



**T.C.**  
**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER İSKEMİ- REPERFÜZYON HASARININ ENGELLENMESİNDE**  
**SİTİDİN-5'-DİFOSFAT KOLİN, OKTRETİD VE ENOKSAPARİN**  
**SODYUM'UN BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

**Dr. Gürol ŞEN**

**UZMANLIK TEZİ**

**BURSA – 2008**



**T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER İSKEMİ- REPERFÜZYON HASARININ ENGELLENMESİNDE  
SİTİDİN-5'-DİFOSFAT KOLİN, OKTRETİD VE ENOKSAPARİN  
SODYUM'UN BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

**Dr. Gürol ŞEN**

**UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. Yılmaz ÖZEN**

**BURSA - 2008**

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET .....	ii-iii
İNGİLİZCE ÖZET.....	iv-v
GİRİŞ .....	1- 9
GEREÇ VE YÖNTEM .....	10-14
BULGULAR .....	15-24
TARTIŞMA .....	25-30
KAYNAKLAR .....	31-34
TEŞEKKÜR .....	35
ÖZGEÇMİŞ .....	36

## ÖZET

İskemi- reperfüzyon hasarı karaciğer , transplantasyon cerrahisinin önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Bu hasarı önlemede birçok ajan kullanılmış ve halen kullanılmaktadır. Bu çalışmada karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarının engellenmesinde sitidin-5'-difosfat kolin (CDP-C), oktreetid (OC) ve enoksaparin (ENP) sodyum'un biyokimyasal ve histopatolojik etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada 72 adet dişi "wistar albino" rat kullanıldı. 12' şer denekli 6 gruptan grup A' ya (sham) sadece laparotomi uygulandı. B grubuna laparotomi'yi takiben 30 dk hepatik iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulandı. C grubuna standart iskemi reperfüzyon sürecinden 2 saat önce 600 µmol / kg intraperitoneal CDP-C; D grubuna standart iskemi reperfüzyon sürecinden 24 saat ve 2 saat önce 25 µg / kg subkutan OC, E grubuna yine standart iskemi reperfüzyon sürecinden 24 saat ve 2 saat önce 1,5 mg / kg subkutan ENP, F grubuna standart iskemi reperfüzyon sürecinden 24 saat ve 2 saat önce, 25 µg / kg subkutan OC ve 1,5 mg / kg subkutan ENP kombine uygulandı. Reperfüzyon sonunda karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için serumda aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve γ-glutamil transferaza (γ-GT) bakıldı. İskemi-reperfüzyon hasarı başta olmak üzere genel inflamatuvar yanıtı yansıtan proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α alınan serum örneklerinde ölçüldü. Ratların karaciğerlerinden alınan doku örneklerindeki patolojik değişiklikler incelendi.

CDP-C uygulanan grupta AST, ALT, LDH ve γ-GT seviyeleri en yüksek bulundu. Özellikle OC grubunda tüm değerler I/R grubuna göre anlamlı olarak düşük ( $p < 0,001$ ) bulundu. Bu grupta hepatik nekroza da rastlanmadı.

Karaciğer I/R hasarında hücresel değişikliklerin stabilize edilmesi ve inflamasyonun baskılanmasında OC'nin tek başına uygulanması CDP-C, ENP ve OC+ENP kombinasyonundan anlamlı olarak etkin bulundu. CDP-C ve ENP'nin belirgin etkinlikleri görülmedi.

**Anahtar Kelimeler:**Karaciğer, iskemi-reperfüzyon, sitidin-5'-difosfat kolin, oktreotid, enoksaparin sodyum.

## SUMMARY

### **Biochemical and Histopathologic Influences of Cytidine-5'-diphosphate Choline, Octreotide and Enoxaparin Sodium on Prevention of Hepatic Ischemia-reperfusion Injury**

The ischemia-reperfusion (I/R) injury is an important cause of mortality and morbidity in liver transplantation surgery. There have been various therapeutic agents used to prevent this injury. In this study the biochemical and histopathologic influences of cytidine-5'-diphosphate choline (CDP-C), octreotide (OC) and enoxaparin sodium (ENP) on prevention of hepatic ischemia-reperfusion injury were investigated .

72 female w.a. rats were used in this study. The animals were randomly divided into six groups. In the first group (Sham, group A), only laparotomy was performed. Second group (I/R group, group B) was subjected to 30 min of hepatic ischemia and 2 hours of reperfusion. In group C (CDP-C group), 600  $\mu\text{mol/kg}$  CDP-C was administered intraperitoneally, 2 hours before ischemia-reperfusion period. In D, E, and F groups, octreotide (OC) 25  $\mu\text{g/kg}$ ; enoxaparin sodium (ENP) 1,5 mg/kg, and OC+ENP combination (respectively) administered subcutaneously 24 h and 2 h before I/R injury respectively. Serum aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH) and  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ -GT) levels were measured to evaluate the liver damage after reperfusion. A proinflammatory cytokine; serum TNF- $\alpha$  levels were also used as a marker of inflammatory response. The histopathological examination was performed on the tissue samples of rats' livers.

The AST, ALT, LDH and  $\gamma$ -GT levels were found to be highest in the group C (CDP-C group) except group B. All parameters in OC group were significantly lower than the other medicated groups, and also there was not hepatic necrosis ( $p < 0.001$ ) .

Conclusion; OC administration is significantly more effective than CDP-C, ENP or ENP+OC combination against liver I/R injury.

**Keywords:** Liver, ischemia-reperfusion, cytidin-5'diphosphate colin, octreotide, enoksaparine sodium.

## GİRİŞ

İskemi (I), dokuların oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan artık ürünlerin dolaşım tarafından dokulardan uzaklaştırılamaması olarak tanımlanır. Reperfüzyon (R) iskemik dokuda yeniden kan dolaşımının sağlanmasıdır. İskemi reperfüzyon (I/R) hasarı ise, belli bir süre iskemik halde kalmış dokulara yeniden kan dolaşımını sağlanmasının ardından bu dokularda meydana gelen hasardır.

Bir dokuda I/R sonrası ortaya çıkan hasar, dokunun aynı toplam sürede sadece iskemiye maruz kalması sonucu oluşan hasardan daha fazladır (1). Özellikle karaciğer, kalp, akciğer, böbrek, barsaklar ve beyin gibi organlardaki doku ve hücreleri etkilemektedir. I/R hasarı, başta genel cerrahide uygulanan karaciğer rezeksiyonları, transplantasyon cerrahisi olmak üzere şok, yanık, sepsis, pankreatit, kemoterapi, serebrovasküler yada kardiyovasküler olaylar ve travmada görülebilen ve sonuçları önemli morbidite ve mortalite nedeni olabilen bir durumdur. Birçok organda ayrıntılı araştırmalara rağmen henüz I/R hasarının fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu hasarda polimorf nüveli lökosit aktivasyonu, serbest oksijen radikallerinin oluşumu, endotel ve kompleman sistemi başlıca rol oynayan komponentler olduğu bilinmektedir (2). Sonuçta lokal ve sistemik inflamatuvar cevabı başlatan bu olay lokal yada uzak organlarda değişik derecelerde hasar oluşturabilmektedir.

Karaciğerde iskemik hasar, genellikle major rezeksiyonlarda ve şok benzeri klinik durumlarda gözlenen sıcak iskemide, transplantasyon sırasında gözlenen soğuk iskemide ortaya çıkarken, reperfüzyon hasarı, karaciğer transplantasyonu ve hepatik rezeksiyon esnasında uygulanan pringle manevrası ( portal venin klemlenerek karaciğere gelen kan akımının durdurulması) veya hemorajik şok sonrasında görülen hepatik fonksiyon bozukluğu veya yetmezlikten sorumludur. Karaciğer I/R hasarı kompleks ve multifaktöriyel etkenlere bağlıdır. I/R hasarında hepatositler gibi parankimal hücreler ve kupffer hücreleri, sinüzoidal endotelial hücreler,



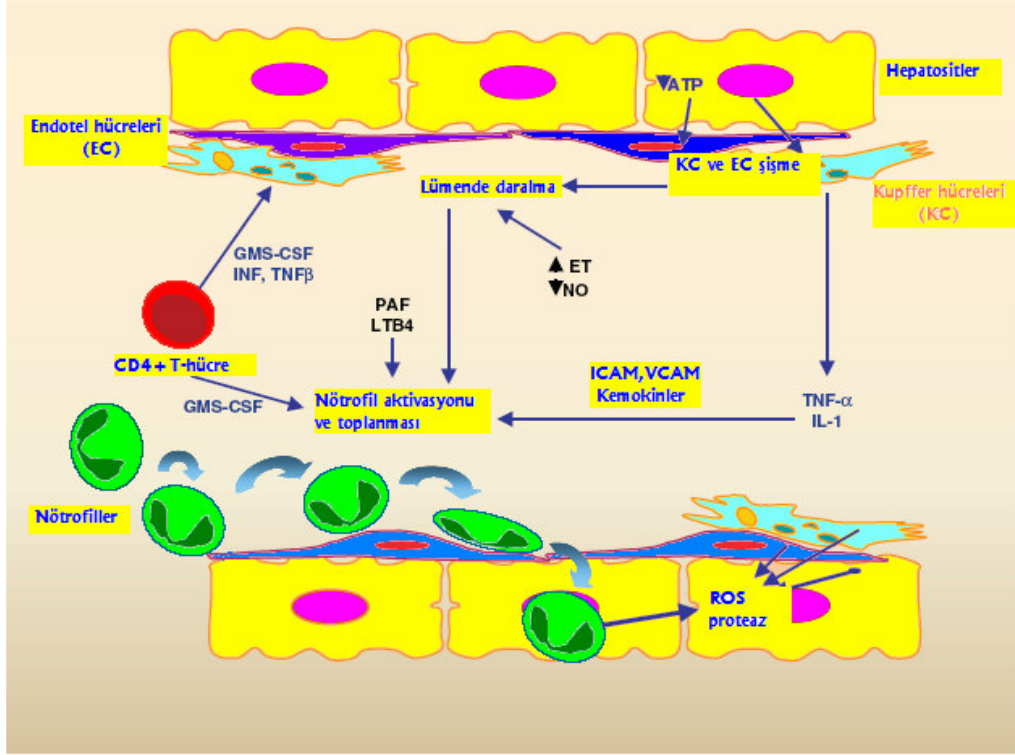
lipid depolayan ito hücreleri gibi parankimal olmayan hücreler yer almakta olup bu hücrelerin hasara verdikleri yanıt iskemi tipine göre değişiklik göstermektedir. Sinüzoidal endotel hücrelerin soğuk iskemiyeye cevabı daha belirgin iken, hepatositler sıcak iskemiyeye daha duyarlıdır. I/R hasarının temel bileşenleri, hücresel aktivasyon ve sitokin salınımı, adhezyon molekül ekspresyonu ve mikrosirkülasyonu bozukluğudur (3).

Oluşan iskeminin ilk önemli sonucu doku hipoksisine yanıt olarak hücre içindeki enerji metabolizması ve enzim fonksiyonlarındaki meydana gelen değişikliklerdir. Hücresel oksidatif fosforilasyonda azalma ile birlikte ATP ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfatların sentezinde yetmezlik görülür. Hücre membranındaki ATP bağımlı  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  iyon pompasının fonksiyonu bozulunca, hücre içine  $\text{Na}^+$  ve su girişi olur. Hücre içine meydana gelen bu akım sonucu kupffer hücreleri ve sinüzoidal endotel hücrelerinde ödem meydana gelir (4). Hücre içi  $\text{Ca}^{+2}$  hepatositlerde hücre içi ve dışı hormonların, büyüme faktörlerinin, safra asitinin ve diğer iyonların düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır (5).

İskemide artan sitozolik  $\text{Ca}^{+2}$  hücre membranındaki fosfolipazları aktive ederek membran yapısındaki bozulmayı artırır. İskemi sırasında adenin nükleotid katabolizması sonucu ATP indirgenerek hücre içinde hipoksantin birikir. Hücrelerde şişme, lizozomal bozulma ve mitokondriyal geçirgenlik ile karakterize bu durum hepatosit ve diğer hücrelerde, hücre ölümü öncesinde gelişmektedir.

Karaciğer I/R hasarının erken ve geç dönem olmak üzere iki dönemi olduğu görülmektedir. Erken dönem reperfüzyonun ilk 4 saatlik kısmı olup, bu dönemde kupffer hücre aktivasyonu görülmektedir. Aktive olmuş kupffer hücrelerinden TNF-  $\alpha$ , IL- 1 gibi proinflamatuvar sitokinler ile reaktif oksijen radikallerinin (ROR) üretimi ve salınımı gerçekleşir (6). IL- 6 ve IL- 12 gibi diğer interleükinlerde olaya katılırlar. IL- 6 ve TNF-  $\alpha$ , iskemik alanda intersellüler adezyon molekülünü (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülünü (VCAM-1) eksprese eder. Endotel hücrelerden salınarak artan bu intersellüler adezyon molekülleri geç dönem I/R hasarının öncüleridir. Reperfüzyondan 6 saat sonra I/R hasarının geç dönemi başlar.

Bu dönemde nötrofil aktivasyonu izlenir. Nötrofiller, sinüzoidal ve postsinüzoidal venüllerde toplanarak endotel hücrelerine yapışırlar. Nötrofillerden ROR ve proteaz üretim ve salınımı ile karaciğer parankim hasarı oluşur. (3, 7, 8) ( Şekil- 1).



**Şekil- 1:** İskemi – reperfüzyon hasar patofizyolojisinin içerdiği mekanizmalar.

İskemide gelişen hipoksi, ATP üretiminde azalma yapar. Enerjinin azalması membrandaki aktif taşıyıcı pompaları hasarlar. Hücre içi osmotik basınç ve elektrolit dengesizliği sonucunda KC ve EC şişme olur. Bu da sinüzoidal lümen daralması yapar. Aynı zamanda ET ve NO arasındaki dengesizlik sonucunda gelişen vazokonstriksiyon daralmayı artırır. Mikrosirkülasyondaki bozukluk nötrofil aktivasyonunu ve bölgeye yığılmasını sağlar. KC'den salınan TNF- $\alpha$  ve IL-1 ile ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunu sağlayarak endotel-nötrofil etkileşimi sağlanır. Böylece nötrofillerden proteaz ve ROR salınarak hücre hasarı meydana gelir. KC, kupffer hücre; EC, endotel hücre; ET, endotelin-1; NO, nitrik oksit.

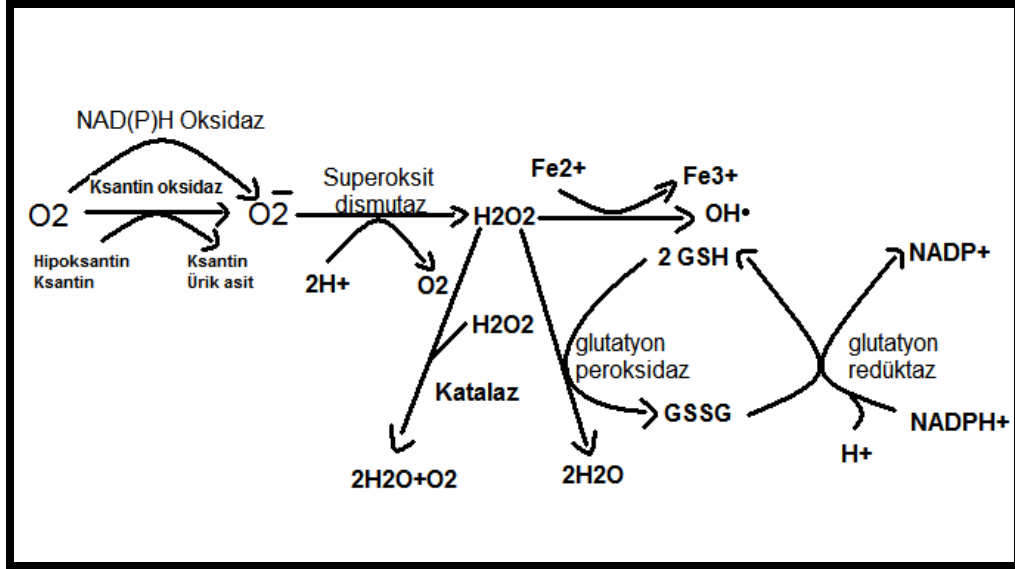
I/R hasarında bir diğer önemli nokta, mikrosirkülasyonda meydana gelen değişimlerdir. Sinüzoidal endotel hücrelerinde ortaya çıkan hasar, sinüzoidal lümendeki daralma ile birlikte vazoaaktif maddelerin oluşturduğu vazokonstrüksiyona bağlı olarak da ortaya çıkar. Perfüzyonun azalması ile birlikte nötrofillerin bu bölgede toplanması sinüzoidlerde daralmayı başlatan

nedenlerdir (9). Nitrik oksit (NO) ve endotelin-1 (ET) yine I/R hasarında rol oynayan iki önemli vazoaaktif ajanlardır. NO, L- arjininden nitrik oksit sentetaz (NOS) aracılığı ile meydana gelir (10). NO, sinüzoidlerde ve presinüzoidal bölgede vazodilatasyona neden olmaktadır (11, 12). Bunun yanında trombozu, trombosit adezyonunu, lökosit toplanması ve inflamatuvar mediyatörlerin salınımını önlemektedir (13, 14). NOS'ın, endotelial ve indüklenebilir (İNOS) olmak üzere karaciğerde 2 formu mevcuttur. Endotelial NOS aktivitesi  $Ca^{+2}$  bağımlıdır. İndüklenebilir NOS ise  $Ca^{+2}$  bağımsız olarak hepatositlerden, kupffer hücrelerinden ve endotel hücrelerinden sentezlenir. Oluşan NO yağda çözünebilir bir moleküldür. Fizyolojik durumda karaciğerde sadece endotelial NOS mevcuttur. Hepatik perfüzyon için düşük seviyelerde NOS üretimi gerçekleşir. İNOS hem koruyucu hem de toksik etkiler içerir. I/R'da İNOS mRNA ekspresyonu, reperfüzyonun 1. saatinde başlar ve 5. saatte yüksek seviyelere ulaşır (15). NO ve süperoksit anyonunu birbirine bağlayarak, peroksinitrit üretir ve bu madde ile toksik etkilerini oluşturur. Peroksinitrit, lipid peroksidasyonunu başlatır ve ATP bağımlı  $Na^{+} / K^{+}$  iyon pompasını inhibe eder (16, 17) . Endotelin- 1 ise endotelden sentezlenir ve vazokonstriksiyon yapar. Bunlar sinüzoidal yatakta vasküler tonusu etkilemektedirler. Reperfüzyonun erken döneminde NO salınımı azalır ve endotelin- 1 artar. Bu vazoaaktif ajanlar arasındaki dengenin bozulması lökosit birikimi ile beraber lümen daralma ile sonuçlanır.

İskemi fazında meydana gelen hücresel değişiklikler reperfüzyonun erken dönemindeki hücresel hasardan sorumludur. Reperfüzyonda meydana gelen hücre hasarında ise reseptörler ve mitokondriyal apoptozise neden olan yollar etkili basamaklardır (Nükleer faktör-  $\kappa B$  ve c- Jun N terminal kinaz). Hücre hasarını tetikleyen mekanizmalar bu basamaklar üzerinden ilerlemektedir (18). ROR, nükleer faktör-  $\kappa B$  (NF-  $\kappa B$ ) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederken, aktive olan NF-  $\kappa B$  ise İNOS, sitokinler (TNF- $\alpha$ ) ve adezyon moleküllerinin (ICAM-1) sentezini artırır (19).

Hepatik I/R hasarı sonucu süperoksit anyonları ( $O_2^{-}$ ), hidroksil radikalleri ( $OH^{-}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) reaktif oksijen radikallerini

oluşturmaktadır. Hipoksantin normal bir işleyişte ksantin dehidrogenaz aracılığı ile ksantine dönüşürken, iskemi durumunda ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür. İskemi sırasında ksantin oksidaz oksijeni substrat olarak kullanamadığından, hipoksantin ksantine dönüşümü katalizlenemez ve seviyesi artar (20, 21). Doku reperfüze olduğunda ksantin oksidaz birikmiş olan hipoksantini toksik olan reaktif oksijen radikallerine (ROR) dönüştürür (Şekil- 2).



**Şekil- 2:** Serbest oksijen radikali oluşumu ve temizlenmesi. Glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz aracılığı ile hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalizler.

Hücre membranında lipid peroksidasyonu ile birlikte nükleer ve mitokondriyal DNA hasarı meydana getiren reaktif oksijen radikalleri bu şekilde direkt hücre hasarına yol açarken ek olarak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi de uyarırlar. Antioksidan olarak bilinen maddeler reaktif oksijen radikalleri üretiminde rol oynayan bazı enzimlerin etkilerini sınırlayarak oksidatif hasarı önleyebilirler. Farklı organlarda farklı konsantrasyonlarda bulunan bu antioksidan maddeler mekanizmalarına (ROR temizleyen veya ROR katalizleyerek ortadan kaldıran), orjinlerine (doğal yada sentetik), değişik özelliklerine (lipofilik veya hidrofilik) ve etki ettikleri bölgelere (hücre içi, membran ve hücre dışı) göre sınıflandırılabilirler (22). Ksantin

oksidoredüktaz (XOR) ve mitokondri ROR üretiminde ana intrasellüler kaynaklar iken, kupffer hücreleri ve aktive olmuş nötrofiller reperfüzyon fazının ana ekstrasellüler ROR kaynaklarıdır. Katalaz, Glutasyon peroksidaz ve Süperoksid dismutaz (SOD) ise ana intrasellüler antioksidan enzimlerdir (23) .

I/R hasarı ile ilgili literatüre bakıldığında hasarı önleme ya da hasar oluştuktan sonra bunu sınırlandırmakla ilgili çok değişik çalışmaların yapıldığı, uygulanan farklı etki mekanizmasına sahip maddelerin yine farklı sonuçlar ortaya çıkardığı görülmektedir. Literatürde özellikle santral sinir sisteminde uygulandığında I/R hasarını azalttığı değişik çalışmalarda gösterilmiş sitidin-5'-difosfat kolin, düşük molekül ağırlıklı (DMAH) bir heparin olan enoksaparin sodyum ve bir somatostatin sentetik analogu olan oktreotid ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (32, 33, 43, 44).

Sitidin- 5' - difosfat kolin (CDP- kolin) vücudumuzda endojen olarak sentezlenen polarize bir molekül olup, nükleotid yapıdadır. Vücuda dışarıdan verildiğinde çeşitli fizyolojik ve farmakolojik etkiler oluşturabilmektedir. Çok sayıda deneysel modelde bu etkiler ortaya konmuş, bu çalışmalardan yararlanılarak günümüzde özellikle kafa travmaları, stroke, serebrovasküler hastalıklar gibi doku iskemisi ve hipoksisi ile seyreden durumlarda klinik kullanımı önerilmektedir (50, 51 , 52) . Fosfotidilkolin (FK) ökaryotik hücrelerde hücre membranının en önemli fosfolipididir (24). Fosfotidilkolin sentezi 2 yol üzerinden meydana gelmektedir. Bunlardan birincisi ve esas olan sitidin - 5' - difosfat kolin (CDP- kolin) yoludur. Bu yol 3 aşamadan oluşmaktadır ve 1956 yılında Eugene Kennedy ve Weiss tarafından tanımlanmıştır (25). Bu basamakların ilkinde kolin, kolin kinaz (CK) enzimi ile katalizlenerek fosforile olur ve ortaya fosfokolin çıkar. İkinci basamakta sitidin trifosfat (CTP) ile sitidil transferaz (CT) enzimi aracılığı reaksiyona girerek CDP- kolin sentezlenir. Üçüncü basamakta ise CDP- kolin, kolinfosfotransferaz (CPT) enzimi aracılığı ile diaçilgliserol ile birleşir ve fosfotidilkolin oluşur. CDP- kolin sentezi fosfotidilkolin sentezinin hız sınırlayıcı basamağı olup, çeşitli tedavilerle kolin, sitidin gibi ön maddelerin verilmesi ile CDP- kolin miktarının artırılabilirdiği durumlarda veya doğrudan

CDP- kolin verilmesi ile fosfotidil kolin sentezinde artış olabilmektedir (26). Bu da CDP- kolin verilerek hücre membranlarının onarılması veya yenilenmesi anlamına gelmektedir. Normal koşullarda Kennedy yolağında yön fosfotidilkolin sentezine giden yöndür. İskemik veya hipoksik koşullarda yön tersine dönerek fosfotidilkolin yıkılır ve serbest yağ asitleri oluşur. Hücre membranında fosfotidilkolin içeriği azalırken serbest yağ asiti konsantrasyonu artar.

İskemik ve hipoksik koşullarda dışarıdan CDP- kolin verilmesi halinde membran fosfotidil kolin sentezini artırarak yolağın işleyişini normale çevirmek mümkün olabilir. Karaciğerde I/R hasarında literatürde CDP- kolin kullanılan bir çalışma olmasa da , çeşitli serebral I/R modellerinde CDP- kolin tedavisi ile serbest yağ asitlerinin azaldığı ve fosfotidilkolin düzeylerinin korunduğu buna bağlı nöronal yaşam sürelerinde artış, nörolojik defisitlerde azalma saptandığı rapor edilmiştir (51, 53). Yine CDP- kolinin iskemik beyin dokusunda fosfolipaz A2 aktivasyonunu engelleyip bu yolla araşidonik asit, ROR ve Lipid peroksidasyonunu azaltarak ve indirgenmiş glutasyonu artırarak fosfotidilkolin düzeylerini koruyabildiği gösterilmiştir (27).

Fosfotidilkolin sentezinin alternatif sentez yolu ise karaciğerde fosfotidiletanolamin N - metiltransferaz (PEMT) enziminin katalizlediği fosfotidiletanolaminden (PE) fosfotidilkoline olan dönüşüm yolu olan metilasyon yoludur. Hepatik fosfotidilkolin sentezinin esas olarak bu yol aracılığı ile sağlandığı bilinmektedir. Fosfotidiletanolamin N - metiltransferaz (PEMT) enzim eksikliği olan farelerde kolinden fakir diyetle yapılan çalışmalarda, hepatic fosfotidilkolin sentezinin azaldığı ve sonuçta şiddetli karaciğer hasarı ortaya çıktığı gösterilmiştir (28).

Düşük molekül ağırlıklı heparinler , heparinin kanama, lökopeni gibi kullanımını kısıtlayıcı yan etkileri olmayan, plazma proteinleri ve endotel hücrelerine bağlanmayan farmakolojik ajanlar olup, biyoyararlanımları oldukça yüksektir. Enoksaparin sodyum bu grubun bir üyesi olarak halen kullanılmaktadır. Daha önce DMAH'lerin karaciğer iskemi- reperfüzyon hasarındaki etkilerini direkt olarak araştıran literatürde yer alan herhangi bir çalışma olmamakla birlikte, DMAH'lerin karaciğer toksisitesini azaltan

yine hepatik fibrozisi ile hepatosit nekrozunu azaltan etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (54). Yine inflamatuvar barsak hastalıklarında etkili olabileceğini destekleyen trombositoz ve hiperkoagülasyon sonucu oluşabilecek iskemik komplikasyonları azaltabilecek antikoagülan mekanizması, ayrıca nötrofil göçünü inhibe ettiği ve proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı, reaktif oksijen radikali üretimini engellediği, damar geçirgenliğini artırdığı saptanan antiinflamatuvar etki hipotezini savunan çalışmalar da mevcuttur (29).

Oktreotid, immünmodülatör özellikleri olan doğal peptid yapıda bir somatostatin analogudur. Biyolojik etkisi aynı, yarı ömrü daha uzundur. Somatostatinin intestinal motiliteyi, ilaç ve besin emilimini, vasküler kontraktiliteyi ve hücre proliferasyonunu inhibe edici etkileri mevcuttur. Ratlarda somatostatinin antiinflamatuvar etkinliğini araştıran deneysel çalışmalar incelendiğinde, endotoksin, IL-1, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  'nın azalmasını ve neredeyse normal değerlerine dönmesini sağlayabildiği gösterilmiştir. Oktreotidin uygun şekilde vazodilatasyon yaparak intestinal ve kolonik kan akışını artırabildiği, intrapancreatik olarak yeniden kan dağılımını sağladığı ve pankreas hücrelerinin salgıladığı hormonların dolaşımını artırdığı bildirilmiştir. İnsanlarda yapılmış başka bir deneysel çalışmada, zayıflayan mikrosirkülasyonun postkapiller venüllerde nötrofillerin staz ve agregasyonuna, artmış damar permeabilitesine, arteriyoler perfüzyonunun bozulması ve sonunda iskemi-reperfüzyon hasarına benzeyen bir tablonun gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir. Endotelial hücrelerle nötrofillerin karşılıklı etkileşimi, vasküler endoteliumdaki adhezyon moleküllerinin uyarılmasına ve nötrofiller tarafından üretilen serbest oksijen radikalleri ile birlikte vasküler endotelde hasara neden olur. Bu durum ise kapiller lümeninde daralma, obstrüksiyon ve kapillerlerin fonksiyonunun bozması ile sonuçlanır.

Oktreotid uygulanan ve uygulanmayan olguların karşılaştırıldığı bir çalışmada, oktreotid uygulananlarda post kapiller venüllerdeki değişikliklerin, uygulanmayan gruba göre anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir. Oktreotidin endotelial hücrelerle nötrofillerin karşılıklı

etkileşimini azaltarak, postkapiller venüllerde nötrofil adheziyonunu önlediği böylece de koruyucu bir etki yaptığı görülmüştür. Oktreotidin prostasiklin (PG-I<sub>2</sub>) düzeyini azaltarak eikosanoid üretimini de azalttığı ve vazokonstrüktif lökotrienlerin sentezini baskıladığı görülmüştür (38, 39).



## GEREÇ VE YÖNTEM

### Deney Hayvanları

Bu çalışmaya aynı yaş ve yaklaşık ağırlıkta (250- 300 gr), Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme ve Araştırma Merkezinde yetiştirilen ve standart şartlarda uygun ısı, rutubet ve havalandırması olan odalarda 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık periyodunda , diyet ve su ile beslenen 72 adet dişi wistar- albino rat alınmıştır. Çalışma Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi Etik Kurulunun izni ile (Karar No:28.11.2006/1) aynı merkezde gerçekleştirilmiştir.

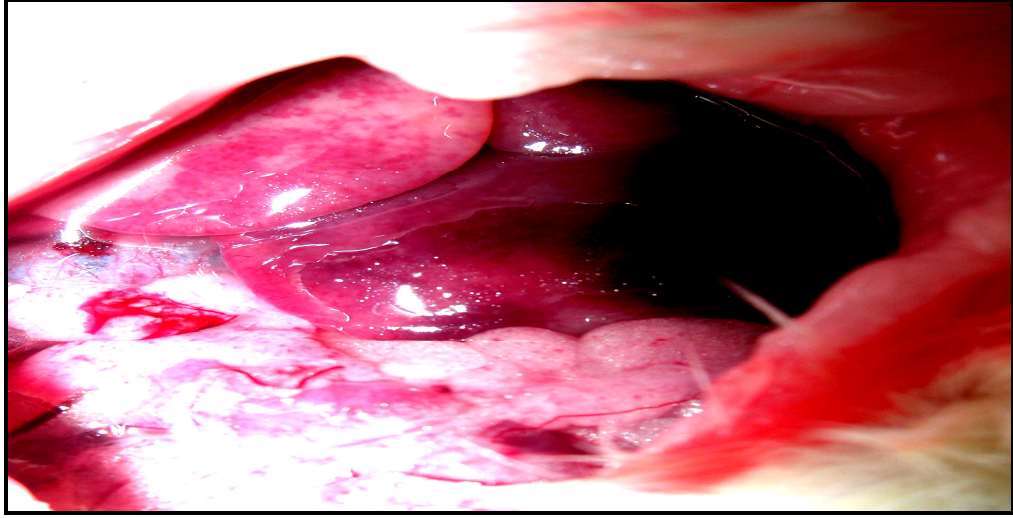
### Deneysel Protokol

Her grupta 12 adet rat olacak şekilde 6 farklı grup oluşturuldu. Çalışmadan 2 saat önce standart diyet kesilerek sadece su almalarına izin verildi. Tüm deney gruplarında ratlar, intramusküler (i.m) 5 mg / kg Xylazin (Romphun) ve 50 mg / kg Ketamin (Ketalar) anestezisi altında deney masasına alındı. Steril şartlarda, cilt traşı yapılmaksızın, batına orta hatta 4 cm' lik insizyon ile standart laparotomi uygulandı (Şekil- 3).



**Şekil- 3:** Laparatomiyi takiben karaciğerin normal görünümü

Karaciğere giden portal ven, hepatik arter ve ana safra kanalından meydana gelen hepatoduodenal ligaman vasküler klemp ile klemlenerek 30 dk süreli total hepatik iskemi oluşturuldu. Karaciğer yüzeyinde iskemi ile oluşan renk değişikliği gözlemlendi (Şekil- 4).



**Şekil- 4:** İskemiye takiben karaciğer yüzeyinde oluşan renk değişimi

İskemi dönemini takiben vasküler klemp açılarak , 2 saatlik bir zaman periyodunu içeren reperfüzyon fazına geçildi. Laparotomi esnasında zorunlu kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacı ile vücut ağırlığının %5' i oranında serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edilerek , cilt stapler (APPOSE ULC 35 W, Auto Suture \*) ile kapatıldı. Sham grubuna (Grup A) sadece standart laparotomi uygulandı. Grup B (I/R) olgularına standart laparotomi sonrasında tarif edilen iskemi- reperfüzyon prosedürü uygulandı. Grup C' de yer alan ratlara hepatik iskemi oluşturmadan 2 saat önce Sitidin- 5'- difosfat kolin (CDP- Kolin) (Cytidine- 5 ' - diphosphocholine Sodium Salt hydrate 1g, Fluka Biochemika Italy) 600 µmol / kg dozda intraperitoneal (i.p) uygulanarak, I/R periyoduna sokuldu.D grubunda yer alan ratlara preoperatif 24 saat önce ilk dozu ve preoperatif 2 saat önce ikinci dozu olmak üzere Oktreotid (Sandostatin ampul 0,1 mg / 1ml, Novartis) 25 µg / kg subkutan (s.c) uygulanarak, I/R periyoduna sokuldu. E grubundaki ratlara yine preoperatif 24 saat önce ilk dozu ve preoperatif 2

saat önce ikinci dozu olmak üzere enoksaparin sodyum (Clexane 6000 anti-Xa IU, Aventis) 1,5 mg / kg / (s.c) uygulanarak yine aynı şekilde I/R periyoduna sokuldu. Son olarak Grup F' de yer alan ratlara yine preoperatif 24 saat önce ilk dozları ve preoperatif 2 saat önce ikinci dozları olmak üzere Oktreotid 25 µg / kg (s.c) ve enoksaparin sodyum 1,5 mg / kg (s.c) kombine olarak uygulandı ve takiben I/R periyoduna alındı.

Bütün gruplara 2 saatlik reperfüzyonu takiben tekrar laparotomi uygulandı. Tüm ratların karaciğer sol lobları patolojik inceleme amacıyla %10 formalin solüsyonuna alınarak saklandı. I/R sürecinde ratlar devamlı olarak anestezi altında tutuldular. Bu işlemleri takiben tüm ratlar kardiyak pankçır ile sakrifiye edilirken, 5 ml kan örneği biyokimyasal analiz için alınıp saklandı ve deney sonlandırıldı (Tablo-1).

**Tablo- 1:** Gruplara göre uygulanan deneysel protokoller

	Uygulanan Madde	Uygulanan Prosedür	I (dk)	R (saat)
<b>GRUP A</b>	---	Laparotomi	--	--
<b>GRUP B</b>	---	Laparotomi	30	2
<b>GRUP C</b>	CDP-Kolin	İskemiden 2 saat önce 600 µmol / kg intraperitoneal (i.p)	30	2
<b>GRUP D</b>	Oktreotid	İskemiden 24 saat ve 2 saat önce 25µg / kg / (s. c)	30	2
<b>GRUP E</b>	Enoksaparin sodyum	İskemiden 24 saat ve 2 saat önce 1,5 mg / kg / (s. c)	30	2
<b>GRUP F</b>	Oktreotid + Enoksaparin Sodyum	İskemiden 24 saat ve 2 saat önce Oktreotid 25 µg / kg / (s. c) + Enoksaparin 1,5 mg / kg / (s. c)	30	2

## **Biyokimyasal Analizler**

Ratlardan alınan 5 ml kan örnekleri, 2000 devirde (Nüve- NF 1000 R, Soğutmalı santrifüj ) 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri -80° C de (HETO- Derin dondurucu) saklandı. Karaciğer hasarını belirlemek için toplanan serum örneklerinde aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) , gama-glutamil transferaz (γ- GT) değerleri ölçüldü. Yine organ yetmezliklerinin temel patojenik özelliği olan genel inflamatuvar yanıtı yansıtan proinflamatuvar bir sitokin olan tümör nekrotizan faktör alfa (TNF-α) seviyeleri değerlendirildi.

## **Histopatolojik Analiz**

I/R periyodu sonrasında alınan ve %10' luk formolde karaciğer sol lob doku örnekleri, doku gömme cihazında (Shandon Histocentre 3 Thermo Electron Corporation, Pittsburgh, USA) parafin ile blok haline getirildi. 1µ kalınlıkta kızaklı mikrotom (Leica SM2000R Microtome, Leica Instruments GmbH, Germany) ile kesilerek Hematoksilen- Eosin (H- E) ile boyandı. Işık mikroskopu altında Santral ven dilatasyonu, sinüzoidal konjesyon, hepatositlerdeki dejenerasyon ve nekroz incelendi. Hasarı derecelendirmede, gözlenen her parankimal değişiklik için yüzdelik dilim belirlendi. Buna göre %50'den daha yüksek oranda değişiklik gözlenen durumlar şiddetli, bu değer altındakiler ise hafif olarak yorumlandı.

## **İstatistikler Analiz**

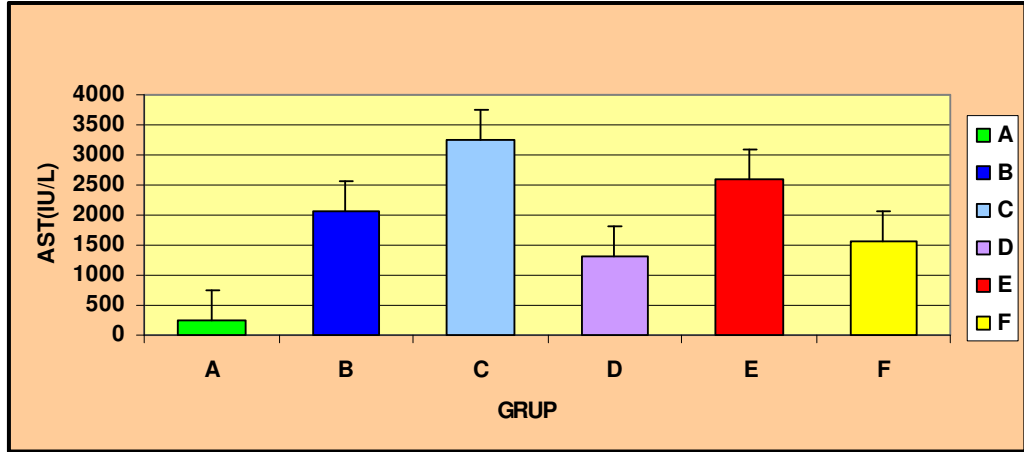
Biyokimyasal ve histopatolojik sonuçların istatistiksel değerlendirilmeleri Uludağ Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından SPSS for Windows Ver. 13.0 istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Grupların parametrelere göre tanımlayıcı istatistikleri ortalama , standart sapma, ortanca (medyan); kategorik veriler

ise sıklık ve yüzde olarak (n, % ) sunuldu. İstatistiksel analizler Pearson ki-kare testi, Kruskal Wallis Test yardımı ile ve bu parametrelerin birbirlerine üstünlükleri Mann- Whitney U Test ile hesaplandı. p-değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Karaciğerin I/R hasarını gösteren Biyokimyasal Parametreler

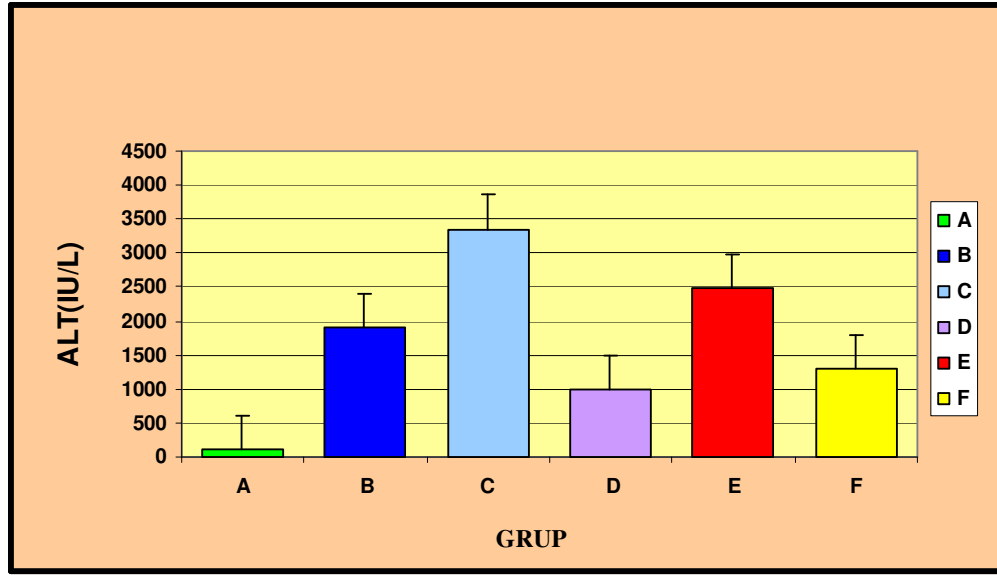
Sadece laparotomi uygulanan grup A' da ölçülen AST en düşük değeri 186 IU/ L olarak bulundu. Laparotomi ile birlikte I/R uygulanan grup B'de ise en düşük AST değeri 1464 IU/ L olarak ölçüldü. Grup C, grup E, grup F'de ortalama AST değerleri 1500 IU/ L' nin üzerinde saptandı. Özellikle iskemiden 24 saat ve 2 saat önce oktreotid uygulanan ve daha sonra I/R prosedürüne sokulan grup D' de ortanca AST değerinin 1221 IU/ L ve minimum AST değerinin 187 IU/ L olduğu, bu değerlerin grup A' ya en yakın değerler olduğu bulundu. Enoksaparin sodyum verilen grup E ile Enoksaparin sodyum ile Oktreotidin birlikte verildiği grup F AST değerleri açısından karşılaştırıldığında ise kombine grup F de AST değerlerinin belirgin olarak daha düşük olduğu görülmektedir. (Şekil-5)



Şekil- 5: AST'nin gruplara göre ortalama değerleri

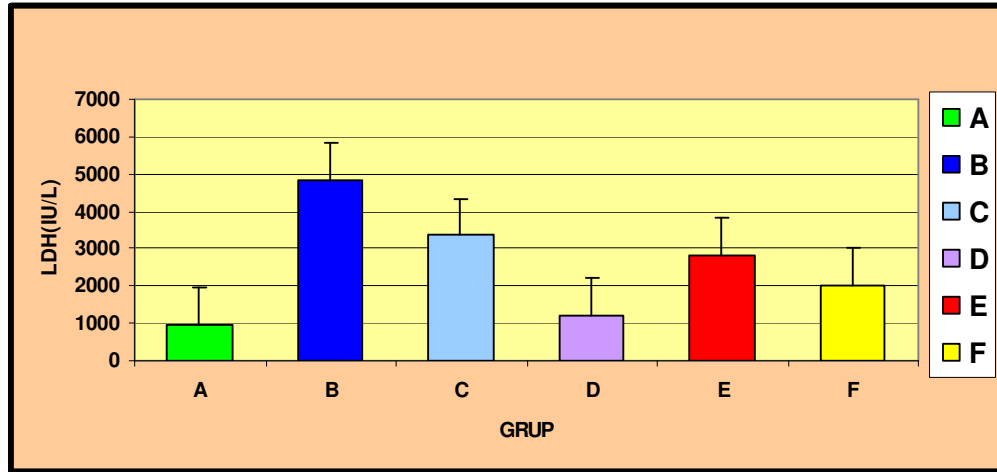
Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının daha spesifik bir göstergesi olan ALT değerlerine bakıldığında, AST ile paralellik gösteren değerler olduğu görülmektedir. Fakat ALT açısından grup A ile diğer grupların ortalama değerleri arasındaki oranın azaldığı saptanmıştır. Grup A' da ALT

değerleri 81-267 IU/ L arasında değişmektedir. Gruplar genel olarak değerlendirildiğinde grup D' de ALT değerlerinin diğer gruplara göre grup A' ya en yakın değerde olduğu görülmektedir. Bunun yanında grup C' de ortalama ALT değeri diğer gruplara göre en yüksek değer olan 3353.75IU/ L olarak ölçülmüştür. Yine enoksaparin sodyum verilen grup E ile enoksaparin sodyum ile oktreotidin birlikte verildiği grup F'nin ALT ortalama değerleri açısından karşılaştırıldığında ise kombine grup F de ALT ortalama değerlerinin % 52.1 oranında daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil-6).



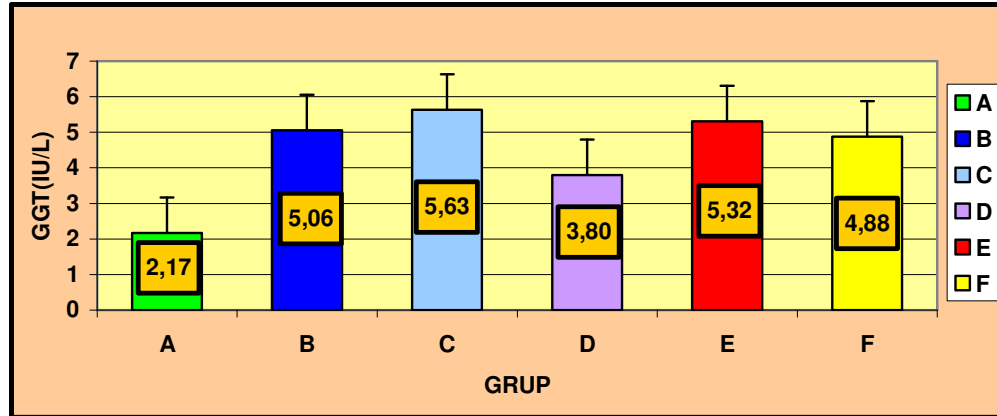
**Şekil- 6:** ALT'nin gruplara göre ortalama değerleri

LDH değerlerinde ise sham grubu (Grup A) ile diğer grupların karşılaştırılmasında sadece oktreotid kullanılan grup D ile aralarında anlamlı fark olmadığı, diğer gruplar ile anlamlı fark olduğu saptandı. LDH için grup A'da median değer 943,50 IU / L iken, grup B' de 4874 IU / L ölçülmüştür. Yine grup D'de LDH için median değer 1208 IU/L olarak ölçülmüş, oktreotid ve enoksaparin sodyumun birlikte kullanıldığı grup F de ise median değer 1987,5 IU/ L olarak ölçülmüştür. Bu iki grup değerlendirildiğinde grup D'de grup F'ye göre LDH değerleri istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük bulunmuştur (p=0,002) (Şekil-7).



**Şekil- 7:** LDH' in gruplara göre ortalama değerleri

Gama- glutamil transferaz ölçümleri tüm gruplarda normal sınırlar içinde bulunmuş (0-50 IU / L) ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,427) (Şekil-8).

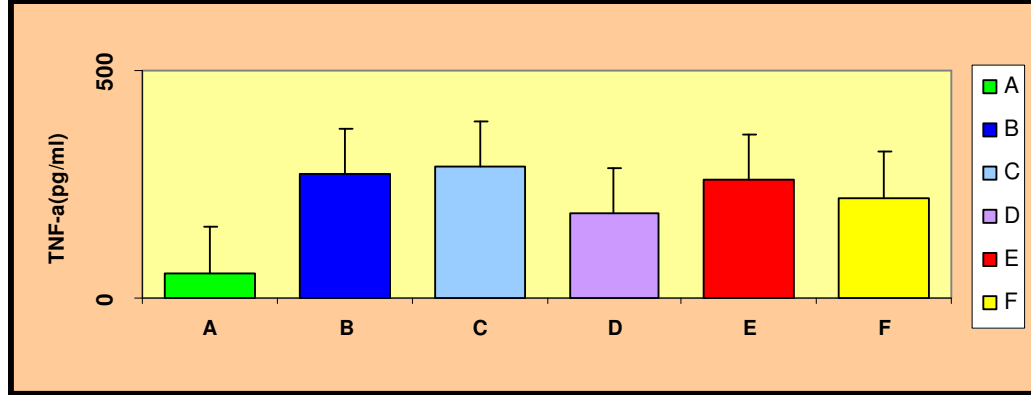


**Şekil- 8:** Gruplara göre ortalama  $\gamma$ -GT (IU / L) değerleri

Çalışmamızda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı yanında genel inflamatuvar yanıtı yansıtan proinflamatuvar bir sitokin olan tümör nekrotizan faktör alfa (TNF-  $\alpha$ ) seviyeleri de araştırılmış ve en yüksek ortalama değerler grup C' de (287,96 pg / ml ) saptanmıştır. Grup A' da TNF-  $\alpha$  değerleri 48,4-63,2 pg / ml olarak ölçülmüştür. Oktreotid uygulanan grup D'



de TNF-  $\alpha$  değerleri grup A' ya göre yüksek olmakla birlikte diğer gruplara oranla daha düşük olarak bulunmuştur (şekil-9).



**şekil- 9:** TNF- $\alpha$  ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

AST, ALT, LDH ve TNF-  $\alpha$  değerlerinde gruplar arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlılık mevcuttu. Tablo-2' de gruplardaki ortalama değer  $\pm$  standart sapmaları (SS) gösterilmiştir.

**Tablo-2:**Gruplara göre biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri ( $\pm$ SS)\*

	AST(IU/L)	ALT(IU/L)	LDH(IU/L)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
Grup A	261,6 $\pm$ 59,9	111,6 $\pm$ 51,4	978,7 $\pm$ 253,8	55,19 $\pm$ 4,7
Grup B	2061,5 $\pm$ 493,7	1891,7 $\pm$ 516,9	4828,9 $\pm$ 1146,9	273,2 $\pm$ 31,6
Grup C	3246,6 $\pm$ 1207,7	3353,7 $\pm$ 2453,8	3352 $\pm$ 875,1	287,9 $\pm$ 25,9
Grup D	1313,3 $\pm$ 902,3	1001,2 $\pm$ 691,6	1225,3 $\pm$ 427,4	184,3 $\pm$ 26,1
Grup E	2600,5 $\pm$ 1224,7	2468,7 $\pm$ 1440,5	2844,3 $\pm$ 1202,1	261,2 $\pm$ 40,4
Grup F	1544,5 $\pm$ 685,8	1297,2 $\pm$ 675,6	2026,5 $\pm$ 697,7	220,3 $\pm$ 28,2
p-değeri	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

\*Kruskal Wallis test

Oktreotid verilen grup D ile enoksaparin sodyum verilen grup E arasındaki karşılaştırmada AST, ALT, LDH ve TNF-  $\alpha$  değerlerinin tamamı için istatistiksel anlamlılık olduğu görüldü. Buna karşın grup D ile grup F karşılaştırıldığında sadece LDH ve TNF-  $\alpha$  değerlerinde grup D lehinde

anlamli farklilik olduğu görüldü. Grup E ile grup F' nin karşılaştırılmasında ise sadece AST ve TNF-  $\alpha$  değerlerinde grup F lehine anlamli farklilik bulundu. (Tablo-3)

**Tablo-3:** Gruplar arasındaki istatistiksel veriler\*

GRUP	AST	ALT	LDH	TNF- $\alpha$
A-B	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
A-C	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
A-D	p<0,001	p<0,001	p=0,089	p<0,001
A-E	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
A-F	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
B-C	p=0,024	p=0,114	p=0,004	p=0,266
B-D	p=0,003	p=0,001	p<0,001	p<0,001
B-E	p=0,242	p=0,242	p=0,001	p=0,551
B-F	p=0,007	p=0,010	p<0,001	p<0,001
C-D	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
C-E	p=0,160	p=0,630	p=0,347	p=0,060
C-F	p<0,001	p=0,002	p=0,001	p<0,001
D-E	p=0,020	p=0,010	p=0,003	p<0,001
D-F	p=0,291	p=0,178	p=0,002	p=0,004
E-F	p=0,045	p=0,060	p=0,114	p=0,017

\* Gruplar arası karşılaştırma( Mann-Whitney U test)

Grup A ile grup D karşılaştırıldığında sadece LDH' da istatistiksel olarak anlamli bir fark saptanmadı (p=0,089). Diğer biyokimyasal parametreler için bu iki grup arasında anlamli fark olmasına rağmen (p<0,001), diğer gruplarla karşılaştırıldığında sham grubuna (Grup A) en yakın değerler grup D'de saptanmıştır.

## I/R Hasarındaki Histopatolojik Parankimal Değişiklikler

Karaciğer dokularının incelenmesinde, grup A'da %16,6 , I/R uygulanan grup B ile oktreotid uygulanan grup D'de %58 oranında sinüzoidal konjesyon gözlenirken, grup A dışındaki diğer gruplarda dokuların tamamına yakınında sinüzoidal konjesyon mevcuttu. Santral ven dilatasyonu ise grup B' nin tamamında şiddetli dilatasyon şeklinde gözlendi. Grup A' da 3, oktreotid kullanılan grup D' de sadece 2 adet karaciğer dokusunda şiddetli olmayan santral ven dilatasyonu saptanırken, grup D' ye ait diğer dokularda santral ven dilatasyonu hiç yoktu. Hepatosit dejenerasyonu grup A ve D'de hiç gözlenmezken, A grubunda 3, D grubunda 2 karaciğer dokusunda hidropik dejenerasyon gözlendi. Grup B'de %66.6, C'de %50, grup F' de %25, oranında hepatosit dejenerasyonu gözlenmiştir. Grup B' de dokuların tamamında nekroz gözlenirken, grup D' de karaciğer nekrozu A grubuna benzer şekilde hiçbir dokuda gözlenmedi. CDP- kolin kullanılan C grubunda ise %40' ı şiddetli nekroz olmak üzere % 83,3 oranında nekroz saptandı. Karaciğer dokusundaki santral ven dilatasyonu, sinüzoidal konjesyon, hepatosit dejenerasyonu ve nekroz varlığına bakıldığında gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (Tablo-4).

**Tablo-4:** Karaciğer dokusunda gözlenen değişikliklerin gruplara göre dağılımı\*

	Santral ven dilatasyonu		Sinüzoidal konjesyon		Hepatosit dejenerasyonu		Nekroz	
	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok
Grup A	3	9	2	10	0	12	0	12
Grup B	12	0	7	5	8	4	12	0
Grup C	8	4	12	0	6	6	10	2
Grup D	2	10	7	5	0	12	0	12
Grup E	6	6	12	0	8	4	9	3
Grup F	5	7	11	1	3	9	10	2
p değeri *	=0,001		<0,001		<0,001		<0,001	

\* Kolmogorov-Smirnov Test

Santral ven dilatasyonu yönünden A grubu ile sadece I/R oluşturulan grup B arasında, grup A lehinde anlamlı farklılık vardı ( $p<0,001$ ). B grubu ile grup D arasında ( $p<0,001$ ), grup B ve E arasında ( $p=0,014$ ), grup B ile F arasında ( $p=0,019$ ), sırası ile D,E,F grupları lehine istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Grup A ile grup D santral ven dilatasyonu açısından değerlendirildiğinde A grubunda 3, D grubunda 2 adet santral ven dilatasyonu saptandı ki istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Sham grubunda parankimal değişiklik oranı deney sonrasında %10,4 iken, grup B'de %81.2 , grup C'de %75 oktreotid kullanılan grup D' de %18,7'dir. Tek başına enoksaparin sodyum verilen grup E'de %72.9 olan parankimal hasar oranı,kombine grup F'de %64.5 olarak ölçülmüştür. Tüm gruplar değerlendirildiğinde grup D' de genel olarak ve özellikle de şiddetli parankimal hasarın belirgin olarak az olduğu görülmektedir (Tablo-5).

**Tablo-5:** Gruplar arasındaki parankimal değişiklikler

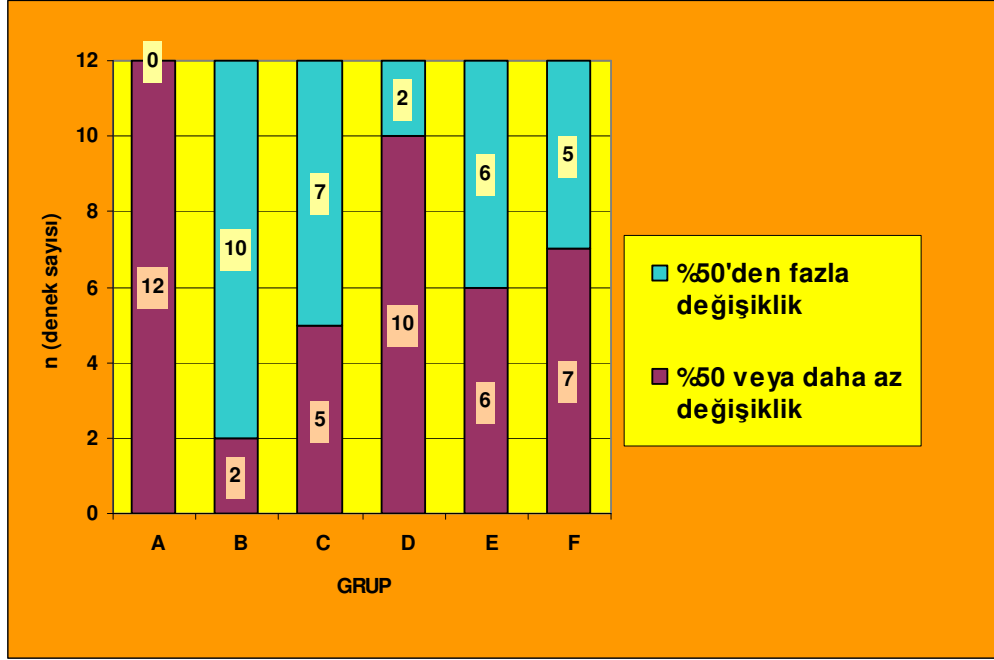
	Santral ven dilatasyonu	Sinüzoidal konjesyon	Hepatosit dejenerasyonu	Nekroz
Grup 1*	$p>0.05$	$p=0.089$	$p>0.05$	$p>0.05$
Grup 2**	$p<0.001$	$p=0,683$	$p=0,038$	$p<0.001$
Grup 3***	$p=0.089$	$p=0.027$	$p>0.05$	$p<0.001$

\*Sham grubu ile Oktreotid arasında Pearson ki-kare test

\*\*I / R grubu ile Oktreotid grubu arasında Pearson ki-kare test

\*\*\*Oktreotid grubu ile kombine grup arasında Pearson ki-kare test

Oktreotid kullanılan grupta I/R sonrası oluşan hasarın çoğu %50'nin altında saptanmış,yine kombine grupta buna yakın şekilde hasarın çoğu %50'nin altında bulunmuştur (Şekil- 10).



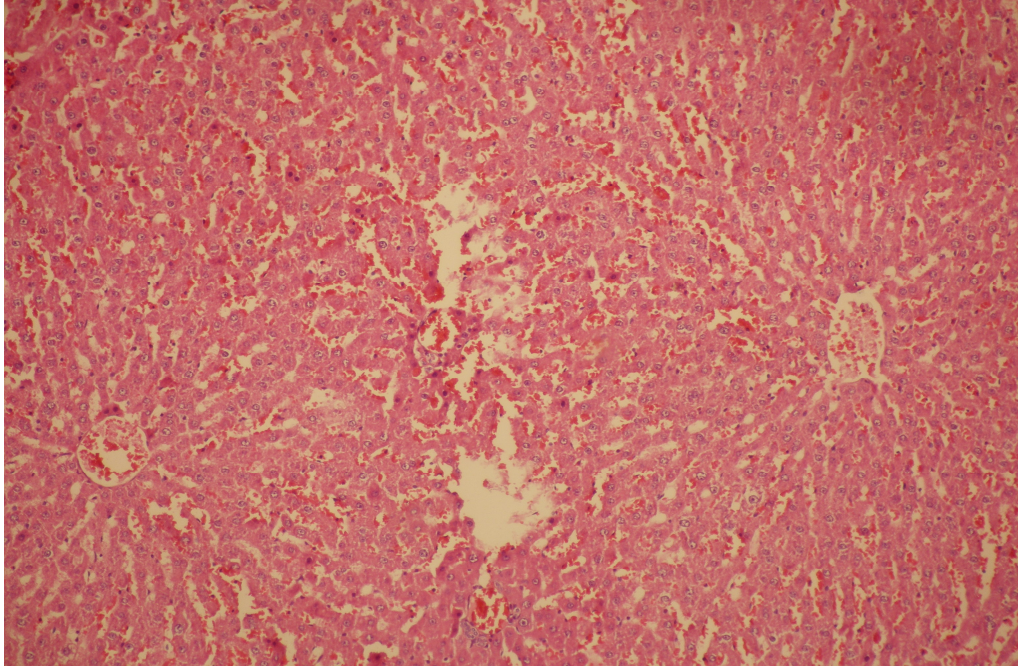
**Şekil- 10:** Parankimdeki > % 50 değişikliğin gruplara göre dağılımı

I/R grubunda gözlenen genişlemiş santral ven ve komşuluğundaki yaygın nekroz alanları hasar için patognomoniktir (Şekil-11).



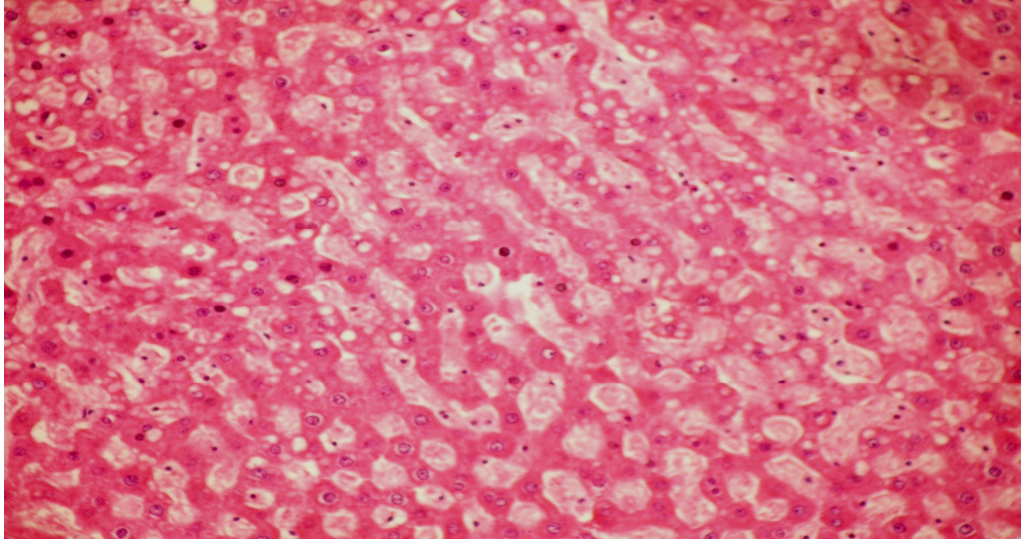
**Şekil- 11:** I/R grubunda gözlenen parankimal değişiklikler

Mikroskopik incelemesi yapılan karaciğer alanlarında tüm gruplarda sinüzoidal konjesyon mevcuttu. Grup C ve grup E' de dokuların tamamında belirgin sinüzoidal konjesyon saptandı (Şekil- 12).



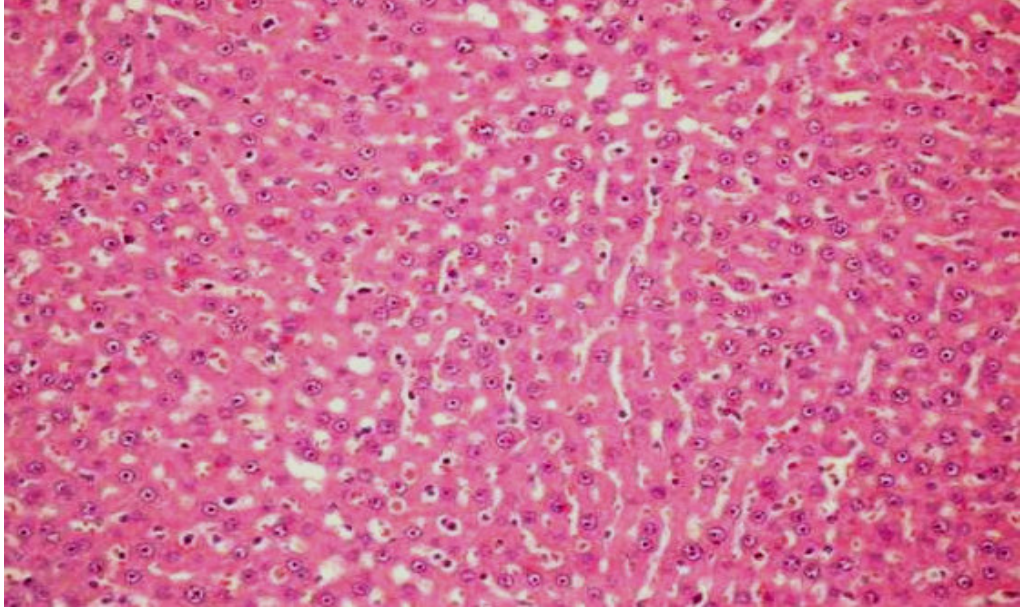
**Şekil -12:** CDP-kolin uygulanan grupta ciddi sinüzoidal konjesyon

Hepatositlerde I/R hasarında meydana gelen değişiklikler parankimal değişikliklerin değerlendirilmesinde en önemli rolü oynamaktadır. Parankimal değişiklikler içinde ise geri dönüşümsüz hasarı asıl olarak hepatosit dejenerasyonu ve nekroz göstermektedir. Sham grubu (grup A) ve oktreotid kullanılan grup D'de hepatosit dejenerasyonu gözlenmemiştir. Özellikle enoksaparin sodyum kullanılan grupta belirgin yağlı dejenerasyon dikkati çekmiştir (Şekil- 13).



**Şekil- 13:** Enoksaparin sodyum uygulanan grupta yağlı dejenerasyon

Grup C' de dokuların tamamına yakınında belirgin nekroz gözlenirken, özellikle grup D'de minimal hidropik dejenerasyon dışında herhangi bir nekroz alanı izlenmemiştir (Şekil- 14).



**Şekil- 14:** Grup D'de I/R hasarından korunmuş karaciğer dokusu

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Dokulara gelen kan akımının kesilmesi ile başlayan iskemi ve bunu takiben revaskülarizasyon ile oluşan reperfüzyon süreci hücre ölümü ile başlayıp organ fonksiyon bozukluğuna kadar uzanabilen patolojik reaksiyonlar dizisine yol açmaktadır. Araştırmalar bu tablonun ortaya çıkmasında esas rolü reperfüzyon fazının oynadığını göstermektedir. Oluşan fonksiyon bozukluğu organdan organa değişim gösterirken , I/R hasarından esas olarak oksijen radikallerinin sorumlu olduğu saptanmıştır.

Reperfüzyonun ilk fazı kupffer hücrelerinin esas rol aldığı oksidatif stresle karakterize dönemdir. Salınan reaktif oksijen radikalleri inflamatuvar süreci başlatıp, nötrofillerin aktivasyonuna neden olurlar. Endotel hücrelerine yapışan nötrofiller myeloperoksidaz, elastaz, kollajenaz gibi proteazlar ile süperoksit radikallerinin salınımına yol açarlar. Hücrede en önemli süperoksit radikali kaynağının mitokondri olduğu ve oksijen radikallerinin nötrofillerin aktivasyonunu uyararak hepatosit ölümüne yol açtıkları gösterilmiştir (30) .

Literatüre bakıldığında I/R hasarı ile ilgili daha çok tek ajanlı olmak üzere , kombine deneysel rejimlerin de kullanıldığı çalışmaları görmek mümkündür. Amaç iskemi- reperfüzyon sürecinin multipl hasar mekanizmalarını inhibe etmek ya da bunu tetikleyen inflamatuvar ve toksik mediatörlerin oluşmasını engelleyerek hasarı azaltmak veya ortadan kaldırmaktır.

Ayrıca, farmakolojik ajanların dışında ön iskemi uygulamalarının iskemiye olan toleransı artırdığı görülmektedir. Bu anlamda uygulanan aralıklı klemp yöntemi(15 dk. iskemi ve 5 dk. reperfüzyon gibi) ya da iskemik hazırlık (uzun süreli iskemi periyodu öncesi 10 dk. iskemi ve 10 dk. reperfüzyon gibi) uygulamalarının hepatik mikrosirkülasyon üzerine direkt uzun süreli iskemiye göre daha olumlu etkileri gösterilmiştir.



Çalışmamızda I/R sonrasında karaciğer dokusunda meydana gelen değişiklikler biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilmiş, Sitidin -5'- difosfat kolin (CDP- C) gibi daha önce santral sinir sisteminde I/R hasarını azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilen bir ajan yanında yine karaciğerde sitoprotektif etkinliği gösterilmiş oktreotid ile dolaşımdaki yani mikrosirkülasyon alanındaki trombosit ve hiperkoagülasyon olaylarında antikoagülan etki yanında, nötrofil göçünü inhibe edip proinflamatuvar sitokin üretimini azaltan enoksaparin sodyum'un ayrı ayrı ve kombine olarak hasar karşısındaki etkileri araştırılmıştır.

I/R hasarı sonrasında karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için farklı yöntemler kullanılabilirse de bugün bunların en çok kabul gören ve kullanılanları AST, ALT ve LDH aktivitesi ölçümleridir. Karaciğer hasarında bu enzim düzeylerinin arttığı bilinmektedir. Karaciğerde meydana gelen I/R hasarı sonucunda AST ve ALT düzeylerinin arttığı ve bu artışın iskemi reperfüzyon sonucu oluşan serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasara bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (31) .

Sitidin-5'- difosfat kolin' in (CDP- kolin), özellikle santral sinir sisteminde meydana gelen I/R hasarında koruyucu etkisi birçok çalışmalarda gösterilmiştir (27, 56, 58). TNF- $\alpha$  ve IL-1, fosfolipaz A2 sentezini artırarak fosfotidilkolin'in hidrolizine ve fosfokolin sitidiltransferaz aktivitesini azaltarak fosfotidilkolin sentezinin inhibisyonuna neden olurlar (32). İskemik koşullarda Sitidin -5'- difosfat kolin'in fosfokolin sitidiltransferaz aktivitesini artırarak fosfotidilkolin sentezini uyardığı ve fosfolipaz A2 aktivasyonunu engelleyerek fosfotidilkolin düzeylerini koruyabildiği gösterilmiştir (33) .

Özellikle santral sinir sisteminde iskemi ve hipoksi durumunda doku koruyucu ajan olarak gösterilen Sitidin – 5' – difosfat kolin'in yapılan farklı çalışmalarda uygulama dozu (50, 100, 250, 500  $\mu$ g / kg) ve uygulama yollarının ( oral, intravenöz , intraperitoneal ) farklı olduğu görülmektedir. Karaciğer I/R hasarını azalttığına dair literatürde herhangi bir çalışma olmamakla birlikte , transient serebral iskemide yapılan çalışmalarda, sitidin-5'- difosfat kolin' in fosfolipaz A2 aktivasyonunu

engelleyerek hasara neden olan hidroksil radikallerinin ( $\text{OH}^-$ ) üretimini azalttığı saptanmıştır (34, 35). Yine orta serebral arter oklüzyonu uygulanan ratlarda sitidin-5'- difosfat kolin' in kaspaz-3 aktivitesini azaltarak ve fokal serebral iskemide sitidin-5'- difosfat kolin kullanımının Bcl-2 ekspresyonunu artırarak apoptotik hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir (36).

Bizim çalışmamızda, karaciğerde I/R öncesi uygulanan 600  $\mu$  mol / kg / i.p Sitidin-5'- difosfat kolin'in (grup C) santral sinir sisteminde iskemi reperfüzyon hasarında meydana getirdiği koruyuculuğun aksine, doku hasarının spesifik ve nonspesifik göstergeleri olan biyokimyasal parametrelerden özellikle karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının daha spesifik bir göstergesi olan ALT ve TNF- $\alpha$  değerlerinin grup A (Sham) ve B (Laparotomi+ I/R) göz önüne alındığında oldukça yüksek seyrettiği görülmektedir. Yine karaciğer parankim yapısındaki patolojik değişikliklerin grup A ve B ile karşılaştırıldığında grup C' de belirgin olarak daha çok olduğu görülmüştür. Literatürde daha önce karaciğer I/R hasarında yapılmış benzer bir çalışma olmamakla birlikte, PEMT enzim eksikliği olan farelerde kolinden fakir diyetle yapılan çalışmalarda, AST ve ALT değerlerinin kolinden fakir diyetle beslenen grupta anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (25). Bizim çalışmamıza aldığımız wistar-albino ratların çalışma öncesinde PEMT eksikliğine sahip olup olmadıkları bilinmemektedir.

İkinci önemli nokta, sitidin-5'- difosfat kolin'in uygulanma zamanıdır. Yine karaciğer dışı I/R hasarı modellerinde genel olarak iskemiden sonra uygulandığında koruyucu etkinin görüldüğü gösterilmiştir. Bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada transient bilateral karotid arter iskemisinden 60 dk sonra başlayıp 7 gün süre ile intraperitoneal olarak uygulanan 250 mg /kg /gün Sitidin-5'- difosfat kolin'in tek başına yada nimodipin gibi bir başka ajan ile kombine kullanımı sonucunda, iskemi sonrası tedavide nöroprotektif etkili olduğu gösterilmiştir (37). Karaciğerde haraplanan fosfotidilkolinin iskemi sırasında yeniden üretimi, ancak PEMT enziminin katalizlediği fakat hiçbir zaman yeterli düzeye ulaşmadığı metilasyon yolu ile sağlanmaya çalışılacaktır. Bu nedenle çalışmamızda Sitidin-5'- difosfat kolinin iskemiden

2 saat önce intraperitoneal olarak uygulama amacımız, iskemi öncesi dönemde dokudaki düzeyini artırıp, fosfotidilkolin sentezini artırmaktır. Ancak elde ettiğimiz biyokimyasal ve histopatolojik veriler I/R hasarı öncesinde Sitidin -5'- difosfat kolin uygulamasının dokuyu koruyucu etkisinin ortaya çıkmadığını göstermiştir.

Karaciğer I/R hasarı üzerine Sitidin-5'- difosfat kolin uygulamasına literatürde örnek teşkil edebilecek bir çalışma olmadığından dolayı sonuçlarımızla ilgili olarak yorum yapabilmek için bu ajanın, uygulama şekli , dozu ve uygulama zamanı ile ilgili daha fazla deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğunu söylemek mümkündür.

Karaciğer I/R hasarı üzerine oldukça kısıtlı sayıda çalışma bulunan bir başka ajan Oktreotid'dir. Oktreotid' in hücre koruyucu etkileri deneysel çalışmalarda çeşitli hasar tiplerinde tanımlanmıştır. Literatürde hipoksik iskemi ve reperfüzyon modelinde somatostatin ve oktreotid' in hücrenin dış membranı ve mitokondri membranına verilen zararı azaltarak karaciğer üzerine hücre koruyucu etkilerinin ortaya çıktığını bildiren çalışmalar mevcuttur (40). Yine Oktreotid' in koruyucu etkisinin glukoz metabolizması değişikliklerinden bağımsız olduğunu ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (41). Buna karşın karaciğerde sıcak iskemi reperfüzyon modeli oluşturulan bir başka çalışmada , oktreotidin hepatosellüler enerji rezervlerini artırdığı, koruyucu etkinin endokrin sekresyonların sonucu olduğu saptanmıştır (42) .

Karaciğer I/R hasarı uygulanan bir başka çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AST, ALT, LDH değerlerinin oktreotid verilen grupta anlamlı bir şekilde düşük olduğu ve saptanmıştır (43). Yine aynı çalışmada soğuk iskemiden 48 saat sonra somatostatin ve oktreotid kullanılan gruplarda kontrol grubuna göre karaciğer hücrelerinde daha az oranda vakuolizasyon , şişme ve rüptür ile birlikte iskemik hasar daha hafif olarak saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda adı geçen çalışmalara benzer şekilde grup A (Sham) ve B (Laparotomi+I/R) ile diğer gruplar karşılaştırıldığında AST, ALT, LDH , TNF- $\alpha$  değerlerinin oktreotid grubunda belirgin olarak daha

düşük olduğu saptandı. Yine oktreotid ile birlikte enoksaparin sodyum kullanılan grup F ile sadece oktreotid kullanılan grup D karşılaştırıldığında okterotid kullanılan grupta LDH değerlerinin ilgili literatür verileri ile benzer şekilde anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır ( $p=0,002$ )(41) . TNF- $\alpha$  değerleri de literatürdeki bir başka çalışmaya benzer şekilde oktreotid grubunda sham grubuna en yakın değerde bulunmuş, kombine grup F' ye göre ise anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ( $p=0,004$ ) (44) .

Oktreotid uygulanan grupta histopatolojik değerlendirme yapıldığında sham grubu ile oktreotid grubu arasında santral ven dilatasyonu ( $p>0,05$ ), sinüzoidal konjesyon ( $p=0.089$ ) , hepatosit dejenerasyonu ( $p>0,05$ ), nekroz ( $p>0,05$ ) gibi parankimal değişiklikler açısından anlamlı fark olmadığı ve oktreotidin belirgin koruyucu etkisinin olduğu görülmektedir. Oktreotid ve kombine grup karşılaştırıldığında ise sinüzoidal konjesyon ( $p=0,027$ ) ve hepatosit nekrozu ( $p< 0,001$ ) açısından oktreotid grubunun anlamlı olarak daha fazla koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır.

Elde edilen bu veriler her ne kadar oktreotidin etki mekanizmasını aydınlatmada yeterli değilse de , değişik çalışmalarda da belirtildiği gibi koruyucu mekanizmanın (Anti-inflamatuvar , immünomodülatör, endokrin sekresyonlar üzerine olan etkileri) multifaktöriyel olabileceğini düşündürmektedir.

Oktreotid kullanılan gruptaki sonuçlarımız literatürdeki sonuçlarla paralellik göstermektedir. Geniş bir kullanım spektrumu olan oktreotid' in iskemi reperfüzyon hasarında da artık deneysel çalışmalardan öte, klinik uygulamalarda da yer alması beklenebilir.

Literatürde DMAH ile ilgili yapılan çalışmalar direkt karaciğer ile ilgili değildir. Özellikle inflamatuvar barsak hastalıklarında meydana gelen hiperkoagülasyon durumlarında iskemik komplikasyonlara karşı DMAH kullanımının yeri olduğu belirtilmektedir.Yine heparinin nötrofil göçünü inhibe ettiği ve proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı bilinmektedir (45). Ayrıca TNF- $\alpha$  ile indüklenmiş lökosit göçü ve adezyonunu azaltır (46). Reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu da engeller.Bir başka çalışmada venöz trombozis oluşturulan ratlarda DMAH'in (deltaparin, enoksaparin,

nadroparin) ven duvarındaki erken nötrofil infiltrasyonunu azaltarak akut inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (47). Heparinlerin potent antiinflamatuvar etkilerinin P-selectin ve L-selectin blokajı ile olduğu ispatlanmıştır (48). Bu özellikleri nedeni ile bu gruptan bir ajan olan enoksaparin sodyum hem tek başına hem de bir kombinasyon içinde uygulanmaya değer bulundu.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar grup B (Laparotomi+ I/R) ile enoksaparin sodyum kullanılan grup E karşılaştırıldığında sadece LDH değerinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ( $p=0,001$ ) diğer parametreler açısından belirgin fark olmadığı görülmüştür. Aynı grupta histopatolojik açıdan yapılan değerlendirme sonucunda %75 oranında nekroz ve 2/3 oranında hepatosit dejenerasyonu saptanmıştır. Kombine grup F'de ise AST ( $p=0,007$ ), ALT ( $p=0,010$ ), LDH ( $p<0,001$ ) TNF- $\alpha$  ( $p<0,001$ ) değerlerinin tamamının Laparotomi+ I/R uygulanan gruba göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca hepatosit dejenerasyonunun bu grupta 1/4 oranına gerilediği görülmektedir. Enoksaparin sodyum kullanımının tek başına istatistiksel olarak belirgin bir koruyuculuk sağlamadığını gözlemledik. Ancak kombine grupta koruyucu etki belirgin olarak daha fazlaydı. En iyi koruyucu etki ise tek başına oktreotidin kullanıldığı grupta gözlemlendi.

Sonuç olarak bu çalışmada, I/R hasarında etkinliği gözlenmiş farklı ajanların bu etkinlikleri doğrulanmış olurken, bizim incelemek üzere etkinliğini araştırdığımız (Oktreotid + Enoksaparin sodyum) kombinasyonumuzun sinerjik etkisinin bulunmadığı gözlemlendi. Farklı kombinasyonların olası sinerjik etkileri araştırılmaya değer bir alan olarak gelecekteki çalışmalara açıktır.

## KAYNAKLAR

1. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion To mucosal lesions formation. *Am J Physiol* 1986;250:749–753.
2. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255–266. Review .
3. Banga NR, Homer - Vanniasinkam S, Graham A, Al - Mukhtar A, White SA, Prasad KR. Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *British Journal of Surgery* 2005;92:528–538. Review .
4. Kupiec–Weglinski JW, Busuttill RW . Ischemia and Reperfusion Injury in Liver Transplantation. *Transplantation Proceedings* 2005; 37:1653–1656.
5. Nieuwenhuijs VB, De Bruinj MT, Padbury RTA, Barritt GJ. Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury: Roles of Ca<sup>2+</sup> and Other Intracellular Mediators of Impaired Bile Flow and Hepatocyte Damage. *Digestive Diseases and Sciences* 2006;51:1087–1102.
6. Crockett ET, Galligan JJ, Uhal BD, Harkema J, Roth R, Pandya K. *BMC Clinical Pathology* 2006;6:3.
7. Salcedo MM, Catafau JR, Prieto J, Avila MA, Peralta C. The response of the hepatocyte to ischemia. *Liver International* :2007;1478-3223.
8. Jaeschke H. Moleculer mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:15-26. Review .
9. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, Post S, Menger MD. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia – reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145:1421–1431.
10. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri. *T Klin J Med Sci* 2000;20:107-111.
11. McCuskey RS. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* 2000;20:3-7.
12. Ming Z, Han C, Lautt WW. Nitric oxide mediates hepatic arterial vascular escape from norepinephrine-induced constriction. *Am J Physiol* 1999;277:1200–1206.
13. Gauthier TW, Davenpeck KL, Lefer AM. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1994;267:562–568.
14. Mittal MK, Gupta TK, Lee FY, Sieber CC, Groszmann RJ. Nitric oxide modulates hepatic vascular tone in normal rat liver. *Am J Physiol* 1994;267:416–422.
15. Hur GM, Ryu YS, Yun HY, Jeon BH, Kim YM, Seok JH, Lee JH. Hepatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation of NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:917-922.
16. Doulias PT, Barbouti A, Galaris D, Ischiropoulos H. SIN-1-induced DNA damage in isolated human peripheral blood lymphocytes

- as assessed by single cell gel electrophoresis (comet assay). *Free Radic Biol Med* 2001;30:679-685.
17. Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett.* 2003;140-141:105-112.
  18. de Groot H, Rauen U. Ischemia-Reperfusion Injury: Processes in Pathogenetic Networks: A Review. *Transplantation Proceedings* 2007;39: 481–484.
  19. Montalvo-Jave EE, Tattersfield TE, Ortega-Salgado JA, Pina E, Geller DA. Factors in the Pathophysiology of the Liver Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of Surgical Research* 2007;20:10:1-7 Review.
  20. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations and Prevention of Ischemia–Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133–8.
  21. Aköz M, Dilsiz A, Gürbilek M, Kaymakçı A, Ay M, Gültekin F. The Effect of Allopurinol and Acetylsalicylate on Ischemia-Reperfusion Related Injury of Liver. *T Klin J Med Sci* 1999 ; 19:95-99
  22. Glantzounis GK, Salacinski HJ, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. The Contemporary Role of Antioxidant Therapy in Attenuating Liver Ischemia-Reperfusion Injury: A Review. *Liver Transpl* 2005;11:1031-1047.
  23. Yuan GJ, Ma JC, Gong ZJ, Sun XM, Zheng SH, Li X. Modulation of liver oxidant-antioxidant system by ischemic preconditioning during ischemia / reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol* 2005;11:12:1825-1828.
  24. Fernandez-Murray JP, Mc Master CR, Glycerophosphocholine Catabolism as a New Route for Choline Formation for Phosphatidylcholine Synthesis by the Kennedy Pathway. *The Journal of biological chemistry* 2005;46:38290 - 38296.
  25. Waite KA, Cabilio NR, Vance DE. Choline Deficiency–Induced Liver Damage Is Reversible in *Pemt*<sup>-/-</sup> Mice. *J Nutr* 2002;132:68 –71.
  26. Savcı V, Wurtman RJ. Effect of Cytidine on Membrane Phospholipid Synthesis in Rat Striatal Slices. *J Neurochem* 1995;64:378-384.
  27. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Citicoline:Neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *J Neurochem* 2002;80:12-23.
  28. Li Z, Agellon LB, Vance DE. A role for high density lipoproteins in hepatic phosphatidylcholine homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007;893–900 .
  29. Malhotra S, Bhasin D, Shafiq N, Pandhi P. Drug treatment of ulcerative colitis: unfractionated heparin, low molecular weight Heparins and beyond. *Exp. Opin Pharmacother.* 2004;5:2:329-34.
  30. Dawson TL, Gores GJ, Nieminen AL, Herman B, Lemasters JJ. Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 1993;264:961-967.
  31. 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
32. Adibhatla RM, Hatcher JF. Cytidine 5'-Diphosphocholine (CDP- Choline) in Stroke and Other CNS Disorders. *Neurochem Res* 2005;30:1:15-23.
  33. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Does CDP- choline modulate phospholipase activities after transient forebrain ischemia? *Brain Research* 2001;268–272.
  34. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Phospholipase A2, hydroxyl radicals and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia. *Antioxid Redox Signal* 2003;5:647–654.
  35. Adibhatla RM, Hatcher JF. Citicoline decreases phospholipase A2 stimulation and hydroxyl radical generation in transient cerebral ischemia. *J Neurosci Res* 2003;73:308–315.
  36. Krupinski J, Ferrer I, Barrachina M, Secades JJ, Mercadal J, Lozano R. CDP-choline reduces procaspase and cleaved caspase-3 expression, nuclear DNA fragmentation, and specific PARP- cleaved products of caspase activation following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Neuropharmacology* 2002;42: 846–854.
  37. Sobrado M, Lopez MG, Carceller F, Garcia AG, Roda JM. Combined nimodipine and citicoline reduce infarct size, attenuate apoptosis and increase bcl-2 expression after focal cerebral ischemia. *Neuroscience* 2003;118:107–113.
  38. Xie-Ning WU. The mechanism of actions of Octreotide, Bupleurum-Peony Cheng Qi decoction and Dan Shan in severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterology* 1999;5:3:249-251.
  39. Xie-Ning WU. Treatment revisited and factors affecting prognosis of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterology* 2000;6:5:633-635.
  40. Kusterer K, Blöchle C, Konrad T, Palitzsch KD, Usadel KH. Rat liver injury induced by hypoxic ischemia and reperfusion: protective action by somatostatin and two derivatives. *Regul- Pept* 1993;44:3:251-6.
  41. Bloechle C, Kusterer K, Konrad T, Hosch SB, Izbicki JR, Knoefel WT, Broelsch CE, Usadel KH. Rat liver injury induced by hypoxic ischemia and reperfusion: protective action by somatostatins is independent from changes in glucose metabolism. *Hormone And Metabolic Research* 1994;26:6:270-5.
  42. Li JQ, Qi HZ, He ZJ, Hu W, Si ZZ, Li YN. Protective effect of Octreotide on liver warm ischemia reperfusion injury. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xu e Ban.* 2006;31:5:792-6.
  43. Cascales-Sanchez P, Tomas-Gomez A, Fernandez-Cornejo V, Terol - Calpena F, Sanchez - Del Campo F. Enzymatic and Morphological Evaluation of the Hepatic Cytoprotective Effect of Somatostatin and Octreotide During Extended Experimental Liver Preservation. *Transplantation Proceedings* 2007;39:2115–2117.



44. Valatas V, Kolios G, Manousou P, Xidakis C, Notas G, Dusanka Kouroumalis EA. Secretion of inflammatory mediators by isolated rat Kupffer cells: the effect of octreotide. *Regulatory Pept peptides* 120 2004;215– 225.
45. Papa A, Danese S, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Review article: potential therapeutic applications and mechanisms of action of heparin in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1403-1409.
46. Salas A, Sans M, Soriano A. Heparin attenuates TNF alpha induced inflammatory response through a CD11b dependent mechanism. *Gut* 2000;47:88-96.
47. Okutan H, Eroğlu E, Karahan N, Aydın A, Tunç B, Çandı Ö, Kutsal, A. Farklı düşük molekül ağırlıklı heparinlerin (deltaparin, nadroparine, enoxaparin) ve standart heparinin sıçan venöz tromboz modelinde karşılaştırılması. *Turkish J Vasc Surg* 2004;13:2:17-22
48. Wang L, Brown JR, Varki A, Esko JD. Heparin's antiinflammatory effects require glucosamine 6-O-sulfation and are mediated by blockade of L- and P-selectins. *J Clin Invest* 2002;110:127-136.
49. Al - Elyani Rahma AA. Protective Effect of Honey with Nigella Sativa Mixture, and the Ginger on the Enoxaparin Sodium (Anticoagulant Drug) Hepatotoxicity of Albino Rats. *J Sci Med Eng.* 2008;20:1:39-48.
50. Cacabelos R, Alvarez XA, Franco-Maside A, Fernandez-Novoa L, Caamano J. *Ann NY Acad Sci* 1994;16:211-218.
51. D'orlando KJ, Sandage BW JR. *Neurol Res* 1995;17:264-281
52. Suryani LK, Adnjana TAK, Jensen G. *Int J Geriat Psychiat* 1988;3: 235-236.
53. Fresta M, Puglisi G. *Life Sci* 1997;61:1227-1235.
54. Abdel – Salam Omar ME, Baiuomy Ayman R , Ameen Amany, Hassan Nabila S. *Pharmacological Research* 2005;51: 59–67.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini yoğurarak bana aktaran , tez hazırlama aŐamasında tım desteğini aldığım ve minnettar olduğum başta Prof.Dr.Yılmaz ÖZEN ve Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr.İsmet TAŐDELEN olmak üzere tım Genel Cerrahi AD öğretim üyelerine en içten teşekkür ve Őükranlarımı sunarım.

ÇalıŐmalarım sırasında en baŐından beri desteğini esirgemeyen,vefa borcum olduğunu bildiğim değerli hocam Prof.Dr.Ömer YERCI'ye ,tım Genel Cerrahi AD araştırma görevlisi arkadaşlarıma,abim Uzm.Dr.Ersin ÖZTÜRK'e sonsuz teşekkürler.

Hayatım boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen annem ve babama sonsuz teşekkürler.

Bana hayatın anlamlı olmasını sağlayan değerli eŐim Selma ŞEN'e ve kızım Selenay ile oğlum Kutalp'e sonsuz sevgi ve teşekkürler.

## ÖZGEÇMİŞ

3 Şubat 1975 tarihinde Yunanistan'ın Gümülcine şehrinde doğdum. İlköğrenimimi Bulatköy İlkokul'unda, orta ve lise öğrenimimi Bursa Yıldırım Beyazıt Lisesi'nde tamamladım.1992 yılında girmeye hak kazandığım Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 1999 yılında mezun oldum.2003 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazanarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD'da genel cerrahi ihtisasına başladım.Evliyim,bir kız ve bir oğlum var.