

T. C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

TIKANMA İKTERİ OLUŞTURULAN RATLARDA GELİŞEN  
OKSİDATİF STRESTE RİLUZOLE KULLANIMININ KARACİŐER  
VE İNCE BARSAK ÜZERİNE FONKSİYONEL VE  
HİSTOPATOLOJİK ETKİSİ

Dr. Ziya DEMİRTAŞ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2010

T. C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

TIKANMA SARILIĞI OLUŞTURULAN RATLARDA GELİŞEN  
OKSİDATİF STRESTE RİLUZOLE KULLANIMININ KARACİĞER  
VE İNCE BARSAK ÜZERİNE FONKSİYONEL VE  
HİSTOPATOLOJİK ETKİSİ

Dr. Ziya DEMİRTAŞ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Prof. Dr. Ercüment PAŞAOĞLU

ESKİŞEHİR  
2010

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T. C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Ziya DEMİRTAŞ'a ait " tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda gelişen oksidatif strese riluzole kullanımının karaciğer ve ince barsak üzerine fonksiyonel ve histopatolojik etkisi." Adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 18/08/2010

Jüri Başkanı Prof .Dr.Ercüment PAŞAOĞLU  
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye Prof .Dr. Haluk KİPER  
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye Prof .Dr.Adnan ŞAHİN  
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

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

Prof.Dr. Zübeyir KILIÇ  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan sayın hocam Prof. Dr. Ercüment PAŞAOĞLU'na ve değerli hocalarıma, tezimin hazırlanmasında katkıları olan Patoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Özgül PAŞAOĞLU'na ve Patoloji Anabilim dalı öğretim görevlisi Uzm.Dr. Funda CANAZ'a, Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Sema USLU'ya, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Halide Edip TEMEL'e, istatistiklerin hazırlanmasında bana yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Setenay ÖNER'e yardımları için teşekkür ederim.

## ÖZET

**Demirtaş, Z. tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda gelişen oksidatif streste riluzole kullanımının karaciğer ve ince barsak üzerine fonksiyonel ve histopatolojik etkisi. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi , Eskişehir, 2010.** Tıkanma ikteri oluşturulmuş ratlarda glutamat salınım inhibitörü riluzol'un karaciğer ve ince barsak hasarında antioksidan özelliği ile düzeltici etkisinin incelenmesi amacıyla cinsiyet farkı gözetilmeden ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen Sprague-Dawley cinsi 50 adet rat kullanıldı. 10' ar adet rattan oluşan sham grubu, koledok ligasyon grubu, koledok ligasyon+dimetilsülfoksit grubu, koledok ligasyon+riluzol(ligasyon sonrası) grubu ve koledok ligasyon+riluzol (ikter sonrası) grubu olmak üzere beş gruba ayrıldı. Sham grubuna sadece laparotomi yapıldı. Diğer gruplardaki tüm ratlara laparotomi sonrası koledok ligasyonu yapıldı. Koledok ligasyon+riluzol(ligasyon sonrası) gruba laparotomi sonrasında başlamak üzere 7 gün, koledok ligasyon+riluzol(ikter sonrası) grubuna ise postoperatif 3. günde ikter gelişimini takiben 5 gün süreyle 10 mg/kg/gün riluzol intraperitoneal uygulandı. 7. günün sonunda ratlardan Aspartat transaminaz (AST), Alanin transaminaz (ALT), Alkalen fosfataz (ALP), Gamaglutamil transferaz (GGT), total ve direkt bilirübin için kan örnekleri, glutatyon (GSH) ve malondialdehid (MDA) için karaciğer doku örnekleri, histopatolojik inceleme için karaciğer ve terminal ileum doku örnekleri alındı. Tedavi gruplarında direkt bilirübin değerlerinde anlamlı azalma görülürken AST, ALT, ALP, GGT, total bilirübin değerlerinde anlamlı olmasa da azalma saptanmıştır. MDA değerleri tedavi gruplarında anlamlı azalma göstermezken, GSH değerlerinde tedavi gruplarında anlamlı olmasa da artış saptanmıştır. Karaciğer ve terminal ileumdaki yapısal değişiklikler açısından tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzelmeler saptanmıştır. Riluzol, biyokimyasal parametrelerde kısmi düzelmelere yol açsa da karaciğer ve terminal ileumda yapısal değişikliklere olumlu etkileri göz önüne alındığında tıkanma sarılığının beraberinde getirdiği komplikasyonlarda ve mortalitede azalmaya yol açabileceği düşünüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Tıkanma ikteri, riluzol, oksidatif stres

## ABSTRACT

**Demirtaş, Z. The functional and histopathological effects of riluzole on the liver and small intestine of oxidative stress induced rats due to obstructive jaundice.**

Eskişehir Osmangazi University, School of Medicine, Department of General Surgery, thesis for specialization in medicine, Eskişehir 2010. The protective effects of riluzole, a glutamate releasing inhibitor, which has antioxidative properties, on the liver and small intestine of obstructive jaundice induced rats. For this reason, 50 Sprague-Dawley rats of either sex, weighing 200-250 g, were used in the present study. Rats were divided evenly into 5 groups, which were sham group, choledochus ligation group, choledochus ligation+dimethylsulfoxide administered group, choledochus ligation+riluzole treatment group (following ligation) and choledochus ligation+riluzole treatment group (following inducing jaundice). In the sham group, laparotomy was carried out without any manipulation.. In the group of choledochus ligation+riluzole treatment group (following ligation) for 7 days after the laparotomy and in the group of choledochus ligation+riluzole treatment group (following inducing jaundice) starting on the postoperative 3rd day, following jaundice, for 5 days riluzole (10mg/kg/day) was administered. On the 7th day, blood samples were obtained to study aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transferase (GGT), total and direct bilirubine levels and liver tissue samples were collected to study glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels. Both the liver and the terminal ileal tissue samples were taken for the histopathological assessment. While there was no difference in the levels of MDA between the groups, the levels of GSH were higher in the treatment groups but not significantly. Histopathologically, there were significant improvements on the structural alterations of liver and terminal ileal tissues. Even if riluzole only partially corrects the biochemical parameters, regarding on our observation of the improvements on the liver and terminal ileum, riluzole may be used to correct the coexisting complications and to decrease the mortality rates in the patients with obstructive jaundice.

**Key Words:** Obstructive jaundice, riluzole, oxidative stress

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 . Karaciğer Anatomi ve Histolojisi	3
2.2. Safra Yolları Anatomi ve Histolojisi	5
2.3. Safra Fizyolojisi	8
2.4. Bilirubin Metabolizması	9
2.5. Tıkanma Sarılığı	13
2.6. Kolestaza Bağlı Konjuge Hiperbilirubinemi Nedenleri	14
2.7. Tıkanma Sarılığında Karaciğer, Safra Yolları ve İnce Barsaklardaki Değişiklikler	14
2.8. Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stress	17
2.9. Lipid Peroksidasyonu	18
2.10. Malondialdehit	19
2.11. Antioksidan Savunma Sistemleri	19
2.12. Transaminazlar	20
2.13. Dimetil Sülfoksit	22
2.14. Riluzole	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Deney Hayvanları	26
3.2.Çalışma Grupları	26
3.2.1.Cerrahi Prosedür ve Tedavi	26
3.3. Biyokimyasal İnceleme	30

3.3.1. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi	30
3.4. Histopatolojik Değerlendirme	31
3.5. İstatiksel Değerlendirme	32
4. BULGULAR	33
4.1. Biyokimyasal Sonuçlar	33
4.2. Oksidatif Stres Parametreleri	37
4.3. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	38
4.3.1. Karaciğer Histopatoloji Sonuçları	38
4.3.2. İnce Barsak Histopatoloji Sonuçları	40
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	54



**SİMGELER VE KISALTMALAR**

ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
ALT	Alanin transaminaz
ALP	Alkaleen fosfataz
AST	Aspartat transaminaz
ATP	Adenozin trifosfat
BT	Bakteriyal Translokasyon
DMSO	Dimetilsülfoksit
GABA	Gama-amino bütirik asit
GGT	Gamaglutamil transferaz
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSSG	Okside glutatyon
Gpx	Glutatyon peroksidaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
IgA	İmmünglobulin A
MDA	Malondialdehit
MPP	Metil Fenil Pridinyum
NO	Nitrik Oksit
NMDA	N-metil-D-aspartat
OH	Hidroksil Radikali
PKC	Protein kinaz C
PLA <sub>2</sub>	Fosfolipaz A <sub>2</sub>
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
RES	Retiküloendotelyal Sistem
SOD	Superoksit dismutaz
SS	Standart hata
TBA	Tiobarbitürik asit
TAC	Trikloroasetik asit

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Karaciğer segmenter anatomisi.	4
2.2. Karaciğer segmentleri.	4
2.3. Safra yolları anatomisi.	6
2.4. Karaciğer dışı safra yolları ve koledok kanalının dört bölümü	7
2.5. Bilirubin oluşumu.	10
2.6. Bilirubin oluşumu,metabolizması ve atılma yolu	13
2.7. Sarılık oluşum mekanizmaları.	14
2.8. Riluzol'ün(2-amino-6-(trifluoromethoxy)benzothiazole)kimyasal yapısı	23
3.1. Rat'ın Hazırlanması.	27
3.2. Koledok hazırlanması ve ortaya konulması.	27
3.3. Koledok hazırlanması ve ortaya konulması.	28
3.4. Koledok bağlanması ve ligasyonu.	28
3.5. Extrahepatik kolestaz.	29
3.6. Karın duvarı kapatılması.	29
4.1. AST düzeyleri.	33
4.2. ALT düzeyleri.	34
4.3. ALP düzeyleri.	34
4.4. GGT düzeyleri.	35
4.5. Total bilirubin düzeyleri.	36
4.6. Direkt bilirubin düzeyleri.	36
4.7. Karaciğer MDA düzeyleri.	37
4.8. Karaciğer GSH düzeyleri.	38
4.9. Gruplarda 10 portal alandaki duktus sayısal düzeyleri.	40
4.10. Karaciğer kesitlerinin histolojik görünümleri.	41
4.11. Terminal ileum kesitlerinin histolojik görünümleri.	44

**TABLÖLAR**

	Sayfa
4.1. Serum AST Değerleri.	33
4.2. Serum ALT Değerleri.	33
4.3. Serum ALP Değerleri.	34
4.4. Serum GGT Değerleri.	35
4.5. Serum Total Bilirubin Değerleri.	35
4.6. Serum Direkt Bilirubin Değerleri.	36
4.7. Karaciğer MDA Değerleri.	37
4.8. Karaciğer GSH Değerleri.	37
4.9. Duktular Proliferasyon Skorlama Sonuçları.	39
4.10. Gruplarda 10 Portal Alandaki Duktus Sayıları.	39
4.11. Terminal İleum Tam Kat Duvar Kalınlığı ve Mukoza Kalınlıkları	40
4.12. Villus/Kript Oranları	42
4.13. Gruplarda Lamina Propriadaki Eozinofilik PMNL Artışı	43
4.14. Villuslarda İnterapitelial Lenfosit Sayıları	43

## 1.GİRİŞ

Tıkanma ikteri başta karaciğer olmak üzere pek çok organ sistemine doğrudan etkileri olan yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden bir hastalıktır. Bu durumda gerekebilecek safra yolları cerrahisi ise operasyon tekniklerinde ve tıbbi tedavideki yeni gelişmelere rağmen halen yüksek oranda postoperatif komplikasyonlarla ve hatta mortalite ile seyreder.(1,2). Kolestatik karaciğer hastalığı safra akımının engellenmesi sonucunda safranın karaciğerde birikmesiyle karakterizedir. Obstrüktif, inflamatuvar ve genetik süreçler gibi çeşitli patolojiler karaciğerde kolestazla sonuçlanır. Sitotoksik safra asitleri karaciğerde nekroz ve fibroza yol açmaktadır (3). Karaciğer fibrozunun etyopatogenezinde serbest radikallerce oluşturulan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artış etkili bulunmuştur (4,5). Oksidatif stres ve lipid peroksidasyon ürünleri stellat hücrelerini uyararak kollajen sentezini arttırabilmektedir (6). Ayrıca lipid peroksidasyonunun hücre kültüründe kollajen gen transkripsiyonunu stimüle ettiği ve oksidatif stresin karaciğer fibrozunu stellat hücre aktivasyonu ile arttırdığı in vitro ve in vivo olarak ta gösterilmiştir (7). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehidin (MDA) stellat hücreleri aktive ettiği ve bu aktivasyonun antioksidan ajan etkisiyle bloke edildiği gösterilmiştir (8).

Barsağa safra geçişinin azalması veya olmaması safra ile atılan maddelerin kanda birikmesine neden olur. Bunun sonucunda da organizmada bazı patolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Retiküloendotelyal sistem fonksiyonlarında bozulma, immün sistemin baskılanması, intestinal mukozanın yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler, barsak duvarında oksidatif hasar, safra tuzlarının enterohepatik dolaşımının bozulması dolayısıyla antibakteriyel ve deterjan etkisinin engellenmesi, bakteriyemi ve endotoksemi bunlardan başlıcalarıdır (9,10).

Sepsis ve çoklu organ yetmezliğine, gastrointestinal sistemden transloke olan bakteri ve endotoksinlerin yol açtığı düşünülmektedir (11). İntestinal floradaki ekolojik dengenin, intestinal mukozal bütünlüğün ve konakçı immün sistemin bozulması, bakteriyel translokasyon (BT) oluşumunun temel mekanizmasını oluşturur. Safra asitlerinin intestinal bakteri artışıını inhibe ettiği ; tıkanma sarılığında ise gastrointestinal sisteme safra akışının durması ile BT geliştiği gösterilmiştir.(12). Serbest radikal hasarlarını değerlendirmede oksidan ve antioksidan parametreler çalışılarak ajanlarla elde edilen etkinliklerin ilişkileri değerlendirilebilmektedir.

Serbest radikaller doku hasarının bir göstergesi olması yanında, stellat hücrelerin uyarımı ile de kollajen sentezini artırarak patolojik sürece aracılık ederler (13).

Sıçanlarda koledok ligasyonu ile indüklenen karaciğer fibrozu, insandaki primer veya sekonder olarak gelişen bilyer siroza uygunluğu ve çabuk oluşması sebebiyle son zamanlardaki bilimsel çalışmalarda ilgi duyulan bir fibroz modeli olmaktadır. (4).

Riluzol bir glutamat salınım inhibitörüdür. Psikoterapik, antikonvülzan, hipnotik, anestetik ve nöroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir. Etkisini glutamat salınımını ve GABA (gamaaminobutirik asit) uptake'ini inhibe ederek, voltaj bağımlı sodyum ve kalsiyum kanallarını bloke, potasyum kanallarını ise aktive ederek gösterir. Ağırlıklı olarak albumin ve lipoproteinler olmak üzere plazma proteinlerine yüksek oranda (%96) bağlanır. Metabolizması ağırlıklı olarak karaciğerde sitokrom P450(CYP1A2) bağımlı hidrosilasyon ve glukronidasyon ile oluşur. Eliminasyon yarı ömrü 9 ila 15 saattir. Yapılan çalışmalarda glutamat antagonistlerinin sepsis, iskemi ve travma modellerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Riluzolün ratlarda oluşturulan sepsis ve travma modellerinde oksidatif strese bağlı oluşan organ hasarında antioksidan olarak lipid peroksidasyonunu önleyerek yararlı etkileri olduğu saptanmıştır (14,15).

Bu tez çalışmasındaki amaç, deneysel tıkanma sarılığı oluşturulan ratlarda riluzolün oksidatif stres, hepatik ve ince barsak hasarı üzerine olan etkinliğinin histolojik ve biyokimyasal verilerle araştırılmasıdır.

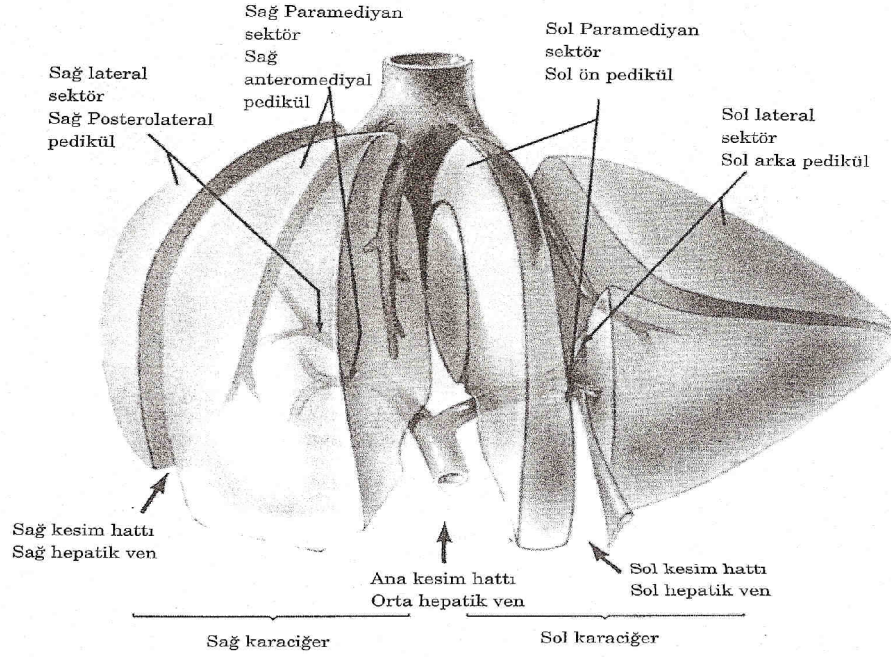
## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Karaciğer Anatomi ve Histolojisi

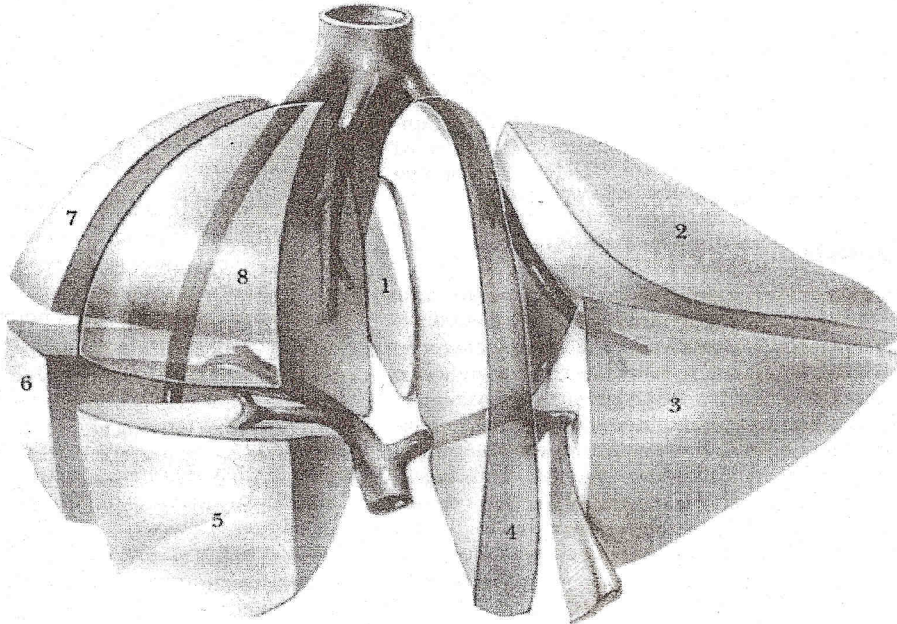
Karaciğer, 1200-1600 gr arasında değişen ağırlığı ile vücudun en büyük organıdır ve vücut ağırlığının yaklaşık % 2 sini oluşturmaktadır. Sağ hipokondrium ve epigastriumdan sol hipokondriuma doğru uzanım gösterir. Üst yüzü diafragma alt yüzüne uymakta, alt yüzü ise batın üst bölümündeki organların üzerinde yer almaktadır. Karaciğer alt yüzü sağda duodenum, kolon, sağ böbrek ve sürrenal ile; solda özofagus ve mide ile komşudur. Arka yüzü v.kava inferior'a bitişik ve diafragmaya doğrudan temas halinde bulunan bir alan dışında (area nuda) tamamen periton ile kaplanmıştır. Klasik olarak karaciğerin 4 lobu vardır. Bunlar sağ, sol, kaudat ve quadrat loblardır. Fakat geleneksel olmuş bu tanımlama karaciğerin gerçek segmental anatomisini açıklamaktan uzaktır. Karaciğer portal triadın dalları tarafından kanlanan segmentlere ayrılır ve hepatic venler ile drene olur. 1957 yılında Couinaud tarafından tanımlanan bu anatomik ayırımında sol ve sağ loblar arasındaki anatomik bölünme safra kesesi yatağının medial kenarından arkada vena kavaya olan hattı takip eder. Bu sınıflamaya göre üç segmentli sol lob; sol medial segment (segment IV) ve sol lateral segmentleri (segment II ve III) içerir. Sağ lob portal ven ve hepatic arterin dallarına göre dört segmente ayrılır. Anterior-inferior (segment V), posterior-inferior (segment VI), posterior-superior (segment VII) ve anterior-superior (segment VIII). Kaudat lob (segment I) arkada sağ ve sol hepatic loblar arasında ayrı vasküler yapılar ile yerleşmiştir. Segmentler arasında üç ana hepatic ven karaciğerin üst kısmında vena kavaya açılır(16). (Şekil 2.1-2.2)(17,18).

A.hepatika communis, turuncus çöliacus'dan çıkar, hepatoduodenal ligament boyunca yükselir ve hilusta sağ ve sol dallarına ayrılmadan önce a. gastrica dekstra ve a.gastroduodenalis'i verir ve daha sonra karaciğere girer. Bir dakikada karaciğere gelen 1500 ml kanın % 25'i a.hepatika ile % 75' i ise v. porta ile gelir. V. porta içinde kapak bulunmayan bir damardır. Mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere taşır. V.mezenterika superior ile v. lienalis'in birleşmesinden oluşur. V. mezenterika inferior genellikle v. lienalis'e drene olur. Karaciğer lobüllerindeki santral venlerin son ortak yolları hepatic venlerdir. Sol, sağ ve orta olmak üzere üç ana hepatic ven vardır. Orta hepatic ven, ana lobar fissür üzerindedir ve sol lobun medial segmenti ile sağ lobun anterior segmentinin alt kısımlarını drene

eder. Sol hepatic ven, sol lobun lateral segmentini, sağ hepatic ven ise sağ lobun posterior segmentini ve anterior segmentinin büyük bir kısmını drene eder.



**Şekil 2.1.** Karaciğer segmenter anatomisi.



**Şekil 2.2.** Karaciğer segmentleri.

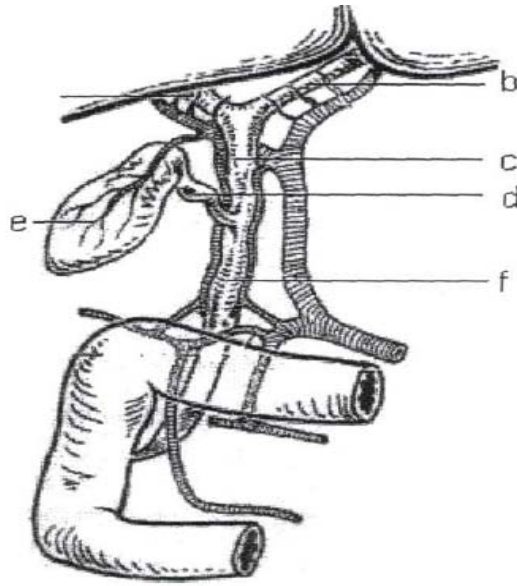
Orta hepatic ven, sol ve sağ hepatic ven ile birleşir ve v.kava inferior'a dökülür. Yüzeyel lenfatikler lobüllerin yüzeyel kısımlarından başlayıp kapsülün altından geçerek diafragma ve karaciğerin asıcı ligamentleri yoluyla posterior mediastene girer. Lobüllerin derin kısımlarından kaynaklanan lenfatikler hepatic venleri takip ederek v. kava inferior boyunca ilerler veya portal venlerle birlikte porta hepatis'e ulaşarak sisterna şiliye oradan da duktus torasikus'a drene olur. Karaciğer medulla spinalis'in T9-L1 segmentlerinden gelen sempatik; sağ ve sol vagustan gelen parasempatik liflerle innerve olur(17,18).

Karaciğer, elastik ve kollajen dokulardan yapılmış kalın bir kapsül ile örtülüdür. Glisson kapsülü adıyla bilinen bu kapsül, tabakalar halinde sıralanmış olan ve aralarında sinüzoid adıyla bilinen karmaşık bir kılcal sistemin yer aldığı süngerimsi hücre kitlesini örter. Sinüzoidler, iç yüzlerini örten endotelin Kupffer hücresi adıyla bilinen özel fagositlerle döşenmiş olması ve makromoleküllere karşı daha fazla geçirgenlik göstermesi nedeniyle sistemik kılcal damarlardan ayrılır. Karaciğer hücre tabakaları besin maddeleri ve metabolizma ürünlerinin rahatça alışverişini sağlayacak şekilde sinüzoidlerle ilişki halindedir. Mikroskopik incelemede karaciğer parankimasi, sınırları tam belirli olmayan lobüller halinde görülür. Her lobülün merkezinde karaciğerden kalbe kan taşıyan karaciğer dışı kan akım sisteminin bir dalı olan santral ven yer alır. Bu santral venler giderek genişleyen sublobuler venlerle infrahepatik venlere drene olur ve en sonunda v.kava inferior'a katılan v.hepatika'yı oluştururlar. Periferde birçok lobül arasında yer alan bir bağ dokusu topluluğu vardır. Portal traktus veya portal triad adıyla bilinen bu doku topluluğu içinde v. porta, a.hepatika ve safra kanalikülleri yer alır. V.porta ve a. hepatika'nın dalları bir seri bölünmeden sonra daha küçük dallara ayrılarak doğrudan sinüzoidlere dökülür. Safra yolları sistemi, hücre zarının bir bölümünü oluşturan ince safra kanalikülleri olarak başlar. Safra hepatositler tarafından bu kanaliküllere drene olur. Safra kanalikülleri yoluyla intralobüler duktuslara ve daha sonrada portal traktus içindeki büyük safra kanallarına dökülür (19).

## **2.2. Safra Yolları Anatomi ve Histolojisi**

Ekstrahepatik safra yolları, sağ ve sol hepatic kanallar, ana hepatic kanal, safra kesesi, sistik kanal ve koledoku içerir. (Şekil 2.3) (20).





**Şekil 2.3.** Safra yolları anatomisi. a) sağ hepatik kanal b) sol hepatik kanal  
c) ana hepatik kanal d) sistik kanal e) safra kesesi f) koledok

Safra kesesi, karaciğerin alt yüzünde sağ ve sol lobları ayıran olukta yerleşmiştir. 4-14 cm. uzunluğunda (ortalama 8,5 cm.) ve 3 cm. genişliğindedir. Ortalama kapasitesi 30-50 mililitredir. Fundusu ve gövdenin 2/3'ü peritonla çevrelenmiştir ve görülebilir. Safra kesesi boyun kısmının konfigurasyonuna göre varyasyonlar gösterebilir. Boyun kısmı uzunsa, safra kesesi tübüler bir yapıdadır. Boyun kısmı kısa ve genişse, sakküler veya sferik şekildedir. Karaciğer yatağındaki yerleşimine göre 3'e ayrılabilir:

I-Safra kesesi karaciğer yatağında sığ yerleşimlidir ve 3/4'ü periton ile örtülüdür.

II- Safra kesesi karaciğer yatağında derin yerleşimlidir ve 1/3'ü periton ile örtülüdür.

III- Pendulous safra kesesi:Kese tamamen periton ile örtülüdür.

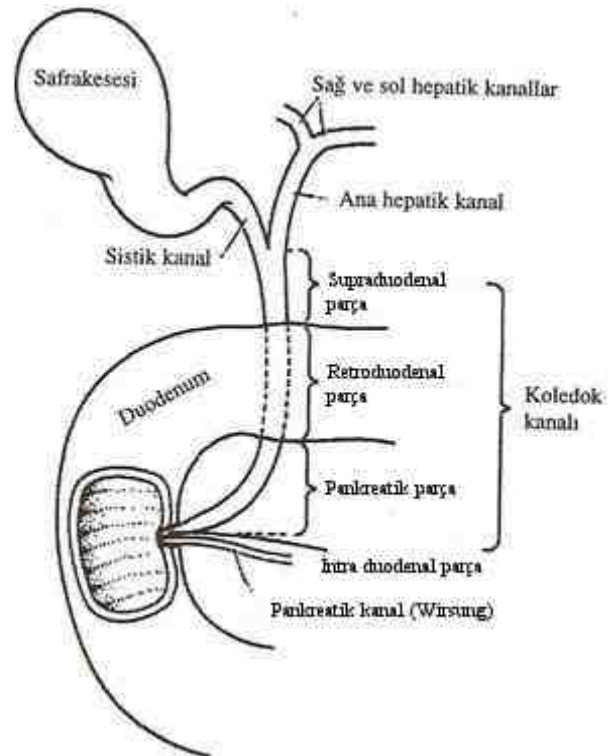
Safra kesesi değişik varyasyonlarda olabilir. Retroperitoneal, transvers, suprahepatik yerleşimli olması, 'vesica divisa' denen çift safra kesesi, aksesuar safra kesesi, Rokitansky-Aschoff Sinüs'ü denilen psödodivertikülüm, genişlemiş intramural uzantı şeklinde olan 'Luschka' kanalı, safra kesesi ve sistik kanalın konjenital yokluğu bunlar arasında sayılabilir.

Sistik kanal, 3-5 cm. uzunluğunda, 2,4-4 mm. genişliğindedir. Pars spiralis denilen başlangıç kısmı dar, mukoza kıvrıntısı gibidir. Sonraki kısım sinüzoid eğim olarak tanımlanır ve ana hepatik kanalla birleşerek ana safra kanalını oluşturur. İnsanların % 75'inde sistik kanal, sağ lateralden, duodenum ile hepatik hilusun

arasında, safra kanalının orta segmentinde, dorsal veya ventralden, 40° açı ile açılır. Sistik kanalın ana hepatic kanalı önden veya arkadan çaprazlayarak soldan giriş yapması anormal varyasyonlardır. Ana hepatic kanal 6,5 cm. uzunluğunda ve 6,5 mm. genişliğindedir. Sağ ve sol hepatic kanalların porta hepaticte birleşmesiyle oluşur.

Sistik kanal ile ana hepatic kanal birleşerek ana safra kanalını (koledok) oluşturur. Ana safra kanalı, 6-8 cm. uzunluğunda, ortalama 7,6 mm. genişliğindedir. Çap yaşla artarak 11 mm.ye kadar çıkabilir. 4 segmente ayrılır(Şekil 2.4):

- 1- Supraduodenal segment: 2-5 cm. uzunluğundadır.
- 2- Retroduodenal segment: 1-3,5 cm. uzunluğundadır.
- 3- İntrapancreatik veya retropancreatik segment: 1-2,5 cm. uzunluğundadır.
- 4- İntramural veya intraduodenal segment: 6-22 mm. uzunluğundadır.



**Şekil 2.4.** Karaciğer dışı safra yolları ve koledok kanalının dört bölümü.

Ana safra kanalı, pankreas başına 5-7 mm'lik genişçe bir lümen şeklinde açılır. Bu kısmın genişliği yaşla artarak (13 mm'ye kadar çıkar) sakkuler dilatasyon gösterir. Kanalın çapındaki ani düşme sonucu (2,9-4,4 mm'e) koledok sfinkteri oluşur. Duodenuma geçişi sağlayan dar lümenli kısım isthmus veya pars preampullaris olarak adlandırılır. Burada safra ve pankreas kanalı ince bir mukozal

septumla ayrılır. Hepatopankreatik ampulladan geçen safra kanalı duodenumun 2. kısmındaki papiller ostiuma açılır. Sistik arter, sağ hepatik arterden ayrılır ve safra kesesini besler. Karaciğer, ana hepatik kanal ve sistik kanalın sınırladığı Callot'un sistik üçgeni içinde bulunur. Karaciğer dışı safra yollarının venöz drenajı v. porta'ya olmaktadır. Safra yolları sisteminin inervasyonu karaciğerinki gibidir. Vagusun uyarılması safra kesesinin kasılmasına, sempatik uyarı ise gevşemesine sebep olur. Sempatik sinirler içindeki afferent lifler, safra koliği ağrısını iletir(21).

Safra kanalları silendirik epitel ile örtülüdür ve mukus glandları ihtiva eder. Safra kesesi duvarı silendirik epitelten oluşan mukoza, musküler tabaka, subseroza ve serozadan oluşmuştur. Mukus glandları sadece safra kesesinin boyun kısmında bulunur (19).

### **2.3. Safra Fizyolojisi**

Karaciğer hücrelerinde yapılan safra, ekstrahepatik safra yolları ile safra kesesine gelir ve burada konsantrasyonu artırılarak gerektiğinde barsağa verilir. Safra kanaliküllerine salgılanan safra, konjuge safra asidi tuzları, safra pigmentleri, kolesterol, lesitin, inorganik elektrolitler, az miktarda yağ asidi ve protein, su ve karaciğer metabolizmasının çeşitli ürünlerinin sudaki eriyiğidir. Safra tuzları karaciğerde kolesterolden sentez edilir. Ana safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit, glisin ve taurin ile konjuge edilerek suda eriyik hale getirilebilir.

Deoksikolik asit ve litokolik asit ise kolik asit ve kenodeoksikolik asitten barsak bakterileri tarafından oluşturulur. Litokolik asit suda erimez ve dışkı ile atılır. Diğer safra tuzları emilerek tekrar safraya katılır. Safra tuzlarının barsaklarda iki ana görevi vardır. İlk olarak besinlerdeki yağ partikülleri üzerinde deterjan etkisi yaparlar. Partiküllerin yüzey gerilimlerini azaltarak, küçük yağ damlacıklarına parçalanmasına ve karışmasına yardım ederler. İkinci olarak ise, yağ asitleri, monogliserid, kolesterol ve diğer lipidlerin intestinal kanalda emilmelerine yardım ederler.

Karaciğer tarafından sürekli salgılanan safra, safra kesesinde depo edilerek gerektiğinde duodenuma akıtılır. Günlük toplam safra sekresyonu 700-1400 ml. , safra kesesinin normal hacmi ise 30-60 mililitre kadardır. Bununla birlikte 12 saatlik safra salgısı safra kesesinde depo edilebilir. Safra kesesinin boşalması için iki temel koşul gereklidir.

1- Safranın koledoktan duodenuma akabilmesi için Oddi sfinkterinin gevşemesi.

2- Safra kesesinin kasılarak safranın koledok kanalına itilmesi.

Yemeklerden, özellikle de yağ içeriği yüksek bir yemekten sonra ince barsağın ilk bölümlerinden kolesistokinin denilen bir hormon salgınır. Kolesistokinin safra kesesinde kontraksiyonlara neden olur, safra kesesinin kasılması üzerine Oddi sfinkteri inhibe olur, duodenumda besin bulunması peristaltik dalgaların şiddetini artırır. Bu Oddi sfinkterinde anlık gevşemeye neden olur ve safranın barsağa akması sağlanır.

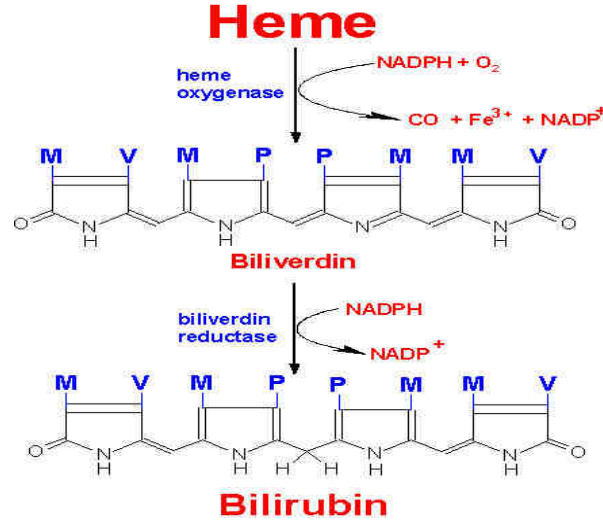
Safranın normal salınma basıncı 120-250 mmH<sub>2</sub>O arasındadır. Bu basınç safra akımının hareketini sağlar. 300 mmH<sub>2</sub>O üzerindeki safra yolları basıncında karaciğerden safra salınımı inhibe olur. Safra kanallarındaki basıncın yükselmesi safra karışımını da etkiler. Basınç yükseldikçe en başta kolesterol olmak üzere safra tuzlarıyla, fosfolipidlerin karaciğerden salgısı azalır ve rölatif olarak safranın litojenik özelliği azalır. Safra yollarında akımın olması için extrahepatik safra yolları basıncının intrahepatik safra yolları basıncından düşük olması gereklidir ve bu basınç normalde 100-150 mmH<sub>2</sub>O'dur (9,21).

#### **2.4. Bilirubin Metabolizması**

Bilirubinün üretiminin en önemli kaynağı eritrosit katabolizmasıdır. Bu üretimin %80-85'i retikuloendotelyal sistemdeki (RES) kırmızı kan hücrelerinin yıkımıyla olur. Dolaşımdaki eritrositlerin ortalama ömürleri 100-120 gündür. Bu süre sonunda eritrositler retikuloendotelyal sistemde mononükleer fagositer hücreler tarafından yıkılırlar. Bu yıkım sırasında globin, hemoglobinden hidroliz yoluyla ayrılır ve bilirubin yapımında kullanılan 'hem' ortaya çıkar. Bilirubin üretiminde kullanılan hem'in % 15-20 'lik kısmı da kemik iliğinde gelişim aşamasında eritrosit yıkımı (inefektif eritropoez) ve karaciğerde hem içeren nonhemoglobin protein yapıda olan myogloblin ve sitokromların yıkılmasıyla elde edilmektedir. Hem katabolizması mikrozomal okside edici sistemde devam eder. Hem, retikuloendotelyal sistemde hem oksijenaz ile biliverdine, biliverdin de biliverdin reduktaz ile bilirubine dönüşür (Şekil 2.5) (22).

Erişkin bir insanda ortalama kan hacmi 5000 ml ve ortalama hemoglobin konsantrasyonu % 15'dir. Matur eritrositlerin her gün % 1'i yıkılmaktadır ve 7.5 gr hemoglobin açığa çıkmaktadır. 1 gr hemoglobinden 34 mg bilirubin oluşmaktadır. Bu nedenle günlük bilirubin yapımı 250-300 mg' dır. Sitolde biliverdin reduktaz

ile oluşan indirekt (konjuge olmamış) bilirubin, yağda çözünebilir formdadır ve suda çözünemez. Bu nedenle indirekt bilirubin plazmada albumine bağlı olarak taşınır. İndirekt bilirubin ile albumin arasında olan bağ reversibl ve kovalent olmayan bağ şeklindedir ve bu bağlanma dokuları bilirubinin potansiyel toksik etkilerinden korur.



Şekil 2.5. Bilirubin oluşumu.

Bilirubin albumin kompleksi karaciğerin sinuzoidal dolaşımına portal ve hepatic arteriyal sistemlerle ulaşır. Karaciğerin sinuzoidal dolaşımına alınan bilirubinin hepatic metabolizması üç aşamada gerçekleşir (23):

1. Hepatosit içine alınma
2. Konjugasyon
3. Safraya atılım

İndirekt bilirubin albuminden hepatositlerin plazma membranında ayrılır. Bilirubinin hepatositlere giriş şekli net olarak bilinmemekle birlikte bu sürecin protein Y ve Z'nin de içinde buldukları bir taşıyıcı sistemle gerçekleştiği düşünülmektedir. Hepatosit stoplazmasına taşıyıcı proteinlerle aktarılan unkonjuge bilirubin, hücre içinde, ligandine bağlanarak, düz endoplazmik retikuluma taşınır. Burada ilk basamakta UDP-glukuronil transferaz, bilirubini glukronik asitle konjuge ederek suda çözünür form olan bilirubin monoglukuronid (%15) ve diglukuronide (%85) katalizler (24). Daha sonra aynı enzim ya da plazma membran transglukronidazı oluşan bilirubin monoglukuronidi bilirubin diglukuronide çevirir.

Hem bilirubin monoglukuronid (% 15) hem de bilirubin diglukuronid (%85) safra kanallarına taşınarak safra yoluyla atılırlar. Böylece safra, aktif transportla safra yollarına, safra kesesine ve buradan da duodenuma suda çözünebilir direk formda (konjuge bilirubin) ulaşır. Safranın eksresyon aşaması bilirubin metabolizmasında hız sınırlayıcı basamak olarak adlandırılır (24).

Bilirubin metabolizmasının önemli bir bölümü de ince barsaklarda gerçekleşir. Distal ince barsaklarda ve kolonda bulunan bakteriler, direk bilirubini ürobilinojen olarak isimlendirilen bir dizi bileşiğe dönüştürürler. Bu işlem sırasında oluşan ara ürünler mezobilirubinojen ve sterkobilirubinojendir. Bu renksiz ürünler daha sonra sterkobiline dönüştürülürler. Dışkıya özel rengini veren bileşik sterkobilindir. Ürobilinojenin az bir kısmı (% 10-15) terminal ileumdan ve kolondan geri emilerek böbrekten atılır. İdrarda artmış miktarda ürobilinojen olması bilirubin üretiminin arttığına, idrarda ürobilinojen olmaması da biliyer obstruksiyonun göstergesi olabilir. Ürobilinojen, sterkobiline dönüşemediğinde akolik gaita oluşur (21,22).

İndirekt bilirubin plazmada albumine bağlı olarak taşınır ve bu nedenle böbreklerden atılamaz; ancak direkt bilirubin suda çözünebilir olduğundan glomerüllerden filtre olur ve böbreklerden atılır. Direkt bilirubinin seviyesi arttıkça renal bilirubin atılımı 220 mg/gün'e ulaşır. Karaciğerde safra pigment yapımı 250 mg/gün olduğundan plazma bilirubin konsantrasyonunun 30 mg/dl'den daha fazla olması beklenmez.

Normal bilirubin metabolizması şu basamaklarla özetlenebilir;

- A)Üretim
- B)Hepatosit tarafından tutulum
- C)Konjugasyon
- D)Safra yollarına eksresyon
- E)Gastrointestinal sisteme atılım

Bu aşamalardan herhangi birisindeki defekt sarılıkla sonuçlanacaktır.

### **Hiperbilirubinemi nedenleri:**

#### **I-Non-konjuge (indirekt) Hiperbilirubinemi:**

##### **A-Aşırı bilirubin yapımı**

- 1-Hemolitik anemiler
- 2-Büyük internal hemorajilerden kanın resorpsiyonu
- 3-İnefektif eritropoez

##### **B-Azalmış hepatik alım**

- 1-İlaçlar (Rifampin, kontrast maddeler)
- 2-Muhtemel bazı Gilbert sendromu vakaları

##### **C-Bilirubin konjugasyonunda bozulma**

- 1-Gilbert sendromu
- 2-Crigler-Najjar sendromu I ve II
- 3-Yenidoğanın fizyolojik sarılığı
- 4-Diffüz hepatosellüler hastalık (siroz,hepatit)

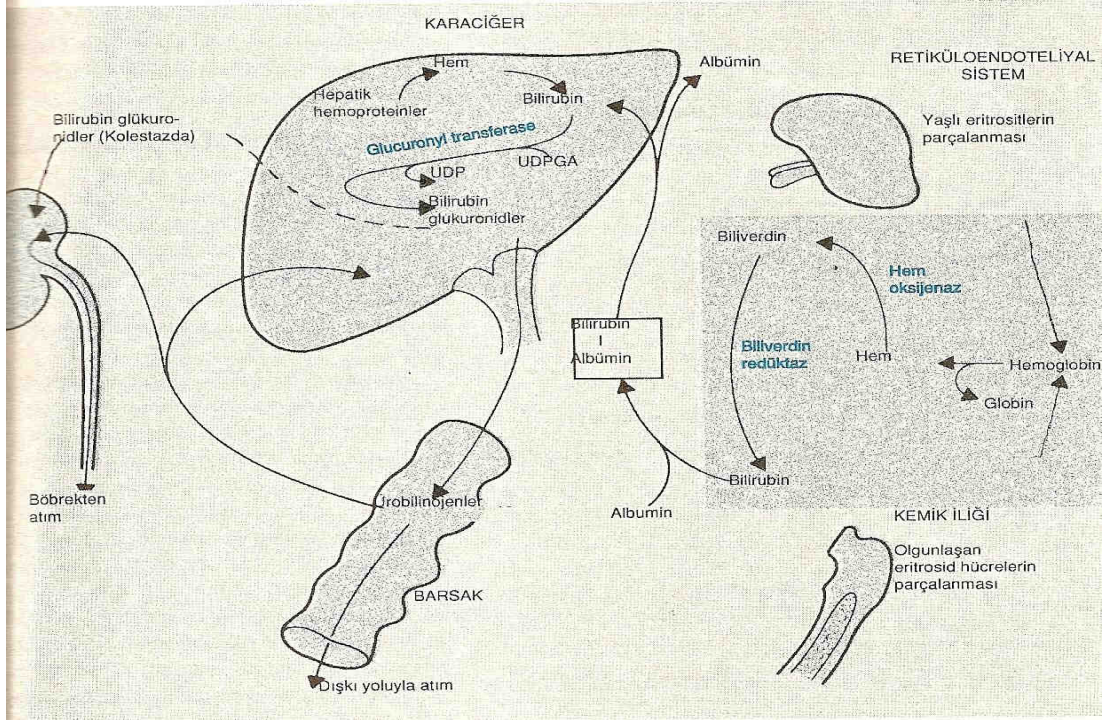
#### **II-Konjuge (direkt) hiperbilirubinemi (kolestatik sarılık)**

##### **A-Bilirubinün intrahepatik atılımında azalma**

- 1-Dubin-Johnson sendromu
- 2-Rotor sendromu
- 3-İlaçlar (oral kontraseptifler)
- 4-Hepatosellüler hastalık (viral hepatitler)
- 5-Primer bilyer siroz
- 6-Skleroza kolanjit
- 7-Sepsis

##### **B-Extrahepatik bilyer tıkanma**

- 1-Safra taşları
- 2-Pankreas başı, extrahepatik safra kanalları ve ampulla vateri tm.
- 3-Safra yolu darlıkları (safra yolu operasyonları, skleroza kolanjit)
- 4-Extrahepatik bilyer atrezi (25).



**Şekil 2.6.** Bilirubin oluşumu, metabolizması ve atılma yolu.

## 2.5. Tıkanma Sarılığı

Sarılık safra yolları ve karaciğer hastalıklarında en sık karşılaşılan bulgulardan birisidir ve serum bilirubin seviyesinin yükselmesine bağlı olarak deri, mukoza ve skleraların sarı renk alması durumudur. Uzun süreli safra yolu tıkanıklığında safranın intestinal sisteme salınamaması, sistemik toksik etkileri olan safra tuzları ve bilirubinün birikmesine yol açarak sistemik ve hepatik fonksiyonlarda birtakım değişiklikler meydana getirir (26).

Normal serum bilirubin seviyesi 0.2-1.0mg/dl'dir. Serum bilirubin seviyesi 2.5 mg/dl üzerine çıktığında, sarılık klinik olarak belirgin hale gelir. Skleral elastinin bilirubine yüksek oranda bağlanma kapasitesi nedeni ile klinikte sarılığın ilk belirgin hale geldiği yer skleralardır (27,28).

Ekstrahepatik kolestaz veya biliyer obstruksiyona bağlı oluşan sarılığa, cerrahi sarılık veya tıkanma sarılığı denir. Safra akışının hepatosit membranından, safra kanalının duodenuma giriş yerine dek herhangi bir yerde tıkanmasıdır. En önemli belirtisi sarılıktır.



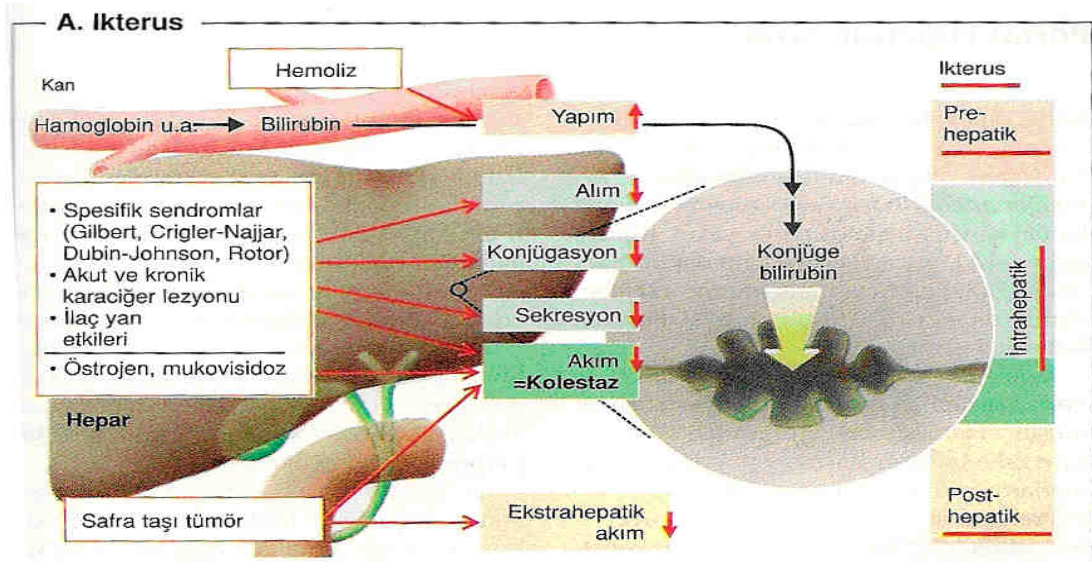
## 2.6. Kolestaza Bağlı Konjuge Hiperbilirubinemi Nedenleri

\* **Hepatit sarılığı**, hastalığın başlangıcında indirek bilirubin, safra kanalikullerinin tıkanması sonrasında direkt bilirubin artmasıyla karakterizedir. Total bilirubin % 65'ini direkt, %35'ini indirekt bilirubin oluşturur.

\* **Kolestatik sarılık**, safra kanalikullerinden ve safra kanallarından atılım bozukluğuna bağlı olarak ortaya çıkar. Sık olarak hiperbilirubinemi ile birlikte hiperlipidemi de vardır.

\* **Safra taşlarına bağlı tıkanma sarılığı**, artıp azalan hiperbilirubinemi ile karakterizedir. %10 mg'a kadar yükselen hiperbilirubinemi olabilir.

\* **Tümöre bağlı sarılık**, sürekli artan hiperbilirubinemi ile karakterizedir. Genellikle %20 mg'dan yüksek hiperbilirubinemi saptanır.



Şekil 2.7. Sarılık oluşum mekanizmaları.

## 2.7. Tıkanma Sarılığında Karaciğer, Safra Yolları Ve İnce Barsaklardaki Değişiklikler

Tıkanma sarılığında safra kanallarında biriken bilirubin, safra tuzları ve kolesterol, hepatik fonksiyonları bozan lokal etkiler yaparken, geniş sistemik etkiler de yapar. Sarılıklı hastada artmış hepatik disfonksiyon, renal hasar, kardiyovasküler hasar, kanama, enfeksiyon, yara komplikasyonları, cerrahiden sonra ölüm riski gibi sorunlar vardır.(29).

Normal safra yolları basıncı 5-10 cm H<sub>2</sub>O'dur. Tıkanma ikterinde oluşan obstruksiyonda biliyer basınç 30 cm H<sub>2</sub>O'ya kadar ulaşabilir. Tıkanma sarılığında safra yollarındaki basınç artışıyla birlikte, safra kanalikulünde dilatasyon ve mikrovilluslarda dejenerasyon görülür. Karaciğerde safra pigmenti çöker ve kolesterol ve safra tuzu birikimine bağlı olarak safra kanalı epiteli bozulur. Epitelin fırçası kenarı deforme olur veya tamamen yok olur. Sonuçta kanalikuler motiliteyi de kapsayan hücre fonksiyonu bozulur. Biliyer obstruksiyonda ayrıca hepatositlerin sekresyon ve metabolik fonksiyonları bozulur. Buna bağlı olarak ilk 48 saatte fokal nekroz oluşur.

Uzun süren tıkanma sarılığında safra kanaliküllerinde proliferasyon görülür. Safra yollarındaki kolestaza bağlı intrahepatik ve ekstrahepatik dilatasyon, safra kanalı çevresinde PMNL (Polimorfonükleer lökosit) infiltrasyonuna neden olur ve kan akımındaki bakteriyel translokasyon olasılığını artırır. Bu inflamatuvar süreç fibrozis ile sonlanır. Biliyer basınç 20 cm H<sub>2</sub>O 'yu geçtiği zaman hepatik safra ekresyonu da bozulur. Artan safra asitleri mitokondriyal sitokrom p450 enzim sistemini inhibe eder. Sonuçta karaciğerde oksidatif metabolizma azalır.

Tıkanma sarılığı uzadıkça hepatositte atrofi ve fibrozis artar. Karaciğer makroskopik olarak sarı-yeşil renkte, şişmiş ve yuvarlak bir şekildedir. Safra birikimine bağlı olarak portal bölgelerde fokal nekroz gelişir. Sonuçta tıkanma ikterine bağlı sekonder biliyer siroz gelişebilir (30,31,32).

Yapılan deneysel çalışmalar safra yolu tıkanmasını takiben retiküloendotelyal sistemin fonksiyonunun bozulduğunu göstermiştir (33,34). Biliyer obstruksiyonda portal kan akımındaki artışa rağmen total karaciğer kan akımı azalır. Bu azalma RES'de ortaya çıkan fonksiyon değişikliklerinden sorumlu tutulmaktadır. Retiküloendotelyal sistem, doku makrofajları olarak tanımlanır. Başlıca karaciğer, dalak, akciğer ve kemik iliğinde bulunurlar. Bakteri, endotoksin, immun kompleks ve hücre debrisleri gibi partiküler materyallerin temizlenmesinden sorumludurlar (35). RES'de kupffer hücreleri, doku makrofajları dominant hücre tipleridir. Dolaşımdaki infeksiyöz ajanlar, hasarlı kan hücreleri, endotoksinler Kupffer hücreleri tarafından temizlenir. Ancak tıkanma ikterinde Kupffer hücre fonksiyonunda belirgin azalma olduğu gösterilmiştir (36). Deneysel tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda görülen yama tarzı karaciğer nekrozunun nedeni bu Kupffer

hücre harabiyeti olabilir (37). Karaciğerdeki Kupffer hücreleri retiküloendotelial sistem aktivitesinin %80-90'ından sorumludur. RES fonksiyonu obstüktif sarılık, travma, cerrahi ve sepsis gibi durumlarda deprese olur. RES fonksiyonunun bozulması barsaktan endotoksin absorpsiyonunun artması ile sonuçlanır (38).

Tıkanma sarılığı olan hastalarda morbidite ve mortaliteden sorumlu olan endotoksemi başlıca 2 ana faktör sonucu oluşmaktadır. Bunlardan birincisi, barsak bariyer fonksiyonunda bozukluk, bunun sonucu bakteri ve toksinlerinin portal dolaşıma geçmeleri; ikincisi de mononükleer fagositik fonksiyonda bozukluktur (39,40). Endotoksin absorpsiyonundaki artışın incebarsakta safra tuzlarının yokluğu ile de ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (41). Safra tuzlarının luminal akımı antibakteriyel etki ve endotoksinler üzerinde direkt deterjan etkisine sahiptir (42). Deneysel ve klinik çalışmalarda sarılıklı hayvan ve insanlarda oral safra tuzları verilmesinin endotoksin absorpsiyonunu azaltarak postoperatif renal yetmezlikten koruduğu gösterilmiştir (43,44). İntraluminal safra akımının olmaması barsakta değişikliklere ve mukozal hasara yol açmaktadır. Safranın farklı komponentlerinin, safra asitleri, IgA, fosfolipidler ve bilirubinin ayrı ayrı rolü vardır. Yapılan çalışmalarda enterositlerin bakterilerce invazyonuna karşı safranın inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. Sekretuar IgA eksternal vücut sıvılarındaki predominant immünglobin'dir. IgA selektif olarak safra içine verilir (45). Tıkanma sarılığı olan hastalarda endotokseminin nedenlerinden biri de bu fonksiyonun bozulmasıdır. Tıkanma sarılığı ve sirozda intestinal mukozada yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olmaktadır. Bunların sonucunda bakterilere ve makromoleküllere karşı permeabilite artar. Ayrıca safra yolu tıkanıklığı olan hastalarda kan-safra bariyeri bozulmuştur. Bu da safrada gram(-) bakterisi olan hastalarda endotoksemiye neden olabilmektedir.

Barsak duvarındaki oksidatif hasar, sempatik sinir sistemi aktivasyonu ve nitrik oksit (NO) gibi ürünlerin artışı intestinal motilite bozukluğuna neden olur. Ayrıca incebarsak transit zamanında gecikme gibi, barsağın motor fonksiyonunda bozulma da bakteriyel aşırı çoğalmaya neden olur. Tıkanma sarılığında ve sirozda immun savunma mekanizması bozuktur ve bakteriyel translokasyonda bariz artış görülür. Bunun sonucunda da enterik bakteriler ve onların endotoksin gibi ürünleri kana geçer (46).

Sonuç olarak kolestazlı hastalarda:

- Retiküloendotelial sistem fonksiyonları bozulmakta
- Bakteriyemi ve endotoksemi gelişmekte
- İntestinal mukozanın yapı ve fonksiyonunda değişiklikler olmakta
- Serum opsonin aktivitesi ve bakteriyostatik kapasitede azalma olmakta
- Barsak duvarında oksidatif hasar oluşmakta
- Safra tuzlarının luminal akımı engellenmekte
- İmmün sistemin fonksiyonları bozulmaktadır.

Bütün bunların sonucunda da safra kanalı tıkanıklığı olan hastalarda barsak bariyeri bozularak bakteriyel translokasyon meydana gelmektedir.

## 2.8. Tıkanma Sarılığı Ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres, stellat hücre aktivasyonu ile kollajen sentezini artırarak karaciğer fibrozu gelişiminde etkili olmaktadır. Oksidatif stres, serbest radikallerin artması veya antioksidan defans mekanizmalarının zayıflaması ile oluşabilmektedir. Serbest radikaller hepatobiliyer hastalıkların önemli bir kısmının patogeneğinde rol almaktadır (47).

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran ve bu yüzden de oldukça reaktif kimyasal parçalardır. Solunan oksijen canlılarda hayatı idame ettirmekle birlikte, alınan miktarın % 5'nin serbest oksijen radikallerine dönüşümü sonucu, antioksidan defans zayıflığı durumlarında zararlı da olabilmektedir. Tek bir elektronun oksijene ilave olmasıyla süperoksit anyon radikal oluşmaktadır. Bu radikal vücutta süperoksit dismutaz ile hidrojen peroksit dönüştürülmektedir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde yüksek konsantrasyonlarda ölümcül olabilir ve daha da önemlisi en toksik oksijen radikali olan hidroksil (OH) radikaline dönüşebilir. Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Bu kimyasal olay organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki doymamış yağ asiti zincirindeki  $\alpha$ -metilen gruplarındaki hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu ve bununla birlikte lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili

radikalin hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaştırılması yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olur. Lipid peroksidasyonunun zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenlerinin üzerine etkisi, son ürünler olan aldehidlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Malondialdehid (MDA), oksidatif stress sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olarak lipid hasarları göstergesi olarak kullanılmaktadır (48,49).

## 2.9. Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikallerin lipidler üzerinde meydana getirdiği en önemli olay lipidlerin radikal aracılığı ile peroksidasyonudur. Poliansature yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalin etkisiyle membran yapısındaki poliansature yağ asit zincirindeki alfa-metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen metabolitleri ile yağ asitlerinin etkileşmesi sonucu başlar. Yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması sonucu zincir radikal niteliğini kazanır. Bunun sonucunda oluşan radikal alkil radikalidir.

*Başlangıç (initiation) aşaması:* Alkil radikali dayanıksız bir türevidir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşimi sonucunda lipid peroksi radikali oluşur. Lipid peroksi radikali zar yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek hidroperoksit ve yeni bir alkil radikali oluşturur.

*Yayılma (propagation) aşaması:* Peroksidasyon bu aşamada kendi kendini katalizleyerek sürer.

*Sonlanma (termination) aşaması:* Lipid peroksidasyonu; iki radikalin birleşerek radikal olmayan bir bileşik oluşturması ile sonlanabilir.

### 2.10. Malondialdehit (MDA)

Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu malondialdehid (MDA) oluşur. Yağ asidi peroksidasyonu MDA' in asıl kaynağını oluşturmakla birlikte hemoglobin (Hb) ve miyoglobinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile etkileşmesi ile de oluşum gerçekleşebilir (50). Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artmasına ve sonuçta hücrenin hasarına ve hücre içeriğinin serbestleşmesine neden olur. Peroksidasyon sonucu oluşan MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına neden olur. Bu durum hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini ve iyon transportunu etkileyebilir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olduğundan lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikal oluşumunu MDA 'yı ölçerek izlemek mümkündür (51).

### 2.11. Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta oksidan ve antioksidan savunma sistemleri bir denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidasyon lehine dönmesi ile oksidatif hasar oluşabilir. Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için organizmada bulunan sistemler antioksidan sistemler olarak adlandırılır. Antioksidan sistemler primer, sekonder ve tersiyer olarak 3 gruptur.

Primer antioksidan sistemler, serbest radikal oluşumunu engelleyerek etkili olan sistemlerdir. Serbest radikalleri biyolojik önemi olan daha zararlı moleküllere dönüştürmeden etkisiz hale getirirler. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, ferritin ve seruloplazmin gibi enzimler bu grupta yer alır.

Vitamin E ve C, P-karoten, ürik asit, bilirubin ve albumin sekonder antioksidanlardır. Bunlar serbest oksijen radikallerini yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engellerler (52,53).

Tersiyer antioksidanlar etkilerini serbest radikallerin neden olduğu biyomoleküler hasarı onararak gösterirler. DNA onarım enzimleri (Glikozilaz, endonükleaz, ekzonükleaz) ve metiyonin sülfoksit redüktaz tersiyer antioksidanlardır. Antioksidan savunmanın en önemli elemanları süperoksit ve hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) temizleyen süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleridir. SOD molekül ağırlığı 32000 dalton olan

mitokondri ve stoplazmada bulunan ve süperoksitin hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eden bakır ve çinko içeren bir metalloenzimdir. Süperoksit radikallerin daha toksik substratlar oluşturması SOD tarafından önlenir. Oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalaz ve glutatyon peroksidazla suya dönüştürülür. Katalaz dokularda çok yaygın olarak bulunan ve yüksek seviyelerdeki hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) metabolize eden bir enzimdir (54).

Glutatyon (GSH), glutamik asit, glisin ve sisteinden oluşan intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. Önemli bir antioksidan ve indirgeyici olan GSH hücreyi ekzojen ve endojen oksidazların zararlı etkilerinden korur. GSH vücutta bulunan ana antioksidan maddedir. Glutatyon sentezi, gama-glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz adlı enzimlerin katıldığı 2 basamaktan oluşur. İlk reaksiyon hız kısıtlayıcı basamaktır ve aktif olarak GSH tarafından inhibe edilir. İkinci basamak GSH ile inhibe olmaz. Glutatyon peroksidaz (Gpx), glutatyonu kullanarak düşük seviyedeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi serbest radikalleri indirger (55). Gpx GSH'yi indirgeyerek reaksiyonları katalizler ve GSSH ve H<sub>2</sub>O oluşur. İskemi reperfuzyon hasarında da hücre içi glutatyon düzeyi ne kadar yüksekse hücre hasarı o kadar düşük olmaktadır (56). Glutatyonun indirgeyici rolü, özellikle eritrositlerin yüksek okside edici ortamlarında önemlidir. GSH'nin sülfidril grubu oksijen transportu sırasında oluşan peroksitleri azaltmada yararlıdır. Glutatyon indirgenmiş glutatyon (GSH) ve okside glutatyon (GSSG) olarak iki şekilde bulunur. GSH zararlı oksi radikaller tarafından kullanıldığı zaman bu feedback inhibisyon kaybolur. En yüksek oranda karaciğerde bulunur. Okside olmuş E ve C vitamininin tekrar yapılandırılmasında görevlidir. GSSG/GSH oranı oksidatif stresin önemli bir göstergesidir. Oksidatif streste bu oran artar.(57).

## 2.12. Transaminazlar

Transaminazlar, bir amino grubunun, alfa-amino asitin, alfa keto aside transferini katalize eden bir grup enzim topluluğudur. Bunlar mitokondrial enzimlerdir. Transaminazların bulunduğu dokular akut bir yaralanma veya parçalanmaya uğrarlarsa bu enzimler sistemik dolaşıma katılırlar ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artma görülür. Transaminazların iki önemli tipi klinikte kullanılmaktadır. Bunlar, serum aspartat amino transferaz (AST) ve serum alanin

amino transferazdır. (ALT). Bu enzimlerin değerleri Karmen ünitesi olarak ölçülmektedir. Enzimlerin normal değerleri 0-40 arasında olmalıdır. Bu enzimler bütün vücut dokularında bulunur kalp, karaciğer ve iskelet kasında daha fazla vardır. Karaciğerde daha çok ALT bulunmaktadır. Bu enzimler normal popülasyonun %2-6 oranında yüksek değerlere çıkabilmektedir. Yapılan bir çok deneysel çalışmada serum enzim düzeyleri yüksekliği ile karaciğer yaralanması arasında paralellik saptanmıştır. Akut karaciğer hasarında serum enzim düzeyleri çok yüksek değerlere kadar çıkabilmektedir. Bilinmesi gereken diğer önemli bir indeks de ALT-AST oranıdır. Bu oranın ikiden yüksek olması hepatosellüler disfonksiyonu yansıtmaktadır. Akut karaciğer yaralanmasının olmadığı kronik karaciğer hastalıklarında ise, örneğin siroz olgularında bu enzimler normalin 1-1,5 misli yükselebilmektedir. Tıkanma ve kolestatik sarılıklarda da ALT ve AST 200-300 üniteye kadar çıkmaktadır. Enzim düzeylerinin çok yüksek olması ile prognoz arasında bir ilişki saptanmamıştır. Fulminan hepatitlerde karaciğerde çok fazla hücre kaybı olmasına rağmen enzimler çok yüksek değildir, fakat prognoz çok kötüdür. Bu olgularda enzimlerin yükselmesine neden olacak parankim hücresi kalmamıştır. Akut viral hepatitte ALT, AST den, akut alkolik hepatitlerde ise AST, ALT den daha yüksektir (9).

*Gama Glutamil Transpeptidaz(GGT):* Bu enzim karaciğer hastalıklarında oldukça spesifik ve duyarlı bir enzimdir. Hepatobiliyer fonksiyon bozukluğunu çok iyi yansıtmaktadır. Gama glutamil transpeptidaz karaciğer ve böbrekte yüksek konsantrasyonda bulunur. Hepatosellüler hasarlanmalarda, safra yolu malignansilerinde, kolanjit olgularında GGT düzeyleri yüksek seyreder (9).

*Alkalin Fosfataz(ALP):* Bu enzim organizmada birçok dokuda, özellikle kemik, barsak, karaciğer, plasenta ve böbrekte bulunur. Normal popülasyonda %2-5 arasında alkalin fosfataz yüksek bulunabilir. Yaşlılarda bu oran %20 ye kadar çıkabilmektedir. Alkalin fosfataz bir enzim değil izoenzim topluluğudur. Normal serumda bulunan alkalin fosfataz karaciğer kaynaklıdır. Kemik ve barsak fraksiyonunun artması bu dokularda yapımın arttığını göstermektedir. Kolestatik sarılıklarda, hepatosellüler yetmezlik olgularından daha da yüksek düzeylere ulaşabilmektedir. Primer karaciğer tümörlerinde de malign potansiyeli olan hücreler alkalin fosfataz sentez edebilirler. Fizyolojik koşullarda da alkalin fosfataz



yükselebilmektedir. Gelişme çağındaki çocuklarda, bu enzim aktivitesi artar ve püberteden sonra normale döner. Plasental izoenzim aktivitesi de hamilelik döneminde yükselir. İzole alkale fosfataz yüksekliği olan olgularda gama glutamil transpeptidaz normal düzeylerde ise alkale fosfatazın kaynağının kesin saptanması için 5' - nükleotidaza bakılması gereklidir (9).

*Kolestazda özetle;*

Biyokimyasal değerlerde, serum total bilirubini artar, total bilirubin düzeyi 3 mg/dL üzerine çıktığı zaman klinik olarak ikter belirir. Total bilirubinin %60'dan fazlasını direkt bilirubin oluşturur. Malign tıkanıklıklarda bilirubin progresif olarak artar. Serum transaminazları aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) normalin 2-3 katı artarken, alkale fosfataz (ALP) normalin 10 katı artar. Uzamış ekstrahepatik tıkanmalarda ALP'nin normal olması nadirdir. Gama Glutamil transpeptidaz bunlara paralel olarak normalin 2-4 katı artış gösterir(58).

### **2.13. Dimetil Sülfoksit (DMSO)**

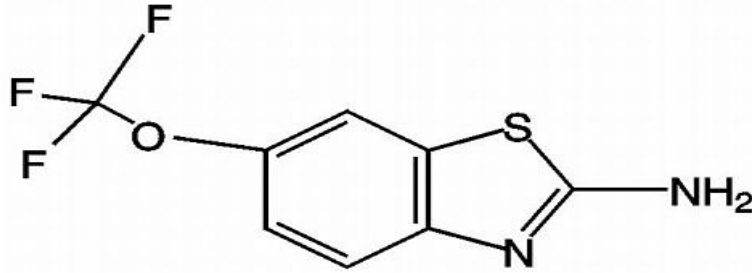
Suda çözünemeyen bir çok ilaç için başka çözücülere gereksinim vardır. Yapısal özelliklerinden dolayı dimetilsülfoksit (DMSO) bir çok kimyasal maddenin çözücüsü olarak kullanılan bir ajandır. Farmakolojik çalışmalarda DMSO ile ilgili olarak, membran transportu ve bağ dokusu üzerine etkileri, inflamasyon, diğer ilaçların etkisini arttırma veya azaltma yönündeki etkileri bildirilmiştir.(59). Riluzol etken madde olarak solid halde bulunmaktadır. Deneysel çalışmalarda kullanımında DMSO içerisinde çözülerek kullanılmaktadır.

### **2.14. Riluzole**

Riluzol voltaj bağımlı Na<sup>+</sup> kanallarını bloke ederek glutamat salıverilmesini inhibe eden nöron koruyucu bir ajandır (60,61). Riluzol glutamaterjik nöronlarda presinaptik olarak glutamat salınımını inhibe etmesinin yanısıra striatal sinaptozomlarda GABA geri-alınımını inhibe eder (62,63). Glutamat salıverilmesini inhibe ettiği ve nöron koruyucu etkisi olduğu için, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) hastalığında görülen motor nöron hasarının ilerlemesini azaltmaktadır (64). ALS tedavisi için 1996'da FDA tarafından kullanımı onaylanmış ilk ve tek ilaçtır. Ülkemizde de yaklaşık 10 yıldır kullanılmaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarda

riluzolün myorelaksan, psikotropik, antikonvülsan, sedatif, hipnotik, anestezik, hipotermik, global iskemi modellerinde iskemik hasara karşı koruyucu ve anoksi ya da ekzitotoksik hasara karşı nöron koruyucu etkileri gösterilmiştir (65). Sıçanlarda oluşturulan beyin travması modellerinde lezyonların yanı sıra nörolojik motor ve kognitif bozukluğu düzeltmektedir (66).

Oral verilen riluzolün absorpsiyonu oldukça iyidir (yaklaşık %90). Riluzolün mutlak biyoyaralanımı ortalama %60'dır. 12 saatte bir uygulandığında 25-100 mg arası dozlarda lineer farmakokinetik özellik gösterir. Yağlı besinler emilimini azaltır. Dolayısıyla aç karnına alınması gerekir. Tekrarlayan dozlarda ortalama yarı ömrü 12 saattir. Plazma proteinlerine, özellikle albumin ve lipoproteine yüksek oranda (%96) bağlanır.



**Şekil 2.8.** Riluzol'ün (2-amino-6-(trifluoromethoxy) benzothiazole) kimyasal yapısı.

Riluzolün 6 ana metaboliti vardır. Bunlardan bazıları da aktiftir. Daha fazla oranda karaciğerde sitokrom P-450 enzimlerinden CYP1A2 aracılığıyla N-hidroksilasyona uğrar ve glukronidasyon ile metabolize olur. Bunun dışında CYP2D6, CYP 2C19, CYP3A4 ve CYP2E1 enzimleri de riluzol metabolizmasında görev almaktadır.

Tek sefer 150 mg dozda uygulanan <sup>14</sup>C-riluzol radyoaktivitesinin %90'ı idrarda, %5'i dışkıda 7 günden fazla süreyle gözlenmiştir. Glukronitler idrardaki metabolitlerinin %85'ini oluşturur. Yalnızca %2'si idrarla değişmeden atılır.

Fare ve sıçanlar için kullanılan deneysel dozları 1-15 mg/kg arasında değişir. 15 mg/kg'ın üzerindeki dozlarda doğrulma refleksinin kaybolmasına yol açar; anestezik etki gösterir. 4 mg/kg ip doz için Emax 40 dakikadır. Etkisi yaklaşık 3 saat devam eder (62).

Riluzolün başlıca etki mekanizması glutamaterjik impuls aşırımını bloke etmesidir. Riluzol sinir hücrelerinde hem bazal, hem de nöronal aktivasyon sonucu oluşan glutamik asit salınımını da presinaptik etkiyle ve yine pertussis toksine duyarlı bir mekanizmayla inhibe eder (63). Bunun yanısıra striatal sinaptozomlarda GABA geri alınımını inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca farelerin beyin dokusunda amino asitlerle uyarılan nörotransmitter salınımını da inhibe ettiği ileri sürülmektedir (67). Nöron koruyucu etkide glutamat salınımının azaltılmasının yanısıra voltaja bağımlı iyon kanallarının modülasyonu da önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (68). Riluzolün, sıçan serebellar granüler hücre kültüründe postsinaptik olarak glutamat ve NMDA reseptörlerinin uyarılmasına bağılı olarak oluşan  $Ca^{2+}$  mobilizasyonunu yüksek dozlarda G proteinlerini inaktive eden pertussis toksine duyarlı bir mekanizmayla bloke ettiği gösterilmiştir (69).

Riluzol glutamatın salıverilmesini önlemektedir. Ancak Urenjak ve ark. Riluzolün fizyolojik durumdaki glutamatın veziküler eksitozunu değil, enerji deplezyonunda  $Na^{+}$  ve  $Ca^{+}$  kanalları aktive olmasıyla görülen glutamatın sitozolik efluksunu inhibe ettiği öne sürmüşlerdir (70).  $Na^{+}$  ve  $Ca^{+}$  kanallarını bloke eden ilaçların global serebral iskemi ve diğer modellerde nöron hasarını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca  $K^{+}$  kanallarının aktivasyonu ve  $Cl^{-}$  kanallarının blokajının da bu etkilerine aracılık ettiği öne sürülmektedir (71).

Riluzol hasar tehdidi durumlarında hücrenin direncini artırarak gösterdiği nöron koruyucu etkilerin yanısıra, onarım mekanizmalarını da devreye sokarak rejenerasyonu artırmaktadır (72). Farklı travma modellerinde ilk yarım saat içinde uygulanan riluzolün beyin ödemi ve lezyon oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (73). Riluzolün eksitoksisiteye bağılı olarak ortaya çıkan oksidan hasarı önlemesinin yanısıra in vitro bir çalışmada da kortikal nöron hücre kültüründe glutamat antagonistlerinin varlığında  $FeCl_3$  ile oluşturulan noneksitotoksik oksidatif hasarı doğrudan önlediği gösterilmiştir (74). Bir başka çalışmada da riluzolün sıçanlarda MPP (metil fenil piridinyum) ile oluşturulan parkinson modelinde indirekt olarak ATP tüketimini ve  $Fe-III$  ile oluşan lipid peroksidasyonunu azalttığı, dopaminerjik nöronları oksidan hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (75). Noneksitotoksik oksidan hasardaki koruyucu etkilerinde PLA2 inhibisyonu ile araşidonik asit ve

metabolitlerinin oluşumunu azaltmasının yanısıra, etkin bir PKC inhibisyonu yapmasının da rolü olduğu gösterilmiştir (14,76).

Tüm bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda gelişen oksidatif hasarda, antioksidan ve nöron koruyucu etkili bir ilaç olan riluzolün oksidan hasar ve karaciğer ve ince barsak morfolojisi üzerindeki olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneysel Hayvanları

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 16.06.2009 tarih ve 115 sayılı onayı alınarak, ESOĞÜ Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (TİCAM) laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen Sprague-Dawley cinsi 50 adet rat kullanıldı. Deneysel hayvanları standart laboratuvar koşullarında, rat yemi ve çeşme suyuyla beslendiler. Cinsiyet farkı gözlemlenmedi.

#### 3.2. Çalışma Grupları

Deneysel hayvanları randomize olarak;

1-Sham Operasyon Kontrol grubu	( Grup SK )	( n:10 )
2-Koledok Ligasyonu grubu	( Grup KL )	( n:10 )
3-Koledok Ligasyonu + DMSO grubu	( Grup KL+DMSO )	( n:10 )
4- Koledok Ligasyonu + Riluzol (Ligasyon sonrası) grubu	(Grup KL+RLS )	( n:10 )
5-Koledok Ligasyonu + Riluzol (İkter sonrası) grubu	(Grup KL+RİS )	( n:10 )

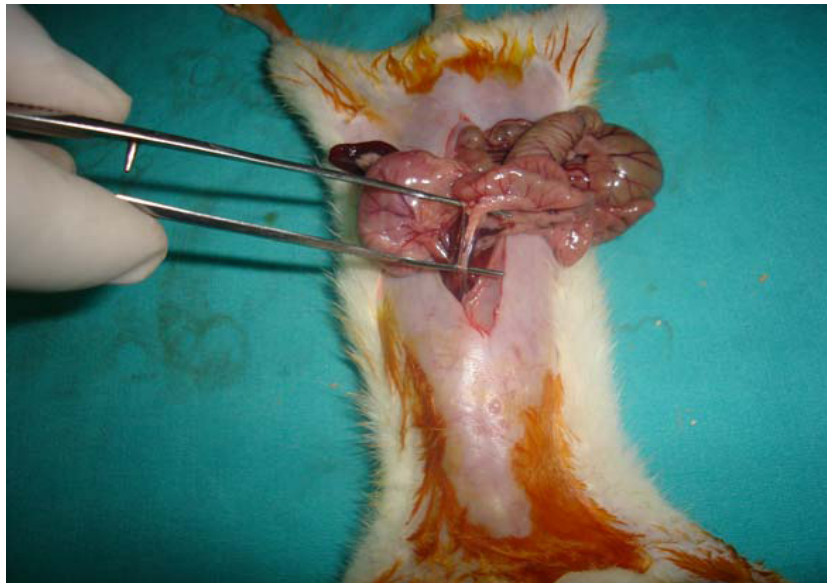
olmak üzere 5 gruba ayrıldı.

##### 3.2.1. Cerrahi Prosedür ve Tedavi

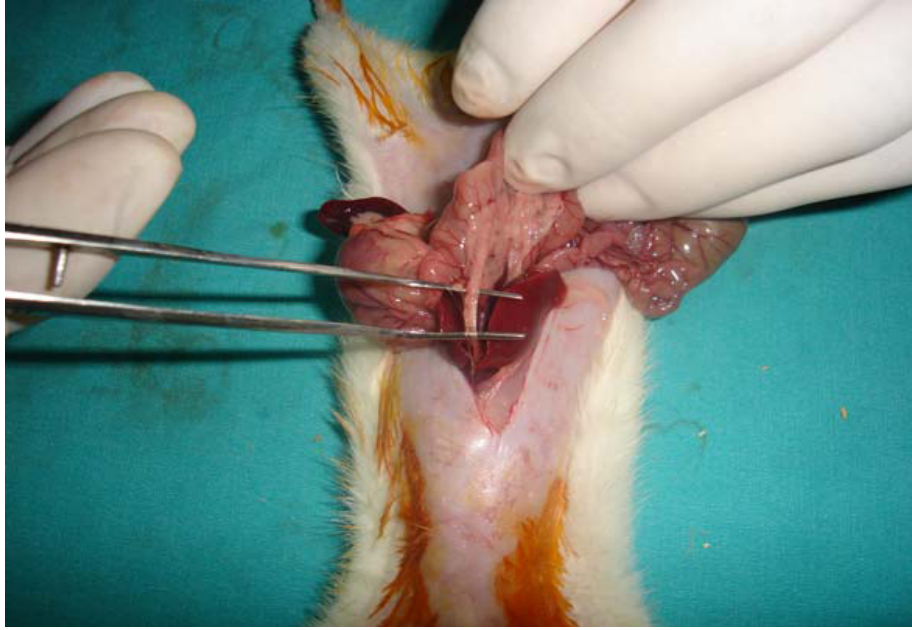
Tüm ratlara 8 saatlik açlık sonrasında, subkutan olarak 50 mg/kg Sodyum Pentotal (Pental Sodyum, İ.E Ulagay, Türkiye) anestezisi verildi. Anestezinin ardından ratlar supin pozisyonda yatırılarak %10'luk povidon iodin (İsolol, Merkez Lab, Türkiye) ile bölge temizliği yapılarak geleneksel asepti ve antisepti kurallarına uyuldu (Şekil 3.1). Orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer lobları ve duodenum arasında koledok bulunarak diseksiyon edildi ve ortaya konuldu (Şekil 3.2-3.3). Ardından koledokun proksimalinden ve distalinden olmak üzere 4/0 ipek sütürlerle koledok bağlandı ligat edildi ve böylece ekstrahepatik kolestaz sağlandı (Şekil 3.4-3.5). Karın duvarı ve cilt 3/0 ipek sütürler kullanılarak ayrı tabakalar halinde kapatıldı (Şekil 3.6). İşlem sonunda deneysel grupları ayrı kafeslere konuldular. Böylece sıçanlarda karaciğerde sekonder biliyer darlık koledok ligasyonu ile oluşturularak karaciğer ve ince barsak patolojik değişiklikleri indüklenmiş oldu.



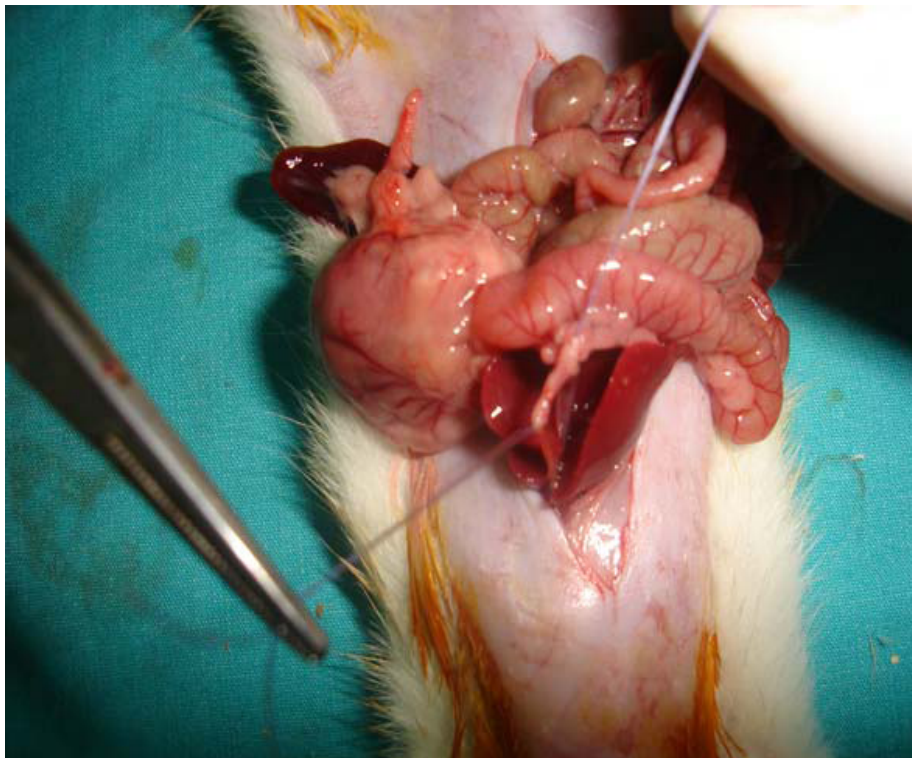
**Şekil 3.1.** Rat'ın Hazırlanması.



**Şekil 3.2.** Koledok hazırlanması ve ortaya konulması.



Şekil 3.3. Koledok hazırlanması ve ortaya konulması.



Şekil 3.4. Koledok bağlanması ve ligasyonu.



**Şekil 3.5.** Extrahepatik kolestaz.



**Şekil 3.6.** Karın duvarı kapatılması.

Ratlar randomize olarak 5 eşit gruba ayrıldı.

1.Grup SK : Sham Grubu laparotomi sonrası ana safra kanalı ortaya konup batın kapatıldı ve bunu takiben hayvanlara 7 gün süre ile standart yem ve su verildi.

2.Grup KL : Kontrol Grubu laparotomi sonrası ana safra kanalı ortaya konup 4/0 ipek ile bağlanan hayvanlara operasyon sonrasındaki 7 gün süre ile standart yem ve su verildi.



3.Grup KL+DMSO: Riluzol çözücü olarak kullanılan DMSO' nun deneye etkisini ortaya koymak amacıyla laparotomi sonrası koledok 4/0 ipekle bağlanan ratlara bağlama sonrası başlamak üzere intraperitoneal 7 gün süreyle 10 mg/kg/gün DMSO , standart yem ve su verildi.

4.Grup KL+RLS : Laparotomi sonrası koledok 4/0 ipekle bağlandı. Bağlama sonrası başlamak üzere intraperitoneal 7 gün süreyle 10 mg/kg/gün dozunda Riluzol(Sigma Chemical), standart yem ve su verildi.

5.GrupKL+RİS: Laparotomi sonrası koledok 4/0 ipekle bağlandı. Postoperatif 3.gün iktter gelişimi gözlemlendi. İktter gelişimi sonrası başlamak üzere intraperitoneal 5 gün süreyle 10 mg/kg/gün dozunda Riluzol(Sigma Chemical), standart yem ve su verildi.

Gruplara göre işlemler tamamlandıktan sonra ratlar ayrı kafeslere konularak, postoperatif 12 saat sonra oral beslenmeye alındılar. Standart rat yemi ve çeşme suyuyla beslendiler.

Tüm ratlara postoperatif 7'nci günde yine tarif edilen anestezi metodu altında relaparotomi yapılarak kardiyak ponksiyon ile kan örnekleri, karaciğer ve terminal ileumdan doku örnekleri alındı.

### **3.3. Biyokimyasal İnceleme**

Biyokimyasal değerlendirmeler Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalında yapıldı. Kan örnekleri silikonlu tüplere alındı. 5 dakika 6500 devirde santrifüj sonrası serumlar ayrıldı. Örneklerden; AST, ALT, ALP, GGT, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin düzeyleri ticari kitlerle çalışıldı. Biyokimyasal parametreler çalışıldıktan sonra plazma, GSH ve MDA daha sonra çalışılmak üzere -20 °C'de saklandı. MDA ve GSH ticari kitlerle çalışıldı.

#### **3.3.1. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi**

Alınan karaciğer numuneleri homojenize oluncaya kadar buz içerisinde tutuldu. Dokular serum fizyolojik içinde homojenize edildi, sonrasında 4,000 g'de 15 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlar bu çalışmada kullanıldı. Tüm bu prosedürler deney boyunca 4°C'de gerçekleştirildi. Süpernatantların protein seviyeleri Lowry's methodu ile çalışıldı. Süpernatantların malondialdehit (MDA)

seviyeleri (nmol/mg) ölçüldü. MDA seviyeleri tiyobarbitürik asit reaktif madde metoduyla ölçüldü. Numuneler oda ısısında 1 saatliğine balık yağı ve ksantin-oksidad ile muamele edildikten sonra, MDA seviyeleri belirlendi. GSH seviyeleri de aynı metod ile belirlendi. Bu ölçümlerde dokunun nmol/g birimi kullanıldı.

MDA ölçümü amacıyla karaciğer dokuları TCA(trikloroasetik asit) ile (% 10 v/v) olacak şekilde homojenize edilerek, santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar % 0,067 TBA (tiobarbitürik asit) ile kaynatıldı. Ölçümler spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi (77). Glutasyon ölçümü amacıyla karaciğer dokuları TCA (trikloroasetik asit) ile (% 10 v/v) olacak şekilde homojenize edilerek, santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantların üzerine Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi ile ditiyobis nitro benzoik asit içeren Elman ayıracı eklendi ve 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar nmol GSH/ g doku olarak ifade edildi (78).

### **3.4. Histopatolojik Değerlendirme**

Histopatolojik analizler, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalında yapıldı. Karaciğerden ve ince barsağın terminal ileum kısmından alınan doku örnekleri %10'luk tamponlanmış formalinde 3 saat fikse edildi. Alkol; ksilen ve parafin işlemlerinden sonra bloklandı. Bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskopunda 10X ve 40X büyütme ile değerlendirildi. Mikroskoba bağlı olan Nikon Eclipse 80 i marka fotoğraf makinası ile fotoğraflandı.

Karaciğerde portal alan ekspansiyonu, portal inflamasyon, duktular proliferasyon, fokal duktular kolestaz ile on portal alandaki duktus sayısı değerlendirildi. Benzer şekilde terminal ileumda, lamina propriada inflamasyon varlığı ve inflamatuvar hücre tipi, intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu, tam kat duvar kalınlığı, mukoza kalınlığı ve villus-kript oranları değerlendirildi. Karaciğerdeki yapısal değişikliklerden, duktuler proliferasyon değerlendirilirken yok: 0, skor 1(portal alanda sınırlı olarak hafif dereceli duktular proliferasyon): 1, skor 2 (porta-portal köprüler oluşmuş duktular proliferasyon): 2, portal inflamasyon derecesi hafif, orta, şiddetli olarak derecelendirildi. Portal alandaki duktus sayısı Olympus BX50 ışık mikroskopunda 40X büyütmede on portal alandaki duktuslar sayılarak hesaplandı.

İnce barsaktaki yapısal değişikliklerden, tam kat duvar kalınlığı, mukoza kalınlığı, villus uzunluğu ve kript uzunluğu Nikon Eclipse 80 i marka mikroskopta 10 luk büyütmede mikronmetre olarak ölçüldü. Buna göre villus – kript oranları hesaplandı. Lamina propriada mononükleer hücre, eozinofil ve nötrofil artışı hafif, orta, şiddetli olarak skorlandı. Villuslarda intraepitelyal lenfosit sayısı ise Olympus BX50 ışık mikroskobunda 40X büyütmede yüz enterosit alanında lenfositler sayılarak hesaplandı.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirme**

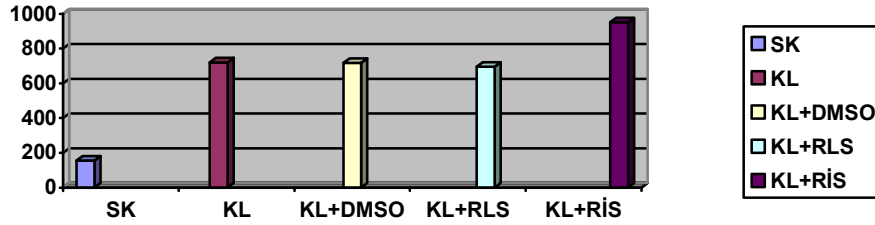
İstatistiksel değerlendirmeler, Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapıldı. Verilerin istatistiksel değerlendirmelerinde Çalışmada SPSS13.0 ve Sigma Stat 3.1 paket programlar kullanılmıştır. MDA, GSH, ALP, AST, ALT, Total Bilirübin, Direkt Bilirübin düzeyleri için tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) uygulanmış olup, bu testin çoklu karşılaştırmalarında ise Tukey HDS metodundan yararlanılmıştır. Histopatolojik bulgular için skor değerlerinden oluşan on parametremizin değerlendirilmesinde niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Tukey HDS testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

**Tablo 4.1.** Serum AST Değerleri (U/L).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	155.90±11.59	95	222
KL	720.70±112.80	280	1194
KL+DMSO	717.00±103.28	334	1278
KL+RLS	695.60±103.60	371	1230
KL+RİS	952.10±147.55	391	1929

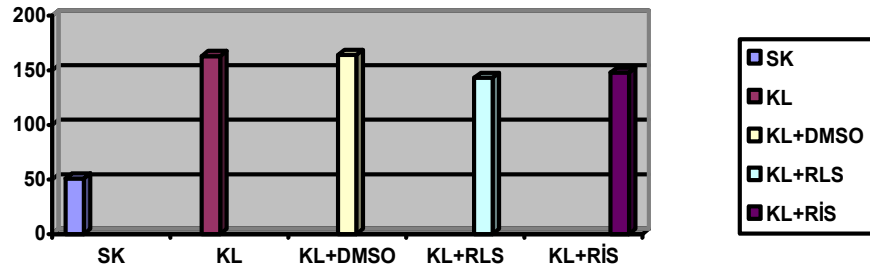


**Şekil 4.1.** AST düzeyleri.

AST düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu AST düzeyi KL grubu ve KL+DMSO gruplarından düşük bulundu( $p>0.05$ ). KL+RİS grubu AST düzeyi tüm gruplardan yüksek bulunmasına karşın gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.2.** Serum ALT Değerleri (U/L).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	51.00±2.86	38	66
KL	163.90±24.71	87	332
KL+DMSO	164.50±19.98	62	246
KL+RLS	143.40±24.80	61	304
KL+RİS	148.50±20.96	38	277

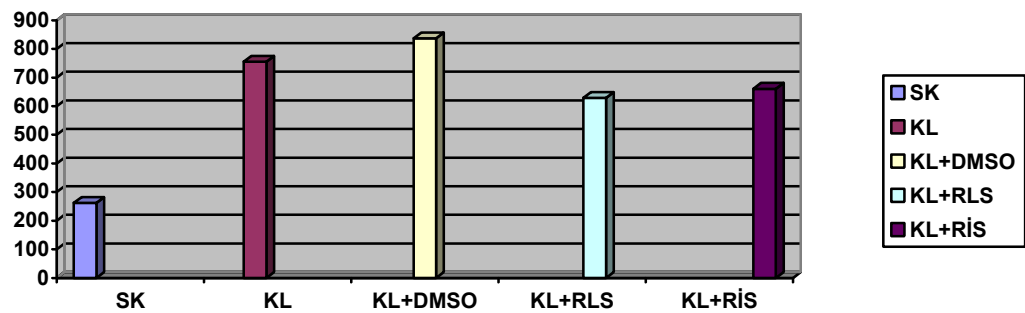


Şekil 4.2. ALT Düzeyleri.

ALT düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu ALT düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), KL, KL+DMSO, KL+RİS gruplarından düşük izlendi. İstatistiksel olarak farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Tablo 4.3. Serum ALP Değerleri (U/L).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	262.70±13.68	192	335
KL	755.60±32.45	544	878
KL+DMSO	837.60±67.47	602	1228
KL+RLS	629.00±60.06	412	950
KL+RİS	661.80±73.75	363	1197

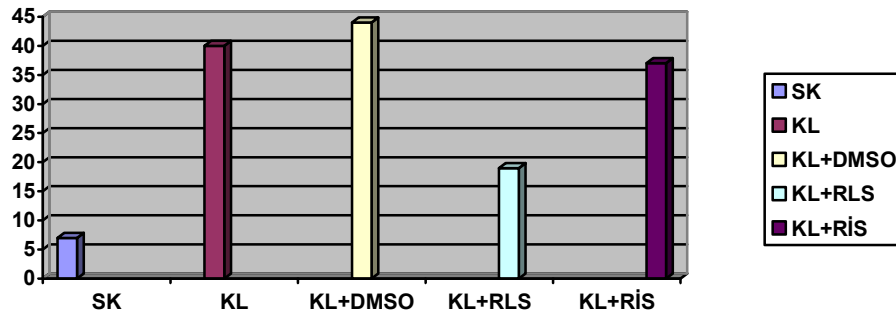


Şekil 4.3. ALP düzeyleri.

ALP düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu ALP düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), kontrol gruplarından düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). KL+RLS grubu ile KL+RİS grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.4.** Serum GGT Değerleri (U/L).

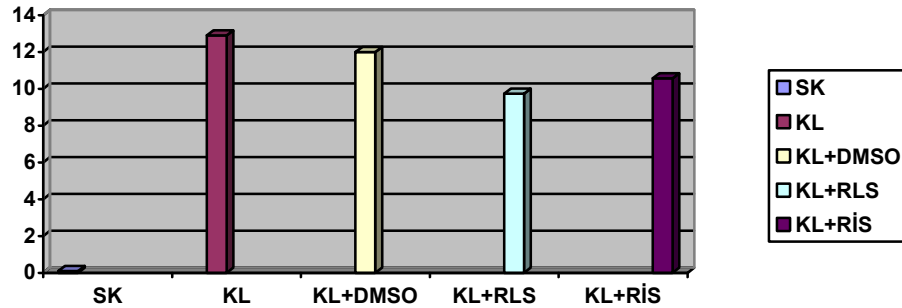
Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	6.7±1.02	1	11
KL	40.60±6.12	19	74
KL+DMSO	44.70±9.97	16	100
KL+RLS	19.20±4.44	10	42
KL+RİS	37.10±4.21	10	50

**Şekil 4.4.** GGT düzeyleri.

GGT düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu GGT düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), KL ve KL+DMSO gruplarından anlamlı derecede düşük saptandı ( $p<0.03$ ). KL+RİS grubu GGT düzeyi KL+SF ve KL+DMSO gruplarından düşük izlendi ancak bu gruplarla arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.5.** Serum Total Bilirubin Değerleri (mg/dL).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	0.092±0.006	0.04	0.10
KL	12.90±1.15	6.44	17.34
KL+DMSO	11.99±1.78	3.26	20.22
KL+RLS	9.73±1.98	2.7	14.35
KL+RİS	10.56±1.05	2.87	17.74

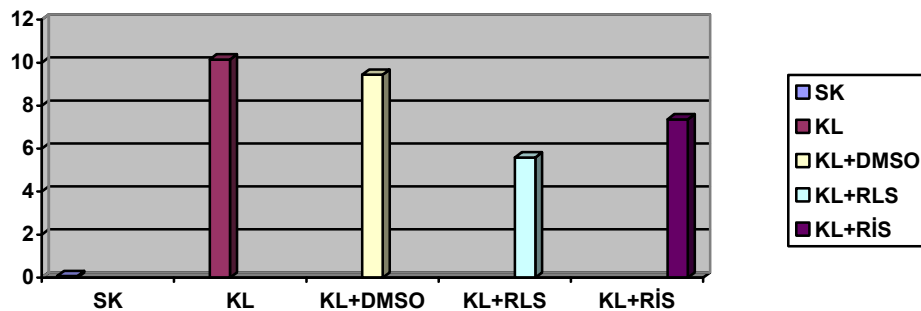


**Şekil 4.5.** Total Bilirubin düzeyleri.

Total Bilirubin düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu total bilirubin düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), KL ve KL+DMSO gruplarından düşük izlendi. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.6.** Serum Direkt Bilirubin Değerleri (mg/dL).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	0.072±0.06	0.01	0.64
KL	10.15±0.89	5.14	13.39
KL+DMSO	9.44±1.55	2.58	16.95
KL+RLS	5.59±0.75	2.35	8.38
KL+RİS	7.36±1.80	2.71	16.62



**Şekil 4.6.** Direkt Bilirubin düzeyleri.

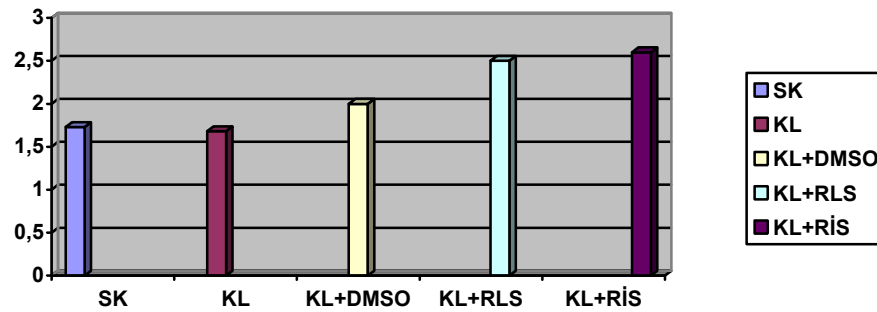
Direkt Bilirubin düzeyleri açısından gruplar arasında ; SK grubu direkt bilirubin düzeyi diğer gruplardan düşük ( $p<0.001$ ), KL+RLS grubu ve KL+RİS

grubu direkt bilirubin düzeyi KL, KL+DMSO grubundan düşük izlendi( $p<0.05$ ). KL+RLS grubu ile KL+RİS grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Bulgular, KL+RLS grubu ile KL ve KL+DMSO grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.001$ ).

#### 4.2. Oksidatif Stres Parametreleri

**Tablo 4.7.** Karaciğer MDA Değerleri (nmol/g doku).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	1.73±0.14	1.17	2.41
KL	1.68±0.14	0.84	2.33
KL+DMSO	2.00±0.15	1.57	2.88
KL+RLS	2.59±0.25	1.48	3.57
KL+RİS	2.61±0.10	2.01	3.00



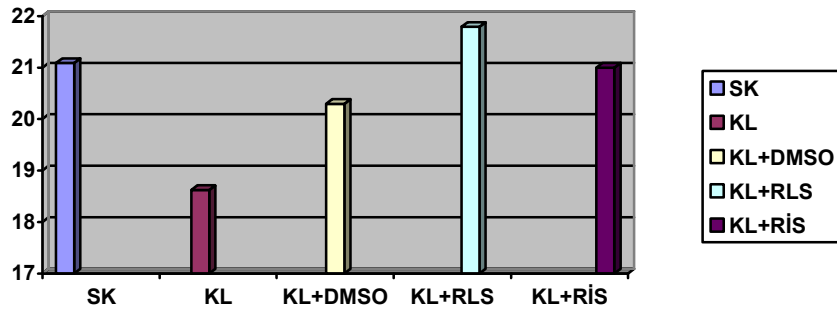
**Şekil 4.7.** Karaciğer MDA düzeyleri.

MDA düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu MDA düzeyi diğer gruplardan yüksek saptandı ( $p<0.05$ ). KL+RLS ve KL+RİS grupları arasında ve diğer gruplar ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.8.** Karaciğer GSH Değerleri (nmol/g doku).

Grup	Ortalama± Standart Sapma	Minimum	Maksimum
SK	21.09±1.61	11.46	28.11
KL	18.62±2.02	12.94	29.81
KL+DMSO	20.29±1.64	13.23	27.99
KL+RLS	21.79±1.79	14.22	29.12
KL+RİS	21.29±1.36	14.38	26.82





**Şekil 4.8.** Karaciğer GSH düzeyleri.

GSH düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu GSH düzeyi diğer gruplardan yüksek izlendi. Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

### 4.3. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Deney gruplarına yapılan otopsilerde karaciğer dokularında SK grubunda normal makroskopik görünüm mevcut olup diğer gruplarda karaciğer frajil, yer yer gri yeşil renk değişim alanları ve koledok dilate görünümde izlenmiştir. İnce barsaklarda SK grubu dışında diğer gruplarda hafif dilate görünümde gözlenmiştir.

#### 4.3.1. Karaciğer Histopatoloji Sonuçları

Karaciğerden yapılan örneklemelerden elde edilen kesitlerin histopatolojik olarak incelenmesi sonucunda portal alan ekspansiyonu açısından bakıldığında grup SK dışındaki kontrol grupları olan KL ve KL+DMSO gruplarında belirgin şekilde ekspansiyon izlenmiştir. Tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RIS ' de portal alan ekspansiyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). Grup KL+RLS ile grup KL+RIS karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

Duktular proliferasyon incelendiğinde tedavi grubunda kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma mevcut iken ( $p<0.05$ ), grup KL+RLS ile grup KL+RIS arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo 9).

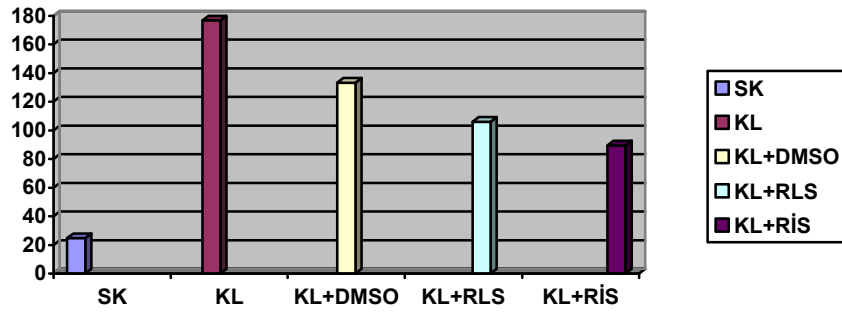
**Tablo 4.9.** Duktular proliferasyon skorlama sonuçları.

Grup	0	1	2	Toplam
SK	10	0	0	10
KL	0	5	5	10
KL+DMSO	0	2	8	10
KL+RLS	0	8	2	10
KL+RİS	0	8	2	10

Kontrol ve tedavi gruplarından hiçbirinde fokal duktular kolestaz tespit edilmemiştir. Portal inflamasyon incelendiğinde, grup SK' da tabloya portal inflamatuvar infiltratta lenfosit, nötrofil ve plazma hücrelerinin hakim olduğu, KL ve KL+DMSO, KL+RLS, KL+RİS gruplarında ise inflamasyona eozinofil ve histiositlerin eklendiği görülmüştür. İnflamasyonu oluşturan hücre tipleri açısından kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RİS' de ise eozinofil ve histiositlerde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). İnflamasyon derecesi açısından değerlendirildiğinde bu bulgulara paralel olarak tedavi gruplarında kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). Tedavi gruplarının kendi aralarındaki karşılaştırmalarında ise portal inflamasyonu oluşturan hücre tipleri ile inflamasyon derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). On portal alandaki duktus sayısı incelendiğinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Duktus sayısı grup KL' de en fazla iken grup SK dışında grup KL+RİS de en az sayıda gözlenmiştir. Grup KL+RLS ile grup KL+RİS arasında ise on portal alandaki duktus sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo 10).

**Tablo 4.10.** Gruplarda 10 portal alandaki duktus sayıları.

Grup	N	Ortalama	Standart Sapma
SK	10	24.70	4.08
KL	10	176.70	12.33
KL+DMSO	10	133.30	12.07
KL+RLS	10	106.00	13.88
KL+RİS	10	89.40	13.00



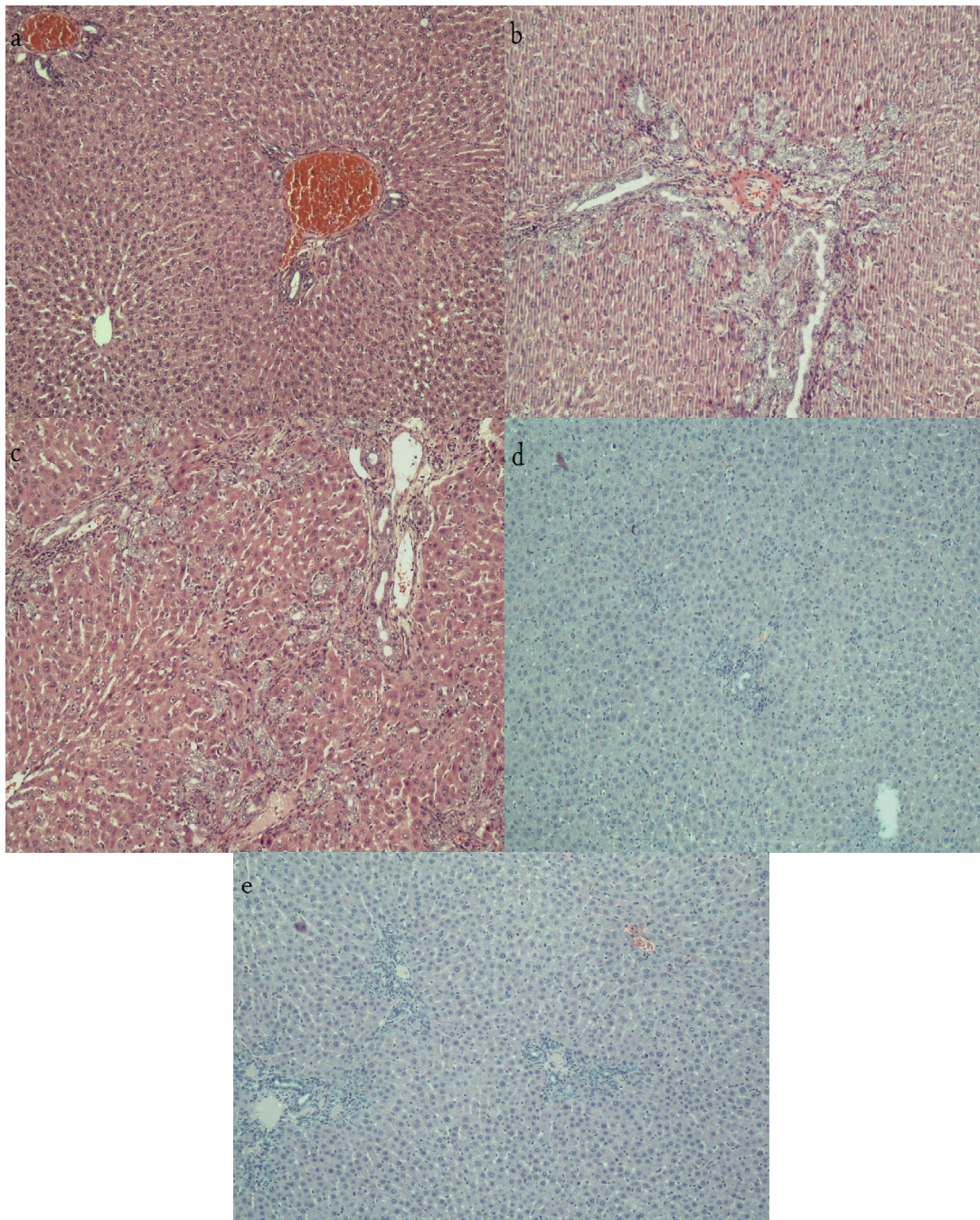
Şekil 4.9. Gruplarda 10 portal alandaki duktus sayısal düzeyleri.

#### 4.3.2. İnce Barsak Histopatoloji Sonuçları

Terminal ileumdan hazırlanan kesitlerin histopatolojik incelenmesi sonucunda, tam kat duvar kalınlığı ve mukoza kalınlıkları açısından bakıldığında grup KL+RİS' de tam kat duvar kalınlığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür ( $p < 0.05$ ), diğer grupların kendi aralarındaki karşılaştırmalarında ise istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Mukoza kalınlıkları açısından bakıldığında ise, tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RİS' de grup KL ve grup KL+DMSO'ya göre mukoza kalınlığında artış gözlenmiş ve grup SK'ya yakın değerler görülmüş olup, gruplar arasında istatistiksel anlamda farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 11).

**Tablo 4.11.** Terminal ileum tam kat duvar kalınlığı ve mukoza kalınlıkları(mikronmetre).

Grup	Tam Kat Duvar Kalınlığı		Mukoza Kalınlığı	
	Ortalama	SS	Ortalama	SS
SK	759.82	113.78	497.70	77.30
KL	733.27	96.43	464.42	54.88
KL+DMSO	702.42	37.59	456.86	71.98
KL+RLS	705.78	58.20	473.45	43.21
KL+RİS	647.93	68.18	475.65	51.74



**Şekil 4.10.** Karaciğer kesitlerinin histolojik görünümleri. a)Grup SK, b)Grup KL, c)Grup KL+DMSO, d)Grup KL+RLS, e)Grup KL+RİS. ( HE x 100)

Terminal ileum kesitlerinde villusların kript uzunluğuna oranına bakıldığında; KL ve KL+DMSO gruplarında grup SK'ya göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). Tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RİS' de kontrol gruplarına göre villus-kript oranlarında artış görülmüştür ( $p<0.05$ ). Tedavi gruplarının kendi aralarındaki karşılaştırmada ve kontrol gruplarıyla karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo12).

**Tablo 4.12.** Villus / Kript Oranları.

Grup	N	Ortalama	SS
SK	10	1.69	0.387
KL	10	1.12	0.330
KL+DMSO	10	1.13	0.218
KL+RLS	10	1.38	0.171
KL+RİS	10	1.21	0.353

Lamina propriadaki inflamatuvar hücrelerin tiplerine göre ( mononükleer hücre, eozinofilik PMNL, nötrofilik PMNL) artış açısından değerlendirildiğinde, hafif, orta, şiddetli olarak belirlenen düzeyler açısından; tüm gruplarda hafif düzeyde mononükleer hücre artışı ve seyrek olarak nötrofilik PMNL görülmüştür ( $p>0.05$ ). Bu açıdan yapılan karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ). Eozinofilik PMNL artışı açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0.05$ ). KL grubuna göre KL+DMSO, KL+RLS ve KL+RİS grupları arasında eozinofilik PMNL artışı açısından istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). Tedavi gruplarının aralarındaki karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ )(Tablo 13).

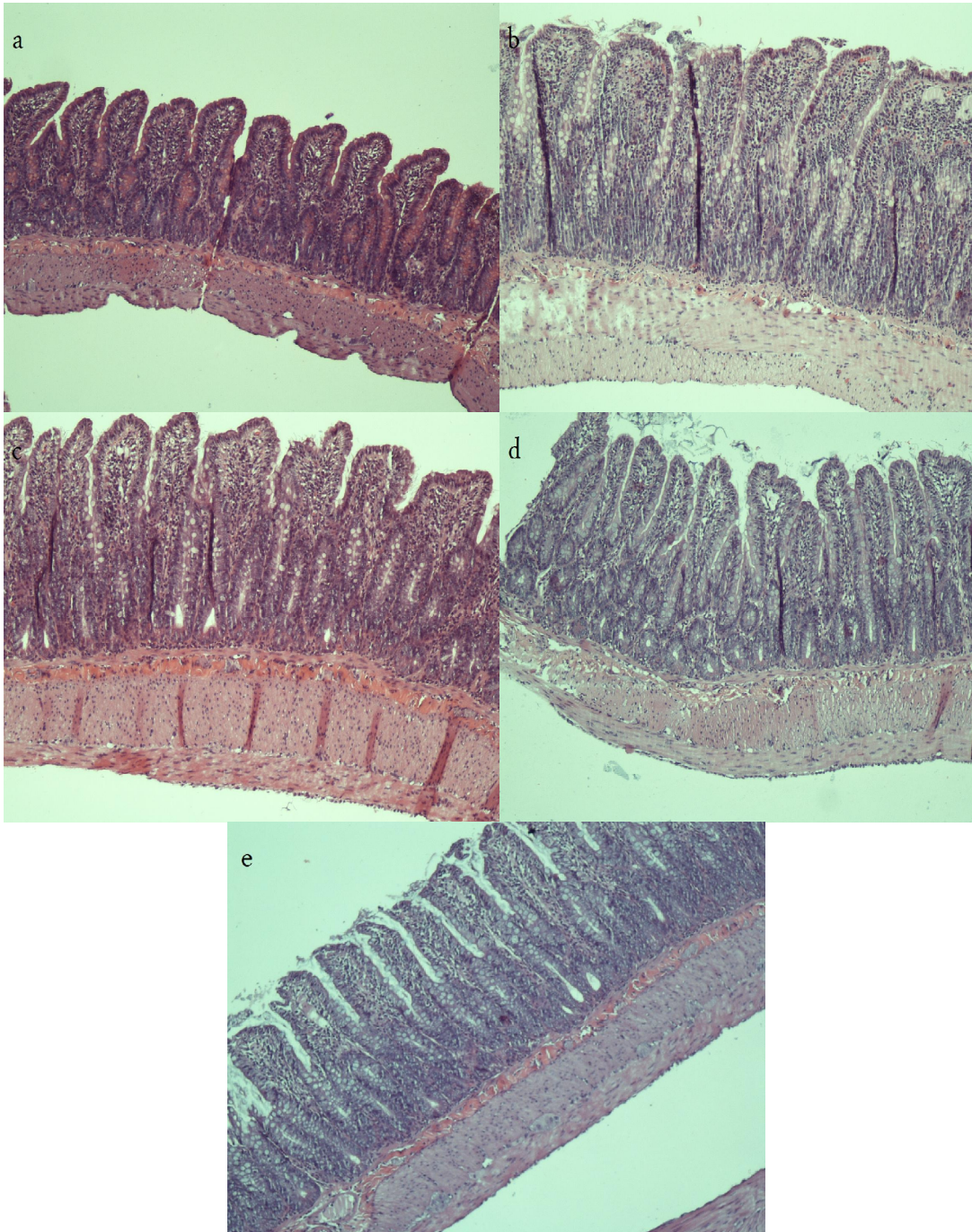
**Tablo 4.13.** Gruplarda lamina propriadaki eozinofilik PMNL artışı.

Lamina Propriada Eozinofil	SK	KL	KL+DMSO	KL+RLS	KL+RİS
Hafif	10	0	6	9	9
Orta	0	9	4	1	1
Şiddetli	0	1	0	0	0

Villuslarda intraepitelyal lenfosit sayısı açısından bakıldığında tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RİS gruplarında kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görülürken ( $p < 0.05$ ), tedavi gruplarının aralarındaki karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 14).

**Tablo 14.** Villuslarda intraepitelyal lenfosit sayısı.

Grup	N	Ortalama	SS
SK	10	% 38	0.102
KL	10	% 39	0.075
KL+DMSO	10	% 32	0.058
KL+RLS	10	% 22	0.042
KL+RİS	10	% 24	0.046



**Şekil 4.11.** Terminal ileum kesitlerinin histolojik görüntüleri. a)Grup SK, b)Grup KL, c)Grup KL+DMSO, d)Grup KL+RLS, e)Grup KL+RİS. (HEx 100)

## 5.TARTIŞMA

Kolestaz, ekstrahepatik ya da intrahepatik biliyer basıncın artması ve safra tuzlarının karaciğer içinde birikimi ile karakterize patofizyolojik bir durumdur. Safra tuzları deterjan etkisi göstererek hücre ölümüne, oksidatif hasara, glutatyon düzeylerinin düşmesine ve lipit peroksidasyonuna, patolojik olarak ise safra duktus hücreleri proliferasyonuna, portal traktüs değişikliklerine ve uzun sürede peri duktal bağ dokusu artışı ve fibrozisin gelişimi ile sonuçlanan bir tabloya neden olur (79). Safra yolu tıkanmalarında artmış biliyer basınç ve safra stazı karaciğerde çeşitli histopatolojik değişikliklere neden olur. Kolestazda özetle, serum total bilirübini artar, total bilirubin değeri 3 mg/L'nin üzerine çıktığı zaman klinik olarak ikter ortaya çıkar. Total bilirubin % 60'dan fazlasını direkt bilirubin meydana getirir. Bununla beraber serum transaminazları olan AST ve ALT değerleri normalin 2-3 katı artarken, ALP değerleri normalin 10 katı artar. Uzamış ekstrahepatik tıkanmalarda ALP'nin normal olması nadirdir. GGT ise buna paralel olarak normalin 2-4 katı artış gösterir (80). Karaciğerin yanı sıra, renal sistem, kardiovasküler sistem, koagülasyon kaskadı, immunolojik sistem ve solunum sistemi gibi pek çok organ sisteminde harabiyete yol açan, yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden önemli bir hastalıktır (81,82).

Kolestatik karaciğer hastalığı hepatotoksik maddelerin birikimi, mitokondriyal disfonksiyon ve karaciğer antioksidan savunma sisteminin bozulmasıyla karakterizedir (27). Tıkanma ikterinde ortaya çıkan serbest oksijen radikallerine veya antioksidan sistemlerin yetersiz kalmasına bağlı olarak hepatotoksisite görülür. Tıkanma ikterinde ortaya çıkan endotoksemi de direk yolla doku hasarına ve serbest oksijen radikallerinin artmasına neden olmaktadır (28).

Normal hücre fizyolojisinin sürdürülmesi sırasında meydana gelen bazı reaksiyonlarda ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, sistemik pek çok hastalık patofizyolojisinde önemli rol oynayan moleküllerdir. Halen çeşitli organ sistemleri üzerinde oluşturdukları etkiler araştırılmaktadır. Normal şartlarda bazal seviyede oluşan serbest radikaller, antioksidan savunma sistemleri ile ortadan kaldırılabilmektedirler. Ancak tıkanma ikteri gibi serbest oksijen radikali oluşumunu artırdığı bilinen bir hastalık durumunda antioksidan savunma sistemleri yetersiz kalmaktadır (30). Serbest oksijen radikallerinin hücrede oluşturduğu temel hasarlar,



protein denaturasyonu, DNA baz çiftlerinde mutasyonlar ve lipit peroksidasyonudur. Tüm bunların sonucu olarak hücre içi enerji oluşum basamaklarında aksamalar olmakta, hücre membran stabilitesi bozulmakta ve hücre oluşumu gerçekleşmektedir (83). Tıkanma ikterinde dokuda artan serbest oksijen radikalleri hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipit peroksidasyonu sonucu MDA (malondialdehit) oluşur. MDA oluşumu lipit peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. Tıkanma ikterinde karaciğerde MDA'nın arttığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (84).

Yapılan çalışmalarda tıkanma sarılığında karaciğer dokusunda ve dolaşımında redukte (indirgenmiş) glutatyon'un (GSH) azaldığı gösterilmiştir. GSH hücre içinde serbest oksijen radikallerini azaltan önemli bir antioksidan maddedir. Tıkanma ikterinde glutatyon okside glutatyona (GSSG) dönüşür. Dokuda okside glutatyon konsantrasyonu artarken GSH oranı azalmaktadır. Dolayısıyla karaciğerde GSH/GSSG oranında düşme olur. Bu oran tıkanma ikterinde oksidatif stresin önemli göstergelerindedir.(56).

Riluzolün başlıca etki mekanizması glutamaterjik impuls aşırımını bloke etmesidir. Riluzol sinir hücrelerinde hem bazal, hem de nöronal aktivasyon sonucu oluşan glutamik asit salınımını da presinaptik etkiyle ve yine pertussis toksine duyarlı bir mekanizmayla inhibe eder. Riluzol voltaj bağımlı Na<sup>+</sup> kanallarını bloke ederek glutamat salıverilmesini inhibe eden nöron koruyucu bir ajandır. Riluzol hasar tehdidi durumlarında hücrenin direncini artırarak gösterdiği nöron koruyucu etkilerin yanısıra, onarım mekanizmalarını da devreye sokarak rejenerasyonu artırmaktadır (85). Daha önce yapılan çalışmalarda riluzolün oksidan hasara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (74, 75, 86). Çalışmamızda kullandığımız riluzolün kolestatik sarılıktaki hasar üzerine etkisini araştıran çalışma mevcut değildir. Deneysel tıkanma ikterinde oluşturulan obstruktif sarılık modeli ratlarda ortak safra kanalının bulunmasını takiben, 1/3 orta kısımdan koledok ligasyonunu içermektedir. Bu model daha önce deneysel tıkanma ikteri çalışmalarında kullanılmış, etkinliği ve güvenilirliği tam olan deneysel bir modeldir. Bu deneysel tıkanma ikteri modelinde, obstruktif sarılık varlığında karaciğer ve ince barsak hücre hasarı ve serbest oksijen radikalleri üzerine riluzolün etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Kolestatik karaciğer hasarında bilyer dekompresyon mutlaka yapılmalıdır. Bununla beraber flebotomi, antiviral tedaviler, kortikosteroidler, prostoglandinler ve kolşisin tedavide günümüzde kullanılan ajanlardır. Ayrıca retinoidler, gama interferon, TGF beta, sitokin reseptör antagonistleri de tedavi amacıyla denenen maddelerdir. Günümüzde hepatik hasarın önlenmesinde çeşitli antioksidan ajanların etkin olup olmadığı da geniş biçimde araştırılmaktadır.

Bizim çalışmamızda bilirubin değerleri ortak safra kanalı ligasyonuna bağlı olarak oluşan akut kolestaz sonucunda kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda artmıştır. Bu durum deney modelimizin etkin olduğunun kanıtıdır. Kitani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tıkanma sarılığı oluşturulan hayvan grubuna Ursodeoksikolik asit verilmesini takiben hepatositlerde görülen mikroveziküler yağlanma da önemli azalma buna bağlı olarak AST, ALT ve GGT değerlerinde düşme olduğunu göstermiştir(87). Çalışmamızda tıkanma sarılığı oluşturduğumuz ratlarda AST, ALT, GGT, ALP, T.Bilirubin ve D.Bilirubin seviyelerinde artış olduğunu saptadık. Riluzol verilen gruplar ile diğer gruplar arasında D.Bilirubin düzeylerinde anlamlı ölçüde ( $p<0.001$ ) azalma saptarken, total bilirubin ve GGT seviyelerinin ligasyon sonrası riluzol verilen grupta diğer gruplara göre daha az yükseldiği, ikter sonrası riluzol verilen grupta, kontrol gruplarına yakın ancak daha az yükseldiğini gösterdik. Buna göre riluzol'un karaciğer fonksiyon testleri üzerinde ve D.Bilirubin düzeylerinde azaltıcı etki yarattığını düşünmekteyiz.

Antioksidan ajanların karaciğer üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Harrison S. ve ark. yaptıkları çalışmada nonalkolik hepatik hasarın önlenmesinde vitamin E ve vitamin C tedavisi ile özellikle serum ALT seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulmuşlardır (88). Bizim çalışmamızda, serum ALT seviyeleri bakımından riluzol verilen gruplarda kontrol gruplarına göre düşük düzeylerde saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Kılıçoğlu ve ark. yaptıkları çalışmada, ana safra kanalı bağlanmasından itibaren 7 gün süre ile bal verilen ratlarda karaciğer MDA ve GSH değerleri açısından anlamlı fark saptanırken plazma MDA ve GSH değerlerinde anlamlı bir fark saptanmadığını, hepatositlerde genişleme, dejenerasyon, sinüzoidal genişleme ve ödemin önemli derecede gerilediğini bu etkinin balın antioksidan ve sitoprotektif etkisine bağlı olabileceği gözlenmiştir.(89). Biz de çalışmamızda daha önceki

çalışmalara benzer olarak serum GSH düzeyleri tıkanma ikteri gruplarında azalmıştır. Koledok ligasyonu sonrası riluzol uygulanan tıkanma ikteri grubundaki serum GSH düzeyleri, iker sonrası riluzol uygulanan gruba ve diğer gruplara oranla kontrol grubu değerlerine daha yakındır. Buna karşın riluzol uygulanan gruplardaki MDA değerleri diğer gruplara oranla kontrol grubu değerlerinden yüksek saptandı. Bu durum, riluzolün tıkanma ikerinde ortaya çıkan oksidatif hasar üzerine olumlu etkisinin anlamlı olmadığı, ancak antioksidan yapımını artırdığı şeklinde yorumlanabilir.

Alkalen fosfataz (ALP), hepatosit plazma membranının bir ektoenzimidir. Birçok diğer patolojide de yüksek saptanabilir fakat genellikle serum ALP'deki artış karaciğer hücre membranındaki hasar ile ilişkilidir. Çalışmamızda oluşan safra stazına bağlı hepatosit hasarına uygun olarak ALP seviyeleri anlamlı artış göstermiş ve bu artış riluzol uygulanan gruplarda kontrol gruplarına oranla daha az olarak gözlenmiştir. Bu durum riluzolün oluşan hepatosit hasarı üzerine olumlu etkisinin olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Karaciğer dışı safra yolu tıkanıklığı modelinde amaç tıkanıklığın cerrahi ya da girişimsel yöntemlerle düzeltilmesine kadar geçen sürede inflamatuvar ve proliferatif değişiklikleri durdurmak veya düzeltilemeyen durumlarda ise hafifletmektir. Slott ve ark. tam safra kanalı ligasyonu ya da safra yolu tıkanmasından sonra safra kanalı basıncının % 60 oranında yükseldiğini ve bunun sonucunda 6 saat gibi kısa bir sürede DNA sentezinin arttığını ve safra kanalı epitel hücrelerinde proliferasyonun başladığını göstermişlerdir (90). Assimakopoulos ve ark. yaptıkları çalışmada deneysel tıkanma sarılığında N-Asetil sistein, allopurinol ve alfa tokoferol kombine antioksidan tedavinin kolestatik karaciğer hasarı, barsak bariyer fonksiyonu üzerine olumlu etkilerinin görüldüğü, lipid peroksidasyonu ve ALT düzeylerini anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (91, 92). Çalışmamızda yapılan çalışmalara benzer olarak tıkanma ikteri oluşturulan gruplarda portal alan ekspansiyonu, duktular proliferasyon, portal inflamasyon ve on portal alandaki duktus sayısında artış görüldü. Riluzol verilen tedavi gruplarında, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde portal alan ekspansiyonunda ve portal inflamasyonda azalma, duktular proliferasyon ve portal alandaki duktus sayısında düşme görüldü. Tıkanma ikteri oluşturulan grupların hiçbirinde fokal duktular kolestaz saptanmadı. Bu durum deney süresinin duktular kolestaz için kısa olabileceği şeklinde yorumlandı. Bu

bulgulara göre antioksidan ajanlarla tedavi edilen deneysel tıkanma ikteri çalışmalarındaki sonuçlara paralel olarak çalışmamızda kullanılan riluzolün karaciğer hasarı üzerinde olumlu etkilerinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Safra kanalı tıkanıklığı sonrası oluşan kolestazda, barsak bariyer fonksiyonunda bozulma, immün sistemde baskılanma ve mononükleer fagositik fonksiyonda hasarlanma bakteriyel translokasyona neden olmaktadır (38, 93, 94). Parks ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, safra kanalı tıkanıklığı oluşturulduktan 1 hafta sonra alınan kan, MLN, karaciğer ve dalak kültürlerinde bakteriyel translokasyonun kontrol grubuna göre arttığı ve terminal ileum mukozasında morfolojik değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir (41). Kordzaya ve arkadaşları, tıkanma sarılığı oluşturdukları ratların ince barsak epitelyum hücrelerinde subendotelial ödem geliştiğini, villusların tahrip olduğunu ve villus atrofi geliştiğini göstermişlerdir (95).

Yaptığımız çalışmada da, literatürdeki çalışmalara paralel olarak kontrol gruplarında terminal ileum mukoza kalınlıklarının azaldığı, villus - kript oranlarının düştüğü, lamina propriada eozinofilik PMNL artışı ve intraepitelyal lenfosit sayısında artış olduğu görülmüştür. Riluzol verilen gruplarda, mukoza kalınlıklarında sham grubuna yakın değerler ve kontrol gruplarına göre artış görüldü. Benzer şekilde riluzol verilen gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde villus – kript oranlarında artma ve intraepitelyal lenfosit sayısında azalma görüldü. Buna göre riluzolün tıkanma ikterindeki oluşan ince barsak hasarında yararlı etkileri olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak yaptığımız deneysel çalışmada tıkanma sarılığında karaciğerde ve ince barsakta meydana gelen oksidatif hasarın riluzol verilmesi ile biyokimyasal parametreler açısından anlamlı olmasa da azalttığını, histopatolojik olarak ise anlamlı olarak azalttığını saptadık. Riluzol'ün bu amaçla klinik olarak kullanılması için ise daha geniş karşılaştırmalı ve daha uzun süreli deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda gelişen oksidatif strese bağlı karaciğer ve ince barsak hasarında riluzolün etkisini araştırdık. Bu amaçla, biyokimyasal parametre olarak AST, ALT, ALP, Total bilirubin, Direkt bilirubin, GGT, MDA, GSH düzeyi ölçüp, karaciğer ve terminal ileum kesitlerinden histopatolojik değerlendirme yaptık.

Sonuç olarak;

1) KL+RLS grubu AST düzeyi KL grubu ve KL+DMSO gruplarından düşük bulundu( $p>0.05$ ).

2) KL+RİS grubu AST düzeyi tüm gruplardan yüksek bulunmasına karşı gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı( $p>0.05$ ).

3) KL+RLS grubu ALT düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), KL, KL+DMSO, KL+RİS gruplarından düşük izlendi. İstatistiksel olarak farklılık saptanmadı( $p>0.05$ ).

4) KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu ALP düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), kontrol gruplarından düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

5) KL+RLS grubu ile KL+RİS grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

6) KL+RLS grubu GGT düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), KL ve KL+DMSO gruplarından anlamlı derecede düşük saptandı ( $p<0.03$ ).

7) KL+RİS grubu GGT düzeyi KL+SF ve KL+DMSO gruplarından düşük izlendi ancak bu gruplarla arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı( $p>0.05$ ).

8) KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu total bilirubin düzeyi SK grubundan yüksek ( $p<0.001$ ), KL ve KL+DMSO gruplarından düşük izlendi. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

9) SK grubu direkt bilirubin düzeyi diğer gruplardan düşük ( $p<0.001$ ), KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu direkt bilirubin düzeyi KL, KL+DMSO grubundan düşük izlendi( $p<0.05$ ).

10) KL+RLS grubu ile KL+RİS grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Bulgular, KL+RLS grubu ile KL ve KL+DMSO grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.001$ ).

**11)** MDA düzeyleri açısından gruplar arasında ; KL+RLS grubu ve KL+RİS grubu MDA düzeyi diğer gruplardan yüksek saptandı ( $p<0.05$ ).

**12)** KL+RLS ve KL+RİS grupları arasında ve diğer gruplar ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**13)** KL+RLS grubu GSH düzeyi diğer gruplardan yüksek izlendi. Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**14)** Grup SK dışındaki kontrol grupları olan KL ve KL+DMSO gruplarında belirgin şekilde portal alan ekspansiyonu izlenmiştir ( $p<0.05$ ).

**15)** Tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RİS' de portal alan ekspansiyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). Grup KL+RLS ile grup KL+RİS karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**16)** Grup KL+RLS ve grup KL+RİS' nin duktular proliferasyon skorları kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma mevcut iken ( $p<0.05$ ), grup KL+RLS ile grup KL+RİS arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**17)** Kontrol ve tedavi gruplarından hiçbirinde fokal duktular kolestaz tespit edilmemiştir.

**18)** Grup SK' da tabloya portal inflamatuvar infiltratta lenfosit, nötrofil ve plazma hücrelerinin hakim olduğu, KL ve KL+DMSO, KL+RLS, KL+RİS gruplarında ise inflamasyona eozinofil ve histiositlerin eklendiği görülmüştür.

**19)** KL ve KL+DMSO arasında inflamasyonu oluşturan hücre tipleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**20)** KL+RLS ve KL+RİS' de inflamasyonu oluşturan hücre tipleri açısından; eozinofil ve histiositlerde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**21)** Grup KL+RLS ve grup KL+RİS'nin inflamasyon dereceleri KL ve KL+DMSO gruplarından düşüktü ( $p<0.05$ ).

**22)** KL+RLS ile KL+RİS arasında portal inflamasyonu oluşturan hücre tipleri ile inflamasyon derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**23)** On portal alandaki duktus sayısı grup KL' de en fazla iken grup SK dışında grup KL+RİS de en az sayıda gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

**24)** Grup KL+RLS ile grup KL+RİS arasında ise on portal alandaki duktus sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**25)** Grup KL+RİS' de terminal ileum tam kat duvar kalınlığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**26)** Grup SK, KL, KL+DMSO, KL+RLS nin terminal ileum tam kat duvar kalınlıkları arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**27)** Grup KL+RLS ve KL+RİS' de terminal ileum mukoza kalınlıklarında grup KL ve grup KL+DMSO'ya göre artış gözlenmiş ve grup SK'ya yakın değerler görülmüş olup, gruplar arasında istatistiksel anlamda farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**28)** Terminal ileum kesitlerinde villusların kript uzunluğuna oranına bakıldığında; KL ve KL+DMSO gruplarında grup SK'ya göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**29)** Tedavi grupları olan KL+RLS ve KL+RİS' de kontrol gruplarına göre terminal ileum villus-kript oranlarında artış görülmüştür ( $p<0.05$ ). Tedavi gruplarının kendi aralarındaki karşılaştırmada ve kontrol gruplarıyla karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**30)** Tüm gruplarda hafif düzeyde mononükleer hücre artışı ve seyrek olarak nötrofilik PMNL görülmüştür ( $p>0.05$ ).

**31)** KL grubuna göre KL+DMSO, KL+RLS ve KL+RİS grupları arasında eozinofilik PMNL artışı açısından istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**32)** Grup KL+RLS ile grup KL+RİS de eozinofilik PMNL artışı KL ve KL+DMSO gruplarındakinden düşüktü ( $p<0.05$ ).

**33)** Grup KL+RLS ile grup KL+RİS arasında eozinofilik PMNL artışı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**34)** Grup KL+RLS ve grup KL+RİS' de villuslarda intraepitelyal lenfosit sayısı KL ve KL+DMSO gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görülürken ( $p<0.05$ ), tedavi gruplarının aralarındaki karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

Bu çalışma tıkanma sarılığında karaciğerde ve ince barsakta meydana gelen oksidatif hasarın riluzol verilmesi ile biyokimyasal parametreler açısından anlamlı

olmasa da azalttığını, histopatolojik olarak ise anlamlı olarak azalttığını saptamıştır. Riluzol'ün bu amaçla klinik olarak kullanılması için ise daha geniş karşılaştırmalı ve daha uzun süreli deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



## KAYNAKLAR

1. Ding JW, Andersson R et al: Obstructive jaundice impairs reticuloendothelial function and promotes bacterial translocation in the rat. *J Surg Res*,1994;57: 238-245.
2. Baykal A, Ağalar F: Bakteriyel Translokasyon. in. Sayek İ. Çoker A. Sökmen S. Cerrahi İnfeksiyon, 1. Baskı, Güneş Kitabevi Öncü Basım, Ankara, 2001, sayfa 74-83. )
3. Parola M, Leonarduzzi G, Robino G, Albano E, Poli G. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. *Free Radical Biol Med* 1996; 20: 351-9.
4. Montilla P, Cruz A, Padillo FJ, Tunez I, Gasson F. Melatonin versus vitamine E as protective treatment against oxidative stres after extra-hepatic bile duct ligation in rats. *J Pineal Res* 2001; 31: 138-44.
5. Shimizu I, Ma YR, Mizobuchi Y, Liu F, Miura T, Nakai Y, Yasuda M, Shiba M, Horie T, Amagaya S, Kawada N, Hori HH, İto S. Effectes of sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 1999; 29: 149-60.
6. Casini A, Ceni E, Sazano R, Biondi P, Parola M, Gali A, Pinzani M, Surrenti C. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide. *Hepatology* 1997;25:200-5
7. Svegilati Baroni G, D'Ambrosio L, Ferretti G, Casini A, Di Sario A, Salzano R, Ridolfi F, Saccomanno S, Jezequel AM, Benedetti A. Fibrogenic effect of oxidative stress on rat hepatic stellat cells. *Hepatology* 1998; 27:720-6
8. Lee KS, Buck M, Houglum K, Chojkier M. Activation of hepatic stellate cells by TGF- $\alpha$  and collagen type-I is mediated by oxidative stres through c-myb expression. *J Clin Invest* 1995;96:2461-8
9. Batman F,Arslan S: Karaciğer fizyolojisi. Sayek İ.(ed). Temel cerrahi 1996;cilt 2:1205

10. Akin ML, Erenoğlu C, Dal A et al: Hyperbaric oxygen prevents bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. *Dig Dis Sci* 2001; 46 (8): 1657-1662)
11. Reynolds JV, Murchan P et al: Gut barrier failure in experimental obstructive jaundice. *J SurgRes*, 1996;62:11-16
12. Floch MH, Gershengoren W et al: Bile acid inhibition of the intestinal microflora: A function for simple bile acids? *Gastroenterology*, 1971;61: 228
13. Shimizu I, Ma YR, Mizobuchi Y, Liu F, Miura T, Nakai Y, Yasuda M, Shiba M, Horie T, Amagaya S, Kawada N, Hori HH, ItoS. Effects of sho-saiko-to, a Japaneseherbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 1999;29:149-60
14. Hale Z. Toklu, Meral Keyer Uysal, Levent Kabasakal, Serap Sirvanci, Feriha Ercan, Mehmet Kaya. The Effects of Riluzole on Neurological, Brain Biochemical, and Histological Changes in Early and Late Term of Sepsis in Rats: *Journal of Surgical Research* 152,238-248(2009)
15. Xiaojun Mu, Robert D. Azbill, Joe E. Springer; Riluzol improves measures of oxidative stres following traumatic spinal cord injury; *Brain Research*: 870(2000);66-72
16. Seymour I. Schwartz:Karaciğer. Schwartz cerrahi prensipleri 1999;667
17. Ratych ER, Smith WG. Anatomy and physiology of the liver. George D, Zuidema GE: *Surgery of the alimentary tract*, Fourth Edition, Philedelphia, W.B. Saunders Company 1996;357-374.
18. John L. Cameron: Liver ,anatomy. *Current surgery* 2001;319
19. Januire LC, Carneo J, Long JA: *Digestive Tract .Basic Histology Fifth Edition,Californiya* 1996; 354-379.
20. Müslümanoğlu M. Safra kesesinin selim hastalıkları: Genel Cerrahi/ İ.Ü.T.F. temel ve klinik bilimler ders kitapları 2002; cilt II, sf 1177.
21. Aran Ö: Safra yolları hastalıkları. Sayek İ.(ed)Temel cerrahi 1996;cilt 2: 1299
22. Sheila Sherlock & James Dooley. *Diseases of the Liver And Biliary System. Eleventh Edition/ Andreoli T, Bennett J.C, Carpenter C.J, Plum F, Smith L.H:* jaundice. *Cecil Essentials of medicine* 1995; chapter 5,323-327
23. Sheila Sherlock & James Dooley. *Diseases of the Liver And Biliary System. Eleventh Edition*

24. Andreoli, Bennet, Carpenter, Plum, Smith. Cecil Essentials of Medicine 3. Baskı, Yuce Yayınları 1997
25. Kumar V, Cotran R.S., Robbins S.L: Karaciğer ve Safra yolları. Temel Patoloji 1992; bölüm 16:525.
26. Maingot's abdominal operations. In: Kahng KU, Roslyn JJ. Jaundice. Zinner MJ (Eds), Vol 1: 315-351, 1997
27. Batman F, Aydınli M. Karaciger Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi. Temel cerrahi kitabi, Editor Sayek I, 3.Baskı, Ankara Gunes Kitabevi, 2004
28. Micheal J Zimmer, Seymar I Schwartz, Harold Ellis Maingot'J. Abdominal Operations 1997
29. Greig JD, Krakowski ZH, Matheson NA: Surgical morbidity and mortality in one hundred an twenty-nine patients with obstructive jaundice. Br J Surg 1988;75: 216-219
30. William C, Meyers R, Scott Jones. Lippincott Company Philadelphia, Disorders of the Biliary System 1990.
31. Gennari R, Alexander W.: Effects of hiperoxia on bacteriel translocation and mortality during gut-derived sepsis. Arch Surg. 1996; 131:57-62
32. Mcphee, Lingappa, Ganong, Lange. Pathophysiology of Disease Third Edition 2000.
33. Wells GR, Taylor EW, Lindsoy G, Morton L: Relationship between bile colonization, high risk factors and postoperative sepsis in patients undergoing biliary tract operations while receiving a prophylactic antibiotic. Br J Surg 1989;76: 374-377/36
34. Poo JL, Estanes A, Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Uribe M: Effects of ursodeoxycholic acid on hemodynamic and renal function abnormalities induced by obstructive jaundice in rats. Ren Fail. 1995 ; 17(1):13-20
35. Sheen-Chen SM, Hung KS, Ho HT, Chen WJ, Eng HL: Effect of glutamine and bile acid on hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the rat. World J Surg. 2004; 28(5):457-60
36. Tu W, Kitade H, Satoi S, et al. Increased nitric oxide production in hepatocytes is involved in liver dysfunction following obstructive jaundice. J Surg Res.2002; 106:31-36

37. Dunn CW, Horton JW, Megison SM et al. Contribution of portal systemic shunt to Kupffer cell dysfunction in obstructive jaundice *J Surg Res* 1991;50:234-239
38. Ding JW, Anderson R, Stenham U et al: Effect of biliary decompression on reticuloendothelial function in jaundiced rats. *Br J Surg* 1992; 79: 648-652
39. Koutelidakis I, Papaziogas B, Giamarellos-Bourboulis EJ, Makris J, Pavlidis T, Giamarellou H, Papaziogas T: Systemic endotoxaemia following obstructive jaundice: the role of lactulose. *J Surg Res.* 2003 ; 113(2):243-7.
40. Özaslan C, Turkcapar AG, Kesenci M, Karayalcin K, Yerdel MA, Bengisun S, Toruner A: Effect of lactulose on bacterial translocation. *Eur J Surg.* 1997 ;163(6):463-7
41. Parks RW, Cameron CH, Gannon C et al: Changes in gastrointestinal morphology associated with obstructive jaundice. *J Pathol* 2000; 192: 526-532
42. Erbil Y, Berber E, Ozarmagan S et al: The effects of sodium deoxycholate, lactulose and glutamine on bacterial translocation in common bile duct ligated rats. *Hepatogastroent* 1999; 46: 2791-2798
43. Lorenzo-Zuniga V, Bartoli R, Planas R et al: Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepat* 2003; 37: 551-557/ 42
44. Parks RW, Clements WDB, Pope C et al: Bacterial translocation and gut microflora in obstructive jaundice. *J Anat* 1996; 189: 561-565
45. Ogata Y, Nishi M, Nakayama H, Kuwahara T, Ohnishi Y, Tashiro S: Role of bile in intestinal barrier function and its inhibitory effect on bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. *J Surg Res.* 2003 ;115(1):18-23.
46. Sakrak O, Akpınar M, Bedirli A, Akyurek N, Aritas Y: Short and long-term effects of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage. *Hepatogastroenterology.* 2003 ;50(53):1542-6.
47. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe Tıp Derg.* 2004;5:1-8
48. Southorn PA. Free radicals in medicine. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988;63:381-9

49. Krahenbuhl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology* 1995; 22: 607-12
50. Athar M, Abdullah M, Sultana S, Fauler A, Pero R. Free radicals and trace elements. *J. Trace El Exp. Med.* 1993: 67-73.
51. Murray R.K, Droper H.H.: Comparative studies on different methods of monoaldehyde determination. *Meth m Enzmol* 105:299-305, 1984.
52. Halliwell B, Gutteridge JMC: The antioxidant of human extracellular fluids. *Arch. Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.
53. Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995; 49:345-61.
54. Halliwell B. Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron relation to biology and medicine. Some problems and concept. *Ar. Biochem. Biophys.* 1986:246:501-14
55. Konukoglu D, Akcay T. Glutatyon metabolizmasi ve klinik onemi 1995 T. *Klin.TipBil.* 15:214-218
56. Harward TRS; Coe. D, Sauba W.W et al. Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia-reperfusion. 1994 *Journal of Surgical Research.* 56: 351-355
57. Witschi A, Reddy S, Stafer B, Lauterburg BH. The systemic availability of oral Glutathione. *Eur J Clin Pharmacol.* 1992;43 (6):667-9.
58. Nychytailo MIu, Malyk SV: Biochemical markers in diagnosis and prognosis of obturative jaundice. *Klin Khir.* 2004 ; ;(8):13-18.
59. Nergiz Murat, Ömer Demir, Ertan Can, Sedef Gidener, Adil Esen. Optimum Concentration of DMSO in Human Corpus Cavernosum Studies; *Türk Üroloji Dergisi:* 31 (1): 17-20, 2005
60. Benoit E., Escante D.: Riluzole specifically blocks inactivated Na channels in myelinated nerve fibre. *Pflügers Arch.* 419: 603-619, 1991.
61. Hubert J.P., Delumeau J.C., Glowinski J., Prémont J., Doble A.: Antagonism by riluzole of entry of calcium evoked by NMDA and veratridine in rat cultured granule cells: evidence for a dual mechanism of action. *Br. J. Pharmacol.* 113:261-267, 1994.

62. Doble A.: The pharmacology and mechanism of action of riluzole. *Neurology*, 47:S233-241, 1996.
63. Azbill R.D., Mu X., Springer J.E.: Riluzole increases high-affinity glutamate uptake in rat spinal cord synaptosomes. *Brain Res.*, 871:175-80, 2000.
64. Kanthasamy A.G., Yun R.J., Nguyen B., Truong D.D.: Effect of riluzole on the neurological and neuropathological changes in an animal model of cardiac arrest-induced movement disorder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 288: 1340-1348, 1999.
65. Lang-Lazdunski L., Heurteaux C., Dupont H., Widmann C., Lazdunski M.: Prevention of ischemic spinal cord injury: comparative effects of magnesium sulfate and riluzole. *J. Vasc. Surg.*, 32: 179-189, 2000.
66. McIntosh T.K., Smith D.H., Voddi M., Perri B.R., Stutzmann J.M.: Riluzole, a novel neuroprotective agent, attenuates both neurologic motor and cognitive dysfunction following experimental brain injury in the rat. *J. Neurotrauma.*, 13: 767-80, 1996.
67. Jehle T., Bauer J., Blauth E., Hummel A., Darstein M., Freiman T.M., Feuerstein T.J.: Effects of riluzole on electrically evoked neurotransmitter release. *Br. J. Pharmacol.* 130: 1227-1234, 2000
68. Calabresi P., Picconi B., Saulle E., Centonze D., Hainsworth A.H., Bernardi G.: Is pharmacological neuroprotection dependent on reduced glutamate release? *Stroke*, 31: 766-772, 2000.
69. Song J.H., Huang C.S., Nagata K., Yeh J.Z., Narahashi T.: Differential action of riluzole on tetrodotoxin-sensitive and tetrodotoxin-resistant sodium channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 282: 707-714, 1997.
70. Urenjak J., Obrenovitch T.P.: Pharmacological modulation of voltage-gated Na<sup>+</sup> channels: a rational and effective strategy against ischemic brain damage. *Pharmacol. Rev.*, 48: 21-67, 1996.
71. Lesage F.: Pharmacology of neuronal background potassium channels. *Neuropharmacology*, 44: 1-7, 2003.
72. Obrenovitch T.P., Urenjak J.: Glutamate release inhibitors: a critical assessment of their action mechanism. *Amino Acids*, 14: 143-150, 1998

73. Pratt J., Archambaud C., Bohme G.A., Roux M., Rataud J., Imperato A., Stutzmann J.M.: The effect of riluzole and mannitol on cerebral oedema after cryogenic injury in the mouse. *Neurosci. Lett.*, 272: 143-145, 1999
74. Mu X., Azbill R.D., Springer J.E.: Riluzole improves measures of oxidative stress following traumatic spinal cord injury. *Brain Res.*, 870: 66-72, 2000.
75. Storch A., Burkhardt K., Ludolph A.C., Schwarz J.: Protective effects of riluzole on dopamine neurons: involvement of oxidative stress and cellular energy metabolism. *J. Neurochem.*, 75: 2259-2269, 2000.
76. Min-Heui Yoo, Young Hee Yoon, Hyewon Chung, Kyung Sook Cho, and Jae-Young Kob . Insulin Increases Retinal Hemorrhage in Mild Oxygen-Induced Retinopathy in the Rat: Inhibition by Riluzole: *Visual Science* 2007;48:No:12)
77. Thaloor D, Singh AK, Sidhu GS, Prasad PV, Kleinman HK, Maheshwari RK. Inhibition of angiogenic differentiation of human umbilical vein endothelial cells by curcumin. *Cell Growth Differ.* 1998;9(4):305-312
78. Ishida T, Taketoh J, Nakatsune E, Kan-o S, Naito E, Takeda S, Mutoh J, Ishii Y, and Yamada H. Curcumin anticipates the suppressed body weight gain with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice. *J Health Sci* 2004; 50: 474-482
79. Baiocchi L, Tisone G, Russo MA, Longhi C, Palmieri G, Volpe A, Almerighi C, Telesca C, Carbone M, Toti L, Leonardis FD, Angelico M. TUDCA prevents cholestasis and canalicular damage induced by ischemia-reperfusion injury in the rat, modulating PKC $\alpha$ -ezrin pathway. *Transpl Int.* 2008 Apr 23
80. Nychytailo MI, Malyk SV. Biochemical markers in diagnosis and prognosis of obstructive jaundice. *Klin Khir* 2004;8:13-18.
81. Singh S., Shacheleton G., Singh E., Chakraborty J., Barley M. Antioxidant defences in the bile duct ligated rat. *Gastroenterology.* 1992, 103: 1625-9.
82. Krahembuhi S, Talos C, Fisher S, Reichen J. Toxicity of bile acids on the electron transport chain of isolated rat liver mitochondria. *Hepatology.* 1994;19:471-479.
83. Jairam R, Palamanda and James P, Kehrer. inhibition. of protein carbonyl formation and lipid peroxidation by glutathione in rat liver Microsomes. *Arch Biochem biophys.* 1992; 293: 103-109

84. Alptekin N, Mehmetcik G, Uysal M, et al. Evidence for oxidatif stress in the hepatic mitochondria of bile duct ligated rats. *Pharmacol. Res.* 1997;36:243-247
85. Obrenovitch T.P.: Neuroprotective strategies: voltage-gated Na<sup>+</sup>-channel downmodulation versus presynaptic glutamate release inhibition. *Rev. Neurosci.*, 9: 203-211, 1998.
86. Koh J.Y., Kim D.K., Hwang J.Y., Kim Y.H., Seo J.H.: Antioxidative and proapoptotic effects of riluzole on cultured cortical neurons. *J. Neurochem.*, 72: 716-723, 1999
87. Kitani K. Et all. Hepatoprotective effect of ursodeoxycholicacid in experimental animals. In: *Strategies for the Treatment of Hepatobiliary Diseases: Paumgartner G. Stiehl A, Barbara L..RodaE(eds)KluwerAcademicPublishersDordrecht/Boston /London.* 1990. pp. 43-56
88. Harrison S.A., Torgerson S., Hayashi P., Ward J., Schenker K. Vitamin E and Vitamin C improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterology* 2003;98:2485-90
89. Bulent Kılıcoglu, Cem Gencay, Kemal Kısmet, Sibel Serin Kılıcoglu, Imge Erguder, Serap Erel; The ultrastructural research of liver in experimental obstructive jaundice and effect of honey. *The American Journal of Surgery* 195 (2008) 249–256.
90. Slott PA., Liu MH., Tavoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990;99:466-77
91. Stelios F. Assimakopoulos ,Ioannis Maroulis, Nikolaos Patsoukis , Konstantinos Vagenas ,Chrisoula D. Scopa , Christos D. Georgiou . Effect of Antioxidant Treatments on the Gut–Liver Axis Oxidative Status and Function in Bile Duct-Ligated Rats. *World J Surg* (2007) 31:2023–2032
92. Stelios F. Assimakopoulos, Constantine E. Vagianos, George Zervoudakis, Kriton S. Filos,Christos Georgioud, Vassiliki Nikolopoulou, Chrisoula D. Scopab.Gut regulatory peptides bombesin and neurotensin reduce hepatic oxidative stress and histological alterations in bile duct ligated rats.*Regulatory Peptides* 120 (2004) 185– 193



93. Kirnmings AN, Deventer SJH, Obertop H et al: Inflammatory and immunologic effects of obstructive jaundice: Pathogenesis and treatment. *J Am Coll Surg* 1995; 181:567-581,
94. Nieuwenhuijs VB, van Dijk JE, Gooszen HG, Akkermans LM: Obstructive jaundice, bacterial translocation and interdigestive small-bowel motility in rats. *Digestion*. 2000;62(4):255-61
95. Kordzoya DJ, Gderdzishvili VT. Bacterial translocation in obstructive jaundice in rats: Role of mucosal lacteals. *Eur J Surg* 2000; 166:367-74. *T Klin J Gastroenterohepatol* 2004, 15