Grup 1 deneklerin ALT (U/L) medyan değeri 27,9 (25,4-33,1),

grup 2 deneklerin ALT (U/L) medyan değeri 39,3 (29,9-45,2)'dur ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur (p=0,032). Grup 2 deneklerin grup 3 ve grup 5 denekler ile ALT (U/L) medyan değeri açısından istatistiksel anlamlı fark yoktur (p=0,421;0,151). Grup 2 deneklerin ALT (U/L) medyan değeri 39,3 (29,9-45,2); grup 4 deneklerin ALT(U/L) medyan değeri 48,8 (44,4-53)'dir ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur (p=0,016). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur (p=0,022). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 48,8 (44,4-53) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 34,8 (27,8-48,8) medyan değeri mevcut olan grup 3 denekler ile; 48,8 (44,4-53) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 34,4 (33,6-36,5) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 4. Çalışmada deneklerde incelenen serum ALT düzeylerinin dağılımı

	ALT (U/L)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	29,4 \pm 3,41	27,9 (25,42-33,19)
Grup 2	38,7 \pm 5,76	39,3(29,9-45,2)
Grup 3	36,2 \pm 7,73	34,8(27,8-48,8)
Grup 4	48,5 \pm 3,36	48,8(44,4-53)
Grup 5	34,7 \pm 1,11	34,4(33,6-36,5)

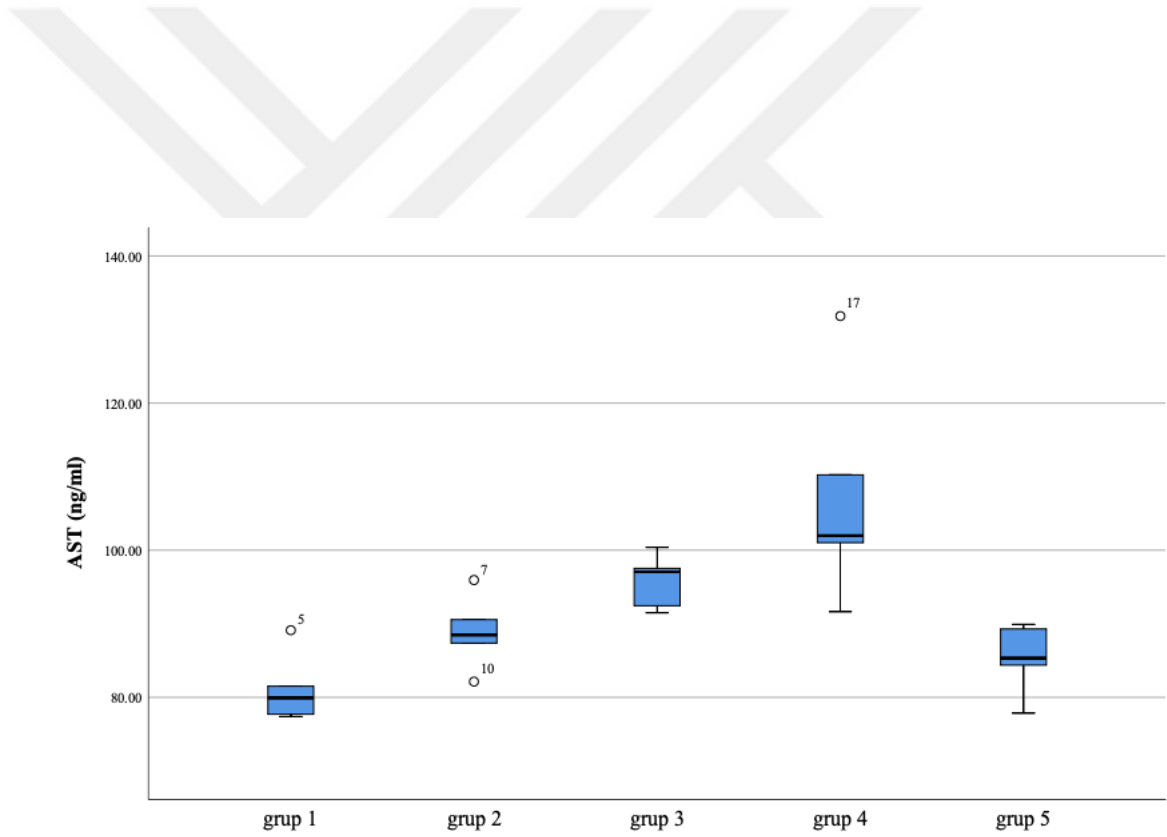


Şekil 6. Serum ALT (U/L) düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen serum AST (U/L) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; grup 1 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri ile grup 2 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,056$). Grup 2 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri 88,4 (82,1-95,9); grup 3 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri 97 (91,5-100,4)'dir ve medyan değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark vardır ($p=0,032$). Grup 2 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri 88,4 (82,1-95,9); grup 4 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri 101,9 (91,6-131,8)'dur ve medyan değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark vardır ($p=0,016$). Grup 5 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri ile grup 2 deneklerin AST (ng/ml) medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,421$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,004$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 97 (91,5-100,4) medyan değeri olan Grup 3 denekler ve 85,3 (77,8-89,9) medyan değeri olan grup 5 denekler ile; 101,9 (91,6-131,8) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 85,3 (77,8-89,9) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 5. Çalışmada deneklerde incelenen serum AST düzeylerinin dağılımı

	AST (U/L)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	81.1 \pm 4.78	79.9 (77.38-89.13)
Grup 2	88,9 \pm 5	88,4 (82,1-95,9)
Grup 3	95,7 \pm 3,71	97 (91,5-100,4)
Grup 4	107,3 \pm 15,1	101,9 (91,6-131,8)
Grup 5	85,3 \pm 4,83	85,3 (77,8-89,9)

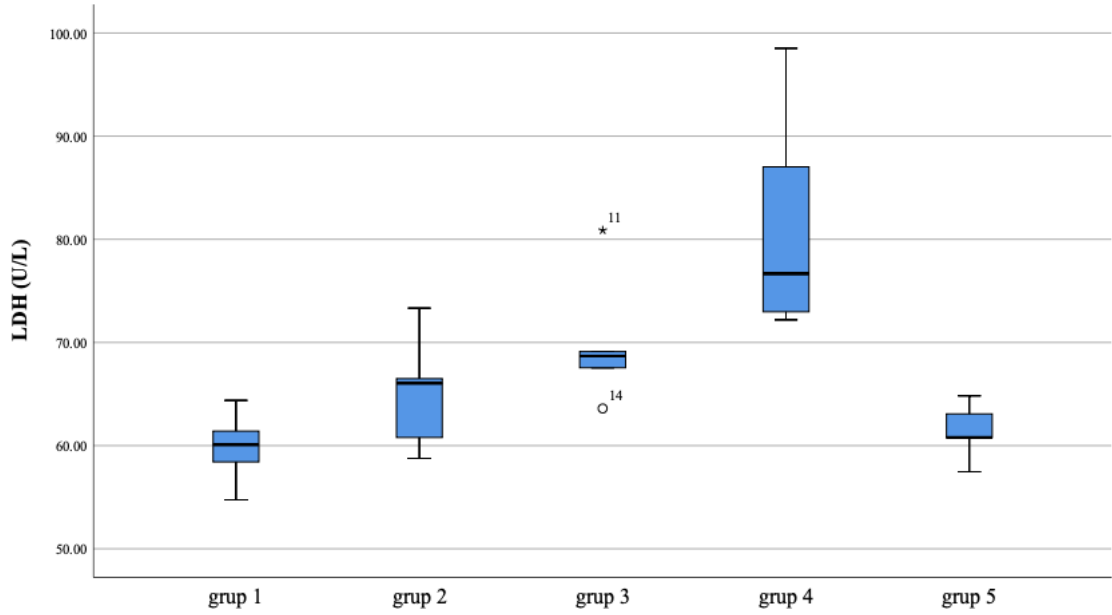


Şekil 7. AST (ng/ml) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen serum LDH (U/L) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; grup 2 deneklerin LDH (U/L) medyan değeri ile grup 1, grup 3 ve grup 5 deneklerin LDH (U/L) medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,151$; $0,222$; $0,310$). Grup 2 deneklerin LDH (U/L) medyan değeri 66 (58,7-73,3), grup 4 deneklerin LDH (U/L) medyan değeri 76,6 (72,1-98,5)'dir ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,032$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,005$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 76,6 (72,1-98,5) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 60,7 (57,4-64,8) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 6. Çalışmadaki deneklerde incelenen serum LDH düzeylerinin dağılımı

	LDH (U/L)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	59,8 \pm 3,57	60,0 (54,7-64,3)
Grup 2	65 \pm 5,68	66,0 (58,7-73,3)
Grup 3	69,9 \pm 6,47	68,6 (63,6-80,8)
Grup 4	81,4 \pm 11,2	76,6 (72,1-98,5)
Grup 5	61,3 \pm 2,77	60,7 (57,4-64,8)

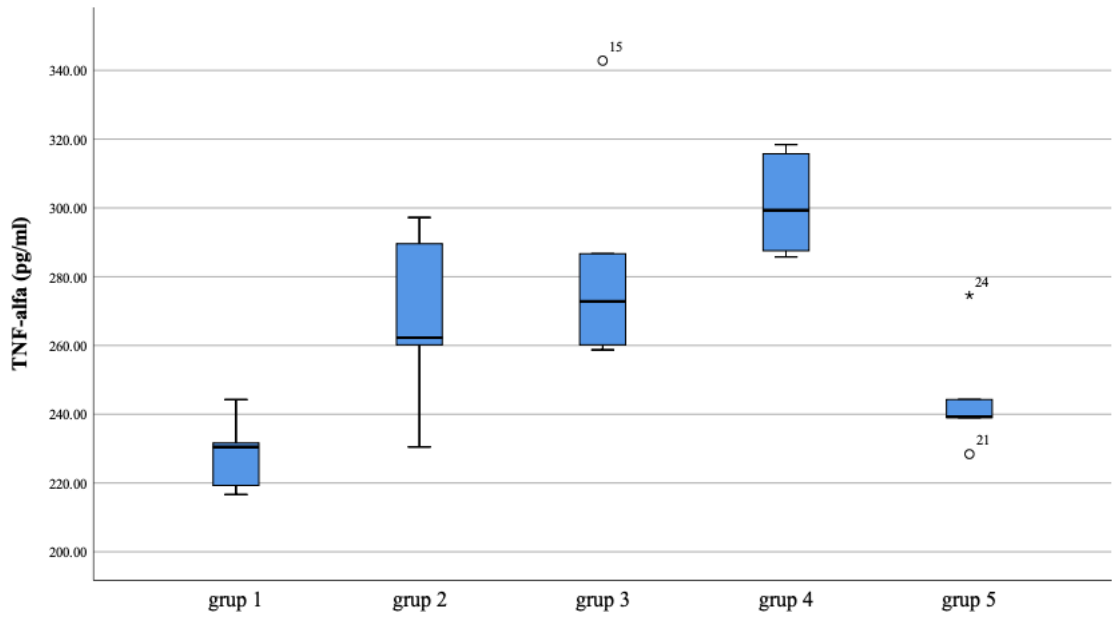


Şekil 8: LDH (U/L) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen serum TNF- α (pg/ml) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; Grup 1 deneklerin TNF- α (pg/ml) medyan değeri 230,4 (216,6-244,2), grup 2 deneklerin TNF- α (pg/ml) medyan değeri 262,2 (230,4-297,2)'dir ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,032$). Grup 2 TNF- α (pg/ml) medyan değeri ile grup 3, grup 4 ve grup 5'in TNF- α (pg/ml) medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,841$; $0,095$; $0,222$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,014$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 299,2 (285,7-318,4) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 239,2 (228,4-274,5) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 7. Çalışmada deneklerde incelenen serum TNF- α düzeylerinin dağılımı

	TNF- α (pg/ml)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	228,4 \pm 11	230,4 (216,6-244,2)
Grup 2	267,9 \pm 26,5	262,2 (230,4-297,2)
Grup 3	284 \pm 34,6	272,8 (258,7-342,8)
Grup 4	301,5 \pm 15,3	299,2 (285,7-318,4)
Grup 5	245,1 \pm 17,4	239,2 (228,4-274,5)



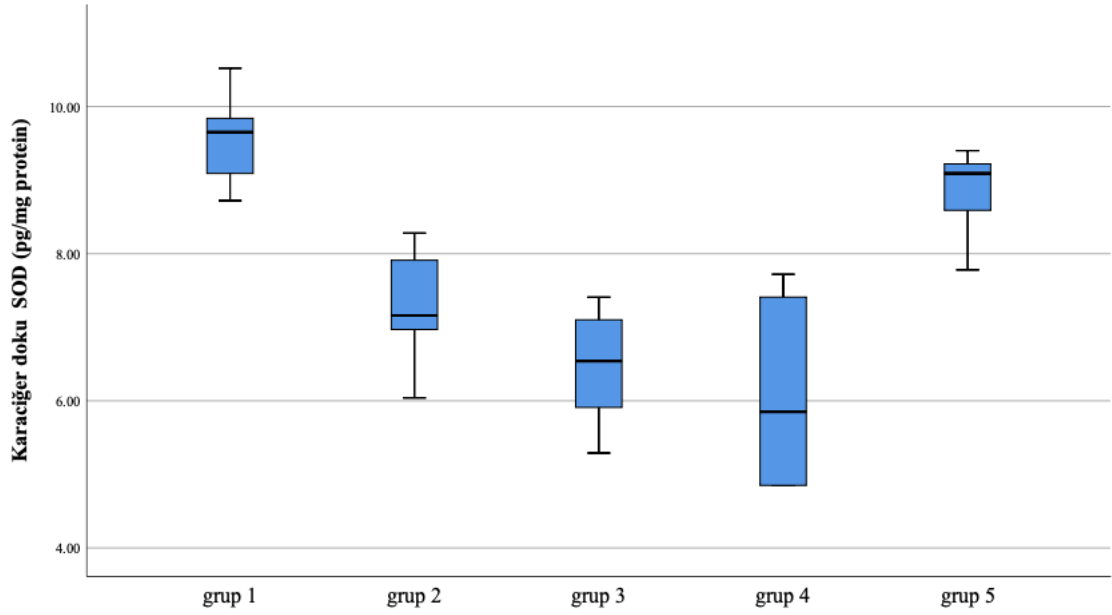
Şekil 9. TNF- α (pg/ml) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen Karaciğer doku SOD (pg/mg protein) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; grup 1 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 9,65 (8,72-10,52), grup 2 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 7,16 (6-8,28) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır (p=0,008). Grup 2 denekler ile; grup 3 ve grup 4'teki deneklerin SOD (pg/mg protein) medyan

değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,222$; $0,222$). Grup 5 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 9 (7,78-9,4), grup 2 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 7,16 (6-8,28) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,032$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,009$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 5,85 (4,85-7,72) medyan değeri olan Grup 4 denekler, 9 (7,78-9,4) medyan değeri olan grup 5 denekler ve 6,54 (5,29-7,41) medyan değeri olan Grup 3 denekler arasındadır.

Tablo 8. Çalışmadaki deneklerde incelenen Karaciğer doku SOD (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

	SOD (pg/mg protein)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	9,56 \pm 0,69	9,65 (8,72-10,52)
Grup 2	7,27 \pm 0,87	7,16 (6-8,28)
Grup 3	6,45 \pm 0,86	6,54 (5,29-7,41)
Grup 4	6,13 \pm 1,37	5,85 (4,85-7,72)
Grup 5	8,81 \pm 0,65	9 (7,78-9,4)

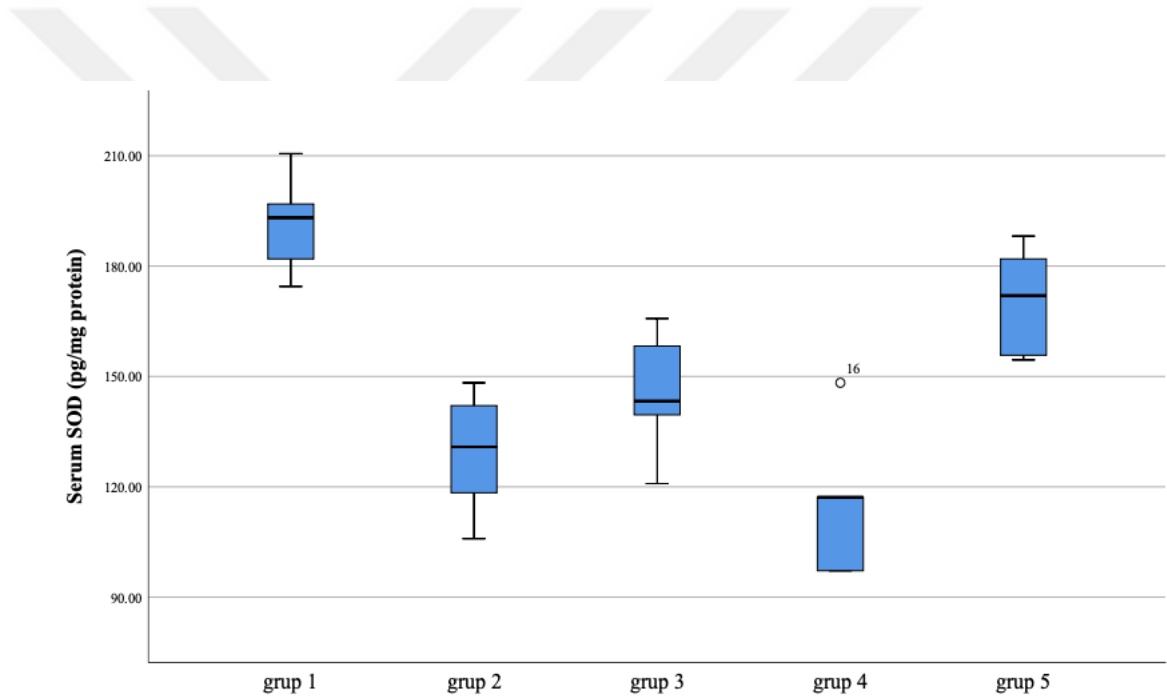


Şekil 10. Karaciğer doku SOD (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen serum SOD (pg/mg protein) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; grup 1 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 193,1 (174,4-210,5), grup 2 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 130 (105,9-148,2)'dur ve bu iki grup deneklerin medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,008$). Grup 2 denekler ile; grup 3 ve grup 4'teki deneklerin SOD (pg/mg protein) medyan değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,222$; $0,222$). Grup 5 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 171,9 (154,5-188,1), grup 2 deneklerin serum SOD (pg/mg protein) medyan değeri 130 (105,9-148,2) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,008$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,010$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 117,1(97,1-148,2) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 171,9(154,5-188,1) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 9: Çalışmadaki deneklerde incelenen serum SOD (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

	SOD (pg/mg protein)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	191,3 \pm 13,9	193,1 (174,4-210,5)
Grup 2	129 \pm 17,2	130 (105,9-148,2)
Grup 3	145,5 \pm 17,4	143,3 (120,8-165,7)
Grup 4	115,3 \pm 20,9	117,1 (97,1-148,2)
Grup 5	170,4 \pm 15,1	171,9 (154,5-188,1)



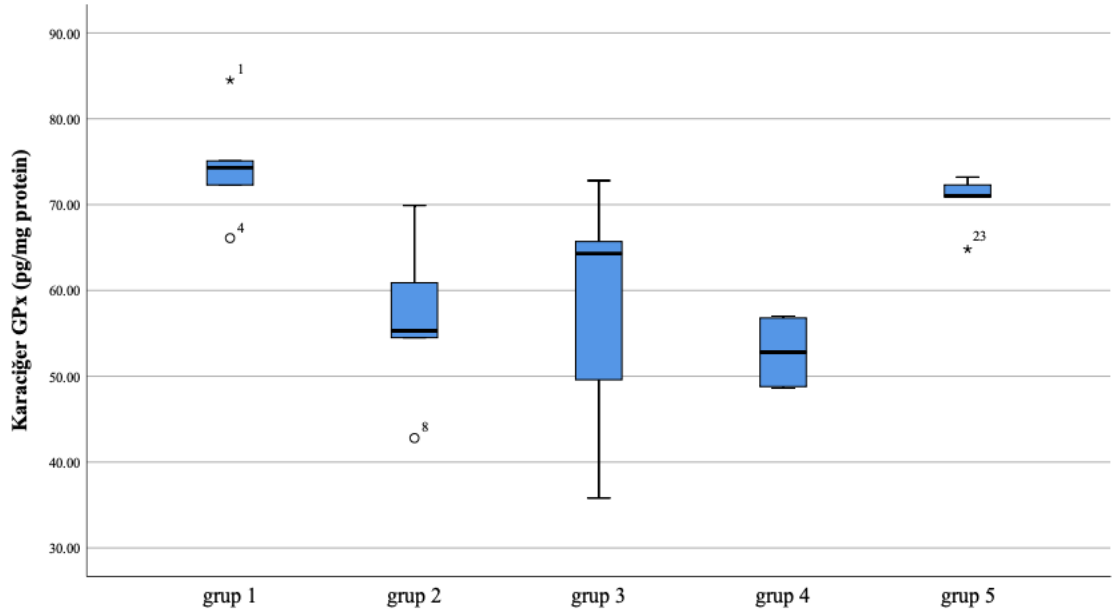
Şekil 11. Serum SOD (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen Karaciğer doku GPx (pg/mg protein) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; Grup 1 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 74,3 (66,1-84,5), grup 2 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 55,3 (42,8-69,9)'tür ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,016$). Grup 2 deneklerin grup 3 ve grup 4 denekler ile GPx (pg/mg protein) medyan değeri

açısından istatistiksel anlamlı fark yoktur ($p=0,841;0,548$). Grup 2 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 55,3 (42,8-69,9), Grup 5 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 71 (64,8-73,2) ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,016$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,031$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 52,8(48,6-57) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 71 (64,8-73,2) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 10. Çalışmadaki deneklerde incelenen Karaciğer doku GPx (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

	GPx (pg/mg protein)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	74,4 \pm 6,62	74,3 (66,1-84,5)
Grup 2	56,6 \pm 9,89	55,3 (42,8-69,9)
Grup 3	57,6 \pm 14,8	64,3 (35,8-72,8)
Grup 4	52,8 \pm 4,1	52,8 (48,6-57)
Grup 5	70,4 \pm 3,29	71 (64,8-73,2)



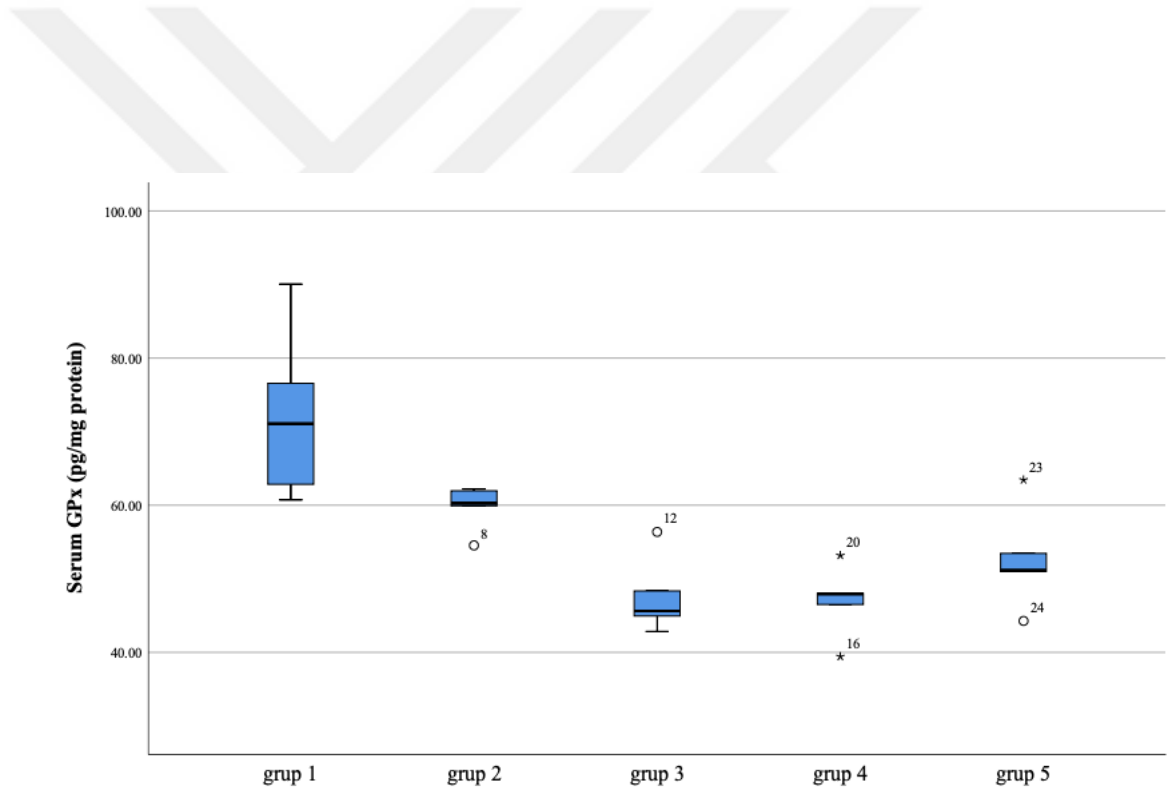
Şekil 12: Karaciğer doku GPx (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen serum GPx (pg/mg protein) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; Grup 1 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 71 (60,7-90), grup 2 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 60,2 (54,5-62,2)'dir ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,032$). Grup 2 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 60,2 (54,5-62,2), Grup 3 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 45,6 (42,8-56,3) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,016$). Grup 2 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 60,2 (54,5-62,2), Grup 4 deneklerin GPx (pg/mg protein) medyan değeri 47,9 (39,4-53,1) ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,008$). Grup 2 deneklerin grup 5 ile GPx (pg/mg protein) medyan değeri açısından istatistiksel anlamlı fark yoktur ($p=0,151$).

Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,340$).

Tablo 11. Çalışmada deneklerde incelenen serum GPx düzeylerinin dağılımı

	GPx (pg/mg protein)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	72,2 \pm 11,8	71 (60,7-90)
Grup 2	59,7 \pm 3	60,2 (54,5-62,2)
Grup 3	47,6 \pm 5,26	45,6 (42,8-56,3)
Grup 4	47 \pm 4,93	47,9 (39,4-53,1)
Grup 5	52,6 \pm 6,93	51,1(44,2-63,4)

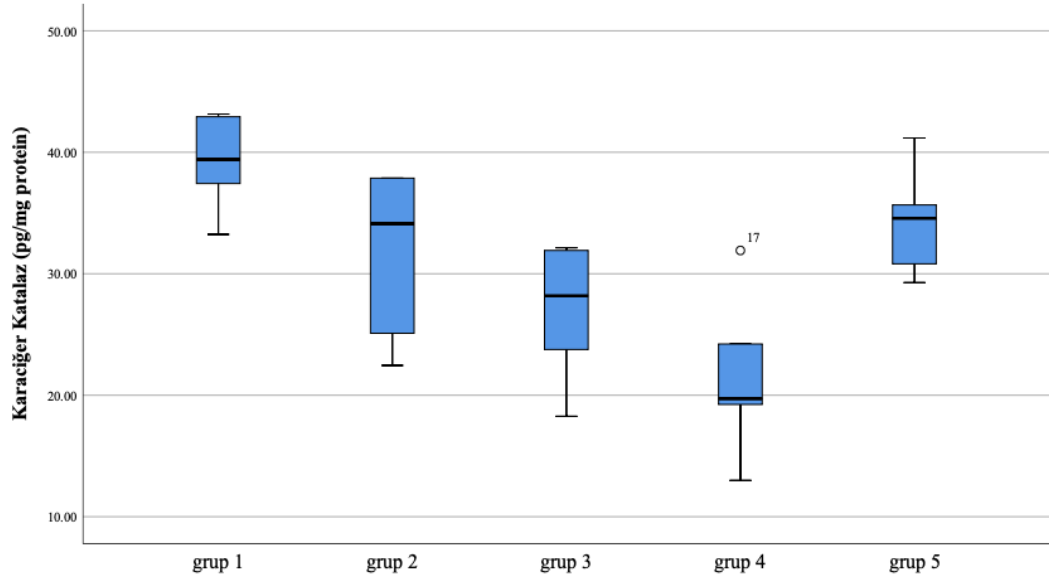


Şekil 13. Serum GPx düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen Karaciğer doku katalaz (pg/mg protein) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; grup 2 deneklerin; grup 1, grup 3, grup 4, grup 5 deneklerin Katalaz (pg/mg protein) medyan değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,151;0,310;0,056;0,690$). Grup 3,4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,046$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 19,7 (12,9-31,9) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 34,5 (29,2-41,1) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 12. Çalışmadaki deneklerde incelenen Karaciğer doku katalaz (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

	Katalaz (pg/mg protein)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	39,2 \pm 4,12	39,1(33,2-43,1)
Grup 2	31,4 \pm 7,26	34,1(22,4-37,8)
Grup 3	26,8 \pm 5,8	28,1(18,2-32,1)
Grup 4	21,6 \pm 7	19,7(12,9-31,9)
Grup 5	34,2 \pm 4,64	34,5(29,2-41,1)



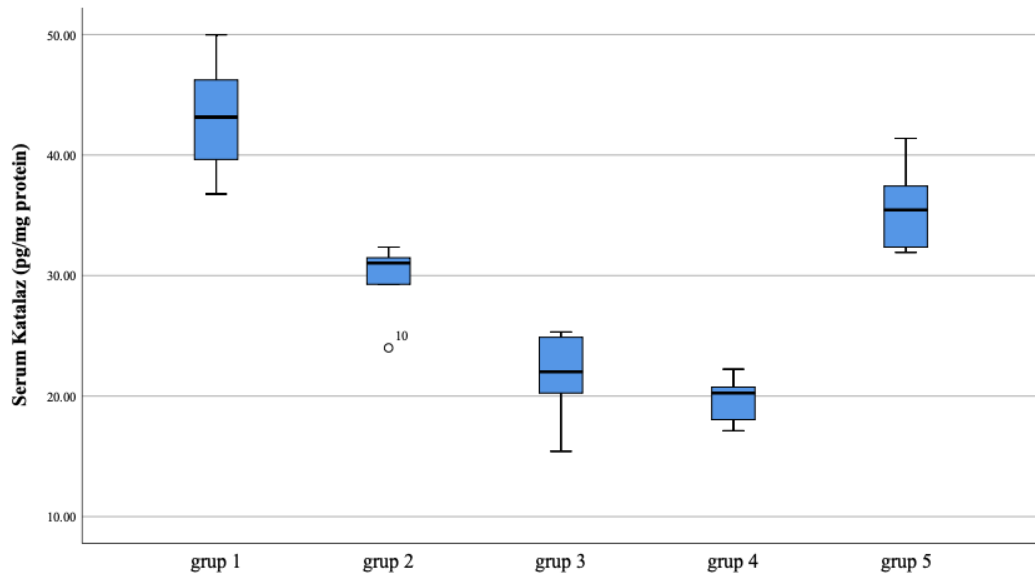
Şekil 14. Karaciğer doku Katalaz (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

Gruplardaki denekler incelenen serum doku katalaz (pg/mg protein) düzeylerine göre karşılaştırıldığında; grup 1 deneklerin serum katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 43,1 (36,7-49,9), grup 2 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 31 (24-32,3) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,008$).

Grup 3 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 22 (15,4-25,3), grup 2 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 31 (24-32,3) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,032$). Grup 4 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 20,2 (17,1-22,2), grup 2 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 31 (24-32,3) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,008$). Grup 5 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 35,4 (31,9-41,3), grup 2 deneklerin serum Katalaz (pg/mg protein) medyan değeri 31 (24-32,3) ve medyan değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardır ($p=0,016$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,008$). Gruplar arasında anlamlı fark; 20,2 (17,1-22,2) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 35,4 (31,9-41,3) medyan değeri olan grup 5 denekler ile 22 (15,4-25,3) medyan değeri olan Grup 3 denekler ve 35,4 (31,9-41,3) medyan değeri olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 13. Çalışmadaki deneklerde incelenen serum katalaz (pg/mg protein) düzeylerinin dağılımı

	Katalaz (pg/mg protein)	
	Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Grup 1	43,1 \pm 5,22	43,1(36,7-49,9)
Grup 2	29,6 \pm 3,34	31(24-32,3)
Grup 3	21,5 \pm 4	22(15,4-25,3)
Grup 4	19,6 \pm 2	20,2(17,1-22,2)
Grup 5	35,7 \pm 3,9	35,4(31,9-41,3)



Şekil 15. Serum katalaz (pg/mg protein) değerinin gruplara göre dağılımı

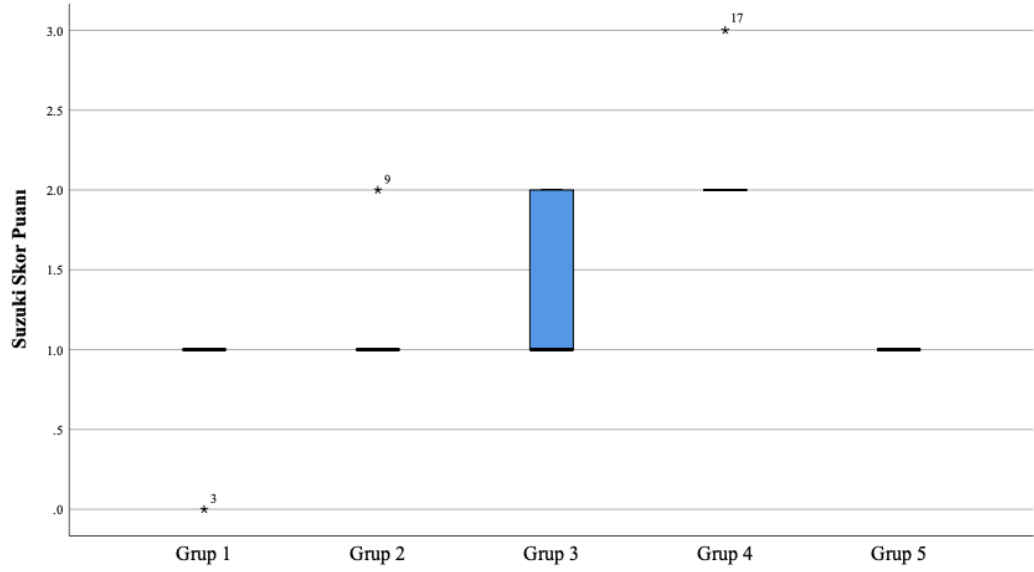
4.2.Histopatolojik Değerlendirme Verileri

Gruplar histopatolojik olarak değerlendirilen Suzuki skorları karşılaştırıldığında; Grup 2 denekler ile Grup 1 denekler arasında Suzuki skoru medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktur ($p=0,556$). Grup 2 ile Grup 3 denek arasında; Grup 2 ile Grup 5 arasında da Suzuki skoru medyan değerleri arasında istatistiksel

açından anlamlı fark yoktur ($p=0,1,000$; $1,000$). Grup 2 deneklerin Suzuki skoru medyan değeri 1 (1-2); Grup 4 deneklerin Suzuki skoru medyan değeri 2 (2-3)'dir ve medyan değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttur ($p=0,040$). Grup 3, 4 ve 5 deneklerin birbirleri arasında medyan değerleri açısından anlamlı fark mevcuttur ($p=0,008$). Ve gruplar arasında anlamlı fark; 2 (2-3) medyan değeri olan Grup 4 denekler ve 1(1-1) medyan değeri mevcut olan grup 5 denekler arasındadır.

Tablo 14. Gruplar arasında Suzuki parametrelerinin ve skorunun gruplara göre dağılımı

		Ortalama \pm s.s	Medyan (min-maks)
Konjesyon	Grup 1	0,8 \pm 0,44	1(0-1)
	Grup 2	1,2 \pm 0,44	1(1-2)
	Grup 3	1 \pm 0	1(1-1)
	Grup 4	1,2 \pm 0,44	1(1-2)
	Grup 5	1 \pm 0	1(1-1)
Vakuolizasyon	Grup 1	0 \pm 0	0(0-0)
	Grup 2	0 \pm 0	0(0-0)
	Grup 3	0,4 \pm ,54	0(0-1)
	Grup 4	1 \pm 0	1(1-1)
	Grup 5	0 \pm 0	0(0-0)
Nekroz	Grup 1	0 \pm 0	0(0-0)
	Grup 2	0 \pm 0	0(0-0)
	Grup 3	0 \pm 0	0(0-0)
	Grup 4	0 \pm 0	0(0-0)
	Grup 5	0 \pm 0	0(0-0)
Skor	Grup 1	0,8 \pm 0,44	1(0-1)
	Grup 2	1,2 \pm 0,44	1(1-2)
	Grup 3	1,4 \pm 0,54	1(1-2)
	Grup 4	2,2 \pm 0,44	2(2-3)
	Grup 5	1 \pm 0	1(1-1)



Şekil 16. Suzuki skor puanının gruplara göre dağılımı

Tüm deneklerin; 22'sinde (%88) minimal konjesyon, 2'sinde (%8) az düzeyde konjesyon vardır. Deneklerin, 7'sinde (%28) vakuolizasyon vardır. 25 adet deneklerin hiçbirinde nekroz gözlenmemiştir. Grup 1'in 4'ünde (%80) minimal konjesyon vardır. Grup 2'nin 4'ünde (%80) minimal konjesyon, 1'inde (%20) az düzeyde konjesyon vardır. Grup 3'ün 5'inde (%100) minimal konjesyon; 2'sinde (%40) minimal vakuolizasyon vardır. Grup 4'ün 4'ünde (%80) minimal konjesyon, 1'inde (%20) az düzeyde konjesyon, 5'inde (%100) minimal vakuolizasyon vardır. Grup 5'in 5'inde (%100) minimal konjesyon vardır.

5. TARTIŞMA

Hepatik İRH, iskemi sonucu gelişen hücresel hasar ve sonrasında reperfüzyon ile tetiklenen paradoksal süreci tanımlanmaktadır. Patofizyoloji benzer olsa da klinik özellikler açısından sıcak ve soğuk İRH olarak sınıflandırılabilir. Sıcak İR hasarı geçici olarak kan akımında azalma ile gerçekleşen karaciğer transplantasyonu operasyonu, travma ve şok sırasında meydana gelir. Soğuk İR hasarı ise transplant öncesi organın soğuk muhafaza koşulları ile ilişkilidir ve hepatik sinüzoidal hücrelerden başlar. Sonuç olarak doğal bağışıklık yanıtının bir sonucu olarak hepatik enzimlerde artış ve greft disfonksiyonu ile sonuçlanabilir. Bu paradoksal süreç transplant sonrası akut ve kronik rejeksiyon oranını artırarak olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Bunlar arasında sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve multipl organ yetmezliği sendromu gibi mortal tablolar yer almaktadır.¹⁸ Donör azlığı da düşünüldüğünde karaciğer cerrahilerinde önemli mortalite ve morbidite sebebi olan İRH'nin patofizyolojik mekanizmalarını araştırmaya yönelik çalışmalar her geçen gün artmaktadır.⁸ Bu nedenle reperfüzyon hasar yanıtını engellemek için literatürde çeşitli ajanlar ile çalışmalar yapılmıştır. Bu ajanlar arasında N-asetil sistein^{6,44}, askorbik asit, glutasyon⁴⁵, geraniol⁴⁶, pregabalin⁴⁷ ve melatonin⁴⁸ yer almaktadır.

ZnO-NP; güneşten koruyucular, biyosensörler, pigmentler, gıda katkı maddeleri ve tıpta yaygın olarak kullanılan önemli nanopartiküllerden biridir.³⁷ Daha önce ZnO ve Ferulik asit moleküllerinin renal İRH önleyici etkisinin incelendiği bir çalışmada ZnO-NP'nin hücre proliferasyonunun artırılması (KI67), antioksidan genlerin (Nrf2, HO-1 ve HIF-1 α) etkisini artırması, inflamatuvar sitokin (TNF- α) ve apoptotik genlerin (kaspaz-3 ve bax) baskılanması ile oksidatif stresi azaltarak renoprotektif etkili olduğu gösterilmiş.^{37,49,50} Renal³⁷ve intestinal⁴⁹ İRH deneysel modellerinde sitoprotektif etkileri gösterilse de literatürde daha önce ZnO-NP'lerin hepatik

iskemiye karşı etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. ZnO-NP'nin hepatoprotektif etki gösteren dozu ile ilgili de veri bulunmadığından, çalışmamızda ZnO-NP, daha önce intraperitoneal uygulama sonrası renoprotektif etki gösteren 5 mg/kg³⁷ ve karaciğerde beklenen etkiyi gösterememe ihtimaline karşı 10 mg/kg olacak şekilde iki farklı dozda uygulanmıştır. ZnO-NP'nin İRH üzerindeki etkisi, literatürde İRH'yi azalttığı bilinen NAC (N-Asetil Sistein) molekülü^{6,44} ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda denekler; sadece laparotomi (Grup1), İR grubu (Grup 2), 5 mg/kg ZnO + İR grubu (Grup 3), 10 mg/kg ZnO + İR grubu (Grup 4) ve 150 mg/kg NAC+ İR grubu (Grup 5) olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Literatürle uyumlu olarak Pringle manevrası ile oluşturulan 15 dakika iskemi ve 20 dakika reperfüzyon sonrasında serumda ALT, AST, TNF-a ve LDH düzeyleri ile serum ve karaciğer dokusunda GPx, SOD ve CAT enzimleri ölçülmüştür. Karaciğer dokusunda histopatolojik hasar değerlendirmesi Suzuki skorlaması ile yapılmıştır.⁴³

Deneyde sadece laparotomi uygulananan 1. Grup ile tedavisiz İRH modeli olan Grup 2 karşılaştırıldığında 15 dk boyunca iskemi ve 20 dk reperfüzyon uygulama sonrası Grup 2'de ALT değerlerinde artış saptandı ve ALT değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,032). 5 mg/kg ZnO grubunda ALT düzeyi ile İR grubuna göre düşüş saptanmakla birlikte anlamlı değildi (p:0,42). 10 mg /kg ZnO grubu, İR grubuyla kıyaslandığında ALT düzeyinde paradoksal anlamlı bir artış saptandı (p:0,016). Ayrıca grup 3, grup 4 ve grup 5'in üçlü karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu (p: 0.022) ve bu farkın grup 3 ve 4 ile grup 4 ile 5'in arasındaki farktan kaynaklandığı saptandı. Bu veriler tedavide verilen ZnO dozunun artması sonucunda ALT değerinde paradoksal bir artış olduğunu ve ayrıca literatürle uyumlu olarak NAC verilen grupta ise literatürle uyumlu olarak ALT değerinde anlamlı bir düşüş olduğu göstermiştir. ^{6,44}

Çalışmamızda 5 mg/kg ZnO grubunda İR grubuna göre AST değeri anlamlı olarak artmıştı (p:0.032). 10 mg/kg ZnO grubunda ise İR grubuyla

karşılaştırıldığında AST değerindeki artış istatistiksel olarak daha anlamlıydı (p:0,016). Bu veriler ışığında ZnO'nun 10 mg /kg dozda daha belirgin olmak üzere her iki doz grubunda da beklentimizin aksine AST düzeyinde artışa ve hepatosit hasarına yol açtığı saptandı. NAC verilen grupta ise literatürle uyumlu olarak AST düzeyinde anlamlı düşüş olduğu görüldü.^{6,44}

TNF- α ; İR sürecinde, ağırlıklı olarak Kupffer hücrelerinden salınan, erken dönem yanıtta yer alan önemli sitokinlerden biridir. Nötrofil aktivasyonunu ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu sağlayarak İRH'de erken dönem yanıtta geç dönem yanıtta geçişte önemli rol üstlenir.⁵¹

Deneyimizde, laparotomi grubu ile İR grubu arasında TNF- α verilerine bakıldığında İR grubunda TNF- α değerinin literatürle uyumlu⁶ olarak anlamlı olarak yükseldiği saptandı (p:0,032). İR grubu ile tedavi verilen diğer 3 grup arasında ise anlamlı fark olmadığı ancak tedavi verilen 3 grup kendi arasında kıyaslandığında 10 mg/kg ZnO grubu ile 150 mg/kg NAC verilen grup arasında NAC verilen grupta TNF- α değerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu (p:0,014) görülmüştür. Bu veriler ışığında yüksek doz ZnO'nun beklentimizin aksine TNF- α düzeyinde yükselmeye sebep olduğu ve İRH'yi artırdığı tespit edilmiştir.

LDH, vücutta hemen her hücrede tespit edilebilmekle beraber, başta kalp olmak üzere karaciğer, akciğer ve kas dokularında yüksek miktarda bulunur. LDH enzimi; hücre, doku ya da organ hasarlanması oluştuğunda kana karışır. İskemik ve hipoksik koşullarda serumdaki LDH miktarı yükselir.⁵² Deneyimizde elde edilen LDH değerlerine bakıldığında İR grubu ile 10 mg/kg ZnO grubu karşılaştırıldığında ZnO verilen grupta LDH değerinin anlamlı miktarda yükseldiği saptanmıştır (p:0.032). Ayrıca tedavi verilen 3 grup arasında kıyaslama yapıldığında NAC verilen grup ile 10 mg/kg ZnO verilen grup arasında ZnO lehine LDH değerinin anlamlı yükseldiği görülmüştür (p:0.005). Bu veriler ışığında beklentimizin aksine yüksek dozda ZnO verilen grupta doku hasarının arttığı görülmüştür.

SOD; süperoksit molekülünü, moleküler oksijen ve H₂O₂'ye çevirerek oluşan SOR'a karşı koyan ilk antioksidan enzimdir. Bu enzimin aktivitesindeki azalma, oksidatif hasarın artışı ile sonuçlanmaktadır.⁵³

Deneyimizde elde edilen serum ve doku SOD değerlerine bakıldığında beklendiği gibi laparotomi grubu ile İR grubu arasında ve İR grubu ile NAC grubu arasında SOD düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. Ayrıca 10 mg/kg ZnO grubu ile NAC grubu arasında da anlamlı fark saptanmıştır. Bu fark; NAC verilen grupta SOD düzeyleri hem dokuda hem serumda artması ve ZnO verilen grupta beklenenin aksine SOD düzeyinin azalması nedeniyle ortaya çıkmıştır. Hipotezimizin aksine ZnO uygulanan gruplarda dokuda ve serumda SOD düzeyleri azalmış ve oksidatif hasar artmıştır.

CAT; H₂O₂'yi oksijen ve suya çevirerek oksidatif stresi azaltmaya yönelik çalışan bir antioksidan enzimdir.³⁴ Antioksidan özellik gösteren moleküllerin bu modelde kullanımı sonucu CAT miktarında artış olacağını öngördük. Deneyimizde karşılaştığımız serum CAT değerlerinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. Bu fark ZnO verilen grupların İR grubu ile kıyaslandığında ZnO'nun dozu arttıkça hipotezimizin aksine CAT değerinin azalması sonucu oluşmuştur (p:0.032;0.008). Ayrıca NAC verilen grup, İR grubu ve yüksek doz ZnO verilen grup ile kıyaslandığında NAC verilen grupta CAT değeri literatürle uyumlu olarak⁶ istatistiksel olarak anlamlı miktarda artmıştır (p:0.016;0.008).

Dokuda ölçülen CAT düzeylerinin değerlendirmesi sonucunda sadece 10 mg/kg ZnO verilen grup ile NAC verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. Yüksek doz ZnO verdiğimiz grupta beklenenin aksine İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber CAT düzeyi düşük tespit edilirken NAC verilen grupta beklendiği gibi İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber yükseldiği tespit edilmiştir. Bu veriler göstermektedir ki beklentimizin aksine yüksek doz ZnO verilen grupta CAT düzeyleri azalmaktadır.

GPx; organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlayarak membran lipitlerinin ve hemoglobinin korunmasında önemli rol oynayan antioksidan bir enzimdir.³⁶ Çalışmamızda tedavide verdiğimiz ZnO'nun iki farklı grubu ve NAC grubunda, karaciğer dokusunda ve kanda GPx düzeylerinin İR grubuna kıyasla yüksek çıkmasını ve koruyucu etkisini göstermesini beklerken yapılan incelemeler neticesinde hem doku hem serum GPx düzeylerinde ZnO verilen gruplarda beklenen etki görülmemiştir. Hatta beklenenin aksine ZnO verilen her iki grup ile İR grubu kıyaslandığında serum GPx düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı miktarda (p:0.016;0,008) azalma olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca beklendiği üzere NAC verilen grup ile İR grubunun doku GPx düzeyleri kıyaslandığında NAC verilen grupta enzim düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (p:0.016) yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak NAC; GPx düzeyini artırarak koruyucu etki gösterirken, çinko oksit her iki dozda da GPx düzeyini azaltmıştır ve koruyucu etki ortaya koyamamıştır.

Suzuki skorlaması; karaciğerde oluşan hasarın şiddetinin patolojik olarak derecelendirmesinde kullanılan skorlama yöntemidir.⁴³ Çalışmamızda; Suzuki skorlamasına göre doku örnekleri incelemesi sonucunda İR grubu ile 10 mg/kg ZnO grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. 10 mg/kg ZnO uygulaması sonrası doku hasarı istatistiksel olarak anlamlı miktarda arttığı gözlemlenmiştir. ZnO-NP'nin doz bağımlı toksitesinin çözünebilirlik ve serbest radikal oluşturma kapasitesi ile ilgili olabileceği öne sürülmektedir. Literatürde bildirilen deneysel çalışmalarda ZnO-NP hücre zarını geçebildiğinden sitotoksosite, genotoksosite, mitokondriyal disfonksiyon, apoptozise yol açtığı ve oksidatif stresi arttırdığı gösterilmiştir.⁵⁴ Ayrıca ZnO-NP'nin CYP450 enzimleri üzerinde kompleks etkilerle karaciğerde inflamasyon reaksiyonu ve immun disfonksiyonu tetikleyebileceği bildirilmiştir.⁵⁵ Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında uygulanan dozlarda ZnO'nun İRH'yi artırdığı görülmüştür. Bu durum çalışmamızda kullanılan dozların karaciğer dokusu için yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir. Doz bağımlı pro-oksidatif etkisi bilinen ZnO-NP'nin karaciğerdeki etkinliğinin aydınlatılabilmesi ancak değişen

dozlarda çalışmalar yapılmasına bağlıdır. Bir diğer nokta ise ZnO-NP'nin veriliş yolundan kaynaklanabilecek farklılıklardır. ZnO-NP oldukça çözünebilir formdadır ve çalışmamızda intraperitoneal olarak uygulandığından, daha düşük dozlar bile toksisiteye yol açmış olabilir. Bu karmaşıklığın ortadan kaldırılması ve ZnO-NP'nin karaciğerdeki etkinliğinin araştırılması, ancak ZnO-NP'nin parenteral, enteral ve intraperitoneal yollarla ayrı ayrı uygulandığı ve alışmamızdakinden daha farklı dozların kullanıldığı kapsamlı çalışmaların yapılabilmesi ile mümkündür.



6. SONUÇ

ZnO nanopartikülleri daha önce renal, intestinal ve beyin dokusunda İRH'i azaltıcı etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu etkiler göz önüne alındığında ZnO molekülünün karaciğerde de İRH'de doku hasarını azaltabileceği düşünülmüştür. Ancak, ZnO-NP'nin karaciğerde etkin dozuna yönelik çalışma olmadığından daha önce renal İRH'de kullanılan doz ve daha yüksek alternatif doz olarak iki farklı grupta uygulanmıştır. Çalışmamızda ZnO nanopartiküllerin 5 mg/kg ve 10 mg/kg intraperitoneal uygulanmasının karaciğer İRH'de hasarı azaltmadığı ve hatta 10 mg/kg dozda uygulamanın karaciğer dokusunda toksik etkilerinin daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında uyguladığımız ZnO dozlarının karaciğer dokusu için yüksek olduğu düşünülebilir. ZnO-NP'nin karaciğer dokusundaki etkilerinin aydınlatılabilmesi ancak değişken ve daha düşük dozlarda kapsamlı çalışmalar yapılabilmesi ile mümkün görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-e-Silva O. Ischemia/Reperfusion Injury Revisited: An Overview of the Latest Pharmacological Strategies. *Int J Mol Sci.* 2019;20(20):5034. doi:10.3390/ijms20205034
2. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19. doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613
3. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(2):532-553. doi:10.1159/000485089
4. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem.* 2018;46(4):1650-1667. doi:10.1159/000489241
5. Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 1991;260(3):G355-G362. doi:10.1152/ajpgi.1991.260.3.G355
6. Chaves Cayuela N, Kiyomi Koike M, Jacysyn J, et al. N-Acetylcysteine Reduced Ischemia and Reperfusion Damage Associated with Steatohepatitis in Mice. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):4106. doi:10.3390/ijms21114106
7. Townsend C.M, Beauchamp R.D, Evers B.M et al. *Sabiston Textbook of Surgery*, 20th Ed Elsevier.; 2017.
8. Behrns KE. *Surgical Anatomy and Technique: A Pocket Manual.* Vol. 70, Mayo Clinic Proceedings. 1995.
9. Smadja C, Blumgart L. The biliary tract and the anatomy of biliary exposure. In: Blumgart L, ed. *Surgery of the Liver and Biliary Tract.* New York, NY: Churchill Livingstone; 1994:11-24.).
10. Emre A, Tekant Y, Editors. *Hepatopankreatobiliyer Cerrahi.* 1. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2009.
11. Couinaud C. [Liver Lobes and Segments: Notes on the Anatomical Architecture and Surgery of the Liver]. *Presse Med.* 1954 May;62(33):709–12.
12. Ross M.H. PW. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas (6 bs.):* Palme Yayınevi.
13. Vdoviaková K, Vdoviaková K, Petrovová E, et al. Importance Rat Liver Morphology and Vasculature in Surgical Research. *Med Sci Monit.* 2016;22:4716-4728. doi:10.12659/MSM.899129

14. Vinay Kumar, MBBS, MD Frcp, Abul K. Abbas M, Jon C. Aster, MD P. Robbins Essential Pathology. Elsevier. 2021.
15. Simon Herrington C. Muir's Textbook Of Pathology. 15th Edition. CRC Press. 2014.
16. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int.* 1999 Feb;49(2):91–102.
17. Jaeschke H. Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact.* 1991;79(2):115-136. doi:10.1016/0009-2797(91)90077-K
18. Rampes S, Ma D. Hepatic ischemia-reperfusion injury in liver transplant setting: mechanisms and protective strategies. *J Biomed Res.* 2019 Jul 28;33(4):221-234. doi: 10.7555/JBR.32.20180087. PMID: 32383437; PMCID: PMC6813524.
19. Konishi T, Lentsch AB. Hepatic Ischemia/Reperfusion: Mechanisms of Tissue Injury, Repair, and Regeneration. *Gene Expr.* 2017;17(4):277-287. doi:10.3727/105221617X15042750874156
20. Nace GW, Huang H, Klune JR, et al. Cellular-specific role of toll-like receptor 4 in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Hepatology.* 2013;58(1):374-387. doi:10.1002/hep.26346
21. Laan M, Cui ZH, Hoshino H, Lötval J, Sjöstrand M, Gruenert DC, et al. Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways. *J Immunol.* 1999 Feb;162(4):2347–52.
22. Khandoga A, Biberthaler P, Enders G, Axmann S, Hutter J, Messmer K, et al. Platelet adhesion mediated by fibrinogen-intercellular adhesion molecule-1 binding induces tissue injury in the postischemic liver in vivo. *Transplantation.* 2002 Sep;74(5):681–8.
23. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DAJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest.* 1990 Jun;85(6):1936–43.
24. Colletti LM, Cortis A, Lukacs N, Kunkel SL, Green M, Strieter RM. Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat. *Shock.* 1998 Sep;10(3):182–91.
25. Husted TL, Blanchard J, Schuster R, Shen H, Lentsch AB. Potential role for IL-23 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Inflamm Res.* 2006;55(5):177-178. doi:10.1007/s00011-006-0073-1
26. Leifeld L, Cheng S, Ramakers J, et al. Imbalanced intrahepatic expression of interleukin 12, interferon gamma, and interleukin 10 in fulminant hepatitis B: Imbalanced intrahepatic expression of interleukin 12, interferon gamma, and interleukin 10 in fulminant hepatitis B. *Hepatology.* 2002;36(4):1001-1008. doi:10.1053/jhep.2002.35532

27. Ren K, Torres R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. *Brain Res Rev.* 2009;60(1):57-64. doi:10.1016/j.brainresrev.2008.12.020
28. Schottelius AJG, Baldwin Jr. AS. A role for transcription factor NF- κ B in intestinal inflammation. *Int J Colorectal Dis.* 1999;14(1):18-28. doi:10.1007/s003840050178
29. Sawaya DEJ, Zibari GB, Minardi A, Bilton B, Burney D, Granger DN, et al. P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion. *Shock.* 1999 Sep;12(3):227–32.
30. Farhood A, McGuire GM, Manning AM, Miyasaka M, Smith CW, Jaeschke H. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *J Leukoc Biol.* 1995 Mar;57(3):368–74.
31. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol.* 2018 Jun;217(6):1915–28.
32. Ma X, He P, Sun P, Han P. Lipoic acid: an immunomodulator that attenuates glycinin-induced anaphylactic reactions in a rat model. *J Agric Food Chem.* 2010 Apr;58(8):5086–92.
33. Yang W, Li J, Hekimi S. A Measurable Increase in Oxidative Damage Due to Reduction in Superoxide Detoxification Fails to Shorten the Life Span of Long-Lived Mitochondrial Mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* [Internet]. 2007 Dec 1;177(4):2063–74. Available from: <https://doi.org/10.1534/genetics.107.080788>.
34. Nandi A, Yan LJ, Jana CK, Das N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:1-19. doi:10.1155/2019/9613090
35. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med.* 2018;54(4):287-293. doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001
36. Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *J Food Biochem.* 2020;44(3). doi:10.1111/jfbc.13145
37. Awadalla A, Hussein AM, El-Far YM, et al. Effect of zinc oxide nanoparticles and ferulic acid on renal ischemia/reperfusion injury: possible underlying mechanisms. *Biomed Pharmacother.* 2021;140:111686. doi:10.1016/j.biopha.2021.111686
38. Nagajyothi PC, Cha SJ, Yang IJ, Sreekanth TVM, Kim KJ, Shin HM. Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles

- synthesized using *Polygala tenuifolia* root extract. *J Photochem Photobiol B*. 2015;146:10-17. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.02.008
39. Ameliorative effect of zinc oxide and silver nanoparticles on antioxidant system in the brain of diabetic rats | Elsevier Enhanced Reader. doi:10.1016/j.apjtb.2015.06.010
 40. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 1988;34(3):497-500. doi:10.1093/clinchem/34.3.497
 41. Aebi H. [13] Catalase in vitro. In: *Methods in Enzymology*. Vol 105. Elsevier; 1984:121-126. doi:10.1016/S0076-6879(84)05016-3
 42. Carson, F.L., & Hladik, C. (1997). *Histotechnology: a self-instructional text* (Vol.96, pp.189-202). Chicago::ASCP press.
 43. Suzuki S, Nakamura S, Sakaguchi T, Ochiai H, Konno H, Baba S, et al. Alteration of reticuloendothelial phagocytic function and tumor necrosis factor_α production after total hepatic ischemia. *Transplantation* [Internet]. 1997;64(6):821–7.
 44. Jegatheeswaran S, Siriwardena AK. Experimental and clinical evidence for modification of hepatic ischaemia–reperfusion injury by N-acetylcysteine during major liver surgery. *HPB*. 2011;13(2):71-78. doi:10.1111/j.1477-2574.2010.00263.x
 45. Suyavaran A, Ramamurthy C, Mareeswaran R, Subastri A, Lokeswara Rao P, Thirunavukkarasu C. TNF-α suppression by glutathione preconditioning attenuates hepatic ischemia reperfusion injury in young and aged rats. *Inflamm Res* [Internet]. 2015;64(1):71–81. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0785-6>.
 46. Tunç E. Sıçanlarda Hepatik İskemi Reperfüzyon Hasarı Modelinde Geraniolün Etkisi. Genel Cerrahi uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 2021.
 47. Umman V. Sıçanlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Deneysel Modelinde ‘Pregabalin’ in İskemik Hasar Üzerine Etkisi. Genel Cerrahi uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 2019.
 48. Kireev R, Bitoun S, Cuesta S, Tejerina A, Ibarrola C, Moreno E, et al. Melatonin treatment protects liver of Zucker rats after ischemia/reperfusion by diminishing oxidative stress and apoptosis. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2013;701(1):185– 93.
 49. Ozdemir G, Inanc F. Zinc May Protect Remote Ocular Injury Caused by Intestinal Ischemia Reperfusion in Rats. *Tohoku J Exp Med*. 2005;206(3):247-251. doi:10.1620/tjem.206.247
 50. Afifi M, Almaghrabi OA, Kadasa NM. Ameliorative Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Antioxidants and Sperm Characteristics in Streptozotocin-

Induced Diabetic Rat Testes. *BioMed Res Int.* 2015;2015:1-6.
doi:10.1155/2015/153573

51. Perry BC, Soltys D, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Tumor Necrosis Factor- α in Liver Ischemia/Reperfusion Injury. *J Invest Surg.* 2011;24(4):178-188.
doi:10.3109/08941939.2011.568594
52. Kotoh K, Kato M, Kohjima M, et al. Lactate dehydrogenase production in hepatocytes is increased at an early stage of acute liver failure. *Exp Ther Med.* 2011;2(2):195-199. doi:10.3892/etm.2011.197
53. Ntamo Y, Ziqubu K, Chellan N, et al. Clinical use of N-acetyl cysteine during liver transplantation: Implications of oxidative stress and inflammation as therapeutic targets. *Biomed Pharmacother.* 2022;147:112638.
doi:10.1016/j.biopha.2022.112638
54. Almansour MI, Alferah MA, Shraideh ZA, Jarrar BM. Zinc oxide nanoparticles hepatotoxicity: Histological and histochemical study. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017;51:124-130. doi:10.1016/j.etap.2017.02.015
55. Tang HQ, Xu M, Rong Q, Jin RW, Liu QJ, Li YL. The effect of ZnO nanoparticles on liver function in rats. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:4275-4285.
doi:10.2147/IJN.S109031