

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL KARACİĞER İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARINDA DEKSPANTENOL'ÜN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DR.ALTAN SİPAHİ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2020

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL KARACİĞER İSKEMİ

REPERFÜZYON HASARINDA DEKSPANTENOL'ÜN

KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ DR.ALTAŒ SİPAHİ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN PROF.DR.ADNAN ŞAHİN

ESKİŞEHİR

2020

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T. C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Altan SİPAHİ'ye ait, "Sıçanlarda oluşturulan deneysel karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine dekspantenol'ün koruyucu etkisi araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Adnan ŞAHİN Genel Cerrahi Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Ersin ATEŞ Genel Cerrahi Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Mustafa Cem ALGIN T.C. Kütahya Sağlık Bilimleri Tıp Fak. Genel Cerrahi Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun / / Tarih ve / Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İ. ÖZKAN ALATAŞ
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Beş buçuk yıllık uzmanlık eğitimim boyunca desteğini hiç esirgemeyen başta anabilim dalı başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Adnan Şahin'e değerli hocalarım Prof. Dr. Tarık Çağa'ya, Prof. Dr. Ersin Ateş'e, Doc. Dr. Fatih Yaşar'a, Yrd. Doc. Dr. Bartu Badak'a bana olan emekleri sevgileri ve sabırları için teşekkürü bir borç bilirim. Eğitim hayatımda her zaman yardımcı olan bütün servis, yoğun bakım ve poliklinikteki yardımcı sağlık personeline tüm emekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

SİPAHİ, A. Sıçanlarda oluşturulan deneysel karaciğer iskemisi reperfüzyon hasarı üzerine dekspantenol'ün koruyucu etkisi araştırılması. Eskişehir Osmangazi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, 2020 Bu çalışmanın amacı ratlarda yapılacak karaciğer iskemisi öncesi ve iskemisi sırasında uygulanan dekspantenolün iskemisi ve reperfüzyon hasarı üzerindeki koruyucu etkisini araştırılmasıdır. İskemi arteriyel veya venöz kanın eksiliği sonucu oksijen ve gerekli maddelerinin organ ve dokulara istenilen düzeyde ulaşamaması ve perfüzyon azlığı olarak tanımlanır. İskemi Reperfüzyon (İ/R) hasarı, hipovolemik şok, kronik karaciğer hastalıkları, büyük tümör rezeksiyonları, hepatik travmaya cerrahi müdahale, vasküler rekonstrüksiyonlar ve hepatik transplantasyon sırasında veya sonrasında sık karşılaşılan bir durumdur. Dekspantenol, pantotenik asidin bir türevidir. Dekspantenol karaciğerde fosforilasyon sonrası D-pantotenik aside dönüşümü sağlanır. Çalışmada Wistar Albino cinsi 30 adet erkek 200-250 gr rat ile 3 grup oluşturularak karaciğer iskemisi sağlanması, iskemiden 30 dakika sonrasında iskemisi etkileri ve dekspantenol ajanının reperfüzyon etkisinin saptanması amaçlanmaktadır. 1. grupta iskemisi yapılmaksızın karaciğer doku örneği alınması planlandı. 2. grupta 45 dakika iskemisi planlandı. 3. grupta ise iskemiden 30 dk önce ve reperfüzyondan hemen önce 500mg/kg dekspantenol intraperitonel olarak verilmesi planlandı. Deney sonrası servikal dislokasyonla sakrifikasyon yapıldı. Biyokimyasal parametreler AST ve ALT için sham grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış ($p<0.05$), AST ve ALT için p değeri deney grubunda sham grubuna kıyasla anlamlı azalma ($p<0.01$) ALP için p değeri için 3 grupta da anlamlı fark saptanmadı ($p<0.1$). Dekspantenol grubunun plazma TNF-a İL-1 ve İL-6 düzeyleri, sham grubunun düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.01$). Sonuç olarak çalışmamızda karaciğer iskemisi reperfüzyon modelinde ortaya çıkan hasarın dekspantenol tedavisi sonrası karaciğer fonksiyon testlerinde ve sitokin düzeyinde (İL-1, İL-6 ve TNF-a) kısmen düzeldiğini oksidatif stres parametrelerinde azalmaların izlendiği gözlemlense de primer İ/R hasarında etkinliğinin saptanması için daha geniş çaplı çalışmalar gerekmektedir.

ABSTRACT

SİPAHİ, A. Investigation of the protective effect of dexpanthenol on experimental liver ischemia reperfusion injury in rats. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in the department of General Surger, Eskişehir 2020. The aim of this study is to investigate the protective effect of dexpanthenol applied before and during ischemia on ischemia and reperfusion injury in the rats. Ischemia Reperfusion (I / R) damage can happen after hypovolemic shock, chronic liver disease, major tumor resections, surgical intervention to hepatic trauma, vascular reconstructions, and dextro-transplantation. Dexpanthenol is an alcohol derivative of pantothenic acid. It turns into D-pantothenic acid in the liver. The study aims to determine ischemia effects and reperfusion effect of dexpanthenol agent by forming 3 groups of 30 Wistar Albino type male 200-250 gr rats. In Group 1, liver tissue sample was planned collected without ischemia. In the second group, 45 minutes of ischemia was planned, 30 minutes before ischemia and just before reperfusion, intraperitoneal serum physiologic application was planned. In Group 3, it was planned to administer 500mg / kg dexpanthenol intraperitoneally 30 minutes before ischemia and just before reperfusion. Serum and tissue samples were planned to be collected in the 45th minute following reperfusion in Groups 2 and 3. Following the procedure, sacrifice was planned with cervical dislocation. Significant increase in biochemical parameters AST and ALT compared to the control group in the sham group ($p < 0.05$), p value for AST and ALT compared to the sham group in the experimental group was significantly decreased ($p < 0.01$) There was no significant difference in 3 groups for p value for ALP ($p < 0.01$). Plasma TNF- α IL-1 and IL-6 levels of the dexpanthenol group were found to be statistically significantly lower than the levels of the sham group ($p < 0.01$). As a result, liver dysfunction in the liver ischemia reperfusion model and liver function tests after dexpanthenol treatment (IL-1, IL-6 and TNF- α) has been observed that partial improvement and decreases in oxidative stress parameters, but larger studies are required to determine its effectiveness in primary I / R damage.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER	VI
TABLolar	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer Fizyolojisi	3
2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı	4
2.2.1. İskemi	4
2.2.2 Reperfüzyon	5
2.2.2.1 Karaciğer I/R hasarı	7
2.2.2.2 Karaciğerde I/R Hasarı Patofizyolojisi	8
2.2.3 I/R Hasarında Rol Oynayan Faktörler	9
2.2.3.1 Serbest oksijen radikalleri	9
2.2.3.2 Humoral İnflamatuar Yanıtta kompleman sistemi ve sitokinler	10
2.2.3.3 Hücresel Mekanizmlar	11
2.3 Antioksidanlar ve etki mekanizmaları	11
2.4 Dekspantenol	13
3. GEREÇ ve YÖNTEM	16

3.1 Deney grupları	17
3.2 Deneysel çalışma modeli	17
3.3 Biyokimyasal analizler	21
3.3.1 RNA izolasyonu	21
3.3.2.CDNA sentezi	22
3.4 İstatiksel Değerlendirme	22
4.BULGULAR	24
4.1 Biyokimyasal Sonuçlar	24
4.2 Karaciğer Fonksiyon Testleri	24
4.3 Plazma TNF-a İL-1ve İL-6 Düzeylerine İlişkin Bulgular	26
5.TARTIŞMA	29
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33

ŞEKİLLER

- 2.1 İskemi hasarındaki mekanizmalar
- 2.2 Pantotenik asit yapısı
- 2.3 Dekspantenolün yapısı
- 3.1 Wistar albino cinsi sıçanlar
- 3.2 Anestezik maddeler
- 3.3 Laparotomi
- 3.4 Hepatoduodenal ligament ile portal ven ve hepatik arterin klemplenmesi.
- 3.5 İskemi sonrası batın kapatılması
- 3.6 Normal karaciğer dokusu
- 3.7 İskemik karaciğer dokusu
- 3.8 İskemi reperfüzyon sonrası karaciğer dokusu

TABLÖLAR

3.1 Deney Grupları

4.1 Çalışma gruplarında Biyokimyasal parametre değerlendirmeleri

4.2 AST Medyan değerleri ve standart sapma değerleri

4.3 ALT Medyan değerleri ve standart sapma değerleri

4.4 ALP Medyan değerleri ve standart sapma değerleri

4.5 Kontrol, sham ve dekspantenol gruplarının IL-1, IL-2 ve TNF-a değerlerin medyan ve standart sapma değerleri.

4.6 IL-1 Medyan değerleri ve standart sapma değerleri

4.7 IL-6 Medyan değerleri ve standart sapma değerleri

4.8 TNF-a Medyan değerleri ve standart sapma değerleri

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP	Alkalen Fosfotaz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
cDNA	Kantitatif DNA
CAT	Katalaz
CoA	Koenzim A
DEX	Dekspantenol
DNTP	Deoksirübönükleik trans polimeraz
FDA	Food Drug Association
GGT	Gama Glutamil Transferaz
GSHPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon Redüktaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
IUPAC	International union of pure and applied chemistry
İ/R	İskemi/Reperfüzyon
İRH	İskemi/Reperfüzyon Hasarı
İL-1	İnterleukin 1
İL-6	İnterleukin 6
Mean	Ortalama değeri
NO	Nitrik Oksit

NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
OH	Hidroksil Radikali
O ₂	Süperoksit
ONOO	Peroksinitrit
PA	Pantetonik asit
PMNL	Polimorfo nükleik lökositler
Rpm	Round per minute
RT	Reverz Transkriptaz
RW	RNA wash
SD	Standart Sapma
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikali
TNF-a	Tümör Nekrotizan Faktör Alfa
XD	Ksantin Dehidrojenaz
XO	Ksantin Oksidaz
µl	Mikrolitre

1.GİRİŞ

İskemi, doku ya da ilgili organın vaskülarizasyonunun azalması veya tamamen ortadan kalkması oksijen ihtiyacının sağlanamaması olarak tanımlanır. İskemi Reperfüzyon (İ/R) hasarı, hipovolemik şok, kronik karaciğer hastalıkları, büyük tümör rezeksiyonları, hepatik travmaya cerrahi müdahale, vasküler rekonstrüksiyonlar ve hepatik transplantasyon sırasında veya sonrasında sık karşılaşılan bir durumdur [1]. İskemi, klinik tıpta hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. Dolayısıyla, beyin, kalp, böbrekler ve karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda ve organda hayatı tehdit eden problemlere neden olur [2]. İskemik bir alanda kan akımının yeniden sağlanmasına ise reperfüzyon denir. Karaciğer iskemisi göreceli olarak nadir görülen, ancak sıklıkla geç tanı konulması nedeniyle yüksek mortaliteye sahip olan bir abdominal vasküler acil durumdur. İskemik veya hipoksik karaciğer hasarı da karaciğerin oksijenlenmesinin yani kanlanmasının azalması veya kesilmesi durumunda ortaya çıkan doku hasarı ile doğru orantılı olarak mortaliteye neden olabilmektedir. İleri dönemde septik şok, multiorgan yetmezliği ve ölüm izlenebilmektedir [3].

İskemi-reperfüzyon (İ/R) sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla serbest oksijen radikalleri üretir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikali inflamatuvar mediyatörlerin ve sitokinlerin üretim ve salınımına öncülük ederken, adezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır [4]. Bu mediyatörlerin en önemlileri TNF alfa ve IL-1β'dır. TNF-alfa, makrofajlardan ve endotel hücrelerden IL-1 biyosentezi ve salınımını indükler. IL-1'in bilinen iki proinflamatuvar türü vardır; IL-1alfa ve IL-1β. IL-1 alfa; asıl olarak hücre zarı ile ilgilidir ve etkisini hücreler arası kontak aracılığı ile gösterir [5].

Özellikle hepatik iskemi modellerinde, ortaya çıkan iskemik karaciğer hasarı ve sonrasında oluşan reperfüzyon hasarının minimize edilmesi için, birçok çalışma yapılmış ve birçok ajan kullanılmıştır [6]. Fakat karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının hala tam olarak aydınlatılamamış olması nedeniyle, klinikte karaciğer İ/R ile

ilişkili hastalıkların patofizyolojisinin anlaşılması ve bu hastalıklar için değişik tedavi modalitelerinin ortaya konulması önemlidir.

Çalışmamızda sıçanlarda deneysel karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı gerçekleştirilip reperfüzyon sonrası tedavi gruplarına farklı dozlarda dekspantenol verilmesi planlanmıştır. İskemi - reperfüzyon hasarında İL 1 'in etkilerini antagonize ederek böylece sitokinlerin uyarılması engellenecektir. İskemi sonucu hasarlanan dokuda, reperfüzyon sonrası hasarın artmasının önüne geçilmesi hedeflenmektedir. Çalışma sonunda doku hasarında meydana gelen değişiklikler , inflamasyonda baş rolü oynayan TNF, İL-1 ve İL-6'nın değerleri ve kan serumda AST, ALT ve ALP değerleri çalışılacaktır.

İskemi–reperfüzyon hasarı etkilediği dokularda yaptığı tahribat nedeniyle tedavisi halen araştırılmakta olan ve önlemler konusunda daha çok çalışmalara ihtiyaç duyulan güncel bir sorundur.

Dekspanthenol dünyada iskemi–reperfüzyon hasarını önlenmek için çeşitli dokularda araştırılmaktadır. Böbrek, akciğer dokusu, tümöre bağlı hasarlarda kullanımı mevcuttur [7-9]. Dekspanthenolün insanlarda kullanımı açısından FDA onayı uzun yıllardır vardır [10]. Değişik deneysel modellerde iskemi–reperfüzyon sonrasında dekspanthenol kullanımı ve bunun oluşan hasarı azalttığı yönünde yapılmış çalışmalar yayınlanmıştır. Rat testis, rat ösefagus, rat ince bağırsak, rat böbrek deneysel modellerinde oluşan iskemi–reperfüzyon hasarı ve bunun önlenmesi için çabalar halen sürmekte ve literatürde yer almaktadır [11]. Fakat iskemi öncesi kullanımı ve etkisi ile ilgili çalışmalar saptanmamıştır. Bu çalışmamızda iskemi–reperfüzyon oluşmadan önce uygulanacak dekspanthenolün koruyucu etkisini ve aynı zamanda reperfüzyon sonrası oluşan hasarın azaltılması üzerindeki etkisini karşılaştırmayı deneysel karaciğer iskemi modelinde ilk defa araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğer, vücutta hemoestazi sağlama ve birçok endokrin ve ekzokrin rollerde rol oynar. Karaciğerin fonksiyonları vasküler rezervuar, filtre, metabolik, detoksifikasyon ve sekretuar görevleri olarak 5 farklı alanda incelenebilir [12].

Vasküler rezervuar görevi: Normalde hepatik venler ve sinüsler içindeki 450 ml'lik kan rezervuarına gerektiğinde ayrıca 500-1000 ml kan daha dahil edilebilir. Bu durum karaciğerin genişleyebilen bir organ olması ile ilişkilidir

Filtre görevi: İnce bağırsaklardan veya vücudun başka bir yerinden gelen bakteri ve diğer partiküller hepatik venöz sinüslerde yer alan fagositik makrofajlar olan ‘Kupffer hücreleri’ ile temizlenmiş olur [12].

Metabolik görevi: Karbonhidrat, protein ve lipit metabolizmalarında karaciğer merkezi vazifeler üstlenir. Bununla birlikte glikojen, demir ve bakır, A, D ve B12 vitaminleri karaciğerde depolanır [12].

Detoksifikasyon görevi: Karaciğer vücuttaki hormon veya minerallerin fazlasının detoksifikasyon veya biyotransformasyon tepkimeleri ile organizma için zararlı veya artık maddeleri etkisizleştirerek atılımını sağlar [12].

Sekretuar görevi: Karaciğerin gastrointestinal sisteme en önemli katkısı safranin salgılanması ve sindirim sistemine taşınmasıdır [12].

Dekspantenol, vitamin B grubu üyesi olan pantotenik asit analog türevidir [13]. Pantotenik asid Roger J. Williams tarafından tanımlanmıştır ve maya formundaki mantarların gelişiminde gerekli olduğu belirtilmiştir [14]. Pantotenik asid, beta-alanin ile pantoik asidin kovalent yapıda bir amid bağı oluşması ile oluşur. En fazla baklagiller ve kuru hububatlarda bulunmaktadır [15].

2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.2.1. İskemi

İskemi arteriyal veya venöz kanın eksikliği sonucu oksijen ve gerekli maddelerinin organ ve dokulara istenilen düzeyde ulaşamaması, perfüzyon azlığı ve sonucunda meydana gelen atık maddelerin atılamaması olarak tanımlanır. Majino ve arkadaşların çalışmasında [16] iskemi sonucu oluşan hasarın boyutu, oksijensizliğin derinliği ve iskemi arteriyal veya venöz kanın eksikliği sonucu oksijen ve gerekli maddelerinin organ ve dokulara istenilen düzeyde ulaşamaması perfüzyon azlığı ve sonucunda meydana gelen atık maddelerin atılamaması olarak tanımlanır. İskemi süresi ile ilişkili olarak hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesinin nekroz oluşumuna yol açtığı izlenmiştir [16].

Hücrenin yaşamsal fonksiyonları bir denge içinde devam eder. Hücreler normalde yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için gerekli enerjiyi Adenozin trifosfat (ATP) ile sağlarlar[17, 18]. Bu dengenin sağlanması için gerekli ATP'nin iskemi sonucu eksilmesi, hücre zarı membranında Na^+-K^+ pompasını ve Na^+-Ca^{++} ekschangini bozar, intrasellüler Na^+ ve K^+ yükselmesine, K^+ ekstrasellüler difüzyonuna sebep olur. Hücre içinde Ca^{++} birikmesi iyon dengesizliğine, hücre içi osmotik dengesizliğine ve asidoz gibi durumlara neden olur. Sonrasında hücrelerde histolojik değişiklikler başlar. Bunlar kromatin kümelenmesi, piknozis, apoptozis ve nekrozis gibi bulgulardır [19, 20].

Orrenius ve ark. [21] çalışmasında doku ve organizma aracılığıyla kısa iskemik dönemlerde oluşabilecek hasarlar giderilirken, iskemik dönemin uzamış olduğu durumlarda nekroza varan tahribatlar meydana geldiği saptanmıştır [21].

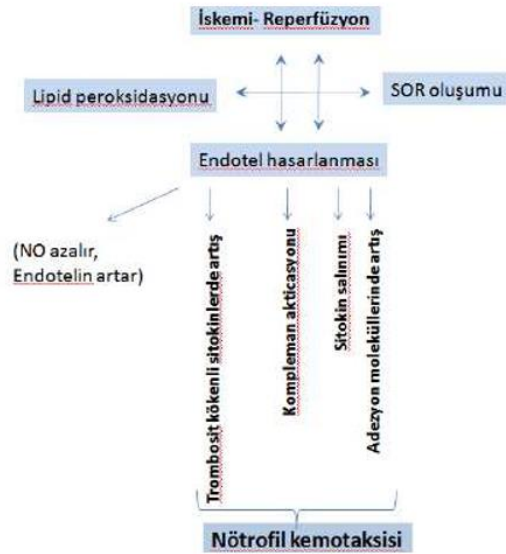
2005 yılında F. Merhi-Soussi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada[22], İL-1'in klasik inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını, lökositlerin kemotaksisini, makrofaj aktivasyonu arttırdığını ve endotel disfonksiyonu ve apoptozise neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

2.2.2 Reperfüzyon

Dokuya veya organa gelen kan akımının bozulmasına neden olan etkenin ortadan kalkarak, tekrar kanlanmaya başlama durumuna reperfüzyon denir. İskemik dokunun reperfüzyonu dokuda iskemi ile oluşan hasardan daha ciddi bir hasara yol açar

İskemi reperfüzyon hasarı (İRH), oksijenasyonu bozulmuş dokudaki kan akımının yeniden sağlanması sonucunda oluşan, bir dizi patofizyolojik değişiklikler olarak tanımlanmıştır. Bu hasardan da hücre içine moleküler oksijen girişi ile oluşan serbest oksijen radikal türevleri ve inflamatuvar mediatörler başta olmak üzere birçok mekanizma sorumlu tutulmaktadır [3, 19].

Şekil 2.1: İskemi hasarındaki mekanizmalar



Dokuya gelen kan akımı azaldığında veya tamamen kesildiğinde dokunun oksijenlenmesi ve buna bağlı aerobik metabolizma sayesinde elde edilen enerji üretimi de bozulur. Fakat hücrenin enerji gereksinimi ve tüketimi devam etmektedir. Böylece aerobik yol inaktif olduğu için anaerobik metabolizma ile enerji üretimine gerek duyar ve sonucunda laktik asit birikir

Kan akımının normal olduğu fizyolojik durumlarda hipoksantin, nikotinamid adenindinükleotid varlığında ksantin dehidrogenaz (XD) enzimi aracılığı ile ürik aside çevrilir. Bu reaksiyonda nikotinamid adenindinükleotid okside formu elektron alıcısı olarak davranır. Kan akımının azaldığı durumlarda ise hücrenin enerji metabolizması da etkilendiği için hücrenin kalsiyum (Ca^{++}) dengesi de bozulur. Hücre içinde oluşan bu Ca^{++} fazlalığı XD'1, ksantin oksidaz (XO) formuna dönüşmesine neden olur [17, 23].

Reperfüzyon sonrasında dokuda kan akımının başlamasıyla O_2 hızlıca artmaya başlar. Hipoksantin, iskemide oluşan XO nun katalizlediği bir reaksiyonla ürik aside çevrilir. Fakat bu reaksiyonda iskemik ortamda serbest kalan elektronlar moleküler O_2 aktarılır, böylece moleküler O_2 süperoksid radikaline (O_2^-) ve hidrojen peroksid (H_2O_2)'e dönüşür [24, 25] endotel hücrelerinde süperoksid anyon radikali H_2O_2 , hidroksil radikali (OH^-) ve hipoklorit asit (HOCL) gibi diğer O_2 metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur [18, 19].

Öte yandan toksik maddelerin artışı sürerken, antioksidan mekanizma ile bu maddelerin uzaklaştırılmasında görev alan ajanların olumsuz etkilenmesi, hücrenin oluşacak hasar karşısında kendini savunamaz hale gelmesine sebep olur [26].

I/R hasarı, hipovolemik şok, kronik karaciğer hastalıkları, büyük tümör rezeksiyonları, hepatik travmaya cerrahi müdahale, vasküler rekonstrüksiyonlar ve hepatik transplantasyon gibi durumlarda sık karşılaşılan bir durumdur [27]. Genel anlamda yapılan cerrahi işlemlerin tamamı esnasında doku ve organların iskemisi ve beraberinde bir reperfüzyon süreci vardır [2]. Bu vakalar sonrası oluşan hipovolemi ile iskemi hasarı oluşurken reperfüzyon hasarı ise yeniden canlanma ile meydana gelmektedir.

İskemi sonucu eğer hücrede kalıcı hasar oluşmadıysa, hücrenel homeostazis ve enerji depoları geri kazanılmış olur [28].

2.2.2.1 Karaciğer I/R hasarı

İskemi reperfüzyon hasarı, hücrelerin bir kısmını geri dönüşümsüz olarak nekroza uğrattırırken, bazı hücrelerin yaşayabilme olanakları vardır. İskemi süresince mevcut durumu itibariyle yaşayabilen hücreler, reperfüzyon fazında normal fonksiyonlarını yeniden elde edebilirler veya nekroza uğrayarak hücre dışına atılırlar [29]. İstenilene en yakın reperfüzyon şartlarında iskemiye maruz kalan bütün hücrelerin yeniden normale dönme oranı azdır. Bununla birlikte, İ/R hasarından sonra normale dönen kimi hücrelerin uzun bir süre sonra nekroza uğradığını bildiren çalışmalar da vardır [30].

Büyük karaciğer rezeksiyonu, hemorajik şok, abdominal travma cerrahisi ve karaciğer nakli gibi klinik tablolarda, hepatik İ/R hasarı mortalite ve morbiditeye yol açan çok önemli bir komplikasyondur [31].

Yapılan çalışmalarla cerrahi müdahale için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Dr. James Hogarth Pringle [32], abdominal cerrahi esnasında ve karaciğer travması ile alakalı kanamada hemostaz sağlayabilmek adına “Pringle manevrası” diye adlandırılan hepatik arter ve portal veni klempleyerek kan akımını durduran tekniği geliştirmiştir. Bu şekilde karaciğer cerrahisi esnasında, acil veya planlı cerrahi prosedür tatbik edilir ardından portal triad klemlenir. Bu şekilde kanama kontrolü sağlanır ardından klempin kaldırılmasıyla dolaşım yeniden sağlanır. Uzamış iskemi ve sonrasında reperfüzyon ile birlikte karaciğer İ/R hasarı oluşur [33, 34].

Karaciğer transplantasyon durumunda ise, vericiden alınan karaciğer dokusunun muhafazası safhasında soğuk İ/R, alıcıya nakledilmesi esnasında ve sonrasında ise sıcak İ/R hasarı görülür [35]. Karaciğer transplantasyonları ve masif karaciğer rezeksiyonlarının bir komplikasyonu olarak karşımıza IR hasarı çıkar. Karaciğerde İ/R hasarının tek sebebi intraoperatif kanama kontrolü amacıyla yapılan pringle manevrası değildir. Hipoksi, sepsis, travma, sistemik kan basıncının düşmesi, konjestif kalp yetmezliği ve solunum yetmezliği de İ/R hasarının oluşmasına neden olabilir [36, 37].

2.2.2.2 Karaciğerde I/R Hasarı Patofizyolojisi

Karaciğer İ/R hasarı ile beraber bazı hücre tiplerini ve moleküler mediatörlerini ilgilendiren kompleks inflamatuvar süreç başlar. İskemik dönemde, kan akımının kesilmesi ya da azalması ile birlikte oksidatif fosforilasyon azalır. ATP ve fosfokreatin gibi hücrenin bütün organellerinin enerji kaynağı olarak kullanıldığı yüksek enerjili fosfatların sentezi azalır, anaerobik metabolitler hücrede birikir. Hücre membranındaki ATP bağımlı Na^+/K^+ ve Ca^{+2} pompalarının çalışmamasına bağlı hücre içi serbest Ca^{+2} , K^+ , Na^+ artışı, fosfolipaz aktivasyonu, hücre membran hasarı, mitokondrial disfonksiyon ve iskemik sürecin uzamasıyla birlikte lizozomal enzim aktivasyonu ve sonuçta apopitozis ile birlikte hücre ölümü meydana gelir [38].

Karaciğerde iskemik hasardan sonra meydana gelen reperfüzyon hasarı akut ve subakut faz olmak üzere bifazik patern gösterir. Akut faz; reperfüzyon sonrası 3- 6 saatlerde serbest radikal oluşumu, T-lenfosit ve Kupffer hücre aktivasyonu, sinüzoidal konjesyon, hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon ile karakterize hepatoselüler hasar ile ilişkilidir. Subakut faz ise 18-24. saatler arasındadır ve masif nötrofil infiltrasyonu sonrasında geniş nekrozla kendini gösteren geri dönüşümsüz hasar oluşur [39, 40].

Bu nedenle tedavi edici girişimlerde, nötrofil aracılı inflamasyon, doku nekrozu ve organ disfonksiyonunu önlemek amacıyla, iskemi reperfüzyon hasarının moleküler ve hücrenel basamağındaki akut faz hedef alınmalıdır [40].

Hücrenel hasar iskemik süreçte başlar, reperfüzyonla birlikte artarak devam eder, sonuçta nekroz ve apopitozis ile birlikte hücreyi ölüme götürür. Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı inflamatuvar bir süreçtir ve buna aracılık eden hücrenel mekanizmalar, moleküler mediatörler, reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri mevcuttur [34].

2.2.3 İ/R Hasarında Rol Oynayan Faktörler

İ/R hasarının etyogenezi hakkında birçok faktör üzerinde durulmuş ve çok miktarda çalışma yapılmıştır. Bunlar karmaşık hücrel, hüremoral diziler şeklindedir [41]. Başlıca şu şekilde sıralanabilir:

- 1- Serbest Oksijen Radikalleri
- 2- Hüremoral mekanizmalar-Kompleman Sistemi ve Sitokinler
- 3- Hücrel mekanizmalar

2.2.3.1 Serbest oksijen radikalleri

Atomların içindeki elektronlar içerdikleri çekirdek etrafında çiftler halinde hareket ederler. Bir veya daha fazla çifti olmayan eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküle serbest radikal denir [25, 42]. Solunum kaynağı olarak oksijen tüketen canlılarda serbest radikallerin kaynağının oksijen türevi radikaller olduğu düşünülmektedir.

Normal vücut hemoestazında serbest radikaller, mütemudiyen üretilmekte olup, bunun neticesinde hücre zarı fosfolipidlerinin oksidasyonu, hücre zarı proteinlerinde, karbonhidrat ve nükleik asit moleküllerinde hasara neden olmaktadır [24, 43].

Serbest radikaller, hücrel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler [42, 44].

Reperfüzyon sonrasında, iskeminin yıkıcı etkisine bağlı yitirilen bazı fonksiyonların geri gelmesi sağlanırken, bir taraftan da iskemik dokuda serbest oksijen radikallerin oluşumu hızlanır ve hasarın şiddeti daha fazla artar. Serbest oksijen radikalleri hücre zedelenmesine dört yolla neden olur. Hücre zarı yağ asitlerinin peroksidasyonu, oksijen bağımsız mitokondriyal yıkım, DNA sentez mutasyonları ve proteinlerin kovalent tutucu bağlarını etkiler [24, 25].

İ/R hasarı, arteriyal veya venöz kanın eksikliği sebebiyle uzamış iskemi tablosunun organ ve dokularda, dolaşımın tekrar sağlanması ile oluşur. Bu durum en fazla mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu enerji kaynağı olarak kullanan, oksijene karşı duyarlı aerobik hücrelere etki eder. Bu sebeple aerobik metabolizmayı kullanan organ ve dokularda İ/R hasarının meydana gelme olasılığı daha yüksektir [33].

2.2.3.2 Humoral İnflamatuar Yanıtta kompleman sistemi Sitokinler

Komplemanlar:

Kompleman sistemi, membrana bağlı ve çözüner durumda bulunan proteinlerden oluşur. Kompleman sisteminin üç farklı yolla aktive olduğu bilinmektedir. Bunlar; klasik, alternatif ve mannoz-bağlayıcı lektin yollarıdır. Her 3 yol da karaciğerde İ/R hasarında aktive olur [45].

İnsan vücudunda oluşan çeşitli hastalıklar ve travmalar sonucunda hasarlanan dokuları ve mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için gelişen olaylar zincirine inflammatuar yanıt denir. Bu koruyucu olay meydana gelirken eş zamanlı olarak hasarlı doku yanında normal dokuların da ortadan kaldırılması söz konusudur. Normal dokulara da zarar veren inflammatuar cevap aslında birçok immün olay ve hastalığın patojenizini oluşturmaktadır [46, 47]. Doğal immünite mediatörleri olan sitokinlere örnek olarak;

- a) TNF (Tümör nekroz faktör)
- b) İnterlökin-1 (IL-1)
- c) İnterlökin-6 (IL-6) verilebilir

Sitokinler yapısına göre ikiye ayrılır;

Tip 1 Sitokinler; Reseptörleri ile yapısal benzerlikler gösteren grubudur. Hematopoetin reseptörleri olarak da isimlendirilirler. Bunlar; interlökin-2 (IL-2), interlökin-3 (IL-3), interlökin-4 (IL-4), interlökin-5 (IL-5), interlökin-6 (IL-6), interlökin-7 (IL-7), interlökin-9 (IL-9), interlökin-11 (IL-11), interlökin-13 (IL-13), interlökin-15 (IL-15), granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF) gibi proteinlerdir [46].

Tip 2 Sitokinler; Bu grup da reseptörleri ile yapısal benzerlikler gösterirler. Bu grupta interferon (TNF)- α , IFN- β , IFN- γ ve interlökin-10 (IL-10) bulunur [46].

Sitokinleri gruplandırmanın diğerk bir yolu basit CD4+ T hücrelerinin (Th hücreleri), Th 1 ve Th 2 olarak adlandırılan 2 alt T helper (Th) hücre grubuna farklılaşmasıyla tanınması olabilir. Th 1 hücreleri potent proinflamatuvar sitokinler olan IFN- γ ve lenfotoksin (TNF)- α ile IL-2 üretir. Th 2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13'ü üretir. Bu nedenle Th 1 sitokinler sıklıkla proinflamatuvar, buna karşılık Th 2 sitokinler antiinflamatuvar olarak adlandırılır[46, 47].

2.2.3.3 Hücresel mekanizmalar

İskemi aşamasında; oksijen kaynağının kesilmesi ve glikojen tüketimi sonucu kupffer hücreleri, sünosoidal endotel hücreler (SEC) ve hepatositlerde ATP üretim eksikliği meydana gelir. Bunun sonucunda ATP bağımlı Na⁺-K⁺ plazma membran pompası çalışamaz ve hücre içi Na⁺ birikimini hücre sel ödem ve şişlik takip eder. Kupffer hücrelerine ve SEC'deki şişlik, endotelin ve tromboksan A2 gibi vazokonstrüktörlerdeki artış ve nitrik oksit gibi vazodilatörlerde azalma ile birliktedir. Bu değişiklikler sonucunda sinüzoidler daralır [4, 48].

İskemi sonrasında, reperfüzyon ile birlikte daralmış olan sinüzoidlerde nötrofil ve trombosit agregasyonu artar ve kan akımı başlamasına rağmen mikrosirkülatuar kan akımı bozulur, hatta bazı alanlarda "no-reflow" meydana gelir, kan akışı olmaz [49].

2.3 Antioksidanlar ve etki mekanizmaları

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir [50].

Hücrelerde ve ekstrasellüler sıvıda SOR'nin oluşturduğu hasarı engellemek için gelişen savunma mekanizmasına antioksidan savunma denir. Endojen ve eksojen antioksidan ajanlar mevcuttur. Endojen antioksidan ajanlar; Glutatyon(GSH),

glutasyon peroksidaz (GSHPx), katalaz (CAT), süperoksid dismutaz (SOD) ve glutasyon redüktazdır (GR) [51, 52].

Bu maddeler normal biyokimyasal olaylar sırasında oluşan serbest radikalleri nötralize edebilirler. Hiperoksijenizasyon, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri maruz kalma ve benzeri hallerde oksidatif/antioksidatif metabolizma balansı etkilenirse antioksidif koruma kompleksleri yeterli gelmemeye başlar sonuçta hücrede toksik madde yoğunluğu artar. Bu da hücrelerin zedelenmesi ve ölümüne yol açar [42, 53].

Glutasyon(GSH): Birçok hücrede bulunan GSH hücre zarında aminoasitlerin taşınmasında rol alırken aynı zamanda koenzim olarak enzim yapısına katılır. Proteinlerin sülfidril yapılarını koruyarak, toksik maddelerin etkilerinin ortadan kaldırılmasını sağlar [53, 54].

Gutasyon peroksidaz (GSHPx): Oksidatif hasarın azaltılmasında aktif rol oynayan, lipit peroksidasyonunu önleyen ve serbest radikallerin hücre içinde detoksifikasyonunu sağlayan en önemli endojen mekanizmadır. GSHPx enzimi sitoplazmik bir enzimdir. Bu enzim glutatyondan ayırarak H_2O_2 'yi suya dönüştüren, intrasellüler glutasyon olarak bulunan en güçlü tiol bileşiğidir. H_2O_2 'yi detoksifiye eder sonuçta da su ve okside glutatyona dönüşür. GSHPx'in antioksidan aktivitesini göstermesi için ortamda yeterli konsantrasyonda glutasyon redüktaz, GSH ve nikotinamid adenin dinükleotid bulunması gerekir [17, 24].

Katalaz (CAT): CAT, %20 oranında sitoplazmada, %80 oranında peroksizomlarda bulunan yapısında hemoprotein içeren bir enzimdir. H_2O_2 'nin oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda 2 molekül H_2O_2 ' yi suya dönüştürerek katalitik reaksiyonla ortamdaki uzaklaştırır. Her bir aktif merkezde bir hem grubu içerir ve tetramerik yapıdadır [52, 55].

Katalaz reaksiyon sırasında bir molekül H_2O_2 'ye elektron vericisi, diğerine de elektron alıcısı olarak görev yapar. CAT aktivitesinin artması H_2O_2 üretim hızı artmasıyla doğru orantılıdır. Bu da aşırı H_2O_2 üretimi sırasında glutasyon kaybını önler. CAT O_2 tarafından inhibe edilir [25, 56].

Süperoksid dismutaz (SOD): SOD enzimi serbest radikalleri organizmada ilk karşılayan antioksidandır. Metalloprotein yapısında bir enzimdir. Ökaryotik hücrelerde dört farklı şekli bulunur. SOD'ın görevi O₂ radikalini metabolize etmek ve daha zararlı olan hidroksil radikalinin oluşumunu engellemektir. Bunu da O₂ radikalini H₂O₂'ye ve moleküler O₂'ye dönüştürerek yapar. Hidrojen peroksit, Fenton reaksiyonu veya Haber-Weiss reaksiyonları ile çok daha reaktif olan OH⁻ radikaline dönüşmektedir. Burada da ikinci savunma sistemi CAT ve GSHPx enzimleri devreye girer [25, 57].

Glutasyon redüktazdır(GR):Hem sitoplazmik sıvıda hemde mitokondride bulunmaktadır. Okside glutasyonun (GSSG) hücreyi oksidanlara karşı koruyabilme özelliği yoktur. Hücre elektron kaynağı olarak nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'ı kullanan GSH redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla GSSG tekrar indirgenmiş GSH'a çevrilerek SOR ile reaksiyona girdikleri düşünülmektedir. NO oluşumuna yol açtıkları ileri sürülmüştür [51, 58].

2.4 Dekspantenol

Dekspantenol, vitamin B grubu üyesi olan pantotenik asit analog türevidir [13]. Pantotenik asit Roger J. Williams tarafından tanımlanmıştır ve maya formundaki mantarların gelişiminde gerekli olduğu belirtilmiştir. Pantotenik asit, beta-alanin ve pantoik asidin kovalent yapı içeren amid bağı oluşturması ile oluşur. En fazla baklagiller ve kuru hububatlarda bulunmaktadır [15].

Dekspantenol (butanamide, provitamin B5), C₉H₁₉NO₄ kimyasal yapısında olup, IUPAC ismiyle (2R)-2,4dihydroxy-N-(3-hydroxypropyl)-3,3-dimethylbutanamid olarak gösterilmiştir. Diğer bir adlandırma şekli de pantotenil alkoldür [59]. Pantotenik asidin sadece dekstrotrotator izomeri biyolojik aktiviteye sahiptir. Dekspantenol interstisyel dokularda pantotenik asitin en sabit hali olan türevidir ve pH'ı 9,5 civarındadır. Dekspantenol yağda çözünmezken, suda ve alkolde çözüldüğü görülmüştür [13, 60]

Dekspantenol, karaciğerde fosforilasyonlar sonrası D-pantotenik aside dönüşümü sağlanır [13]. Hücrelerde adenosin trifosfat (ATP) sentezini yani enerji

Pantotenik asidin deriden emilimi iyi değildir. Ancak dekspantenolun, deriden emilimi iyidir ve hızlıca karaciğerde pantotenik aside formuna çevrilir. Kesilmiş insan derisi ile in vivo olarak yapılan çalışmalarda dekspantenolün deri yolu ile emilimi gösterilmiştir. Buna göre dekspantenol canlı epidermis içine girer. Topikal uygulama çalışmalarında insan saçlı deri, saç kıl kökü hücreleri, tırnak keratin dokuları, deri tabakalarında pantotenik asidin artmış konsantrasyonları bulunmuştur [13, 67]. Dekspantenolün kullanımın sakıncalı bulunduğu haller, hemofili ve benzeri trombofilik bozukluklar , kitle tümör nedenli ileus ve paraben sensitivitesi gibi durumlardır [67].

Dekspantenol %2-5'lik oranlarını içeren pomad, merhem veya sıvı haldeki formlarında kutanöz ve mukoza kaynaklı lezyonlarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. %2'lik dekspantenol preparatları FDA tarafından çeşitli dermatozlarda veya şiddetli kaşıntıyı gidermede kullanımını onaylamaktadır. Dekspantenol sistemik olarak da erişkinlerde 250-500 mg dozlarda kullanılmaktadır [13].

Dekspantenol sıçan ve memeli canlılarda oral ya da parenteral yolla verildiğinde dokuda PA'e dönüştürülür. PA, redükte glutatyon (GSH), Koenzim A (CoA) ve hücredeki ATP sentezinde artışa neden olur [64-66]. Bu GSH ve glutatyon bağımlı peroksidazlar iskemi reperfüzyon hasarında görülen oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna karşı en önemli koruyucu sistemlerdir [9, 62, 68]. Antiinflamatuvar sistemde etkinliğini nötrofillerden salınan myeloperoksidaz enziminin salınımını azaltarak yaptığı düşünülmektedir. Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisinin Koenzim A düzeylerindeki artışın yanında fosfolipid yapımını artırarak da göstermektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Tıp Fakültesi Deneysel hayvanları etik kurulunun (HADYEK) 741-1/2019 kayıt numaralı protokol izniyle ESOGÜ deneysel hayvanları araştırma merkezinde (TİCAM) yapılmıştır.

Çalışmada Wistar Albino cinsi 30 adet erkek 200-250 gr rat le 3 grup oluşturularak karaciğer iskemisi sağlanması, iskemiden 30 dakika sonrasında iskemi etkileri ve dekspantenol ajanının reperfüzyon etkisinin saptanması amaçlanmaktadır. Bir gecelik açlığı takiben (sadece su içmelerine izin verilerek), 60 miligram/kilogram intramuskuler ketamine (Ketalar;Parke-Dawis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine (Rompun; Bayer AG,Leverkusen,Almanya) kullanılarak 200-250 gram ağırlığındaki 30 adet Wistar Albino türü sıçanlara anestezi verilmiştir. Cerrahi sırasında hayvanların spontan olarak solumaları sağlanmıştır. Vücut sıcaklıklarının 37°C derece civarında tutulabilmesi için bir ısıtıcı lamba kullanılmıştır. İskemi portal ve hepatic arter kompleksi askıya alınmak suretiyle planlanmıştır. Dehidratasyonu engellemek için subkutan 10 ml ringer laktat verilmesi planlanmıştır .

Şekil 3.1: Wistar albino cinsi sıçanlar



Deney grupları

30 adet wistar albino cinsi rat (**Şekil 3.1**); kontrol, sham, deney grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

1. grup kontrol grubu (n:10) iskemi yapılmaksızın doku ve kan örnekleri alınan grup, 2. grup sham grubu (n:10) iskemiden 30 dakika öncesi intraperitoneal 500 mg/kg SF uygulaması takibinde 45 dakika iskemi ardından reperfüzyon ve hemen reperfüzyon esnasında tekrar 500 mg/kg SF uygulaması 45 dakika reperfüzyon sonrası doku ve kan örnekleme yapılan grup 3. Grup deney grubu (n:10) iskemiden 30 dakika öncesi intraperitoneal 500 mg/dekspantenol uygulaması takibinde 45 dakika iskemi ardından reperfüzyon ve hemen reperfüzyon esnasında tekrar 500 mg/kg dekspantenol uygulaması 45 dakika reperfüzyon reperfüzyon sonrası doku ve kan örnekleme yapılan grup.

Tablo 3.1: Deney grupları

GRUPLAR	Denek Sayısı
Kontrol grubu	10
Sham Grubu(serum fizyolojik grubu (45 dk. İ/ 45 dk. R	10
Dekspantenol İ/R grubu(45 dk. İ/ 45 dk. R	10
TOPLAM	30

Deneysel çalışma modeli

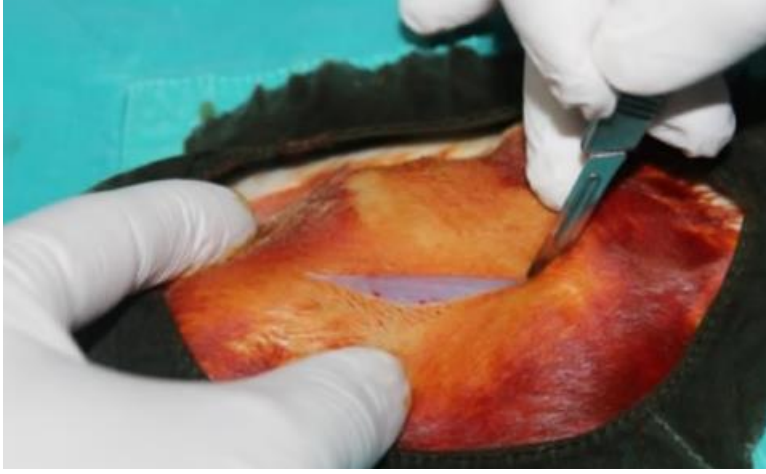
Deneklerin anestezisi 60 mg/kg Ketamin ve 10 mg/kg Ksilazin verilerek sağlandı (**Şekil 3.2**). ve gerektiğinde idame doz uygulandı. İlaç enjeksiyonundan 15 dakika sonra karın ön duvarındaki tüyler traş edilerek karın cildi povidon iyot ile silinerek cilt antiseptisi uygulandı Orta hattan yaklaşık 3-4 cm'lik insizyon ile laparotomi yapıldı (**Şekil 3.3**). Karın içindeki organlar görünür hale geldikten sonra, kontrol grubu dışındaki gruplarda portal ven ve hepatik arter eksplore edilerek ve

atravmatik vasküler klemp ile karaciğerin sol ve orta lobuna giden kan akımı kesildi (Şekil 3.4). Böylece segmental ve öldürücü etkisi olmayan hepatik iskemi meydana getirilmiş oldu. Atravmatik vasküler klemp yardımı ile 45 dakika iskemi uygulandı. İskemi ile karaciğer yüzeyinde oluşan renk değişikliği gözlemlendi (Şekil 3.7) Bu sırada açıkta kalan abdomen ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç ile örtülüp 45 dakika sonunda klempler alınarak iskemi sonlandırıldı. Batın kapatılıp 45 dakikalık reperfüzyon süresi sonrası 5 ml kan kan örneği intrakardiyak alındı ve sonrasında deneklere servikal dislokasyon ile ötenazi sağlandı. Çalışma sonucunda alınan karaciğer dokularının bir kısmı gen ekspresyonu çalışmaları için -80°C 'de saklanmak üzere kriyo tüpler içerisine alındı.

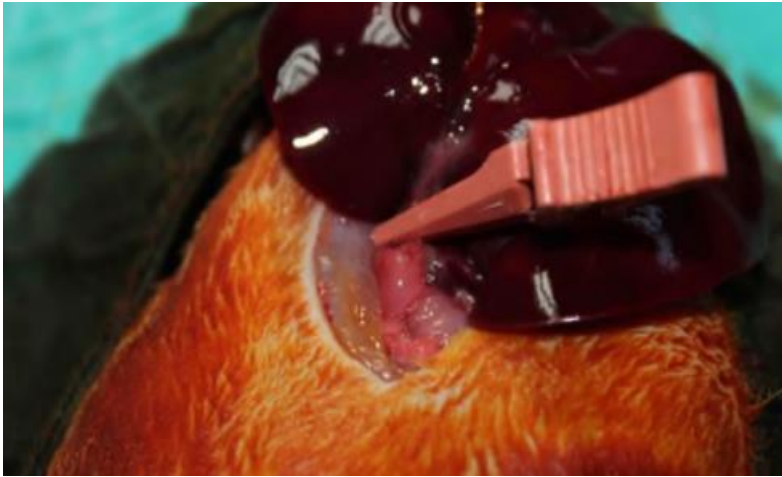
Şekil 3.2: Anestezik maddeler



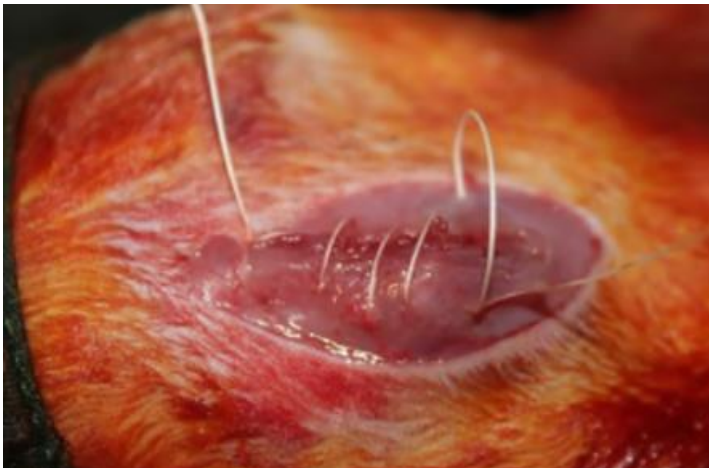
Şekil 3.3: Laparotomi



Şekil 3.4: Hepatoduodenal ligament ile portal ven ve hepatic arterin klemplenmesi.



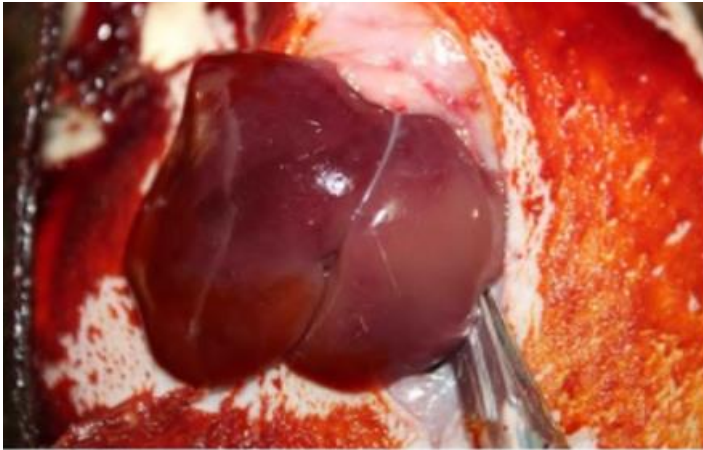
Şekil 3.35: İskemi sonrası batın kapatılması



Şekil 3.6: Normal karaciğer dokusu



Şekil 3.7: İskemik karaciğer dokusu



Şekil 3.8: İskemi reperfüzyon sonrası karaciğer dokusu



Biyokimyasal analizler

Yapılan uygulamalar neticesinde biyokimyasal ölçümler için kan örnekleri kardiyak delme yapılarak alındı. Sıçanlardan 4 ml kan biyokimya tüpüne alındı. Alınan kan örnekleri, 3000 rpm'de 10 dk. oda sıcaklığında santrifüje edildikten sonra -20°C'de saklandı. Laboratuvarında 4000 devirde 10 dk. santrifüj edildi. Serumlar ependorf tüpünde -86°C'de saklandı. Karaciğerde meydana gelen hasarı tespit edebilmek için elde edilen örneklerde aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfotaz (ALP) seviyeleri mikro ELISA cihazında belirlendi. Plazmadaki tümör nekrotizan faktör alfa (TNF-a), interlökin 1(İL-1) ve interlökin 6 (İL-6) düzeyleri ise BD BioSciences firmasından alınan fare TNF-a ELISA kiti ve fare IL-6 ELISA kiti ile belirlendi.

RNA izolasyonu

İskemi Reperfüzyon deneyi sonrası -80°C' de saklanan sıçan karaciğer dokuları lizis solüsyonu ile parçalanıp homojenize edildi daha sonra RNA izolasyonu Primer HPLC 200 nMol PRMR-H kiti kullanılarak protokolüne uygun olarak yapıldı. Homojenizasyon ve RNA izolasyonu aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir;

1. 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içindeki yaklaşık 25 mg donmuş karaciğer dokusu üzerine 600 µl Lysis Buffer (içinde P-mercaptoethanol bulunan) ekleyip 1 adet çelik bilye konuldu ve 4 dk boyunca dokuların parçalanması (QIAGEN, TissueLyser LT, Germany) sağlandı.
2. Dokular homojenize olmuş şekilde yeni bir 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı ve 3 dk, 10000 rpm de santrifüj (Sigma 3-30 K, Germany) edildi. Santrifüj sonunda üst faz yeni bir 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı.
3. Lizata 600 µl %70 etanol eklendi ve pipetaj yapıldı.
4. 2 ml toplama tüp içindeki RNeasy spin column içine 700 µl örnek pipetlendi. 15 sn, >8000 devirde santrifüj edildi. Santrifüj sonunda alt faz atıldı.
5. Örneğin geri kalanı için bir önceki adım tekrarlandı.

6. RNeasy spin column'a 700 µl RW1 buffer eklendi. 15 sn, >8000 devirde santrifüj edildi. Santrifüj sonunda alt faz atıldı.
7. RNeasy spin column yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi ve üzerine 500 µl RPE buffer eklendi. 15 sn, >8000 hızda santrifüj edildi. Alt faz atıldı.
8. RNeasy spin column'a 500 µl RPE buffer eklendi. 2 dk, >8000 devirde santrifüj edildi. Santrifüj sonunda alt faz atıldı.
9. RNeasy spin column yeni toplama tüpüne yerleştirildi ve filtrenin kuruması için 1 dk, 10.000 rpm'de santrifüj edildi.
10. RNeasy spin column yeni 1,5'lik mikrosantrifüj tüpe yerleştirildi. Üzerine 50 µl RNase-free water eklendi. 1 dk, >8000 devirde santrifüj edildi.
11. RNA verimini arttırmak için RNeasy mini column'a 20 µl daha RNase-free water eklendi. 1 dk >8000 devirde santrifüj edildi. Elde edilen RNA'ların kalite ve miktar tayini (Thermo Scientific, Multiskan Go) yapıldı. RNA dilüsyonu gerçekleştirildi. RNA'lar -80°C' de saklandı.

CDNA sentezi

Elde edilen RNA'lar, cDNA sentezi kiti (WizPure™ qPCR Master (SYBR) 10ML W1711-10B) ve BIO-RAD, T100, Thermal Cycler cihazı kullanılarak reverse transkripsiyon yöntemiyle cDNA'ya dönüştürüldü.

cDNA eldesi için bir tüpte 10 µl revers transkripsiyon karışımı hazırlandı.

cDNA sentezinde kullanılan karışım:

*10X RT Buffer 2 µl

*DNTP Mix 0.8 µl

*10X RT Random Primers 2 µl

*Reverse transcriptase 1µl

*RNase free water 4.2 µl

Toplam 20 µl olacak şekilde 10 µl RNA + 10 µl cDNA sentez karışımı ile birleştirilerek aşağıdaki koşullarda cDNA eldesi gerçekleştirildi.

25°C 10 dk

37°C 120 dk

85°C 5 dk

cDNA örnekleri üzerine 90 µl Nuclease-free water eklenerek sulandırıldı. Elde edilen cDNA'lar -20°C'de saklandı.

İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz IBM SBSS sürüm 21 programı ile yapıldı. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk W testi ile araştırıldı. İki grubun tanımlayıcı istatistiksel yöntemleri ve normal dağılan nicel verileri için t-testi, normal dağılım göstermeyen nicel verileri için Mann Whitney-U testi kullanıldı. Gruplara ait belirtici istatistikler ortalama \pm standart sapma ya da median (Q1-Q3) olarak gösterildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Biyokimyasal Sonuçlar

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi TİCAMDA yapılan deneysel çalışmaya total olarak 30 sıçan kabul edildi ve tüm ratlar çalışmayı komplikasyonsuz bitirdi. Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal parametrelerin sonuçları tablolar halinde ve karaciğer fonksiyon testleri, Eliza ve PCR çalışmaları tablolar ve şekiller şeklinde açıklandı.

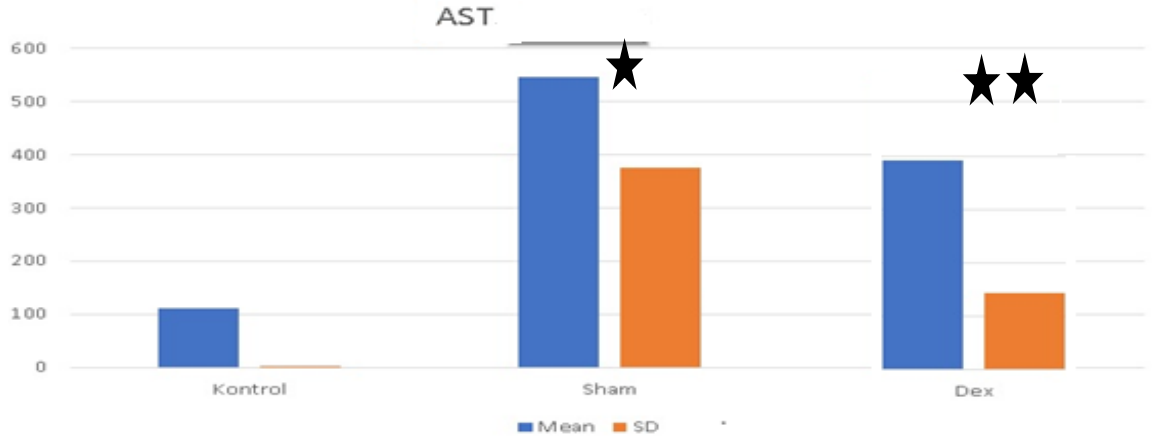
Karaciğer Fonksiyon Testleri

Biyokimyasal parametrelerden AST, ALT seviyelerinde sham grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış ($p<0.05$), deney grubunda sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ($p<0.01$) ALP seviyelerinde ise kontrol grubu ve dekspantenol grubunda ise anlamlı bir fark saptanmadı. Kontrol grubunda deney grubuna göre AST, ALT düzeylerinde anlamlı azalma olduğu saptandı ($p<0.001$). Sham grubu ile kıyaslandığında kontrol grubunda ALT ve AST değerlerinde anlamlı bir azalama saptandı ($p<0.01$). Reperfüzyon sonrası ALP değerlerinde 3 grupta da anlamlı bir fark gözlenmedi.

Tablo 4.1: AST , ALT ve ALP için medyan ve standart sapma değerleri

	AST		ALT		ALP	
	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD
Kontrol	110,5	3,027	50,2	6,579	203,3	20,683
Sham	392,4	143,605	176,9	72,539	192,4	26,883
Deney	546,8	374,937	192	187,600	190,3	51,776

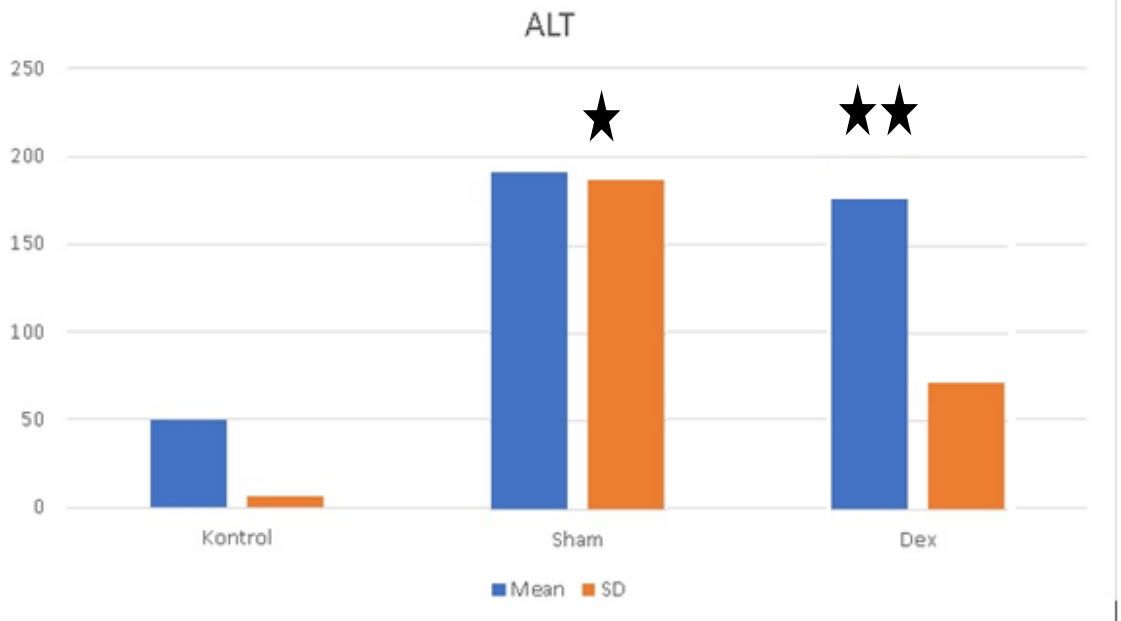
Tablo 4.2: AST Medyan değerleri ve standart sapma değerleri



★ p<0.001

★★★ p<0.01

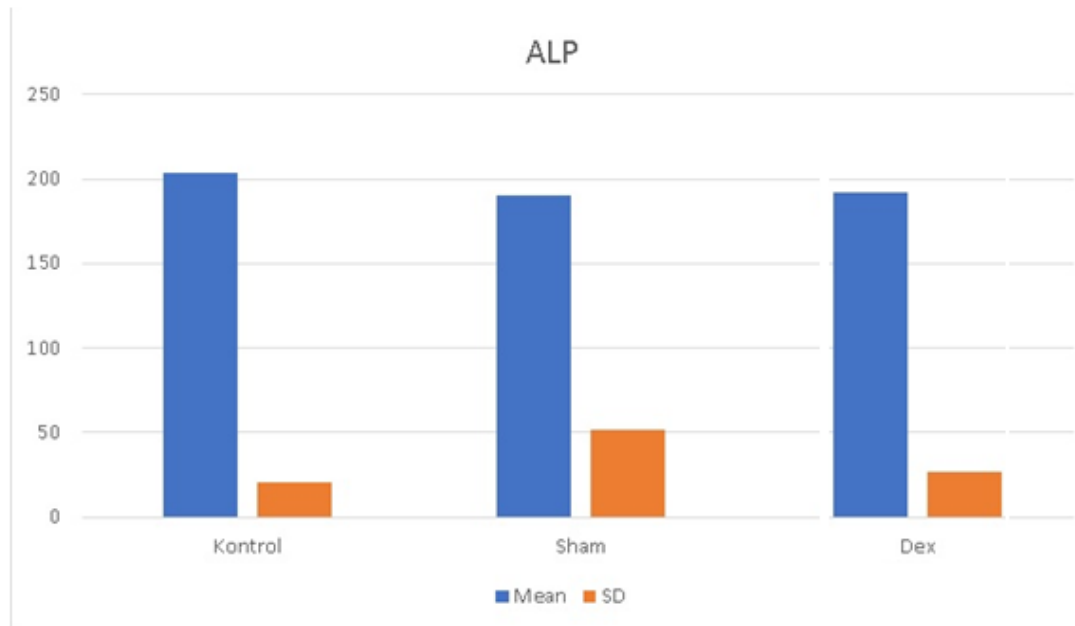
Tablo 4.3: ALT Medyan değerleri ve standart sapma değerleri



★ p<0.001

★★★ p<0.01

Tablo 4.4: ALP Medyan değerleri ve standart sapma değerleri



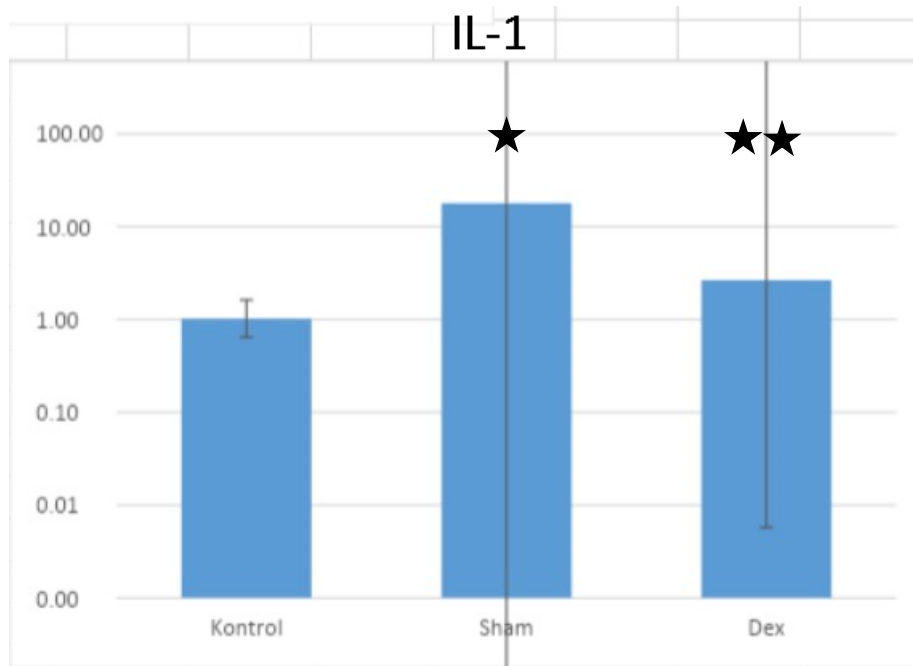
Plazma TNF-a İL-1ve İL-6 Düzeylerine İlişkin Bulgular

TNF-a ,İL-1 ve İL-6 düzeyleri sham grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış saptanmıştır ($p<0.001$). Dekspantenol grubunun plazma TNF-a İL-1 ve İL-6 düzeyleri, sham grubunun düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş ($p<0.01$); dekspantenol grubunun plazma TNF-a, İL-1 ve İL-6 değerlerinde kontrol grubuna istatiksiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p<0.1$).

Tablo 4.5: Kontrol, sham ve dekspantenol gruplarının IL-1, IL-2 ve TNF-a değerlerin medyan ve standart sapma değerleri.

	IL-1		IL-6		TNF-a	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Kontrol	1,02	0,20019529	1,03879687	0,27420395	1,04954707	0,31586572
Sham	17,90	6,72281252	70,4930496	31,3092956	75,7450574	38,3140435
Dex	2,67	2,66524601	22,7645078	30,5734775	30,5771065	71,6173062

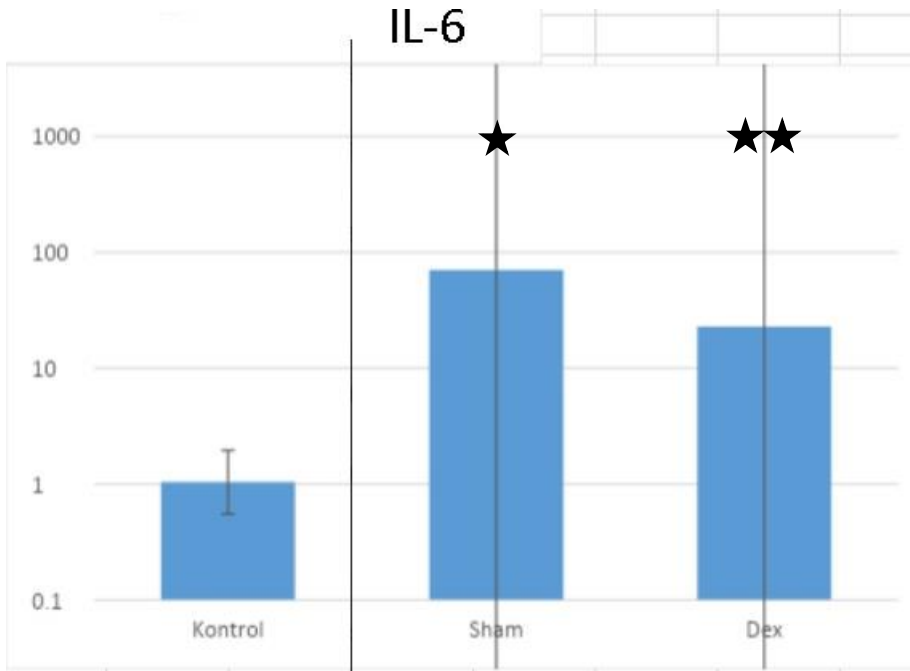
Tablo 4.6: IL-1 Medyan değerleri ve standart sapma değerleri



★ p<0.001

★★ p<0.01

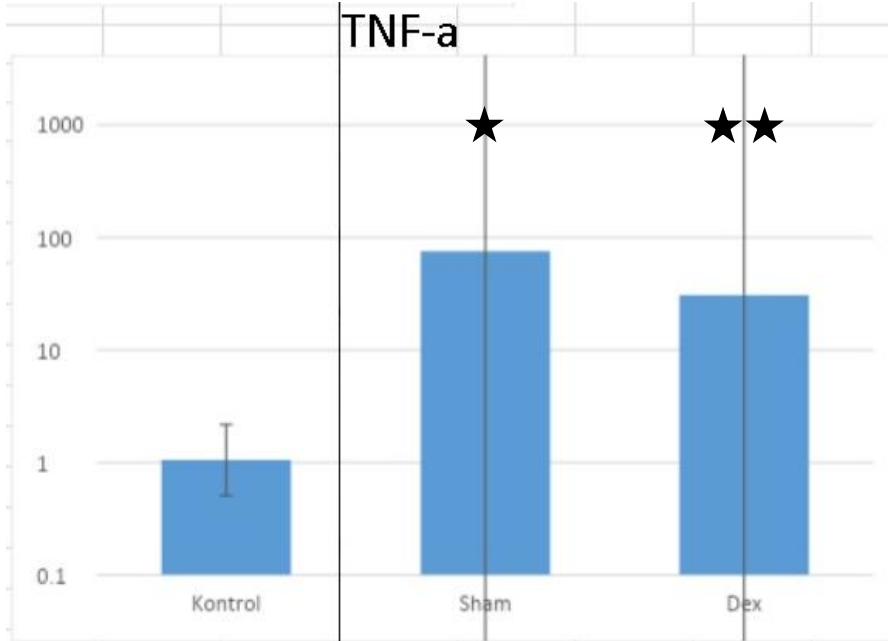
Tablo 4.7: IL-6 Medyan değerleri ve standart sapma değerleri



★ $p < 0.001$

★★ $p < 0.01$

Tablo 4.8: TNF-a Medyan değerleri ve standart sapma değerleri



★ $p < 0.001$

★★ $p < 0.01$

5.TARTIŞMA

Hepatik iskemi modellerinde ortaya çıkan iskemik karaciğer hasarı ve sonrasında oluşan reperfüzyon hasarını önleme veya minimize edilmesi konusunda farklı birçok ajan kullanılarak deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar büyük oranda antioksidan ve antiinflamatuvar maddelerin etkilerini incelemek amacıyla hazırlanmıştır. Bu durum oluşan hasarın antioksidan ve antiinflamatuvar maddeler kullanılarak azaltılabileceğini göstermektedir.

Uygulanan iskemi ve reperfüzyon süreleri açısından, deneysel modellerde farklı uygulamalar bulunmaktadır [69]. Yıldız ve ark. [70] Karaciğer hasarı için gerekli sürenin 45 dakika iskemi sonrası bir saatlik reperfüzyon olduğunu ifade etmişlerdir. İntraperitoneal timokionun karaciğer iskemi reperfüzyon üzerine etkisini araştırmış. Uygulama 45 dk iskemi, 60 dk reperfüzyon ile sağlanmıştır. Kim ve ark. [71] yaptıkları araştırmada 60 dk iskemi 45 dk. reperfüzyon ile oluşturdukları karaciğer iskemi reperfüzyon modelinde propofolün etkisini göstermişlerdir. Çağlıkülekçi ve ark. [72] çalışmasında melatonin etkisini araştırmak üzere 45 dk. iskemi ve 45 dk. reperfüzyon süresi ile oluşan hepatik iskemi reperfüzyon tablosu üzerinde çalışmışlardır. Yapılan bu çalışmada da bu verilerden yola çıkarak hepatik 45 dk. iskemi ve 45 dk. reperfüzyon planlandı ve deneysel model bu çerçevede uygulandı.

İ/R hasarı sonrası karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için farklı teknikler kullanılmıştır. Güncel olarak en çok kullanılan AST, ALT ve ALP tayinidir. Yabe ve ark. [73] yaptığı deneysel karaciğer İR hasarı oluşturdukları çalışmada serum AST ve ALT değerlerinin yükseldiğini ve İ/R sonrası meydana gelen serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasarın bu değerlerin yükselmesine sebep olabileceğini idda etmişlerdir. Inglot ve ark. [74] yaptığı karaciğer üzerindeki İR çalışmasında serum AST ve ALT değerlerinin artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra hepatositlerde nekroz, sinuzoidal genişleme ve PMNL infiltrasyonu gözlemişlerdir. Yildirim ve ark. yaptığı [75] bir diğer çalışmada ise sıçanlarda karaciğer İR sonrası serum AST ve ALT değerlerinde artma gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda, karaciğer hasarının göstergeleri olan biyokimyasal parametrelerden AST, ALT, ALP bakıldı.

Yildirim ve ark. yaptığı [75] çalışmada dekspantenolün deneysel olarak sıçanlarda oluşturulan testis I/R hasarında lipid peroksidasyonunu ve testiste meydana gelen hasarı hem erken dönemde hem de 60 günlük izlemde azalttığını göstermişlerdir. Çalışmalarında, ratlarda detorsiyone dönem öncesi 500 miligram/kilogram dekspantenol verilen grupta, sham, torsiyone+detorsiyone, torsiyon+SF+detorsiyone ve 250 miligram/kilogram dekspantenol verilen ratlara göre kan MDA düzeylerinin anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Ceylan ve ark. yaptığı [76] çalışmasında kostik özofagus yanıklarında dexpanthenol ve Y-27632 maddelerin striktür üzerinde etkilerini araştırdıkları çalışmada dekspantenolle tedavi edilen gruplarda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük olduğu görülmüştür. Chen ve ark. yaptığı [77] çalışmada dekspantenolün SOD üzerinden etki göstererek takralimusun I/R hasarı üzerinde olumlu katkıları olduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir.

Ratlarda testisin saat yönünün tersine 180 derece döndürerek 4 saat bekledikleri bir modelde dekspanthenolün lipid peroksidasyonunu azaltarak serum MDA düzeylerini düşürdüğünü ve antinflamatuar etkinliğini gösterdiğini saptamışlardır. Bu bulgularını histolojik olarak da desteklemişlerdir [78]. Rat özofagusuna 90 saniye sodyumhidroksit uygulayarak yapılan deneysel yanık modelinde intraperitoneal olarak verilen dekspanthenolün lipid peroksidasyonunu önleyerek ve koenzim A yapısına katılarak kolestrol yapımını artırdığı bunun sonucunda doku iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada dekspanthenolün hidrokspirolen yapımını azaltarak özofagusta striktür oluşumunu azalttığı gösterilmiş ve özofagusta striktür oluşumunu azaltabileceğini düşünülmüştür [76].

Dekspantenolün ve trombositin zengin plazmasının büyük boyutlu hepatektomilerde rejenerasyonu hızlandırdığı, olası iskemik etkileri azalttığı saptanmıştır [79].

İskemi anında dekspantenol verilen gruplarda lipid peroksidasyonunu azaltarak ve nötrofillerden salınan myeloperoksidaz enzimini azaltıp bu sayede de I/R hasarını azalttığı saptanmıştır [80]. Rat böbrek I/R deneysel modellerinde 1 saat iskemi 23 saat reperfüzyon sağlanan bir modelde, iskemi öncesinde iskemi esnasında ve reperfüzyon esnasında verilen dekspantenolün etkinliği karşılaştırıldığında dekspantenolün lipid

peroksidasyonunu azalttığı bunun yanında hücre içi ATP düzeylerini artırıp buna paralel olarak glutatyon düzeylerini de artırarak SOR hasarını engellediği öne sürülmüştür. Aynı çalışmada dekspantenolün etkinliğinin en fazla olduğu grubun reperfüzyon esnasında verilen hayvanlar olduğu gösterilmiştir [7]. İntestinal iskemi–reperfüzyon hasarı ve bunun önlenmesi için çalışmalar halen devam etmektedir. Özdemir ve ark. yaptığı [81] çalışmasında dekspantenolü hipoksik nekrotizan enterokolit modelinde dekspantenolü hipoksi anında kullanmışlardır. Bu çalışmada hem histolojik hem de biyokimyasal olarak dekspantenolle tedavi edilen grupta İ/R hasarını azalttığı yönde veriler mevcuttur. Aynı çalışmada dekspantenolün SOR hasarını azaltıcı etkisini lipid peroksidasyonunu azaltarak, nötrofillerden salınan MPO enzim salınımı engelleyerek ve glutatyon düzeylerini artırarak yaptığı düşünülmüştür. Altıntaş ve ark. [7] rat böbrek iskemi reperfüzyon modelinde verdikleri iskemi öncesi verilen dekspantenolün etkinliğinin reperfüzyon esnasında verilene göre daha düşük olduğu saptamıştır.

Bizim iskemi reperfüzyon deneysel modelimizde de iskemi öncesi 500 mg/kg dozda intraperitoneal yolla ihtiva edilen dekspantenolün ve iskemi sonrasında öncesi 500 mg/kg dozda i.p yolla verilen dekspantenolün IL 1 ve IL 6 ve TNF alfa düzeylerinde ise reperfüzyon sonrasında dekspantenol verilen grupta serum fizyolojik verilen gruplara göre düşük bulunmuştur. Çalışmamızda ise iskemi öncesi ve reperfüzyon esnasında verilen dekspantenolün iskemik hasarı bir miktar azalttığı kuvvetli bir anti oksidan etki gösterdiği saptanmıştır. Özellikle sham grubuna karşı istatistiksel olarak anlamlı derecede yararlı bulundu ve kontrol grubuna göre de tedavi grubunda istatistiksel olarak fark yoktu. Dekspantenol ajanının pek çok çalışmada gösterildiği gibi antioksidan etkisi yüksek ve iskemi hasarını azalıcı yönleri olsa da karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında kullanımı için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda karaciğer iskemi reperfüzyon modelinde ortaya çıkan hasarın dekspantenol tedavisi sonrası karaciğer fonksiyon testlerinde ve sitokin düzeylerinde (İL-1, İL-6 ve TNF-a) kısmen düzeldiğini oksidatif stres parametrelerinde azalmaların izlendiği gözlenirse de primer İ/R hasarında etkinliğinin saptanması için daha geniş çaplı çalışmalar gerekmektedir.

Çalışmamızda anlamlı çıkan sonuçlarla dekspantenolün iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkisi tam olarak gösterilemese de koruyucu ve tedavi edici etkisi bizim çalışmamızda olduğu gibi literatürde değişik modellerde gösterilmiştir.

Bu deneysel modelde ortaya çıkan sonuçların anlamlı biyokimyasal verilerle ve sitokin düzeylerinde desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın ileride yapılacak araştırmalar için bir başlangıç noktası olacağına inanmaktayız . Dekspantenolün hızlı ulaşılabilir, ucuz intravenöz formu bulunan bir ilaç olması avantaj olarak elimizde bulunsa da bu ilacın insanlarda özellikle İ/R hasarı öncesinde kullanımıyla ilgili bir çok geniş kapsamlı çalışmaya ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Ahmetova, A., *Deneysel hepatik iskemi-reperfüzyon modelinde Levosimendan infüzyonunun karaciğere etkilerinin araştırılması*. 2010, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi.
2. Bozkurt, S., *Hepatik iskemi-reperfüzyon modelinde adrenomedullin ve adrenomedullin bağlayıcı protein1 kombinasyonunun akut akciğer ve karaciğer hasarı üzerine etkilerinin araştırılması*. 2009, SDÜ Tıp Fakültesi.
3. Rock, P. and Z. Yao, *Ischemia reperfusion injury, preconditioning and critical illness*. Current Opinion in Anesthesiology, 2002. **15**(2): p. 139-146.
4. Phillips, L., et al., *Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury*. Journal of Investigative Surgery, 2009. **22**(1): p. 46-55.
5. Abu-Amara, M., et al., *Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review*. Liver Transplantation, 2010. **16**(9): p. 1016-1032.
6. Serracino-Inglott, F., N.A. Habib, and R.T. Mathie, *Hepatic ischemia-reperfusion injury*. The American Journal of Surgery, 2001. **181**(2): p. 160-166.
7. Altintas, R., et al., *Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats*. Kidney and Blood Pressure Research, 2012. **36**(1): p. 220-230.
8. Ermis, H., et al., *Protective effect of dexpanthenol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats*. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, 2013. **386**(12): p. 1103-1110.
9. Slyshenkov, V.S., M. Rakowska, and L. Wojtczak, *Protective effect of pantothenic acid and related compounds against permeabilization of Ehrlich ascites tumour cells by digitonin*. Acta Biochimica Polonica, 1996. **43**(2): p. 407-410.
10. Loftus Jr, E.V., et al. *Dexpanthenol enemas in ulcerative colitis: a pilot study*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1997. Elsevier.
11. Slyshenkov, V.S., et al., *Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation*. Free Radical Biology and Medicine, 1995. **19**(6): p. 767-772.
12. Hall, J.E., *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. 2010: Elsevier Health Sciences.

13. Ebner, F., et al., *Topical use of dexpanthenol in skin disorders*. American journal of clinical dermatology, 2002. **3**(6): p. 427-433.
14. Goodman, L.S. and A. Gilman, *The pharmacological basis of therapeutics: a textbook of pharmacology, toxicology and therapeutics for physicians and medical students*. 1948: Macmillan.
15. Kayaalp, S.O., *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 2005: Hacettepe Taş Kitapçılık Limited Şti.
16. Majno, G. and I. Joris, *Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death*. The American journal of pathology, 1995. **146**(1): p. 3.
17. Oral, K., *Ratlarda direkt ve uzak iskemik ön koşullamanın renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkileri*. 2010, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi.
18. Semenza, G.L., *Cellular and molecular dissection of reperfusion injury: ROS within and without*. 2000, Am Heart Assoc.
19. Carden, D.L. and D.N. Granger, *Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury*. The Journal of pathology, 2000. **190**(3): p. 255-266.
20. Girotti, A.W., *Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems*. Journal of lipid research, 1998. **39**(8): p. 1529-1542.
21. Orrenius, S., et al., *Calcium ions and oxidative cell injury*. Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society, 1992. **32**(S1): p. S33-S42.
22. Merhi-Soussi, F., et al., *Interleukin-1 plays a major role in vascular inflammation and atherosclerosis in male apolipoprotein E-knockout mice*. Cardiovascular research, 2005. **66**(3): p. 583-593.
23. Van Ye, T.M., et al., *Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage*. Journal of Surgical Research, 1993. **55**(5): p. 553-558.
24. Sasaki, M. and T. Joh, *Inflammation and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents*. Journal of clinical biochemistry and nutrition, 2007. **40**(1): p. 1-12.
25. Aruoma, O.I., H. Kaur, and B. Halliwell, *Oxygen free radicals and human diseases*. Journal of the Royal Society of Health, 1991. **111**(5): p. 172-177.
26. Valko, M., et al., *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. The international journal of biochemistry & cell biology, 2007. **39**(1): p. 44-84.

27. Weiss, T.S., et al., *Augmenter of Liver Regeneration Reduces Ischemia Reperfusion Injury by Less Chemokine Expression, Gr-1 Infiltration and Oxidative Stress*. *Cells*, 2019. **8**(11): p. 1421.
28. Collard, C.D. and S. Gelman, *Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury*. *Anesthesiology*, 2001. **94**(6): p. 1133-1138.
29. Dar, W.A., et al., *Ischaemia reperfusion injury in liver transplantation: Cellular and molecular mechanisms*. *Liver International*, 2019. **39**(5): p. 788-801.
30. Özkaya, F.C. and H. Koçdor, *İskemi-Reperfüzyon ve Kanser Metastazı: Biyokimyasal Bakış*. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2008. **22**(2): p. 89-98.
31. DABAN UGRAS, U.M., et al., *PROTECTIVE EFFECTS OF ESCIN ON HEPATIC ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RATS*. *Acta Medica*, 2016. **32**: p. 973.
32. Furka, A., et al., *Hemorheological changes caused by intermittent Pringle (Baron) maneuver in beagle canine model*. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 2008. **40**(3): p. 177-189.
33. De Groot, H. and U. Rauen. *Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review*. in *Transplantation proceedings*. 2007. Elsevier.
34. Kim, Y.-I., *Ischemia-reperfusion injury of the human liver during hepatic resection*. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, 2003. **10**(3): p. 195-199.
35. Kupiec-Weglinski, J. and R. Busuttil. *Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation*. in *Transplantation proceedings*. 2005. Elsevier.
36. Rushing, G.D. and L.D. Britt, *Reperfusion injury after hemorrhage: a collective review*. *Annals of surgery*, 2008. **247**(6): p. 929-937.
37. Birrer, R., Y. Takuda, and T. Takara, *Hypoxic hepatopathy: pathophysiology and prognosis*. *Internal Medicine*, 2007. **46**(14): p. 1063-1070.
38. Zhang, Q., et al., *Hydrogen sulfide preconditioning protects rat liver against ischemia/reperfusion injury by activating Akt-GSK-3 β signaling and inhibiting mitochondrial permeability transition*. *PloS one*, 2013. **8**(9).
39. Farmer, D.G., et al., *Current status of ischemia and reperfusion injury in the liver*. *Transplantation Reviews*, 2000. **14**(2): p. 106-126.
40. Fondevila, C., R.W. Busuttil, and J.W. Kupiec-Weglinski, *Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look*. *Experimental and molecular pathology*, 2003. **74**(2): p. 86-93.

41. Şener, G. and Y. BÇ, *İskemi reperfüzyon hasarı*. Klinik Gelişim Derg, 2009. **22**(3): p. 5-14.
42. Rahman, K., *Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors*. Clinical interventions in aging, 2007. **2**(2): p. 219.
43. Granger, D., *Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen derived free radicals*. Acta Physiol Scand Suppl, 1986. **548**: p. 47-63.
44. Kerksick, C.M. and M. Zuhl, *Mechanisms of oxidative damage and their impact on contracting muscle*. Antioxidants in sport nutrition. Bota Raton: CRC Press, Taylor & Francis, 2015.
45. Arumugam, T.V., et al., *The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury*. shock, 2004. **21**(5): p. 401-409.
46. Kumar, V., R. Cotran, and S. Robbins, *Temel Patoloji (Basic Pathology)*. Çevikbaş U (Çeviri Editörü). Akciğerler ve Üst Solunum Yolları, 2000. **13**: p. 393-438.
47. Neher, M.D., et al., *New insights into the role of peroxisome proliferator-activated receptors in regulating the inflammatory response after tissue injury*. PPAR research, 2012. **2012**.
48. Selzner, M., et al., *Increased ischemic injury in old mouse liver: an ATP-dependent mechanism*. Liver transplantation, 2007. **13**(3): p. 382-390.
49. Montalvo-Jave, E.E., et al., *Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury*. Journal of Surgical Research, 2008. **147**(1): p. 153-159.
50. Glantzounis, G.K., et al., *The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: A review*. Liver Transplantation, 2005. **11**(9): p. 1031-1047.
51. Wang, N.-P., et al., *Ischemic preconditioning reduces neutrophil accumulation and myocardial apoptosis*. The Annals of thoracic surgery, 1999. **67**(6): p. 1689-1695.
52. Halliwell, B., *Antioxidants in human health and disease*. Annual review of nutrition, 1996. **16**(1): p. 33-50.
53. Matés, J.M., C. Pérez-Gómez, and I.N. De Castro, *Antioxidant enzymes and human diseases*. Clinical biochemistry, 1999. **32**(8): p. 595-603.
54. Ames, B.N., M.K. Shigenaga, and T.M. Hagen, *Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993. **90**(17): p. 7915-7922.

55. Shah, P.C., et al., *Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury. Mechanisms of ageing and development*, 1999. **107**(1): p. 37-50.
56. Aebi, H., *Catalase in vitro Methods Enzymol 105: 121–126*. Find this article online, 1984.
57. ARSLAN, Ü., *Hedysarum aucheri (Fabaceae) bitkisinin kimyasal içeriğinin araştırılması ve farklı ekstraktlerinin antioksidan aktivitesinin incelenmesi/Investigation of chemical composition of Hedysarum aucheri (Fabaceae) and evaluation of antioxidant activity of its different extracts*. 2017.
58. Devasagayam, T., et al., *Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects*. Japi, 2004. **52**(794804): p. 4.
59. Kulikov, A. and A. Zinchenko, *Development and validation of reversed phase high performance liquid chromatography method for determination of dexpanthenol in pharmaceutical formulations*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2007. **43**(3): p. 983-988.
60. Budavari, S., *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals (p. 923)*. Whitehouse Station: Merck, 1996.
61. Moiseenok, A., et al., *Pantothenic acid in maintaining thiol and immune homeostasis*. Biofactors, 2000. **11**(1-2): p. 53-55.
62. Wojtczak, L. and V.S. Slyshenkov, *Protection by pantothenic acid against apoptosis and cell damage by oxygen free radicals-the role of glutathione*. BIOFACTORS- OXFORD THEN AMSTERDAM-, 2003. **17**(1/4): p. 61-74.
63. Kumar, P., M. Chhibber, and A. Surolia, *How pantothenol intervenes in Coenzyme-A biosynthesis of Mycobacterium tuberculosis*. Biochemical and biophysical research communications, 2007. **361**(4): p. 903-909.
64. Slyshenkov, V.S., D. Dymkowska, and L. Wojtczak, *Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics*. FEBS letters, 2004. **569**(1-3): p. 169-172.
65. Slyshenkov, V.S., et al., *Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation*. Free Radical Biology and Medicine, 1998. **24**(6): p. 894-899.
66. Slyshenkov, V.S., et al., *Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis*. Free Radical Biology and Medicine, 2001. **30**(11): p. 1303-1310.
67. Biro, K., et al., *Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study*. Contact dermatitis, 2003. **49**(2): p. 80-84.

68. Jessop, C.E. and N.J. Bulleid, *Glutathione directly reduces an oxidoreductase in the endoplasmic reticulum of mammalian cells*. Journal of Biological Chemistry, 2004. **279**(53): p. 55341-55347.
69. Bayramoglu, G., et al., *The hepatoprotective effects of Hypericum perforatum L. on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats*. Cytotechnology, 2014. **66**(3): p. 443-448.
70. Yildiz, F., et al., *Nigella sativa relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver*. World journal of gastroenterology: WJG, 2008. **14**(33): p. 5204.
71. Kim, S.-K., et al., *Effects of propofol on early phase of warm hepatic ischemia/reperfusion injury*. Hepato-gastroenterology, 2007. **54**(80): p. 2333.
72. Çağlıkülekcı, M., et al., *Deneyisel hepatik iskemi reperfüzyon modelinde melatonin uygulamasının kan ve karaciğer doku lipid peroksidasyonuna etkisi*. Turkish Journal of Surgery, 2006. **22**(3): p. 093-098.
73. Yabe, Y., et al., *Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia/reperfusion injury by superoxide dismutase and catalase derivatives*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2001. **298**(3): p. 894-899.
74. Leszek, J., et al., *Colostrin proline-rich polypeptide complex from ovine colostrum-- a long-term study of its efficacy in Alzheimer's disease*. Medical Science Monitor, 2002. **8**(10): p. PI93-PI96.
75. Yildirim, S., et al., *Allopurinol plus pentoxifilline in hepatic ischaemia/reperfusion injury*. Asian journal of surgery, 2002. **25**(2): p. 149-153.
76. Ceylan, H., et al., *Protective effects of dexpanthenol and y-27632 on stricture formation in a rat model of caustic esophageal injury*. Journal of Surgical Research, 2011. **171**(2): p. 517-523.
77. Chen, F., et al., *Pre-treatment with FK506 reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats*. Clinics and research in hepatology and gastroenterology, 2019. **43**(2): p. 161-170.
78. Etensel, B., et al., *Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury*. Pediatric surgery international, 2007. **23**(2): p. 177-181.
79. Aydın, O., et al., *May dexpanthenol, platelet-rich plasma, and thymoquinone provide new hope to maintain liver regeneration after partial hepatectomy?* The Turkish Journal of Gastroenterology, 2019. **30**(9): p. 826.

80. Özkayran, H., *Sıçanlarda deneysel intestinal iskemi reperfüzyon hasarında dekspantenolün etkileri*. 2009, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi.
81. Karadag, A., et al., *Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis*. Journal of pediatric surgery, 2015. **50**(7): p. 1119-1124.

