



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**AMANTADİNİN RATLARDA HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINDA AKCİĞER VE KARACİĞER ÜZERİNDEKİ
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. FATİH ŞAHİN

NİSAN 2018

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**AMANTADİNİN RATLARDA HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINDA AKCİĞER VE KARACİĞER ÜZERİNDEKİ
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. FATİH ŞAHİN

DANIŞMAN
Doç. Dr. AYÇA TAŞ TUNA

NİSAN 2018



Sevgili Eşim ve Meslektaşım Elif ÖZÖZEN ŞAHİN'e...

ONAY

Gazi Ü. Evrak Tarih ve Sayısı: 27/12/2017-E.49928



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Yrd.Doç.Dr.Ayça TAŞ TUNA
Sakarya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Daha önce 14.04.2017 tarih ve E.15320 sayılı yazımız ile onay alan, araştırmacı grubu Ayça TAŞ TUNA, Fatih ŞAHİN, Yusuf ÜNAL, Mustafa ARSLAN, Hayrullah YAZAR, Şaban Cem SEZEN ve Mehmet Ramazan ŞEKEROĞLU'ndan oluşan G.Ü.ET-17.021 kod numaralı ve "Amantadinin Ratlarda Hepatik İskemi-Reperfüzyon Hasarında Akciğer ve Karaciğer Üzerindeki Koruyucu Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma önerisi ile ilgili alınan 29.11.2017 tarihli dilekçe konusu Başkanlığımız tarafından incelenmiş olup,

Araştırmacı grubundan Mehmet Ramazan ŞEKEROĞLU'nun ayrılması ile yerine Sezen IRMAK GÖZÜKARA'nın dahil edilmesi ile ilgili talebin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

BELGENİN ASLI
ELEKTRONİK İMZALIDIR
29.12.2017
Burak SİTAK
Be

Evrakı Doğrulamak için: <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr>

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Pin: 95612
Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

BEYAN

Bu çalışma T.C. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 14.04.2017 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

.../.../...

Dr. Fatih ŞAHİN

İmza

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve beni teşvik edip yönlendiren, tecrübesini bizimle paylaşan tez yazarken tüm bilgi ve birikimleriyle bize yol gösteren tez danışmanım Sayın Hocam Doç. Dr. Ayça TAŞ TUNA'ya; eğitim süreci boyunca çalışkanlığı ve anlayışıyla ve insanlığıyla bize örnek olan, her konuda desteğini bizlerden esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Bölümü Klinik ve Eğitim Sorumlusu Sayın Hocam Prof. Dr. Ali Fuat ERDEM'e; kendisinden çok şey öğrendiğim, üstün bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Sayın Hocam Doç. Dr. Yakup TOMAK'a; kendime örnek aldığım ve anlayışıyla her zaman yanımda olan ve tüm bilgi birikimini bize aktaran sevgili hocam Sayın Doç. Dr. Serbülen Gökhan BEYAZ'a, bizimle olduğu süre boyunca sabrı ve öğretmenliğiyle her zaman bize örnek olan sayın Hocam Prof. Dr. Ümit KARADENİZ'e, Gazi Üniversitesi'ndeki çalışmalarımız sırasında her zaman yanımda olan Prof. Dr. Yusuf ÜNAL ve Doç. Dr. Mustafa ARSLAN'a, desteklerini hiç bir zaman bizden esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Havva SAYHAN KAPLAN'a, her konuda her zaman bizi destekleyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Onur PALABIYIK'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

SÜEAH Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği'ndeki birlikte çalıştığım tüm değerli asistan arkadaşlarım, meslektaşlarım, anestezi tekniker ve teknisyenleri, ameliyathane çalışanları ve dostlarıma teşekkür ederim.

Son olarak bana her konuda yardımcı olan hayat arkadaşım ve meslektaşım Dr. Elif ÖZÖZEN ŞAHİN'e, destekleri sayesinde bu günlere geldiğim sevgili aileme teşekkür ederim.

Dr. Fatih ŞAHİN

SAKARYA, 2018

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ.....	V
RESİMLER LİSTESİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT	XII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 İSKEMİ	3
2.2 REPERFÜZYON	4
2.3. KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI.....	5
2.4. KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ AKCİĞER DOKUSUNA ETKİSİ.....	6
2.5. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ	7
2.5.1. Hüresel Etkiler.....	7
2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Rolü	7
2.5.3. Kompleman Rolü	8
2.5.4. Lökositlerin Rolü.....	9
2.6. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ.....	9
2.7. ANTİOKSİDAN SİSTEM VE ENZİMLER.....	11
2.8. N-METİL D-ASPARTAT ANTAGONİZMASI VE İ/R HASARI.....	15
2.9. AMANTADİN	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. DENEK SEÇİMİ.....	18
3.2. YÖNTEM.....	18
3.3. HOMOJENİZASYON	23
3.4. LİPİD PEROKSİDASYON DURUMUNUN ANALİZİ.....	25
3.5. ANTİOKSİDAN ENZİMLERİN ANALİZİ.....	25

3.6. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	25
3.7. İstatiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA	52
SONUÇ	56
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	75



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Ratların Ağırlıkları.....	27
Şekil 2. Akciğer Dokusu MDA Düzeyleri	28
Şekil 3. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri	29
Şekil 4. Akciğer Dokusu SOD Düzeyleri	30
Şekil 5. Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri.....	31
Şekil 6. Akciğer Dokusu CAT Düzeyleri	32
Şekil 7. Karaciğer Dokusu CAT Düzeyleri.....	33
Şekil 8. Akciğer Dokusu Nötrofil/Lenfosit İnfiltrasyon Skorları	34
Şekil 9. Akciğer Dokusu Alveol Duvar Kalınlaşma Skorları	35
Şekil 10. Karaciğer Dokusu İnfiltrasyon Skorları.....	40
Şekil 11. Hepatosit Dejenerasyon Skorları	41
Şekil 12. Karaciğer Dokusu Sinüzoidal Dilatasyon Skorları	42
Şekil 13. Karaciğer Dokusu Piknotik Çekirdek Skorları	43
Şekil 14. Karaciğer Dokusu Nekroza Giden Hücre Skorları	44
Şekil 15. Karaciğer Dokusu PMN Hücre İnfiltrasyonu Skorları	45

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. . Ratların Ağırlıkları, [Medyan±IQR (en az – en çok)]	27
Tablo 2. Akciğer Dokusu MDA Düzeyleri, ng/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	28
Tablo 3. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri, ng/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	29
Tablo 4. Akciğer Dokusu SOD Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	30
Tablo 5. Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	31
Tablo 6. Akciğer Dokusu CAT Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	32
Tablo 7. Karaciğer Dokusu CAT Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	33
Tablo 8. Akciğer Dokusu Nötrofil/Lenfosit İnfiltrasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	34
Tablo 9. Akciğer Dokusu Alveol Duvar Kalınlaşma Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	35
Tablo 10. Karaciğer Dokusu İnfiltrasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	40
Tablo 11. Hepatosit Dejenerasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	41
Tablo 12. Karaciğer Dokusu Sinüzoidal Dilatasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	42
Tablo 13. Karaciğer Dokusu Piknotik Çekirdek Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	43
Tablo 14. Karaciğer Dokusu Nekroza Giden Hücre Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	44
Tablo 15. Karaciğer Dokusu PMN Hücre İnfiltrasyonu Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)].....	45

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Ratın tıraşlanması.....	19
Resim 2. Isıtıcı blanket.....	20
Resim 3. Kuyruk veni kanülasyonu	20
Resim 4. Orta abdominal insizyon	21
Resim 5. Karaciğer diseksiyonu ve klempleme	22
Resim 6. Hazırlanan doku homojenatları.....	23
Resim 7. Doku homojenatörü	24
Resim 8. Doku süpernatantları.....	24
Resim 9 Grup S’de normal akciğer dokusunun yapısı, hematoksil-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.	36
Resim 10 Grup A’da akciğer dokusundaki nötrofil infiltrasyonu, hematoksil-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.	37
Resim 11 Grup İ/R’de geniş nötrofil infiltrasyonu ve şiddetli şekilde artmış alveoler duvar kalınlığı, hematoksil-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.	38
Resim 12 Grup İ/R-A’da kapiller konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve artmış alveolar duvar kalınlığı artışı, hematoksil-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.	39
Resim 13 Grup S’de karaciğer dokusunun yapısı, hematoksil-eozin; A-X40; B- X100; C-X400.	46
Resim 14 Grup A’da karaciğer dokusunun yapısı, hematoksil-eozin; A-X40; B- X100; C-X400.	47
Resim 15 Grup İ/R’de karaciğer dokusunun yapısı, hematoksil-eozin; A-X40; B- X100; C-X400.	48
Resim 16 Grup İ/R-A’da karaciğer dokusunun yapısı, hematoksil-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.	49

KISALTMALAR

Ca⁺²	: Kalsiyum
O₂	: Oksijen
İ/R	: İskemi/reperfüzyon
NMDA	: N-Metil D-Aspartat
SOD	: Süperoksit dismutaz
MDA	: Malondialdehit
CAT	: Katalaz
ATP	: Adenozin trifosfat
Na⁺-K⁺ ATPaz	: Sodyum-potasyum ATPaz
AST	: Aspartat transaminaz
ALT	: Alanin aminotrenferaz
XOR	: Ksantin oksidoredüktaz
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif nitrojen ürünleri
H⁺	: Hidrojen
Na⁺	: Sodyum
NO	: Nitrik oksit
LDH	: Laktat dehidrogenaz
HOCL	: Hipoklorik asid
H₂O	: Su
ONOO	: Peroksinitrit
O₂⁻	: Süperoksit anyon
Fe	: Demir
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör- α
IL	: İnterlökin
PMN	: Polimorfonükleer
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
NF-kB	: Nükleer faktör kappa B

GSH	: Glutasyon
GSSG	: Glutasyon disülfid
OH·	: Hidroksil radikali
ER	: Endoplazmik retikulum
ICAM-1	: İnterselüler adhezyon molekülü 1
LID	: Levodopa kaynaklı diskinezi
i.p	: İntraperitoneal
i.v	: İntravenöz
G	: Gauge
C	: Kompleman
DMF	: Dimetilfumarat
IR	: İmmadiate release
GÜDAM	: Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
IQR	: Çeyrekler arası aralık

ÖZET

AMANTADİNİN RATLARDA HEPATİK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA AKCİĞER VE KARACİĞER ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İskemi/reperfüzyon hasarı, karaciğer cerrahisinin olası bir komplikasyonudur. N-Metil D-Aspartat (NMDA) antagonistlerinin çeşitli doku ve organlarda, iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarına karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Biz bu çalışmada, bir NMDA antagonisti olan amantadinin ratlarda karaciğer İ/R hasarı sonrasında akciğer ve karaciğer dokusu üzerindeki koruyucu etkilerinin araştırılmasını amaçladık.

Etik kurul onayı alındıktan sonra, ağırlıkları 250-330 g. arasında değişen toplam 24 adet wistar cinsi rat rastgele 4 gruba ayrıldı. Gruplar; grup sham (Grup S, n=6), grup amantadin (Grup A, n=6), grup iskemi/reperfüzyon (Grup İ/R, n=6), grup iskemi/reperfüzyon amantadin (Grup İ/R-A, n=6) olarak adlandırıldı. Anestezi uygulanmadan önce tartılan tüm ratlara 100 mg/kg ketamin, 15 mg/kg ksilazin intraperitoneal (i.p) uygulanarak anestezileri sağlandı ve abdominal bölgeleri cerrahi insizyondan önce tıraş edildi. Grup S’de ratlara işlem yapılmadan 15 dakika beklendi. Orta abdominal insizyon yapıldı fakat karaciğere herhangi bir müdahale yapılmadı. Grup A’da amantadin 45 mg/kg i.p yolla verildi. İşlem yapılmadan 15 dakika beklenildi. Orta abdominal insizyon yapıldı fakat karaciğere herhangi bir müdahale yapılmadı. Grup İ/R’de ratlarda yeterli anestezi derinliği sonrasında 15 dakika beklenildi. Ratlara orta abdominal insizyon yapılarak sol portal triaddaki yapılara 45 dakika süreyle atravmatik vasküler klemp uygulandı. 45 dakikalık iskemi süresinden sonra atravmatik vasküler klemp uzaklaştırıldı ve 2 saatlik reperfüzyon uygulandı. Grup İ/R-A’da amantadin 45 mg/kg i.p yolla uygulandı. İşlem yapılmadan 15 dakika beklenildi. Orta abdominal insizyon yapıldı, sol portal triaddaki yapılara 45 dakika süreyle atravmatik vasküler klemp uygulandı. 45 dakikalık iskemi süresinden sonra atravmatik vasküler klemp uzaklaştırıldı ve 2 saatlik reperfüzyon uygulandı. Deneyin sonunda ratlar kurban edilerek akciğer ve karaciğer doku örnekleri alındı. Akciğer ve karaciğer dokularında, malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ve

katalaz (CAT) düzeyleri çalışıldı. Ayrıca akciğer ve karaciğer dokusu histopatolojik olarak incelendi.

Akciğer dokusu MDA düzeylerinin Grup A'da Grup S'ye göre artmış olduğu Grup İ/R ve Grup İ/R-A'da ise Grup S'ye göre azalmış olduğu saptandı. Grup İ/R-A'da ise en düşüktü. Karaciğer dokusu MDA düzeylerinin Grup İ/R-A'da Grup S, Grup A, Grup İ/R'ye göre artmış olduğu saptandı. Ayrıca Grup A ve Grup İ/R'de Grup S'ye göre azalmış olduğu gözlemlendi. Akciğer dokusu SOD düzeylerinin Grup İ/R'de Grup S'ye ve Grup A'ya göre artmış olduğu görüldü. Grup İ/R-A'da ise Grup S, Grup A, Grup İ/R'ye göre artmış olduğu saptandı. Karaciğer dokusu SOD düzeylerinin Grup İ/R'de Grup S'ye ve Grup A'ya göre artmış olduğu görüldü. Grup İ/R-A'da ise Grup S, Grup A, Grup İ/R'ye göre artmış olduğu saptandı. Akciğer dokusu CAT düzeylerinde Grup A ve Grup İ/R-A'da Grup S'ye göre artış varken Grup İ/R'de CAT düzeyi en düşüktü. Karaciğer dokusu CAT düzeylerinde gruplar arasında CAT medyanları bakımından benzer bulundu. Ancak enzim düzeyleri açısından hiçbir grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

Histopatolojik incelemede; akciğer dokusunda, Grup İ/R'de nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru Grup S'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,007$). Alveol duvar kalınlaşma skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,006$). Grup İ/R'de alveol duvar kalınlaşma skoru Grup S ve Grup A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,008, 0,028$; sırasıyla). Nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). Grup İ/R'de alveol duvar kalınlaşma skoru Grup S ve Grup A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,011, 0,040$; sırasıyla). Karaciğer dokusunda, hepatosit dejenerasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). Grup İ/R'de karaciğer hepatosit dejenerasyon skoru Grup S ve Grup A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,03, 0,044$; sırasıyla). Sinüzoidal dilatasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,020$). Grup İ/R'de sinüzoidal dilatasyon skoru Grup S'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,017$). Piknotik çekirdek skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,009$). Grup İ/R'de piknotik

çekirdek skoru Grup S'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,006$). Nekroza giden hücre skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,002$). Grup İ/R'de nekroza giden hücre skoru Grup S, Grup A ve Grup İ/R-A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.010, 0.010, 0.010$; sırasıyla). PMN hücre infiltrasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,050$). Grup İ/R'de PMN hücre infiltrasyon skoru Grup S'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,044$).

Bu çalışmada, denek sayısının azlığından dolayı akciğer ve karaciğer dokusu biyokimyasal değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamak da akciğer ve karaciğer dokusunun histopatolojik olarak İ/R hasarından etkilenmiş olduğunu ve bu hasarın amantadin kullanımıyla geri döndürülebildiğini gözlemledik. Amantadinle ilgili İ/R hasarına bağlı uzak organ hasarı çalışmalarının sayısı yetersiz olup bu konuyla ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: İskemi/reperfüzyon, amantadin, akciğer dokusu, karaciğer dokusu

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF AMANTADINE ON LUNG AND LIVER TISSUE AFTER HEPATIC ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RATS

Ischemia/reperfusion injury is one of the potential complications of liver surgery. It is very well known the fact that N-Methyl D-Aspartate (NMDA) antagonists protect against ischemia/reperfusion (I/R) injuries in the various tissues and the organs. In this study, we have aimed to examine the protective effects of amantadine, which is known as an NMDA antagonist, on lung and liver tissues following liver I/R injury in rats.

The total number of 24 Wistar rats weighting between 250-330 g randomly divided into 4 groups after getting acknowledgement of the ethical committee . The groups are named as following; the group of Sham (Group S, n=6), the group of Amantadine (Group A, n=6), the group of Ischemia/Reperfusion (Group I/R, n=6), and the group of Ischemia/Reperfusion Amantadine (Group I/R-A, n=6). The all types of rats identified above, which are weighted before putting the practice of anesthesia, got anesthetized by injecting intraperitoneal 100 mg/kg ketamine and 15 mg/kg xylazine and then the abdominal parts of their bodies are shaved before surgical incision. The 45 mg/kg of amantadine has been given with the way of intraperitoneal in the Group A. It has been waited 15 minutes without doing any operations to the rats located in the Group S. Median abdominal incision has been performed but no interventions has been made to the liver. It has again taken 15 minutes following reaching the sufficient surgical depth on the rats classified in the Group I/R. Having been implemented median abdominal incision to the rats, the patterns placed on the left portal triad have been exposed to the atraumatic vascular clamping during 45 minutes. Following the 45 minutes of ischemia duration, atraumatic vascular clamp is moved away and then, reperfusion taken 2 hours time has been performed .The 45 mg/kg of amantadin in the group I/R-A has been carried out with the way of the intraperitonel. It has been waited for 15 minutes before exercising any procedure. Median abdominal incision has been

performed and atraumatic vascular clamping has been done to the patterns on the left portal triad through out 45 minutes. After 45 minutes of ischemia duration, atraumatic vascular clamp moved away and 2 hours of reperfusion had performed. After the 45 minutes of ischemia duration, atraumatic vascular clamp is removed away, and then two hours reperfusion has been carried out. At the end of the experiment, the rats have been sacrificed and lung and liver tissue specimens have been taken so as to be analyzed. The levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in lung and liver tissues have been studied. In addition to that knowledge, lung and liver tissue have been investigated histopathologically. MDA levels in the lung tissues have been found to be increased in Group A compared to Group S, whereas Group I/R and Group I/R-A MDA levels decreased compared to Group S. The Group I/R-A has the lowest level. MDA levels in the liver tissues in Group I/R-A have been found to be increased according to Group S, Group A, Group I/R. It has also been observed that MDA levels have gone down in Group A and Group I/R as it is compared to Group S. SOD levels in the lung tissues have gone up in Group I/R than the Group S and Group A. Moreover, in Group I/R-A, it has been found to have increased when it has been checked against Group S, Group A, Group I/R. SOD levels in the liver tissues have increased in the Group I/R compared to Group S and Group A, while the levels of SOD in Group I/R-A have risen rather than Group S, Group A, Group I/R. The CAT levels in the Group I/R were the lowest when there was an increase in Group A and Group I/R-A compared to Group S at lung tissue CAT levels. Liver tissue at CAT levels was similar in terms of CAT medians among the groups, but there was no statistically significant difference among the groups in terms of enzyme levels ($p>0.05$).

Histopathological examination of the lung tissue has revealed the fact that the neutrophil/lymphocyte infiltration score in Group I/R was statistically and significantly higher than the Group S ($p=0.007$). There was a statistically significant difference in alveolar wall thickening score ($p=0.006$). The alveolar wall thickening score in Group I/R was statistically and crucially higher than the Group S and the Group A ($p=0.008$, 0.028 , respectively). There was a statistically substantial distinctness in neutrophil/lymphocyte infiltration score ($p=0.004$). The alveolar wall

thickening score in the Group I/R was statistically and outstandingly higher than the Group S and the Group A ($p=0.011$, 0.040 , respectively). There was a statistically prominent difference in hepatocyte degeneration score in the liver tissues ($p=0.004$). Liver hepatocyte degeneration score in Group I/R has been appeared statistically higher than the Group S and the Group A ($p=0.33$, 0.044 , respectively) in a certain extent. There was also a statistically and chiefly difference in sinusoidal dilatation score ($p=0.020$). The sinusoidal dilatation score in Group I/R was statistically significantly higher than Group S ($p=0.017$). There has been a statistically significant difference in terms of the pyknotic core score ($p=0.009$). In Group I/R, the pyknotic core score was found statistically significantly higher than Group S ($p=0.006$). There was a statistically significant difference in necrosis leading cell score ($p=0.002$). The cell score of necrosis in Group I/R was found statistically significantly higher than Group S, Group A and Group I/R-A ($p=0.010$, 0.010 , 0.010 , respectively). There was a statistically significant difference in PMN cell infiltration score ($p=0.050$). PMN cell infiltration score in Group I/R was found to be statistically and substantially higher than the Group S ($p = 0.044$).

In this study, we have not determined a statistically significant difference between the biochemical values of the lung and the liver tissues due to the insufficiency of the number of the subject we have analyzed so far now, and we observed that lung and liver tissue was histopathologically affected by I/R injury and that this damage could be reversed by amantadine usage. The number of studies on amantadine and I/R injury remote organ injury is quite insufficient and there is extremely need for more studies to be done.

Keywords: Ischemia/reperfusion, amantadine, lung tissue, liver tissue

1.GİRİŞ

Hepatik iskemi/reperfüzyon (İ/R); travma, transplantasyon, karaciğer cerrahisi, şok gibi durumlarda yaygın olarak görülen ve yüksek mortalite ile seyreden bir durumdur (Pantazi et al. 2016). Karaciğer rezeksiyonu ve karaciğer transplantasyon cerrahisinde İ/R hasarı morbidite ve mortalitenin ana nedenidir (Datta et al. 2013). Karaciğer İ/R hasarının mekanizmalarını anlamak ve bu duruma karşı stratejiler geliştirmek hepatik rezeksiyon ve transplantasyon cerrahisinde akut komplikasyonları azaltır. Karaciğer İ/R hasarının derecesine bağlı olarak serum karaciğer enzimlerinden en sık aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve serum glutamik-oksaloasetik transaminaz düzeyleri yükselir (Datta et al 2013). İlk karaciğer hasarı doğrudan hücrel yaralanmaya neden olan reaktif oksijen türleri (ROS) ile başlar ve aynı zamanda mikrovasküler etkilere yol açar. Artmış nekroz ile artan apoptoz akut inflamatuvar değişikliklere yol açar. İskemi sırasında hücre içi ve hücre dışı adenzintrifosfat (ATP)'nin tükenmesi sonrasında adenzin, hipoksantin ve ksantin içeren ATP bozunma ürünlerinde artış meydana gelir. Reperfüzyon sırasında oksidan yolların aktive olmasıyla birlikte reperfüzyon hasarını hafifletmeye çalışan başka yollar da aktive olur. Reperfüzyonda çok çeşitli serbest oksijen radikalleri (SOR) üretilir. En fazla görüleni süperoksit, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve peroksinitrit gibi reaktif azot türlerinin artışıdır (Datta et al. 2013).

İskemi/reperfüzyon hasarı kalp, beyin, karaciğer, böbrek ve bağırsak gibi doku ve organların O₂'ye bağımlı hücrelerini etkiler. Bu hücrelerin enerjisi mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ile sağlanabilir fakat tek başına anaerobik glikoliz ile sağlanamaz (Buja 2005, Jaeschke 2003, Mergenthaler et al. 2004). İ/R hasarı, özellikle majör organ transplantasyon cerrahisi sonrası organ işlev bozukluğu veya fonksiyon bozukluğunun başlıca sebebidir. İ/R hasarı, nakledilen organların uzun süreli sağkalımını da kısıtlamaktadır. İskemik fazda anoksik hücre yaralanması baskındır. Azalan mitokondriyal ATP üretimi, hidrolazların aktivasyonu ile hücrel iyon dengesi ve hücre membranlarının geçirgenliği bozulur. Etkilenmiş dokuda lökositler ve kompleman sistemi aktive olur. Reperfüzyon fazında meydana gelen hücre yaralanması ya iskemik evrede başlatılmış olan hücrel değişikliklerin bir sonucu ya

da inflamasyona bağlı olabilir. Buna ek olarak hücre içi sinyalleme kaskadlarının ve apoptotik yolların aktivasyonu gerçekleşir (Groot and Rauen 2007).

N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptör blokerlerinin çeşitli dokularda (beyin, böbrek, myokard, iskelet kasında) İ/R hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Himmelseher and Durieux 2005, Lee et al. 2004, Kato and Foex 2002). Amantadin bir NMDA reseptör antagonisti ajandır. Ancak karaciğer İ/R hasarında amantadinin akciğer ve karaciğer dokusunu nasıl etkilediğine dair herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda; amantadinin ratlarda oluşturulan hepatik İ/R hasarından sonra akciğer ve karaciğer dokusundaki etkisi biyokimyasal olarak dokuda Malodealdehit (MDA), superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) düzeyleri üzerinden değerlendirildi.

Histopatolojik hasarı belirlemek için dokular hematoksilen-eozin boyası ile boyanıp ışık mikroskopunda değerlendirildi. Akciğer histopatoloji değerlendirmesinde nötrofil/lenfosit infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlaşmasının derecelendirilmesi dört nokta skorum sistemi [Grade 0 (Hasar belirtisi yok), Grade 1 (hafif hasar), Grade 2 (orta hasar), Grade 3 (ciddi hasar)] kullanılarak yapıldı. Karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesi ise Abdal-Wahhab tarafından tanımlanmış olan "yarı nitel değerlendirme" yöntemi kullanılarak yapıldı (Abdel-Wahhab et al. 1999) . Doku hasarı; hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, piknotik çekirdek, nekroza giden hücre, parankimde polimorfonükleer (PMN) hücre infiltrasyon skoruması [negatif (-) puan hiçbir yapısal değerliklik olmaması; bir pozitif (+) puan, hafif derecede yapısal değerliklik olması; iki (++) pozitif puan, orta derecede yapısal değerliklik olması;  pozitif (+++) puan, ciddi derecede yapısal değerliklik olması] ile değerlendirildi.

Hastalarda istenildiğinde hepatik İ/R durumu oluşturulamadığından bu araştırma konusunun hayvanlarda araştırılması tercih edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İSKEMİ

İskemi, arteriyel veya venöz kan akımının azalmasına ya da tamamen kesilmesine bağlı olarak organların ve dokuların yetersiz perfüzyonu sonucu doku veya organların oksijenden yoksun kalmasıdır (Jennings and Reimer 1991). Azalan kan akımının veya hipoksinin doğrudan bir sonucu olarak mitokondriyal oksidasyon bozulur (Gonzalez-Flecha et al. 1993). Anoksik hasarda mitokondriyal enerji üretimi, oksidatif fosforilasyon ve dolayısıyla hücresel enerji içeriğinde bir azalma meydana gelir. Enerji eksikliği yüzünden doğrudan veya dolaylı olarak hücresel iyon dengesi bozulur, hidrolazlar aktive olur ve hücresel zarların geçirgenliği artar. Bu değişiklikler sıralı bir düzende oluşur. Hipoksik süreç ne kadar uzunsa bu değişiklikler o kadar fazladır. Glikolitik hızdaki ve ATP tüketimindeki artış zarar gören lizozomlardan hidrojen (H^+)'nin serbestleştirilmesi nedeniyle sitozolik pH doğrudan azalmaktadır. Buna ek olarak hücresel iyon dengesi bozulur. Bunun sonucunda sitozolik sodyum (Na^+) ve kalsiyum (Ca^{+2}) konsantrasyonlarında artış meydana gelir ve sodyum-potasyum ATPaz (Na - K ATPaz) pompası inhibe olur. Sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış fosfolipazlar (özellikle fosfolipaz A2) ve proteazlar gibi hidrolazları aktive eder. Hidrolazlar hasarlanma sürecini daha da artırır. Artan hücre içi Na^+ , ozmotik basınç artışına neden olur ve plazma membranının bozulmasına katkı sağlar. Mitokondriyal zar potansiyelinin kaybı ve matraste Ca^{+2} birikimi ile mitokondriyal geçirgenlik artışı oluşur. Geçiş sırasında sitozolik ATP, mitokondriyal ATPaz tarafından (ters modda çalışan ATP sentaz) kullanılır ve bu da hücresel ATP kalıntılarının daha da bozunmasına neden olur. Bu hasarlanma sürecine ek olarak sentez ve onarım da azalır. Anoksik yaralanma sonucunda tipik olarak hücre ölümünün nekrotik (nonapoptotik) biçimini temsil eden hücre ölümü gerçekleşir (Groot and Rauen 2007).

İskemik dokuya, hem hücrelerin kendini yenilemesi hem de biriken toksik maddelerin ortamdaki uzaklaştırılması için yeniden kan akımı gerekir. Fakat, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda yalnızca iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara neden olur (Zimmerman and Granger 1992). Reperfüzyon döneminde görülen hasarda,

hücre içine moleküler oksijen girişi ile oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali en iyi bilinen SOR türleridir. Bu türlerin oluşumunda difosfonükleotid (NADPH) sistemi ve KO sistemi önemli rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en hassas yapılar; zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asitlerdir (Wilhelm 1990).

Reperfüzyon ile dokularda iskemik durumdan çok daha ağır bir hasar oluşmaktadır. Hasarı tetikleyen en önemli faktörün endotel hücrelerindeki zedelenme olduğu düşünülmektedir (Semenza 2000, Girotti 1998). İskemi sonrasında, iskemik dokudaki serbest radikallerin en önemli kaynağı KO enzimidir. Bu enzim “dehidrogenaz” ve “oksidaz” aktivitesine sahip iki şekilde bulunur. Çalışmalarda iskemi sırasında, KDH enziminin Ca^{+2} aracılı bir proteaz katalizörlüğünde KO'ya dönüşümü; intestinal dokuda 10 saniye, kalp kasında 8 dk, karaciğer, dalak, böbrek ve akciğerde 30 dk sürmektedir. Bu da değişik dokuların İ/R hasarına neden farklı oranlarda yanıt verdiği konusunda tanımlayıcı olmaktadır. Ayrıca hipoksantin ve ksantin oksidasyonu da serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır (Grace 1994, Terzi ve ark. 2000, Ertan ve ark. 2001).

2.2 REPERFÜZYON

İskemik dokudaki hücrelerin kendini yenilemesi ve toksik maddelerin ortamdaki uzaklaştırılması için yeniden kan akımı gereklidir. Bu döneme reperfüzyon dönemi adı verilmektedir. Hem sıcak hem de soğuk iskemiyi takiben reperfüzyonla birlikte inflamatuvar yanıt başlar. Bu inflamatuvar sürece makrofajlar, endotel hücreleri, nötrofiller, lenfositler, trombositler, parankimal hücreler ve ayrıca hücre dışı kompleman sistemi, kan pıhtılaşma kaskadı, ROS'lar, nitrik oksit (NO), proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler, elementler, mediatörler dahil olur ve mikrovasküler perfüzyon bozulur (Buja 2010, Jaeschke 2003). İnflamatuvar süreç, hasar görmüş hücrelerin bileşenleri veya parçalanmış doku matrisi tarafından tetiklenebilir. ROS'lar; aktive edilmiş makrofajlar, nötrofiller, endotel hücreleri ve trombositler tarafından salgılanabilir ve ayrıca hasarlanmış ve ölü hücreler tarafından

da salınırlar. Azalmış veya artmış NO, endotelin-1 oluşumu ve kan koagülasyonu mikrovasküler perfüzyon bozukluklarına neden olabilir. İnflamatuar yanıt sırasında serbest bırakılan bileşiklerin birçoğu ROS'lar, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve yüksek konsantrasyonda NO hücre toksisitesi oluşturabilir ve böylece hücredeki hasarın artışına neden olur. Çeşitli sinyal yollarının aktivasyonun [örn; c-Jun N-terminal kinaz veya nükleer faktör-kB (NF-kB), mitojen-aktive protein kinaz ailesinin üyelerinin aktivasyonu ve mitokondriyal apoptotik yollar (kaspazlar ve Bcl-2 ailesi üyeleri)] reperfüzyon fazında hücre hasarlanmasına karıştığı bilinmektedir (Groot and Rauen 2007).

2.3. KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI

Hepatik İ/R travma, transplantasyon, karaciğer cerrahisi, şok gibi durumlarda yaygın olarak görülen ve yüksek mortalite ile seyreden bir durumdur (Pantazi et al. 2016). Karaciğer rezeksiyonu ve karaciğer transplantasyon cerrahisinde İ/R hasarı morbidite ve mortalitenin ana nedenidir (Datta et al. 2013). İskemi süresi ameliyat sırasında karaciğerin oksijensiz kalabilme süresi ile sınırlıdır. Uzun süreli karaciğer iskemisi sonucunda oksidatif stres ve reperfüzyon hasarının inflamatuvar komponentleri meydana gelir. Bu komponentler hepatosellüler hasara neden olur. Yakın ve uzak organ disfonksiyonu, transplantasyon cerrahisi sonrası greftin fonksiyon azlığı ve ölümüne de neden olabilir. Karaciğerin metabolik fonksiyonları düşünülecek olursa yaralanmanın klinik etkileri, morbidite ve mortalitesi tahmin edilebilir. Bu nedenle hepatik İ/R hasarının hücresel ve moleküler yolları daha iyi anlaşılmalı çalışılmış ve çalışmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. Bu konuda yapılan bütün çalışmalar mekanizmayı anlamaya ve hasarı azaltabilmek veya önlemek için bir çözüm bulmaya yöneliktir. İ/R hasarına tolerans derecesi karaciğer parankiminin önceki durumu ile de yakından ilişkilidir. Kronik hastalığı mevcut olan karaciğer, normal karaciğeri olanlara göre İ/R hasarına daha duyarlıdır. Yaşlı karaciğerler genç olanlara göre daha çok etkilenirler (Jang et al. 2008, Yokoyama et al. 2007).

Deneysel kanıtlar karaciğer reperfüzyon hasarının iki farklı fazının olduğunu göstermektedir. Erken evre reperfüzyondan sonraki ilk 2 saati kapsar. Bu evrede ana

olay kuppfer hücrelerinin aktivasyonudur (Jaeschke and Farhood 1991). Komplement aktivasyonu ve CD₄-T lenfositlerinin aktivasyonu kuppfer hücrelerinin aktivasyonunu sağlayan faktörlerdir (Fondevila et al. 2003). Kuppfer hücre aktivasyonu; yapısal değişiklikler, vasküler ROS oluşumu, TNF- α ve interlökin (IL)-1 gibi sitokinlerin üretilmesine yol açar (Lentsch et al. 2000, Liu et al. 2001). Bu ROS ve sitokinler, endotel hücreleri üzerinde doğrudan sitotoksik etkiye sahiptir ve hepatositlerde hücre membranı reseptörlerinde değişikliklere ve sitokinlerin salınmasına neden olabilir. İ/R hasarında TNF- α , karaciğer yanıtında merkezi mediatörlerdendir. TNF- α üretimi, vasküler endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükler ve kemokinlerin üretimini ve salınımını uyarır ve nötrofiller aktive edilir. Aktive nötrofiller, ROS ve proteazlar reperfüzyon hasarının geç evresi boyunca indüklenen oksidatif stresten sorumludur (Jaeschke H. 2000, Matsuda et al. 1998). Son yıllardaki kanıtlar kısa ve uzun süreli karaciğer İ/R hasarında T lenfositlerinin de önemli mediyatörler olabileceğini düşündürmektedir. Sistemik immün baskılamamanın İ/R'ye bağlı hepatoselüler hasarı azalttığına dair kanıtlar vardır (Matsuda et al. 1998, Suzuki et al. 1993). CD₄-T lenfositler reperfüzyonun erken evresinde karaciğer sinüzoidlerine TNF- α ve IL-1 aracılığı ile yapışır (Clavien et al. 1993). Bu T-lenfositleri, kupffer hücre aktivasyonunu artırabilir ve granülosit koloni uyarıcı faktör ve interferon- γ gibi maddelerin salınması yoluyla PMN hücre alımında hücrel araçlar olarak görev yapabilir (Zwacka et al.1997).

2.4. KARACİĞER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ AKCİĞER DOKUSUNA ETKİSİ

Karaciğer İ/R hasarı sonrasında pulmoner komplikasyonların morbidite ve mortaliteye etkisi 20 yıldan fazla süredir araştırılmıştır. Akciğer hasarının, transplantasyon sırasında donör karaciğerinin reperfüzyonu sonrasında olduğu anlaşılmıştır. Savunulan mekanizmalardan biri, TNF- α 'nın reperfüzyona uğrayan kupffer hücrelerinden salınmasıdır. Bu hücreler pulmoner kılcal damarlar aracılığı ile etkileşime girer ve ICAM-1 ve E-selektin gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonu, nötrofillerin migrasyonuna ve daha sonra akciğer hasarına yol açar (Colletti et al. 1995, Colletti et al. 1998, Arkadopoulos et al. 2010). Perfüzyona uğramış karaciğer tarafından sitokin üretimi, akciğerde lokal olarak sitokinlerin sürekli bir şekilde

ürettilmesini provoke eder (Arkadopoulos et al. 2010). Bir diğer önemli mekanizma ise; endotoksinin sistemik dolaşıma translokasyonudur. Karaciğer rezeksiyonu portosistemik bir şant oluşturularak vasküler kontrol altında yapıldıktan sonra bakteri translokasyonu belirgindir (Lemaire et al. 1999). Karaciğer İ/R'de oksidatif stres sürekli olarak akciğer hasarının gelişimde önemli rol oynamaktadır. Akciğer de antioksidan enzimleri upregüle ederek oksidatif strese karşı direnç sağlar. Bununla birlikte eksojen antioksidanlar da önemli fayda sağlar (Kalimeris et al. 2010).

2.5. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

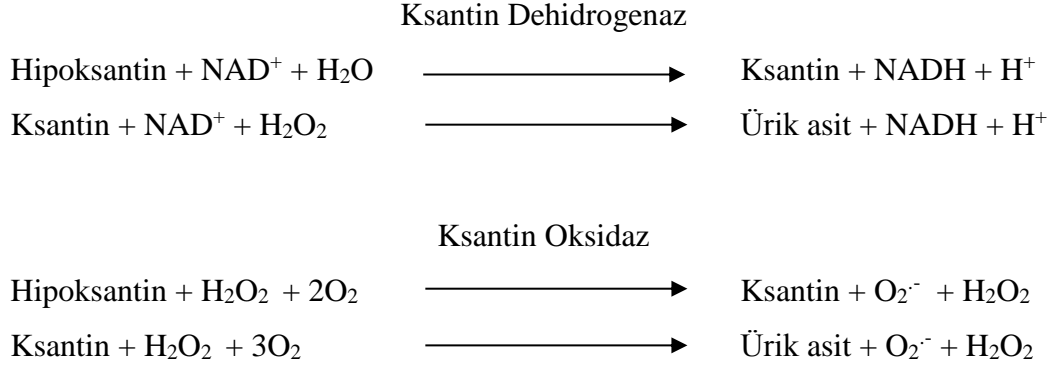
2.5.1. Hücresel Etkiler

Uzamış iskemi çeşitli hücresel metabolik değişikliklerle sonuçlanır. İskeminin indüklediği oksidatif fosforilasyonundaki azalmalar ATP de dahil olmak üzere enerji açısından zengin fosfatların yeniden sentezlenmesinde başarısızlıkla sonuçlanır. Na-K ATPaz işlevi bozulur ve böylece Ca^{+2} , Na^{+} ve su (H_2O) hücre içine girer. Ayrıca adenin nükleotid katabolizması hipoksantin birikimi ile sonuçlanır ve sonrasında O_2 'nin tekrar girmesiyle ROS'a dönüşür. Reperfüzyonda daha fazla hasarlanmaya yol açan doku savunmasızlığını arttıran proinflamatuvar süreç başlar (Carden and Granger 2000, Maxwell and Lip 1997).

2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Rolü

İskemik dokuların reperfüzyonu sonrasında oluşan ROS'lar süperoksit anyonlar (O_2^-) hidroksil kökleri (OH^-), hipoklorik asit ($HOCl$), H_2O_2 ve NO 'dan türetilen peroksinitrittir. İskemi sırasında hücresel ATP hipoksantin oluşturmak üzere bozunur. Normalde hipoksantin, ksantin dehidrojenaz ile oksitlenir. Ancak iskemi sırasında ksantin dehidrojenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. Nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD^+) kullanan ksantin dehidrojenazdan farklı olarak ksantin oksidaz O_2 kullanır ve bu nedenle iskemi sırasında hipoksantin ksantine dönüşümünü katalize edemez ve böylece dokudan hipoksantin artar. O_2 yeniden verildiğinde reperfüzyon sırasında

ksantin oksidaz ile hipoksantin reaksiyonu toksik ROS oluşumuyla sonuçlanır (Collard and Gelman 2001).



Reaktif oksijen türleri lipid peroksidasyonu ile hücrel membranlara doğrudan zarar veren güçlü oksitleyici ve indirgeyici ajanlardır. Ayrıca ROS'lar plazma zarındaki fosfolipaz A2'yi aktive ederek eikozanoid sentezi için önemli bir öncü olan araşidonik asidi oluşturarak lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini uyarırlar (Tromboksan A2 ve lökotrien B4). ROS ayrıca lökosit adhezyon molekülünü ve sitokin geninin ekspresyonunu indükler (Toyokuni 1999).

2.5.3. Kompleman Rolü

İskemi/reperfüzyon; kompleman aktivasyonuna ve vasküler homeostazı değiştiren birçok proinflamatuvar mediatörün oluşumuna neden olur. Bunlardan anafilatoksinler, C3a ve C5a ve tamamlayıcı bileşenler, iC3b ve C5b-9 özellikle önemlidir. Bu proinflamatuvar mediatörlerin en güçlüsü C3a'dan yaklaşık 20 kat daha güçlü olan C5a'dır. C5a lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini uyarmanın yanısıra sitokinler, monosit kemoatraktan protein 1, TNF- α , IL-1 ve IL-6'nın üretimini indükleyerek inflamatuvar cevabı artırabilir (Collard et al. 1999). C5b-9 ve iC3b ayrıca vasküler homeostazı bozabilir. C5b-9 lökosit adhezyon molekülü transkripsiyonunu ve ekspresyonunu arttırmak için endotel NF- κ B'yi aktive edebilir. Kompleman tarafından etkilenen endotelial lökosit adhezyon molekülleri arasında vasküler hücre adezyon molekülü-1, hücre içi adezyon molekülü 1 (ICAM-1), E-selektin ve P-selektin bulunur (Collard et al. 1999). C5b-9 aynı zamanda lökosit aktivasyonunu ve kemotaksiyi,

endotel IL-8 ve monosit kemoatraktan protein 1 salınımını uyarır. Böylece kompleman, vasküler homeostazı değiştirerek ve lökosit-endotelial yapışmasını arttırarak iskemik organa kan akışını tehlikeye atabilir (Collard and Gelman 2001).

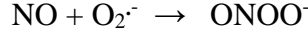
2.5.4. Lökositlerin Rolü

İskemi/reperfüzyon; lökosit aktivasyonu, kemotaksis, lökosit endotel hücresi yapışması ve göç ile sonuçlanır (Carden and Granger 2000, Panes et al. 1999). Lökositin vasküler sistemle etkileşimi lökositin endotel üzerinde yuvarlanması aracılığıyla bir dizi önemli aşamada gerçekleşir. İlk adım olarak I/R ile artırılan endotel P selektin yüzey ekspresyonu lökosit karşıt reseptörü ile etkileşir. Bu başlangıçtaki düşük afiniteli etkileşim, aralıklı lökosit-endotel bağlanması, "yuvarlanma" olarak ifade edilir. Sonraki adımda, lökosit B2 integrinlerinin yapısal olarak sentezlenen endotelial hücrelerarası adezyon molekülü 1 ile etkileşimi sıkı lökosit yapışmasına ve yanıl hareketin durmasına yol açar. İnterstisyel bölmeye lökosit göçü endotel hücre birleşimleri boyunca yapısal olarak eksprese edilen trombosit endotel hücre adezyon molekülü 1 tarafından kolaylaştırılır. Aktif lökositler extravasküler bölüme eriştiğinde ROS, proteazlar ve elastazları serbest bırakır ve bu artmış mikrovasküler permeabilite, ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümü ile sonuçlanır (Carden and Granger 2000, Panes et al. 1999).

2.6. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Radikal, eşleştirilmemiş elektronları içeren herhangi bir atom ya da biyomolekül olarak tanımlanır (Halliwell and Gutteridge 1999). Eşleşmeyen bu elektronlar kimyasal reaktiviteyi etkiler ve radikali karşılık gelen non-radikalden daha reaktif hale getirir. O₂ yaşamı sürdürmek için en önemli biyolojik molekül olmasına rağmen yüksek kullanılabilirliği nedeniyle SOR oluşumunun ana kaynağıdır. Biyolojik açıdan önemli radikaller; O₂⁻, OH⁻ ve NO'dur. Normal koşullarda, mitokondride metabolize olan O₂'nin yaklaşık % 1-3'ü SOR'a dönüşür (Nohl et al. 2003). Bazı türler, O₂ veya NO metabolizması için bulunurlar fakat eşleşmeyen elektronları içermediğinden dolayı radikal değildirler. Bu ara türler radikal türlerle birlikte sırasıyla ROS ve reaktif

nitrojen ürünleri (RNS) olarak adlandırılır. Non-radikal ROS'un en önemli örnekleri H₂O₂ ve hipoklorik asittir. Non-radikal RNS'nin en önemli örneği ise peroksinitrit (ONOO⁻)'tir (Ischiropoulos et al. 1992). Peroksinitrit, süperoksit anyon ile NO üretimi eşzamanlı oluştuğunda oluşur.



Süperoksit oluşumundan kaynaklanan doku toksisitesi, çeşitli biyolojik molekül tipleri (lipidler, DNA, RNA, katekolaminler ve steroidler) ile doğrudan reaksiyona girmesine ve ters reaksiyon ile H₂O₂'ye dönüşmesine dayanır (Cuzzocrea et al. 2001). Az miktarda metal iyonu (demir (Fe) veya bakır), toksik radikal OH⁻'yi üretmek için Fenton reaksiyonu olarak bilinen şekilde H₂O₂ ile tepkimeye girer (Sutton and Winterbourn 1989). Bu radikal, proteinlerdeki ve karbohidratlardaki kovalent bağları parçalayabilir ve hücre zarlarını yok edebilir.

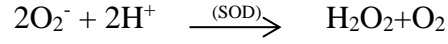
İskemi/reperfüzyondan kaynaklanan karaciğer hasarında, azda olsa ROS ve RNS'nin rolü vardır. Hepatik İ/R sırasında ROS, RNS üretimi ve salınımı ile eşzamanlı olarak endojen antioksidan tüketimi ve apoptotik veya nekrotik hücre ölümünün olduğunun kanıtları vardır (Bilzer et al. 1999, Rudiger and Clavien 2002). Karaciğer İ/R'de ROS oluşumunun kesin kaynakları halen araştırılmakta olsa da, NAD⁺ oksidaz, ksantin/ksantinoksidoredüktaz (XOR) sistemi ve mitokondrinin önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (Fan et al. 1999). XOR karaciğerde postiskemik oksidan stresin başlıca kaynağı olarak kabul edilmesine rağmen son çalışmalar XOR'nin mitokondriye kıyasla daha az rol oynadığını göstermektedir (Jaeschke 2002). Mitokondri, oksidatif stres koşulları altında süperoksit üretiminin önemli kısmının yapıldığı yerdir. Bu oksidatif stres membran geçirgenliğinin bozulmasına ve hücre ölümüne neden olabilecek mitokondriyal membran potansiyelinin kaybına yol açar (Nieminen et al. 1997). ROS ve RNS karaciğer İ/R hasarından sonra vücudun inflamatuvar cevabını koordine eden sinyal iletim yollarında önemli bir role sahip olabilir (Harada et al. 2003).

2.7. ANTIOKSİDAN SİSTEM VE ENZİMLER

Vücut kendini serbest radikallerin hasarından korumak için büyük antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bir antioksidan, düşük konsantrasyonlarda mevcutken; okside olabilen bir substratla karşılaştırıldığında, substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirir veya önler (Gutteridge et al. 1995). Endojen antioksidanlar esas olarak küçük molekül ağırlıklı, oksidatif hasarın başlamasını önleyen veya yayılımını sınırlayabilen, ROS ve RNS'yi detoksifiye eden maddelerdir. Normal şartlarda redoks dengesi sıkı kontrol altındadır. Bununla birlikte ROS ve RNS endojen antioksidan sistemlerin karşılayamayacağı düzeyde üretildiğinde oksidatif stres olarak adlandırılan durum oluşur (Sies 1991). Bu durum lipidlerin, proteinlerin, karbonhidratların ve nükleik asitlerin hasar görmesine neden olabilir. Hepatositler yüksek hücre içi glutatyon konsantrasyonlarını içerdikleri için ROS ve RNS hasarına karşı dirençlidirler ve hücre içi yüksek konsantrasyonda glutatyon (GSH), SOD, CAT ve lipid çözümlü antioksidanlar içerirler (Glatzounis et al. 2005). Bu antioksidan sistem yaşayan türlerin O₂'nin zararlı etkilerine maruz kalmaksızın O₂'yi enerji için kullanabilmesine izin verir. Antioksidan savunma sistemi dokudan dokuya ve hücreden hücreye farklılık gösterir. Ayrıca farklı organlarda farklı konsantrasyonlarda antioksidanlar bulunur ve bu yüzden İ/R'ye organ dayanıklılığında değişkenlik mevcuttur (Marczin et al. 2003, Vertuani et al. 2004).

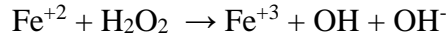
Antioksidanlar heterojen bir molekül ailesidir. Kökeni (doğal ya da sentetik), doğası (enzimatik ya da nonenzimatik), özellikleri (hidrofilik ya da lipofilik), mekanizması (ROS'un katalitik olarak ortadan kaldırılması, metal şelasyon) ve etki alanı (hücre içi, hücre zarı ve hücre dışı) dikkate alınarak geçmişte çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır (Glatzounis et al. 2005).

Hücre içi antioksidanları SOD, CAT, glutatyon peroksidaz ve redüktaz enzimlerini içerirken; tripeptit glutatyon, polipeptid tioredoksin, enzim hem oksijenaz (HO) ve peroksidazlar peroksiredoksin ailesindedir (Glatzounis et al. 2005). SOD süperoksitin hidrojen peroksit (H₂O₂) ve O₂'ye bozunmasını katalize eder.

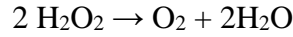


Süperoksit dismutaz farklı subseleler lokalizasyonlar ile ayrılır ve üç tip SOD bulunmaktadır. Bakır ve çinko içeren maddeler sitozolde, manganez mitokondride ve hücre dışı form genellikle matris bileşenleri ile etkileşen plazma membranının dış yüzeyinde bulunur.

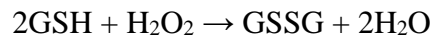
Hidrojen peroksit ürünü zayıf bir oksidandır ve kısmen kararlıdır. Bununla birlikte süperoksitin aksine H_2O_2 hücre membranlarında hızla dağılıbilir ve Fenton denklemi yoluyla Fe^{+2} mevcudiyetinde toksik hidroksil iyonuna dönüştürülebilir.



Üç ana sistem H_2O_2 'yi parçalayabilir. Bunlardan biri de hemoprotein CAT'dır. CAT tüm ana vücut organlarında, özellikle de karaciğerde konsantre halde bulunur. H_2O_2 'nin O_2 'ye ve H_2O 'ya parçalanmasını katalize eder.



İkinci sistem glutatyon peroksidazlardan oluşur. Bu grup hücre, gastrointestinal, hücre dışı ve fosfolipidler olarak 4 farklı izoform içerir (Dufaure et al. 1996). SOD tarafından üretilen H_2O_2 'nin GSH'm oksitlenmiş formuna yani glutatyon disülfid (GSSG)'e oksidasyonu ile uzaklaştırılmasında önemli bir role sahiptirler.



Glutatyon redüktaz da bu sistemde önemli bir enzimdir. NAD^+ fosfatı kullanarak GSSG'den GSH'ın yenilenmesi yoluyla etkisini gösterir (Meister 1988).

Glutatyon neredeyse tüm hücrelerde milimolar konsantrasyonlarda bulunan bir tripeptittir. Endojen antioksidan sistemin önemli bir bileşenidir. GSH'nin asıl görevi, hücre içi oluşturulan peroksitleri azaltmak için glutatyon peroksidaza substrat

olmaktır. GSH doğrudan ROS ve RNS'yi temizler. GSH, protein sülfhidril gruplarının oksidasyonunun önlenmesi ve bakır iyonlarının şelasyonunu önleme dahil olmak üzere birçok diğer metabolik süreçte rol oynar. GSH hücre dışı sıvılarda çok düşük konsantrasyonlarda bulunur (Hanna and Mason 1992, Halliwell and Gutteridge 1999).

Üçüncü sistem indirgeyici eşdeğerleri kullanarak sırasıyla H_2O_2 ve alkil hidroperoksitleri H_2O 'ya ve alkole indirgeyen peroksiredoksin ailesinin peroksidazlarından oluşur. Bu eşdeğerler tioredoksin gibi tiol içeren moleküllerden türemiştir. Bunlar sitoplazmada (peroksiredoksin I ve II) ve mitokondride (peroksiredoksin III) bulunurlar (Kang et al. 1998, Seo et al. 2000).

Tioredoksin özellikle endoplazmik retikulum (ER)'de (tioredoksin 1) yoğunlaşmış bir polipeptiddir ancak mitokondride de (tioredoksin 2) bulunur. Tioredoksin oksitlenmiş formdaki tioredoksin içinde disülfid haline dönüştürülen indirgenmiş biçimde 2 bitişik sülfhidril grubunu içerir. Buna ek olarak birden fazla protein ile redoks reaksiyonlarına girebilir (Vertuani et al. 2004, Hirota et al. 2002).

Hem oksijenaz; hem'in biliverdine parçalanmasını katalize eden, Fe iyonları ve karbon monoksit ayıran ER'de bulunan bir enzimdir. HO'nun üç izoformu tanımlanmıştır. İnflamasyon ve oksidatif stres koşullarında yüksek seviyede indüklenebilir olan HO^{-1} , oksidatif stres ve inflamasyon durumunda artabilen HO^{-2} ve HO^{-3} 'tür (Guo et al. 2001). HO^{-1} indüksiyonu ile, hücre içi serbest hem düzeylerini kontrol ederek, biliverdin üreterek ve karbon monoksit salınımı ile mikrosirkülasyonu iyileştirerek hücreyi oksidatif strese karşı koruduğu gösterilmiştir (Bauer and Bauer 2002).

Başlıca hücre dışı antioksidan savunmalar metal bağlayıcı proteinleri içerir (Betteridge 2000). Serbest metaller Fe ve bakır serbest radikal hasarını artırır, lipid peroksidasyonunu hızlandırır ve OH radikal oluşumunu katalize edebilir. Metal bağlayıcı proteinler, bu metallerin non-reaktif durumda kalmasını sağlayarak vücudu olumsuz etkilere karşı korumaktadır (Halliwell and Gutteridge 1990). Seruloplazmin ve albumin bakır bağlarken transferrin ve laktoferrin Fe bağlar. Hemoglobin ve miyoglobin normalde hücre içi proteinlerdir. Bu proteinler H_2O_2 gibi büyük miktarda oksidatif strese maruz kaldıklarında hem ve Fe iyonlarını salgırlar ve lipit

peroksidasyonunu tetikleyebilirler. Hemopeksin gibi haptoglobinler ve hem bağlayıcı proteinler olarak bilinen hemoglobin bağlayıcı proteinler, lipit peroksidasyonunu uyaran bu maddelerin etkinliğini azaltır (Gutteridge and Iron 1989).

Metal bağlayıcı proteinlerin önemli koruyucu rolüne ek olarak *in vivo* sentezlenen çeşitli düşük molekül ağırlıklı moleküller de antioksidan özelliklere sahiptir (Ames et al. 1981, Layton et al 1996). Bu maddelerin en önemlileri bilirubin, melatonin, lipoik asit, koenzim Q, ürik asit ve melaminlerdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ürik asitin endojen antioksidan sistemde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Glantzounis et al. 2005, Reyes and Leary 2003).

Çok sayıda diyet bileşeni *in vivo* antioksidan etkiler gösterir. En önemlileri insan antioksidan sisteminin önemli bileşenleri olan hidrofilik askorbik asit (C vitamini) ve lipofilik β -tokoferol (E vitamininin en aktif formu)'dür. Askorbat birçok enzim için bir ko-faktör olarak *in vivo* olarak gereklidir. Bu enzimlerin en bilinenleri kollajenin biyosentezinde rol oynayan prolin hidroksilaz ve lizin hidroksilazdır. Temel kimyasal özelliği indirgeyici bir madde gibi davranabilmesidir. Peroksil, O_2 , OH, thyl, oksisülfür kökleri ve peroksinitrit gibi çoğu radikali temizleyebilir (Halliwell and Gutteridge 1990, Birlouez-Aragon and Tessier 2003). Lipofilik β -tokoferol hücre membranlarının lipid çekirdeğine dahil edildiğinde oldukça etkili bir antioksidandır. Reaksiyon basamaklarının arasında oluşan peroksil radikallerini temizleyebilir ve bu nedenle lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kesintiye uğratabilir (Traber 1994).

Karotenoidler bitki dokularında yayılmış bulunan bir grup renkli pigmenttir. Bunlar A vitamini öncülüdür ve insanlardaki A vitamininin ana kaynağıdır. Antioksidan etkisini serbest radikal temizleyicisi olarak gösterir (Liebler and McClure 1996).

Bitki fenollerleri bir diğer antioksidan gruptur. Bunlar tokoferoller, tokotriyenler, flavonoidler, antosiyanidinler ve fenilpropanoidler'dir. Peroksil-radikal temizleyici zincir bozucu olarak hareket ederek peroksidasyonu engellerler. Buna ek olarak ROS ve RNS'yi tıpkı OH⁻, ONOO⁻, hipoklorik asit ve metal şelatör gibi temizlerler (Rice-Evans et al. 1997, Shahidi and Wanasundara 1992).

2.8. N-METİL D-ASPARTAT ANTAGONİZMASI VE İ/R HASARI

N-Metil D-Aspartat reseptör ailesi, iyonotropik voltaj ve ligand kapısına bağlı heterojen bir reseptör grubudur. NMDA reseptöründeki iyon kanalları, Ca^{+2} 'nin hücrenin içine alınmasına izin vererek hücre ölümüne neden olur. Artmış intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonu ayrıca serbest radikaller ve oksidanlarda artışa neden olur. NMDA reseptör antagonistlerinin İ/R yolu üzerindeki koruyucu etkileri bildirilmiştir (Back et al. 2007). NMDA blokerleri çeşitli dokularda (beyin, böbrek, myokard, iskelet kasında) İ/R hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Himmelseher and Durieux 2005, Lee et al. 2004, Kato and Foex 2002).

Memantin, aminoadantamin türevi, düşük affiniteli ve yarışmasız NMDA açık kanal blokeridir. Memantin sinir sistemini İ/R hasarına karşı korunduğu uzun süredir bilinmektedir (Bakiri et al. 2008). Memantin sıklıkla alzheimer vakaların tedavisinde NMDA reseptör antagonisti olarak kullanılır. Yüksek glutamat düzeylerinin neden olduğu hücre içi Ca^{+2} birikiminin azaltılması yoluyla koruyucu etkisini gösterir (Sonkusare et al. 2005).

Ketamin, NMDA reseptörünü non-kompetitif şekilde bloke eden yaklaşık 50 yıldır kullanılan i.v bir anestezi ilaçtır (Sinner and Graf, 2008, Domino et al. 1965). Volatil anesteziyelere kıyasla belirgin biçimde farklı bir anestezi şekli ile sonuçlanan bir dizi anestetik etki üretir. "Disosiyatif anestezi" olarak adlandırılan bu durum iyi tanımlanmıştır. Düşük konsantrasyonlarda psikotomimetik etkileri içeren hipnoz, daha yüksek dozlarda sedasyon ve bilinç kaybı, yoğun analjezi (veya anti-nosisepsiyon, artmış sempatik aktivite, azalmış solunum yolu tonusu ve solunumun baskılanmaması gözlenir. 1980'lerin ortalarından ise ketaminin NMDA reseptör blokajına neden olduğu bulunmuştur (MacDonald et al. 1987). Bununla birlikte yapılan yeni çalışmalar ketaminin geniş bir yelpazede farklı moleküler etkiler sergilediğini ve klinik yararlılığının akut ve kronik ağrı da dahil olmak üzere geniş bir yelpazede kullanıldığını göstermiştir (Hirota 2006, Duman et al 2012). Ketaminin aynı zamanda İ/R hasarında koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (Guzman-De et al. 2010, Camara-Lemarroy et al. 2009).

2.9. AMANTADİN

Amantadine Immediate Release (IR) 1966 yılında Asya İnfluenzasına karşı koruyucu bir ajan olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanıp kullanılmaya başlayan bir ilaçtır (Hubsher et al. 2012). 1969'da Schwab ve arkadaşları amantadin hidroklorürün motor semptomlar üzerindeki olumlu etkisini keşfetti ancak antidiskinetik etkisini keşfetmek 30 yıldan fazla zaman aldı. Daha sonra yapılan çalışmalar amantadin IR'nin antidiskinetik etkisini göstermiştir. Bununla birlikte bu etki kontrollü, randomize, uzun süreli klinik çalışmalarda geniş bir şekilde incelenmemiştir (Schwab et al. 1969, Ory-Magne et al. 2014). Levodopa kaynaklı diskinezi (LID) tedavisinde amantadin kullanımı ile ilgili farklı kılavuz önerileri bulunmaktadır (Pahwa et al. 2006, Fox et al. 2011). Amerikan nöroloji akademisi yönergeleri amantadinin LID tedavisinde "muhtemelen etkili" olduğu sonucuna varmış fakat buna karşın Hareket Bozuklukları Derneği'ne ait çalışma amantadin IR'nin diskinezi tedavisinde "etkili" olduğunu bildirmiş (Pahwa et al 2006, Fox et al 2011). LID'nin azaltılmasında amantadinin etki mekanizması bilinmemektedir.

Amantadinin güvenli doz aralığı belirlenmiştir (Symmetrel and Ford 2009). Her ne kadar çoğu parkinson hastası günde 200 mg amantadin IR'yi (amantadin HCl, 162 mg amantadine eşdeğer) tolere edebilsede, yüksek dozlarda 300 mg/gün (243 mg amantadine eşdeğer) veya daha yüksek dozlarda, özellikle merkezi sinir sistemi olaylarında (uyku bozuklukları dahil) yan etkilerin artmış olması amantadin IR'nin rutin kullanımını sınırlar (Symmetrel and Ford 2009).

Amantadin, glutamaterjik reseptör türü olan NMDA reseptörünün (Ki 5 10 1M) non-kompetitif antagonistidir (Farnebo et al. 1971, Danysz et al. 1997). Amantadinin ayrıca antikolinergik (ağız kuruluğu, üriner retansiyon, kabızlık vb.) etkileri de vardır (Metman et al. 1999). Etki mekanizması hala tam olarak anlaşılmamasına rağmen amantadin dopamin salınımını artırıp pre-sinaptik nöronlardan geri alınımını geciktirir, aynı zamanda post-sinaptik reseptörlerin konformasyonunu artırır ve çeşitlendirir (Karl et al. 1999). Eksitator bir nörotransmitter olan glutamatın serbest bırakılmasından kaynaklanan sekonder hasara karşı koruma sağlayabilir (Kraus and

Maki 1999). Travmatik beyin hasarında bilinç durumunun iyileştirilmesi ve ajitasyonu azaltılmak için etkisi sınırlıdır.

Literatürde karaciğer İ/R hasarındaki etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından, G.Ü.ET-17.021 kod numarası ve 14/04/2017 tarihli etik onayı alan bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2017-40-02-006 kod numarası ile desteklenmeye uygun bulunmuştur. Çalışmamız Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'inde Haziran-2017'de gerçekleştirildi.

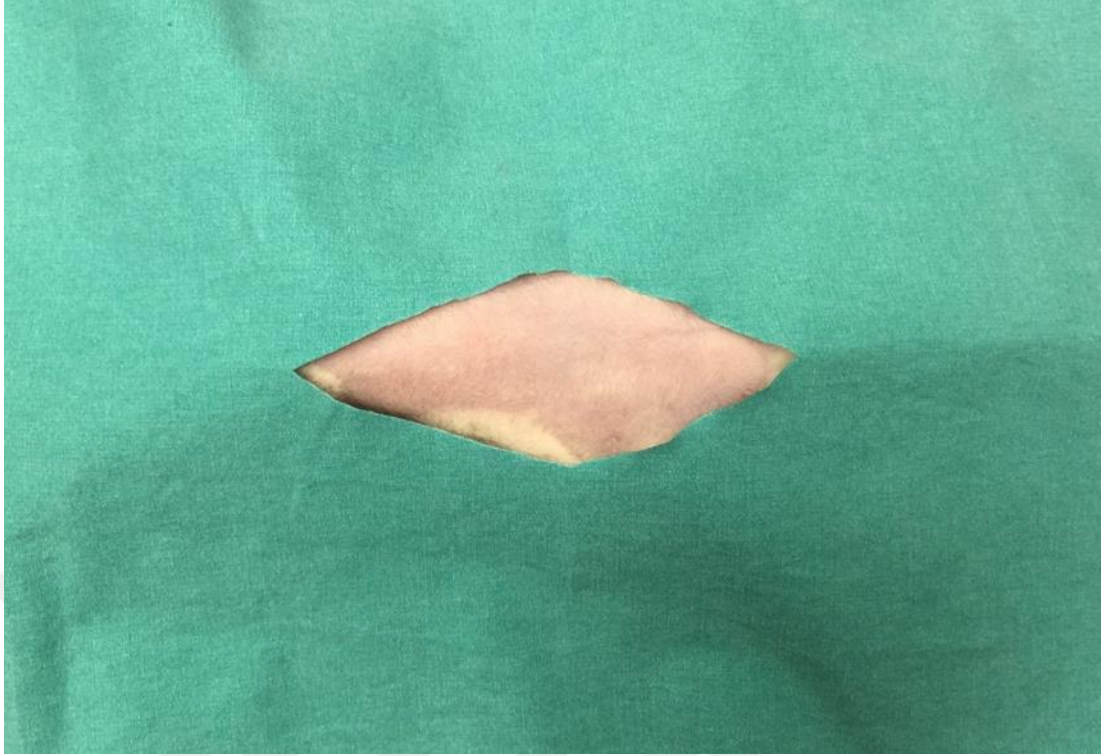
3.1. DENEK SEÇİMİ

Çalışmada 24 adet 250-330 g ağırlığında Wistar cinsi erişkin erkek ratlar kullanıldı. Ratlar, araştırma başlangıcına kadar 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda barındırılarak ortama adaptasyonları sağlandı. Denekler ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortamda bırakıldı. Standart sıçan gıdası (pellet yemi) alan hayvanlara sıvı ve yem kısıtlaması uygulanmadı.

3.2. YÖNTEM

Ratlar rastgele dört gruba ayrıldı. Gruplar Grup Sham (Grup S, n=6), Grup Amantadin (Grup A, n=6), Grup İskemi/Reperfüzyon (Grup İ/R, n=6), Grup İskemi/Reperfüzyon Amantadin (Grup İ/R-A, n=6) olarak adlandırıldı.

Anestezi uygulanmadan önce tartılan tüm ratlara 100 mg/kg ketamin (Ketalar 1mL = 50mg, Pfizer, İstanbul, Türkiye), 15 mg/kg ksilazin (Xylazinbio %2, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) intraperitoneal (i.p) uygulanarak anestezileri sağlandı ve abdominal bölgeleri cerrahi insizyondan önce tıraş edildi (Resim 1).



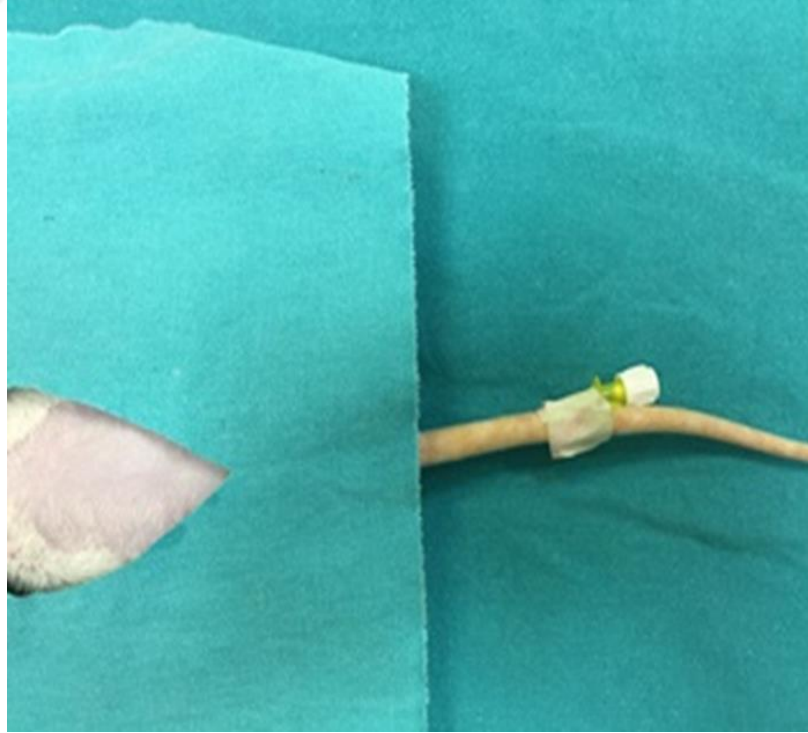
Resim 1. Ratın tıraşlanması

Isı kaybının ve hipoterminin engellenmesi amacıyla ısıtıcı blanket ve ısı monitörizasyonu için de rektal termometre kullanıldı (Resim 2). Yeterli anestezi kriteri olarak ağrılı uyarana yanıtızsızlık sağlandıktan sonra kuyruk veninden 24 Gauge (G) kanül (IV Flon Ar-Es, İzmir, Türkiye) ile intravenöz (i.v) kanülasyon yapıldı (Resim 3). Anestezi idamesinde ratlara düzenli aralıklarla i.p ketamin enjeksiyonu uygulandı.

Grup S’de ratlarda yeterli anestezi derinliği sağlandıktan ve i.v kanülasyon yapıldıktan sonra işlem yapılmadan 15 dakika beklendi. Orta abdominal insizyon yapıldı fakat karaciğere herhangi bir müdahale yapılmadı (Resim 4).



Resim 2. Isıtıcı blanket



Resim 3. Kuyruk veni kanülasyonu

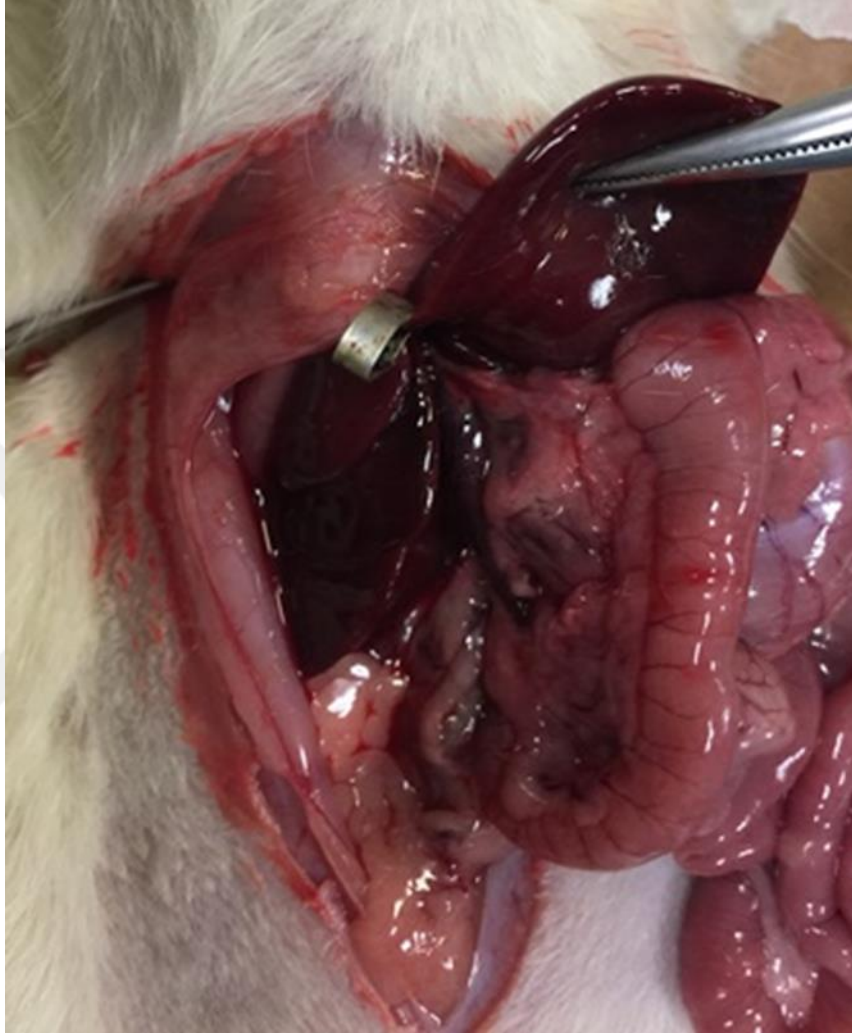


Resim 4. Orta abdominal insizyon

Grup A'da ratlarda yeterli anestezi derinliği sağlandıktan ve i.v kanülasyon yapıldıktan sonra amantadin (Amantadine hydrochloride, A1260-5G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 45 mg/kg i.p yolla verildi. İşlem yapılmadan 15 dakika beklenildi. Orta abdominal insizyon yapıldı fakat karaciğere herhangi bir müdahale yapılmadı.

Grup İ/R'de ratlarda yeterli anestezi derinliği sağlandıktan ve i.v kanülasyon yapıldıktan sonra 15 dakika beklenildi. Ratlara orta abdominal insizyon yapılarak, sol portal triaddaki yapılara 45 dakika süreyle atravmatik vasküler klemp uygulandı (Resim 5). Bu parsiyel hepatik iskemi metodu ile sağ ve kaudat loplarda portal

dekompresyon sağlanabildi ve mezenterik venöz konjesyon engellenmiş oldu. 45 dakikalık iskemi süresinden sonra atravmatik vasküler klemp uzaklaştırıldı ve 2 saatlik reperfüzyon uygulandı.



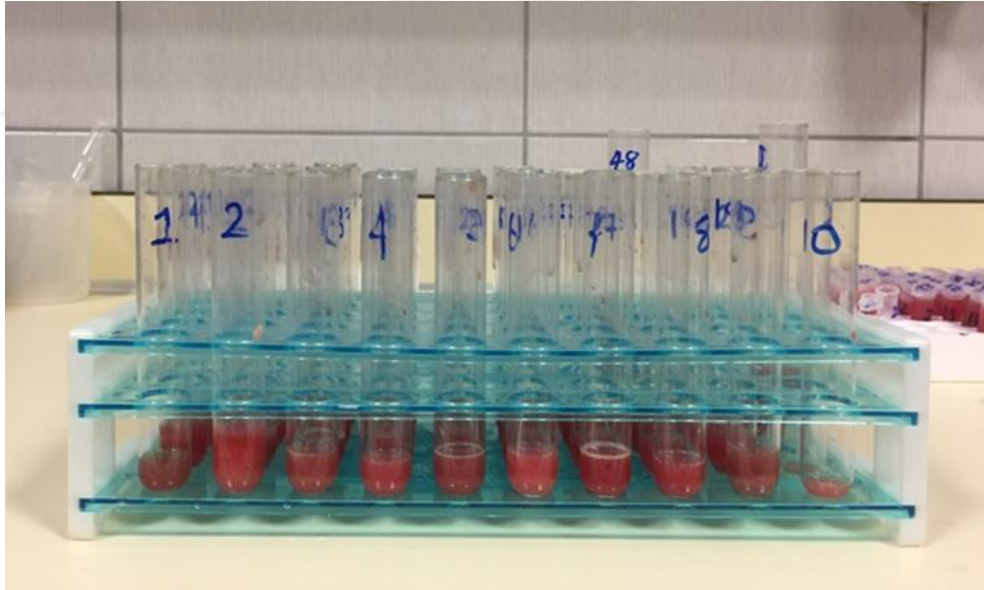
Resim 5. Karaciğer diseksiyonu ve kleme

Grup İ/R-A'da ratlarda yeterli anestezi derinliği sağlandıktan ve i.v kanülasyon yapıldıktan sonra amantadin 45 mg/kg i.p yolla uygulandı. İşlem yapılmadan 15 dakika beklenildi. Orta abdominal insizyon yapıldı, sol portal triaddaki yapılara 45 dakika süreyle atravmatik vasküler klemp uygulandı. 45 dakikalık iskemi süresinden sonra atravmatik vasküler klemp uzaklaştırıldı ve 2 saatlik reperfüzyon uygulandı.

Tüm gruplardaki ratlara anestezi başlangıcından itibaren 195 dakika sonunda karaciğer ve akciğer doku örneklemeleri için ötenazi uygulandı.

3.3. HOMOJENİZASYON

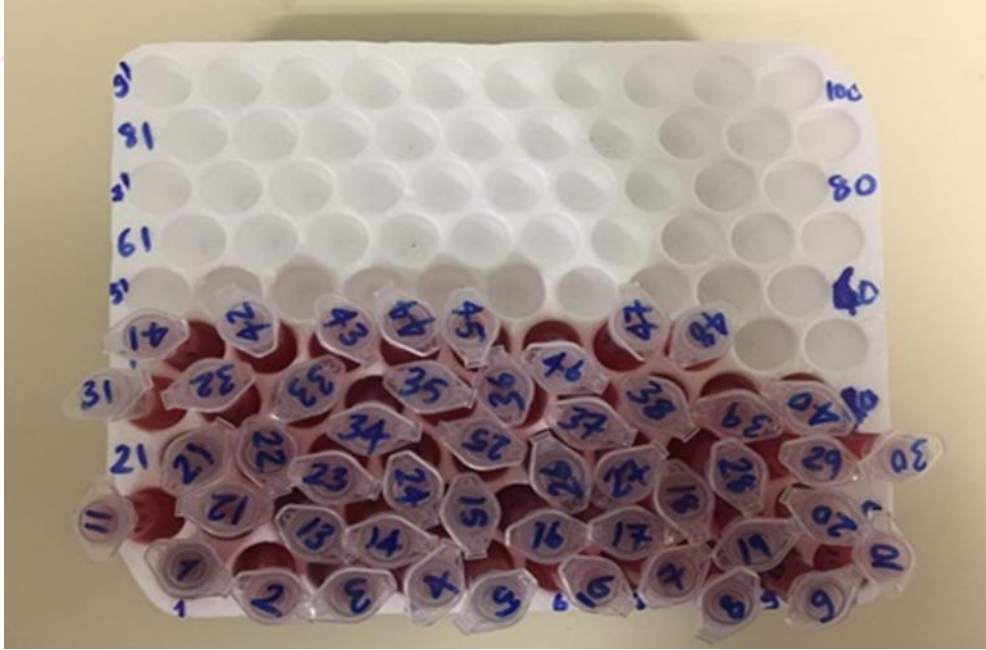
Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında, doku homojenizasyonu için -80°C 'de muhafaza edilen akciğer örnekleri buz üzerinde yağ ve bağ dokuları uzaklaştırılarak küçük parçalara ayrıldı. Örnekler tartıldı ve son konsantrasyonu 100 mg doku/mL olacak şekilde soğuk fosfat tamponu (pH 7.4, 50 mmol/L) içeren cam tüplere konuldu (Resim 6) . Homojenizasyon işlemi mekanik homojenizatör (Isolab, Laborgerate GmbH, Germany) buz üzerinde yapıldı ve Isolab homojenizasyon cihazı kullanıldı (Resim 7). Elde edilen homojenat 10.000 g'de, 4°C , 10 dk santrifüj edilerek debrisler ve diğer partiküllerinden ayrıldı. Tüm parametreler santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlardan çalışıldı (Resim 8).



Resim 6. Hazırlanan doku homojenatları



Resim 7. Doku homojenatörü



Resim 8. Doku süpernatantları

3.4. LİPİD PEROKSİDASYON DURUMUNUN ANALİZİ

Lipid peroksidasyon düzeyini belirlemek için doku MDA parametresi kullanıldı. MDA düzeyleri ELİSA (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) yöntemi ile ölçüldü. Kite ait ölçüm içi varyasyon katsayısı (CV) <%10 idi. Ölçümler üretici firma protokollerine uyularak otomatik ELİSA analizöründe (Triturus, Grifols, Spain) yapıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar hesaplandı.

3.5. ANTİOKSİDAN ENZİMLERİN ANALİZİ

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında doku SOD, CAT düzeylerinin tayini için kitler proje kapsamında alındı ve laboratuvara teslim edilerek ölçümleri yapıldı.

Süperoksir Dismutaz, CAT düzeyleri ELİSA (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) yöntemi ile ölçüldü. Kitlere ait ölçüm içi varyasyon katsayısı (CV) <%10 idi. Ölçümler üretici firma protokollerine uyularak otomatik ELİSA analizöründe (Triturus, Grifols, Spain) yapıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar hesaplandı.

3.6. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Alınan akciğer ve karaciğer doku örnekleri %10 formaldehit solüsyonu içerisinde +4 derecede muhafaza edildi. Dokular Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Histoloji ve Embriyoloji Kliniği laboratuvarında hematoksilen-eozin boyası ile boyanıp ışık mikroskopunda değerlendirildi. Akciğer histopatoloji değerlendirmesinde nötrofil/lenfosit infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlaşmasının derecelendirilmesi dört nokta skorlama sistemi [Grade 0 (Hasar belirtisi yok), Grade 1 (hafif hasar), Grade 2 (orta hasar), Grade 3 (ciddi hasar)] kullanılarak yapıldı. Karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesi ise Abdal-Wahhab tarafından tanımlanmış olan "yarı nitel değerlendirme" yöntemi kullanılarak yapıldı (Abdel-Wahhab et al. 1999). Doku hasarı; hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon,

piknotik çekirdek, nekroza giden hücre, parankimde PMN hücre infiltrasyon skorlaması [negatif (-) puan hiçbir yapısal değişiklik olmaması; bir pozitif (+) puan, hafif derecede yapısal değişiklik olması; iki (++) pozitif puan, orta derecede yapısal değişiklik olması; üç pozitif (+++) puan, ciddi derecede yapısal değişiklik olması] ile değerlendirildi.

3.7. İstatiksel Analiz

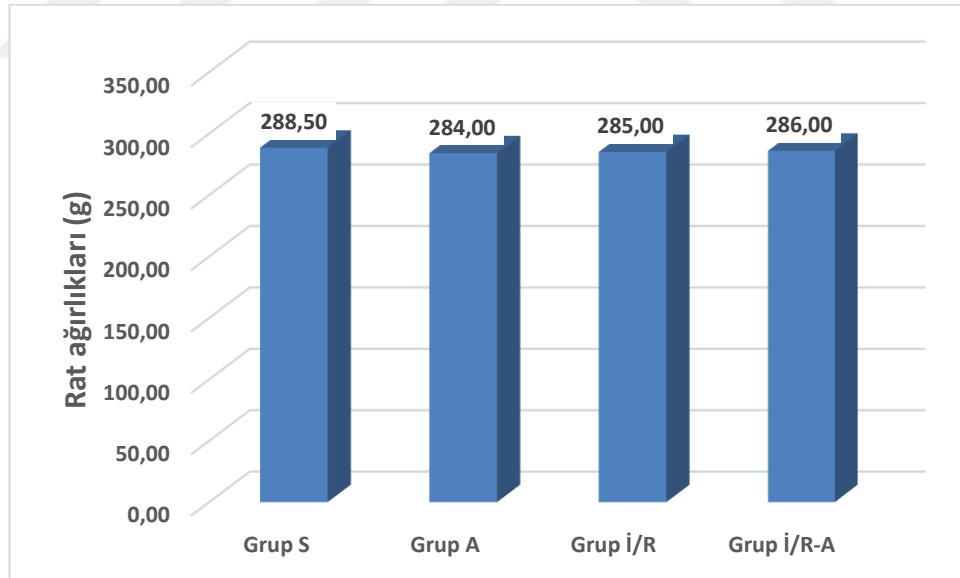
Veriler IBM SPSS Statistics 23 programına aktarılarak yapıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken sayısal değişkenler için merkezi eğilim ölçülerinden minimum, maksimum, medyan ve çeyreklikler arası genişlik değerleri verildi. Kategorik değişkenler için frekans dağılımları verildi. İki'den fazla grup arasında fark olup olmadığına kruskal wallis testi ile bakıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda incelenen toplam 24 denekten oluşan 4 gruba ait ratların ağırlıkları karşılaştırıldığında ağırlık medyanlarının benzer olduğu saptandı ($p=0,962$) (Tablo 1) (Şekil 1).

Tablo 1. . Ratların Ağırlıkları, [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
Ağırlık (g)	288,50±42,25 (251-324)	284,00±40,25 (275-328)	285,00±43,00 (257-321)	286,00±44,25 (262-322)	0,962

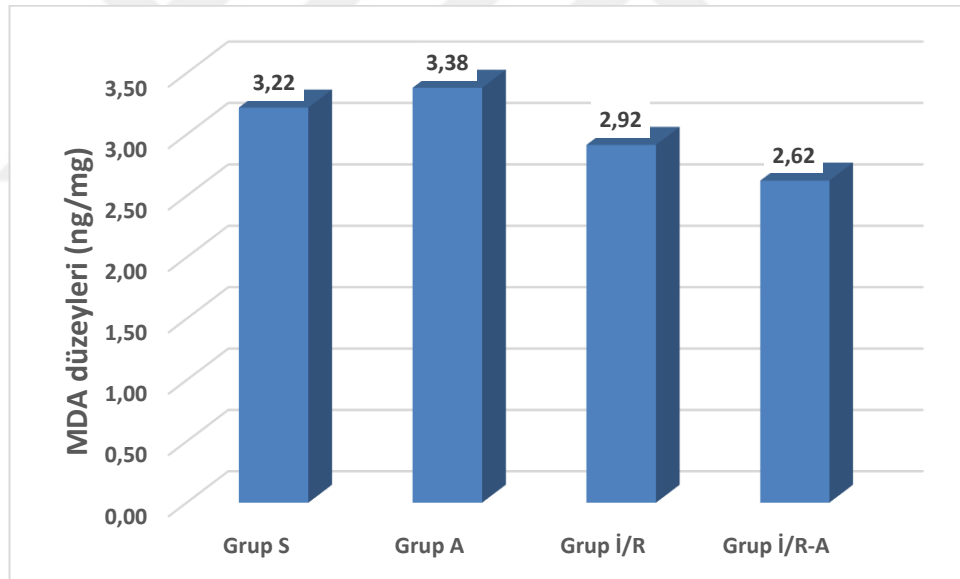


Şekil 1. Ratların Ağırlıkları

Gruplara ait akciğer dokusu MDA düzeyleri Tablo 2 ve Şekil 2’de verilmiştir. MDA düzeylerinin Grup A’da Grup S’ye göre artmış olduğu Grup İ/R ve Grup İ/R-A’da ise Grup S’ye göre azalmış olduğu saptandı. Grup İ/R-A’da ise MDA düzeyi en düşüktü. Fakat gruplar arasında MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,232).

Tablo 2. Akciğer Dokusu MDA Düzeyleri, ng/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
MDA	3,22±1,31 (2,28-4,02)	3,38±0,80 (2,79-3,84)	2,92±0,15 (2,73-3,27)	2,62±1,03 (1,64-3,48)	0,232

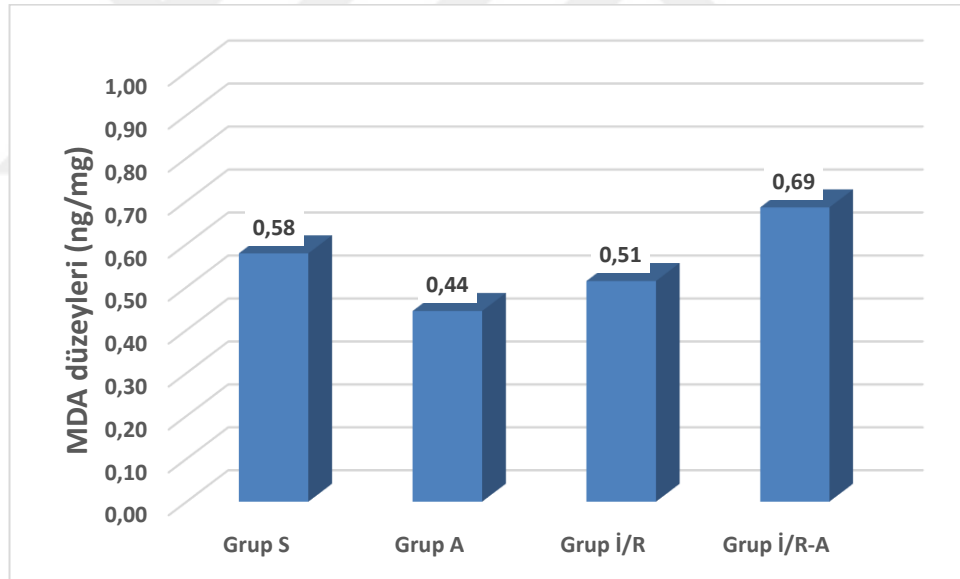


Şekil 2. Akciğer Dokusu MDA Düzeyleri

Gruplara ait karaciğer dokusu MDA düzeyleri Tablo 3 ve Şekil 3’de verilmiştir. MDA düzeylerinin Grup İ/R-A’da Grup S, Grup A, Grup İ/R’ye göre artmış olduğu saptandı. Ayrıca Grup A ve Grup İ/R’de Grup S’ye göre azalmış olduğu gözlemlendi. Fakat gruplar arasında MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,138).

Tablo 3. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri, ng/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
MDA	0,58±0,15 (0,44-0,69)	0,44±0,22 (0,31-0,70)	0,51±0,22 (0,46-0,87)	0,69±0,21 (0,55-0,81)	0,138

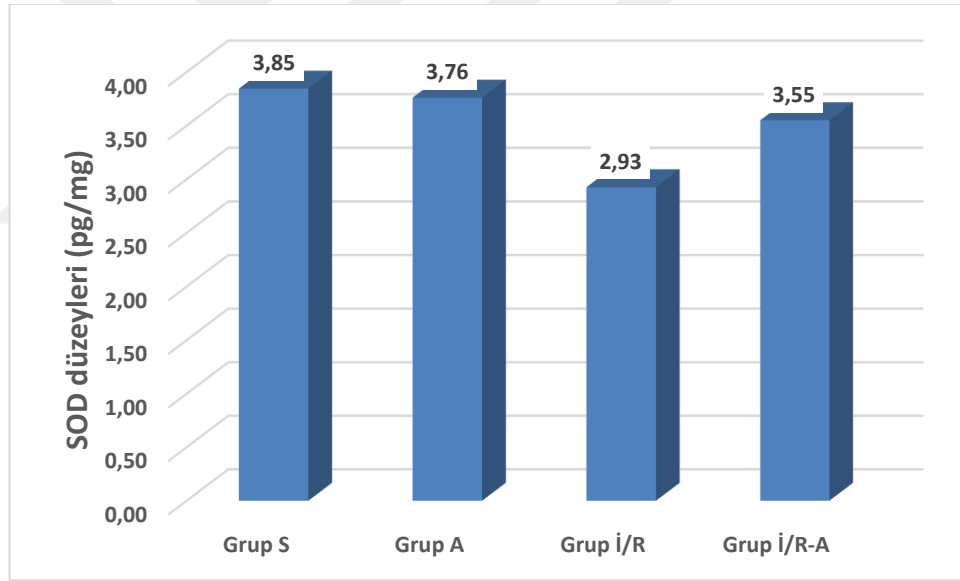


Şekil 3. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri

Gruplara ait akciğer dokusu SOD düzeyleri Tablo 4 ve Şekil 4’de verilmiştir. SOD düzeyleri Grup İ/R’de Grup S’ye göre düşüktü. Grup S, Grup A ve Grup İ/R-A’da Grup İ/R’ye göre SOD düzeylerinin yüksek olduğu saptandı. Ancak gruplar arasındaki SOD düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,568).

Tablo 4. Akciğer Dokusu SOD Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
SOD	3,85±1,89 (2,45-4,91)	3,76±0,92 (2,92-5,00)	2,93±2,06 (1,22-4,73)	3,55±0,47 (3,09-3,98)	0,568

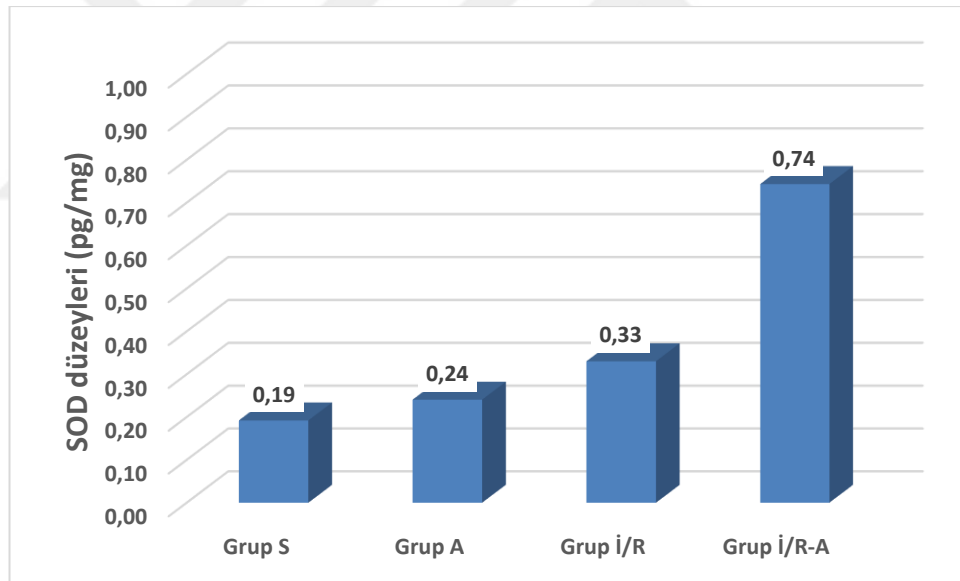


Şekil 4. Akciğer Dokusu SOD Düzeyleri

Gruplara ait karaciğer dokusu SOD düzeyleri Tablo 5 ve Şekil 5’de verilmiştir. SOD düzeylerinin Grup İ/R’de Grup S’ye ve Grup A’ya göre artmış olduğu görüldü. Grup İ/R-A’da ise Grup S, Grup A, Grup İ/R’ye göre artmış olduğu saptandı. Fakat gruplar arasında SOD düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,082).

Tablo 5. Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
SOD	0,19±0,31 (0,09-0,53)	0,24±0,10 (0,18-0,35)	0,33±0,22 (0,10-1,16)	0,74±0,19 (0,11-0,93)	0,082

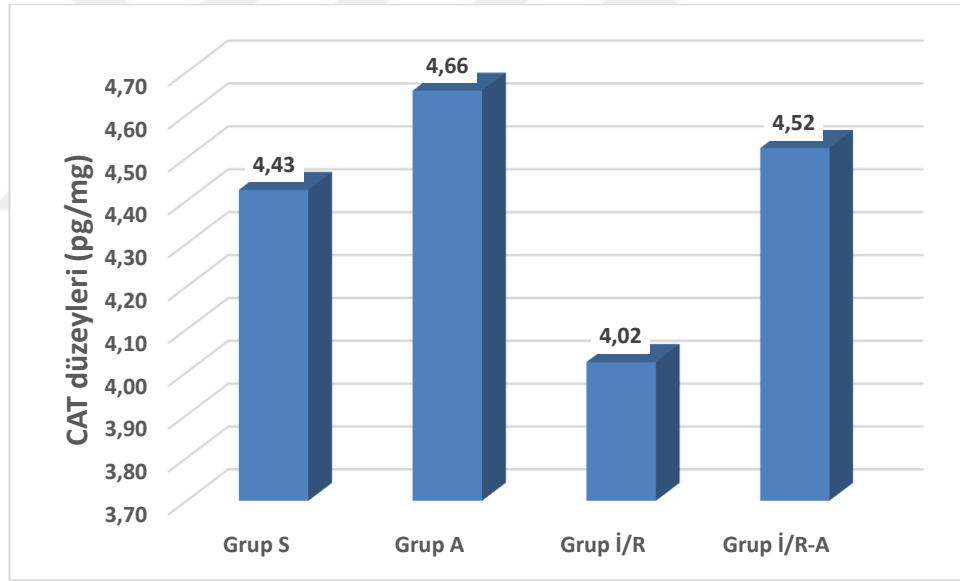


Şekil 5. Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri

Gruplara ait akciğer dokusu CAT düzeyleri Tablo 6 ve Şekil 6’de verilmiştir. Grup A ve Grup İ/R-A’da Grup S’ye göre artış varken Grup İ/R’de CAT düzeyi en düşüktü. Gruplar arasında CAT medyanları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0,497$).

Tablo 6. Akciğer Dokusu CAT Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R- A (n=6)	P
CAT	4,43±0,89 (3,41-5,88)	4,66±1,2 (4,02-6,94)	4,02±1,17 (3,18-6,66)	4,52±1,20 (4,02-6,94)	0,497

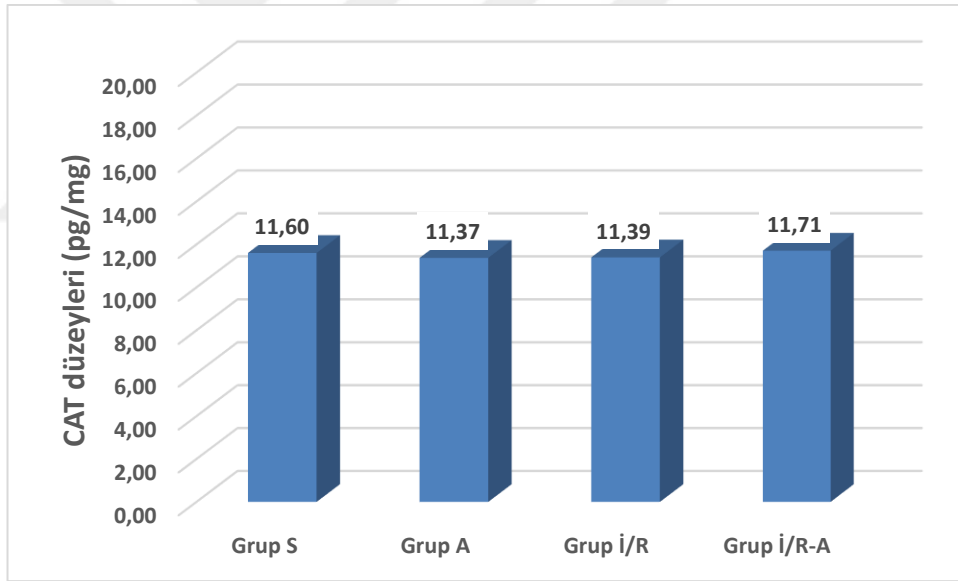


Şekil 6. Akciğer Dokusu CAT Düzeyleri

Gruplara ait karaciğer dokusu CAT düzeyleri Tablo 7 ve Şekil 7’de verilmiştir. Gruplar arasında CAT medyanları bakımından benzer, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p=0,641).

Tablo 7. Karaciğer Dokusu CAT Düzeyleri, pg/mg [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
CAT	11,60±0,93 (10,96-12,57)	11,37±1,22 (10,65-12,15)	11,39±1,21 (6,97-12,48)	11,71±1,17 (11,03-12,01)	0,641



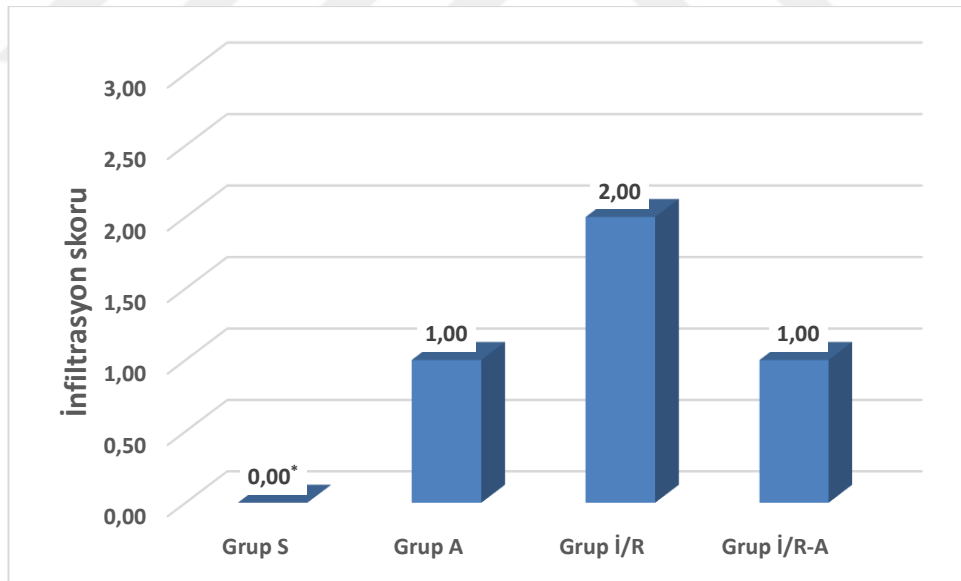
Şekil 7. Karaciğer Dokusu CAT Düzeyleri

Gruplara ait akciğer dokusu nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru düzeyleri Tablo 8 ve Şekil 8’de verilmiştir ve gruplar arası değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,005$). Grup İ/R-A ve Grup A’da nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru Grup İ/R’ye göre düşüktü fakat anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Grup İ/R’de nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru Grup S’ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,007$).

Tablo 8. Akciğer Dokusu Nötrofil/Lenfosit İnfiltrasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
İnfiltrasyon skoru	0,00±1,00* (0-1)	1,00±1,00 (0-1)	2,00±1,00 (1-3)	1,00±1,00 (1-3)	0,005

* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

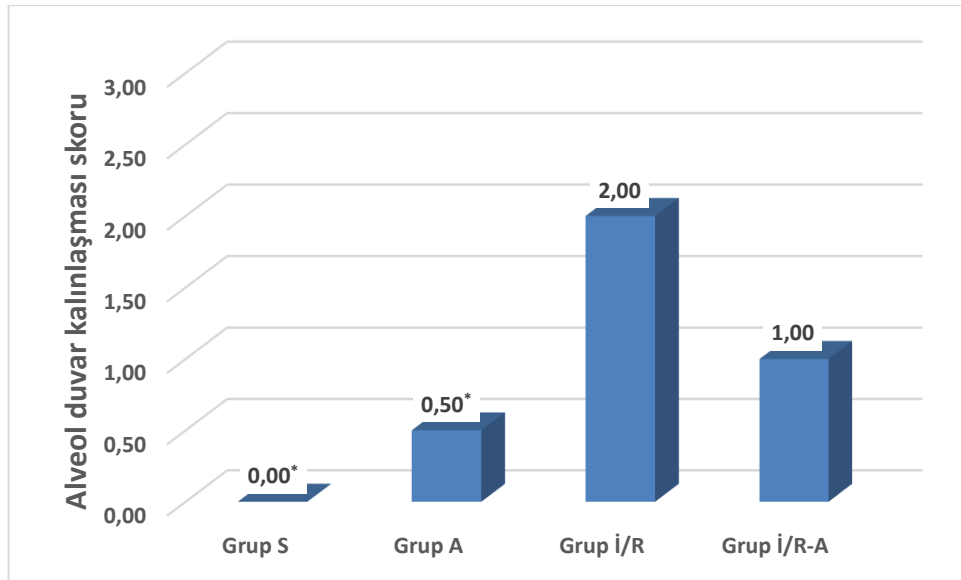
Şekil 8. Akciğer Dokusu Nötrofil/Lenfosit İnfiltrasyon Skorları

Gruplara ait akciğer dokusu alveol duvar kalınlaşma skoru düzeyleri Tablo 9 ve Şekil 9’da verilmiştir. Buna göre gruplar arasında alveol duvar kalınlaşma skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,006$). Grup İ/R’de alveol duvar kalınlaşma skoru Grup S ve Grup A’ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,008, 0,028$; sırasıyla). Grup İ/R-A’da alveol duvar kalınlaşması Grup İ/R’ye göre düşük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Tablo 9. Akciğer Dokusu Alveol Duvar Kalınlaşma Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n:6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
Alveol duvar kalınlaşma skoru	0,00±1,00* (0-1)	0,50±1,00* (0-1)	2,00±1,00 (1-3)	1,00±1,00 (0-2)	0,006

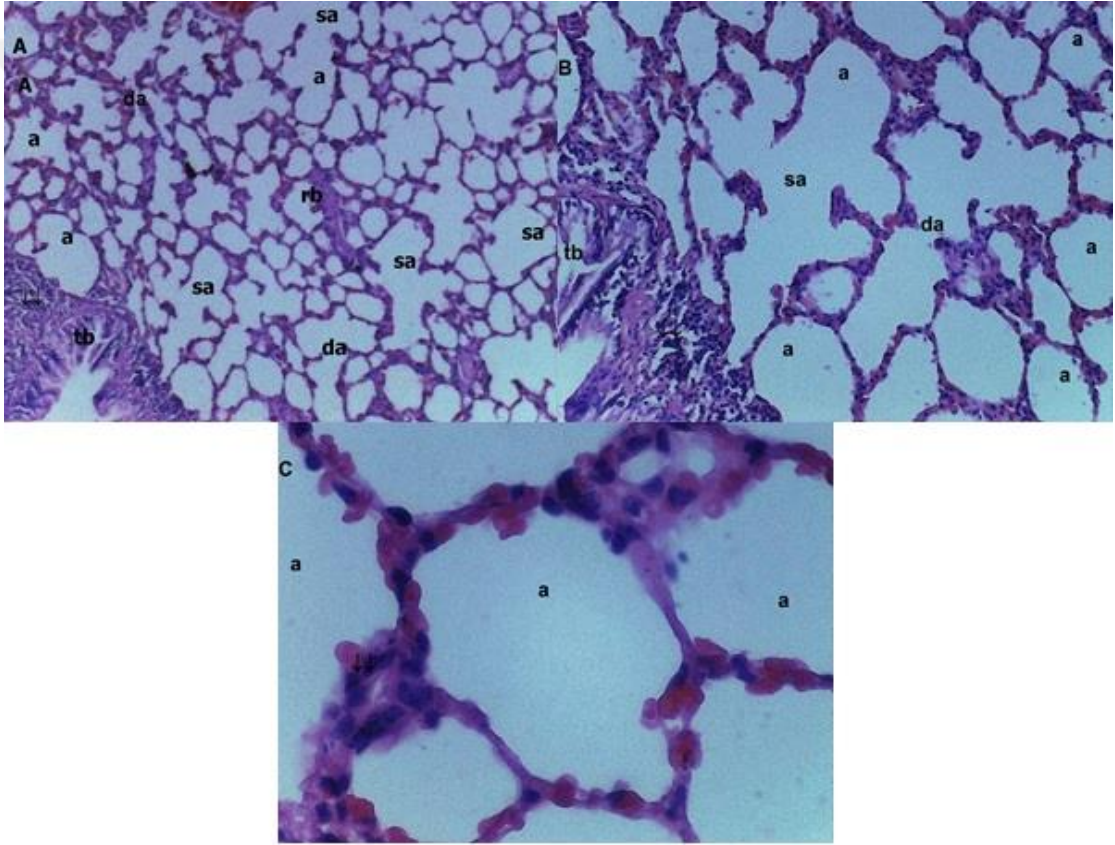
* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

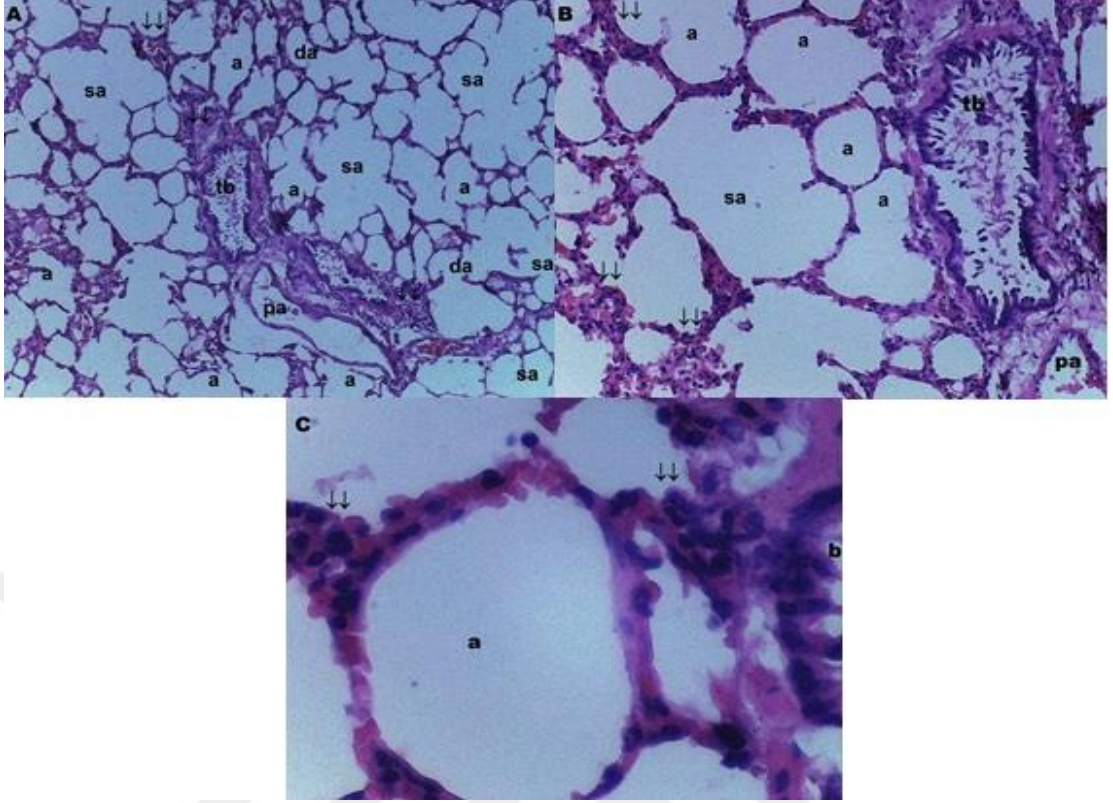
Şekil 9. Akciğer Dokusu Alveol Duvar Kalınlaşma Skorları

Gruplarda elde edilen akciğer doku preparatlarının yapılan histopatolojik incelemeleri Resim 9,10,11,12’de verilmiştir. Grup S’de normal akciğer dokusu yapısı gözlemlendi (Resim 9). Grup A’da akciğer dokusundaki nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 10). Grup İ/R de geniş nötrofil infiltrasyonu ve şiddetli şekilde artmış alveoler duvar kalınlığı gözlemlendi (Resim 11). Grup İ/R-A’da kapiller konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve artmış alveoler duvar kalınlığı artışı gözlemlendi (Resim 12).



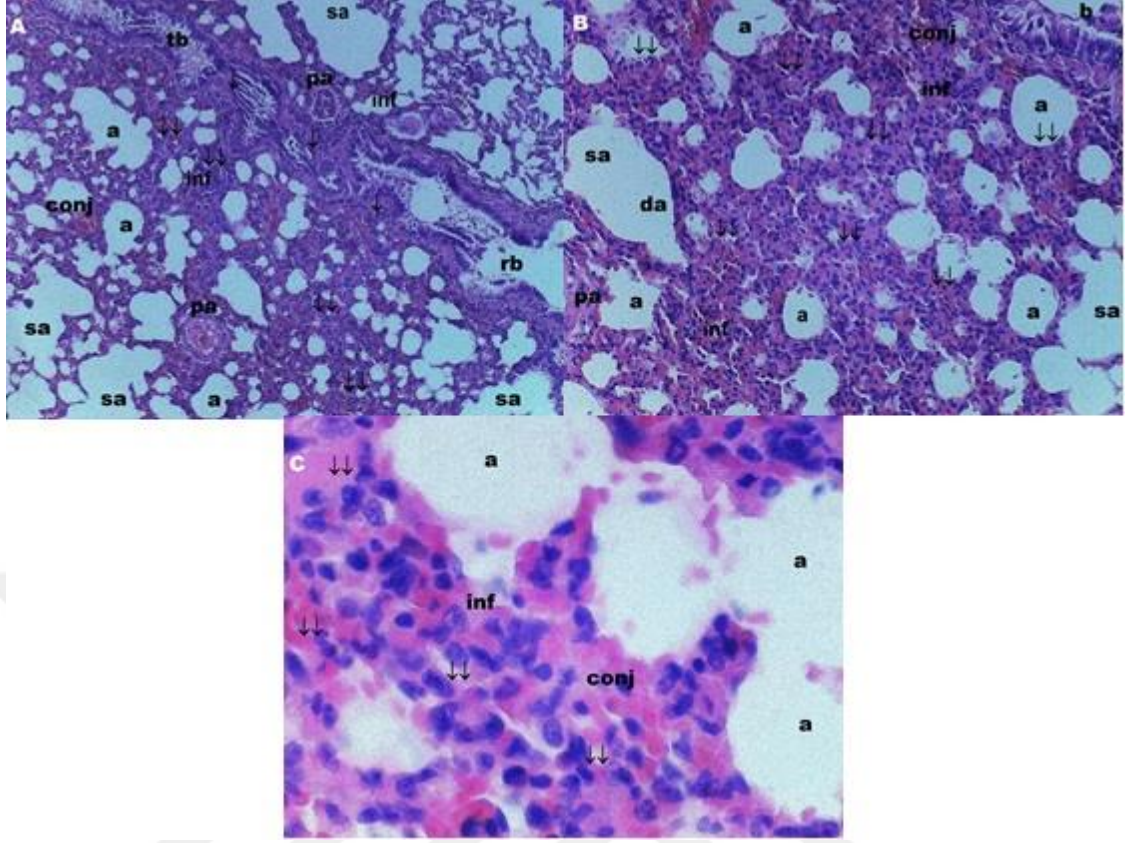
↓↓, alveoler septum kalınlaşması; a, alveoller; tb, terminal bronşiol; rb, respiratuvar bronşiol; sa, saccus alveolaris (alveol kesesi); da, ductus alveolaris (alveol kanalı)

Resim 9 Grup S’de normal akciğer dokusunun yapısı, hematoksilin-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.



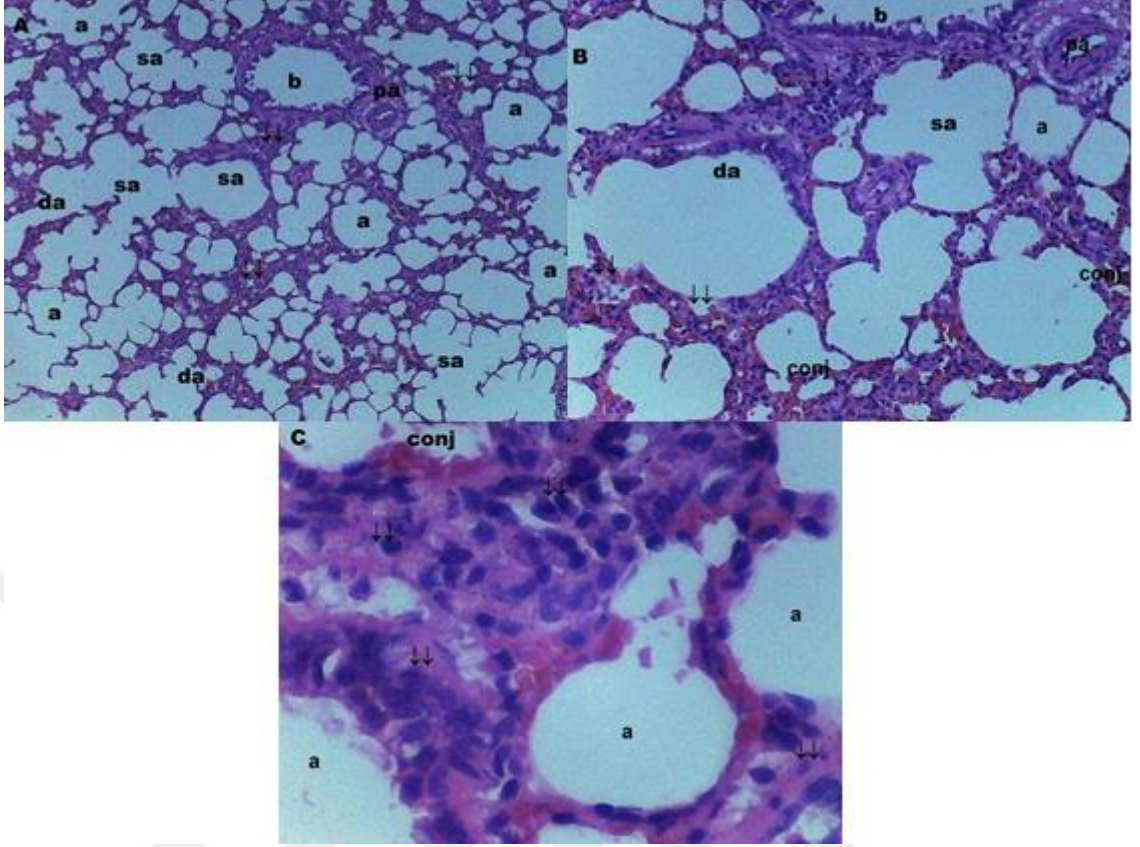
⇓, alveoler septum kalınlaşması; a, alveoller; b, bronşiol; tb, terminal bronşiol; sa, saccus alveolaris (alveol kesesi); da, ductus alveolaris (alveol kanalı); pa, kan damarı arter duvarı (pulmoner arter dalları)

Resim 10 Grup A'da akciğer dokusundaki nötrofil infiltrasyonu, hematoxilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.



↓, pulmoner damar kalınlaşması; ↓↓, alveoler septum kalınlaşması; a, alveoller; b, bronşiol; tb, terminal bronşiol; rb, respiratuvar bronşiol; sa, saccus alveolaris (alveol kesesi); da, ductus alveolaris (alveol kanalı); pa, kan damarı arter duvarı (pulmoner arter dalları); inf, İnflamasyon; con, kapiller konjesyon

Resim 11 Grup İ/R’de geniş nötrofil infiltrasyonu ve şiddetli şekilde artmış alveoler duvar kalınlığı, hematoxilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.



↓↓, alveoler septum kalınlaşması; a, alveoller; b, bronşiol; sa, saccus alveolaris (alveol kesesi); da, ductus alveolaris (alveol kanalı); pa, kan damarı arter duvarı (pulmoner arter dalları); con, kapiller konjesyon

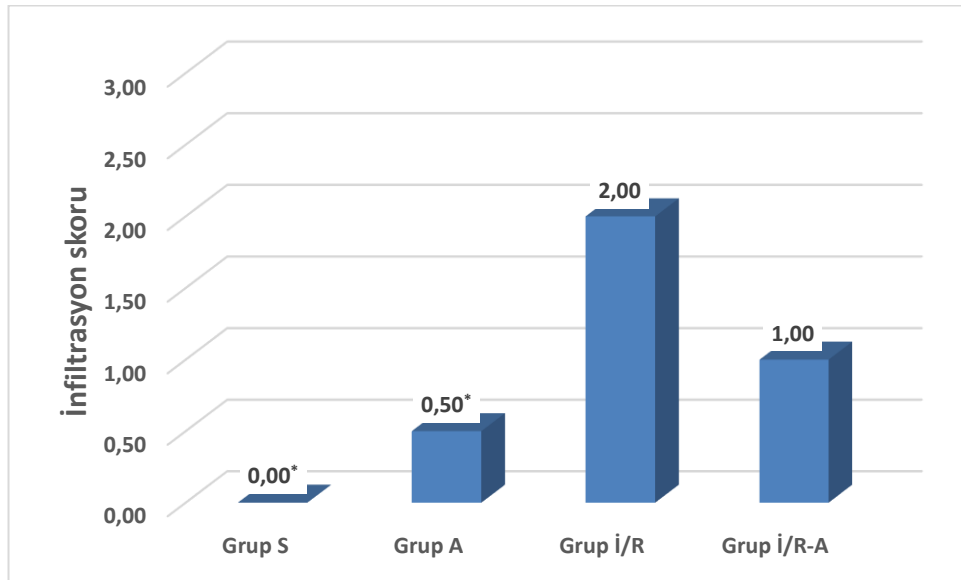
Resim 12 Grup İ/R-A'da kapiller konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve artmış alveolar duvar kalınlığı artışı, hematoksilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.

Gruplara ait karaciğer dokusu nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru düzeyleri Tablo 10 ve Şekil 10’da verilmiştir. Buna göre gruplar arasında nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). Grup İ/R’de alveol duvar kalınlaşma skoru Grup S ve Grup A’ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.011, 0.040$; sırasıyla). Grup İ/R-A’da nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru Grup İ/R’ye göre düşük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Tablo 10. Karaciğer Dokusu İnfiltrasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R- A (n=6)	p
İnfiltrasyon skoru	0,00±1,00* (0-1)	0,50±1,00* (0-1)	2,00±1,00 (1-3)	1,00±1,00 (1-2)	0,004

* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

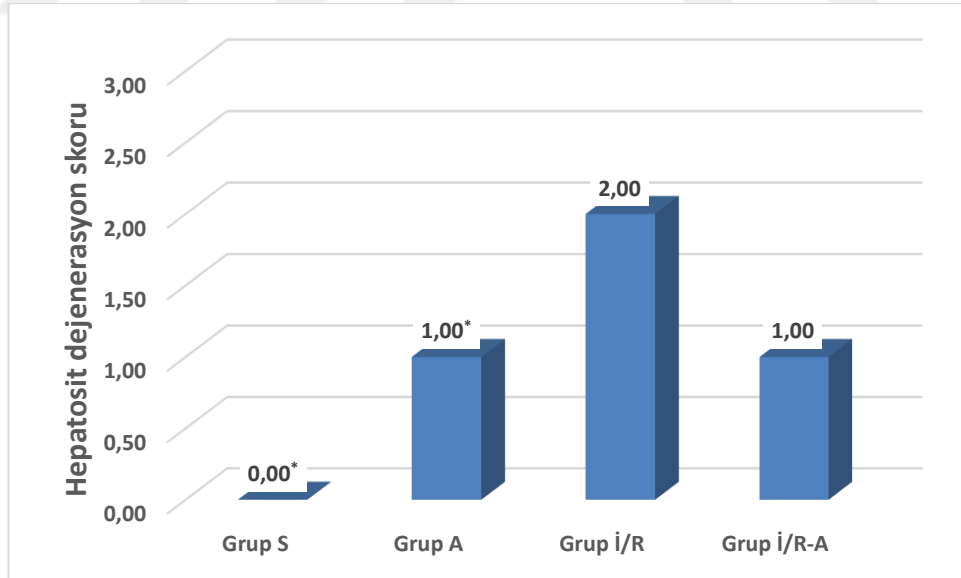
Şekil 10. Karaciğer Dokusu İnfiltrasyon Skorları

Gruplara ait karaciğer dokusu hepatosit dejenerasyon skoru düzeyleri Tablo 11 ve Şekil 11’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında hepatosit dejenerasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). Grup İ/R’de karaciğer hepatosit dejenerasyon skoru Grup S ve Grup A’ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.03, 0.044$; sırasıyla). Grup İ/R-A’da karaciğer hepatosit dejenerasyon skoru Grup İ/R’ye göre düşük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Tablo 11. Hepatosit Dejenerasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
Hepatosit dejenerasyon skoru	0,00±1,00* (0-1)	1,00±1,00* (0-1)	2,00±1,00 (1-3)	1,00±0,00 (0-2)	0,004

* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

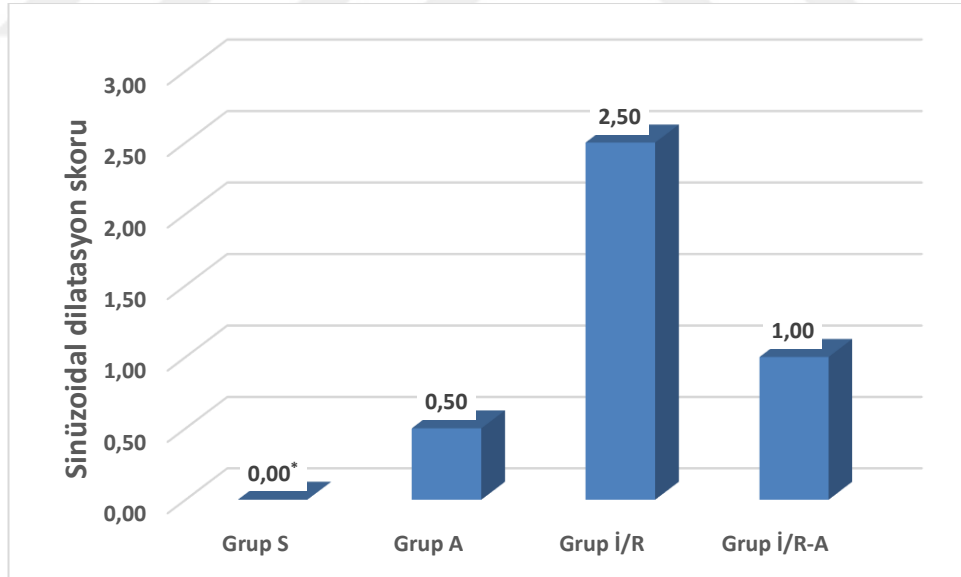
Şekil 11. Hepatosit Dejenerasyon Skorları

Gruplara ait karaciğer sinüzoidal dilatasyon skoru düzeyleri Tablo 12 ve Şekil 12’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında sinüzoidal dilatasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,020$). Grup İ/R’de sinüzoidal dilatasyon skoru Grup S’ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,017$). Grup İ/R-A ve Grup A’da sinüzoidal dilatasyon skoru Grup İ/R’ye göre düşüktü fakat anlamlı değildi ($p>0,05$).

Tablo 12. Karaciğer Dokusu Sinüzoidal Dilatasyon Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
Sinüzoidal Dilatasyon Skoru	0,00±1,00* (0-1)	0,50±1,00 (0-2)	2,50±2,00 (1-3)	1,00±1,00 (0-2)	0,020

* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

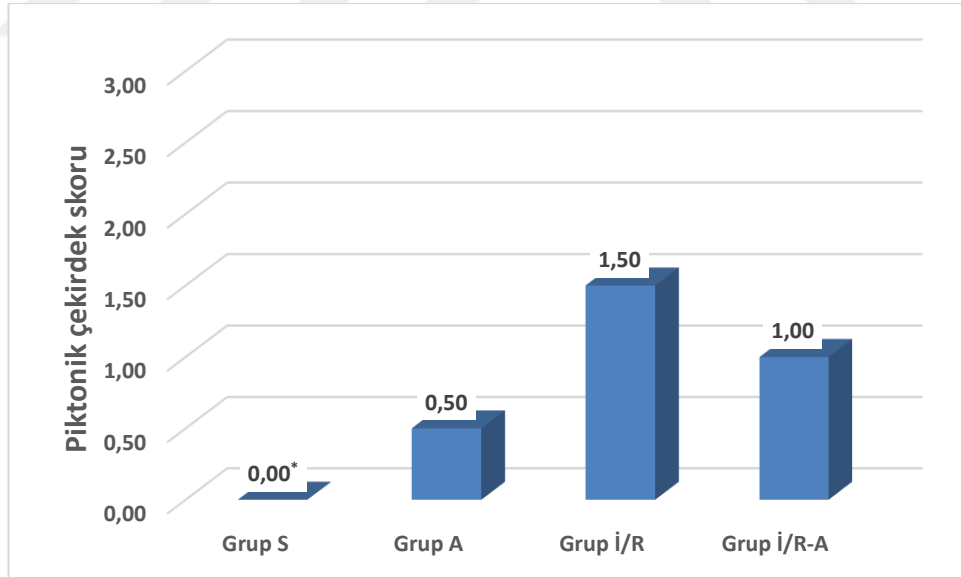
Şekil 12. Karaciğer Dokusu Sinüzoidal Dilatasyon Skorları

Gruplara ait karaciğer piknotik çekirdek skoru düzeyleri Tablo 13 ve Şekil 13’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında piknotik çekirdek skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,009$). Grup İ/R’de piknotik çekirdek skoru Grup S’ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,006$). Grup İ/R-A ve Grup A’da piknotik çekirdek skoru Grup İ/R’ye göre düşüktü fakat anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 13. Karaciğer Dokusu Piknotik Çekirdek Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
Piknotik Çekirdek Skoru	0,00±0,00* (0-1)	0,50±1,00 (0-1)	1,50±1,00 (1-3)	1,00±1,00 (0-1)	0,009

* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

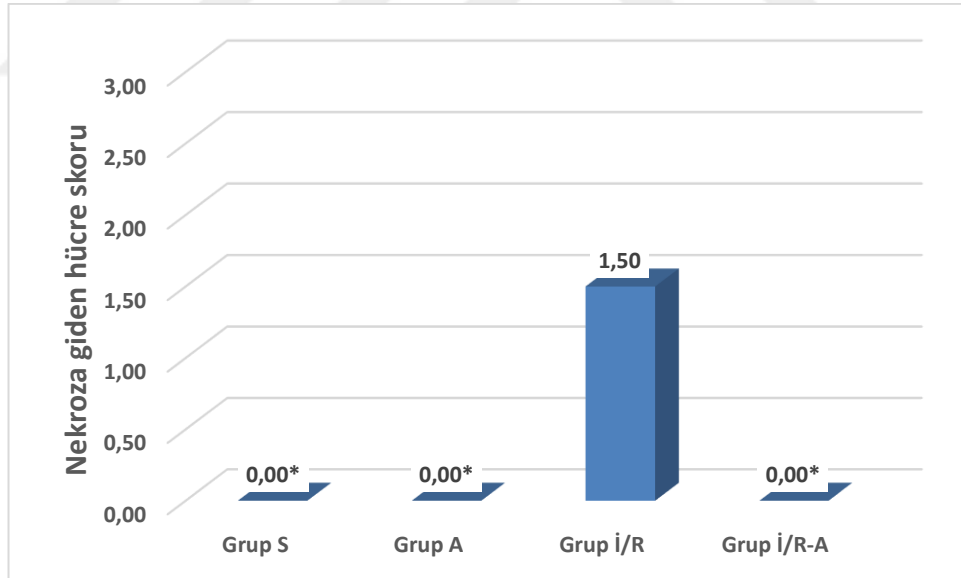
Şekil 13. Karaciğer Dokusu Piknotik Çekirdek Skorları

Gruplara ait karaciğer nekroza giden hücre skoru düzeyleri Tablo 14 ve Şekil 14’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında nekroza giden hücre skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,002$). Grup İ/R’de nekroza giden hücre skoru Grup S, Grup A ve Grup İ/R-A’ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.010, 0.010, 0.010$; sırasıyla).

Tablo 14. Karaciğer Dokusu Nekroza Giden Hücre Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R- A (n=6)	p
Nekroza giden hücre skoru	0,00±0,00* (0-1)	0,00±0,00* (0-1)	1,50±1,00 (1-3)	0,00±0,00* (0-1)	0,002

* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

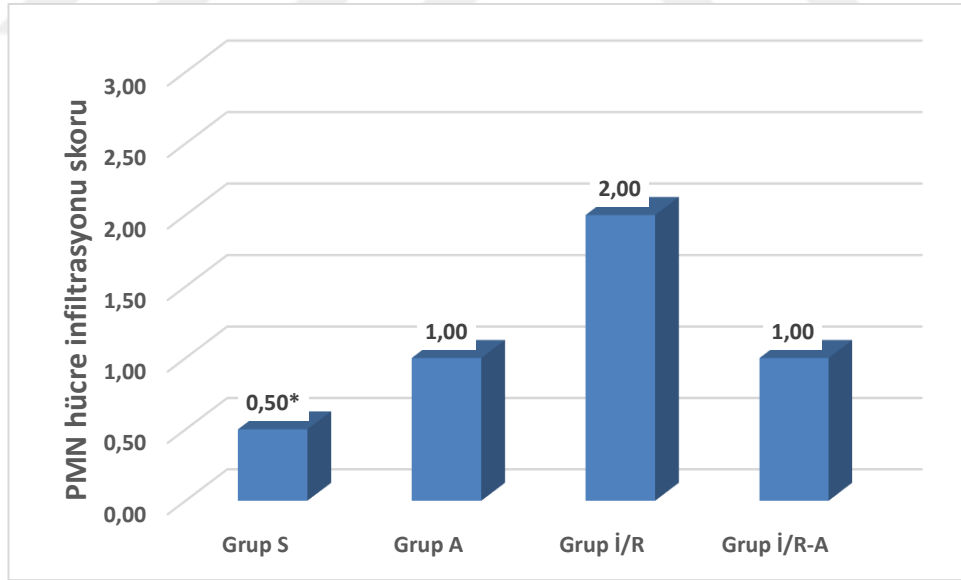
Şekil 14. Karaciğer Dokusu Nekroza Giden Hücre Skorları

Gruplara ait Karaciğer PMN hücre infiltrasyonu skoru Tablo 15 ve Şekil 15’de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında PMN hücre infiltrasyon skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,050$). Grup İ/R-A ve Grup A’da PMN hücre infiltrasyon skoru Grup İ/R’ye göre düşüktü fakat anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Grup İ/R’de PMN hücre infiltrasyon skoru Grup S’ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,044$).

Tablo 15. Karaciğer Dokusu PMN Hücre İnfiltrasyonu Skorları [Medyan±IQR (en az – en çok)]

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
PMN hücre infiltrasyonu skoru	0,50±1,00* (0-1)	1,00±1,00 (0-2)	2,00±1,00 (1-2)	1,00±1,00 (0-2)	0,050

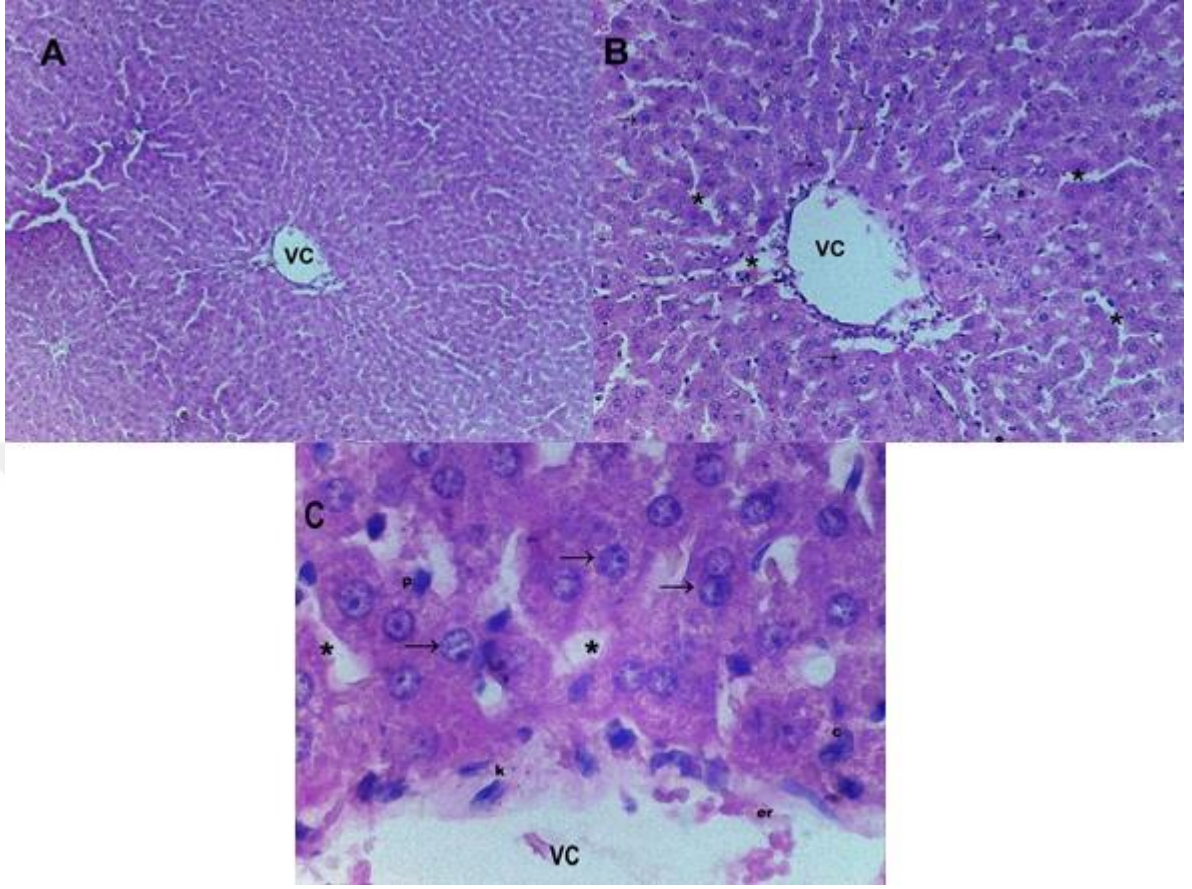
* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



* $p<0,05$; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

Şekil 15. Karaciğer Dokusu PMN Hücre İnfiltrasyonu Skorları

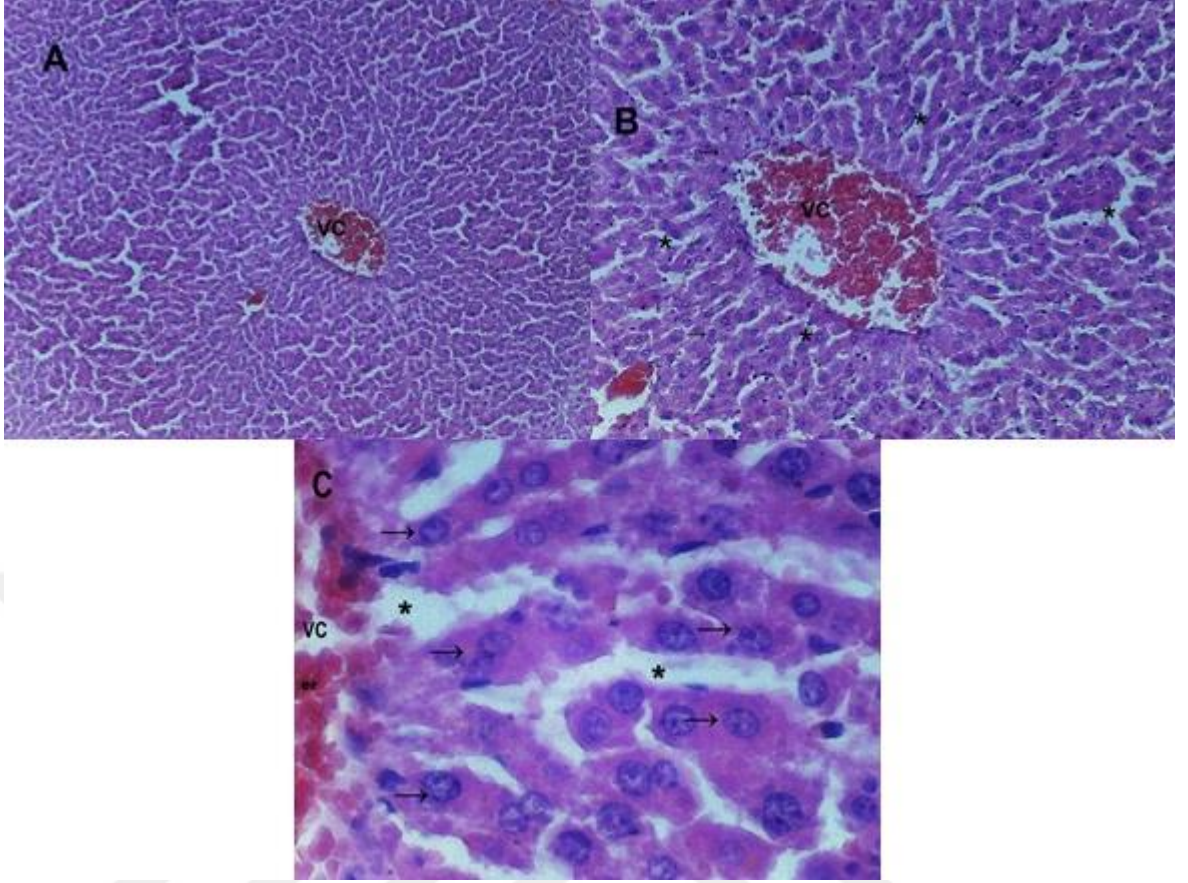
Gruplarda elde edilen karaciğer doku preparatlarının yapılan histopatolojik incelemeleri Resim 13,14,15,16'da verilmiştir.



VC, vena sentralis; ← →,hepatositler; k, kupffer hücre hiperplazisi; c, dikaryotik hepatosit; *, sinüzoid dilatasyonu ;con, kapiller konjesyon; er, eritrosit

Resim 13 Grup S'de karaciğer dokusunun yapısı, hematoksilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.

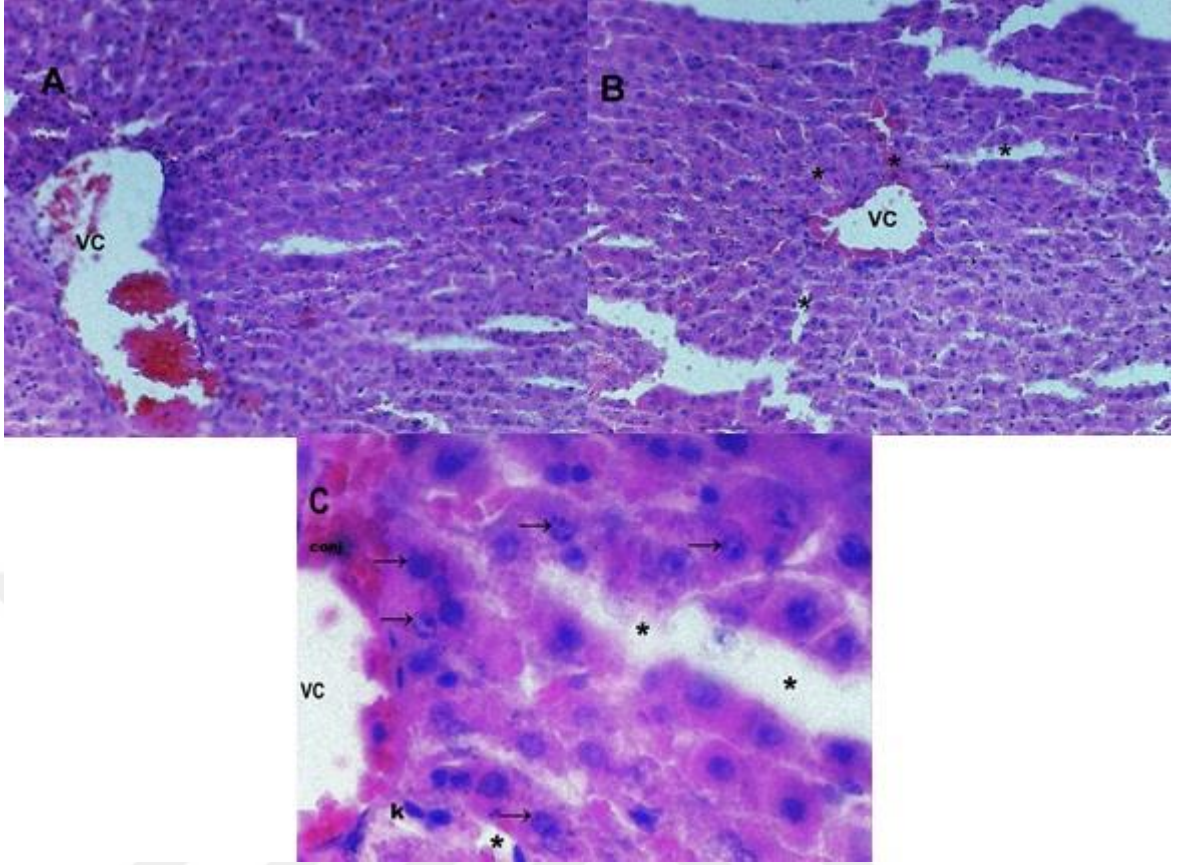
Grup S'den alınan histolojik kesitte klasik karaciğer lobülünün vena sentralisinden uzanan hepatosit hücre kordonları ışınal yapıda olup sinüzoidler, karaciğer genel yapısı ve özellikleri normal görünümdeydi. Düzenli hepatosit kordonları homojen dağılımda olmakla birlikte yer yer vena sentralis konjesyonu ve sinüzoid dilatasyonu ile minimal hücresel değişiklikler gözlemlendi. Bazı bölgelerde portal alanlarda çok hafif nonspesifik iltihabi hücreler ve sinüzoidlerde hafif genişleme görüldü (Resim 13).



VC, vena sentralis; ← →, hepatositler; *, sinüzoid dilatasyonu; er, eritrosit

Resim 14 Grup A’da karaciğer dokusunun yapısı, hematoksilin-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.

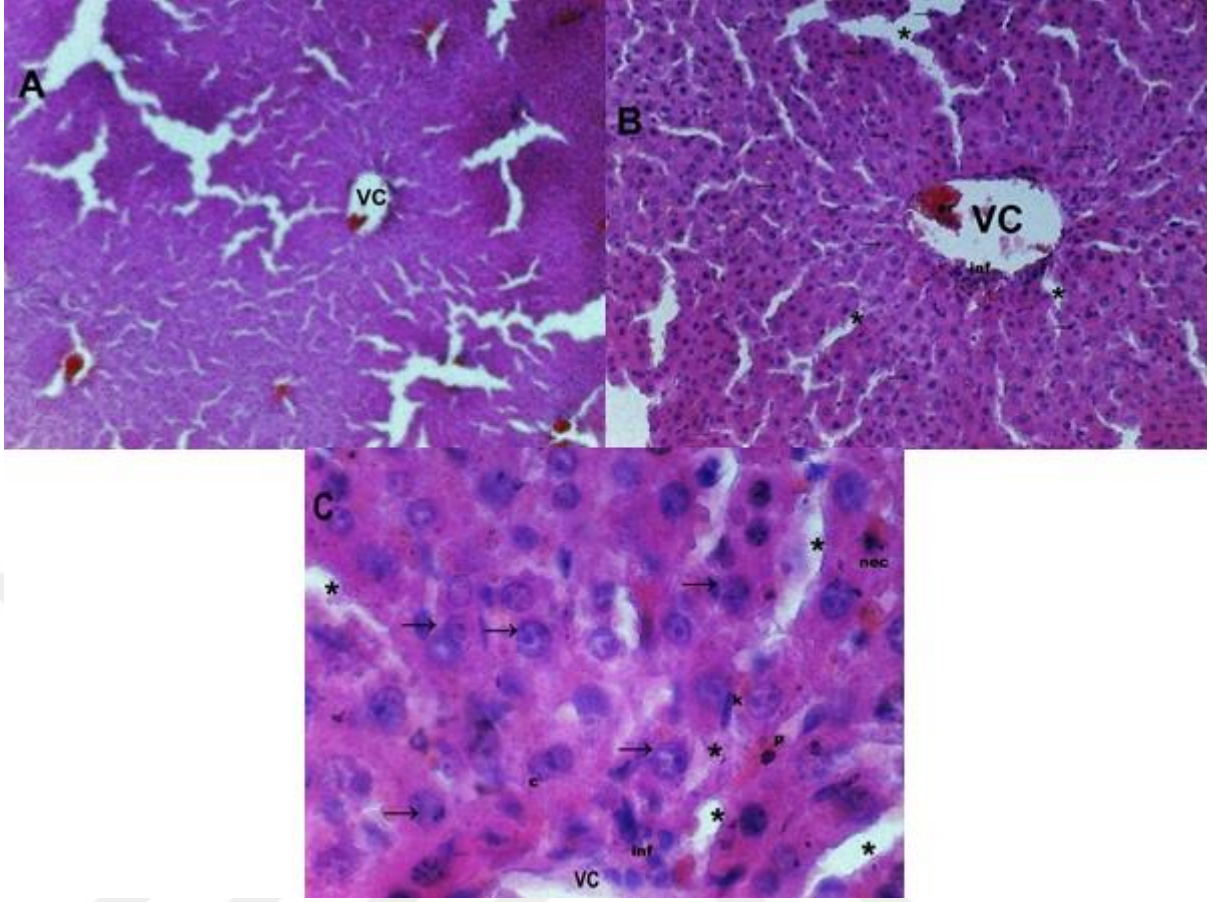
Grup A’da alınan karaciğer dokusu kesitinde klasik karaciğer lobülünün yapısı, sinüzoidlerin dizilimi yer yer düzensizlik göstermekteydi. Vena sentralis çevresindeki hepatosit kordonları ve hepatosit büyüklükleri açısından genel yapı ve özellikleri kontrol grubuna benzerlik göstermekteydi. Parankim hücrelerinin sinüzoidde komşu bölgelerinde vakuoler yapılar dikkat çekti. Yer yer vena sentralis konjesyonu ve sinüzoid dilatasyonu ile minimal hücresel değişikliklere rastlandı. Bazı bölgelerde portal alanlarda çok hafif nonspesifik iltihabi hücreler, sinüzoidlerde hafif genişleme ve hepatositlerde hafif derecede hidrofilik dejenerasyon görüldü. Hepatosit sitoplazmalarında düzensiz yapıdaki, yaygın dağılım gösteren bazofilik alanlar dikkati çekti (Resim 14).



VC, vena sentralis; ← →, hepatositler; k, kupffer hücre hiperplazisi; *, sinüzoid dilatasyonu; con, kapiller konjesyon

Resim 15 Grup İ/R’de karaciğer dokusunun yapısı, hematoxilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.

Grup İ/R’den alınan preparatta belirgin şekilde hepatosit dejenerasyonu, sinüsoidal dilatasyon, piknotik ve hiperkromatik çekirdekli hücreler, yer yer fokal nekroz alanları ve mononükleer hücre infiltrasyonu, kupffer hücre hiperplazisi, inflamasyon, konjesyon, periferel hepatositlerde şişme, vena sentralis çevresindeki hepatositlerde ise nekrotik ve apopitotik görünüm ve dejeneratif değişiklikler, portal alanda ve vena sentralislerde genişleme, vazokonjesyon ve yer yer kanamalı alanlar dikkati çekti (Resim 15).



VC, vena sentralis; ← →, hepatositler; nec, hepatositlerde nekrotik ve apoptotik görünüm; k, kupffer hücre hiperplazisi, c, dikaryotik hepatosit; *, sinüzoid dilatasyonu; inf, inflamasyon; er, eritrosit

Resim 16 Grup İ/R-A'da karaciğer dokusunun yapısı, hematoxilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.

Grup İ/R-A'ya ait karaciğer doku kesitlerinde vena sentralis çevresindeki hepatositlerde nekrotik ve apoptotik görünüm, kupffer hücre hiperplazisi, piknotik ve hiperkromatik çekirdekler, sinüzoid dilatasyonu, inflamasyon ve konjesyon görülebilmektedir (Resim 16).

5. TARTIŞMA

Akut karaciğer İ/R hasarı, özellikle karaciğer cerrahilerinde sol portal triaddaki yapılara geçici olarak klemp konulmasıyla oluşmaktadır. Deneysel olarak rat karaciğerinde iskemi oluşturmak için Young ve arkadaşları "murine modeli"ni tanımlamışlardır. Buna göre; sol lateral ve mediyan karaciğer loblarının portal dolaşımını sağlayan portal venin ve hepatik arterin atravmatik vasküler klemp kullanarak kan akımını durdurmuşlardır (Young et al. 2001). Biz de çalışmamızda ratlarda hepatik iskemi oluştururken bu yöntemi uyguladık. Bu parsiyel hepatik iskemi metodu ile eş zamanlı olarak kaudat ve sağ lateral loblarda intestinal (mezenterik) venöz konjesyonu engellemiş olduk.

İskemi/reperfüzyon sonrası hem iskemik alanda lokal hasar oluşmakta hem de iskemik alan dışındaki uzak organlarda hasar oluşabilmektedir. Uzak organ hasarında akciğer hedef organ durumunda olup klinik olarak büyük önem taşımaktadır (Fantini and Conte 1995). Karaciğer İ/R hasarının böbrek, kalp ve akciğer gibi uzak organlara zarar verebileceği gösterilmiştir (Behrends et al. 2008, Nielsen et al. 1997, Peralta et al. 2002). Hasar gören karaciğer dokusu yıkıcı proinflamatuvar sitokinler ve O₂'den oluşan SOR'leri dolaşıma bırakır ve uzak organlarda daha fazla hasara neden olur (Jiang et al. 2007). Colletti ve arkadaşları karaciğer İ/R hasarının akciğer fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Colletti et al. 1995). Akciğer dokusunda; ödem, intraalveoler kanama ve endotelyal aktivasyon sıklıkla gözlenir (Knittel et al. 1999). Bu nedenle biz de bu çalışmamızda karaciğer İ/R hasarının uzak organ etkilerini saptamak amacıyla akciğer dokusunda inceleme yaptık.

İskemi/reperfüzyon hasarının çeşitli mekanizmaları arasında O₂ toksisitesi ve serbest radikal üretimi önemli rol oynamaktadır (Carden and Granger 2000). İ/R hasarı sonrasında oksidan üretimi, kompleman aktivasyonu, lökosit-endotel hücre adhezyonu, transendotelyal lökosit göçü, trombosit-lökosit salınımı, lökosit toplanması ve mikrovasküler geçirgenliğin artması ve bunlara bağlı olarak lokal, sistemik inflamasyon gibi birçok reaksiyon oluşmaktadır (Carden and Granger 2000).

Literatürde İ/R hasarı çalışmalarda, İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülen çok sayıda ajan kullanılmıştır. SOD, CAT, mannitol, allopurinol, vitamin E, N-asetilsistein, Fe bileşikleri, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri veya kalsiyum kanal antagonistlerinin İ/R hasarına karşı korunmada antioksidan etkinliği olduğu gösterilmiştir (Maxwell and Lip 1997).

Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve yüksek seviyesi postiskemik dokuda serbest radikal oluşumunun bir göstergesidir (Takhtfooladi at al. 2013). Serbest radikallerin artması MDA'nın fazla üretilmesine neden olur. MDA'nın yükselmesi karaciğer İ/R hasarı ile ilişkili bulunmuştur ve hasarın belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kireev et al. 2013, Draper and Hadley 1990, Dalle-Donne et al. 2006). Biz de çalışmamızda lipid peroksidasyon düzeyini tayin etmede akciğer ve karaciğer dokusunda MDA düzeylerini araştırdık. Literatürde karaciğer İ/R hasarı ile ilgili yapılmış çalışmalarda, İ/R hasarı sonrasında MDA seviyelerinin yükseldiği ve antioksidan ajan uygulaması sonrasında ise MDA seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (Takasu et al. 2017, Osman et al. 2017, Aydın et al. 2014, Bayramoğlu ve ark. 2015,). Takasu ve arkadaşları, karaciğer İ/R'de güçlü bir antioksidan olan Dimetil Fumarat'ın (DMF) kemirgen karaciğer üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, İ/R hasarı sonrasında MDA düzeyinin arttığını, DMF tedavisi ile MDA düzeylerinin anlamlı oranda düştüğünü bildirmişler (Takasu et al. 2017). Benzer olarak; karaciğer İ/R hasarı oluşturulan ratlar; iskemik önkoşullama, lisinopril veya verapamil tedavisi uygulanan ratlarla karşılaştırdığında İ/R hasarında serum AST, ALT ve MDA düzeylerinde belirgin yükselme olduğunu ve sonuç olarak da lisinopril veya verapamil ile farmakolojik önkoşullamanın karaciğer İ/R hasarına karşı daha fazla koruma sağladığı bildirilmiştir (Osman et al. 2017) . Aydın ve arkadaşları, MDA düzeylerinin karaciğer İ/R hasarında hem plazmada hem de karaciğer dokusunda belirgin şekilde arttığını ve Hypericum Perforatum tedavisi ile reaktif oksidatif ürünlerinin temizlenmesine bağlı MDA düzeyinin azaldığını bildirmişlerdir (Aydın ve ark. 2014). Bayramoğlu ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada da karaciğer İ/R hasarında Lycopene tedavisinin hasara bağlı artan MDA düzeyini belirgin bir şekilde azalttığı gösterilmiştir (Bayramoğlu ve ark. 2015). Literatürde karaciğer İ/R hasarında akciğer doku MDA düzeylerinin çalışıldığı bir çalışmaya rastlamadık.

Sadece bir çalışmada alt ekstremitte İ/R hasarı modelinde akciğer dokusunda MDA düzeyinin arttığı, lipid emülsiyon uygulamasıyla MDA düzeyinin azaldığını ve bunun akciğer hasarına karşı bir koruma sağlayabileceğini düşünmüşler ancak akciğer dokusunda MDA düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulamadıklarını bildirmişler (Xia et al. 2017). Bizim çalışmamızda ise; karaciğer İ/R hasarından sonra hem karaciğer hem de akciğer doku MDA düzeylerinde artış beklememize rağmen aksine kontrol değerinden daha düşük bulduk. İ/R hasarı sonrası amantadin verdiğimizde ise karaciğer dokusunda MDA düzeyinde artış olurken akciğer dokusunda azaldığını tespit ettik. Bu tezatlığın literatürdeki diğer karaciğer İ/R çalışmalarının hemen hepsinde MDA'nın serumda, bizim çalışmamızda ise dokuda MDA düzeyi bakılması ile ilgili olduğunu düşünüyoruz.

Süperoksit dismutaz enzimi, SOR'lerin temizlenmesinde antioksidan enzim olarak önemli rol oynamaktadır. Literatürde İ/R hasarında SOD düzeyi ile ilgili iki farklı görüş yer almaktadır (Fakouri et al 2017, Sezen ve ark. 2016, Kapan ve ark 2009) . Bunlardan ilkinde; İ/R hasarında doku ve serum örneklerinde SOD aktivite düzeylerinin kontrol gruplarına göre azalmış olduğu ve bu düşüşün oksidan mekanizmaların baskın halde olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Fakouri et al 2017, Sezen ve ark. 2016). Fakouri ve arkadaşları, testiküler İ/R hasarında testis dokusu SOD etkinliğinin önemli ölçüde azaldığını, folik asid uygulaması ile SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını bildirmişlerdir (Fakouri et al 2017). Benzer şekilde, diabetik ratlarda oluşturulan karaciğer İ/R hasarı modelinde hem karaciğer ve hem de böbrek dokusunda SOD enzim aktivitesinin azaldığı, deksmedetomidin uygulamasıyla SOD düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Sezen ve ark. 2016). Diğer görüşte ise; İ/R hasarında SOD aktivite düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiş ve bu artışın oksidatif stres durumundaki stresi bastırabilmek için bir cevap olduğu savunulmuştur (Kapan ve ark 2009). Kapan ve arkadaşları, sıçanlarda oluşturdukları aort İ/R modelinde hasarı takiben akciğer dokusu SOD aktivitesinde anlamlı derecede artış olduğunu ve eritropoetin uygulamaları sonrasında ise anlamlı miktarda azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (Kapan ve ark 2009). Bizim çalışmamızda ise; karaciğer dokusu SOD düzeylerinin ikinci görüşle kısmen uyumlu olduğunu gördük. Yani karaciğer dokusunda İ/R sonrasında SOD aktivitesinde artış

olması ancak amantadinin SOD aktivitesini azaltmayıp hatta daha da arttırması bize amantadinin karaciğer dokusu üzerinde antioksidan etkisinin olmadığını düşündürdü. Ancak akciğer dokusu SOD düzeylerine baktığımızda ise; birinci görüşe benzer, yani İ/R sonrasında SOD aktivitesinde azalma olduğunu ve amantadin uygulamasıyla SOD aktivitesinin arttığını gördük. Bu durum bize uzak organ üzerinde amantadinin oksidan mekanizmalara karşı koruyucu etkisi olduğunu düşündürdü.

Bir diğer antioksidan enzim grubu olan oksidoredüktazlar, en önemli serbest radikal temizleyici sistemlerden biridir ve hücre koruyucu rol oynarlar. CAT da bu antioksidan enzimlerden biridir. CAT, H₂O₂ yıkımını katalize eder ve CAT'ın yüksek kan düzeyleri antioksidan etkinliği gösterir. Farklı dokularda yapılan İ/R çalışmalarında İ/R hasarından sonra CAT düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (Ghasemnejad-Berenji et al. 2017, Sözen ve ark. 2011, Fouad et al. 2009, İnal ve ark. 2006). Hepatik İ/R hasarı çalışmalarında glutamin, deksametazon, allopurinol ve pentoksifilin gibi ajanlar kullanılarak CAT aktivitesinin arttığı ve buna bakarak bu ajanların hepatik İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olabileceği bildirilmiştir (Sözen ve ark. 2011, Fouad et al. 2009, İnal ve ark. 2006). Literatürde İ/R modellerinde uzak organ CAT düzeylerine bakılmış bir çalışmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak karaciğer dokusunda İ/R hasarı sonrası CAT enzim aktivitesinin azaldığını, amantadin uygulaması ile arttığını hem karaciğer hem de akciğer dokusunda gördük. CAT enzim aktivitesindeki bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmamasının denek sayısının azlığıyla ilişkili olduğunu düşünüyoruz.

N-metil-D-aspartat reseptörü; membran kalsiyum kanalı olarak işlev gören, başlangıçta merkezi sinir sisteminde tanımlanan glutamat reseptör ailesinin bir üyesidir (de Resende et al. 2015). Enterik sinir sisteminde NMDA reseptörlerinin varlığı uzun süredir bilinmektedir (Liu et al. 1997). Glutamat salınımı ve NMDA reseptör aktivasyonu sinir dokusunda inflamatuvar yanıtların uyarılmasıyla ilişkilidir (Bolton and Paul 2006). Sıçan akciğerinde NMDA aktivasyonunu takiben doku hasarına neden olan NO ve diğer ROS üretimlerinin olduğu, sinir dokusunda proinflamtuvar sitokinlerin arttığı bildirilmiştir (Said et al. 1995, Chang et al. 2008). NMDA antagonistlerinin, çeşitli organ ve dokularda İ/R hasarına karşı koruyucu

etkileri olduğu bildirilmiştir (Ke et al. 2016, Guzman-De et al. 2010, Camara-Lemarroy et al. 2009) Ke ve arkadaşlarının 104 adet rat ile oluşturduğu siyatik sinir İ/R modelinde bir NMDA reseptör antagonisti olan MK-801'in sistemik enjeksiyonunun TNF- α 'nın aktivasyonunu inhibe ettiği, hücre infiltrasyonunu ve demiyelinizasyonu hafiflettiği, iNOS ve NO aktivitesini azalttığı ve böylelikle rat sinir sistemini İ/R hasarına karşı koruyabileceği ortaya konmuştur (Ke et al. 2016). Camara-Lemarroy ve arkadaşlarının ratlarda oluşturduğu intestinal İ/R modelinde serum AST, LDH, TNF- α , MDA ve P-selektin seviyelerinin yükseldiği, anjiotensin III düzeyinin ve serumda toplam antioksidan kapasitenin azaldığı, barsak mukozasında ciddi hasarlanma olduğu ve ketamin uygulamasıyla bu değişikliklerin anlamlı olarak düzeldiği bildirilmiş (Camara-Lemarroy et al. 2009).

Amantadin bir diğer NMDA reseptör antagonisti ajandır. Literatüre baktığımızda İ/R hasarı modellerinde amantadin ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Ancak; amantadinin nöroprotektif etki mekanizması ile ilgili olarak ratlardan elde edilen hippokampal kesitlerde kortikosteron ile indüklenen CA3-CA1 yolağının anormal glutamaterjik sinaptik iletiminde amantadinin oksidatif stresi azalttığı ve bunu antioksidan özellikteki SOD ve CAT aktivitelerini düzenleyerek oluşturduğunu bildiren tek bir çalışmaya rastladık. Ayrıca bu çalışmada amantadinin nöroprotektif etkisini hücre içine Ca⁺² girişini azaltarak ve apoptozisi önleyerek yaptığını öne sürülmüştür (Xiao et al. 2017). Biz de, amantadinin bir NMDA antagonisti olması sebebiyle İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olabileceğini düşünerek bu çalışmayı planladık ve elde ettiğimiz SOD ve CAT düzeylerine baktığımızda karaciğer İ/R hasarında da hem karaciğer hem de akciğer dokusu üzerinde koruyucu etkisi olabileceğini düşünüyoruz.

Hepatik İ/R hasarı, karaciğerde ve uzak organlarda hasara neden olmaktadır. Karaciğerde histopatolojik olarak; hepatik kordlarda parçalanma, kanama, PMN hücre infiltrasyonu, hepatosit nekrozu, venöz tromboz, kupffer hücrelerinin hiperplazisi, portal ven dilatasyonu olduğu gösterilmiştir (Osman et al. 2017). Diyabetik ratlarda oluşturulan karaciğer İ/R hasarı sonrasında ise; hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, piknotik çekirdek, nekrotik hücre ve mononükleer hücre infiltrasyonunun

daha fazla olduğu bildirilmiştir (Sezen ve ark. 2016). Bizim alışmamızda da karaciğer dokusunda hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, piknotik çekirdek ve PMN hücre infiltrasyonu olduğu, nekroza giden hücre sayısında artış olduğu ve amantadin verildiğinde ise bu değişikliklerde azalma olduğunu gördük.

Akciğer hasarı; karaciğer İ/R'sinden sonra görülen en ciddi komplikasyondur. Akciğer hasarının patogenezi karaciğer kaynaklı sitokin salınımını ile ilişkilendirilmiş ve TNF- α 'nın hem hepatositler üzerinde hem de akciğer dokusu üzerinde zararlı etkileri olduğu dşnlmştir (Colletti et al. 1989, Coletti et al. 1990). Palladini ve arkadaşları, akut karaciğer İ/R hasarının sadece iskemik karaciğer bölgesinde değil akciğer ve böbrekte de histolojik hasar oluşturmakla birlikte akciğere bağlı MMP aktivitesini de arttırdığını bildirmişlerdir (Palladini et al. 2014). Benzer şekilde hepatik İ/R hasarı sonrası akciğerde nekroz, inflamatuvar hücre, kanama ve mikrosteatozun anlamlı olarak arttığını bildirilmiştir (Canedo et al. 2012). şahin ve arkadaşları, karaciğer İ/R hasarında akciğer dokusunda kanama, interstisyel konjesyon, inflamatuvar hücre birikimi ve alveolar septa kalınlaşması gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlemişler ve deksmedetomidin uygulaması sonrasında bu değişikliklerin azaldığını bildirmişlerdir. Bu veriler sonucunda sitokin üretiminin modülasyonunun, deksmedetomidinin anti-inflamatuvar etkilerinin mekanizmalarından biri olabileceği ve hepatik İ/R ile oluşan akciğer hasarını önlemede faydalı olabileceğini öne sürmüşlerdir (şahin ve ark 2017). Diğer çalışmalarla uyumlu olarak biz de İ/R sonrasında akciğer dokusunda nötrofil/lenfosit infiltrasyonu ve alveolar duvar kalınlaşmasında anlamlı derecede artış olduğunu, amantadin uyguladığımızda ise tüm bu değişikliklerin azaldığını gördük.

6. SONUÇ

Sonuç olarak; bir NMDA antagonisti olan ve nöroprotektif etkileri gösterilmiş olan amantadinin; akciğer ve karaciğer dokusu MDA ve SOD düzeylerinde beklediğimizden farklı sonuçlar elde etmiş olsak da, CAT enzim aktivitesinin daha önce yapılan çalışmaları destekler nitelikte olması ve özellikle histopatolojik incelemelerde hipotezimizi destekler sonuçlar elde etmemiz bize amantadinin karaciğer İ/R hasarında hem karaciğer dokusu hem de akciğer dokusu üzerinde koruyucu etkisi olabileceğini düşündürüyor, Çalışmamızdaki en önemli limitasyon gruplardaki denek sayısının az olmasıdır. Literatürde amantadinle ilgili İ/R hasarı çalışması bulunmaması sebebiyle bu konuyla ilgili daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Abdel-Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS. (1999). Ochratoxicosis: prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats. *Journal of applied toxicology*. 19(1):7-12.
- Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 78:6858-6862.
- Arkadopoulos N, Kalimeris K, Papalois A, Nastos C, Papoutsidakis N, Defterevos G, Zarkadis IK, Mikrou A, Pafiti A, Andreadou I, Kostopanagiotou G, Smyrniotis V. (2010). Treatment with bioartificial liver improves lung injury in a swine model of partial hepatectomy and ischemia/reperfusion. *International Journal of Artificial Organs*. 33(2):105-113.
- Aydın A, Sakrak O, Yilmaz TU, Kerem M. (2014). The effects of *Hypericum perforatum* on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Bratislava Medical Journal*. 115 (4):209-215.
- Back T, Otto D, Kittner D, Schüler OG, Hennerici MG, Mennel HD. (2007). Failure to improve the effect of thrombolysis by memantine in a rat embolic stroke model. *Neurol Res*. 29:264-269.
- Bakiri, Y., Hamilton, N.B., Káradóttir, R., Attwell, D. (2008). Testing NMDA receptor block as a therapeutic strategy for reducing ischaemic damage to CNS white matter. *Glia* 56 (2):233–240.
- Bauer M, Bauer I. (2002). Heme oxygenase-1: Redox regulation and role in the hepatic response to oxidative stress. *Redox Signal* 4:749-758.
- Bayramoğlu G, Bayramoğlu A, Altuner Y, Uyanoglu M, Çolak S. (2015). The effects of lycopene on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Cytotechnology*. 67:487–491.

- Behrends M, Hirose R, Park YH, Tan V, Dang K, Xu F, Park SH, Niemann CU. (2008). Remote renal injury following partial hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 12(3):490–495.
- Betteridge DJ. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism*. 49:3-8.
- Bilzer M, Paumgartner G, Gerbes AL. (1999). Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after hypothermic preservation. *Gastroenterology*. 117:200-210.
- Birlouez-Aragon I, Tessier FJ. (2003). Antioxidant vitamins and degenerative pathologies. A review of vitamin C. *J Nutr Health Aging*. 7:103-109.
- Bolton C, Paul C. (2006). Glutamate receptors in neuroinflammatory demyelinating disease. *Mediat. Inflamm*. 2006(2):93684:1–12.
- Buja LM. (2005). Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc Pathol*. Jul-Aug;14(4):170-5.
- Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-De La Garza FJ, Alarcón-Galván G, Cordero-Pérez P, Fernández-Garza NE. (2009). The effects of NMDA receptor antagonists over intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *European Journal of Pharmacology*. 621:78–85.
- Canedo LF, Lima GV, Machado MCC. (2012). Pulmonary effects after partial liver ischemia and reperfusion – experimental model. *Revista Do Colegio Brasileiro De Cirurgioes*. 39(3): 216-221.
- Carden DL, Granger DN. (2000). Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *Journal of Pathology*. 190(3):255–266.
- Chang YC, Kim HW, Rapoport SI, Rao JS. (2008). Chronic NMDA administration increases neuroinflammatory markers in rat frontal cortex: cross-talk between excitotoxicity and neuroinflammation. *Neurochem. Res*. 33:2318–2323.

- Clavien PA, Harvey PR, Sanabria JR, Cywes R, Levy GA, Strasberg SM. (1993). Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver: Mechanisms and effects. *Hepatology*. 17:131-142.
- Collard CD, Gelman S. (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 94(6):1133-8.
- Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL. (1999). Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol*. 36:941-8.
- Colletti LM, Burtch GD, Remick DG, Kunkel SL, Strieter RM, Guice KS, Oldham KT, Campbell DA Jr. (1989). Production of tumor necrosis factor alpha and the development of a pulmonary capillary injury following hepatic ischemia/reperfusion. *Transplantation*. 49:268-272.
- Colletti LM, Cortis A, Lukacs N, Kunkel SL, Green M, Strieter RM. (1998). Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat. *Shock*. 10(3):182-191.
- Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA. (1990). Role of tumor necrosis factor- α in the pathophysiologic alterations following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *J Clin Invest*. 85:1936-1943.
- Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, Burdick MD, Kunkel RG, Wilke CA, Strieter RM. (1995). Chemokine expression during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in the rat. The role of epithelial neutrophil activating protein. *Journal of Clinical Investigation*. 95(1):134-141.
- Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. (2001). Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev*. 53:135-159.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. (2006). Biomarkers of oxidative stress in human disease. *Clin. Chem*. 52:601-623.

- Danysz W, Parsons CG, Kornhuber J, Schmidt WJ, Quack G. (1997). Aminoadamantanes as NMDA receptor antagonists and antiparkinsonian agents--preclinical studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 21(4):455-468.
- Datta G, Fuller BJ, Davidson BR. (2013). Molecular mechanisms of liver ischemia reperfusion injury: insights from transgenic knockout models. *World Journal Of Gastroenterology.* March 21;19 (11):1683-1698.
- De GH, Rauen U. (2007). Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. *Transplant Proc.* 39:481-4.
- De Resende MA, Pantoja AV, Barcellos BM, Reis EP, Consolo TD, Modolo RP, Domingues MA, Assad AR, Cavalcanti IL, Castiglia YM, Modolo NS. (2015). Ischemic Postconditioning and subanesthetic S(+)-ketamine infusion: effects on renal function and histology in rats. *Biomed Res Int.* 2015:1-8.
- Domino EF, Chodoff P, Corssen G. (1965). Pharmacologic effects of Ci-581, a new dissociative anesthetic, in man. *Clin Pharmacol Ther.* 6:279-91.
- Draper H, Hadley M. (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186:421-431.
- Dufaure JP, Lareyre JJ, Schwaab V, Mattei MG, Drevet JR. (1996). Structural organization, chromosomal localization, expression and phylogenetic evaluation of mouse glutathione peroxidase encoding genes. *C R Acad Sci III.* 319:559-568.
- Duman RS, Li N, Liu RJ, Duric V, Aghajanian G. (2012). Signaling pathways underlying the rapid antidepressant actions of ketamine. *Neuropharmacology.* 62(1):35-41.
- Fakouri A, Asghari A, Akbari G, Mortazavi P. (2017). Effects of folic acid administration on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 32(9):755-766.

- Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. (1999). Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med.* 77:577-592.
- Fantini GA, Conte MS. (1995). Pulmonary failure following lower torso ischemia: clinical evidence for a remote effect of reperfusion injury. *Am J surg.* 61:316-9.
- Farnebo LO, Fuxe K, Goldstein M, Hamberger B, Ungerstedt U. (1971). Dopamine and noradrenaline releasing action of amantadine in the central and peripheral nervous system: a possible mode of action in Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol.* 16(1):27-38.
- Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. (2003). Hepatic ischemia/reperfusion injury-a fresh look. *Exp Mol Pathol.* 74:86-93.
- Fouad AA, El-Bidawy MH, Uddin AM, Yacoubi MT. (2009). A Preliminary Study of Dexamethasone Against Ischemia/Reperfusion Liver Injury in Rats. *International Journal of Pharmacology.* 5:155-161.
- Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, Ravina B, Seppi K, Coelho M, Poewe W, Rascol O, Goetz CG, Sampaio C. (2011). The Movement Disorder Society evidence-based medicine review update: treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 26(3):S2-S41 .
- Ghasemnejad-Berenji M, Ghazi-Khansari M, Yazdani I, Saeedi Saravi SS, Nobakht M, Abdollahi AR, Mohajer Ansari J, Ghasemnejadberenji H, Pashapour S, Dehpour AR. (2017). Rapamycin protects testes against germ cell apoptosis and oxidative stress induced by testicular ischemia-reperfusion. *Iran J Basic Med Sci.* 20:905-911.
- Glantzounis G, Tsimoyiannis E, Kappas AM, Galaris DA. (2005). Uric acid and oxidative stress. *Curr Pharm Des.* 11(32):4145-51.
- Glatzounis GK, Salacinski H, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. (2005). The Contemporary Role of Antioxidant Therapy in Attenuating Liver Ischemia-Reperfusion Injury: A Review. *Liver Transpl.* 11:1031-1047.

- Gonzalez-Flecha B, Cutrin JC, Boveris A. (1993). Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J Clin Invest.* 91:456-464.
- Guo X, Shin VY, Cho CH. (2001). Modulation of heme oxygenase in tissue injury and its implication in protection against gastrointestinal diseases. *Life Sci.* 69:3113-3119.
- Gutteridge JM. (1989). Iron and oxygen: a biologically damaging mixture. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 361:78-85.
- Gutteridge JM. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41:1819-1828.
- Guzmán-De La Garza FJ, Cámara-Lemarroy CR, Ballesteros-Elizondo RG, Alarcón-Galván G, Cordero-Pérez P, Fernández-Garza NE. (2010). Ketamine reduces intestinal injury and inflammatory cell infiltration after ischemia/reperfusion in rats. *Surgery Today.* 40(11):1055–1062.
- Halliwell B, Gutteridge J. (1999). Antioxidant defences. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, eds. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press. 105-245.
- Halliwell B, Gutteridge JM. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 280:1-8.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press.
- Hanna PM, Mason RP. (1992). Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu(I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spin-trapping technique. *Arch Biochem Biophys.* 295:205-213.

- Harada N, Iimuro Y, Nitta T, Yoshida M, Uchinami H, Nishio T, Hatano E, Yamamoto N, Yamamoto Y, Yamaoka Y. (2003). Inactivation of the small GTPase Rac1 protects the liver from ischemia/reperfusion injury in the rat. *Surgery*. 134:480-491.
- Himmelseher S, Durieux, M.E. (2005). Revising a dogma: ketamine for patients with neurological injury. *Anesth. Analg.* 101, 524–553.
- Hirota K, Nakamura H, Masutani H, Yodoi J. (2002). Thioredoxin superfamily and thioredoxin-inducing agents. *Ann N Y Acad Sci.* 957:189-199.
- Hirota K. (2006). Special cases: ketamine, nitrous oxide and xenon. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 20(1):69-79.
- Hubsher G, Haider M, Okun MS. (2012). Amantadine: the journey from fighting flu to treating Parkinson disease. *Neurology.* 78(14): 1096-1099.
- Ischiropoulos H, Zhu L, Beckman JS. (1992). Peroxynitrite formation from macrophage-derived nitric oxide. *Arch Biochem Biophys.* 298:446-451.
- İnal M, Kanbak G, Adali M. (2006). Prevention of Ischemia-Reperfusion-Induced Oxidative Injury in Liver by Allopurinol and Pentoxifylline. *Transplantationsmedizin.* 18: 29-32.
- Jaeschke H, Farhood A. (1991). Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol.* 260:G355-G362.
- Jaeschke H. (2000). Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 15:718-724.
- Jaeschke H. (2002). Xanthine oxidase-induced oxidant stress during hepatic ischemia-reperfusion: Are we coming full circle after 20 years?. *Hepatology.* 36:761-763.
- Jaeschke H. (2003). Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 284:G15–G26.

- Jang JH, Kang KJ, Kang Y, Lee IS, Graf R, Clavien PA. (2008). Ischemic preconditioning and intermittent clamping confer protection against ischemic injury in the cirrhotic mouse liver. *Liver Transpl.* 14:980-8.
- Jennings RB, Reimer KA. (1991). The Cell Biology of acute myocardial ischemia. *Annu. Rev. Med.* 42:225-46.
- Jiang H, Meng F, Li W, Tong L, Qiao H, Sun X. (2007). Splenectomy ameliorates acute multiple organ damage induced by liver warm ischemia reperfusion in rats. *Surgery.* 141(1):32–40.
- Kalimeris K, Nastos C, Papoutsidakis N, Xanthopoulou MN, Defterevos G, Tympa A, Pafiti A, Andreadou I, Kostopanagioutou G, Smyrniotis V, Arkadopoulou N. (2010). Iron chelation prevents lung injury after major hepatectomy. *Hepatology Research.* 40(8):841–850.
- Kang SW, Chae HZ, Seo MS, Kim K, Baines IC, Rhee SG. (1998). Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factor- α . *J Biol Chem.* 273:6297-6302.
- Kapan Ş, Kiriş İ, Kılbaş A, Altuntaş İ, Karahan N, Okutan H. (2009). The effect of erythropoietin on lung injury in rat aortic ischemia-reperfusion. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 17(2):110-116.
- Karl D, Burke D, Kim H et al. (1999). Effects of dopaminergic combination in traumatic brain injury rehabilitation. *Brain Injury.* 13:63–68.
- Kato R, Foëx P. (2002). Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia–reperfusion injury: an update for anesthesiologists. *Can. J. Anaesth.* 49(8), 777–791.
- Ke T, Li R, Chen W. (2016). Inhibition of the NMDA receptor protects the rat sciatic nerve against ischemia/reperfusion injury. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 11:1563-1572.

- Kireev R, Bitoun S, Cuesta S, Tejerina A, Ibarrola C, Moreno E, Vara E, Tresguerres JA. (2013). Melatonin treatment protects liver of Zucker rats after ischemia/reperfusion by diminishing oxidative stress and apoptosis. *Eur J Pharmacol.* 701: 185-193.
- Knittel T, Mehde M, Kobold D, Saile B, Dinter C, Ramadori G. (1999). Expression patterns of matrix metalloproteinases and their inhibitors in parenchymal and non-parenchymal cells of rat liver: regulation by TNF- α and TGF- β 1. *Journal of Hepatology.* 30(1):48–60.
- Kraus M, Maki P. (1997). Case report: the combined use of amantadine and l-dopa/carbidopa in the treatment of chronic brain injury. *Brain Injury.* 11:455–460.
- Layton ME, Wood JG, Yan ZY, Forster J. (1996). Ischemia/reperfusion alters uric acid and ascorbic acid levels in liver. *J Surg Res.* 64:1-5.
- Lee, HT, Ota-Setlik A, Fu Y, Nasr SH, Emala CW. (2004). Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia–reperfusion injury in vivo. *Anesthesiology.* 101, 1313–1324.
- Lemaire LCJM, van Wagenveld BA, van Gulik TM, Dankert J, van Lanschot JJB, Gouma DJ. (1999). Bacterial translocation to the thoracic duct in a setting of ischemia, partial resection and reperfusion of the porcine liver. *Digestive Surgery.* 16(3):222–228.
- Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. (2000). Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology.* 32:169-173.
- Liebler DC, McClure TD. (1996). Antioxidant reactions of beta-carotene: Identification of carotenoid-radical adducts. *Chem Res Toxicol.* 9:8-11.
- Liu MT, Rothstein JD, Gershon M, Kirchgessner AL. (1997) Glutamatergic enteric neurons. *J. Neurosci.* 17:4764–4784.

- Liu TZ, Lee KT, Chern CL, Cheng JT, Stern A, Tsai LY. (2001). Free radical-triggered hepatic injury of experimental obstructive jaundice of rats involves overproduction of proinflammatory cytokines and enhanced activation of nuclear factor kappaB. *Ann Clin Lab Sci.* 31:383-390.
- MacDonald JF, Miljkovic Z, Pennefather P. (1987). Use-dependent block of excitatory amino acid currents in cultured neurons by ketamine. *J Neurophysiol.* 58(2):251-66.
- Marczin N, El Habashi N, Hoare GS, Bundy RE, Yacoub M. (2003). Antioxidants in myocardial ischemia-reperfusion injury: Therapeutic potential and basic mechanisms 1. *Arch Biochem Biophys.* 420:222-236.
- Matsuda T, Yamaguchi Y, Matsumura F, Akizuki E, Okabe K, Liang J, Ohshiro H, Ichiguchi O, Yamada S, Mori K, Ogawa M. (1998). Immunosuppressants decrease neutrophil chemoattractant and attenuate ischemia/reperfusion injury of the liver in rats. *J Trauma.* 44:475-484.
- Maxwell SR, Lip GY. (1997). Reperfusion injury: A review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol.* 58:95–117.
- Meister A. (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem.* 263:17205-17208.
- Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A. (2004). Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. *Metab Brain Dis.* Dec;19(3-4):151-67.
- Metman LV, Del Dotto P, LePoole K, Konitsiotis S, Fang J, Chase TN. (1995). Amantadine for levodopa-induced dyskinesias: a 1-year follow-up study. *Arch Neurol.* 56(11):1383-1386.
- Nielsen VG, Tan S, Baird MS, Samuelson PN, McCammon AT, Parks DA. (1997). Xanthine oxidase mediates myocardial injury after hepatoenteric ischemia-reperfusion. *Critical Care Medicine.* 2(6):1044–1050.

- Nieminen AL, Byrne AM, Herman B, Lemasters JJ. (1997). Mitochondrial permeability transition in hepatocytes induced by t-BuOOH: NAD(P)H and reactive oxygen species. *Am J Physiol.* 272:C1286–C1294.
- Nohl H, Gille L, Kozlov A, Staniek K. (2003). Are mitochondria a spontaneous and permanent source of reactive oxygen species?. *Redox Rep.* 8:135-141.
- Ory-Magne F, Corvol JC, Azulay JP, Brefel-Courbon C, Damier P, Dellapina E, Destée A, Durif F, Galitzky M, Lebouvier T, Meissner W, Thalamas C, Tison F, Salis A, Sommet A, Viallet F, Vidailhet M, Rascol O, NS-Park CIC Network. (2014). Withdrawing amantadine in dyskinetic patients with Parkinson disease: the AMANDYSK trial. *Neurology* 82(4):300-307.
- Osman AS, Osman AH, Kamel MM. (2017). Study of the protective effect of ischemic and pharmacological preconditioning on hepatic ischemic reperfusion injury induced in rats. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 1:105–111.
- Pahwa R, Factor SA, Lyons KE, Ondo WG, Gronseth G, Bronte-Stewart H, Hallett M, Miyasaki J, Stevens J, Weiner WJ. (2006). Practice Parameter: treatment of Parkinson disease with motor fluctuations and dyskinesia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 66(7):983-995.
- Palladini G, Ferrigno A, Rizzo V, Tarantola E, Bertone V, Freitas I, Perlini S, Richelmi P, Vairetti M. (2014). Lung Matrix Metalloproteinase Activation following Partial Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Scientific World Journal.* 23;2014:867548.
- Panés J, Perry M, Granger DN. (1999). Leukocyte endothelial cell adhesion: Avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol.* 126:537–50.
- Pantazi E, Bejaoui M, Folch-Puy E. (2016). Advances in treatment strategies for ischemia reperfusion injury. *Expert Opin Pharmacother.* 17(2):169-79.

- Peralta C, Perales JC, Bartrons R, Mitchell C, Gilgenkrantz H, Xaus C, Prats N, Fernández L, Gelpí E, Panés J, Roselló-Catafau J. (2002). The combination of ischemic preconditioning and liver Bcl-2 overexpression is a suitable strategy to prevent liver and lung damage after hepatic ischemia-reperfusion. *American Journal of Pathology*. 160(6):2111–2122 .
- Reyes AJ, Leary WP. (2003). The increase in serum uric acid induced by diuretics could be beneficial to cardiovascular prognosis in hypertension: A hypothesis. *J Hypertens* 21:1775-1777.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 20:933-956.
- Rudiger HA, Clavien PA. (2002). Tumor necrosis factor alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology*. 122:202-210.
- Said SI, Berisha HI, Pakbaz H. (1995). N-methyl-D-aspartate receptors outside the central nervous system: activation causes acute lung injury that is mediated by nitric oxide synthesis and prevented by vasoactive intestinal peptide. *Neuroscience*. 65:943–946.
- Schwab RS, England AC Jr, Poskanzer DC, Young RR. (1969). Amantadine in the treatment of Parkinson's disease. *JAMA* 208(7):1168-1170.
- Seo MS, Kang SW, Kim K, Baines IC, Lee TH, Rhee SG. (2000). Identification of a new type of mammalian peroxiredoxin that forms an intramolecular disulfide as a reaction intermediate. *J Biol Chem*. 275:20346-20354.
- Sezen SC, Işık B, Bilge M, Arslan M, Çomu FM, Öztürk L, Kesimci E, Kavutçu M. (2016). Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury of liver and kidney tissues in experimental diabetes and hepatic ischemia-reperfusion injury induced rats. *Anaesth Pain & Intensive Care*. 20(2):143-149.

- Shahidi F, Wanasundara PK. (1992). Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32:67-103.
- Sies H. (1991) *Oxidative Stress II Oxidants and Antioxidants*. London:Academic Press.
- Sinner, B, Graf, BM. (2008). Ketamine. *Handb. Exp. Pharmacol.* 182:313–333.
- Sonkusare SK, Kaul CL, Ramaro P. (2005). Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders--memantine, a new hope. *Pharmacological Research*. 51:1-17.
- Sözen S, Kısakürek M, Yıldız F, Gönültaş M, Dinçel AS. (2011). The effects of glutamine on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Hippokratia*. 15(2):161-166.
- Sutton HC, Winterbourn CC. (1989). On the participation of higher oxidation states of iron and copper in Fenton reactions. *Free Radic Biol Med*. 6:53-60.
- Suzuki S, Toledo-Pereyra LH, Rodriguez FJ, Cejalvo D. (1993). Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine. *Transplantation*. 55:1265-1272.
- Symmetrel (amantadine hydrochloride, USP) [prescribing information]. (2009). Chadds Ford, PA: Endo Pharmaceuticals Inc.
- Şahin T, Begeç Z, Elbe H, Vardı N, Durmuş M, Ersoy MÖ. (2017). Dexmedetomidine attenuates lung injury induced by liver ischemiareperfusion injury in rats. *Biomedical Research*. 28(6):2452-2455.
- Takasu C, Vaziri ND, Li S, Robles L, Vo K, Takasu M, Pham C, Farzaneh SH, Shimada M, Stamos MJ, Ichii H. (2017). Treatment with dimethyl fumarate ameliorates liver ischemia/reperfusion injury. *World J Gastroenterol* 23(25):4508-4516.

- Takhtfooladi MA, Jahanshahi A, Sotoudeh A, Daneshi MH, Khansari M, Takhtfooladi HA. (2013). The antioxidant role of N-acetylcysteine on the testicular remote injury after skeletal muscle ischemia and reperfusion in rats. *Pol J Pathol.* 64(3):204-9.
- Toyokuni S. (1999). Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int.* 49:91–102.
- Traber MG. (1994). Determinants of plasma vitamin E concentrations. *Free Radic Biol Med.* 16:229-239.
- Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: An overview. *Curr Pharm Des.* 10:1677-1694.
- Xia F, Xia Y, Chen S, Chen L, Zhu W, Chen Y, Papadimos TJ, Xu X, Liu L. (2017). Lipid emulsion mitigates impaired pulmonary function induced by limb ischemia/reperfusion in rats through attenuation of local cellular injury and the subsequent systemic inflammatory. *BMC Anesthesiology* 17:83.
- Xiao X, Zhang H, Wang H, Li Q, Zhang T. (2017). Neuroprotective effect of amantadine on corticosteron-induced abnormal glutamatergic synaptic transmission of CA3-CA1 pathway in rat's hippocampal slices. *Synapse.* 71: e22010.
- Yokoyama Y, Nagino M, Nimura Y. (2007). Which gender is better positioned in the process of liver surgery? Male or female?. *Surg Today.* 37:823-30.
- Young CS, Palma JM, Mosher BD, Harkema J, Naylor DF, Dean RE, Crockett E. (2001). Hepatic ischemia/reperfusion injury in P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 double-mutant mice. *Am Surg.* 67(8):737-44.
- Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, Schlossberg H, Dudus L, Engelhardt JF. (1997). CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest.* 100:279-289.

8. ÖZGEÇMİŞ

Ad: Fatih
Soyad: ŞAHİN
Doğum Yeri: Niksar
Doğum Tarihi: 10.01.1991
Görev Yeri: Sakarya
Yabancı Dil: İngilizce
E-Posta Adresi: tyflfatih16@hotmail.com

Tarih	Eğitim
2007 - 2013	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi
2013 - 2018	Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD

Varsa, İyi Klinik Uygulamalar Kapsamında Aldığı Eğitimler
2017 İleri Yaşam Destekleği Uygulayıcı Kursu (ERC) Uygulayıcı Sertifikası

Akademik Ünvanları
2013 - 2018 Araştırma Görevlisi

İş Tecrübesi
2013 - 2018 Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD. (5 yıl)

Varsa, Araştırmacı Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar

Varsa, Monitör/İzleyici Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar

Varsa, Saha Görevlisi Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar

YAYIN LİSTESİ

1. Beyaz SG, Sahin F, Eman A. (2017). A Cervical Epidural Abscess After the Racz Procedure in a Patient with Failed Cervical Surgery Syndrome. Pain Med. 18(10):2045-2047
2. Tuna AT, Sahin F, Kotan D, Erdem AF, Baykara M, Duzcan T. (2017). Spinal anaesthesia for a caesarean section in a patient with paraneoplastic cerebellar ataxia. Indian J Anaesth. 61(4):344-346

KATILDIĞI KONGRELER VE SEMİNERLER

1. 9. Klinik Enteral ve Parenteral Beslenme Kongresi 18-22 Mart 2015
2. 49. Ulusal Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi 2-6 Aralık 2015 (TARK)
3. 18. Ulusal Yoğun Bakım Kongresi (Uluslararası katılımlı) 6-10 Nisan 2016
4. 14. Ulusal Ağrı Kongresi 03-06 Kasım 2016
5. Kanamalı Cerrahilerde Perioperatif Hematolojik Sorunlar ve Çözümler ‘TARD Farkındalık Toplantısı’ 10 Şubat 2018
6. 5. TARD Asistan Okulu 06-08 Nisan 2018