

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**DESFLURAN ANESTEZİSİ UYGULANAN SIÇANLARDA
KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA FULLERENOL
C60'IN KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ESAT KASAPBAŞI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MUSTAFA ARSLAN**

**ANKARA
EKİM 2023**

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

**DESFLURAN ANESTEZİSİ UYGULANAN SIÇANLARDA
KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA FULLERENOL
C60'IN KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ESAT KASAPBAŞI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MUSTAFA ARSLAN**

**ANKARA
EKİM 2023**

TEZ TUTANAĞI

Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Esat KASAPBAŞI “Desfluran Anestezisi Uygulanan Sıçanlarda Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Fullerenol C60’ın Karaciğer Dokusu Üzerine Etkisi” konulu uzmanlık tezi anabilim dalımızda incelendiğinde 3 sayfa giriş, 23 sayfa genel bilgiler, 4 sayfa gereç ve yöntem, 4 sayfa bulgular, 7 sayfa tartışma ve sonuç, 2 sayfa özet saptanmıştır. Adı geçen doktor tarafından 30/10/2023 tarihinde teslim edilen tezi, tez danışmanı Prof. Dr. Mustafa ARSLAN ve sınav jüri üyeleri tarafından incelenerek oy birliğı ile “uzmanlık tezi olarak kabul edilmesine” karar verilmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ TUTANAĞI	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 İSKEMİ VE REPERFÜZYON	4
2.2 KARACİĞER İSKEMİSİ VE REPERFÜZYONU	6
2.2.1 Patofizyoloji.....	8
2.2.1.1.Serbest Radikaller	8
2.2.1.2. İnflamatuar Mediyatörler	14
2.2.1.2.1 Sitokinler	14
2.2.1.2.2 Nükleer Faktör-KB (NF- KB)	15
2.2.1.3 Kompleman (C) Sistemi	16
2.2.1.4. Serbest oksijen radikalleri	18
2.3 ANTİOKSİDANLAR.....	22
2.3.1. Nanopartiküller.....	23
2.3.1.1 Fullerenol C60.....	24
2.4. GENEL ANESTEZİ YÖNTEMLERİ.....	24

2.4.1. Desfluran.....	24
2.5. HAYVAN DENEYLERİNDE SIÇANLARIN KULLANIMI.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. DENEK SEÇİMİ	27
3.2. KULLANILAN YÖNTEMLER.....	28
3.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	30
3.4. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME:	31
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	32
4. BULGULAR	33
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	33
4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	46
8. ÖZET	56
9. ABSTRACT	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1: İSKEMİ FAZİ	5
ŞEKİL 2: REPERFÜZYON FAZİ.....	6
ŞEKİL 3:REAKTİF OKSİJEN ÜRÜNLERİNİN SENTEZİ VE DETOKSİFİKASYONU	10



RESİMLER DİZİNİ

RESİM 1: ORTA HAT ABDOMİNAL LAPARATOMİ.....	29
RESİM 2: PORTA HEPATİSE MİKROVASKÜLER KLEMP KONULMASI.....	29
RESİM 3: GRUP K;	34
RESİM 4: GRUP İ/R	35
RESİM 5: GRUP-İ/R-D	35
RESİM 6: GRUP İ/R-F	36
RESİM 7: GRUP İ/R-F-D	36

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1: OKSİJEN TÜREVİ BİLEŞİKLER	11
TABLO 2: SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN KAYNAKLARI	12
TABLO 3: ENZİMATİK VE ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR	22
TABLO 4: GRUPLARIN DAĞILIMI.....	27
TABLO 5: RAT KARACİĞER DOKUSU HİSTOPATOLOJİK BULGULARI [ORT ± SH]	34
TABLO 6: RAT KARACİĞER DOKUSU OKSİDAN DURUM PARAMETRELERİ (ORT ± SH)...	38

KISALTMALAR

ARE: Arilesteraz

ATP: Adenozin trifosfat

ATPaz: Adenozin trifosfataz

CAT: Katalaz

CO: Karbon monoksit

DAB: Diyastolik arter basıncı

dk: Dakika

DNA: Deoksiribonükleik asit

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

GSH: Glutasyon

GST: Glutasyon-S-transferaz

GPX: Glutasyon peroksidaz

HDKA: Hepatik doku kan akımı

ICAM-1: İntrasellüler adezyon molekülü-1

IL: İnterlökin

IKB: İnhibitör-KB

iNOS: İndüklenebilir NO sentaz

İ/R: İskemi/reperfüzyon

iv: İntravenöz

GSSG: Glutasyon sülfid

KAH: Kalp atım hızı

K-ATP: ATP-duyarlı potasyum kanalı

KC: Karaciğer

MAK: Minimum alveolar konsantrasyon

MDA: Malondialdehit

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NO: Nitrik oksit

NF-KB: Nükleer transkripsiyon faktörü- KB

OAB: Ortalama arter basıncı

O₂: Oksijen

PNL: Polimorfonükleer lökosit

ROM: Reaktif oksijen molekülleri

SAB: Sistolik arter basıncı

SOD: Süperoksit dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

SpO₂: Periferik oksijen satürasyonu

TNF: Tümör nekroz faktörü

VHAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

1. GİRİŞ

Karaciğer (KC) transplantasyonu, rezeksiyon cerrahisi ve travma cerrahisi sırasında kan akımının geçici olarak kesintiye uğratılması sık uygulanan bir cerrahi prosedürdür. Kesintinin sonlandırılması ile kan akımının ve oksijenin (O_2) tekrar temin edilmesini tanımlayan reperfüzyon dönemi, iskemik dönemde meydana gelen hücresel düzeydeki hasarı kötüleştirmektedir. Bu fenomen “iskemi-reperfüzyon hasarı” (İ/R) olarak bilinmektedir (1, 2).

Hepatik doku kan akımı (HDKA) ile hepatositlere O_2 sunumu ve tüketimi arasındaki denge, karaciğer metabolizması için temel bir faktördür. HDKA’daki azalma, hepatik enerji metabolizmasının bozulmasına, oksidatif fosforilasyondaki azalma ise adenosin trifosfat (ATP) düzeyinin azalmasına ve kalsiyum homeostazisinin bozulmasına neden olmaktadır. ATP katabolizmasının zararlı etkileri; serbest oksijen radikalleri, adezyon molekülleri, endotelin ve tromboksan- A_2 gibi birçok molekülün üretimini arttırırken, eş zamanlı olarak sitoprotektif moleküllerdeki azalma sonucu hepatik hücre nekrozuna ve apoptozise neden olmaktadır. İskemi sonrasındaki reperfüzyon, aktiveleşen Kupffer hücrelerinden ve nötrofillerden inflamatuvar yanıt ile ilişkili intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), interlökin (IL)-1 β , IL-8, tümör nekroz faktörü (TNF)- α gibi birçok transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikler. Uzun süreli iskemi dönemlerinden sonra doku reperfüzyonu ve oksijenin iskemik alana hızlı girişi, Kupffer hücrelerinde serbest oksijen radikalleri (SOR)’nin üretimine neden olur. SOR, Malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşmasına ve reperfüzyona bağlı doku hasarına neden olabilir.

Volatil anestetiklerden biri olan desfluran, biyotransformasyona dirençli bir ajandır ve sadece % 0,01-0,02'si metabolize olmaktadır. Diğer volatil anesteziklerle karşılaştırıldığında desfluran plazma ve dokularda daha az solubiliteye sahiptir (3). hepatik kan akımını daha iyi koruduğu ve daha az toksisiteye sahip olduğu için hepatobilier cerrahilerde öncelikli olarak tercih edilmektedir (4). Nükleer transkripsiyon faktörü-KB (NF-KB) aktivasyonunu inhibe ederek hücre koruyucu etki gösterir (5). Desfluran anestezisinin çeşitli çalışmalarda İ/R hasarına karşı NF-KB'nin indüksiyonu ve apoptozisin azaltılması, ısı şok proteinlerinin indüksiyonu, ATP sentezinde iyileşme, mitokondride SOR oluşumunda azalma, iskemi ile indüklenen polimorfonükleer lökosit (PML) adezyonunun inhibisyonu, ICAM-1 aracılı indüklenebilir Nitrik Oksit Sentazın artmış ekspresyonu, seçici olarak aktive edilen mitokondriyal ATP-duyarlı potasyum kanalı (K-ATP) kanalları aracılığı ile koruyucu olduğu gösterilmiştir (6).

Fullerenol C60 (OH), fulleren'in suda çözünür bir analogudur ve yüzeyi 60 karbon atomundan oluşan küresel bir moleküldür. Biyolojik sistemlerde, anti-tümör, anti-inflamatuar ve hepatoprotektif özellikleriyle sonuçlanan serbest radikallerin temizleyicisi olarak hareket edebilir. İn vivo ve in vitro çalışmalar, polihidroksillenmiş fullerenlerin yüksek antioksidatif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Fullerene bağlı antioksidan etki, yüzeydeki çift π bağlarının yeniden düzenlenmesine bağlıdır. Bu yüksek antioksidan etkinin yanı sıra, çalışmalar fullerenlerin radikal süpürücü etkisi aktivite, antigenotoksik etki ve ilaca bağlı toksisiteye karşı koruma gösterdiğini bildirmiştir (7, 8).

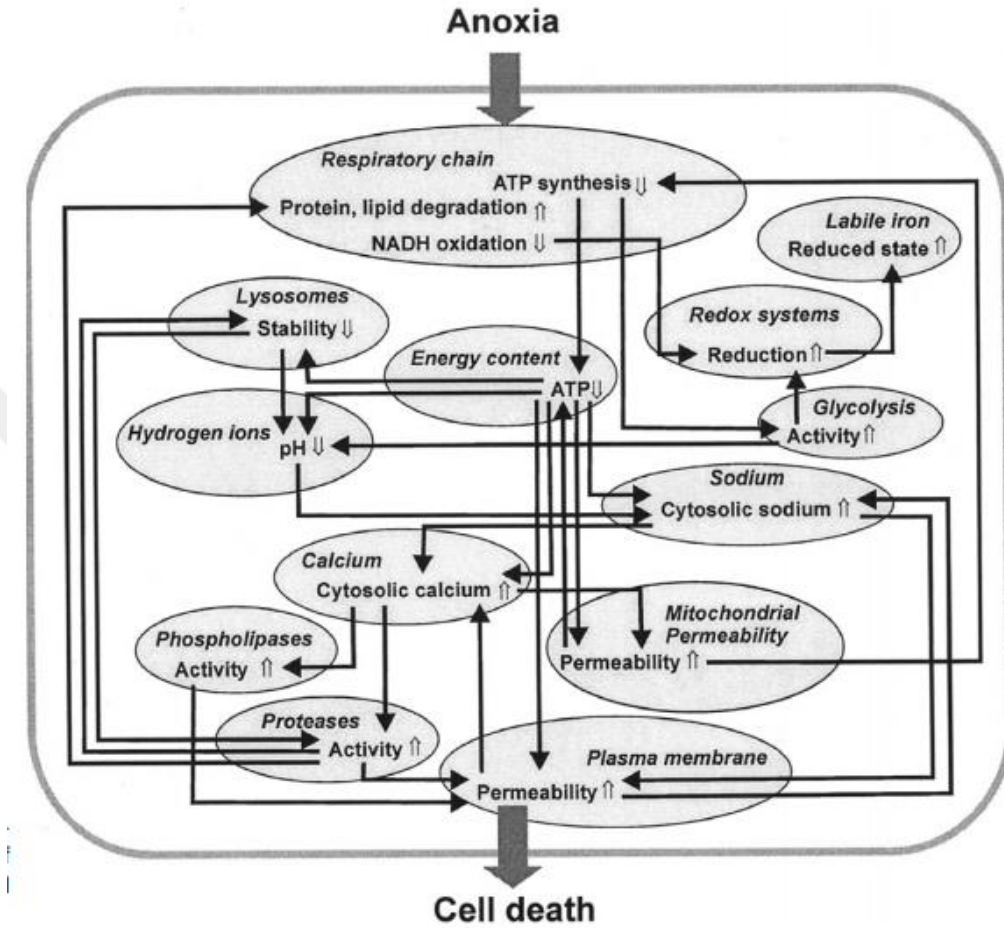
Bu çalışmada ratlarda oluşturulan hepatik İ/R modelinde desfluran anesteziinin ve fullerenol C60'ın karaciğer dokusu üzerindeki biyokimyasal ve histopatolojik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 İskemi ve Reperfüzyon

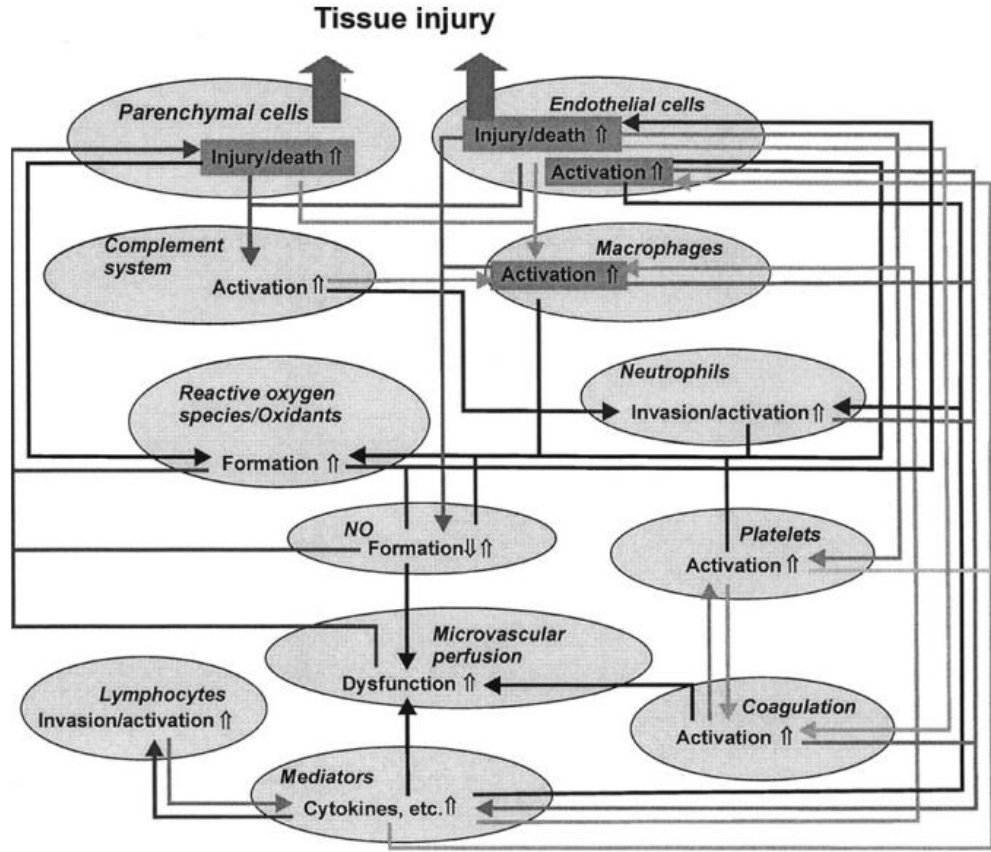
İskemik fazda, iskeminin temelini O_2 bağımlı hücrelerin (kardiyomiyositler, nöronlar, hepatositler, renal tübüler hücreler ve intestinal epitelyal hücreler) anoksik hasarı oluşturmaktadır. Anoksik hasar, mitokondriyal enerji üretiminin (ATP sentezi, oksidatif fosforilasyon) azalmasıyla başlar ve böylece hücresel düzeyde ATP eksikliği ortaya çıkar. Enerji eksikliğinden dolayı hücresel iyon dengesinde bozukluk, hidrolazların aktivasyonu, hücresel membran permeabilitesinde artış gibi çeşitli intrasellüler değişiklikler meydana gelir. ATP degradasyonu, artmış glikoliz ve hasarlanmış lizozomlardan H^+ serbestleşmesiyle sitozolik pH düşer. İyon dengesindeki bozukluğa bağlı sitozolik sodyum (Na^+) ve kalsiyum (Ca^{+2}) konsantrasyonları artar. Aynı zamanda düşen pH'ı düzeltmek amacıyla kompanzasyon mekanizması olarak Na^+/K^+ adenosin trifosfataz (ATPaz) aktivitesi azalır, Na^+/Ca^{+2} ters taşıma sistemi ile Na^+ 'a karşılık Ca^{+2} 'un hücre dışına atılımı ve aynı zamanda patolojik porların oluşumuyla plazma membranı geçirgenliği artar. Hücre içi Ca^{+2} artışı, fosfolipazlar (fosfolipaz A_2) ve proteazlar (kalpainler) gibi hidrolazları aktifleştirerek proteolizise neden olur. Hücre içi Na^+ artışı da ozmotik ödeme neden olarak, plazma membranının parçalanması kolaylaşır. Mitokondriyal permeabilite artar ve mitokondriyal membran potansiyeli kaybolur. Tüm bu olaylar neticesinde anoksik hasar, nekrotik hücre ölümü ile sonuçlanır (Şekil 1) (9).



Şekil 1: İskemi Fazı (9)

İskemik dokuda kan akımının geri dönüşüyle enerji kaynağı yeniden sağlanarak toksik metabolitler uzaklaştırılabilir. Ancak beraberinde toksik metabolitlerin sistemik dolaşıma dönmesi, ciddi metabolik olaylara neden olduğundan; iskemi fazında oluşan hasar reperfüzyon fazında daha da artar ve ciddi doku hasarı meydana gelebilir (10, 11).

Reperfüzyonu takiben bir dizi inflamatuvar yanıt reaksiyonları başlar (Şekil2) (9).



Şekil 2: Reperfüzyon Fazı (9)

Bu inflamatuvar cevapta makrofajlar, endotelial hücreler, nötrofiller, lenfositler, plateletler, parankimal hücreler, kompleman sistemi, koagülasyon kaskadı, SOR, nitrik oksit (NO) ile proinflamatuvar sitokinler rol oynar ve mikrovasküler perfüzyonun bozulmasına neden olmakta, bu nedenle de reperfüzyon fazında anoksik hasar halen oluşmaya devam etmektedir (9).

2.2 Karaciğer İskemisi ve Reperfüzyonu

KC temel olarak dört tip hücre içerir. Parankimal hücreler veya hepatositler karaciğer kitlesinin %90'ını ve toplam hücrelerin %65'ini

oluştururlar. Nonparankimal hücrelerin, sinüzoidal endotel hücreleri, hepatik stellat hücreler ve Kupffer hücreleri olmak üzere üç majör tipi vardır. Kupffer hücreleri, KC makrofajlarıdır ve vücut makrofajlarının %80'ini oluştururlar(12). Karaciğerde İ/R hasarı ilk kez 1975'te deneysel KC transplantasyonu çalışmaları sırasında Toledo-Pereyra ve ark (13) tarafından bildirilmiştir. Sonraki yıllarda Jaeschke ve ark (14-18) bir dizi çalışma yaparak İ/R hasarının 2 fazı olduğundan bahsetmişlerdir. Başlangıç fazı (akut faz); reperfüzyonun ilk 6 saatidir ve Kupffer hücrelerinin başlattığı oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumu ve T lenfositlerle karakterizedir. Kupffer hücrelerince hepatosellüler hasara neden olan SOR üretimi ve salınımı bu dönemde başlar. Reperfüzyonun ilk birkaç saatinde Kupffer hücreleri reperfüzyon hasarını oluştururken, nötrofiller de sinüzoidlerde toplanmaya başlarlar (19). Geç faz (subakut faz) ise; reperfüzyondan 6-24 saat sonra olan masif nötrofil aktivasyonu ile karakterizedir (12). İskemi fazında enerji eksikliği ve hücre membran geçirgenliğindeki artış nedeniyle Kupffer ve endotel hücrelerinde ödem meydana gelir. Vazodilatör etkili ve hepatositler ile endotel hücreleri üzerinde İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olan NO düzeyinin azalması ve endotelin düzeyindeki artış nedeniyle vazokonstriksiyon oluşarak lökositlerin geçişine izin verecek şekilde sinüzoidal lümen daralır, iskemik karaciğerin reperfüzyon fazında, mikrovasküler dolaşımın kollapsından dolayı iskemik karaciğer parankim alanlarında düzelme olmaz. Bu durum “no-reflow (yeniden akım yetmezliği)” olarak adlandırılmaktadır (20). Ayrıca, Kupffer hücrelerinin ve nötrofillerin aktivasyonu ile iskemik hasarın şiddetini arttıran TNF- α , IL-1, IL-6, prostaglandinler, SOR [süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)] gibi

sitokinlerin sentez ve salınımı tetiklenmiş olur. Salınan TNF- α ve IL-1, nötrofillerin endotel hücrelerine bağlanmasını sağlayan ve hepatik endotel hücreleri yüzeyinde bulunan ICAM-1 ekspresyonunu arttıırırlar. Artan ICAM-1 ekspresyonu akut karaciğer rejeksiyonu ile ilişkili bulunmuş (21) ve ICAM-1'in nötralizasyonunun uygulandığı çalışmalarda İ/R hasarının şiddetini azalttığı gösterilmiştir (22).

2.2.1 Patofizyoloji

2.2.1.1.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren atom ya da moleküllerdir. Bu eşlenmemiş elektron nedeni ile yarım ya da açık bağa sahip olması serbest radikale kimyasal olarak reaktivite özelliği kazandırır (23). Pozitif yüklü, negatif yüklü ya da elektriksel olarak nötr olabilen serbest radikallerin reaksiyona girme olasılıkları elektriksel yüklerine bağlıdır (24). Serbest radikaller, hücrenin normal aerobik metabolizması sırasında oluşabildikleri gibi; antineoplastik ilaçlar, anestezi maddeleri ve aromatik hidrokarbonların hücre içindeki metabolizması sırasında ve dış etkenlerin (ısı, ışık, radyasyon, hava kirliliği, sigara) etkisiyle de oluşabilmektedirler. Yaşam süreleri oldukça kısa olmasına karşın, yapılarındaki dengesizlik nedeniyle diğer moleküllerle kolaylıkla elektron alışverişi yaparak onların kararlı yapılarını bozar (25). Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sırasında meydana gelirler (24). Serbest radikaller üç yolla meydana gelmektedir:

Molekölün kovalent bağının homolitik kırılması sonucu bağ yapısındaki iki elektronun her birinin ayrı atom üzerinde kalması



Normal bir molekülünden bir elektronun kaybı

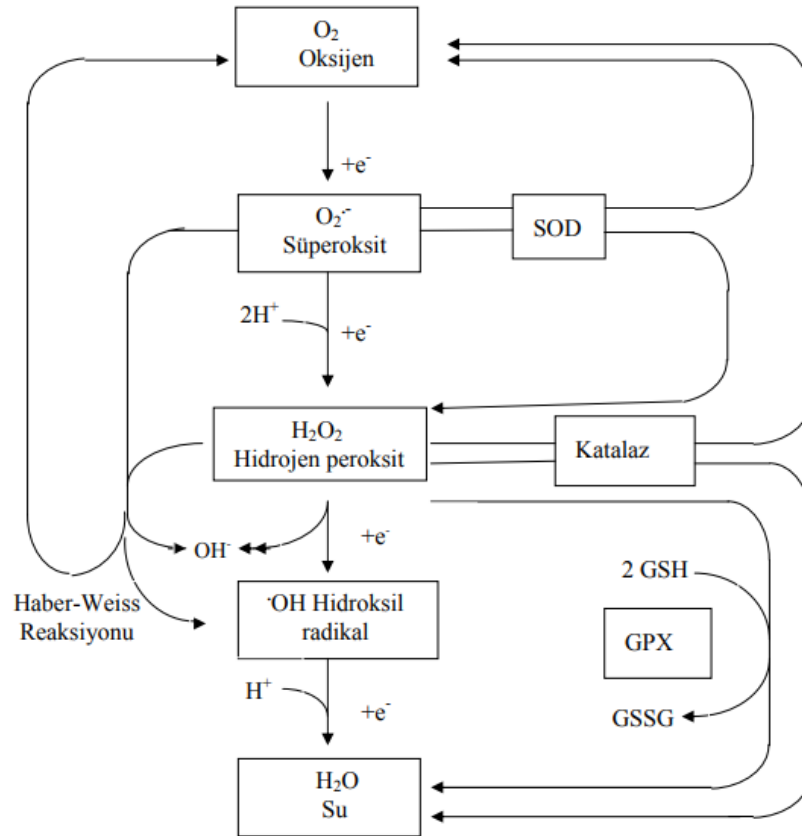


Normal bir moleküle bir elektron eklenmesi



NO sentetaz tarafından L-arjinin'den sentezlenen, birkaç saniye gibi çok kısa yarılanma ömrüne sahip bir serbest radikal olan NO, normal şartlarda vasküler tonusta vazodilatör etkisinin yanı sıra nötrofil ve trombosit adezyonunu, agregasyonunu ve aktivasyonunu sınırlandırır (2). Ayrıca, İ/R hasarında serbest radikallere kaynak oluşturması yönünden önemlidir ve NO'dan üretilen serbest radikaller olan peroksinitrit ve NO radikali “reaktif nitrojen molekülleri” olarak tanımlanır. Peroksinitrit, endotelyal disfonksiyona neden olarak vazospazma ve tromboza yol açar. Gelişen mikrovasküler disfonksiyon İ/R hasarının oluşmasına katkıda bulunur (25). Aerobik organizmalarda oksijen molekülü ortamda sürekli bulunduğu için serbest radikaller daha sıklıkla “oksijen radikali” şeklindedirler (26). SOR, moleküler oksijen ve oksijenin en stabil formu olan HO ile arasındaki reaksiyonda üç ara basamakta oluşmaktadırlar. Bu ara formlar; O_2^- , H_2O_2 ve hidroksil radikali ($HO^\cdot$), moleküler oksijene birer elektron eklenmesi ile oluşurlar. Oksijen radikallerinin en reaktif formu hidroksil radikalidir. H_2O_2 ve singlet oksijen (O_2), bu radikallere ek olan reaktif oksijen ürünleridirler ancak radikal

değildirler. O_2 ; değiştirilmiş oksijene dönüşürken, H_2O_2 ; demir ve bakır gibi metal iyonların varlığında oksijen radikallerinin üretimine neden olur. Bu iki reaktif oksijen molekülü (ROM) de potansiyel olarak toksiktirler. Radikaller, serbest elektronlarını diğer bileşiklere verirler ve zincirleme reaksiyonlara, polimer kırılmalarına ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar (Şekil 3) (25, 27). Oksijen türevi bileşikler, radikal ve radikal olmayan bileşikler olarak iki gruba ayrılır (Tablo 1)(27).



Şekil 3: Reaktif Oksijen Ürünlerinin Sentezi ve Detoksifikasyonu

Tablo 1: Oksijen Türevi Bileşikler

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	(HO [•])	Hidrojen Peroksit	(H ₂ O ₂)
Alkoksil	(RO [•])	Singlet Oksijen	(O ₂)
Peroksil	(ROO [•])	Ozon	(O ₃)
Süperoksit	(O ₂ ^{•-})	Hipoklorid	(HOCl)
Nitrik oksit	(NO)	Hidroperoksit	(LOOH)
Azot dioksit	(NO ₂)	Peroksinitrit	(ONOO [•])

Yaşadığımız çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Subsellüler organeller, yapısal komponentler ve sitoplazmik oluşumların hepsi radikal oluşumunda rol oynar (28, 29). Organizmada bulunan oksijen radikallerinin kaynakları Tablo 2’de gösterilmektedir.

Tablo 2: Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları(29)

Endojen Kaynaklar	Eksojen kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport sistemi	Redoks potansiyelli maddeler (paraquat, doksarubisin, alloksan)
Mikrozomal elektron transport sistemi	İlaç oksidasyonları (parasetamol, karbontetraklorür)
Kloroplast elektron transport sistemi	Sigara
Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemi	İyonize radyasyon
Oksidan enzimler: Ksantin oksidaz, Triptofan dioksijenaz, Galaktoz oksidaz, Siklooksijenaz, Lipooksijenaz	Güneş ışığı
Fagositik hücreler: Nötrofiller, Monosit ve makrofajlar, Eozinofiller, Endotelyal hücreler	Isı şoku
Otooksidasyon reaksiyonları	Okside glutatyon

Organizmada çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikaller tüm hücre bileşenleriyle etkileşerek, kimyasal yapılarında değişiklik oluştururlar. Böylelikle, metabolik ve yapısal değişikliklere neden olurlar ve hatta hücre ölümüne de yol açabilirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı arasındaki denge devam ettiği sürece organizma bu maddelerden etkilenmemektedir (29). Normal sağlıklı koşullarda, SOR oluşumu ve koruyucu antioksidan mekanizmaların bu oluşan SOR'u organizmadan temizlemesi bir denge halindedir. İskemi, hücrede enerji metabolizmasında görevli enzimlerde ve direkt olarak da mitokondriyal mekanizmalarda değişiklik oluştururken, reperfüzyon ise yeniden oksijen temini ile durdurulamayan SOR üretimine neden olur (30). SOR, apoptozis ve hücre nekrozunu uyarabilir. Yüksek konsantrasyonlara ulaştıklarında proteinleri ve lipitleri oksitleyerek DNA hasarı oluştururlar. SOR'un neden olduğu hasar hücresel fonksiyonların birçok basamağında görülmektedir. Bunlardan biri, doymamış yağ asitlerinin SOR tarafından oksidasyonu ile direkt hücresel hasara ve organel membranında yapısal hasara neden olarak otolitik enzimlerin salınımına neden oldukları lipid peroksidasyon mekanizmasıdır. Hücre fosfolipitlerine saldıran SOR'lar, organellerin membranında yapısal ve fonksiyonel geri dönüşümsüz hasarlara yol açarlar. Lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda membran akıcılığının kaybolmasına, spesifik olmayan iyon geçirgenliğinde artışa (K, Ca) neden olarak, membranlardaki enzimlerin aktiviteleri için gerekli olan tiyollerin okside olmasını ve membran transport mekanizmasının bozulmasını sağlayarak membran bütünlüğünü ve işlevini bozar (23, 26). Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan yan

ürünler biyolojik olarak aktif metabolitlerdir ve hasarın oluşumunu devam ettirirler (30). Bir lipid peroksidasyon yan ürünü olan MDA, üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir ve ölçümü tiyobarbitürik asitle yapılmaktadır. SOR aşırı reaktif olduklarından ve ömürlerinin mikrosaniyeler seviyesinde çok kısa olmaları nedeniyle günümüzde birçok hastalıkta (renal İ/R hasarı ve eklampsi) oksidatif stres biyobelirteçi ve doku hasarının en iyi göstergesi olarak MDA ölçümü yapılmaktadır (30, 31). Serum MDA düzeyinin belirlenmesi, İ/R hasarının şiddetini değerlendirmede yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir, ancak duyarlılığı ve özgünlüğü düşüktür (32).

2.2.1.2. İnflamatuar Mediyatörler

2.2.1.2.1 Sitokinler

Spesifik reseptörlerine bağlanarak inflammatuar ve immünolojik yanıtta görevli düzenleyici proteinler olan sitokinler; lökositler, endotel hücreleri ve hemen hemen tüm çekirdekli hücreler tarafından sentezlenirler ve hem otokrin hem de parakrin özellik gösterirler (30). Sitokinler, İ/R hasarında inflammatuar cevabın hem başlatılmasında hem de devamında önemli role sahiptirler (2). Sitokinler esas olarak proinflammatuar, antiinflammatuar ve her iki özelliği de taşıyanlar olarak 3 gruba ayrılmışlardır. TNF- α , proinflammatuar bir sitokindir, homotrimerik yapıda bir transmembran proteini olarak üretilir ve makrofajlar (karaciğerde Kupffer hücreleri), endotelial hücreler, nötrofil granülositler ve B-lenfositler tarafından aktiveştirilir (33, 34). TNF- α ; septik şok, reperfüzyon

dönemi sonrasındaki olaylarda ve çoklu organ yetmezliği durumlarında kritik role sahiptir. IL-1, IL-6, IL-8 ve monosit kemotaktik protein-1 ekspresyonuna neden olur (30). Kendi başına lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisini sağlamakla birlikte karaciğer tarafından SOR üretimini tetikler (2). Diğer bir sitokin olan IL-1'in insanlarda normal homeostazında herhangi bir fonksiyonu bulunamamıştır. Güçlü kemotaktik bir ajandır ve endotel hücrelerinde ICAM-1 ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ekspresyonunu artırarak inflamatuvar süreçte rol oynar (30). Ayrıca, karaciğerde TNF- α sentezini ve SOR üretimine neden olan nötrofil göçünü uyarır (2). Hem lenfoid hem de non-lenfoid hücrelerce üretilen IL-6, inflamasyonda akut-faz cevabını düzenler (30). Güçlü bir kemokin olan IL-8'in, iskelet sisteminde, miyokardiyal ve renal İ/R hasarında anlamlı düzeylerde olduğu gösterilmiştir. Lökositlerde ve endotel hücrelerinde sentezlenir. İnflamasyon sonrasında IL-1 ve TNF- α tarafından ve hipoksik şartlarda endotel hücrelerindeki NF-KB'nin uyardığı transkripsiyonla üretimi artırılır. IL-8, nötrofil kemotaksisi ve adezyonu fonksiyonunun yanı sıra nötrofillerden salınan proteolitik enzimlerin degranülasyonuna da neden olur. Oksidatif patlamadaki bu rolünden dolayı SOR'ların üretimini arttırmış olur (30).

2.2.1.2.2 Nükleer Faktör-KB (NF- KB)

İlk kez 1986 yılında K zayıf zincir gen aktivasyonunu sağlayan bir transkripsiyon faktörü olarak B-lenfositlerde bulunan NF-KB'nin, sonraki çalışmalarda sitokinler, endotoksinler, SOR ya da radyasyon ile uyarılabilen birçok hücrede bulunduğu gösterilmiştir (35-37). İnflamatuvar faktörlerin

düzenlenmesinde temel transkripsiyon faktörü olarak görev yapan NF-KB'nin primer formu p50 ve p65 moleküllerinden oluşan bir heterodimerdir ve sitoplazmada inhibitör-KB (IKB) proteini ile birlikte bağlı olarak inaktif halde bulunur. Aktive Kupffer hücrelerinden üretilip salınan TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlere cevap olarak defosforile haldeki IKB fosforillenir ve bağlı olarak bulunduğu NF-KB'den ayrılarak NF-KB üzerindeki inhibitör etki kalmış olur. Aktifleşen NF-KB, sitoplazmadan çekirdeğe geçerek DNA'ya bağlanır ve hedef genlerin transkripsiyonunu uyarır (38).

Karaciğer İ/R hasarında aktifleşen NF-KB kemokinlerin, ICAM-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunda önemli rol oynar. Bu yüzden, NF-KB aktivasyonunun durdurulmasının karaciğer İ/R hasarını azaltabileceği ve belki de durdurabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, NF-KB yolağı hem pro- hem de antiapoptotik yolları düzenlemektedir. İnflamasyonun invivo düzenlenmesi sırasında NF-KB'nin inhibisyonu eş zamanlı olarak apoptozu da inhibe ettiğinden inflamatuvar cevabın uzamasına neden olur. Çünkü lökositlerin apoptozu inflamasyonun azalmasında önemlidir. Yani, NF-KB'nin inhibisyonunun İ/R hasarında zıt etki de oluşturduğu düşünülmektedir (39).

2.2.1.3 Kompleman (C) Sistemi

Kompleman sistemi, solubl ve membrana bağlı olmak üzere 35 proteinden oluşur. Bu proteinler; antikor-bağımlı klasik yol, antikor-bağımsız alternatif yol ya da mannoz-bağlayıcı lektin/mannoz-bağlayıcı lektin ilişkili serin proteaz yolu olmak üzere üç farklı yol ile aktive edilirler (27). Aktif haldeki protein direkt

olarak membran atak kompleksinin oluşumunu ve depolanmasını tetiklerken, indirekt olarak da kemotaktik ajanların ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır. Birçok organ sisteminde yapılan çalışmalarda, reperfüzyon döneminde kompleman sisteminin lokal aktivasyonuna rastlanmıştır (12, 27). İ/R hasarı olgularında komplemanlar erken dönemde aktifleşerek anafilatoksin (C3a ve C5a) ve membran atak kompleksi (C5b-9) gibi biyolojik olarak aktif potent inflamatuvar komplemanların salınımını sağlarlar. C5a, özellikle lokal ve sistemik inflamasyonun güçlü mediyatörlerinden biridir. C5a; nötrofil aktivitesini ve agregasyonunu, kemotaksisi, sitotoksik aktiviteyi ve SOR'un ve proteazların salınımını uyarır. Ayrıca, eozinofiller, bazofiller, monositler/makrofajlar ve mikrogial hücreler için güçlü kemotaktik etkiye sahiptir. Aynı zamanda, ICAM-1 ve VCAM-1 upregülasyonunu sağlar. Normal fizyolojik şartlarda, komplemanların aktivasyonu bazı düzenleyici proteinlerce (C1 inhibitör, C4 bağlayıcı protein, Faktör H ve I) kontrol edilir. Fakat; immün kompleks hastalıklarında, otoimmün hastalıklarda (sistemik lupus eritematozus, otoimmün artrit, multipl skleroz), anjiyoödem, hiperakut greft reddi, vaskülitler, sepsis, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar ve iskemiye bağlı hasarlanan organlarda bu kontrol mekanizması bozulmakta ve kompleman sistem elemanları aktif kalmaktadırlar (28).

Kompleman sisteminin karaciğer İ/R hasarındaki rolü ilk kez Jaeschke ve ark(18) tarafından 1993'te komplemanları inhibe ederek yaptıkları çalışmada reperfüzyon sonrası Kupffer hücrelerindeki oksidatif stresi azalttığı ve nötrofil birikimini durdurduğu gösterilmiştir. Yine hepatik İ/R modeli oluşturulmuş

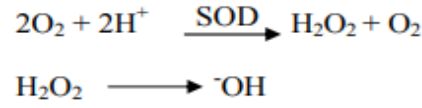
ratlarda C5a-reseptör antagonisti kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada doku hasarının azaldığı ve yaşam oranlarının arttığı gösterilmiştir (19).

2.2.1.4. Serbest oksijen radikalleri

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve neden oldukları hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” olarak adlandırılırlar. Antioksidanlar, SOR’nin üretimini durdurarak, uzaklaştırılmasını ya da nötralizasyonunu kolaylaştırarak ya da oksidasyona uğramış hasarlı dokuyu onararak etki gösterirler (30). İyi bir antioksidan; spesifik olarak serbest radikalleri yok etmeli, redoks metalleri ile şelasyon yapmalı, diğer antioksidanlarla iletişim halinde olmalı, gen ekspresyonu üzerinde pozitif etkileri olmalı, emilmiş halde hazır bulunmalı, dokularda ve biyolojik sıvılarda yeterli düzeyde bulunmalı, aköz ve/veya membran domainleriyle birlikte çalışmalıdır. Antioksidanlar 2 grupta sınıflandırılırlar:

a) Enzimatik Antioksidanlar; Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz.

b) Enzimatik Olmayan Antioksidanlar: C vitamini, E vitamini, karotenoidler, tiyol antioksidanlar (glutatyon, tiyoredoksin ve lipoik asit), natural flavanoidler, melatonin. SOD; oksijen tüketen tüm organizmalarda bulunan bir metalloproteindir ve substratı olan süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar.



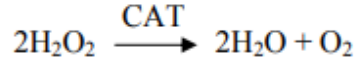
Bu reaksiyon spontan olarak da meydana gelebilir. SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artar. İnsanlarda SOD'nin üç tipi vardır:

SOD-1; Cu-Zn SOD: Sitoplazmada bulunur.

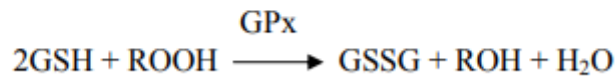
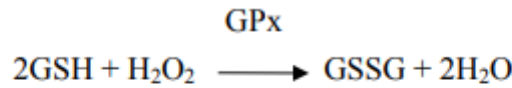
SOD-2; Mn-SOD: Mitokondride bulunur ve antitümör aktivitede etkindir.

SOD-3; ES-SOD: Ekstrasellüler sıvıda bulunur.

Heparin ve heparin sülfat gibi glikozaminoglikanlara afinitesi yüksektir. Memeli dokularında regülasyonu primer olarak sitokinlerce sağlanır (40). Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi artmaktadır. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından süperoksit anyonu üretimi artmasına rağmen SOD sayesinde intrasellüler süperoksit seviyesi düşük tutulur. SOD enziminin hücre dışı aktivitesi oldukça düşüktür (41). SOD fagosite edilmiş bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde de görev alır. Hücreyi, özellikle DNA'yı radyasyonun iyonizan etkisine karşı koruyucu özellik göstermektedir (42). Katalaz (CAT= H₂O₂ oksidoredüktaz), bütün memeli hücrelerinde genellikle kan, kemik iliği, karaciğer peroksisomları ve diğer dokuların subsellüler organellerinin iç kısmında bulunur. CAT, aktif merkezinde 4 hem grubu içeren tetramerik yapıya sahip bir hemoproteindir. Hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya parçalamakla görevlidir. Peroksidaz aktivitesinin yanı sıra bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan ya da elektron alıcısı olarak kullanabilir.

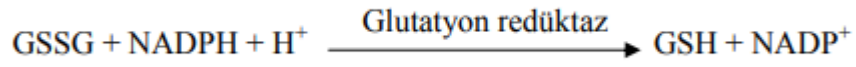


Katalazın indirgeyici aktivitesi, HO metil ve etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitleri ise etkilemez (40, 43). Tiyol grubu antioksidanlardan biri olan glutatyon; tripeptit yapıda olup sitozol, çekirdek ve mitokondride yüksek oranda bulunur. Glutatyonun redükte formu GSH (glutatyon); okside formu GSSG (glutatyon disülfid)'dir. GSH çekirdekte DNA yapım ve onarımı için gerekli olan sülfhidril proteinlerinin redükte durumunun sürdürülmesinde görev alır (40). Bir başka antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz hücrelerin daha çok sitozollerinde bulunur ve hem H_2O_2 hem de organik peroksitlerin redüksiyonunu sağlayarak membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif hasara karşı korur. Selenyum (Se)-bağımsız (glutatyon-S-transferaz, GST) ve Se-bağımlı (GPx) olmak üzere iki formu vardır. İnsanlarda 4 farklı GPx bulunur ve bunların hepsi peroksitlere iki elektron ekleyerek selenoller (Se-OH) oluştururlar. Selenoenzimler, antioksidan özellikleri sayesinde peroksitleri Fenton reaksiyonu aracılığıyla elimine ederler. GPx'in aracılık ettiği katalitik reaksiyonun substratları HO ve organik peroksit ROOH'dır (40).



Glutatyon peroksidaz, fagositik hücrelerde önemli görevlere sahiptir. Eritrositlerde GPx oksidatif strese karşı en etkin antioksidandır. GPx

aktivitesindeki azalma, HO'nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (44). Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesi sırasında oksitlenen glutatyon (GSH), başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve GPx enzimleri yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamlılığı sağlanır.



C vitamini (askorbik asit); akciğer, göz gibi vücudun aköz sıvılarında bulunun güçlü bir antioksidandır. E vitamini ve karotenoidlerle birlikte çalışır. Membranlarda ve lipoproteinlerde oluşan α -tokoferol radikalini yeniden α -tokoferol formuna dönüştürür. Her ne kadar yüksek riskli popülasyonda C vitamininin düşük serum düzeylerinde gastrik metaplazi veya kronik gastrit gibi prekanseröz lezyon riskinde artış gösterdiği belirtilse de, membranları oksidasyona karşı koruduğuna inanılmaktadır. Son zamanlardaki in vitro çalışmalara göre; C vitaminin plazmada redoksaktif demir veya bakır ve H₂O₂ varlığında doz bağımlı olarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir. E vitamini, yağda eriyebilen bir antioksidandır. İnsanlardaki en aktif formu olan α -tokoferol, hücre membranına bağlı bulunur ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterir. Antioksidan reaksiyon sırasında α -tokoferol, bir labil hidrojeni lipid veya lipid peroksil radikaline vererek kendisi α -tokoferol radikaline dönüşür. Oluşan bu ürün ise C vitamini tarafından tekrar α -tokoferole geri çevrilir.

2.3 Antioksidanlar

Serbest radikaller tarafından canlı vücudunda meydana gelen oksidatif stresi bertaraf etme amacı ile kullanılan en etkili savunma silahı antioksidanlardır. Genel özellikleri arasında hücrelerde oluşabilecek hasarlarını durdurabilme ya da engelleyebilme ve serbest radikal gruplarını ortadan kaldırma gibi aktivitelere sahiptir. Antioksidanların üretimi vücut tarafından sentezlenebildiği gibi dışarıdan da alınabildiği görülmüştür. Bu bağlamda canlı savunma mekanizmaları güçlü antioksidanlar varlığında hastalıklara yakalanma ihtimali minimum seviyede seyretmektedir. Koruyucu özelliklerini ise canlı hücrelerde metabolizma gerçekleşirken son ürün ya da toksik özellikteki ürün oluşumu sırasında üretilmekte olan serbest radikal gruplarını parçalayarak göstermektedir. Antioksidan molekülleri genel olarak hücre içerisinde toksik özellikteki son veya ara ürünlerden oluşan serbest radikal gruplarını bertaraf ederek koruyucu rolde sergileyebilirler. Antioksidanlar, ekzojen ve endojen kökenli olup endojen antioksidanlar da enzimatik ve non-enzimatik olarak iki gruba ayrılmaktadır Tablo(3) (45).

Tablo 3: Enzimatik Ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

ENZİMATİKLER	ENZİMATİK OLMAYANLAR
SOD	Karotenoidler (B-Karoten, Likopen)
GPx	Vitaminler (A, C, E)
Glutasyon Redüktaz	Polifenoller (Fenolik Asitler, Flavonoidler)
CAT	Glutasyon
Methemoglobin Redüktaz	Nikotinamid adenin dinükleotit (NADH ⁺)
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH ⁺)

Antioksidan aktiviteye sahip olup ancak enzimatik özellik göstermeyen antioksidanlar arasında nanopartiküller, anestezi ajanları, melatonin, transferrin, α -lipoik asit, ürik asit, bilirubin, koenzim Q10, selenyum, glutatyon ve selenyum sayılabilmektedir.

2.3.1. Nanopartiküller

Boyutu 1 nm ile 100 nm arasında olan malzemeler nanoparçacık olarak isimlendirilirler ve hacimsel olarak kendilerinden daha büyük olan malzemelere göre daha farklı ve daha üstün olarak kabul edilebilecek özellikler taşımaktadırlar.

Fulleren türevleri, altın, platin ve seryum oksit (CeO_2) gibi antioksidan nanopartiküller etkili birer serbest radikal tutucudur. Bu nanopartiküller nörodejeneratif, kardiyovasküler, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi oksidatif stres ile ilgili hastalıkların tedavisinde kullanım potansiyeline sahiptir (46).

Parçacık nano boyuta küçülürken, boyutları azaldıkça yüzey/hacim oranı giderek artar. Bu nedenle kütle ve ısısal iletim davranışları yığın yapılara göre daha başarılıdır. Boyutları arasındaki farklılık materyallerin mekanik, optik, elektriksel, manyetik özelliklerini etkilediği gibi kimyasal reaktivliklerini de etkiler. Boyutlarının çok küçük olması nedeniyle nanopartiküller, canlı organizmalara nüfuz etme, içinde hareket edebilme ve varsa zararlı organizmalara zarar verebilme yeteneğine sahiptirler (47).

2.3.1.1 Fullerenol C60

Fullerenol C60, fulleren'in suda çözünür bir analogudur ve polianyon nanoparçacıkları oluşturur. C60 fulleren, yüzeyi 60 karbon atomundan oluşan küresel bir moleküldür ve biyolojik sistemlerde, anti-tümör, anti-inflamatuar ve hepatoprotektif özellikleriyle sonuçlanan serbest radikallerin temizleyicisi olarak hareket edebilir. İn vivo ve in vitro çalışmalar, polihidroksillenmiş fullerenlerin yüksek antioksidatif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Fullerene bağlı antioksidanın etki, yüzeydeki çift π bağlarının yeniden düzenlenmesine bağlıdır. Bu yüksek antioksidan etkinin yanı sıra, çalışmalar fullerenlerin radikal süpürücü aktivite, antigenotoksik etki ve ilaca bağlı toksisiteye karşı koruma gösterdiğini bildirmiştir (7, 8).

2.4. Genel anestezi yöntemleri

Günümüzde inhalasyon anestezikleri genel anestezi uygulamasında en yaygın kullanılan ajanlardır. Erişkinlerde cerrahi girişimlerde uygulanan en popüler inhalasyon ajanları sevofluran, desfluran ve izoflurandır.

2.4.1. Desfluran

Desfluran, CHF₂-O-CHF₂CF₃, Terrell tarafından 1960'larda sentezlenen florlanmış etil metil eter'dir. Düşük kaynama noktası ve yüksek buhar basıncına sahip olması nedeniyle buharlaştırma için özel vaporizatörler gerekmektedir (48). Anestezik potansi düşük olduğundan yüksek alveolar konsantrasyon gerektirir ve minimum alveolar konsantrasyon (MAK) değeri yaşa bağımlı olarak %4-8

arasında değişiklik gösterir. MAK değeri yenidoğanlarda %9.16, bebekte %9.42, çocuklarda %9 ve erişkinde %6'dır (49). Desfluran kimyasal olarak stabil bir bileşiktir. Degradasyon ve toksisite arasında potansiyel bir ilişki olduğu için desfluranın degradasyona direnci bu ilacın güvenilirliğinin göstergesidir. Soda lime ile çok uzun süreli temasında düşük miktarlarda fluoroform ortaya çıkmaktadır (CHF₃) (50-52). Hemen hemen hiç metabolize olmadan (%0.01-0.02) akciğerlerden atıldığından serum ve idrar florür değerleri değişmez. İlacın metabolize olması ile karaciğer hasarı oluşturma potensi paralellik göstermektedir. Buna göre halotan %20, enfluran %2.5, izofluran %0.2 ve desfluran %0.02 oranında metabolize olmaları nedeniyle desfluranın karaciğer üzerinde en az toksik etki oluşturduğu düşünülmektedir (52).

Desfluranın doğrudan serebral vazodilatör etkisi olup, serebral kan akımını arttırır. Serebral metabolizmayı deprese eder, orta serebral arterin uzamış oklüzyonu sırasında asidotik değişiklikleri hafifletir. Orta serebral arter oklüzyon modelinde önkoşullanma uygulamadan infarkt alanını azalttığı gösterilmiştir (49). Miyokardiyal kontraktilityi hem invivo hem de invitro izofluran ve sevoflurana benzer şekilde deprese eder. Koroner alma fenomeni oluşurmaz. Doza bağlı vasküler direnci ve kan basıncını düşürür. Yüksek konsantrasyonlarda kalp hızında artışa neden olur. Keskin kokulu ve irritan olması nedeniyle anestezi indüksiyonu için uygun bir ajan değildir. Solunum sayısında artışa ve tidal volümde azalmaya neden olabilir (49). Ventilasyon hızındaki artışa rağmen dakika volümünü ve alveoler ventilasyonu azaltır (53).

Desfluranın kan-gaz partiyon katsayısının (0.42) düşük olması, akciğerlerden eliminasyonunun hızlı olması ve düşük metabolizma oranına sahip olması nedeniyle derlenme hızlıdır(49). Nondepolarizan kas gevşeticileri potansiyalize ederek iskelet kasında gevşeme yapar (49). Enfluran, sevofluran ve izofluran ile karşılaştırıldığında desfluran dokularda daha az çözünürlüğe sahiptir. Bu nedenle de hepatotoksisite riski taşımadığı düşünülmektedir (3). Ayrıca, hepatik kan akımını daha iyi koruduğu ve daha az toksisiteye sahip olduğu için hepatobiliyer cerrahilerde öncelikli olarak tercih edilmektedir (4). Desfluran ile önkoşullanma uygulandığında; TNF- α tarafından uyarılan NF-KB ve p38 aktivasyonunu sınırlandırarak, NF-KB'nin çekirdeğe geçişini engeller, ayrıca IKB'nin fosforilasyonunu ve NF-KB'den ayrılmasını da inhibe ederek hücre koruyucu etki gösterir (5).

2.5. Hayvan Deneylerinde Sıçanların Kullanımı

Bu gibi deneysel çalışmalar insan üzerinde etik olmadığından ratlar üzerinde çalışmayı tercih ettik.

Wistar-Albino sıçanlar, saf olarak üretilen ve medikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılan sıçan türleridir (54-56). İlk üretim yerleri Madison, Wisconsin' de bulunan Sprague-Dawley çiftlikleridir. 1980 yılının Ocak ayından itibaren ilk önce Gibco daha sonra da Harlan tarafından üretilmeye başlanmışlardır (57). Erişkin erkekler 450-520 gram (g), dişiler 250-300 g ağırlığındadırlar. Yaşam süreleri 2.5-3.5 yıldır. Çalışmalarda 1980 yılından itibaren kullanılmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 24.02.2022 tarih ve G.Ü.ET-22.021 numaralı etik kurul onayı alınarak Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapıldı.

3.1. Denek Seçimi

Ratlar her grupta 6 tane olmak üzere, rastgele 5 gruba ayrıldı. Çalışmada ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen 30 adet, 4 aylık erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratların 20-21.C sıcaklıkta, 12 saat gece 12 saat gündüz döngüsü sağlanarak anestezi uygulamasından 2 saat öncesine kadar yemelerine izin verildi.

Tablo 4: Grupların Dağılımı

Gruplar	Sayı(n)
Kontrol Grubu(Grup K)	6
İskemi-Reperfüzyon Grubu(Grup İ/R)	6
İskemi-Reperfüzyon-Desfluran Grubu(Grup İ/R-D)	6
İskemi-Reperfüzyon-Fullerenol C60 Grubu (Grup İ/R-F)	6
İskemi-Reperfüzyon-Fullerenol C60-Desfluran(Grup İ/R-F-D)	6

3.2. Kullanılan Yöntemler

Anestezi uygulaması intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Alfazyne®flakon %2, Ege Vet) ile sağlandı.

Cerrahi prosedür ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi. Ciltleri aseptik olarak hazırlanan ratlara orta hat abdominal bölge insizyonu ardından porta hepatis eksplore edildi. Sham grubuna hepatik iskemi yapılmaksızın sadece orta hat abdominal laparotomi yapıp kapatıldı (Resim 1).

Kontrol Grubu (Gr K, n=6): Bu gruptaki ratlarda hepatik iskemi yapılmaksızın sadece orta hat abdominal laparotomi yapıp kapatıldı, işlem den dört saat sonra anestezi altında abdominal kan alınması yöntemi ile sakrifikasyon sonrasında ratların karaciğer dokusu çıkartıldı ve bu dokuda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

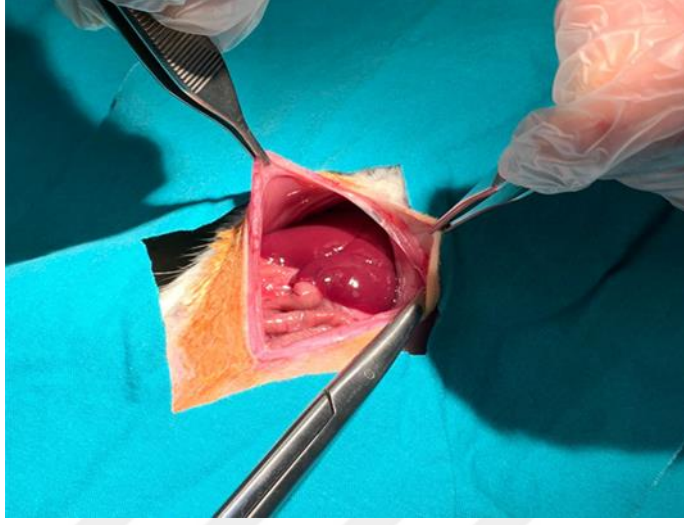
İskemi-Reperfüzyon Grubu (Gr İR, n=6): Bu gruptaki ratlara orta hat abdominal laparotomi yapıp porta hepatis mikrovasküler klemp konuldu (Resim2), 120 dakika iskemi ve 120 dakika reperfüzyon sonrası anestezi altında abdominal kan alınması yöntemi ile sakrifikasyon sonrasında ratların karaciğer dokusu çıkartıldı ve bu dokuda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

İskemi-Reperfüzyon-Desfluran Grubu (Gr İR-D, n=6): Bu gruptaki ratlara orta hat abdominal laparotomi yapıp porta hepatis mikrovasküler klemp konuldu. Saydam yapılı, gaz giriş-çıkış deliği bulunan kapalı bir fanus içinde, basınçlı oksijen tankından akımölçer ile oksijen ve standart volatil ajan

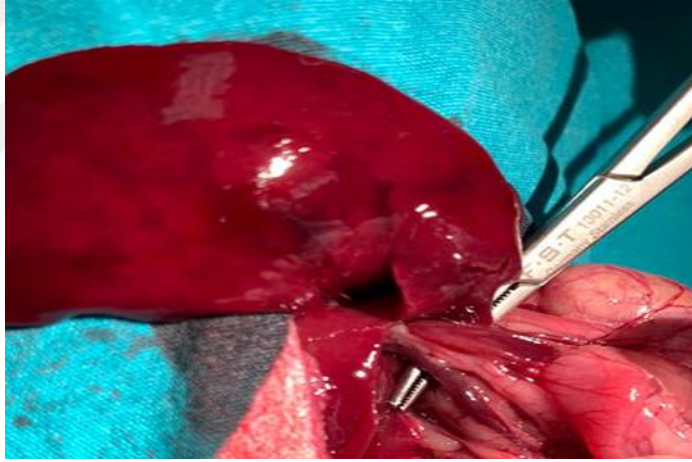
vaporizatörü ile desfluran bir hat yardımı ile fanus içinde anestezi verildi. İskemi periyodu ile birlikte minimum alveoler konsantrasyon (MAK) ratlar için 1 olacak şekilde, İki saatlik iskemi sonrasında yine anestezi altında iki saatlik reperfüzyon sonrası ratlara intraperitoneal uygulanan ketamin (50 mg/kg) ile abdominal aortadan alınan kan ile sakrifiye edilerek ratların karaciğer dokusu çıkartıldı ve bu dokuda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

İskemi-Reperfüzyon-Fullerenol C60 Grubu (Gr İR-F, n=6): Bu gruptaki ratlarda iskemiden 30 dakika önce Fullerenol C60 100 mg/kg i.p yolla uygulandı. Ratlarda orta hat abdominal laparotomi yapıp porta hepatis mikrovasküler klemp konuldu, 120 dakika iskemi ve 120 dakika reperfüzyon sonrası anestezi altında ratların karaciğer dokusu çıkartıldı ve bu dokuda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

İskemi-Reperfüzyon-Fullerenol C60-Desfluran Grubu (Gr İR-F-D, n=6): İntraperitoneal Fullerenol C60 100 mg/kg i.p yolla uygulandıktan 30 dakika sonra orta hat abdominal laparotomi yapıp porta hepatis mikrovasküler klemp konuldu. Saydam yapılı, gaz giriş-çıkış deliği bulunan kapalı bir fanus içinde, basınçlı oksijen tankından akımölçer ile oksijen ve standart volatil ajan vaporizatörü ile desfluran bir hat yardımı ile fanus içinde ratlar için 1 olacak şekilde verildi. İki saatlik iskemi sonrasında yine anestezi altında iki saatlik reperfüzyon sonrası ratlara intraperitoneal uygulanan ketamin (50 mg/kg) ile abdominal aortadan alınan kan ile sakrifiye edilerek ratların karaciğer dokusu çıkartıldı ve bu dokuda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.



Resim 1. Orta hat abdominal laparotomi



Resim 2. Porta hepatis mikrovasküler klemp konulması

3.3. Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme Kırıkkale Üniversitesi Histoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Fiksasyon işleminin ardından örnekler parafin bloklarla hazırlandı. 5 µm'lik doku kesitleri hematoksilin ve eozin (H&E) kullanılarak boyandı. Histopatolojik değerlendirmeler ve skorlama ışık mikroskobu altında yapıldı. Histolojik değerlendirmeler kör olarak aynı patolog tarafından yapıldı.

Histopatolojik incelemede her preparatta hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, prenekrotik hücreler ve parankimde mononükleer (MN) hücre infiltrasyonu açısından incelendi. Abdel-Wahhab ve diğerleri tarafından kullanılan yarı niceliksel değerlendirme tekniği (58). kontrol ve araştırma gruplarının karaciğer dokularında incelenen yapısal değişiklikleri yorumlamak için kullanıldı. Buna göre (-) (negatif noktalar) yapısal bir değişiklik olmadığını; (+) (bir olumlu nokta): hafif değişiklikler; (++) (iki olumlu nokta): orta düzeyde değişiklikler ve (+++) (üç olumlu nokta): ciddi yapısal değişiklikler.

3.4. Biyokimyasal değerlendirme:

Biyokimyasal inceleme Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı. Karaciğer dokusundaki oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) düzeyleri ve CAT ve GST enzim aktiviteleri ölçülerek değerlendirildi. TBARS testi, tiyobarbitürik asit yöntemi kullanılarak lipid peroksidasyonunu belirlemek için yapıldı(59). TBARS ölçümleri, MDA'nın, asidik pH'ta 532 nm'de maksimum emilim ile pembe bir pigment oluşturan tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu temel alınarak gerçekleştirildi ve standart bir MDA olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanıldı. CAT aktivitesi, Aebi yönteminde açıklandığı gibi 240 nm'de H₂O₂ tüketimine bağlı absorbans azalmasının ölçümüne dayanıyordu(43). GST enzim aktivitesi, Habig ve arkadaşları tarafından açıklanan yöntem kullanılarak ölçüldü(60). GST aktivite yöntemi, dinitrofenil glutatyonun (DNPG) azalmasına bağlı olarak 340 nm'de absorbans artışının ölçümüne dayanmaktadır. Sonuçlar miligram protein

başına uluslararası birim cinsinden ifade edilir. ARE aktivitesi, Brites yöntemi kullanılarak 270 nm'de ve 25 °C'de absorbanstaki değişim izlenerek fenil asetatın hidroliz hızında ölçüldü (61).

3.5. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için Windows için Sosyal Bilimler İstatistik Paketi (SPSS, Chicago, IL, ABD) 20.0 kullanıldı. Her kategorik değişken Shapiro-Wilk testi kullanılarak analiz edildi. Biyokimyasal ve histopatolojik parametreler Kruskal-Wallis testi, Bonferroni düzeltme testi ve Mann-Whitney U testi kullanılarak test edildi. 0,05'in altındaki istatistiksel değer anlamlı kabul edildi. Tüm değerler ortalama $\pm$ standart hata (ortalama $\pm$ SH) olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

Işık mikroskopisinde; hepatosit dejenerasyon gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.003$). İ/R ve İ/R-D gruplarında kontrol grubuna göre hepatosit dejenerasyon daha fazla görülmüştür ($p<0.0001$, $p=0.043$, sırasıyla). Hepatosit dejenerasyon İ/R-F, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.004$, $p=0.043$, $p=0.004$ sırasıyla), (Tablo-5, Resim 1-6).

Sinüzoidal dilatasyon gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.018$). İ/R grubunda kontrol grubuna göre sinüzoidal dilatasyon daha fazla görülmüştür ($p=0.001$). Sinüzoidal dilatasyon İ/R-F ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.001$, $p=0.031$, sırasıyla), (Tablo-5, Resim 1-6).

Piknotik çekirdek gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.031$). İ/R grubunda kontrol grubuna göre piknotik çekirdek daha fazla görülmüştür ($p=0.003$). Piknotik çekirdek İ/R-F, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.037$, $p=0.037$, $p=0.011$, sırasıyla), (Tablo-5, Resim 1-6).

Parankimde MN hücre infiltrasyonu gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.003$). İ/R ve İ/R-D gruplarında kontrol grubuna parankimde MN hücre infiltrasyonu daha fazla görülmüştür ($p<0.0001$, $p=0.023$). Parankimde MN hücre infiltrasyonu İ/R-F ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.007$, $p=0.007$, sırasıyla), (Tablo-5, resim 1-6).

Nekroza giden hücre gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p=0.113$), (Tablo-5, Resim 1-6).

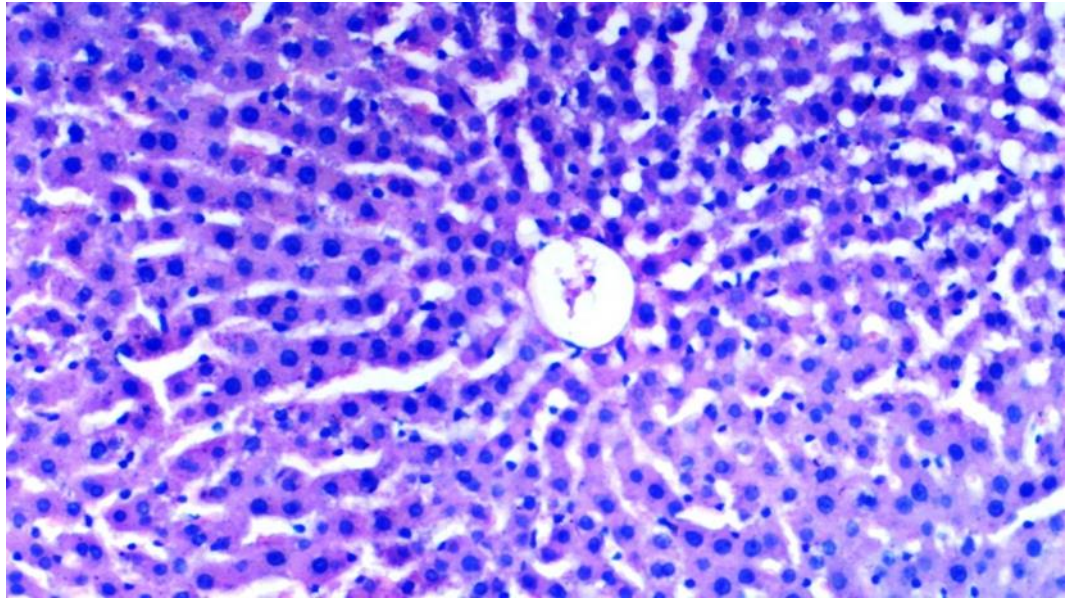
Tablo 5: Rat Karaciğer Dokusu Histopatolojik Bulguları [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-F (n=6)	Grup İ/R-D (n=6)	Grup İ/R-F-D (n=6)	P**
Hepatosit dejenerasyonu	0.33 $\pm$ 0.21	1.67 $\pm$ 0.21*	0.67 $\pm$ 0.21&	1.00 $\pm$ 0.26*,&	0.67 $\pm$ 0.21&	0.003
Sinüzoidal dilatasyon	0.50 $\pm$ 0.22	1.83 $\pm$ 0.31*	0.83 $\pm$ 0.17&	1.17 $\pm$ 0.31	1.00 $\pm$ 0.26&	0.018
Piknotik çekirdek	0.33 $\pm$ 0.21	1.33 $\pm$ 0.21*	0.50 $\pm$ 0.22&	0.67 $\pm$ 0.21&	0.67 $\pm$ 0.21&	0.031
Nekroza giden hücre	0.33 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.00	0.50 $\pm$ 0.22	0.83 $\pm$ 0.31	0.67 $\pm$ 0.21	0.113
Parankimde MN hücre infiltrasyonu	0.17 $\pm$ 0.17	1.67 $\pm$ 0.33*	0.67 $\pm$ 0.21&	1.00 $\pm$ 0.26*	0.67 $\pm$ 0.21&	0.003

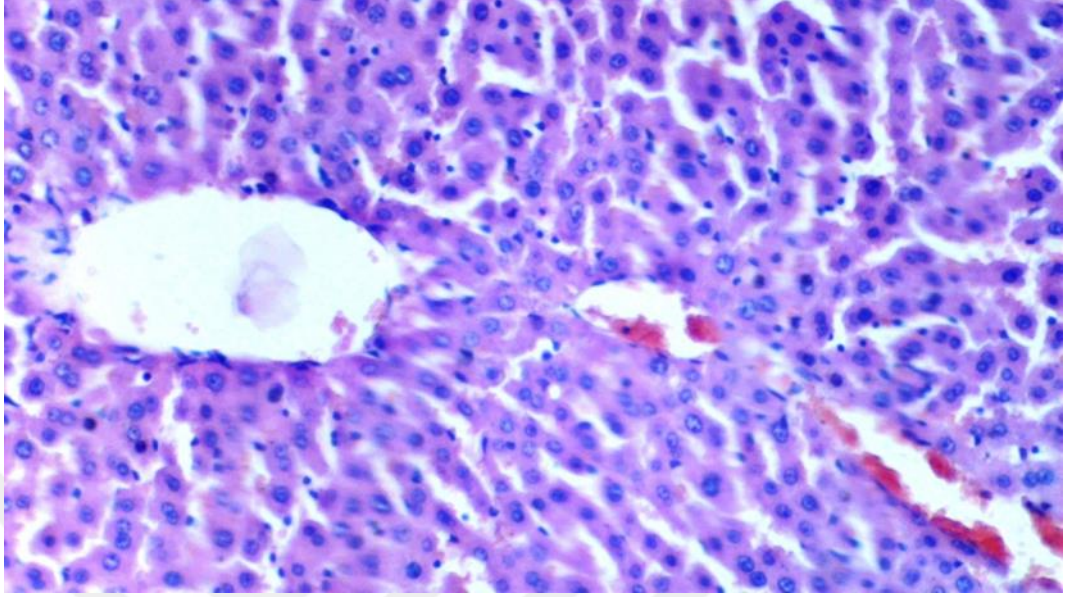
p**: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında

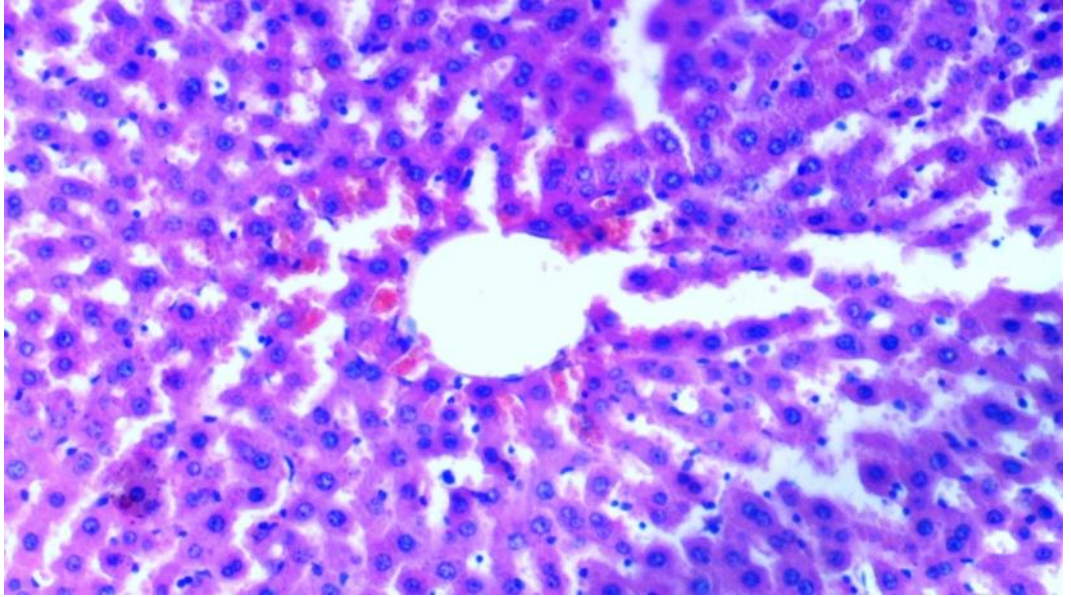
& $p < 0.05$: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



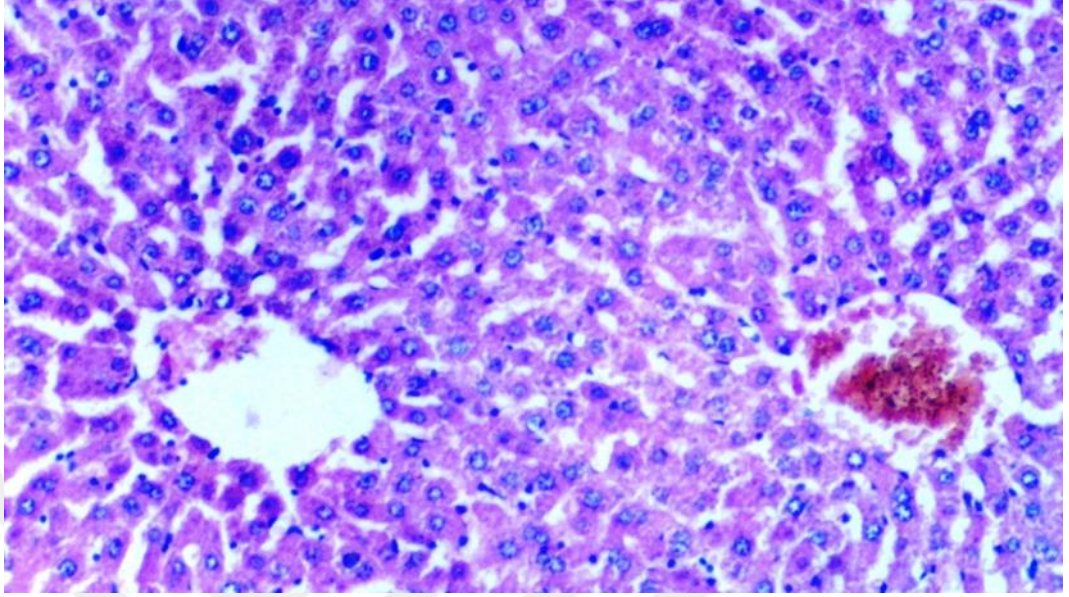
Resim 3: Grup K; Normal karaciğer dokusu



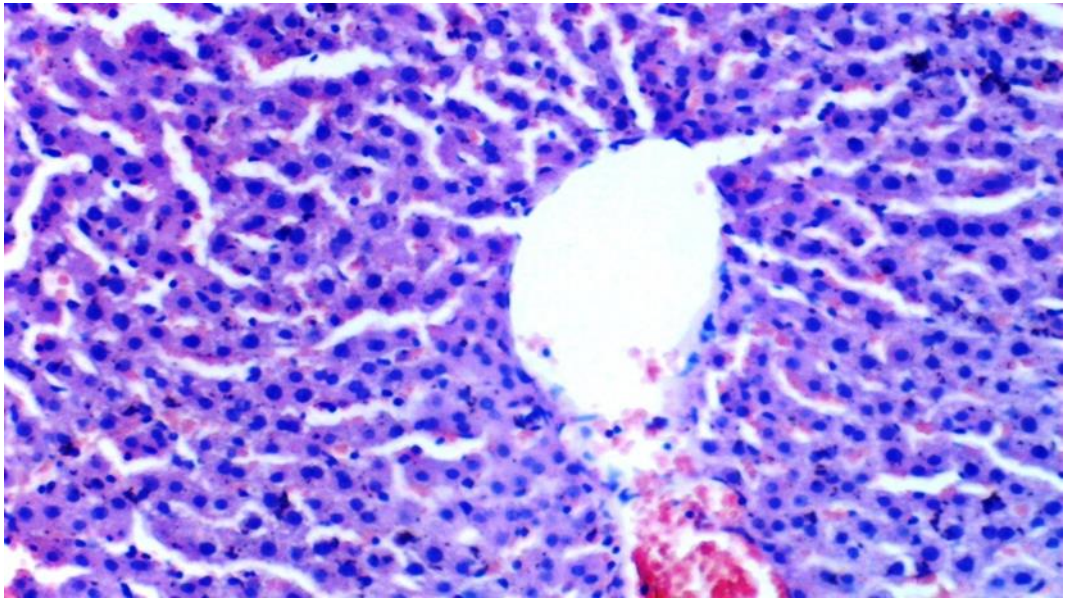
Resim 4: Grup İ/R; İskemi reperfüzyon oluşturulan rat karaciğer dokusunda orta düzeyde değişiklik



Resim 5: Grup-İ/R-D; desfluran kullanılan rat karaciğer dokusunda hafif orta düzeyde değişiklik



Resim 6: GRUP İ/R-F; Fullerenol C60 kullanılan rat karaciğer dokusunda hafif düzeyde değişiklik



Resim 7: GRUP İ/R-F-D; Fullerenol C60+ desfluran kullanılan rat karaciğer dokusunda hafif düzeyde değişiklik

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Karaciğer MDA düzeyi açısından gruplar kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p<0.0001$). MDA düzeyi tüm gruplarda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p<0.0001$, $p=0.012$, $p<0.0001$, $p<0.0001$, sırasıyla). MDA düzeyi İ/R-F, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.0001$, $p=0.003$, $p<0.0001$, sırasıyla), (Tablo 6).

Karaciğer CAT enzim aktivitesi açısından gruplar kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p<0.0001$). CAT enzim aktivitesi İ/R, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak tespit edildi ($p<0.0001$, $p<0.0001$, $p=0.002$, sırasıyla). CAT enzim aktivitesi İ/R-F ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0.0001$, $p=0.001$, sırasıyla), (Tablo 6).

Karaciğer GST enzim aktivitesi açısından gruplar kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p<0.0001$). GST enzim aktivitesi İ/R, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak tespit edildi ($p<0.0001$, $p=0.004$, $p=0.010$, sırasıyla). GST enzim aktivitesi İ/R-F ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulundu ($p=0.001$, $p=0.027$, sırasıyla), (Tablo 6).

Karaciğer ARE enzim aktivitesi açısından gruplar kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p<0.0001$). ARE enzim aktivitesi İ/R ve İ/R-D gruplarında K grubuna göre anlamlı azalmış olarak tespit edildi ($p<0.0001$, $p=0.015$, sırasıyla). ARE enzim aktivitesi İ/R-F İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında İ/R

grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.0001$, $p=0.011$, $p=0.002$, sırasıyla), (Tablo 6).

Tablo 6: Rat Karaciğer Dokusu Oksidan Durum Parametreleri(Ort $\pm$ SH)

	Grup K (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-F (n=6)	Grup İ/R-D (n=6)	Grup İ/R-F-D (n=6)	P**
MDA (nmol/mg.pro)	0.10 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.01*	0.14 $\pm$ 0.01*,&	0.21 $\pm$ 0.01*,&	0.16 $\pm$ 0.01*,&	<0.0001
CAT (IU/mg.pro)	385.75 $\pm$ 32.07	170.93 $\pm$ 11.78*	327.82 $\pm$ 13.84&	204.95 $\pm$ 19.30*	282.25 $\pm$ 23.59*,&	<0.0001
GST (IU/mg.pro)	1.10 $\pm$ 0.07	0.58 $\pm$ 0.04*	0.95 $\pm$ 0.04&	0.78 $\pm$ 0.05*	0.82 $\pm$ 0.11*,&	<0.0001
ARE (IU/mg.pro)	1.24 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.03*	1.15 $\pm$ 0.05&	1.01 $\pm$ 0.07*,&	1.08 $\pm$ 0.06&	<0.0001

5. TARTIŞMA

Literatürde hepatik İ/R hasarında desfluran anestezisi ile birlikte fullerenol C60 uygulamasının etkileri ile ilgili çok az veri bulunmaktadır. Çalışmamızda hepatik İ/R hasarında fullerenol C60'ın desfluran anestezisi ile birlikte karaciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik ve oksidatif hasar parametrelerini inceledik. Uygulama kolaylığı ve hızlı emilim gibi avantajları nedeniyle fullerenol C60'ı intraperitoneal olarak uyguladık. Daha önceki çalışmaları rehber olarak kullanarak dozlara karar verdik (62, 63). Çalışmamızda karaciğer dokusunda oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu MDA düzeyleri, CAT, GST ve ARE enzim aktivitelerini ölçerek değerlendirdik. Kan örnekleri genel hasarı göstereceğinden, doku hasarını göstermek için dokulardaki biyokimyasal belirteçleri incelemek istedik. Sonuç olarak desfluran anestezisi ile birlikte intraperitoneal fullerenol C60 kullanımının hem histopatolojik hasarı hem de oksidatif hasarı önemli ölçüde azalttığını gösterdik.

Karaciğerde İ/R'ye bağlı hasar oluşmasına cerrahi pratikte sıkça karşılaşılmakta ve şiddetli enfeksiyon, travma, şok, organ transplantasyonu gibi durumlarda önemli rol oynamaktadır. İskemi-reperfüzyon; hepatik doku ve hücre yapısında, metabolizmasında hasar oluşturarak karaciğer fonksiyonlarında kayba neden olur. Dolayısıyla İ/R hasarı; prognozu, cerrahi başarıyı ve hastaların yaşam süresini etkileyen majör faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle İ/R hasarının mekanizmasının ve kullanılan ajanların bu sürece etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için yapılan birçok çalışmada genellikle rat modelleri kullanılmıştır.

Karaciğer, oksijen kaynağına büyük ölçüde bağımlıdır ve hipoksik veya anoksik koşullara duyarlıdır (64). Hepatik İ/R hasarı, genellikle karaciğer rezeksiyonu veya transplantasyon ameliyatını takiben karaciğer fonksiyonlarında bozulmaya veya fonksiyon kaybına neden olur. Hepatik İ/R hasarı, benzer patofizyolojik süreçleri paylaşan, sıcak ve soğuk olarak iki tip İ/R hasarını içerir. Hepatik İ/R hasarı sürecinde rol oynayan faktörler veya yollar arasında anaerobik metabolizma, mitokondri, oksidatif stres, hücre içi kalsiyum aşırı yüklenmesi, karaciğer Kupffer hücreleri ve nötrofiller ve sitokinler ve kemokinler bulunur (65). Hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türleri, süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidroksil radikalleri ($HO^\cdot$); DNA, proteinler ve lipitlerin peroksidasyonu, hücre ölümü, inflamasyon ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma dahil olmak üzere çeşitli patolojilere neden olan reperfüzyon hasarında önemli bir rol oynarlar (66). Buna göre, hepatik İ/R hasarını önlemek ve tedavi etmek için reperfüzyon sırasında ROS'u ortadan kaldıracabilecek metodolojiler geliştirmek önemlidir. Bu amaçla, potansiyel antioksidan terapötik ajan fullerenol C60 deneysel çalışmalara konu olmuştur.

Oksidatif stres, hücrel ROS seviyeleri, hücrel enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların nötralize edici yeteneklerini aştığında ortaya çıkar. CAT, hepatositleri hasardan koruyabilen oksidoredüktazlardan biridir ve İ/R hasarı sonrası düzeyi azalmıştır (67). GST, çeşitli endojen ve ekzojen bileşiklerin, hücreleri oksidatif hasardan koruyan ana enzimatik olmayan hücre antioksidanı olan glutatyon ile konjugasyonunu katalize eder. Karaciğer dokusunda İ/R sonrası

GST düzeylerinin azaldığı bilinmektedir (68). Benzer şekilde, hepatik İ/R hasarında sonrası CAT ve GST enzim aktivitelerinin azaldığını gözlemledik.

MDA, lipid peroksidasyonunun önemli bir ürünüdür ve serumdaki artışı oksidatif stresin bir göstergesidir. Glutasyon önemli bir tiyol antioksidandır(63). Katalaz, karaciğer dokusunda önemli bir antioksidan enzimdir(66).Paraoksonaz-1 (PON-1), çeşitli aromatik karboksilik asit esterlerinin, organofosfatların ve laktonların hidrolizini katalize eden yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) üzerinde bulunan karaciğerde sentezlenen bir enzimdir (69). Paraoksonaz-1, laktonaz, tiyolaktonaz, arilesteraz ve arildiylalkilfosfataz (yaygın olarak paraoksonaz olarak bilinir) gibi birçok enzimatik aktiviteye sahiptir (70). İnsanlarda, PON-1 aktivitesi ile lipid oksidasyon belirteçlerinin serum konsantrasyonları arasında güçlü bir negatif korelasyon gözlenmiştir (71).

Reperfüzyon döneminden sonra hepatosit şişmesi, vakuolizasyon, endotel hücre yıkımı, MN hücre infiltrasyonu ve hepatik parankimal hücre nekrozu gibi birçok histopatolojik değişiklik meydana gelir (72-74). Çalışmamızda, sıçanlarda hepatik İ/R hasarlanma modeli oluşturularak patolojik değişiklikler simüle edildi. Hasarlı karaciğer doku örneklerinde parankimde hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, prenekrotik hücre, MN hücre infiltrasyonu araştırıldı ve hepsinde İ/R sonrası anlamlı olarak yükseklik tespit edildi.

Yapılan çalışmalarda güçlü inflamasyon modülatörleri olarak bilinen volatil anesteziklerin (75), kalp, akciğer, karaciğer ve böbrek dokusu üzerinde İ/R hasarı ve inflamatuvar kaskadını modüle ettiği görülmüştür (75-83).

Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda desfluran, halotan, izofluran ve sevofluran ile oluşturulan ön koşullamanın İ/R'ye karşı doku koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (84-86). Lee ve ark (76), desfluran, halotan, izofluran ve sevofluran kullanımının in vivo renal İ/R hasarı üzerindeki etkilerini incelediklerinde; hepsinin renal İ/R hasarında koruyucu etkisi olduğunu ve bu ajanlar içerisinde renal korunmada en az etkisi olan ajanın desfluran olduğunu belirtmişlerdir.

Desfluran, hızlı iyileşme ve hızlı ekstübasyon sağladığı için kliniklerde sıklıkla kullanılan güvenli ve etkili bir anestezi ajanıdır (87, 88). Köksal ve ark. laparoskopik kolesistektomi yapılan hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada desfluran ve sevofluran gruplarında serum MDA düzeylerinde anlamlı artış olduğunu, bu artışın desfluran grubunda daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca desfluran grubunda bronkoalveoler lavaj MDA düzeylerinde anlamlı bir artış ve desfluran grubunda serum SOD enzim aktivitelerinde küçük ama anlamlı bir artış olduğunu ve desfluranın sevoflurandan daha fazla sistemik ve bölgesel lipid peroksidasyonuna neden olabileceğini bildirmişlerdir (89, 90). Laparoskopik abdominal cerrahi geçiren hastalar üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise perioperatif dönemde MDA ve protein karbonil düzeylerindeki artışa karşı sevofluran ve desfluranın koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (90). Araştırmacılar, desfluran veya sevofluranın İ/R hasarına karşı erken hepatik koruyucu etkilere sahip olduğunu ve uzun vadeli sonuçlarının benzer olduğunu belirtmişlerdir (91).

Desfluranın kardiyoprotektif etkisini araştırmak amacıyla Toller ve ark (92) kardiyak İ/R uyguladıkları köpeklerde desfluran ile ön koşullamanın miyokardiyal enfarkt alanını azalttığını ve bunun hem sarkolemmal hem de mitokondriyal K-ATP kanallarının aktivasyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Fullerenlerin oksidatif hasara karşı karaciğer koruyucu etkileri vardır (93, 94). Fullerenol C60'ın böbrek, testis ve akciğer dokularında serbest radikal sünger görevi görerek koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir (95). Kuznietsova ve ark. suda çözünür bozulmamış C60 fullerenin asetaminofen kaynaklı karaciğer hasarını hafiflettiğini bildirmiştir (94). Başka bir çalışmada fulleren C60 uygulamasının, siklofosamid ile indüklenen karaciğer toksisitesi sonucu değişen karaciğer enzim düzeylerini ve MDA ve GSH, CAT, SOD aktivitelerini önemli ölçüde normalleştirdiği gösterilmiştir (96). Injac ve ark. meme kanserli sıçanlarda doksorubisin kaynaklı hepatotoksisitede fullerenol C60 (OH) 24'ün potansiyel hepatoprotektif etkilerini araştırmışlardır. Fullerenolün antioksidan özelliği ile hepatoprotektif etkiye sahip olabileceğini bildirmişlerdir (97). Bu nedenle, bu çalışmada hepatik İ/R hasarında fullerenol C60'ın antioksidan özelliğini ortaya koymayı düşündük. Bu çalışma, fulleren C60 ile tedavinin CAT ve GST aktivitesini arttırdığını ve bunun koruyucu etkisi ile tutarlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca Kartal ve ark. diyabetik sıçanlarda streptozotosin ile indüklenen alt ekstremitte İ/R hasarı sonrası fullerenol C60'ın iskelet kası dokusu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Fullerenol C60 uygulamasından sonra kaspaz-3 aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir (98).

Deneysel olarak rat karaciğerinde iskemi oluşturmada Young ve ark. (45) murine modelini tanımlamışlardır. Buna göre; atravmatik vasküler klemp kullanarak, sol lateral ve median karaciğer loblarının portal dolaşımını sağlayan portal venin ve hepatik arterin kan akımını durdurmuşlardır. Biz de çalışmamızda ratlarda hepatik iskemi oluştururken murine (wistar) modeli'ni uygulamayı tercih ettik. Bu parsiyel hepatik iskemi metodu ile eş zamanlı olarak kaudat ve sağ lateral loblarda portal dekompresyon sağlanabileceği için intestinal (mezenterik) venöz konjesyonu da engellemiş olduk.

Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda kullanılan volatil anesteziklerin 1.0 minimum alveoler konsantrasyon (MAK) değerleri birbirinden farklılık göstermektedir. Volatil anestezik ajanlardan biri olan desfluran için bu değer bazı çalışmalarda % 5.7, bazılarında ise % 6.0 veya % 6.7 olarak bildirilmiştir (76, 99-103). Çalışmamızda kullandığımız vaporizatörde ondalık miktar ayarı yapılamadığı için 1.0 MAK desfluran için % 6.0 değerini uyguladık.

Çalışmamızda, hepatosit dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon anlamlı olarak fullerenol C60-İ/R, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında, İ/R grubundan daha düşüktür. Piknotik çekirdek İ/R-F, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna anlamlı olarak düşük bulunmuştur. İ/R ve İ/R-D gruplarında kontrol grubuna göre parankimde MN hücre infiltrasyonu daha fazla görülmüştür. Parankimde MN hücre infiltrasyonu İ/R-F ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Nekrozun gruplar arasında benzer olduğu, ancak İR-D, İR-F ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre daha az yaygın olduğu bulundu. MDA düzeyi İ/R-F, İ/R-D ve İ/R-F-D gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı

olarak düşük bulundu. CAT, GST ve ARE enzim aktiviteleri İ/R-F-D ve İ/R-F gruplarında, İ/R grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti. Desfluranın histopatolojik ve oksidatif stres açısından olumlu etkileri olmasına rağmen, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yoktu.

Sonuç olarak çalışmamızda, sıçanlarda desfluran anestezisi uygulanan deneysel hepatik İ/R hasarlanma modelinde hepatik histopatolojik bulgular (hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, prenekrotik hücre, parankimde MN hücre infiltrasyonu) ve ARE, CAT ve GST enzim aktiviteleri biyokimyasal olarak incelenerek fullerenol C60'ın antioksidan özellik ile koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Fullerenol C60 kullanımı, karaciğer nakli cerrahisinde İ/R hasarının olumsuz etkilerini ve ilişkili maliyetleri azaltabilir. Bu nedenle, geleceğin en önemli hammaddeleri olan nanopartiküllerin araştırılması, klinik ortamlar için önemli etkilere sahip olabilir.

6. SONUÇ

Desfluran tek başına hepatik İ/R hasarında fullerenol C60 ile elde edilene benzer koruyucu etki sağlayamasa da fullerenol C60 ile birlikte oksidatif strese benzer bir azalmaya ve fullerenol C60 ile histopatolojik sonuçlarda iyileşmeye neden olduğu gözlemlendi. Bu bulgular, desfluran anestezisi sırasında fullerenol C60'ın organ koruyucu etkisini ima etmektedir; bu aynı zamanda cerrahi veya karaciğer hastalıklarının neden olduğu diğer İ/R hasarını terapötik nanopartiküllerle tedavi etmek için gelecekteki çalışmalara da bir temel sunacaktır.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar vardır. Birincisi, farelere ketamin ve ksilazin ile anestezisi uygulanmasıydı. Bu ajanların oksidatif hasar üzerindeki etkileri göz ardı edilemez. Ayrıca biyokimyasal olarak bazı parametreler çalışılabildi ve antiinflamatuvar sitokin düzeyleri çalışılmadı. Bu mekanizmaları tam olarak anlamak için moleküler histopatolojiyi incelemek önemlidir.

7. KAYNAKLAR

1. Xu SQ, Li YH, Hu SH, Chen K, Dong LY. Effects of Wy14643 on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol*. 2008;14(45):6936-42.
2. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res*. 2008;147(1):153-9.
3. Arslan M, Kurtipek O, Dogan AT, Unal Y, Kizil Y, Nurlu N, et al. Comparison of effects of anaesthesia with desflurane and enflurane on liver function. *Singapore Med J*. 2009;50(1):73-7.
4. Ko JS, Gwak MS, Choi SJ, Kim GS, Kim JA, Yang M, et al. The effects of desflurane and propofol-remifentanyl on postoperative hepatic and renal functions after right hepatectomy in liver donors. *Liver Transplantation*. 2008;14(8):1150-8.
5. Li Y, Zhang X, Zhu B, Xue Z. Desflurane preconditioning inhibits endothelial nuclear factor-kappa-B activation by targeting the proximal end of tumor necrosis factor-alpha signaling. *Anesth Analg*. 2008;106(5):1473-9, table of contents.
6. Tosun M, Olmez H, Unver E, Arslan YK, Cimen FK, Ozcicek A, et al. Oxidative and pro-inflammatory lung injury induced by desflurane inhalation in rats and the protective effect of rutin. *Adv Clin Exp Med*. 2021;30(9):941-8.
7. Moussa F. [60]Fullerene and derivatives for biomedical applications. 2018. p. 113-36.
8. Halenova TI, Vareniuk I, Roslova NM, Dzerzhynsky ME, Savchuk OM, Ostapchenko LI, et al. Hepatoprotective effect of orally applied water-soluble pristine C60 fullerene against CCl4-induced acute liver injury in rats. *RSC Advances*. 2016;6:100046-55.
9. de Groot H, Rauwen U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. *Transplant Proc*. 2007;39(2):481-4.
10. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*. 2005;81(5):637-47.
11. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001;94(6):1133-8.
12. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock*. 2004;21(5):401-9.

13. Toledo-Pereyra LH, Simmons RL, Najarian JS. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. *Am J Surg.* 1975;129(5):513-7.
14. Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *Faseb j.* 1990;4(15):3355-9.
15. Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol.* 1991;260(3 Pt 1):G355-62.
16. Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Free Radic Res Commun.* 1991;15(5):277-84.
17. Jaeschke H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290(6):G1083-8.
18. Jaeschke H, Farhood A, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Am J Physiol.* 1993;264(4 Pt 1):G801-9.
19. Arumugam TV, Woodruff TM, Stocks SZ, Proctor LM, Pollitt S, Shiels IA, et al. Protective effect of a human C5a receptor antagonist against hepatic ischaemia-reperfusion injury in rats. *J Hepatol.* 2004;40(6):934-41.
20. Koo A, Komatsu H, Tao G, Inoue M, Guth PH, Kaplowitz N. Contribution of no-reflow phenomenon to hepatic injury after ischemia-reperfusion: evidence for a role for superoxide anion. *Hepatology.* 1992;15(3):507-14.
21. Scoazec JY, Durand F, Degott C, Delautier D, Bernuau J, Belghiti J, et al. Expression of cytokine-dependent adhesion molecules in postreperfusion biopsy specimens of liver allografts. *Gastroenterology.* 1994;107(4):1094-102.
22. Nakano H, Kuzume M, Namatame K, Yamaguchi M, Kumada K. Efficacy of intraportal injection of anti-ICAM-1 monoclonal antibody against liver cell injury following warm ischemia in the rat. *Am J Surg.* 1995;170(1):64-6.
23. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol.* 1990;68(7-8):989-98.
24. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49(3):481-93.
25. Cadenas E. Mechanisms of Antioxidant Action. In: Özben T, editor. *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Pathological and Physiological Significance.* Boston, MA: Springer US; 1998. p. 237-51.

26. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery*. 1983;94(3):415-22.
27. Arumugam TV, Magnus T, Woodruff TM, Proctor LM, Shiels IA, Taylor SM. Complement mediators in ischemia-reperfusion injury. *Clin Chim Acta*. 2006;374(1-2):33-45.
28. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol*. 1991;5(6):733-42.
29. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 1982;47(5):412-26.
30. Girn HR, Ahilathirunayagam S, Mavor AI, Homer-Vanniasinkam S. Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc Endovascular Surg*. 2007;41(4):277-93.
31. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci*. 1991;48(4):301-9.
32. Sakamoto H, Corcoran TB, Laffey JG, Shorten GD. Isoprostanes--markers of ischaemia reperfusion injury. *Eur J Anaesthesiol*. 2002;19(8):550-9.
33. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ*. 2003;10(1):45-65.
34. Yang YL, Li JP, Xu XP, Dou KF, Yue SQ, Li KZ. Protective effects of tumor necrosis factor alpha antibody and ulinastatin on liver ischemic reperfusion in rats. *World J Gastroenterol*. 2004;10(21):3161-4.
35. Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell*. 1986;46(5):705-16.
36. Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell*. 1986;47(6):921-8.
37. Senftleben U, Karin M. The IKK/NF-kappaB pathway. *Crit Care Med*. 2002;30(1 Supp):S18-s26.
38. Wu YJ, Ling Q, Zhou XH, Wang Y, Xie HY, Yu JR, et al. Urinary trypsin inhibitor attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury by reducing nuclear factor-kappa B activation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2009;8(1):53-8.
39. Arai S, Teramoto K, Kawamura T. Current progress in the understanding of and therapeutic strategies for ischemia and reperfusion injury of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2003;10(3):189-94.

40. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40.
41. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem.* 1992;38(1):66-70.
42. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm.* 1994;Ns34(9):26-35.
43. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-6.
44. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J.* 1990;265(3):659-65.
45. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001;54(3):176-86.
46. Mortensen ME, Rennebohm RM. Clinical pharmacology and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Pediatr Clin North Am.* 1989;36(5):1113-39.
47. Buzea C, Pacheco, II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases.* 2007;2(4):Mr17-71.
48. RC. B, JJ. A. Inhaled anesthetic delivery systems. In: Miller RD, editor. *Miller's Anesthesia* Philadelphia: Churchill Livingstone. 1. 7 ed: Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009. p. 667-718
49. ERHAN ÖL. İnhalasyon anesteziikleri ve uygulamaları. In: Tüzüner F, editor. *Anestezi Yoğun Bakım Ağrı* 1ed. ANKARA2010. p. 157-81.
50. Morgan G, Mikhail M, Murray M. 3 ed. Los Angeles: The McGraw-Hill Companies Inc M. *Clinical Anesthesiology*; 2002. 435-59 p.
51. ELAR Z. *Klinik Anestezi El Kitabı*. 3 ed: İstanbul:Logos Yayıncılık Tic AŞ; 1997.
52. MARTİN JL. Inhaled anesthetic: Metabolism & Toxicity. In: RD M, editor. *Miller's Anesthesia* 1. 7 ed: Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009. p. 633-66.
53. O'Keeffe NJ, Healy TE. The role of new anesthetic agents. *Pharmacol Ther.* 1999;84(3):233-48.
54. Drachman RH, Root RK, Wood WB, Jr. Studies on the effect of experimental nonketotic diabetes mellitus on antibacterial defense. I. Demonstration of a defect in phagocytosis. *J Exp Med.* 1966;124(2):227-40.

55. Horiuchi N, Suda T, Sasaki S, Takahashi H, Shimazawa E, Ogata E. Absence of regulatory effects of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ on 25-hydroxyvitamin D metabolism in rats constantly infused with parathyroid hormone. *Biochem Biophys Res Commun.* 1976;73(4):869-75.
56. Sukov W, Barth DS. Three-dimensional analysis of spontaneous and thalamically evoked gamma oscillations in auditory cortex. *J Neurophysiol.* 1998;79(6):2875-84.
57. Brower M, Grace M, Kotz CM, Koya V. Comparative analysis of growth characteristics of Sprague Dawley rats obtained from different sources. *Lab Anim Res.* 2015;31(4):166-73.
58. Abdel-Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS. Ochratoxicosis: prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats. *J Appl Toxicol.* 1999;19(1):7-12.
59. Van Ye TM, Roza AM, Pieper GM, Henderson J, Jr., Johnson CP, Adams MB. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage. *J Surg Res.* 1993;55(5):553-8.
60. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974;249(22):7130-9.
61. Brites FD, Verona J, Schreier LE, Fruchart JC, Castro GR, Wikinski RL. Paraoxonase 1 and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in patients with low hdl-cholesterol levels with or without primary hypertriglyceridemia. *Arch Med Res.* 2004;35(3):235-40.
62. Al Shoyaib A, Archie SR, Karamyan VT. Intraperitoneal Route of Drug Administration: Should it Be Used in Experimental Animal Studies? *Pharm Res.* 2019;37(1):12.
63. Wong CH, Liu TZ, Chye SM, Lu FJ, Liu YC, Lin ZC, et al. Sevoflurane-induced oxidative stress and cellular injury in human peripheral polymorphonuclear neutrophils. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(8):1399-407.
64. Andrew TL, Swager TM. A Fluorescence Turn-On Mechanism to Detect High Explosives RDX and PETN. *Journal of the American Chemical Society.* 2007;129(23):7254-5.
65. Guan LY, Fu PY, Li PD, Li ZN, Liu HY, Xin MG, et al. Mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effects of nitric oxide. *World J Gastrointest Surg.* 2014;6(7):122-8.

66. Long Y, Wei H, Li J, Li M, Wang Y, Zhang Z, et al. Prevention of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury by Carbohydrate-Derived Nanoantioxidants. *Nano Lett.* 2020;20(9):6510-9.
67. Yabe Y, Kobayashi N, Nishihashi T, Takahashi R, Nishikawa M, Takakura Y, et al. Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia/reperfusion injury by superoxide dismutase and catalase derivatives. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;298(3):894-9.
68. R GB, Panisello-Roselló A, Sanchez-Nuno S, Alva N, Roselló-Catafau J, Carbonell T. Nrf2 and oxidative stress in liver ischemia/reperfusion injury. *Febs j.* 2022;289(18):5463-79.
69. James RW. A long and winding road: defining the biological role and clinical importance of paraoxonases. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44(9):1052-9.
70. Zuin M, Trentini A, Marsillach J, D'Amuri A, Bosi C, Roncon L, et al. Paraoxonase-1 (PON-1) Arylesterase Activity Levels in Patients with Coronary Artery Disease: A Meta-Analysis. *Dis Markers.* 2022;2022:4264314.
71. Tang WHW, Hartiala J, Fan Y, Wu Y, Stewart AFR, Erdmann J, et al. Clinical and Genetic Association of Serum Paraoxonase and Arylesterase Activities With Cardiovascular Risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2012;32(11):2803-12.
72. Cai L, Li Y, Zhang Q, Sun H, Yan X, Hua T, et al. Salidroside protects rat liver against ischemia/reperfusion injury by regulating the GSK-3 β /Nrf2-dependent antioxidant response and mitochondrial permeability transition. *Eur J Pharmacol.* 2017;806:32-42.
73. Su S, Luo D, Liu X, Liu J, Peng F, Fang C, et al. miR-494 up-regulates the PI3K/Akt pathway via targeting PTEN and attenuates hepatic ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Biosci Rep.* 2017;37(5).
74. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury--a fresh look. *Exp Mol Pathol.* 2003;74(2):86-93.
75. Lee HT, Emala CW, Joo JD, Kim M. Isoflurane improves survival and protects against renal and hepatic injury in murine septic peritonitis. *Shock.* 2007;27(4):373-9.
76. Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y, Nasr SH, Emala CW. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo. *Anesthesiology.* 2004;101(6):1313-24.

77. Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E, et al. Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system. *Anesthesiology*. 1997;86(1):188-95.
78. Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF, Becker BF. Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology*. 1999;91(2):521-30.
79. Shayevitz JR, Rodriguez JL, Gilligan L, Johnson KJ, Tait AR. Volatile anesthetic modulation of lung injury and outcome in a murine model of multiple organ dysfunction syndrome. *Shock*. 1995;4(1):61-7.
80. Liu R, Ishibe Y, Ueda M, Hang Y. Isoflurane administration before ischemia and during reperfusion attenuates ischemia/reperfusion-induced injury of isolated rabbit lungs. *Anesth Analg*. 1999;89(3):561-5.
81. Liu R, Ishibe Y, Ueda M. Isoflurane-sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia-reperfusion-induced injury in isolated rat lungs. *Anesthesiology*. 2000;92(3):833-40.
82. Imai M, Kon S, Inaba H. Effects of halothane, isoflurane and sevoflurane on ischemia-reperfusion injury in the perfused liver of fasted rats. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1996;40(10):1242-8.
83. Kon S, Imai M, Inaba H. Isoflurane attenuates early neutrophil-independent hypoxia-reoxygenation injuries in the reperfused liver in fasted rats. *Anesthesiology*. 1997;86(1):128-36.
84. Tanaka K, Ludwig LM, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Mechanisms of cardioprotection by volatile anesthetics. *Anesthesiology*. 2004;100(3):707-21.
85. Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C, Pasch T, Spahn DR, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. *Br J Anaesth*. 2003;91(4):566-76.
86. Piriou V, Chiari P, Lhuillier F, Bastien O, Loufoua J, Raisky O, et al. Pharmacological preconditioning: comparison of desflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane in rabbit myocardium. *Br J Anaesth*. 2002;89(3):486-91.
87. Jakobsson J. Desflurane: a clinical update of a third-generation inhaled anaesthetic. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2012;56(4):420-32.
88. Meco M, Cirri S, Gallazzi C, Magnani G, Cosseta D. Desflurane preconditioning in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, randomised and placebo-controlled study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007;32(2):319-25.

89. Koksai GM, Sayilgan C, Aydin S, Uzun H, Oz H. The effects of sevoflurane and desflurane on lipid peroxidation during laparoscopic cholecystectomy. *Eur J Anaesthesiol.* 2004;21(3):217-20.
90. Sivaci R, Kahraman A, Serteser M, Sahin DA, Dilek ON. Cytotoxic effects of volatile anesthetics with free radicals undergoing laparoscopic surgery. *Clin Biochem.* 2006;39(3):293-8.
91. Mangus RS, Kinsella SB, Farar DT, Fridell JA, Woolf LT, Kubal CA. Impact of Volatile Anesthetic Agents on Early Clinical Outcomes in Liver Transplantation. *Transplant Proc.* 2018;50(5):1372-7.
92. Toller WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate- dependent potassium channels: mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology.* 2000;92(6):1731-9.
93. Pun PB, Lu J, Moomhala S. Involvement of ROS in BBB dysfunction. *Free Radic Res.* 2009;43(4):348-64.
94. Kuznietsova H, Dziubenko N, Herheliuk T, Prylutsky Y, Tauscher E, Ritter U, et al. Water-Soluble Pristine C(60) Fullerene Inhibits Liver Alterations Associated with Hepatocellular Carcinoma in Rat. *Pharmaceutics.* 2020;12(9).
95. Srdjenovic B, Milic-Torres V, Grujic N, Stankov K, Djordjevic A, Vasovic V. Antioxidant properties of fulleranol C60(OH)₂₄ in rat kidneys, testes, and lungs treated with doxorubicin. *Toxicol Mech Methods.* 2010;20(6):298-305.
96. Elshater AA, Haridy MAM, Salman MMA, Fayyad AS, Hammad S. Fullerene C(60) nanoparticles ameliorated cyclophosphamide-induced acute hepatotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018;97:53-9.
97. Injac R, Perse M, Obermajer N, Djordjevic-Milic V, Prijatelj M, Djordjevic A, et al. Potential hepatoprotective effects of fulleranol C60(OH)₂₄ in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas. *Biomaterials.* 2008;29(24-25):3451-60.
98. Kartal H, Küçük A KA, Polat Y, Süngü N, Kip G. *Journal of Surgery and Medicine.* 2020. The effect of fulleranol C60 on skeletal muscle after lower limb ischemia reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats;4(6):451-5.
99. Haelewyn B, Zhu L, Hanouz JL, Persehay E, Roussel S, Ducouret P, et al. Cardioprotective effects of desflurane: effect of timing and duration of administration in rat myocardium. *Br J Anaesth.* 2004;92(4):552-7.

100. Tsai SK, Lin SM, Hung WC, Mok MS, Chih CL, Huang SS. The effect of desflurane on ameliorating cerebral infarction in rats subjected to focal cerebral ischemia-reperfusion injury. *Life Sci.* 2004;74(20):2541-9.
101. Zhang B, Wei X, Cui X, Zhou H, Ding W, Li W. Desflurane affords greater protection than halothane in the function of mitochondria against forebrain ischemia reperfusion injury in rats. *Anesth Analg.* 2008;106(4):1242-9, table of contents.
102. Arslan M, Ozkose Z, Akyol G, Barit G. The age- and gender-dependent effects of desflurane and sevoflurane on rat liver. *Exp Toxicol Pathol.* 2010;62(1):35-43.
103. Obal D, Rascher K, Favoccia C, Dettwiler S, Schlack W. Post-conditioning by a short administration of desflurane reduced renal reperfusion injury after differing of ischaemia times in rats. *Br J Anaesth.* 2006;97(6):783-91.

8. ÖZET

Desfluran Anestezisi Uygulanan Sıçanlarda Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Fullerenol C60'ın Karaciğer Dokusu Üzerine Etkisi

Karaciğer cerrahisi ve transplantasyonu sırasında kısmi veya tam damar tıkanıklığı dönemleri kaçınılmazdır ve iskemi-reperfüzyon hasarına (İR) neden olur. Nanotıp, insan sağlığını korumak ve geliştirmek amacıyla biyomedikal bilimler, fizik ve mühendislik gibi disiplinler arası etkilerle ortaya çıkan en son teknolojiyi kullanır. Disiplinlerarası araştırmalar, antioksidan nanopartiküllerin potansiyel tedavi edici maddeler olarak tanıtılmasını beraberinde getirmiştir. Bu çalışmanın amacı karaciğer İR hasarında fullerenol C60 uygulamasının ve desfluran anestezisinin karaciğer dokusu üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

Otuz sıçan rastgele beş gruba ayrıldı: kontrol (K), iskemi-reperfüzyon (İR), İR-desfluran (İR-D), Fullerenol C60-iskem reperfüzyonu (F-İR) ve Fullerenol C60-iskemi reperfüzyon-desfluran (F-İR-D). İR, İR-D ve F-İR-D gruplarında, porta hepatis 120 dakika süreyle klemplendikten sonra hepatik iskemi indüklendi ve ardından 120 dakika reperfüzyon uygulandı. Fullerenol C60 gruplarına iskemiden 30 dakika önce intraperitoneal 100 mg/kg fullerenol C60 uygulandı. İR-D ve F-İR-D gruplarına IR sırasında desfluran (%6) uygulandı. Tüm gruplar anestezi altında sakrifiye edildi. Karaciğer doku örnekleri hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Doku örneklerinde malondialdehit (MDA) düzeyleri, katalaz (CAT), glutatyon-s-transferaz (GST) ve arilesteraz (ARE) enzim aktiviteleri ölçüldü.

İ/R grubunda İR-D, F-İR ve F-İR-D gruplarına göre çok daha fazla hepatosit dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon ve parankimal mononükleer hücre

infiltrasyonu vardı. Katalaz ve GST enzim aktivitesi FC60-İR grubunda İR grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. MDA düzeylerinin İR-D, FC60-İR ve FC60-İRD gruplarında İR grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görüldü.

Desfluranlı intraperitoneal fullerenol C60 oksidatif stresi azalttı ve karaciğer hasarını düzeltti.

Anahtar Kelimeler: FullerenolC60, Desfluran, İskemi-reperfüzyon, Karaciğer, Biyokimyasal analiz, Histopatolojik analiz

9. ABSTRACT

Effects Of FullerenolC60 (FullC60) On Liver Tissue In Liver Ischemia-Reperfusion Injury In Rats Undergoing Desflurane Anesthesia

During liver surgery and transplantation, periods of partial or total vascular occlusion are inevitable and result in ischemia-reperfusion injury (IR). Nanomedicine uses the latest technology, which has emerged with interdisciplinary effects, such as biomedical sciences, physics, and engineering, to protect and improve human health. Interdisciplinary research has brought along the introduction of antioxidant nanoparticles as potential therapeutics. The goal of this study was to investigate the effects of fullerenolC60 administration and desflurane anesthesia on liver tissue in liver IR injury.

Thirty rats were randomly divided into five groups: control (C), ischemia-reperfusion (IR), ischemia-reperfusion-desflurane (IR-D), fullerenol C60-ischemia reperfusion (F-IR), and fullerenol C60 - ischemia reperfusion-desflurane (F-IR-D). In the IR, IR-D, and F-IR-D groups, hepatic ischemia was induced after the porta hepatis was clamped for 120 min, followed by 120 min of reperfusion. Intraperitoneal 100 mg/kg Fullerenol C60 was administered to the fullerenol C60 groups 30 min before ischemia. Desflurane (6%) was administered to the IR-D and F-IRD groups during IR. All groups were sacrificed under anesthesia. Liver tissue samples were examined under a light microscope by staining with hematoxylin-eosin (H&E). Malondialdehyde (MDA) levels, catalase (CAT), glutathione-s-transferase (GST), and arylesterase (ARE) enzyme activities were measured in the tissue samples.

The IR group had considerably more hepatocyte degeneration, sinusoidal dilatation, and parenchymal mononuclear cell infiltration than the IR-D, F-IR, and F-IR-D groups. Catalase and GST enzyme activity were significantly higher in the F-IR group than in the IR group. The MDA levels were found to be significantly lower in the IR-D, F-IR, and F-IR-D groups than in the IR group.

Intraperitoneal FullerenolC60 with desflurane reduced oxidative stress and corrected liver damage.

Keywords: Fullerenol C60, Desfurane, Ischemia-reperfusion, Liver, Biochemical analysis, Histopathological analysis