



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL BAĞCILAR

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

TIKANMA SARILIĞI MODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OZON TEDAVİSİNİN KARACİĞER ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Ahmet Salhat

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2024





T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL BAĞCILAR

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

TIKANMA SARILIĞI MODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OZON TEDAVİSİNİN KARACİĞER ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Ahmet Salhat

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Osman Bilgin Gülçiçek

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2024

TEŞEKKÜR

Henüz öğrencilik yıllarımda iken Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde bana verdiği tüm destek ve rehberlik için Prof. Dr. Vafi ATALAY' a,

Asistanlık eğitim sürecim boyunca gerek mesleki gerekse hayat tecrübeleri, bilgi ve birikimleri ile gelişimime katkı sağlamış olan değerli hocalarım Op. Dr. Fatih ÇELEBİ, Doç. Dr. Rıza KUTANİŞ, Doç. Dr. Atilla ÇELİK, Doç. Dr. Osman Bilgin GÜLÇİÇEK, Doç. Dr. Erkan YAVUZ, Doç. Dr. Hakan YİĞİTBAŞ, Doç. Dr. Candaş ERÇETİN ve Doç. Dr. Serhat MERİÇ; kliniğimizde çalışmış ve çalışmakta olan tüm uzman abi ve ablalarıma;

Cerrahiye başladığım ilk günden itibaren bildiklerini ve tecrübelerini bana aktaran kıdemlilerim Op. Dr. Nihat BUĞDAYCI, Op. Dr. Mehmet Alim TURGUT, Op. Dr. Orkhan VALİYEV, Op. Dr. Fikret ÇALIKOĞLU, Op. Dr. Haşim Furkan GÜLLÜ, Op. Dr. Yunus Emre AKTİMUR, Op. Dr. Alparslan SAYLAR ve Op. Dr. Ahmet Güray DURMAZ' a;

Zorlu asistanlık süreci boyunca kardeşliğini her daim hissettiğim Op. Dr. Farid Mohammad HAMAD, Dr. Kylie Sim KARADAĞ, Dr. İbrahim ÇAKIR, Dr. Ahmet BARCIN, Dr. Abdulaziz ALEİSSA, Dr. Alperen İbrahim SAYAR, Dr. Ayşe Hicret YILMAZ, Dr. Gökhan ALICI, Dr. Mustafa Can ALIKLI, Dr. Fırat EREN, Dr. Bülent TOKSÖZ, Dr. Onur ÇAKIR, Dr. Ali NASSAN, Dr. Onur MERT, Dr. Merve ÖZTÜRK, Dr. Bilal ÖZTAŞ, Dr. Javidan İBRAHİMOV' a;

Tez çalışmamda emeği geçen Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Arş. Gör. Dr. Özgür Doğa ÖZSOY, hastanemiz Patoloji Kliniği'nden Uzm. Dr. Tevhide Bilgen ÖZCAN, hastanemiz BADABEM sorumlu veteriner hekimi Dr. Duygu Sultan ORHAN ve veteriner teknisyeni Fatih GENÇ' e;

Emeklerini yadsıyamayacağım hemşire ve personel arkadaşlarıma;

Bugünlere gelebilmem için elinden gelen her imkanı önüme sunan annem Naile' ye, hep yanımda olan ve varlığından güç aldığım biricik eşim Betül'e, çocuklarım İbrahim ve Sare'ye;

Sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
KISALTMALAR iv
TABLO LİSTESİ vi
ŞEKİL LİSTESİ vii
ÖZET x
ABSTRACT xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Karaciğer Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi 3
2.2. Safra Kesesi, Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi 12
2.2.1. Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi 13
2.2.2. Safra Kesesi Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi 16
2.3. Ratlarda Karaciğer ve Safra Yolları Anatomisi 18
2.4. Safra Fizyolojisi 19
2.4.1. Safra Salgısında Bulunan Maddeler 22
2.5. Sarılığın Sınıflandırılması 27
2.5.1. Tıkanma Sarılığı 28
2.6. Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stres 32
2.7. Karaciğer Fonksiyon Testleri 33
2.8. İyileşme Kaskadı 35
2.9. Ozon Tedavisi 35
2.9.1. Genel Bilgiler ve Tarihçe 35
2.9.2. Etki Mekanizmaları 37
2.9.3. Uygulama Yöntemleri 38

2.9.4. Ozonun Medikal kullanım alanları……40

3.GEREÇ VE YÖNTEM……41

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar 42

3.2. Ozon üretimi..... 43

3.3. Anestezi ve Cerrahi İşlem 43

3.4. Cerrahi Sonrası Bakım, Tedavi ve Deneyin Sonlandırılması 45

3.5. Biyokimyasal Değerlendirme..... 47

3.1 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme 48

3.6. İstatistiksel Değerlendirme..... 50

4. BULGULAR 51

4.1. Biyokimyasal Bulgular 51

4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular 58

5. TARTIŞMA..... 68

6. SONUÇ 73

7. KAYNAKLAR..... 74

8. EKLER 88

KISALTMALAR

5'NT: 5' Nükleotidaz

ACD-A: Asit Sitrat Dekstroz

ALP: Alkalen Fosfataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

ASK: Ana Safra Kanalı

AST: Aspartat Aminotransferaz

BC: Buffy Coat

CAT: Katalaz

CCK: Kolesistokinin

CCl_4: Karbon Tetraklorür

CK-19: Sitokeratin-19

CK-7: Sitokeratin-7

EGF: Epidermal Growth Factor

FGF: Fibroblast Growth Factor

GGT: Gama Glutamil Transpeptidaz

GPx: Glutatyon Peroksidaz

GST: Glutatyon S-transferaz

HGF: Hepatocyte Growth Factor

HSP: Heat shock protein

HV: Hepatik Ven

IGF-I: Insulin Like Growth Factor-I

i.p.: intraperitoneal

LDH: Laktat Dehidrojenaz

LOP: Lipit oksidasyon ürünleri (Lipid oxidation products)

MDA: Malondialdehit

NFκB: Aktifleştirilmiş B hücrelerinde kappa hafif zincir çoğaltıcı nükleer faktör

PBS: Phosphate Buffered Saline

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

PRP: Platelet-rich Plasma (Trombositten Zengin Plazma)

PT: Portal Trakt

PUFA: Çoklu doymamış yağ asidi (polyunsaturated fatty acid)

PV: Portal Ven

ROT: Reaktif oksijen türevleri

SOD: Süperoksit Dismutaz

SV: Santral Ven

TGF-β: Transforming Growth Factor-β

THV: Terminal Hepatik Venül

TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α

TS: Tıkanma Sarılığı

VCİ: Vena Cava Inferior

VİP: Vazoaktif İntestinal Peptid

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Safra kesesi ve karaciğer safralarının içeriği 21
Tablo 2.2: Sarılığın Sınıflandırılması 27
Tablo 2.3: Tıkanma Sarılığının Vücuda Etkileri 31
Tablo 4.1: Total protein ve albümin değerlerinin karşılaştırması 51
Tablo 4.2: AST ve ALT değerlerinin karşılaştırılması 52
Tablo 4.3: Serum TB ve DB değerlerinin karşılaştırılması 53
Tablo 4.4: ALP ve GGT değerlerinin karşılaştırılması 53
Tablo 4.5: LDH değerlerinin karşılaştırılması 54
Tablo 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerinin karşılaştırılması 55
Tablo 4.7: TNF-α değerlerinin karşılaştırılması 55
Tablo 4.8: MDA değerlerinin karşılaştırılması 56
Tablo 4.9: SOD1 değerlerinin karşılaştırlması 57
Tablo 4.10: GPx değerlerinin karşılaştırılması 57

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Yaklaşık 36 günlük bir embriyonun şematik bir temsili 3
Şekil 2.2: Karaciğerin segmental anatomik yapısı 5
Şekil 2.3: Çölyak trunkus ve ana hepatik arterin anatomik yapısı 6
Şekil 2.4: Hepatik arterin anatomik varyasyonları 6
Şekil 2.5: Portal Triad' ın histolojik görüntüsü 8
Şekil 2.6: Karaciğer parankim yapısının şematik çizimi 10
Şekil 2.7: Asinüs modelinin 3 bölgesindeki karaciğer kan akışını Matsumoto' nun karaciğer mimarisi konseptiyle karşılaştıran şematik çizim 11
Şekil 2.8: Safra kesesinin, ekstrahepatik safra yollarının ve koledokoduodenal kavşağın şematik gösterimi 12
Şekil 2.9: Safra kesesi ve sistik kanal anatomik varyasyonlar. 14
Şekil 2.10: Sistik arterin anatomisindeki varyasyonlar 17
Şekil 2.11: Ratlarda hepatobiliyer sistem anatomisinin görüntüsü 19
Şekil 2.12: Karaciğerden safra üretimini, safra kesesi kasılmasını ve Oddi sfinkterinin gevşemesini etkileyen faktörler 219
Şekil 2.13: Bilirübinin metabolizması 26
Şekil 3.1: Ozon üretimi 43
Şekil 3.2: Cerrahi işlem öncesi hazırlıklar. 44
Şekil 3.3: Cerrahi işlemin uygulanma aşamaları. 44
Şekil 3.4: Fasyal ve kas planlarının kapatılarak cilt süturasyonu ve antisepsinin sağlanması. 45
Şekil 3.5: Kontrol ve tedavi grubundaki sıçanlarda vücut yüzeyi ve intraabdominal organlardaki renk değişiklikleri 46
Şekil 3.6: Sakrifikasyon işleminde karaciğerin örneklenmesi ve intrakardiyak ponksiyon ile kan örneği alınması 46
Şekil 4.1: Total protein ve albümin değerlerine ait grafikler. 51
Şekil 4.2: AST ve ALT değerlerine ait grafikler. 52

Şekil 4.3: Serum TB ve DB değerlerine ait grafikler. 53
Şekil 4.4: ALP ve GGT değerlerine ait grafikler. 54
Şekil 4.5: LDH değerlerine ait grafik. 54
Şekil 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerine ait grafikler. 55
Şekil 4.7: TNF-α değerlerine ait grafik. 56
Şekil 4.8: MDA değerlerine ait grafik. 56
Şekil 4.9: SOD1 değerlerine ait grafik. 57
Şekil 4.10: GPx değerlerine ait grafik. 57
Şekil 4.11: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi 58
Şekil 4.12: Kontrol grubunda hasarlı portal alan ve belirgin düktüler proliferasyonun görüntüsü 58
Şekil 4.13: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi 59
Şekil 4.14: Kontrol grubunda hasarlı portal alanda artmış duktüler proliferasyon ve çevresindeki fibrozisin görüntüsü 59
Şekil 4.15: Kontrol grubunda hasarlı portal alanlar arasındaki köprüleşme fibrozsinin görüntüsü 60
Şekil 4.16: Tedavi grubunda portoportal köprüleşme ve duktüler proliferasyon görünümü 60
Şekil 4.17: Sham grubunda normal izlenen portal alanda safra duktusunun görüntüsü 60
Şekil 4.18: Kontrol grubunda belirgin olarak görülen safra duktus hasarı 61
Şekil 4.19: Kontrol grubunda duktulit görüntüsü; hasarlı safra duktuslarında lenfosit ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu 62
Şekil 4.20: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-7 (+)liği 62
Şekil 4.21: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-19 (+) liği 63
Şekil 4.22: Tedavi grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon; şiddetli duktus hasarı ve duktüler proliferasyon alanı 63
Şekil 4.23,24: Tedavi grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon;orta-şiddetli duktus hasarı ve duktüler proliferasyon alanı 65
Şekil 4.25: Kanaliküler safra tıkaçlarının görüntüsü 66

Şekil 4.26: Sham grubunda HGF ekspresyonu 66
Şekil 4.27: Kontrol grubunda HGF ekspresyonu 60
Şekil 4.26: Tedavi grubunda HGF ekspresyonu 67

ÖZET

Giriş ve Amaç: Çalışmamızda, Tıkanma sarılığı modeli oluşturulmuş ratlarda ozon tedavisinin karaciğer üzerine etkilerin klinik ve histopatolojik bulgular eşliğinde değerlendirilmesini amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Dişi cinsiyet, Wistar Hannover cinsi, 250-300 gr ağırlığında, yaşları 10-12 hafta aralığında, 24 adet rat: Sham, Kontrol (Tıkanma sarılığı (TS) oluşturulması sonrası intraperitoneal oda havası), Tedavi (TS oluşturulması sonrası intraperitoneal ozon) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Cerrahi işlem sonrası 1. 4. ve 7. günlerde tedavi uygulandıktan sonra 14. günde sakrifiye edildi.

Bulgular: Biyokimyasal parametrelerden TNF-α ($p=0,034$) ve MDA ($p=0,001$) değerlerinde tedavi ve kontrol grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır. Histopatolojik incelemede, tedavi grubunda kontrol grubuna göre karaciğerde portal inflamasyon, fibrozis, safra duktus hasarı, duktüler proliferasyon ve kolestaz bulgularının anlamlı derecede gerilediği tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede ise, HGF ekspresyonunun kontrol grubunda tedavi grubuna kıyasla anlamlı derecede daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç: Tıkanma sarılığına karşı ozon tedavisinin klinik bulgularda iyileşme sağlaması dolayısıyla iyi bir tedavi seçeneği olacağını öngörmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Tıkanma sarılığı, ozon, rat, karaciğer

ABSTRACT

Introduction and Aim: In our study, we aimed to evaluate the effects of systemic administration of ozone in experimental animals with obstructive jaundice, accompanied by clinical and histopathological findings.

Material and Method: Twenty-four female Wistar Hannover rats weighing 250-300 g, aged between 10-12 weeks, were divided into 3 groups: Sham, Control (intraperitoneal room air after creating obstructive jaundice (OJ)), Treatment (intraperitoneal ozone after creating OJ). Treatment was administered on days 1, 4, and 7 after surgery, and the rats were sacrificed on day 14.

Results: Significant differences were found between the treatment and control groups in the biochemical parameters of TNF-α ($p=0.034$) and MDA ($p=0.001$). Histopathological examination revealed that, compared to the control group, the treatment group showed a significant regression in liver findings such as portal inflammation, fibrosis, bile duct damage, ductal proliferation, and cholestasis. Immunohistochemical analysis indicated that the expression of HGF was significantly higher in the control group compared to the treatment group.

Conclusion: We foresee that ozone therapy would be a good treatment option for obstructive jaundice due to its ability to improve clinical findings.

Keywords: Obstructive jaundice, ozone, rat, liver

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıkanma sarılığı (TS), safra yollarının herhangi bir nedenle tıkanması sonucunda ortaya çıkan geniş kapsamlı bir hastalık tablosudur. Bu tablo, safra taşı gibi iyi huylu bir durumdan kaynaklanabileceği gibi, inflamasyon veya safra yollarıyla ilişkili tümörler gibi nedenlerle de oluşabilir (1). TS'de yara iyileşmesinin gecikmesi gibi komplikasyonların yanı sıra, uzamış sarılık durumunda periferik vazokonstrüksiyon, kardiyovasküler sistem bozuklukları, gastrointestinal kanama, pıhtılaşma bozukluğu, karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu, sepsis ve çoklu organ yetmezliği gibi ciddi komplikasyonlar da görülebilir. Bu klinik seyir sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri hastanın genel durumunu hızla kötüleştirmekte ve mortaliteyi artırmaktadır.

Literatür taraması yapıldığında ozon terapisinin farklı sistemik hastalıklar için kullanıldığı görülmekle beraber, tıkanma sarılığında kullanımı konusundaki veriler oldukça sınırlıdır. 1999 yılında Peralta C. ve ark.'larının yaptığı çalışmada, hepatik iskemi – reperfüzyon modelinde intrarektal ozon gazı verilmesini (2), 2004 yılında Gonzales R. ve ark.'larının çalışmasında sisplatine bağlı akut nefrotoksite oluşumunda intrarektal ozon gazı verilmesinin koruyucu etkide pozitif yönde katkısı olduğu gösterilmiş, biyokimyasal parametreler üzerinden karşılaştırılmıştır (3).

Ozon Terapisi Madrid Deklarasyonunda (2010); biyolojik rejenarasyonda düşük doz aralığı kullanılması uygun olacağı belirtilmektedir. İntraperitoneal uygulaması 10-20 µg/ml konsantrasyonlarda serum fizyolojik ile birlikte lavaj amacıyla kullanılmaktadır. Düşük dozlarda immunmodülasyon etkisi ön plandayken, orta dozlarda immünmodülasyon ve antioksidant defans sistemine etki etmektedir. Ozon tedavisi prensiplerinde aşamalı doz arttırımı ile tedaviye devam edilmesi önerilmektedir.

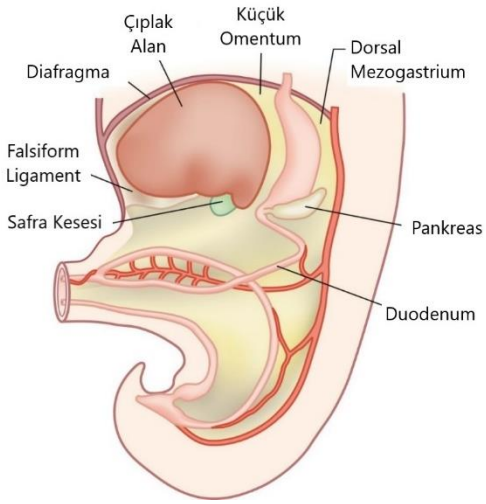
Tıkanma sarılığında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri ve ilerleyen sarılık hastalarda morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır. Ozon terapisinin daha önceden farklı

sistemler üzerinde antiinflamatuar özellikleri gösterilmiş ancak tıkanma sarılığı üzerine etkisi net olarak ortaya konmamıştır. Bu araştırmamızda ozon terapisinin sıçanlarda tıkanma sarılığı üzerine olumlu etkilerinin olacağını düşünmekle birlikte, olumlu etki saptandığı taktirde bunun hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğini de ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

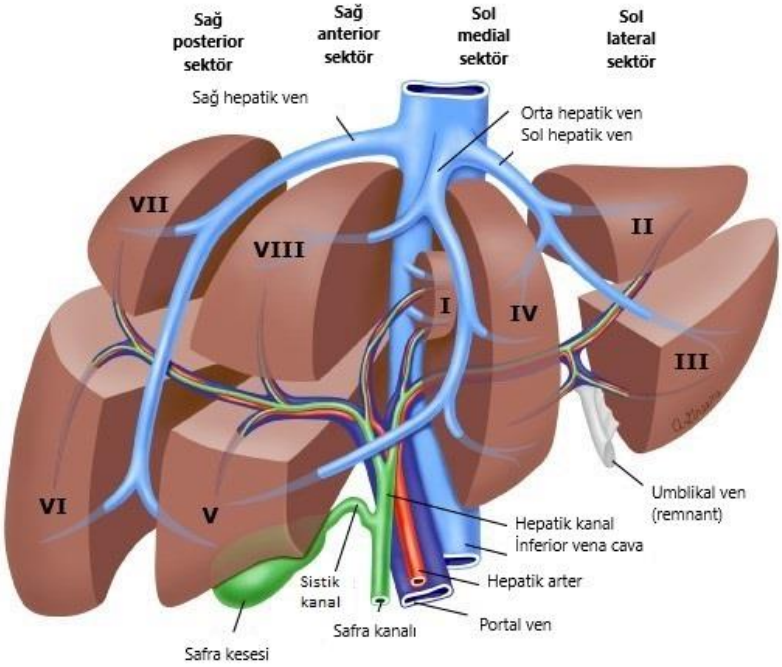
Karaciğer, safra yolları ve pankreas gelişim aşamasında ortak bir progenitör hücreyi paylaşır. Embriyonik gelişim sırasında kardiyak mezenşim ve septum transversumdan gelen sinyaller bu süreci yönlendirir. Gebeliğin üçüncü haftasında, endodermal epitel hücrelerinden bir tomurcuk olarak bilinen hepatik divertikül veya karaciğer tomurcuğu oluşmaya başlar. Hepatik divertikül ile gelecekteki duodenum arasındaki bağlantı daralarak safra kanalını oluşturur ve bu kanalın bir çıkıntısı safra kesesi ve sistik kanalı meydana getirir. Karaciğer hücreleri kordonlar oluşturur ve vitellin ve umblikal damarlarla birleşerek karaciğer sinüzoidlerini oluşturur. Aynı zamanda, hematopoetik hücreler, Kupffer hücreleri ve bağ doku septum transversum mezoderminden köken alır. Septum transversum'un mezodermi, karaciğeri karın duvarının ön yüzüne ve ön bağırsağa bağlar. Karaciğer karın boşluğuna doğru büyüdükçe, bu yapılar ince zarlar haline gerilerek sonunda falciform ligament ve küçük omentumu oluşturur. Gelişmekte olan karaciğerin yüzeyindeki mezoderm, visseral peritonu oluşturur. Sadece üst kısımda (gelecekteki diyafram), karaciğer ile mezoderm arasındaki temas sürer ve burada visseral peritondan yoksun kalan çıplak bir alan oluşur. **(Şekil 2.1)**.



Şekil 2.1: Yaklaşık 36 günlük bir embriyonun şematik bir temsili (4).

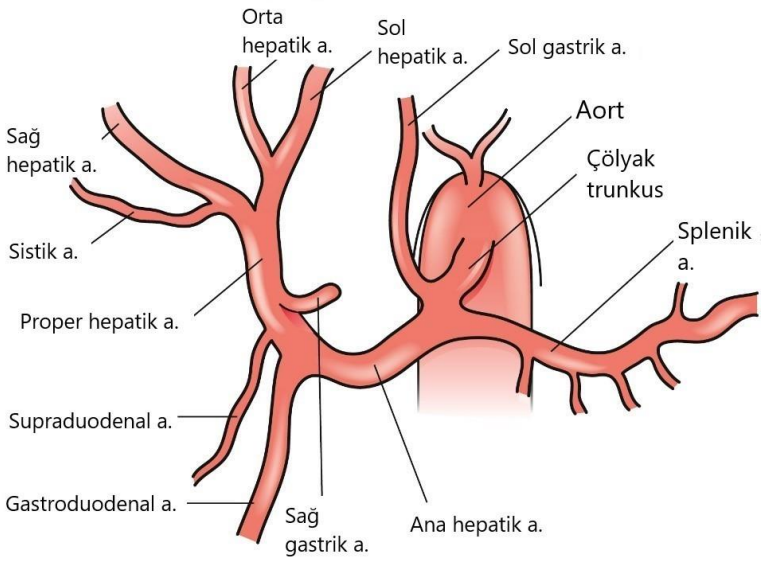
Karaciğer, insan vücudunun en büyük organıdır ve 1200 ile 1600 gram arasında ağırlığa sahiptir, vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturur. Vücuttaki en büyük bez olan karaciğer, karın boşluğunun üst kısmında, sağ hipokondriumdan epigastriuma kadar uzanır ve Glisson Kapsülü adı verilen bir periton tabakası ile kaplıdır. Periton kaplamadığı, vena cava inferior (VCI) ve hepatik venlere (HV) yakın olan arka-alt kısımda bulunan çıplak alan, karaciğerin çıplak bölgesi olarak bilinir. Karaciğerin üst kısmı diyafragma ile komşu olan diyafragmatik yüz, alt kısmı ise özofagus, mide, duodenum, hepatik fleksura, transvers kolon ve safra kesesi ile komşu olan visseral yüz şeklinde iki farklı yüze ayrılır (5). Sağ ve sol koroner ligamanlar, Glisson Kapsülü'nün diyafragmaya yapışmasıyla oluşur ve bunlar sağ ve sol triangüler ligamanları oluşturur. Falsiform ligaman, önde birleşen koroner ligamanlardan meydana gelirken, Ligamentum teres hepatis, embriyolojik dönemden kalan sol umblikal ven kalıntısı olarak falsiform ligaman içinde yer alır (6).

Couinaud, bir Fransız cerrah, 1957'de karaciğerin segmental yapısını açıklamak için bir fonksiyonel anatomi modeli geliştirdi. Bu model, karaciğerin bölümlendirilmesinde portal ven (PV) ve major hepatik venler (HV) gibi ana damarların yerleşimini esas alır. Cantlie çizgisi, karaciğeri iki ana loba ayıran ve orta hepatik ven boyunca uzanan bir hat olarak belirlenmiştir. Sağ lob, sağ hepatik venin bulunduğu portal fissüre göre anterior (anteromedial) ve posterior (posterolateral) olmak üzere iki sektöre ayrılırken, bu sektörler daha altta inferior ve superior segmentlere bölünür. Öte yandan, sol lob sol portal fissürle medial ve lateral sektörlere ayrılarak düzenlenmiş, burada sol medial sektör 4. segmenti, sol lateral sektör ise 2. ve 3. segmentleri kapsar. Sağ anterior sektör 5. ve 8. segmentlere, sağ posterior sektör ise 6. ve 7. segmentlere aittir (7) **(Şekil 2.2)**.

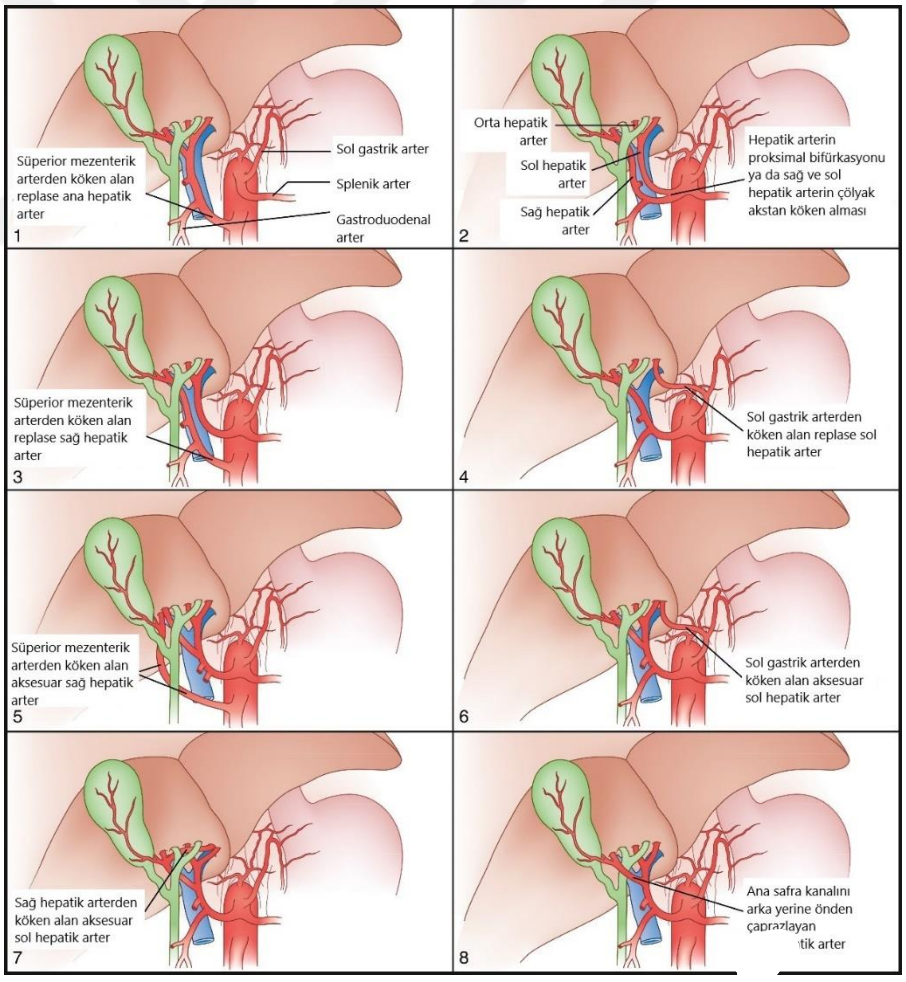


Şekil 2.2: Karaciğerin segmental anatomik yapısı (8).

Karaciğerin kan akımının yaklaşık olarak %70' i ve oksijenin %40' ı PV' den gelirken, kanlanmanın ve oksijenin geri kalan kısmı hepatik arterden sağlanır (9). Superior mezenterik ven ile splenik veninin birleşiminden PV oluşur. Karaciğerin hilus'unda PV, sağ ve sol dallara ayrılır ve karaciğerin sağ ve sol loblarının temelini oluşturur (10). Couinaud' un şemasına göre sağ ve sol PV' lerin 8 venöz bölgeyi beslemek için dallandığı kabul edilse de sağ ve sol PV' lerin ikinci dereceden dallarının sayısında geniş bir varyasyon bulunmaktadır (13). Ana hepatik arter truncus coeliacus' tan çıkar **(Şekil-2.3)**, ancak bazen superior mezenterik arterden de çıkabilir. Yaygın bir varyasyon ise, sol hepatik arterin sol mide arterinden ve sağ hepatik arterin superior mezenterik arterden çıkmasıdır (12) **(Şekil-2.4)**. Karaciğer içinde, arterler, PV' ler ve safra kanalları, Glisson kılıfı adı verilen bir fibröz kılıf ile çevrilidir, ancak HV' lerde bu yapı bulunmaz (12). Üç büyük HV, VCİ' ye dökülür, ancak %60 ila %85'lik bir oranda, sol ve orta venlerin birleşerek VCİ' ye tek bir ven olarak girdiği görülür (10,12).



Şekil 2.3: Çölyak trunkus ve ana hepatik arterin anatomik yapısı (13).



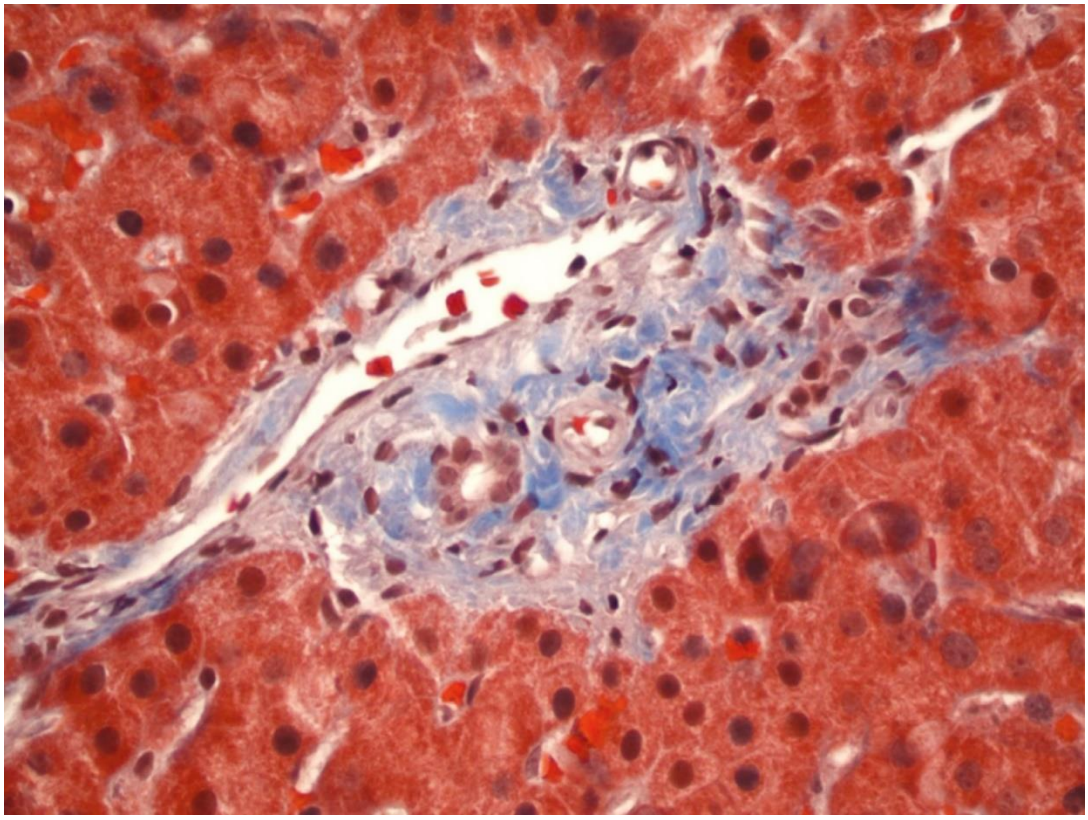
Şekil 2.4: Hepatik arterin anatomik varyasyonları (14).

Karaciğerin dış yüzeyinden çıkan yüzeysel lenfatikler, sağ veya sol triangüler ligamentler ve falsiform ligament boyunca ilerleyerek, ya prekardiyak, superior frenik ve juxtaoesofageal lenf nodlarına ulaşır veya sağ veya sol inferior frenik arterler boyunca çölyak lenf nodlarına doğru yol alırlar (15). Karaciğerin iç yüzeyinden başlayan yüzeysel lenfatikler genellikle hepatik lenf nodlarına akar. Caudate lobundan gelen lenfatik damarlar, prekaval lenf nodlarına girer. Karaciğerin derin lenfatik damarları, porta hepatis bölgesinde ayrılıp, epiploik foramen ve superior pankreatik lenf nodlarına doğru ilerler. Karaciğerden çıkan lenfatik damarlar, hepatik venlerle birlikte vena cava inferior'un duvarı boyunca devam eder (15).

Karaciğerin sinirsel kontrolü, T9 ile L1 seviyelerinden gelen sempatik lifler ve vagus sinirinden gelen parasempatik lifler aracılığıyla sağlanır. Sempatik, yani adrenerjik sinir lifleri, kan damarlarının çevresinde yoğun bir ağ oluşturarak, daha az miktarda safra kanalları etrafında bulunurlar. Bu pleksusdan çıkan lifler, genellikle periportal bölgede, sinüzoidal duvarlar boyunca ilerleyerek lobülleri uyarır (16). Parasempatik (kolinerjik) lifler, portal ven, hepatik arter ve venlerin hem intrahepatik hem de ekstrahepatik dallarını innerve eder ancak çok az sayıda lif doğrudan hepatositlere ulaşır (16). Karaciğerin intrinsik sinir sistemi, karaciğerin kan akışını, glukoz ve lipid metabolizmasını, besin alımını ve karaciğerin rejenerasyon sürecini düzenlemede önemli rol oynar (17).

Karaciğerin büyük bir kısmı, sinüzoidler tarafından ayrılan ve genellikle "muralium" olarak adlandırılan, 1 veya 2 hücre kalınlığında hepatositlerden oluşan plakalar halinde düzenlenmiştir. Hepatositler, çoğunlukla çift çekirdekli, çokgen şekilli ve değişken büyüklükte yuvarlak çekirdeklere sahip hücreler olarak karşımıza çıkar. Karaciğer parankimi içinde yer alan portal yollar, hepatik arteriyol, PV ve safra kanalının birer dalını içeren bir triadı barındırır; bu yapıya sinir lifleri ve lenfatik damarlar da eşlik eder **(Şekil 2.5)**. Terminal hepatik arteriyoller ve terminal portal venüller, portal yollardan başlayarak kanı sinüzoidlere taşır. Sinüzoidler, portal ve arteriyel kanın karışımını terminal hepatik venüllere (THV), ayrıca santral venler (SV) olarak da bilinir. Bu venüllerden kan, sublobüler venlere ve ardından hepatik venlere aktarılır, nihayetinden VCİ' ye dökülür.

Terminal portal venüller kas tabakası içermez ve sfinkter bulundurmaz; büyük endotel hücreleri kan akışını düzenler. Buna karşın, terminal hepatik arteriyoller düz kasla çevrilidir ve kan akışını kontrol eden presinüzoidal sfinkterler oluşturabilir (18).



Şekil 2.5: Portal Triad' ın histolojik görüntüsü (19).

Portal ven (sol üst) ve eşleştirilmiş arteriyol ve safra kanalı (ortada) içeren normal portal triad; safra kanalı portal sistemdeki arteriyolün solundadır. (Masson'sTrichrome, ×200.)

Sinüzoidal endotel hücreleri, hepatositler ile kan arasında özelleşmiş, fenestralı ve bazal membransız bir bariyer oluşturarak "sızdıran" bir yapı sunar (20). Fenestra boyutları, lobülün merkezi bölgesine doğru büyüyerek fizyolojik durumlara dinamik olarak uyum sağlar. Bu hücreler, stellat hücre kontraktilitesini parakrin yollarla düzenleyerek sinüzoidal vasküler tonusu ayarlar(20). Kupffer hücreleri, periportal bölgede yoğunlaşır, büyüktür ve aktif fagositoz yapar (9). Ana görevleri, kandaki yaşlı kırmızı kan hücrelerini ve zararlı maddeleri temizlemek(21), LDL işlemek, ve inflamatuar yanıtı yöneten çeşitli mediatörleri üretmektir (18).

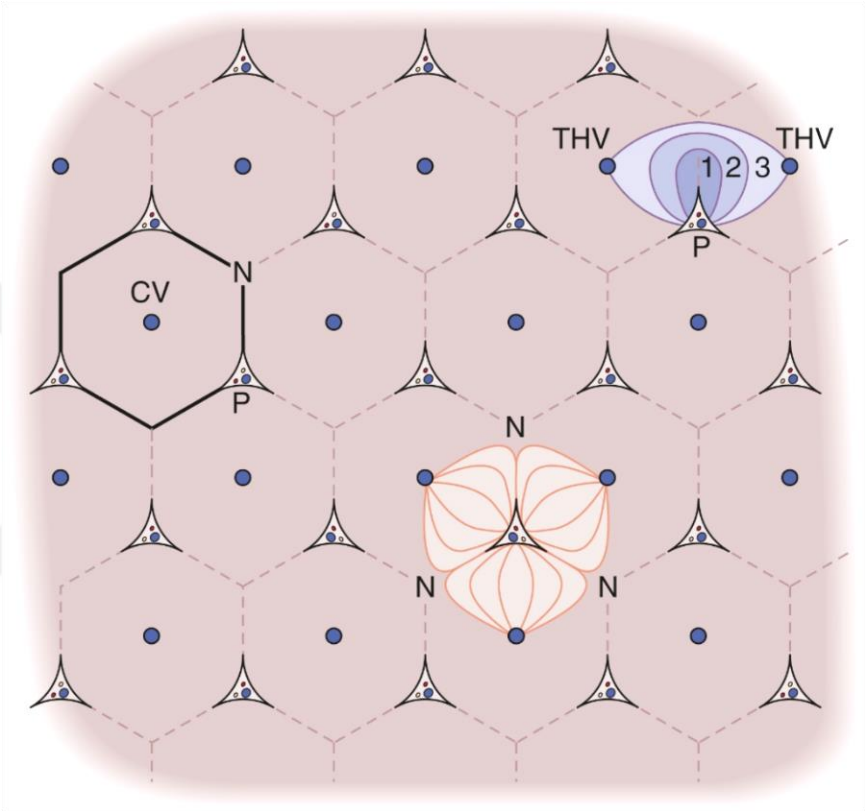
Hepatik stellat hücreleri, bilinen eski adıyla "Ito hücreleri" ya da yağ depolayan hücreler, istirahat halindeyken A vitamini depolama görevi görür. Bu hücreler sinüzoidal duvarın çevresinde yer alır ve lümen genişliğini ayarlayabilir (18) Karaciğerde inflamasyon veya hasar olduğunda aktive olan hepatik stellat hücreleri, desmin ve düz kas aktinini içeren miyofibroblastlara dönüşerek ekstrasellüler matriks sentezler (9). Bu aktive hücreler, kronik karaciğer hastalıklarında fibrozise yol açarak hastalığın ilerlemesinde önemli rol oynar.

Disse boşluğu, diğer adıyla perisinüzoidal boşluk, hepatositlerin vasküler uçları ve sinüzoidal zar arasında konumlanır. Bu alan, sinüzoidal boşlukla fenestrasyonlar aracılığıyla iletişim kurar ve karaciğerin yapısal destek elemanları olan tip I, III, IV ve V kollajenler ile plazmayı içerir (18). Mall alanı ise, periportal hepatositler ve portal bağ dokusu arasındaki geçiş bölgesidir ve Disse boşluğundan toplanan lenfatik sıvının lenfatik damarlara taşındığı yerdir (22). Bu lenfatik damarlar, portal bölgelerde hepatik arter dallarıyla entegre bir yapı oluşturarak bir ağ biçiminde düzenlenir (18).

Hepatositler, sinüzoidlere bakan bazolateral membranlara ve safra kanaliküllerine açılan apikal membranlara sahiptir. Safra kanalikülleri, safra akışını Hering'in terminal kanallarına taşır; bu kanallar hem hepatositler hem de kolanjiositler tarafından çevrelenir (23). Hering kanalları, lobülün periportal bölgesine kadar uzanarak portal traktın (PT) sınırlayıcı plağından daha ileri gider. Bu kanallar, tamamen kolanjiositlerle kaplı (23) safra kanallarına bağlanır ve sonrasında en küçük interlobüler safra kanallarına ilerler. İnterlobüler safra kanalları, daha sonra septal ve hepatik safra kanallarına bağlanır. Histolojik yapıya göre, küçük kanallar küboidal hücrelerle, büyük kanallar ise silindirik epitelyal hücrelerle kaplıdır.

Karaciğerin klasik lobül yapısı, 1833 yılında Kiernan tarafından tanımlanmıştır; merkezinde bir santral ven (SV) ve üç köşesinde portal traktlar (PT) olan altıgen bir yapıdır. Mall, karaciğerin temel birimi olarak, merkezinde bir PT ve çevresinde SV'ler bulunan portal üniteyi tanımlamıştır, bu yapı birçok bezin işlevsel biriminde merkezi bir kanal bulunduğuna benzerdir. Rappaport ise 1954 yılında karaciğer asinüsünü tanımlamıştır; bu yapı, terminal afferent portal ve arteriyel

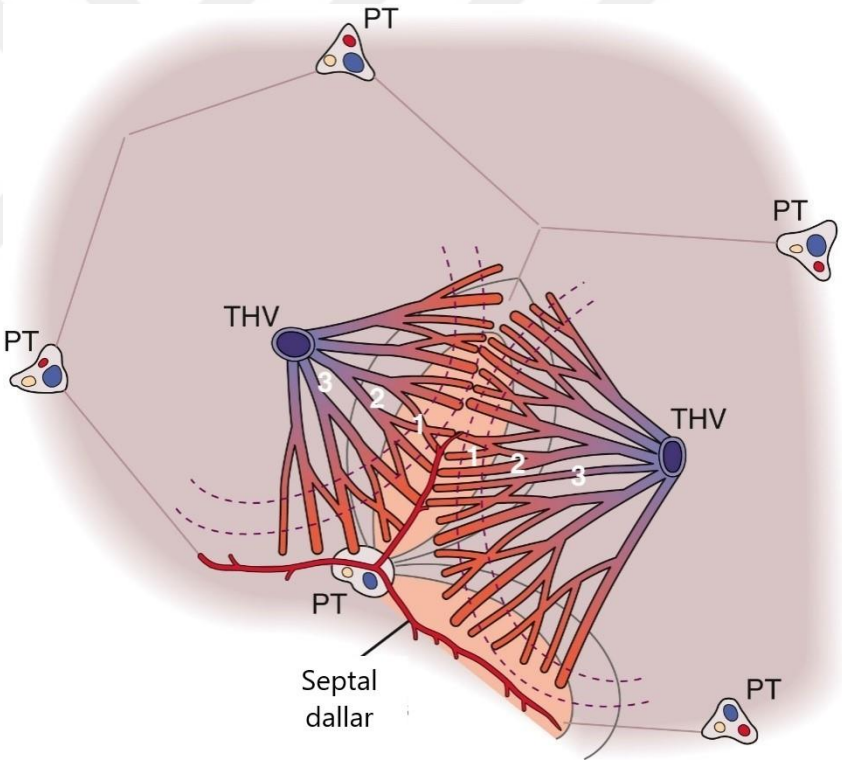
damarlar etrafındaki parankimi ve bu grup hepatositlere kan sağlamayı içerir. Asinüsün çevresinde, birkaç asinüsü boşaltan santral venler (SV) bulunur. Bu model üç bölgeyi içerir: (1) yüksek oksijen içeriğine sahip kanla beslenen periportal bölge (zon 1), (2) ara bölge (zon 2) ve (3) nispeten daha az oksijen içeren kanın bulunduğu perivenüler bölge (zon 3) (15). Asinüs, köprü nekrozu ve fibrozis gibi lezyonların tanımlanmasını kolaylaştıran işlevsel ve yapısal bir formdur. **(Şekil 2.6)**.



Şekil 2.6: Karaciğer parankim yapısının şematik çizimi (19).

Solda, merkezinde santral ven ve 3 köşesinde portal trakt bulunan klasik hepatik lobül gösterilmiştir. Ortada, merkezinde portal trakt ve çevresinde santral venler ve düğüm noktaları bulunan portal ünite gösterilmektedir. Sağda, merkezi terminal afferent damar (portal traktta) olan ve çevresi terminal hepatik venül veya santral ven tarafından boşaltılan karaciğer asinüsü bulunmaktadır. Portal trakttan terminal hepatik venüllere uzanan 1, 2 ve 3. zonlar gösterilmektedir. CV, Santral ven; N, düğüm noktası; THV, terminal hepatik venül; P, portal trakt.

1982'de Matsumoto ve Kawakami, karaciğer parankim yapısını damar yapısına dayanarak açıklamıştır (24). Bu teoriye göre, hepatik ve portal venöz sistemler, kanın parankimden taşınıp geri döndüğü bir iletim bölümü ve parankimal bölüm olarak ikiye ayrılır. Parankimal kısım, iletim kısmının terminal dallarından çıkan düzenli sıralı küçük yan dallarla karakterizedir. Portal venöz dallar, hepatik venöz dallara kıyasla daha sık bölünerek, her bir hepatik venöz kanal başına daha fazla portal venöz kanal oluşturur. Portal venöz sistemin son dalları septal dallar olarak bilinir. Ayrıca, santral ven aslında tek tek birbirine karşılık gelen bir giriş ünitesine bakan 6 ila 8 drenaj venülünden oluşur. Bir septal dal tarafından beslenen ve bir hepatik ven (HV) dalı tarafından drenaj edilen konik hepatosit kümesi bir "birincil lobül" oluşturur. Birden fazla birincil lobül bir araya gelerek klasik bir lobülü meydana getirir.

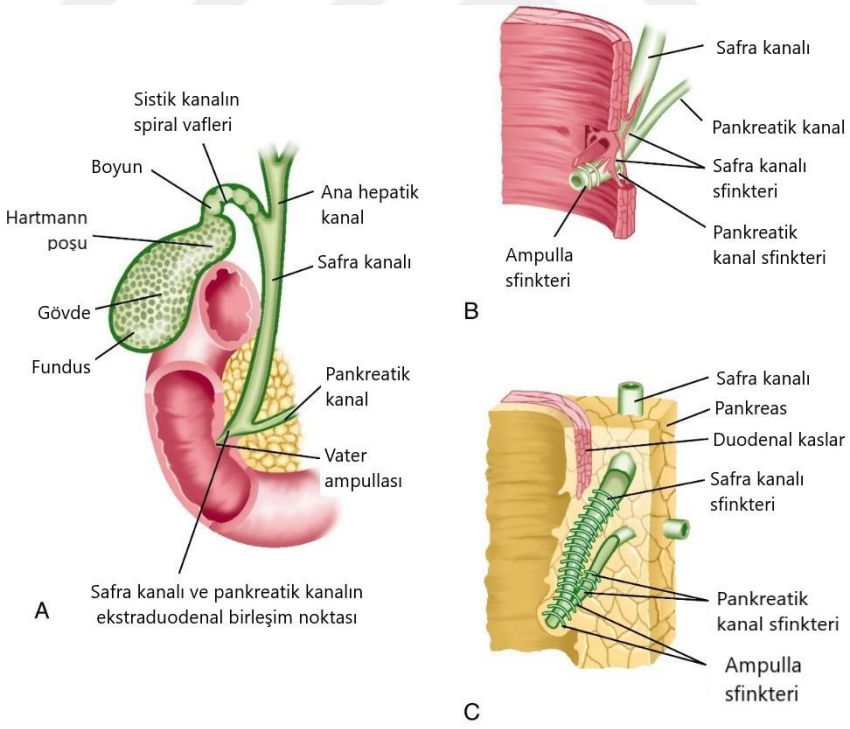


Şekil 2.7: Asinüs modelinin 3 bölgesindeki karaciğer kan akışını Matsumoto' nun karaciğer mimarisi konseptiyle karşılaştıran şematik çizim (19).

Matsumoto' nun modeline göre, portal traktlara ve terminal afferent damarlara (septal dallar) bitişik olan sinüzoidler, hemodinamik olarak eş potansiyel orak şeklinde bir perfüzyon cephesi (noktalı çizgiler) oluşturur. Bu model asinüsten ziyade klasik lobül kavramına uygundur. Hepatik asinüsün 1, 2 ve 3. zonları etiketlenmiştir. PT, Portal trakt; THV, terminal hepatik venül.

Matsumoto ve Kawakami'nin belirttiğine göre, septal dalların köken aldığı sinüzoidler, PT yakınlarında yatay bir konumda yer alırken, merkezi vene doğru radyal bir yönelim gösterir. Bu yatay sinüzoid yatağı, asinüs modelindeki lineer besleme düzeninden farklı olarak, orak şeklinde bir "ön giriş" bölgesi oluşturur (24) **(Şekil 2.7)**. Bu orak şeklinin konveks tarafı bir PT'ye dayanırken, kolları septal dallar boyunca uzanır ve içbükey tarafı merkezi vene dönüktür. Bu yapısal düzen, karaciğerin klasik lobül yapısını iki ana bölge olarak tanımlar: birbirine bitişik orak şeklindeki alanlardan oluşan periferik bölüm ve bu alanlar tarafından çevrelenen merkez lobüler bölüm. İmmünohistokimyasal çalışmalar, PT'ler ve terminal afferent damarlar çevresinde sürekli bir periportal ağın varlığını, ayrıca merkezi ven çevresinde belirgin bir konsantrik perivenöz alanın bulunduğunu ortaya koyarak, karaciğerin mimarisinin asinüs modelinden ziyade klasik lobül yapısına daha yakın olduğunu göstermektedir.

2.2. Safra Kesesi, Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi



Şekil 2.8: Safra kesesinin, ekstrahepatik safra yollarının ve koledokoduodenal kavşağın şematik gösterimi (25).

A: Genel görünüm; B: Ana safra kanalı ve pankreastik kanal; C: Oddi sfinkterinin birleşim yeri.

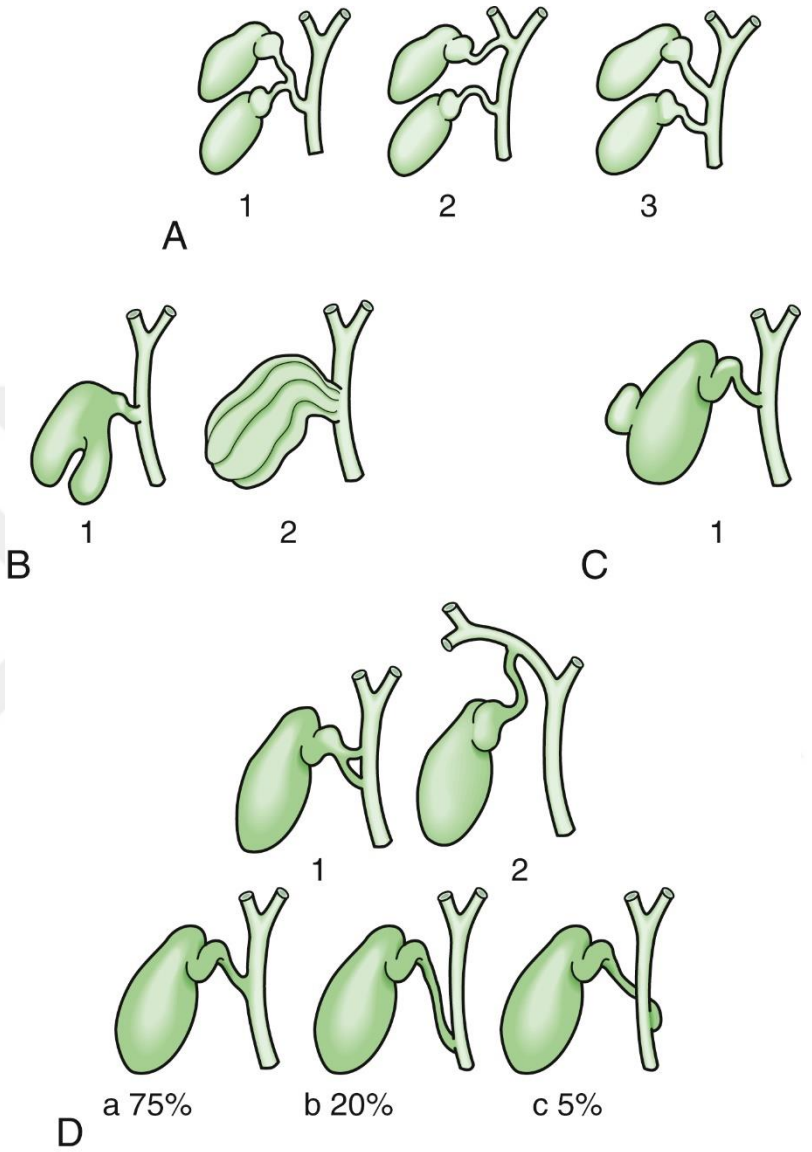
2.2.1. Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

Safra yolları, intrahepatik ve ekstrahepatik olmak üzere iki ana bölüme ayrılır. İntrahepatik safra yollarının gelişimi, portal PV dallarının çevresindeki başlangıçtaki hepatositlerden başlar (26). Bu süreç karaciğerin giriş bölgesinden başlar ve daha sonra dizi halinde yeniden düzenlenmelerle karaciğerin dış kısımlarına doğru asimetrik bir ilerleme gösterir (27). Safra kanalı hücreleri olan kolanjiositlerin gelişimi sırasında, bu hücrelerin hücre dışı matriksin bazı bileşenleri olan laminin ve tip IV kollajenden morfojenik sinyaller aldığı düşünülmektedir (28,29). İlk olarak, PV dallarına yakın hepatositler safra kanalı hücrelerine dönüşür. Ardından, ikinci bir hepatosit katmanı transformasyon geçirir ve bu da portal venin etrafında safra kanalı epitelyal hücrelerle çevrili bir halka oluşturur (30). Bu yapı, gebeliğin dokuzuncu haftasında çift cidarlı ve yarık bir lümen olarak tespit edilebilir. Bu süreç, hem interlobüler hem de intralobüler safra kanallarının ağını oluşturan sınırlayıcı plağın gelişimini sağlar.

Ekstrahepatik safra yolları, karaciğer ve ventral pankreasa yakın ventral özofagus bölgesinden türeyen safra kanalı (ortak safra kanalı) ve sistik kanaldan oluşur. Bu yapılar ventral pankreas ile ortak bir başlangıç noktasına sahipken, karaciğer ile doğrudan bir köken paylaşmazlar. Ekstrahepatik safra yollarının oluşumu, intrahepatik safra kanallarının gelişimine kıyasla daha önce başlar ve bu sıralama, safra sisteminin genel evrimini etkileyen önemli bir faktördür.

Ortak safra kanalı, sol ve sağ hepatik kanalların birleşmesiyle oluşur ve bu birleşme genellikle karaciğerin dışında, porta hepatis bölgesinden sonra gerçekleşir (31) **(Şekil 2.8)**. Bu kanalların birleştiği yer vakaların yaklaşık %95'inde karaciğerin dışında yer alırken, oldukça nadir durumlarda içinde veya birleşmeden önce sistik kanal ile sağ hepatik kanal birleşebilir (31). Bu kanallar, porta hepatis'ten çıktıktan sonra hepatoduodenal ligamanın iki seröz katmanı arasında yer alır ve çevre kan damarlarıyla bu fibröz doku kılıfı içinde bağlanır. Yetişkinlerde, genellikle sağ tarafta yer alan sistik kanal ile birleşerek ana safra kanalını (ASK) oluştururlar. Bu kanal yaklaşık 3 cm uzunluğundadır. Sistik kanalın ASK ile birleşme açısı ve uzunluğu değişken olup, hastaların %70'inde sistik kanalın ASK'ye doğrudan girişi görülür. Alternatif olarak, sistik kanal safra kanalının önünden ya da arkasından geçerek onun medial tarafında birleşmeden önce spiral bir yol izleyebilir (28). Ayrıca, sistik kanal

ASK ile 5-6 cm kadar paralel bir yol izleyebilir ve duodenumun birinci bölümünün arkasından geçerek buraya ulaşabilir. **(Şekil 2.9)**.



Şekil 2.9: Safra kesesi ve sistik kanal anatomik varyasyonlar (13).

A: Bilobar safra kesesi. B: Safra kesesi septasyonları. C: Safra kesesinin divertikülü. D: Sistik kanal anatomisindeki değişiklikler. Sistik kanal ve ortak hepatik kanalın üç tip birleşmesi gösterilmektedir.

Sistik kanal, ortak hepatik kanal ve ASK, bağırsak yapısına benzer bir yapıya sahiptirler; mukoza, submukoza ve musküler tabakalar içerirler (32). Bu kanalların iç yüzeyi tek katlı kolumnar epitelle kaplanmıştır ve mukoza tabakasında mukus salgılayan tübüler bezler bulunur. Bu bezler, submukozada düzenli aralıklarla yer alır ve mukoza yüzeyine açılan kanallar aracılığıyla mukus salgılarlar. ASK, 6,0 ila 8,0 cm

uzunluğunda olup, küçük omentumun katmanları arasında yer alır ve topografik olarak PV'nin önünde ve hepatik arterin sağında konumlanmıştır (31). ASK'nın normal çapı genellikle 0,5-1,5 cm arasında değişir (33). Ekstrahepatik safra kanalının duvar yapısı, düz kas lifleri içerebilen yoğun bir bağ dokusu tabakası ile desteklenir. Düz kaslar, özellikle safra kesesinin boynunda ve safra kanalının alt ucunda daha belirgindir. ASK, pankreasın baş kısmının arkasında yer alan bir çentikten geçerek duodenumun ilk kısmının arkasından retroperitoneal yola devam eder ve duodenumun ikinci kısmına ulaşır. Kanal, duodenal duvarın posterior medial yüzeyinden eğik bir yol izleyerek ana pankreas kanalı ile birleşir ve Vater ampullasını oluşturur **(Şekil 2.8)**. Bu ampulla, duodenal papilla olarak bilinen bir mukozal membran çıkıntısı yaratır. Safra ve pankreas kanalları, hastaların %10 ila %15'inde duodenuma ayrı ayrı açılırken, safra kanalı pankreas kanalı ile birleşmeden önce 0,6 cm veya daha az bir çapa kadar incelir (31).

Duodenum içinde ilerledikçe safra ve pankreas kanalları, hem uzunlamasına hem de dairesel düz kas katmanlarının kalınlaşmasıyla tanımlanan Oddi sfinkteri tarafından sarılır (32) **(Şekil 2.8).** Bu yapının her ne kadar bireysel farklılıklar gösterse de, tipik olarak dört ana bölümden oluştuğu görülür:

1) **Koledok Sfinkteri**: Pankreas kanalıyla bağlantıdan hemen önce, safra kanalının intramural segmentini çevreleyen dairesel kas lifleri bu bölümü oluşturur.

2) **Pankreatik Sfinkter**: Çoğunlukla insanların yaklaşık üçte birinde görülen, pankreas kanalının duodenum içinde ampulla ile birleşmeden önceki kısmını kapsayan yapıdır.

3) **Longitudinal Fasiküller**: Safra ve pankreas kanalları boyunca uzanan ve bu kanallar arasındaki mesafeyi kateden uzunlamasına kas lifleridir.

4) **Ampulla Sfinkteri**: Ampulla Vater'i çevreleyen ve genellikle daha az yoğun olan dairesel kas lifleri arasına yerleşmiş uzunlamasına kas liflerinden meydana gelir (33).

Koledok sfinkteri, safra kanalının daralmasını sağlayarak safra akışını düzenler. Longitudinal fasiküllerin kasılması ise safra kanalını kısaltarak duodenuma safra akışını hızlandırır. Ampulla sfinkterinin kasılması, ampullayı kısaltır ve katlantıları yakınlaştırarak safra ve pankreas kanallarına bağırsak içeriğinin geri akışını engeller. Ancak, bu kasılmalar aynı zamanda safra kanalında safra reflüsüne neden olabilir (32).

İntrahepatik ve ekstrahepatik safra kanalları, hepatik ve gastroduodenal arterlerden gelen damar ağlarına bağlıdır (33). Bu kanalların duodenum kısmı, çeşitli arterlerden beslenir. Bu damarlar zarar görürse, safra kanalında iskemi ve daralma oluşabilir.

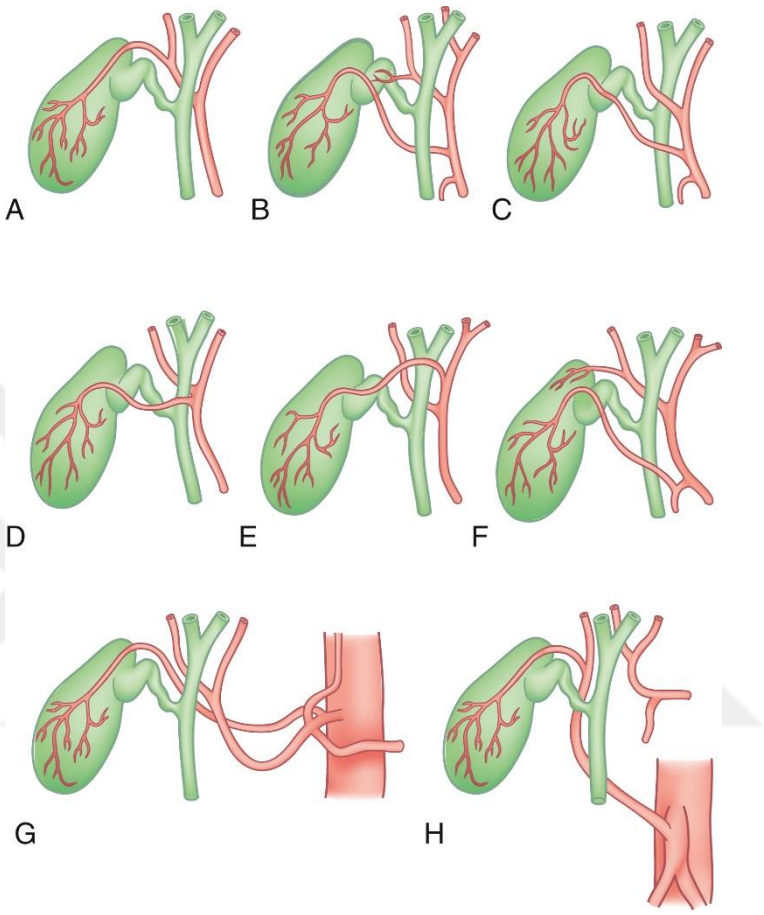
İntrahepatik ve ekstrahepatik safra kanalları, yüzeylerinde bulunan ince venöz pleksuslar ile drene edilir. Yüzeydeki retiküler epikoledokal venöz pleksus ve safra kanallarının dışında paralel seyreden parakoledokal venöz pleksus, bu drene işlemini gerçekleştirir (34). Ayrıca, hepatik kanallar, sistik kanal ve ASK'nin proksimal kısımlarından gelen lenfatikler, karaciğer hilusundaki lenf bezlerine akar (33). Safra kanalının alt kısmından gelen lenfatikler ise pankreasın başı çevresindeki lenf bezlerine boşalır.

2.2.2. Safra Kesesi Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

Safra kesesi, embriyolojik olarak ventral özofagus bölgesinden köken alır ve ventral pankreasla ortak bir kökene sahiptir **(Şekil 2.8).** Bu yapı, karaciğerin sağ lobunun alt yüzeyinde bulunan bir çukurda yer alır ve diyetteki lipidlerin çözülmesini sağlamak için safra asitlerini depolar ve duodenuma kontrollü bir şekilde salar(33). Yetişkin bir safra kesesi armut şeklinde, yaklaşık 3 cm genişliğinde, 7 cm uzunluğunda ve 30 ila 50 ml kapasiteye sahiptir (35). Safra kesesi düz kas hücrelerinden oluşan bir kas tabakası ile çevrilidir ve emici yüzeyi kıvrımlarla güçlendirilmiştir. Ayrıca, ön yüzeyi karaciğer kapsülü ile birleşen bir adventisya tabakası ile kaplıdır ve arka tarafı visseral periton ile örtülüdür. Safra kesesinin anatomik bölümleri fundus, gövde,

infundibulum ve boynu içerir (35). Hartmann poşu ise, infundibulumun altında, boynuna yakın bir konumda yer alan bir çıkıntıdır.

Safra kesesi, yaklaşık 4 cm uzunluğundaki sistik kanal ile ASK' a bağlıdır (35) **(Şekil 2.8).** Sistik kanal, safra kesesi ile aynı yapısal özelliklere sahip olup, Heister'in spiral valfi ile safra kesesinin giriş ve çıkışını düzenler.



Şekil 2.10: Sistik arterin anatomisindeki varyasyonlar (13).

A: En yaygın anatomi. B: Çift sistik arter, biri arteria hepatica propria'dan kaynaklanmakta. C: Arteria hepatica propria'dan köken almakta ve ana safra kanalının önünden geçmekte. D: Sağ hepatik arterden çıkan ve ana safra kanalının önünden geçmekte. E: Sol hepatik arterden çıkmakta ve ana safra kanalının önünden geçmekte. F: Gastroduodenal arterden çıkan. G: Çölyak trunkustan kaynaklanmakta. H: Aberran sağ hepatik arterden kaynaklanmakta.

Safra kesesi, sağ hepatik arterden çıkan sistik arter tarafından beslenir (35). Sistik arter, safra kesesinin boynunu besleyen yüzeyel bir dal ve kese duvarlarının iç

katmanlarını besleyen iki dala ayrılır. Sistik arterin kökeni ve seyri, sıklıkla değişiklik gösterir **(Şekil 2.10).**

Sistik ven, safra kesesi ve sistik kanalların venöz drenajını sağlar ve çoğunlukla portal ven (PV) ile, nadiren doğrudan hepatik sinüzoidlere boşalır (33,35). Safra kesesinin lenfatikleri, Glisson kapsülünün lenf damarları ile bağlantılıdır ve submukozal ile subserozal lenf damarları, safra kesesi boynuna yakın bir lenf bezi içine drene olur (33).

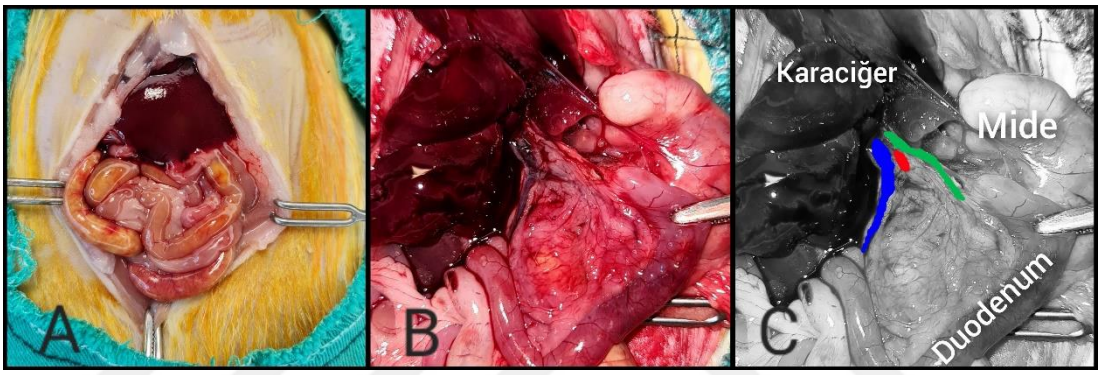
Safra kesesinin sempatik uyarımı çölyak akstan kaynaklanır ve sinir lifleri, hepatik arter ve portal ven (PV) dalları boyunca ilerler. Bu sempatik lifler aracılığıyla iletilen visseral ağrı, tipik olarak epigastrik, sağ subkostal ve sağ skapüler bölgelere yayılır. Ayrıca, her iki vagus siniri dalı safra kesesi motilitesini düzenleyen parasempatik uyarımı sağlar(33).

Safra kesesi mukozası, çıkıntılar ve katlantılarla zenginleştirilmiş bir yapı sunar ve kolumnar epitelyal hücre tabakası içerir. Safra kesesi duvarı, mukozadan, lamina propriadan, musküler tabakadan ve serozadan oluşmaktadır (36). Musküler tabaka, uzunlamasına ve spiral düz kas liflerinin yoğun bir şekilde yer aldığı kalın bir yapıya sahiptir. Mukus üreten tubuloalveolar bezler özellikle safra kesesinin boyun bölgesinde bulunur (35,36). Rokitansky-Aschoff sinüsleri, kas tabakasına kadar uzanabilen mukozal katlantılardır ve enfeksiyon riskini artırabilir. Karaciğer ile komşu olan yüzeyde bulunan ve intrahepatik safra kanallarına açılan Luschka kanalları, gelişimsel anomali olup kolesistektomi sonrasında safra sızıntısına neden olabilir (35).

2.3. Ratlarda Karaciğer ve Safra Yolları Anatomisi

Ratların karın boşluğunu büyük oranda kaplayan karaciğer, belirgin loblanmaya sahiptir ve dört ana lob olarak sınıflandırılır: median, sağ, sol ve kaudat. Sağ lob, diğerlerinden büyük olup, iki alt loba ayrılır. Median lob, teres hepatis tarafından geçen bir yarıkla ikiye bölünmüştür ve sağ lob, böbreğin üzerinde konumlanır. VCİ, diafragmadan geçerek karaciğer içinden yukarı doğru ilerler ve göğüs boşluğuna ulaşır.

Ratlarda safra kesesi yoktur, bu durum insanlara kıyasla daha az yoğun ancak daha fazla safra üretimine yol açar. İnsanlara göre daha geniş olan safra kanalı, safra depolanmasını sınırlı tutar. Üretilen safra, safra kanalcıkları aracılığıyla, pilorik sfinkterin 25 mm distalindeki duodenuma doğru ortak safra kanalı üzerinden akış gösterir. Ortak safra kanalının genişleyen son kısmı koledok kanalı olarak adlandırılır. Kanalın sonunda sfinkter bulunmadığı için, safranın duodenuma sürekli bir akışı söz konusudur. Pankreatik kanal, doğrudan koledok kanalına açılarak, pankreas ve safra salgılarının karışarak duodenuma boşalmasını sağlar. (37). **(Şekil 2.11)**.



Şekil 2.11: Ratlarda hepatobiliyer sistem anatomisinin görüntüsü.

A: Abdominal boşluk görünüm. B-C: Batın açıldıktan sonra karaciğer üstte, ince bağırsaklar sağ lateral bölgeye alındıktan sonra, mavi renkle işaretli portal ven, kırmızı renkle işaretli hepatik arter, yeşil renkle işaretli ortak safra kanalının görüntüsü.

2.4. Safra Fizyolojisi

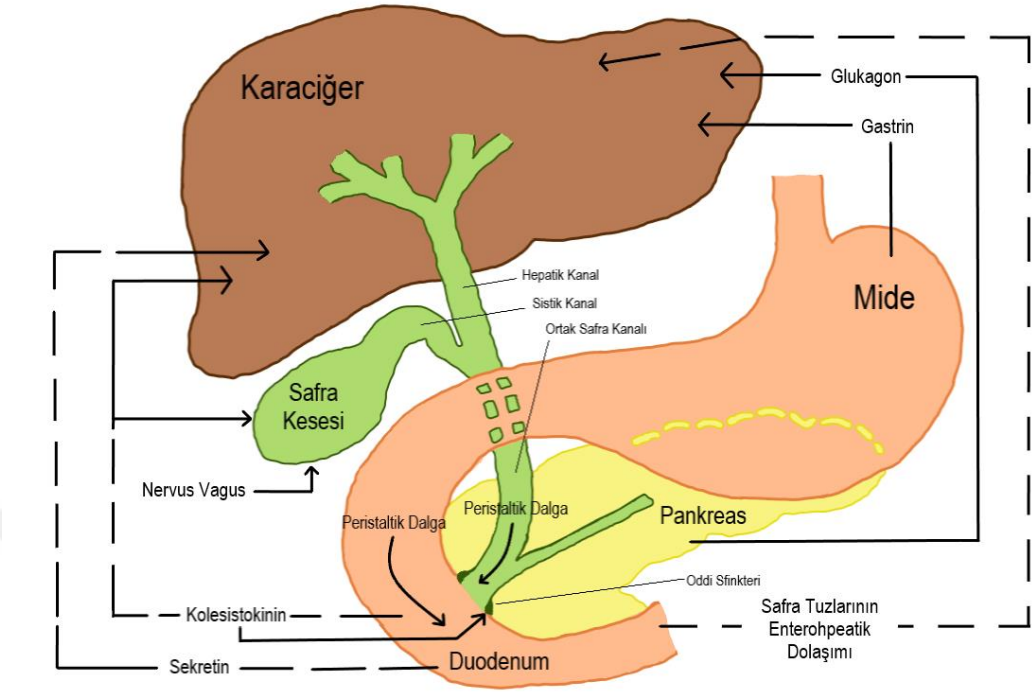
Günlük olarak karaciğerden 600-1000 ml arasında safra salgılanır. Bu safra, sindirime yardımcı olmanın yanı sıra, metabolik atıkların atılmasını sağlayan, kolesterol, fosfolipidler (özellikle lesitin), safra pigmentleri (bilirubin ve biliverdin), safra tuzları ve plazma elektrolitleri içeren bir sıvıdır (38,39). Safra, hepatositlerde üretildikten sonra küçük safra kanalikülleri aracılığıyla interlobüler septumdaki terminal safra kanallarına taşınır. Kanallar genişledikçe safra, hepatik kanala ve ardından ortak safra kanalına ilerler. Bu süreç boyunca, safra kanalı epitel hücreleri tarafından üretilen su bazlı bir sıvı salgılanır ve safra ile karışır. Bu aköz salgı, sekretin

hormonunun uyarımıyla %100'e kadar artabilir ve içeriğinde asit nötralizasyonunu sağlayan bikarbonat ve sodyum iyonları bulunur (38).

Duodenum ve jejunum mukozasından salgılanan sekretin yanında, glukagon, kolesistokinin (CCK), vazoaktif intestinal peptid (VIP) ve mide mukozasından kana salınan gastrin gibi daha az etkili hormonlar da safra kanalı epitelinde su ve sodyum bikarbonat salgılanmasını artırır **(Şekil 2.12)**. Aynı zamanda, safra, yağda çözünen vitaminler, adrenal korteks ve diğer steroid hormonlar, prostaglandinler, bakır, çinko gibi metaller, penisilin, sülfat, glukuronid ve glutatyon bileşikleri gibi ilaçlar ve toksinlerin atılmasında önemli bir role sahiptir. Bu bileşenlerin eliminasyonu, safra ile gerçekleştirilir (39,40).

Safra kesesinin temel işlevi, ihtiyaç duyulduğunda kullanılmak üzere safrayı yoğunlaştırıp depolamaktır (41). Oddi sfinkteri kapalıyken, karaciğer tarafından sürekli üretilen safra, ana safra kanalından (ASK) sistik kanal üzerinden safra kesesine taşınır (42). ASK'deki normal basınç 10-15 cmH2O arasındadır, ancak sindirim olmadığı ve Oddi sfinkteri kapalı olduğu zamanlarda bu basınç 30 cmH2O'ya kadar çıkabilir. Safra kesesi lümenindeki basınç ise 0 ile 16 cmH2O arasında değişebilir (41).

Safra kesesi, öğünler arasında ve gece açlık sırasında safra asitlerini depolar. Bu organ, maksimum 30-60 ml hacme sahip olmasına karşın, safrayı yoğunlaştırarak 450 ml'ye kadar depolayabilir. Safra kesesinde safra tuzları, bilirübin, kolesterol ve lesitin normalden 5-20 kat daha yoğun bulunur (38). Safra kesesi mukozası, su ve iyonları aktif olarak emer. Sodyum, sodyum-potasyum pompası yardımıyla aktif taşınırken, bikarbonat ve klor, sodyumun aktif taşınması sırasında oluşan elektriksel potansiyel ile hareket eder. Bu süreç, hücreler arası artan iyon konsantrasyonunun osmotik basıncı yükseltmesine ve suyun kese lümeninden emilimini sağlamasına katkıda bulunur (41). Karaciğer safrasının pH değeri 8,0-8,6 aralığında iken, safra kesesi safrasının pH değeri 7,0-7,4 aralığına düşer ve safra asidik hale gelir. **(Tablo 2.1)**.



Şekil 2.12: Karaciğerden safra üretimini, safra kesesi kasılmasını ve Oddi sfinkterinin gevşemesini etkileyen faktörler.

Tablo 2.1: Safra kesesi ve karaciğer safralarının içeriği (38).

	Safra Kesesi Safrası	**Karaciğer Safrası**
Su	92 g/dl	97,5 g/dl
Katı madde	%11	%3
Safra tuzları	6 g/dl	1,1 g/dl
Bilirübin	0,3 g/dl	0,04 g/dl
Kolesterol	0,6 g/dl	0,1 g/dl
Lesitin	0,3 g/dl	0,04 g/dl
Yağ asitleri	0,8 g/dl	0,12 g/dl
Ca^{+2}	23 mmol/L	5 mmol/L
Na^{+}	130 mmol/L	145 mmol/L

K^-	12 mmol/L	5 mmol/L
HCO_3^-	10 mmol/L	28 mmol/L
Cl^-	25 mmol/L	100 mmol/L

Yemek sonrası kısa bir süre içinde, vagus siniri ve asetil kolin salgılayan enterik sinir sistemi lifleri ile birlikte gastrin hormonunun yardımıyla safra kesesi hafif ve aralıklı bir şekilde kasılır ve Oddi sfinkteri bir dereceye kadar gevşer (43). Özellikle yağ içeren gıdaların duodenuma girmesi, yemekten yaklaşık olarak 30 dakika sonra safra kesesinin boşalma işlemini hızlandırır (44). Safra kesesi ritmik olarak kasılırken, Oddi sfinkterinin gevşemesi de bu süreçte kritik bir öneme sahiptir. Duodenuma giren amino asitler ve yağ asitleri, CCK hormonunun duodenum mukozasından kana salınmasını tetikler, bu hormon safra kesesi kasılmalarını tetikleyen en güçlü uyarıcıdır. Vagal uyarı ve sekretin hormonlarının varlığı, CCK'nın etkisini artırabilir **(Şekil 2.12)**. Duodenum duvarlarında peristaltik kasılmalar ilerlerken, Oddi sfinkterinde de güçlü bir gevşeme görülür. CCK ile tetiklenen safra kesesi kasılmaları, Oddi sfinkterinin gevşemesine yardımcı olur **(Şekil 2.12)**. Sindirimin ilk saatinde safra kesesi, içindeki safranın çoğunu boşaltır ve sindirim boyunca aktif bir kasılma durumunda kalır. Böylece, karaciğer safrası safra kesesine ulaşmadan depolanmaz. Ayrıca, kesenin epitelinden salgılanan müsin, safranın viskozitesini artırır (45).

Normal safra akışının sağlanabilmesi için ekstrahepatik safra yolunun basıncının 10-15 cmH2O arasında olması gereklidir. Basınç 30 cmH2O seviyesini geçtiğinde, karaciğerden safra salgılanması engellenir. Basınç arttıkça, özellikle kolesterol başta olmak üzere safra tuzları ve fosfolipitlerin karaciğerden salımı azalır (46).

2.4.1. Safra Salgısında Bulunan Maddeler

1) Safra Tuzları:

Safra tuzları, kuru safra ağırlığının yarısını oluşturur. Hepatositler, kolesterolden iki ana formda safra asitleri üretir: kolik asit ve kenodeoksikolik asit. Bu asitler, karaciğerde üretilir ve primer safra asitleri olarak adlandırılır. Bağırsakta ise

bakteriler tarafından deoksikolik asite ve litokolik asite dönüştürülür; bunlar sekonder safra asitleri olarak bilinir (47).

Safra asitleri, glisin ve taurin ile birleşerek konjuge safra asitlerini oluşturur. Bağırsak bakterileri, safra asitlerinin bir kısmını dekonjuge eder, bu nedenle bağırsaklarda hem konjuge hem de dekonjuge safra asitleri bulunur. Sindirim kanalında, safra asitlerinin büyük çoğunluğu sodyum ve kalsiyum katyonları ile birleşir ve böylece safra tuzları meydana gelir (48).

Safra tuzlarının bağırsakta iki önemli etkisi bulunur (38). İlk olarak, yağ partiküllerinin emülsifiye edilmesi ve yüzey geriliminin azaltılması ile yağ globüllerinin küçük parçalara ayrılmasını sağlar. Bu etki, deterjan etkisi olarak da bilinir. Safra tuzları ve fosfolipitlerin nonpolar bölgeleri, yağ damlacığının nonpolar iç kısmı ile birleşirken, polar uçları su ile temas halindedir. Bu yapı, lipid damlacıklarının emülsifiye edilerek birbirlerini itmesini ve birleşmelerinin engellenmesini sağlar.

İkinci etki ise, safra tuzlarının belirli bir konsantrasyona ulaştığında (kritik miçel konsantrasyonu) miçelleşme eğilimi göstermesidir. Bu konsantrasyon aşıldığında, safra tuzları moleküler yapılarını miçeller içine entegre ederler (49). Safrada genellikle safra asitleri, bu kritik miçel konsantrasyonunun üzerinde bulunur. Miçeller yaklaşık 3-6 nanometre çapında değişkenlik gösterir ve her bir miçel içinde yaklaşık 30 adet safra tuzu bulunur (50). Miçellerin çözünürlüğü, safra tuzlarının taşıdığı elektriksel yük ve polar grupların negatif yüklenmesi ile artar, bu gruplar dışarıya doğru uzanır.

Silindirik disk şeklindeki miçeller, dış yüzeylerinde suyu seven (hidrofilik) özellikler gösterirken, iç çekirdek kısımları suyu iten (hidrofobik) özellikler taşır. Bu hidrofobik çekirdek kısmında kolesterol, serbest yağ asitleri ve monogliserit bulunur. Fosfolipitler ise, hidrofilik baş kısımları dışa, hidrofobik kuyruk kısımları içe doğru yerleştirilmiş şekilde düzenlenir. Miçeller ayrıca safradaki kalsiyum iyonlarını da bağlarlar. Lipidler, miçeller yardımıyla ince bağırsak mukoza hücrelerinin fırçamsı kenarlarına pasif difüzyon yoluyla kolayca geçip emilirler. Safra tuzları, yağların taşınmasına katkıda bulunarak yağda çözünen vitaminlerin emiliminde önemli bir rol

oynar. Eğer safra tuzları bulunmazsa, lipidlerin yaklaşık %40'ı dışkı yoluyla vücuttan atılır. Bu süreç, safra tuzlarının yağ emilim sürecindeki kritik etkilerini vurgular.

Safra tuzlarının büyük bir kısmı, %90-95'i, ince bağırsaklardan emilir. Bu emilim genellikle difüzyon ve özellikle terminal ileumda aktif taşıma yoluyla gerçekleşir. Emildikten sonra, safra tuzları portal sistem vasıtasıyla kana geçer ve neredeyse tamamı venöz sinüsler aracılığıyla hepatositlere ulaşarak yeniden safraya salgılanır. Bu süreç safra tuzlarının enterohepatik dolaşımı olarak adlandırılır (59). Hem primer hem de sekonder safra asitleri, konjuge veya dekonjuge formlarda hepatositler tarafından alınır ve yeni sentezlenen safra asitleriyle birlikte safra kanaliküllerine taşınır. Günlük safra asidi havuzu 2-4 gram civarında olup, genellikle günde ortalama 6-8 kez dolaşıma girer. Bu dolaşım miktarı, yemek büyüklüğü ve sıklığına göre değişir. Bir günde kaybedilen safra asidi miktarının yaklaşık %20'si dışkıyla atılır ve kaybedilen bu miktar karaciğer hücreleri tarafından yeniden üretilir. Her gün yaklaşık 1-2 gram safra asidi üretilir (53). Enterohepatik dolaşımdaki safra asitleri, karaciğerden günlük safra asidi salgılanmasını artırır **(Şekil 2.12)**. Safra asitleri ve karaciğerde safra asidi ile kolesterol sentezi arasında negatif geribildirim etkisi bulunmaktadır. Ayrıca, safra asidi salgılanmasını artıran sekretin, glukagon, CCK ve gastrin gibi hormonlar da koleretik etkiye sahiptir; yani safra salgılanmasını artıran maddeler olarak işlev görürler.

Duodenum mukozasından kana salgılanan CCK hormonu ile safra asitleri arasında bir negatif geri bildirim mekanizması bulunur. Bu mekanizma, safra ve pankreas salgılarının düzenlenmesine yardımcı olur. Aynı şekilde, safra asitleri ile bağırsak mukoza hücrelerindeki kolesterol üretimi arasında da negatif bir geri bildirim süreci işler. Bu düzenleyici etkileşimler, metabolik dengenin korunmasında önemli rol oynar. Ek olarak, safra asitleri kolonda su ve elektrolitlerin geri emilimini engelleyerek bağırsak motilitesini artırır. Bu, bağırsak hareketlerinin ve içeriklerin düzenli bir şekilde ilerlemesini sağlayarak sindirim sürecinin verimliliğini artırır (51).

2) Kolesterol:

Kolesterol, safra tuzlarının oluşumu sırasında bir yan ürün olarak meydana gelir ve günde 1-2 gram safra yoluyla vücuttan atılır. Lesitin ve kolesterol genellikle suda çözünmezler, ancak safra tuzlarıyla oluşturulan miseller içinde çözünmeleri mümkündür. Lesitin, kolesterolün misellerde çözünme miktarını artırır. Normal koşullarda, kolesterol, safra asidi ve fosfolipit konsantrasyonları belirli bir seviyede olduğu sürece miseller stabil kalır. Ancak, bu maddelerden herhangi birinin konsantrasyonunda değişiklik olursa kolesterol çökelebilir.

Safradaki kolesterol miktarı, yağ metabolizmasının bir ürünü olduğundan, diyetle alınan yağ miktarıyla doğrudan ilişkilidir. Uzun süre yüksek yağ içeriğine sahip gıdalar tüketen bireylerde safra kesesi taşı oluşma riski artabilir (52).

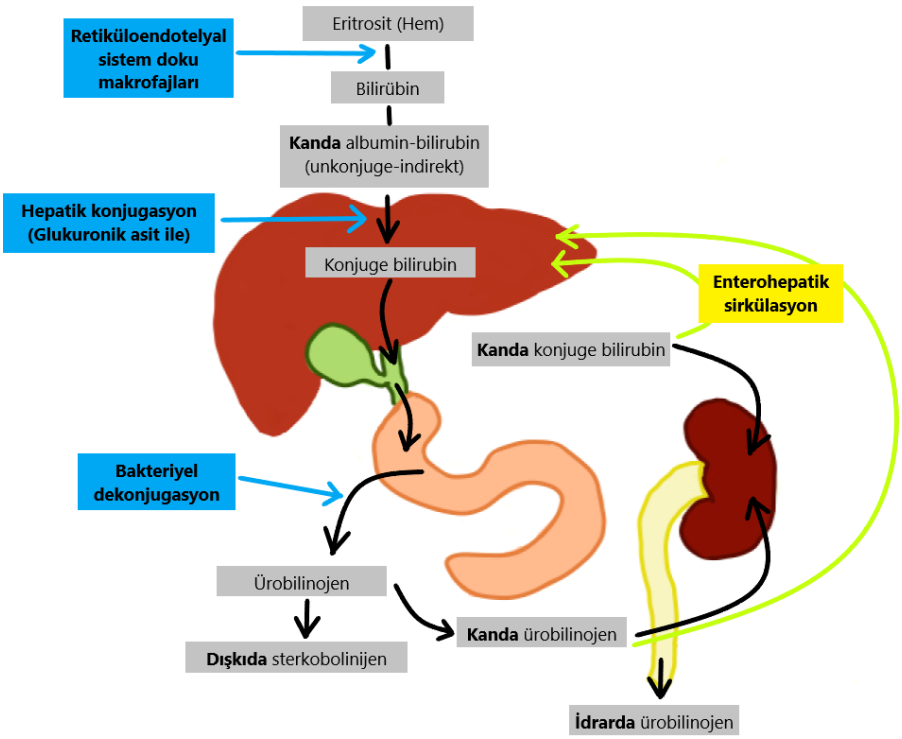
3) Bilirübin:

Yetişkinlerde normal serum bilirubin konsantrasyonu 1 ila 1,5 mg/dl'nin altındadır (53). Bilirubin, hem'in parçalanması sonucu oluşan bir tetrapirol bileşiğidir. Sağlıklı bir yetişkin her gün ortalama 4 mg/kg bilirubin üretir. Bilirubinin çoğunluğu (%70-80) yaşlanan eritrositlerden salınan hemoglobinin katabolizmasından kaynaklanır. Geriye kalan %20 ila %30'u ise esas olarak hepatositlerdeki hem içeren diğer proteinlerin (örneğin katalaz, sitokrom oksidazlar) parçalanmasından meydana gelir. Karaciğer dışındaki dokularda da hemoproteinler (örneğin miyoglobin) bulunur, ancak bunların dönüşüm hızı düşüktür (54).

Eritrositlerin yaklaşık dört aylık ömürlerinin sonunda, hücre zarları parçalanır ve serbest kalan hemoglobin, doku makrofajları tarafından fagosite edilir. İlk aşamada, hemoglobin globin ve hem bileşenlerine ayrılır. Hem halkası daha sonra açılarak serbest demir, transferin ve biliverdin oluşur ve bu bileşenler kan dolaşımında taşınır. Biliverdin kısa sürede serbest bilirübine indirgenir ve makrofajlar tarafından plazmaya salınır. Serbest bilirübin, albüminle hızlı ve sıkı bir bağ oluşturarak kanda taşınır. Bu durum, plazma proteinine bağlı olmasına rağmen, konjuge bilirübinden ayırt etmek için serbest bilirübin olarak adlandırılır. Birkaç saat içinde serbest bilirübin, hepatosit zarları tarafından emilir. Karaciğer hücrelerinin içinde, plazma albümininden ayrılır ve hızla konjuge hale gelir. Bilirubinin glikuronik asitle birleşmesi, glikuronil transferaz

enzimi aracılığıyla gerçekleşir ve suda çözünebilen bilirübin glukuronat oluşur. Bilirubinin %10'u çeşitli maddelerle birleşirken, %80'i bilirübin glikuronatı ve %10'u bilirübin sülfatı oluşturur. Bilirübin glikuronat, hepatositlerden aktif taşıma yoluyla safra kanalcıklarına salgılanırken, bir kısmı da kana geçerek albüminle bağlanır. Plazmadaki bilirubinin büyük bir kısmı genellikle serbest bilirübin ve daha az miktarda konjuge bilirübinden oluşur.

Bağırsaklardan dolaşıma geçen konjuge bilirübinin yaklaşık %50'si bakteriler tarafından ürobilinojene dönüştürülür. Bağırsak mukozası konjuge bilirübine nispeten geçirimsiz olsa da ürobilinojene karşı geçirgen özellik gösterir. Ürobilinojenin bir kısmı bağırsak mukozasından kana geri emilirken, büyük bir kısmı karaciğer tarafından tekrar bağırsağa salınır. Ürobilinojenin yaklaşık %5'i böbrekler aracılığıyla idrar yoluyla atılır ve hava ile temas ettiğinde ürobiline oksitlenir. Dışkıdaki sterkobilinojen de oksijenle etkileşime girerek sterkobiline dönüşür (55) **(Şekil 2.13).**



Şekil 2.13: Bilirübinin metabolizması

2.5. Sarılığın Sınıflandırılması

Serum bilirübin seviyeleri, bilirübin üretimi ile hepatobiliyer klirensi arasındaki dengeyi yansıtır. Bu süreçler arasındaki herhangi bir dengesizlik sarılığa neden olabilir. Pratik açıdan bakıldığında, hiperbilirubinemi ve sarılıkla ilişkili durumlar geniş kategoriler altında sınıflandırılabilir. Bu kategoriler arasında bilirubin metabolizması bozuklukları, karaciğer hastalıkları ve safra kanalı tıkanıklıkları yer alır **(Tablo 2.2).**

Tablo 2.2: Sarılığın Sınıflandırılması

Bilirübin Metabolizmasında Bozukluklar	
İzole Non-konjuge Hiperbilirubinemi	
Artmış üretim	Hemoliz, kan transfüzyonu, hematom rezorpsiyonu, inefektif eritropoez
Hepatoselüler alımda azalma	İlaçlar (örneğin rifampin, siklosporin)
Konjugasyon azalması	Gilbert sendromu, yenidoğanın fizyolojik sarılığı, Crigler-Najjar sendromu ilaçlar (örn. indinavir, atazanavir)
İzole Konjuge veya Karışık Hiperbilirubinemi	
Dubin-Johnson sendromu	—
Rotor sendromu	—
Karaciğer Hastalıkları	
Hepatoselüler Disfonksiyon	
Akut veya subakut hepatoselüler hasar	Viral hepatit, hepatotoksinler (örneğin, etanol, asetaminofen, Amanita phalloides); ilaçlar (örneğin izoniazid, fenitoin); iskemik hepatit; vasküler tıkanıklıklar; metabolik bozukluklar (örn. Wilson hastalığı); Gebeliğe bağlı hastalıklar (örneğin, gebeliğin akut karaciğer yağlanması, preeklampsi)
Kronik hepatoselüler hastalık	Viral hepatit; hepatotoksinler (örneğin etanol, vinil klorür, A vitamini); otoimmün hepatit; Çölyak hastalığı; metabolik bozukluklar (örn. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, hemokromatoz, Wilson hastalığı, α1 - antitripsin eksikliği)
Kolestazın Belirgin Olduğu Karaciğer Bozuklukları	
İnfiltratif hastalıklar	Mikobakteriyel enfeksiyonlar, sarkoidoz, lenfoma, granülomatöz polianjit gibi granülomatöz hastalıklar; amiloidoz, malign hastalıklar
Kolanjiyosit hasarı	Primer biliyer siroz; graft-versus-host hastalığı; ilaçlar (örn. eritromisin, trimetoprim/sülfametoksazol); kistik fibrozis

Çeşitli koşullar	İyi huylu tekrarlayıcı intrahepatik kolestaz; ilaçlar (örneğin östrojenler, anabolik steroidler); Total parenteral nütrisyon; Bakteriyel enfeksiyonlar; paraneoplastik sendromlar; gebelikte intrahepatik kolestaz
Safra Kanalı Tıkanıklığı	
Koledokolitiazis	—
Safra Kanalı Hastalıkları	
Enflamasyon, enfeksiyon	Primer sklerozan kolanjit, AIDS kolanjiyopatisi, hepatik arteriyel kemoterapi veya kemoembolizasyonun neden olduğu yaralanmalar, ameliyat sonrası darlıklar
Neoplazmalar	Kolanjiyokarsinom
Dıştan Bası	
Neoplazmalar	Pankreas karsinomu, metastatik lenfadenopati, Hepatoselüler karsinom, ampuller adenom veya karsinom, lenfoma
Pankreatit	—
Damarsal genişlemeler	Anevrizma, portal venin kavernöz dönüşümü (portal kavernoma)

2.5.1. Tıkanma Sarılığı

TS, karaciğer, bağırsak, böbrek, kardiyovasküler ve bağışıklık sistemini etkileyerek ciddi sorunlara yol açabilir. TS'nin neden olduğu histopatolojik değişiklikler, organizmada çoklu sistem disfonksiyonuna ve hayati tehlike arz eden çeşitli komplikasyonlara neden olabilir.

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında, safra bağırsağa ulaşamaz ve bunun sonucunda safra tuzları ile bilirübin birikir. Bu maddeler, sistemik ve hepatik fonksiyonlarda toksik etkilere yol açar (56). Safra yollarının tıkandığı durumlarda, safra basıncı artar ve karaciğerde çeşitli histopatolojik değişiklikler meydana gelir. Çocuklarda ve erişkinlerde bu durum uzun süre devam ederse, siroz gelişebilir. Safra yolunun akut olarak tıkanması durumunda, en erken belirti kanaliküler kolestazdır ve bunu safra duktus hücrelerinin proliferatif yanıtı izler. Kronikleşen bu süreç, periduktal bağ dokusunun artmasına ve fibröz tabakaların oluşumuna yol açar (57). Bu durum, periportal ve periseptal bölgelerde değişikliklerle kendini gösterir ve kolestaz devam ettikçe karaciğerde yapısal anomaliler ve nodüler parankimal hiperplazi gelişir.

Bu süreç, obstrüktif biliyer sirozun tipik görüntüsünü oluşturur (57). Siroz patogenezinde temel patoloji olan karaciğer fibrozu, hücre dışı matriks proteinlerinin birikimiyle karakterizedir (58). Hasarlı karaciğerdeki Disse aralığındaki stellat hücreler tarafından üretilen hücre dışı matriks proteinleri, karaciğer fibrozuna neden olur. Bu proteinler arasında kollajen tip I, tip III, tip IV, fibronektin, laminin ve proteoglikanlar bulunur. En çok üretilen proteinler ise kollajen tip I ve tip III'tür (59).

TS, bilirübin ve safra tuzlarının metabolizması ile enterohepatik dolaşımdaki değişikliklerin yanı sıra, karaciğerin diğer fonksiyonlarında da önemli değişikliklere neden olur. Safra yolu tıkanıklığında, faktör 5, 7, 9, 10 gibi pıhtılaşma faktörleri ile albümin, fibrinojen, protrombin, haptoglobülin, transferrin ve seruloplazmin gibi yapıların sentezi azalır (60,61). Safra eksikliği nedeniyle bağırsakta lipidlerin %40'ı dışkıyla atılır ve bu lipid kaybı metabolik bozukluklara yol açar (62). Yağların yeterince emilememesi nedeniyle yağda çözünen A, D, E ve K vitaminlerinin metabolizması da olumsuz etkilenir. A, D ve E vitaminleri vücutta depolanabilirken, K vitamini depolanamaz. Bu durum, K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerinin (faktör 2, 7, 9, 10) yetersiz sentezlenmesine ve ciddi pıhtılaşma bozukluklarına yol açar (63). Sitokrom P-450, granülsüz endoplazmik retikulumda bulunur ve karaciğerdeki detoksifikasyon işlemlerinde önemli bir rol oynar. TS oluşturulmuş farelerde, hepatosit mikrozomlarından izole edilen sitokrom P-450 mikrozomal aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir (64).

Karbonhidrat metabolizmasında galaktoz ve fruktozun glukoza dönüşümü, glikojenin depolanması, glikoneogenezis ve birçok önemli kimyasal maddenin oluşum mekanizmalarında bozulmalar meydana gelir.

Safra kesesi ve koledok normalde sterildir. Ancak koledokolitiyazis durumunda, kültür pozitifliği %75-90 arasında değişir. TS'li hastalarda, bakteriyel çoğalma sonucunda süpüratif kolanjit gelişebilir. Süpüratif kolanjit, bakteriyemi sık görüldüğü için yüksek bir mortalite oranına sahiptir. Süpüratif kolanjitte en sık rastlanan etken Escherichia coli'dir (65).

Portal kan akımındaki artışa rağmen, karaciğerin toplam kan akışı azalır. Safra yollarındaki basınç artışı, lenfatik ve venöz sistemde reflüye yol açabilir. Bu duruma

"kolanjiovenöz reflü" adı verilir. Bazı çalışmalar, safra yolu basıncındaki artış ile kolanjitin şiddeti ve mortalitesi arasında önemli derecede pozitif bir bağlantı olduğunu göstermiştir (66).

Karaciğerin primer hastalıkları ve TS tablolarında, konak savunmasının non-spesifik mekanizmalarına ek olarak, immün sistemin de baskılandığı gözlemlenmiştir. Ancak bu baskılanmanın nasıl gerçekleştiği tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Yapılan araştırmalar, sistemik endotokseminin doğrudan etkisiyle hücresel bağışıklıkta ve bakteriyel translokasyonun ikincil etkisiyle T hücre yanıtında baskılanma olduğunu göstermiştir (67).

Mukozal immünitenin temel bileşenlerinden biri olan salgısal immünoglobülin A (IgA), safra salgısının önemli bir bileşenidir. IgA, bakterilerin enterositlere yapışmasını engeller ve endotoksinlerin parçalanmasına yardımcı olur. TS'de, safranın ve IgA'nın bağırsak boşluğuna geçememesi, bakteriyel translokasyonu ve endotoksemi riskini artırır. Genel olarak, bakteriyel translokasyonun gelişiminde üç ana mekanizma bulunmaktadır: baskılanmış immünite, bağırsak boşluğundaki bakterilerin aşırı üremesi ve bağırsak mukozal bariyer fonksiyonunun bozulması (68). TS'de, bu üç mekanizmanın da etkin olduğu gözlemlenmiştir. Bazı deneysel çalışmalar, TS oluşturulan ratlarda ince bağırsak epitel hücrelerinde subendotelyal ödem gelişimi, villuslarda tahribat ve villus atrofisi meydana geldiğini göstermiştir. Subendotelyal ödemin hücreler arası lenfatik boşlukta genişlemeye neden olduğu ve bu boşluktan bakteri ve endotoksin geçişinin arttığı düşünülmektedir (69).

- Deneysel çalışmalarda, TS oluşturulan ratlarda tumor nekroz faktörü-α (TNF-α) ve çözünebilir TNF-α reseptörlerinin arttığı gözlemlenmiştir (72). TNF-α, aktif makrofajlar tarafından üretilir ve salınımı endotoksinler, immün kompleksler, toksinler ve diğer inflamasyon mediatörleri tarafından tetiklenir. Özellikle endotel hücrelerinde, endotel aktivasyonu olarak adlandırılabilecek bir dizi değişiklik meydana gelir:

- Endotel adezyon moleküllerinin sentezini artırarak yeni sitokinlerin salgılanmasını teşvik eder.

- Nitrik oksit ve prostaglandin sentezini uyararak sistemik akut faz reaksiyonunu başlatır.

- Nötrofil aktivasyonunu ve agregasyonunu artırarak, mezenkimal hücrelerden proteolitik enzimlerin salınmasına ve dolayısıyla doku hasarına yol açar.

TS'de, Norepinefrin ve Angiotensin-II'ye yanıt azalır, bu da sistemik vazodilatasyona neden olur ve şoka eğilim artar (71). Deney hayvanlarında yapılan modellerde, safra asitlerinin miyokardiyal kasılmayı azalttığı bulunmuştur. Uzun süreli TS görülen hastalarda, hematokrit ve albümin seviyelerinin düşmesi önemli belirtiler arasındadır. Aneminin nedeni olarak, bilirubinin tetiklediği hemoliz düşünülmektedir (72).

TS'de meydana gelen hemodinamik değişiklikler, akut tübüler nekrozun (ATN) başlamasına yol açabilir. Bilirubin ve diğer safra pigmentlerinin böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediği, doğrudan toksik etkilerle veya hipoksi ve hipotansiyon aracılığıyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir (73) **(Tablo 2.3).**

Tablo 2.3: Tıkanma Sarılığının Vücuda Etkileri

Karaciğer	Protein sentezin azalması Koagülasyon faktörlerin sentezin azalması Hepatosit mikrozomal P450' de azalma Karbonhidrat metabolizmasında bozukluklar Portal venöz basıncında artış Karaciğerin toplam kan akımının azalması Kolanjiovenöz ve kolanjiolenfatik reflü gelişmesi Kolanjit gelişmesi
Bağırsak	Lümen içi safra tuzlarında azalma Lümen içi IG-A azalması Bakteriyel translokasyonda artış Vitamin K' nın emiliminde azalma
Kardiyovasküler Sistem	Hiperdinamik sirkülasyon Kan volümün azalması Norepinefrin ve Anjiotensin II' ye yanıtında azalma Miyokardial kontraktilitede azalma Sistemik vazodilatasyon

Renal	Glomerül bazal membranında immün kompleks ve depozit birikimi İskemiye olan duyarlılıkta artış Sistemik kan bilirubininde artış Safra tuzlarının artışı Koagülasyon faktörlerinde azalma Kolesterol, trigliserit, lipoprotein-X artışı Hiperfibrinolizis Endotoksemi

2.6. Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres ve satellit hücrelerin aktivasyonu nedeniyle artan kollajen sentezi, karaciğer fibrozisinin oluşmasında etkili bir faktördür. Oksidatif stresin ortaya çıkabilmesi için serbest radikal miktarının artması veya antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflaması gerekmektedir (74).

Serbest radikallerin en dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron bulunur, bu da onları oldukça reaktif kimyasal yapılar haline getirir. Solunum yoluyla alınan oksijenin yaklaşık %5'i vücutta serbest oksijen radikallerine dönüşür. Antioksidan savunma mekanizmaları zayıflarsa, bu radikaller organizmaya zarar verebilir. Bir elektronun oksijene eklenmesiyle süperoksit anyon radikali oluşur. Bu anyon, süperoksit dismutaz (SOD1) enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülür. Hidrojen peroksit, serbest radikal olmasa da vücutta yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda toksik olabilir ve bilinen en toksik oksijen radikali olan hidroksil radikaline dönüşebilir (74).

Lipid peroksidasyonu, serbest oksijen radikalleri nedeniyle başlayan ve hücre zarı yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir reaksiyondur. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan güçlü bir oksitleyici radikalin, zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirindeki alfa-metilen gruplarındaki hidrojen atomunu uzaklaştırmasıyla başlar (75).

Biyolojik sistemlerde süperoksit anyonu ve hidroksil radikali gibi serbest radikaller bulunur ve lipid peroksidasyon reaksiyonunun uyarılmasında asıl etkinin hidroksil radikali tarafından sağlandığı düşünülmektedir. Serbest radikallerin etkisiyle

yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırıldığında, yağ asidi zinciri radikal özelliği kazanır (74, 75).

Lipid peroksidasyonunun hücre hasarına yol açtığı düşünülmektedir; bu hasar, zar lipid yapısında meydana gelen değişimler nedeniyle hücre zarının işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerindeki etkisi, ve reaksiyonun son ürünü olan aldehitlerin sitotoksik etkisi gibi farklı yolaklar aracılığıyla gerçekleşir. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünü olduğu için lipid hasarının bir belirtecidir; luminal ise oksidatif stresin hücre sitoplazma düzeyindeki belirteci olarak kabul edilir. Lusigenin ise mitokondriyal düzeyde hasarın belirteci olarak kullanılmaktadır (75, 76)

2.7. Karaciğer Fonksiyon Testleri

Karaciğer hastalıklarında fonksiyon testleri iki gruba ayrılır:

- Hepatoselüler hasar testleri (Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT))
- Biliyer obstrüksiyon testleri (Bilirübin, alkalen fosfataz (ALP), 5'-nükleotidaz (5'NT), gama glutamil transpeptidaz (GGT), laktat dehidrojenaz (LDH))

Akut hepatoselüler hasarın en hassas belirteçleri olan serum aminotransferazları (transaminazlar olarak da bilinir), 1950'lerden beri karaciğer hastalığını tanımlamak için kullanılmaktadır (77). ALT (eski adıyla serum glutamik piruvik transaminaz veya SGPT) ve AST (eski adıyla serum glutamik oksaloasetik transaminaz veya SGOT), sırasıyla alanin ve l-aspartik asidin α-amino gruplarını ketoglutarik asidin α-keto grubuna transfer eder. AST, hem sitoplazmada hem de mitokondride bulunur ve vücutta yaygın olarak dağılmıştır; en yüksek konsantrasyon sırasıyla karaciğer, kalp kası, iskelet kası, böbrek, beyin, pankreas, akciğer, lökosit ve eritrositlerde bulunur. Sitoplazmik bir enzim olan ALT ise, birçok organda bulunmasına rağmen karaciğerde en yüksek konsantrasyona sahiptir ve bu nedenle karaciğer hasarının daha spesifik bir göstergesidir. Aminotransferazların serum değerlerindeki artışlar, bu enzimler açısından zengin dokulardaki hasarı veya ALT ve

AST’nin seruma sızmasına izin veren hücre zarı geçirgenliğindeki değişiklikleri yansıtır.

Bilirubin düzeyi, bilirubinin üretimi, hepatoselüler alımı, konjugasyonu veya atılımının bir sonucunu yansıtır. Serum bilirubin ölçümü spesifik bir test olmamakla birlikte, karaciğer fonksiyon testi olarak orta derecede duyarlıdır.

ALP terimi, vücutta geniş çapta dağılmış bir grup izoenzim için kullanılır (78). Erişkinlerde klinik açıdan en büyük öneme sahip izoenzimler, serum ALP'nin ana kaynakları olan karaciğer ve kemikte bulunur. Diğer izoenzimler ise plasenta, ince bağırsak ve böbreklerden kaynaklanır. Karaciğerde ALP, hepatositlerin kanaliküler membranında yer alır ve kesin işlevi tanımlanmamıştır. ALP'nin serum yarı ömrü yaklaşık 7 gündür ve bozunma yerleri bilinmemekle birlikte, ALP'nin serumdan temizlenmesi safra yollarının açıklığından veya karaciğerin fonksiyonel kapasitesinden bağımsızdır. Hepatobiliyer hastalık, safra asitlerinin aracılık ettiği bir süreç olan enzimin indüklenen sentezi ve seruma sızması yoluyla serum ALP düzeylerinin artmasına yol açar (79).

GGT, hücre zarında bulunan bir enzimdir ve karaciğer (hem hepatositler hem de kolanjiositler), böbrek, pankreas, dalak, kalp, beyin ve seminal vezikül gibi geniş bir doku dağılımında bulunur. Yüksek serum GGT seviyesi, hepatobiliyer hastalıklar için yüksek duyarlılığa sahip olsa da, spesifik olmaması klinik kullanımını sınırlar. Serum GGT seviyesinin başlıca kullanımı, serum ALP seviyesinde izole bir yükselmenin kaynağını belirlemektir; GGT, kemik hastalıklarında yükselmez (80).

5'NT, kanaliküler ve sinüzoidal plazma membranlarıyla ilişkilidir ancak işlevi tam olarak tanımlanmamıştır. 5'NT ayrıca bağırsak, beyin, kalp, kan damarları ve endokrin pankreasta da bulunur. GGT'de olduğu gibi, serum 5'NT seviyesinin birincil rolü, izole edilmiş serum ALP yükselmesinin organ kaynağını belirlemektir. 5'NT düzeyi, kemik hastalıklarında artmazken özellikle hepatobiliyer hastalıklarda yükselir.

LDH, vücudun neredeyse tüm dokularında bulunan bir izoenzim grubunu temsil eder ve temel olarak glikoliz reaksiyonunda görev alır. Pek çok hastalıkta LDH seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. LDH yüksekliği, doku hasarına işaret eder; bu

durum hasar sonucu hücrelerden salınan LDH'nin kana karışmasıyla ortaya çıkar. LDH'nin beş izoenzimi tanımlanmıştır: LDH-1 böbrek ve kalpte, LDH-2 eritrositlerde, LDH-3 akciğerde, LDH-4 lökositlerde, lenf düğümlerinde ve böbreklerde, LDH-5 ise karaciğer ve kas dokularında yüksek miktarda bulunur.

2.8. İyileşme Kaskadı

Genellikle iyileşme kaskadı birbiri ile örtüşen dört aşamayı içermektedir:

1) Hemostaz
2) İnflamatuar faz
3) Proliferasyon fazı (Yaralanmadan günler sonra başlar ve iyileşme kaskadının en önemli aşamasını oluşturur.)
4) Yeniden şekillenme- remodeling (en uzun faz olup skar dokusu oluşumunu içerir)

Yaralanmanın hemen ardından, kapiller sızıntı, hemostatik faktörlerin ve inflamatuar mediatörlerin bölgede toplanmasına olanak tanır. Pıhtılaşma kaskadının aktivasyonu, trombosit agregasyonuna, pıhtı oluşumuna ve geçici bir ekstrasellüler matriks yapısının oluşumuna yol açar. Trombositler, açığa çıkan kollajen ve dolaşan ekstrasellüler matriks proteinlerine yapışarak trombosit alfa granüllerinden biyoaktif faktörlerin salınmasını tetikler. Bu biyoaktif faktörler arasında büyüme faktörleri, kemokinler, sitokinler ve proinflamatuar mediatörler bulunur.

İnflamatuar faz, hemostazdan sonraki süreci takip eder. Kemoatraktan ajanlar, erken inflamatuar fazın ilk 1-2 saatinde yaralanmış bölgeye nötrofilleri çekmeye başlar. Daha sonra, makrofajlar yarada görünür ve yara debridmanı ile inflamasyonun düzenlenmesinde öncü rol oynar. Ayrıca, fibroblastları ve endotel hücrelerini bölgeye çekmede de önemli bir rol oynarlar.

Hücresel ve matris proliferasyon fazı, yara iyileşmesinin en önemli aşamalarından biridir çünkü bu aşamada yer alan hücreler, doku onarımını sağlayan bir metabolik motor gibi işlev görür. Yara iyileşmesinin 2-3 gün sonrasında, makrofajlar ve kemotaktik, mitojenik ve anjiyojenik büyüme faktörleri, fibroblastları

ve epitel hücrelerini yaralanma bölgesine çekerek infiltrasyon sağlar. Yara bölgesine ulaştıktan sonra, fibroblastlar kollajen sentezler ve yaranın kasılmasını kolaylaştırır. Anjiyogenez ve granülasyon dokusunun oluşumu da iyileşme sürecinin proliferatif fazında önemli unsurlar.

İyileşme sürecinin son aşaması, yara olgunlaşması ve yeniden şekillenmeyi içerir. Bu aşamada, PDGF'ler ve TGF-β gibi büyüme faktörleri, fibronektin ile birlikte fibroblast proliferasyonunu, göçünü ve ekstrasellüler matriks bileşenlerinin sentezini teşvik eder. Yeniden şekillenme aşaması, bozunma ve sentez arasındaki dengeyi korumak için sıkı bir şekilde düzenlenir. Tip I kollajen, tip III kollajen, proteoglikan ve fibronektinin yerini alarak daha sağlam bir matriks oluşumu ve gerim kuvvetinin artmasını sağlar.

Olgunlaşma aşamasının süresi, yaranın patolojisi, bireysel özellikler ve ilgili dokunun iyileşme yeteneklerine bağlı olarak değişir. Ayrıca, patofizyolojik ve metabolik faktörler yara iyileşmesini etkileyebilir. Lokal nedenler arasında iskemi, doku hipoksisi, enfeksiyon ve büyüme faktörü dengesizliği bulunurken, sistemik nedenler arasında metabolik hastalıklar ve beslenme durumu yer alır .

2.9. OZON TEDAVİSİ

2.9.1. Genel bilgiler ve tarihçe

Ozon, üç oksijen atomundan meydana gelen, oldukça instabil ve kendine özgü kokusu olan gaz formunda bir moleküldür. Ozon kelimesinin kökeni Yunanca'da "koku/kokmak" anlamına gelen "Ozein" sözcüğünden türetilmiştir. Oksijenle karşılaştırıldığında, suda çözünürlüğü on kat daha fazladır. Doğada bilinen en güçlü üçüncü oksidan molekül olup, ileri derecede reaktif ve instabil yapısı nedeniyle depolanması neredeyse imkansızdır. Oksijen molekülünden, tersine çevrilebilir ve endotermik bir reaksiyon ile yüksek voltaj altında oluşur; bu reaksiyon şu şekilde ifade edilir: $3O_2 + 68{,}4\ Kcal \rightarrow 2O_3$ (81).

Ozon, ilk kez 1840 yılında Christian Friedrich Schönbein tarafından keşfedilmiştir. Schönbein, oksijen gazı varlığında volta pili ile çalışırken, "koku yayan bir gaz"ın oluştuğunu fark etmiştir. Tıbbi alanda ozonun tedavi amaçlı ilk kullanımı, Dr. Albert Wolff tarafından I. Dünya Savaşı'nda gerçekleşmiştir. Dr. Wolff, ozonu Alman askerlerinde posttravmatik gazlı gangreni tedavi etmek için kullanmıştır. Ayrıca, I. Dünya Savaşı sırasında Londra'daki Queen Alexandra Askeri Hastanesi'nde de yaraları dezenfekte etmek için ozonun denendiği bilinmektedir (82).

2.9.2. Etki mekanizması

Ozon, saf su içerisinde diğer gazlar gibi Henry yasalarına uygun olarak basınç, sıcaklık ve konsantrasyona bağlı bir şekilde çözünebilir ve sadece saf su içerisinde reaksiyona girmeden kalabilir. Ancak biyolojik sıvılar (plazma, lenf sıvısı, idrar) içinde ozon, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), antioksidan moleküller ve su gibi biyomoleküllerle hızla reaksiyona girerek lipit oksidasyon ürünleri (LOP) ve reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturur. Ozon, kısa sürede metabolize olduğu için etkileri, oluşan LOP ve ROT üzerinden gerçekleşir. ROT ve LOP, yüksek dozlarda vücuda zararlı reaksiyonlara neden olabilirken, düşük dozlarda hücre içi sinyal üretimi için düzenleyici rol oynar. (83).

Reaktif oksijen türleri (ROT), hızla antioksidan moleküllerle metabolize edildiğinden, etkileri oldukça kısa sürelidir. Özellikle oksijen radikalleri, süperoksit dismutaz (SOD) varlığında hidrojen peroksite dönüştürülür. En önemli ve nonradikal ROT hidrojen peroksittir (H_2O_2). ROT ile birlikte oluşan lipit oksidasyon ürünleri (LOP) arasında en bilinenleri lipoperoksil radikalleri, hidroperoksitler, malonilaldehit, izoprostanlar ve hidroksinonenal molekülleridir. Ozonun çözünmesiyle oluşan oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif stres, bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör - eritroid 2 - ilişkili faktör (Nrf2) aktivasyonunu tetikler. Nrf2, hücre çekirdeğine giderek antioksidan moleküllerin ve enzimlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu molekül ve enzimler arasında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx), ısı şok proteinleri (HSP), NADPH-

kinon oksidoredüktaz-1 (NQO-1) ve hem oksijenaz-1 (HO-1) bulunmaktadır. Bu moleküller sayesinde oksijen radikalleri etkisiz hale getirilir. (83).

Ozon, eritrositlerde fosfofruktokinaz enzim aktivitesini artırarak glikolizin artmasına yol açar ve buna bağlı olarak eritrositlerde 2,3 difosfogliserat konsantrasyonunu artırır. Bu durum, oksijen-hemoglobin dissosiyasyon eğrisinin sağa kaymasına neden olur, böylece eritrositlerden dokulara oksijen dağılımı kolaylaşır. Ayrıca, ozon nitrik oksit (NO) salgılanmasını artırarak dokuların oksijenlenmesini de iyileştirir. Bunun yanı sıra, lipit oksidasyon ürünlerinin (LOP) kemik iliğine ulaşarak eritroblastların salınımını sağlamasıyla dolaşımdaki eritrosit sayısında da artış meydana gelir. Bu etkilerin tümü, dokuların daha iyi oksijenlenmesini sağlar (84).

In vitro ortamda ozon, bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaların hücre duvarındaki lipoprotein, fosfolipit, glikolipit ve glikoprotein gibi molekülleri okside ederek hücre bütünlüğünün bozulmasına, hücre fonksiyonlarının kaybına ve hücre ölümüne neden olur. Benzer şekilde, virüslerin kılıfındaki benzer moleküllerle reaksiyona girerek virüs-hücre etkileşimini bozarak ve virüsün çoğalma döngüsünü kırarak etkisini gösterir (85,86).

Hidrojen peroksit (H2O2), immün hücrelerin zarından difüzyonla geçerek NFκB'yi aktive eder ve proenflamatuar kemokinlerin salgılanmasını sağlar. Ayrıca, ozon düşük dozlarda uygulandığında prostaglandin sentezi inhibe olur, bradikinin salınımı artar ve makrofaj ile lökositlerin salgılarının artmasına neden olur (87).

2.9.3. Uygulama yöntemleri

Ozon tedavisi, uygulanacağı hastalığa göre sistemik veya lokal olarak kullanılabilir. Altı sistemik uygulama yöntemi mevcuttur: majör otohemoterapi, minör otohemoterapi, ozonize salin solüsyonu uygulaması, ekstrakorporeal kan oksijenizasyonu-ozonizasyonu, rektal insuflasyon ve vajinal insuflasyon.

Majör otohemoterapi, son yıllarda, düşük riskli ozon uygulamaları arasında en popüler yöntemlerden biri haline gelmiştir. Bu işlemde ozon ve kan reaksiyonu

hastanın vücudu dışında gerçekleşir; ardından hastanın kanı, aktif eritrositler ile yeniden infüze edilerek immunokompetan hücreler aktive edilir. Bu işlem, steril koşullarda ve tek kullanımlık malzemelerle gerçekleştirilir. Hastadan 50-100 ml kan alınır ve uygun dozda ozon ile zenginleştirilir. Ozon/oksijen karışımı, kandan geçirilir ve bu kan daha sonra hastaya tekrar transfüze edilir. Majör otohemoterapinin başlıca kullanım alanları arasında arteriyel dolaşım bozuklukları, bağışıklık yetmezliğinden kaynaklanan hastalıklar, enfeksiyonlar, romatizmal hastalıklar, kanser tedavisine ek tedavi ve artritler bulunmaktadır.

Minör otohemoterapi yönteminde, Ozona dayanıklı 30 ml'lik tek kullanımlık bir enjektöre, 10 ml'lik O3/O2 karışımı eklenir ve bu karışım hastanın 3-5 ml kanına 20 µg/ml oranında ilave edilir. Daha sonra bu karışım, intramusküler olarak hastaya yeniden enjekte edilir. Bu prosedürde antikoagülan kullanılmaz. Bu yöntem genellikle dermatolojik hastalıkların tedavisinde tercih edilmektedir.

Ozonize salin solüsyonu uygulaması, Rusya'da geliştirilmiş ve yaygın olarak kullanılan, etkinliği birçok araştırma ile kanıtlanmış bir yöntemdir. Ozonize salin solüsyonu elde etmenin çeşitli yöntemleri bulunmaktadır ve bu amaç için özel olarak üretilmiş cihazlar mevcuttur. Diğer uygulama yöntemlerine göre daha düşük dozlarda uygulanır. Hastanın kilosuna göre belirlenen uygulama dozu, ozon jeneratöründen bu hesaba uygun konsantrasyonda ozon üretilerek salin solüsyonu ile karıştırılır. Önerilen dozlar, düşük (1 µg/kg), orta (2 µg/kg) ve yüksek (5 µg/kg) olmak üzere belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar, bu yöntemin akut apandisit, beyin travması, diyabetik ayak, tıkanma sarılığı, vulvar lökopati ve alt ekstremitenin lenfovasküler yetersizliği gibi durumlarda etkin olduğunu göstermiştir.

Ekstrakorporeal kan oksijenizasyonu-ozonizasyonu, prensip olarak majör otohemoterapiye benzese de, diyaliz benzeri bir cihaz kullanılması ve bu sayede hastanın çok daha fazla miktarda kanının (saatte 4 litre) daha düşük konsantrasyonda ozonla (<1 µg/NmL) karıştırılması nedeniyle tedavinin etkinliğinin artırılması açısından majör otohemoterapinin geliştirilmiş versiyonu olarak kabul edilir. Hastanın venöz damarından alınan kan, ozonla karıştırıldıktan sonra farklı bir venöz damardan hastaya geri verilir. Klinik uygulama olarak; periferik arter hastalıkları, ciddi

dislipidemi, Madelung hastalığı, iskemik inme, kronik kalp yetersizliği ve hepatit C enfeksiyonu tedavisinde kullanılmaktadır.

Rektal ozon insuflasyonu, uygulaması kolay, venöz giriş gerektirmeyen, yaşlı ve çocuklarda rahatlıkla uygulanabilen ve hastalar tarafından iyi tolere edilen bir sistemik uygulama yöntemidir. Rektal yolla verilen ozon, bağırsak lümeninde çözünerek reaktif oksijen türevleri ve lipit peroksidasyon ürünleri oluşturur. Bu ürünler bağırsak mukozasından geçerek venöz ve lenfatik kapiller yoluyla sistemik dolaşıma katılırlar. Majör otohemoterapide kullanılan ozon dozları, rektal insuflasyonla da uygulanabilir.

Vajinal ozon insuflasyonu, vajinanın yoğun kapiller akışı, nemli ortamı ve geniş yüzey alanı nedeniyle sistemik bir uygulama olarak kabul edilmektedir. Bu işlem için özel cihazlar gerekmektedir. İşlem öncesinde vajinanın ozonlu suyla yıkanması ve işlem sonrasında vajinada kuruluk gelişebileceği için kayganlaştırıcı jel kullanılması önerilmektedir.

Sistemik uygulamaların yanı sıra, intramüsküler, paravertebral, intraartiküler ve intradiskal enjeksiyonlar, mezoterapi ve eldiven tekniği gibi birçok lokal uygulama yöntemi de mevcuttur.

İntraperitoneal ozon uygulaması, insanlarda pek yaygın olarak kullanılmamakla birlikte, daha çok peritoneal karsinomatozis veya peritonit gibi durumlarda uygulanmaktadır. Bu yöntemin uygulanması, ameliyathane şartlarını gerektirdiği için daha zahmetli ve invaziv bir yöntemdir. Klinikte etkinliği henüz tam olarak kanıtlanmamıştır. Yapılan hayvan çalışmalarında, tümör hücrelerine karşı diğer kemoterapötik ajanlardan çok daha etkili olduğu ve herhangi bir yan etkiye yol açmadığı görülmüştür (88).

2.9.4. Ozonun medikal kullanım alanları

Ozon tedavisi günümüzde; diş hekimliği, ağrı yönetimi, gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem, akciğer hastalıkları, diyabetes mellitus, iskemik hastalıklar, kanser

ve enfeksiyonlar gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak tamamlayıcı veya adjuvan tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır (89).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

İlgili çalışmamız; T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nca onaylandı (HADYEK/2021-15 nolu proje, Sayı: 2023-11, Tarih: 27.01.2023) (Bkz: EK-2). T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi Dekanlığı, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nca tez konusu olarak onaylanmıştır (Sayı: E-48865165-302.14.01--230957, Akademik kurul karar tarihi: 03.04.2023, Karar no: 61) (Bkz: EK-3). T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıpta Uzmanlık Eğitim Komisyonu (TUEK) 02.05.2023 tarihli, 2023/03 toplantısında araştırma giderlerinin döner sermayeden karşılanması için onay alınmıştır (Bkz: EK-4).

Çalışmada kullanılan deney hayvanları, İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi (BADABEM) tarafından sağlanmıştır. Deney süresince hayvanların günlük bakımı ve izlenmesi, ameliyathane kullanımı ile birlikte aynı merkezde yapılmıştır. Deney sonunda elde edilen kan ve doku örneklerinin biyokimyasal analizleri, Özge Vetlab Veteriner Laboratuvarı ile Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Doku örneklerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal analizleri ise İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Patoloji Kliniği'nde yapılmıştır.

Çalışma boyunca Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS 123) uyulmuştur.

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar

Bu çalışmaya; dişi cinsiyet, aynı cins, 250-300 gr. ağırlığında, yaşları 10-12 hafta aralığında, standart yemlerle (İçeriği: %88 kuru madde, %20 ham protein, %6 ham selüloz, %5,2 ham kül, %2,7 ham yağ, %0,9 kalsiyum, %0,6 fosfor, %0,95 lysine, %0,40 methionin, %0,66 meth+cys, %0,14 sodyum, 2600 Kcal/kg, en az 24000 IU/kg vitamin A, 3000 IU/kg vitamin D3, 300 mg/kg vitamin E, 30 mg/kg vitamin K3, 20 mg/kg vitamin B1, 20 mg/kg vitamin B2, 12 mg/kg vitamin B6, 100 mcq/kg vitamin B12, 100 mg/kg nikotinik asit, 41 mg/kg pantotenik asit, 6,3 mg/kg biotin, 1000 mg/kg kolin, Üretici: MBD Yem Ticareti, Gebze, Türkiye) beslenen, her gün taze içme suyu verilen 32 adet sıçan (Wistar Hannover cinsi) alındı. Tüm hayvanlar, 12 saat karanlık/ aydınlık siklusunda, özel iklimlendirme sistemi ile 22 ^{o}C oda ısısında tutuldu. Deney hayvanları; dış ölçüleri 590x380x200 mm. olan, yaklaşık ağırlığı 2170 gr., taban alanı 1815 cm2, polikarbondan üretilmiş, alt zemin malzemesi olarak mısır koçanı ve talaş karışımı kullanılan kafeslerde 8 erli gruplar halinde takip edildi ve sıçanlar toplam 3 gruba ayrıldı.

Deney hayvanları rastlantısal olarak 3 gruba ayrıldı:

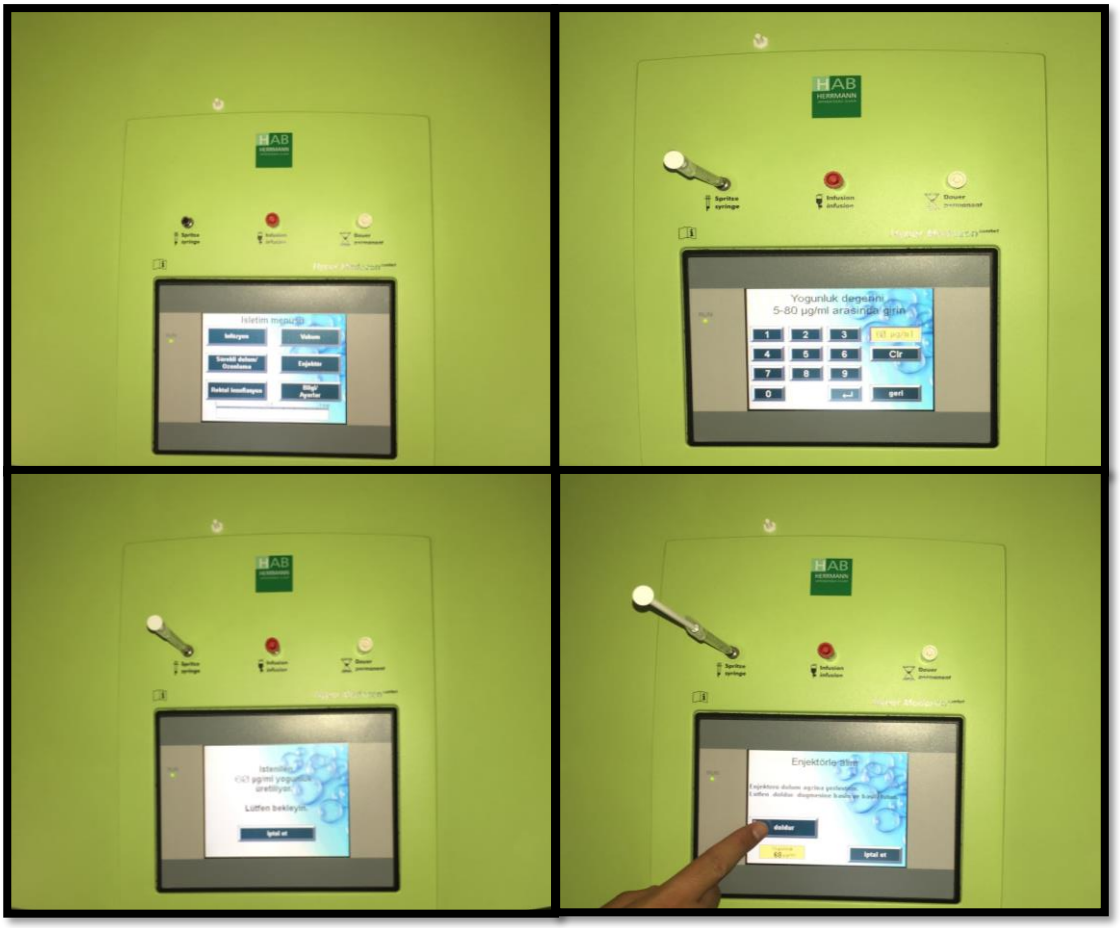
Sham grubu (Grup 1): 8 adet deney hayvanı

Kontrol grubu (Grup 2): 8 adet deney hayvanı (TS oluşturulup devamında 1. 4. ve 7. günlerde 1 ml hacminde intraperitoneal (i.p.) olarak oda havası uygulanacak grup).

Tedavi grubu (Grup 3): 8 adet deney hayvanı (TS oluşturulup devamında 1. günde 20 μg/ml, 4. günde 35 μg/ml, 7. günde 70 μg/ml dozlarında 1 ml hacminde i.p. olarak ozon uygulanacak grup).

3.2. Ozon üretimi

Hastanemiz bünyesindeki BADABEM'nde bulunan ozon jeneratörü ile (Hyper Medozon, Herrmann Apparatebau GmbH, Eisenfeld, Almanya) belirtilen konsantrasyonlarda ozon üretimi gerçekleştirilmiştir **(Şekil 3.1)**.

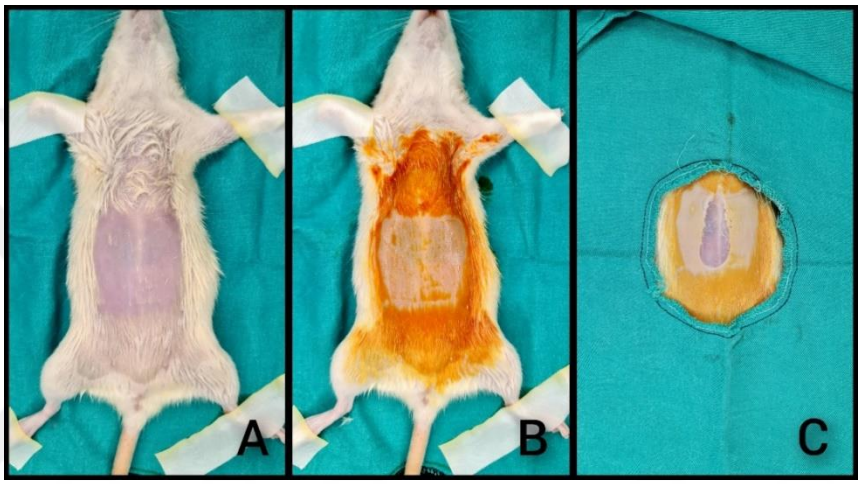


Şekil 3.1: Ozon üretimi

3.2 Anestezi ve Cerrahi İşlem

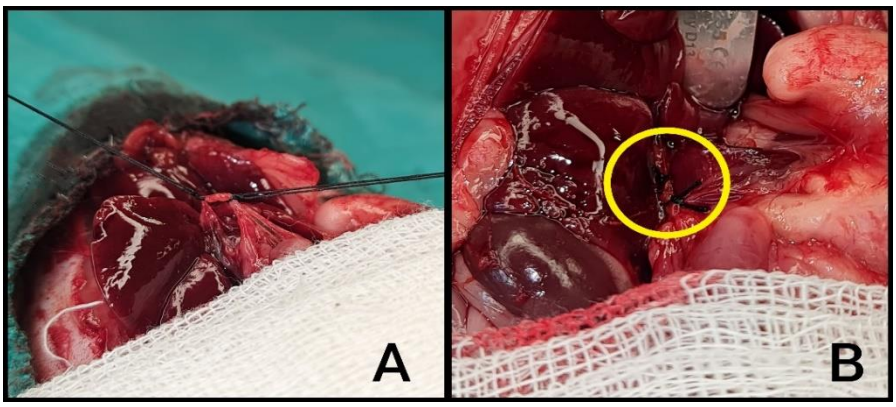
Grup 2 ve grup 3' teki sıçanlara genel anestezi amacıyla 70 mg/kg dozunda Ketamin HCl (Ketalar®) ve 5 mg/kg dozunda Ksilazin HCl (Rompun®) uygulandı. Genel anestezinin sağlanmasının ardından tüm sıçanların karın bölgesi tıraşlanarak işlem masasına supin pozisyonunda 4 ekstremitelerinden tespit edildi. Karın duvarı %10 povidon iyodin çözeltisi ile silinerek steril hale getirildikten sonra cerrahi örtüsü ile örtüldü.

Karnın orta hattından ksifoid çıkıntının inferiorundan kaudale doğru ortalama yaklaşık 3 cm'lik kesi ile cilt geçilip linea alba üzerinden kas ve fasyal planlar geçilerek karın boşluğu içerisine girildi **(Şekil 3.2)**. Mide ve pilor ortaya konarak ardından duodenuma ulaşıldı. Karaciğer lobları ve duodenum arasında ASK bulundu. ASK etraf dokudan diseke edilerek askıya alındı daha sonra proksimal ve distalinden 4/0 ipek ile transekte edilmeden bağlandı (90) **(Şekil 3.3)**. Daha sonra karın kesisi 3/0 ipek sütur kullanılarak anatomik planda kapatıldı. Kesi hattı %10 povidon iyodin ile temizlendi **(Şekil 3.4)**.



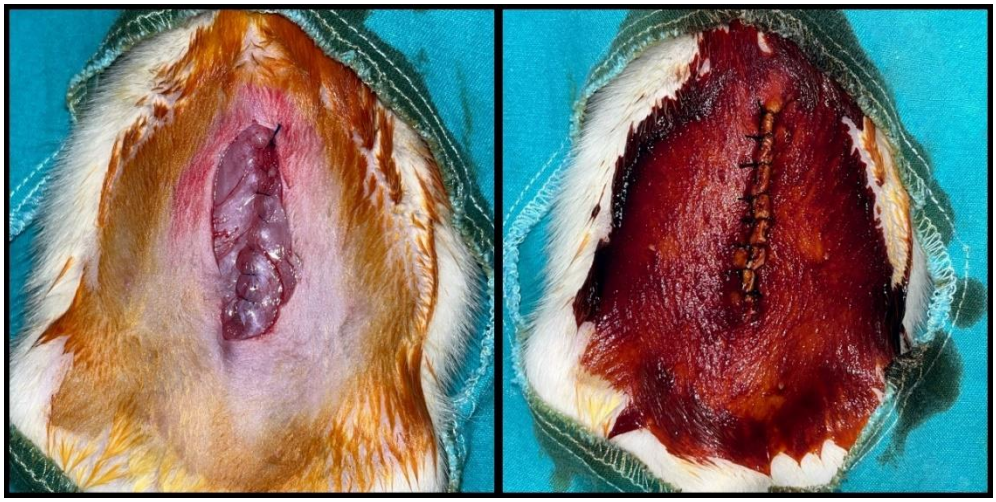
Şekil 3.2: Cerrahi işlem öncesi hazırlıklar.

A: Deney hayvanının tespit edilerek tıraşlanması , B: Karın duvarının %10 povidon iyodin ile silinerek antisepsinin sağlanması C: Cilt orta hat insizyonu



Şekil 3.3: Cerrahi işlemin uygulanma aşamaları.

A: Ana safra kanalının ortaya konulması sonrası askıya alınması, B: Ana safra kanalının proksimal ve distalinden ipek ile bağlanması



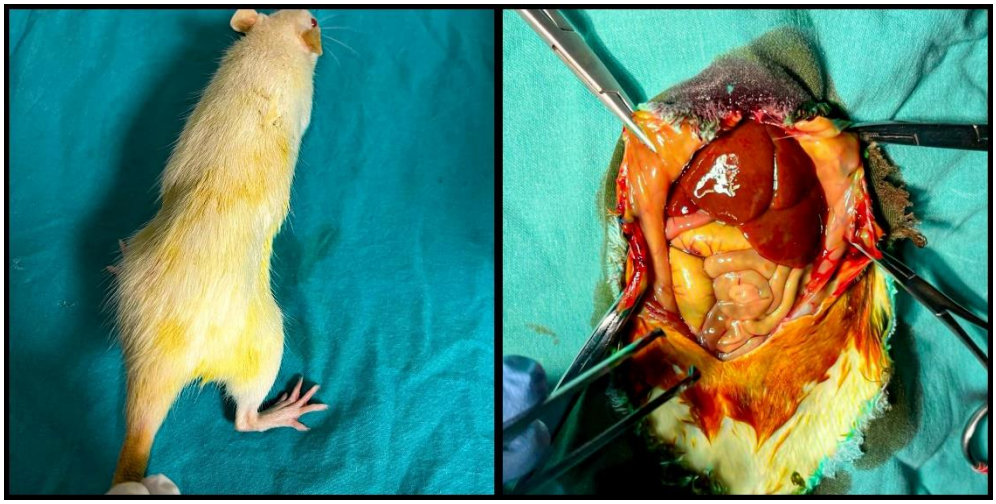
Şekil 3.4: Fasyal ve kas planlarının kapatılarak cilt süturasyonu ve antisepsinin sağlanması.

3.3. Cerrahi Sonrası Bakım, Tedavi ve Deneyin Sonlandırılması

Sıçanlar derlenme sonrası her grup için ayrılan bakım kafeslerine alındı. Sakrifikasyon sürecine kadar sıçanların su ve yeme erişmesinde herhangi bir kısıtlama uygulanmadı.

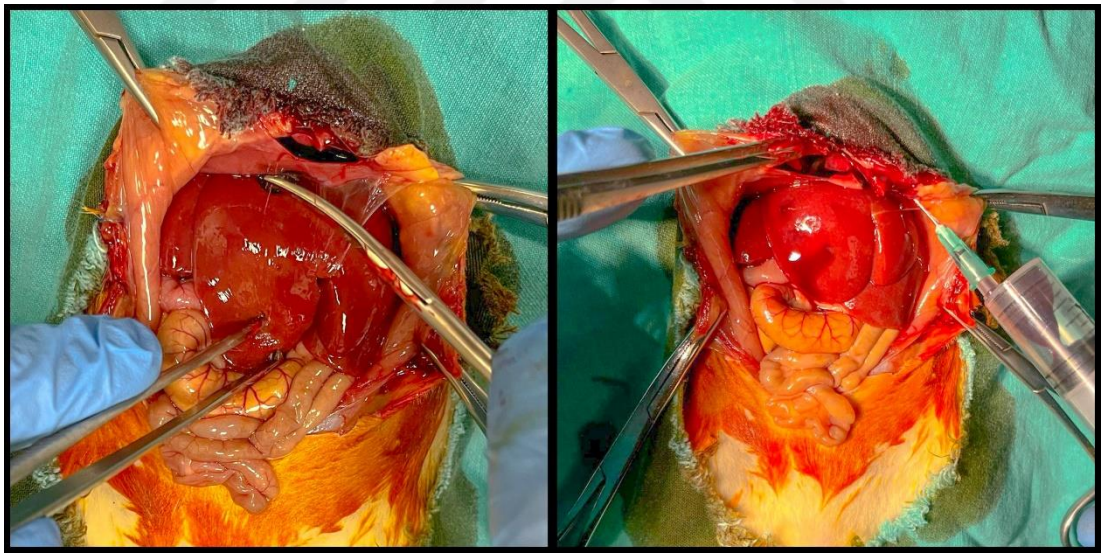
Grup 2' deki sıçanlara cerrahi işlem sonrası 1. gün, 4. gün ve 7. günlerde 1 ml hacminde i.p. oda havası uygulandı. Grup 3' teki sıçanlara ise cerrahi işlem sonrası 1. günde 20 μg/ml, 4. günde 35 μg/ml, 7. günde 70 μg/ml dozlarında 1 ml hacminde i.p. olarak ozon uygulandı. 14 gün boyunca bütün sıçanlar sarılık açısından gözlemlendi, Grup 2 ve grup 3' teki sıçanların tamamında idrar renginde ve vücut yüzeyinde sararma olduğu gözlendi **(Şekil 3.5)**.

Cerrahi sonrası 14. günde anestezi uygulaması sonrası eski insizyon hattı kullanılarak karın boşluğuna girildi. Grup 2 ve Grup 3' teki tüm sıçanların ASK' deki tıkanıklığa bağlı olarak genişleme ve karın içi organlarında sarılığa bağlı olarak renk değişimi olduğu görüldü **(Şekil 3.5)**.



Şekil 3.5: Kontrol ve tedavi grubundaki sıçanlarda vücut yüzeyi ve intraabdominal organlardaki renk değişiklikleri

Grup 1, grup 2 ve grup 3' teki tüm sıçanların karaciğer dokuları eksize edildi ve kardiyak ponksiyon ile 8-10 ml kan alınarak sakrifikasyonları sağlandı **(Şekil 3.6)**.



Şekil 3.6: Sakrifikasyon işleminde karaciğerin örneklenmesi ve intrakardiyak ponksiyon ile kan örneği alınması

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Grup 1, grup 2 ve grup 3'teki sıçanlardan kardiyak ponksiyon yoluyla 8-10 ml kan alındı. Alınan tüm kan örnekleri, antikoagülan içermeyen tüplere konuldu ve oda sıcaklığında pıhtılaşmaya bırakıldı. Pıhtılaşan kan örnekleri santrifüj edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri, Özge Vetlab Veteriner Laboratuvarı'nda bulunan Prestige 24i (Tokyo Boeki Medisys Inc., Tokyo, Japonya) otoanalizör cihazı kullanılarak spektrofotometrik yöntemle analiz edildi. Bu analiz sonucunda total protein, albümin, total bilirübin, direkt bilirübin, AST, ALT, ALP, GGT, LDH, amilaz ve lipaz değerleri elde edildi.

Tüm sıçanların karaciğerinin sağ lobu dışındaki dokular, sıvı nitrojenle şoklama yöntemi kullanılarak donduruldu ve çalışmaya alınana kadar -40 °C'de saklandı. Doku homojenizasyonu için dokular tartıldı, üzerine 1/10 (w/v) oranında fosfat tamponlu salin (PBS) eklenip doku homojenizatörü ile homojenize edildi (91). Homojenatlar, 15 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı ve Eppendorf tüplerine alınarak -80 °C'de analiz edilecek zamana kadar saklandı. Doku protein tayini, Lowry'nin modifiye metodu ile yapıldı (92). Analiz edilecek parametrelerin doku sonuçları, doku protein miktarına oranlanarak belirlendi.

Örnekler çözüldükten sonra oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla SOD1 için Elabscience® Rat SOD1 ELISA kiti (E-EL-R1424) (Houston, Teksas, ABD) kullanılarak kompetitif ELISA prensibiyle; MDA için Elabscience® Rat MDA ELISA kiti (E-EL-0060) (Houston, Teksas, ABD) kullanılarak kompetitif ELISA prensibiyle; glutatyon peroksidaz (GPx) için Elabscience® Rat GPX1 ELISA kiti (E-EL-R2491) (Houston, Teksas, ABD) kullanılarak sandviç ELISA prensibiyle parametre sonuçlarına ulaşıldı. İnflamatuar cevabı belirlemek için ise TNF-α seviyeleri, Elabscience® Rat TNF-α ELISA kiti (E-EL-R1424) (Houston, Teksas, ABD) kullanılarak sandviç ELISA prensibiyle ölçüldü.

3.1 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Karaciğerin sağ lobu disseke edildi. Histokimyasal değerlendirme için dokular %10 nötr tamponize formalin ile tespit edildikten sonra parafin içerisine gömüldü. Her parafin bloktan 3 μm'lik kesitler alındı. Kesitler, histomorfolojik bulguların gösterilmesi amacıyla hematoksilen ve eozin ile, fibrozisin gösterilmesi amacıyla Masson's Trichrome ile, kolestaza bağlı bakır birikiminin gösterilmesi amacıyla rodamin ve orcein ile boyandı. Kesitler, ışık mikroskobu (Eclipse Ni-U, Nikon Corp., Tokyo, Japonya) kullanılarak aynı patolog tarafından iki kez incelendi.

Fibrozis, Ishak fibrozis evrelemesi sistemi ile kategorik olarak skorlandı:

0: Fibrozis yok.

1: Bazı portal alanlarda fibröz genişleme (fibröz septa +)

2: Portal alanların çoğunda fibröz genişleme (fibröz septa +)

3: Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve porto-portal köprüleşme

4: Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme (porto-portal ve porto-santral)

5: Belirgin köprüleşme (porto-portal ve porto-santral) ve yer yer nodüller (inkomplet siroz)

6: Siroz

Portal inflamasyon "0: normal, 1: hafif, 2: orta 3: şiddetli" olarak kategorik şekilde değerlendirildi.

Safra duktus hasarı ve düktüler proliferasyon, portal alan-parankim kesişiminde ödemli fibrokonnektif doku zemininde safra duktüllerinin varlığı, prolifere safra duktüllerinde nötrofil ve eozinofil lökosit varlığı (duktulit) incelenerek değerlendirildi. Kolestaz, genişlemiş periportal kolanjiollerin lümenlerinde safra birikimi, akut kolanjit bulguları, duktal kolestaz, safra enfarktı ve safra gölcüğü varlığına bakılarak değerlendirildi. Bu parametreler, "0: normal, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli" olarak kategorik şekilde sınıflandırıldı.

İmmünohistokimyasal değerlendirme amacıyla Streptavidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapıldı. Bu amaçla hazırlanan parafin

bloklardan 3 μm kalınlıkta kesitler, poli-L-lizin kaplı lamlar üzerine alındı. Kesitler, bir gece boyunca 58 °C'de etüvde deparafinize edildikten sonra derecesi azalan alkollerle rehidrate edildi. Isı ve/veya mikrodalga ışınım yoluyla antijenin ortaya çıkarılmasının (antigen retrieval) ardından, kesitler endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi amacıyla %0,03 yoğunluktaki H2O2 çözeltisinde bekletildi. Parafin kesitler hidrofobik bir kalem ile sınırlandırıldı ve her kesit immün boyama için kullanılacak kitin prosedürüne göre bloklama solüsyonunda bekletildi. Bloklama solüsyonunun uzaklaştırılmasından sonra dokular, bir gece boyunca primer antikorlar kullanılarak +4 °C'de nemli ortamda inkübe edildi. Daha sonra kesitler, 0.01 M PBS ile yıkanarak 15 dakika HRP streptavidin kompleks ile muamele edildi. Dokular, peroksidaz aktivitesi için AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) kromojen kiti ile işaretlendi. PBS ile yıkandıktan sonra Mayers hematoksilen ile çekirdek zemin boyaması yapıldı ve rehidrate edilen kesitler aköz kapama solüsyonu ile kapatıldı. Spesifik immün işaretlemenin varlığı, negatif ve pozitif kontrol boyamaları ile karşılaştırmalı olarak mikroskopta incelendi. Negatif kontrol için seçilmiş doku örneklerinde prosedür aynen uygulandı, ancak primer antikor yerine antikor dilüent kullanıldı. Kesitlerin antijenlerle boyanması, "0: boyanma yok, 1: hafif yoğunlukta boyanma, 2: orta yoğunlukta boyanma, 3: şiddetli boyanma" şeklinde kategorik olarak derecelendirildi.

İnflamasyonun gösterilmesi için TNF-α, düktüler proliferasyonun ortaya konması amacıyla sitokeratin-7 (CK-7), sitokeratin-19 (CK-19), TZP etkinliğinin gösterilmesi için içerisinde bulunan HGF ve TGF-β proteinlerine karşı antikorlar kullanılarak immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Histopatolojik ve immünohistokimyasal görüntüler Olympus BX51 (Olympus Corp., Tokyo, Japonya) ile dijital ortama aktarıldı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 27.0 paket programı kullanıldı.

Sürekli ölçümlerde gruplar arasında normal dağılım gösteren parametreler için ikiden fazla gruplarda tek yönlü ANOVA, normal dağılım göstermeyen parametreler için ikiden fazla gruplarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik ölçümlerde Fischer'ın Kesinlik testi kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığın kaynağını saptanmasında Tukey HSD ve Games Howell testlerine başvuruldu. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık seviyesi (p değeri) 0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

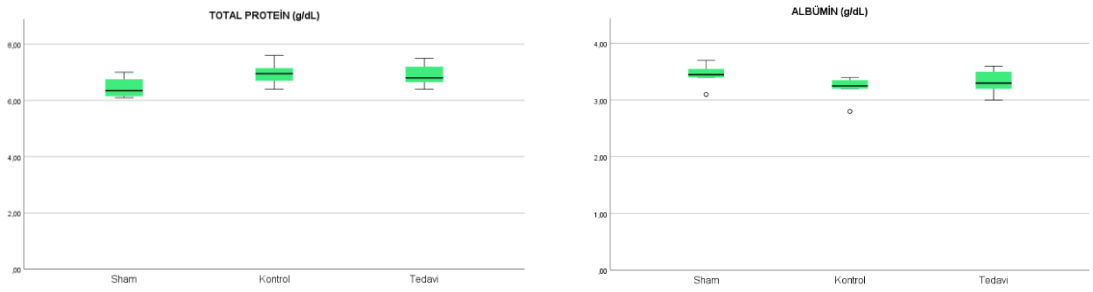
Biyokimyasal ölçüm değerleri her parametre için "ortalama değer± standart sapma" olarak belirtilmiştir.

Biyokimyasal analizlerin değerlendirilmesi sonucunda, serum total protein (TP) seviyeleri sham grubunda 6,45±0,35, kontrol grubunda 6,95±0,37 ve tedavi grubunda 6,90±0,37 olarak kaydedilmiştir. Total protein seviyesinin sham grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir (p=0,032). Ancak, sham grubuyla tedavi grubu arasında ve kontrol grubuyla tedavi grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,057, p=0,96). Serum albümin seviyeleri ise sham grubunda 3,45±0,17, kontrol grubunda 3,22±0,19 ve tedavi grubunda 3,32±0,21 olarak tespit edilmiştir. Sham, kontrol ve tedavi grupları arasında serum albümin seviyeleri açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir .**(Tablo 4.1) (Şekil 4.1).**

Tablo 4.1: Total protein ve albümin değerlerinin karşılaştırması

	Sham	**Kontrol**	**Tedavi**	**p***	**p†**	**p$^{\Delta}$**
TP	6,45±0,35	6,90±0,37	6,90±0,37	0,032	0,057	0,960
Albümin	3,45±0,17	3,22±0,19	3,32±0,21	0,075	0,417	0,566

TP: Total protein, p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p$^{\Delta}$: Kontrol-Tedavi, p<0,05



Şekil 4.1: Total protein ve albümin değerlerine ait grafikler.

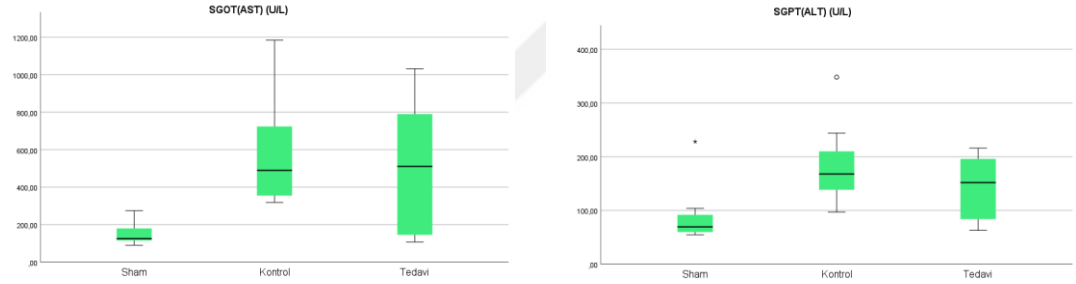
Hepatoselüler hasar testleri kapsamında, serum AST seviyeleri sham grubunda 151,37±61,49, kontrol grubunda 580,25±296,03 ve tedavi grubunda 504,37±354,96 olarak belirlenmiştir. Sham grubunda AST seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,011), ancak sham grubuyla tedavi grubu arasında

anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,06). Kontrol ve tedavi grupları arasında, tedavi grubunda serum AST seviyeleri daha düşük olmasına rağmen anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,889). Serum ALT seviyeleri ise sham grubunda 90,75±57,74, kontrol grubunda 184,75±78,75 ve tedavi grubunda 142,87±61,66 olarak ölçülmüştür. Sham grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuş (p=0,027), ancak sham ve tedavi grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,283). Kontrol ve tedavi grupları arasında tedavi grubunda ALT seviyeleri daha düşük olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,434). **(Tablo 4.2) (Şekil 4.2)**.

Tablo 4.2: AST ve ALT değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p†	p$^{\Delta}$
AST	151,37±61,49	580,25±296,03	504,37±354,96	0,011	0,060	0,889
ALT	90,75±57,74	184,75±78,75	142,87±61,66	0,027	0,283	0,434

AST: Aspartat transaminaz, ALT: Alanin transaminaz p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p$^{\Delta}$: Kontrol-Tedavi, p<0,05



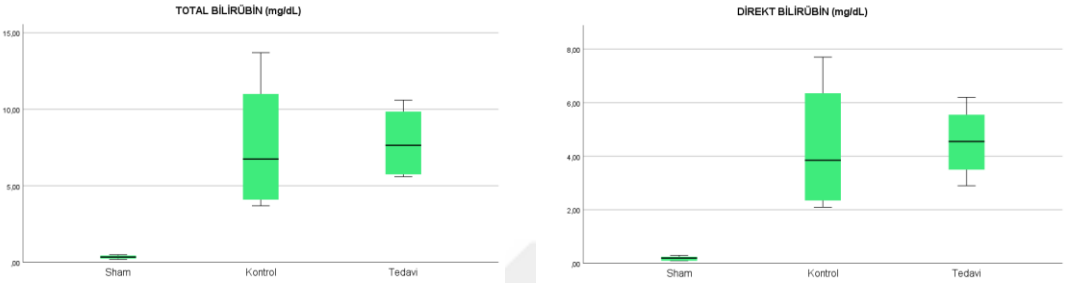
Şekil 4.2: AST ve ALT değerlerine ait grafikler.

Total bilirübin (TB) ve direkt bilirübin (DB) seviyelerinin karşılaştırılması sonucunda, TB seviyeleri sham grubunda 0,35±0,11, kontrol grubunda 7,63±4,06 ve tedavi grubunda 7,83±2,2 olarak ölçülmüştür. Sham grubundaki TB seviyeleri, kontrol ve tedavi gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0,001, p<0,001), ancak kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,563). DB seviyeleri de TB seviyelerine benzer şekilde, sham grubunda 0,18±0,08, kontrol grubunda 4,36±2,30 ve tedavi grubunda 4,53±1,21 olarak tespit edilmiştir. Sham grubu ile kontrol ve tedavi grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuş (p<0,001, p<0,001), ancak kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,600). **(Tablo 4.3) (Şekil 4.3)**.

Tablo 4.3: Serum TB ve DB değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p†	pΔ
TB	0,35±0,11	7,63±4,06	7,83±2,2	<0,001	<0,001	0,563
DB	0,18±0,08	4,36±2,30	4,53±1,21	<0,001	<0,001	0,600

TB: Total bilirübin, DB: Direkt bilirübin p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, pΔ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



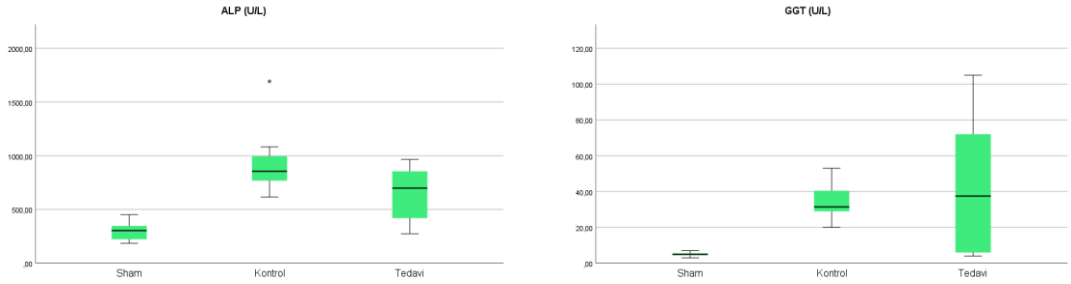
Şekil 4.3: Serum TB ve DB değerlerine ait grafikler.

Biliyer obstrüksiyon testleri kapsamında yapılan serum ALP ölçümleri, sham grubunda 298,37±89,92, kontrol grubunda 943,50±332,16 ve tedavi grubunda 648,62±251,14 olarak tespit edilmiştir. Sham grubundaki ALP seviyeleri, kontrol ve tedavi gruplarına kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0,001, p=0,005), ancak kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,093). GGT seviyeleri değerlendirildiğinde ise, sham grubunda 5,0±1,19, kontrol grubunda 34,37±10,16 ve tedavi grubunda 42,50±37,77 olarak ölçülmüştür. Sham grubu ile kontrol ve tedavi grupları arasındaki fark anlamlı bulunmuş (p<0,001, p=0,017), ancak kontrol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,916). **(Tablo 4.4) (Şekil 4.4)**.

Tablo 4.4: ALP ve GGT değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	**Kontrol**	**Tedavi**	**p***	**p†**	**pΔ**
ALP	298,37±89,92	943,50±332,16	648,62±251,14	<0,001	0,005	0,093
GGT	5,00±1,19	34,37±10,16	42,50±37,77	<0,001	0,017	0,916

ALP: Alkalen fosfataz, GGT: Gama-glutamil transferaz p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, pΔ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



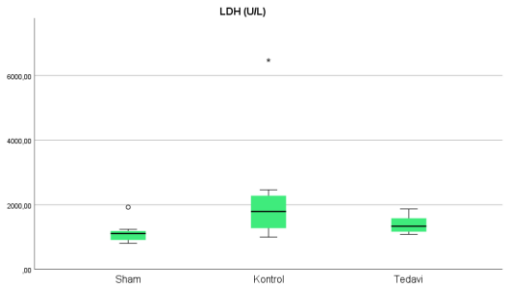
Şekil 4.4: ALP ve GGT değerlerine ait grafikler.

Serum LDH değerleri, sham grubunda 1144,87±347,23, kontrol grubunda 2271,87±1765,81 ve tedavi grubunda 1391,37±276,20 olarak tespit edilmiştir. LDH seviyeleri, sham grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,021), ancak tedavi grubuna kıyasla anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,066). Kontrol ve tedavi grupları arasındaki değerlendirmede ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,208).**(Tablo 4.5) (Şekil 4.5)**.

Tablo 4.5: LDH değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	**Kontrol**	**Tedavi**	**p***	**p†**	**p$^{\Delta}$**
LDH	1144,87±347,23	2271,87±1765,81	1391,37±276,20	0,021	0,066	0,208

LDH: Laktat dehidrojenaz, p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p$^{\Delta}$: Kontrol-Tedavi, p<0,05



Şekil 4.5: LDH değerlerine ait grafik.

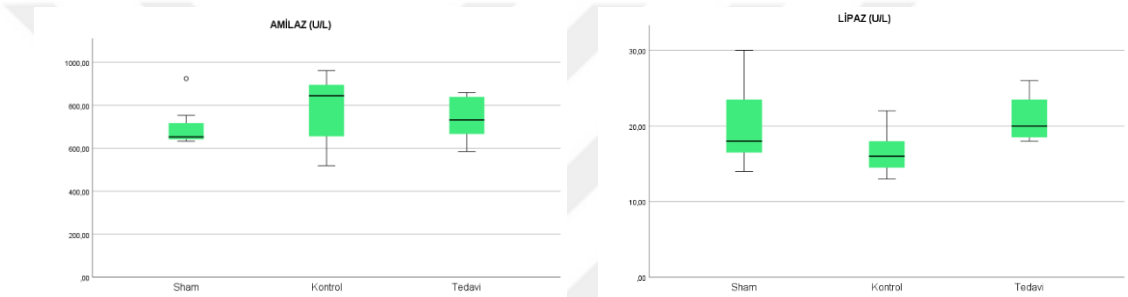
Serum amilaz ve lipaz değerlerinin karşılaştırılmasında, amilaz seviyeleri sham grubunda 697,37±99,38, kontrol grubunda 783,62±158,12 ve tedavi grubunda 739,75±102,08 olarak belirlenmiştir. Üç grup arasında amilaz seviyeleri açısından

anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,294, p=0,462, p=0,401). Lipaz seviyeleri ise sham grubunda 20,0±5,47, kontrol grubunda 16,5±2,82 ve tedavi grubunda 21±3,02 olarak ölçülmüştür. Üç grup arasında lipaz seviyeleri açısından da anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,205, p=0,870, p=0,082). **(Tablo 4.6) (Şekil 4.6)**.

Tablo 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p†	p$^{\Delta}$
Amilaz	697,37±99,38	783,62±158,12	739,75±102,08	0,294	0,462	0,401
Lipaz	20,00±5,47	16,50±2,82	21±3,02	0,205	0,870	0,082

p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p$^{\Delta}$: Kontrol-Tedavi, p<0,05



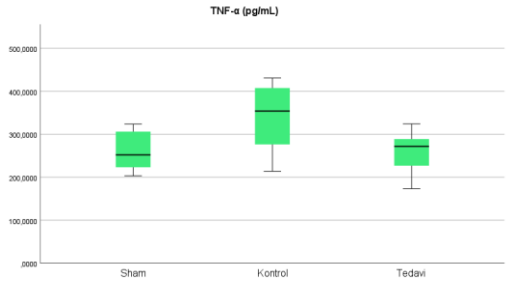
Şekil 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerine ait grafikler.

Doku inflamasyon parametresi olarak TNF-α seviyeleri değerlendirildiğinde, sham grubunda ortalama değer 261,23±45,63, kontrol grubunda 340±79,10 ve tedavi grubunda 259,06±48,67 olarak bulunmuştur. Sham grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmışken (p=0,039), tedavi grubuyla karşılaştırılmasında anlamlı bir fark görülmemiştir (p=0,997). Kontrol ve tedavi gruplarının karşılaştırılmasında ise, TNF-α seviyesinin tedavi grubunda daha düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,034). **(Tablo 4.7) (Şekil 4.7).**

Tablo 4.7: TNF-α değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p†	p$^{\Delta}$
TNF-α	261,23±45,63	340,01±79,10	259,06±48,67	0,039	0,997	0,034

TNF-α: Tumor Necrosis Factor- α, p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p$^{\Delta}$: Kontrol-Tedavi, p<0,05



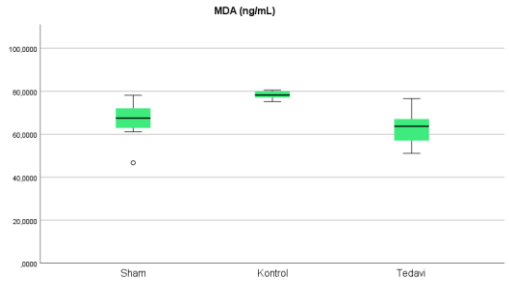
Şekil 4.7: TNF-α değerlerine ait grafik.

Oksidatif stres parametrelerinin değerlendirilmesi sonucunda, MDA değerleri sham grubunda 66,24±9,53, kontrol grubunda 78,29±1,84 ve tedavi grubunda 62,93±8,46 olarak bulunmuştur. Sham grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark gözlenmişken (p=0,011), tedavi grubuyla karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,652). Kontrol grubu ve tedavi grubu arasında yapılan karşılaştırmada ise, tedavi grubunun ortalama MDA değerindeki düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,001). **(Tablo 4.8) (Şekil 4.8).**

Tablo 4.8: MDA değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	**Kontrol**	**Tedavi**	**p***	**p†**	**pΔ**
MDA	66,24±9,53	78,29±1,84	62,93±8,46	0,011	0,652	0,001

MDA: Malondialdehit, p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, pΔ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



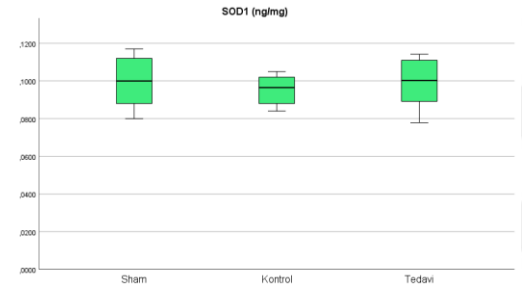
Şekil 4.8: MDA değerlerine ait grafik.

Doku SOD1 değerleri, sham grubunda 0,099±0,013, kontrol grubunda 0,095±0,007 ve tedavi grubunda 0,099±0,013 olarak tespit edilmiştir. Üç grup arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,719, p=0,997, p=0,773). **(Tablo 4.9) (Şekil 4.9).**

Tablo 4.9: SOD1 değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	$p^{\dagger}$	p^{Δ}
SOD1	0,099±0,013	0,095±0,007	0,099±0,013	0,719	0,997	0,773

SOD1: Süperoksit dismutaz, p*: Sham-Kontrol, $p^{\dagger}$: Sham-Tedavi, p^{Δ}: Kontrol-Tedavi, p<0,05



Şekil 4.9: SOD1 değerlerine ait grafik.

Doku GPx değerleri, sham grubunda 91,83±9,16, kontrol grubunda 84,01±4,62 ve tedavi grubunda 93,43±8,76 olarak belirlenmiştir. Üç grup arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,135, p=0,912, p=0,062).**(Tablo 4.10) (Şekil 4.10)**.

Tablo 4.10: GPx değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	$p^{\dagger}$	p^{Δ}
GPx	91,83±9,16	84,01±4,62	93,43±8,76	0,135	0,912	0,062

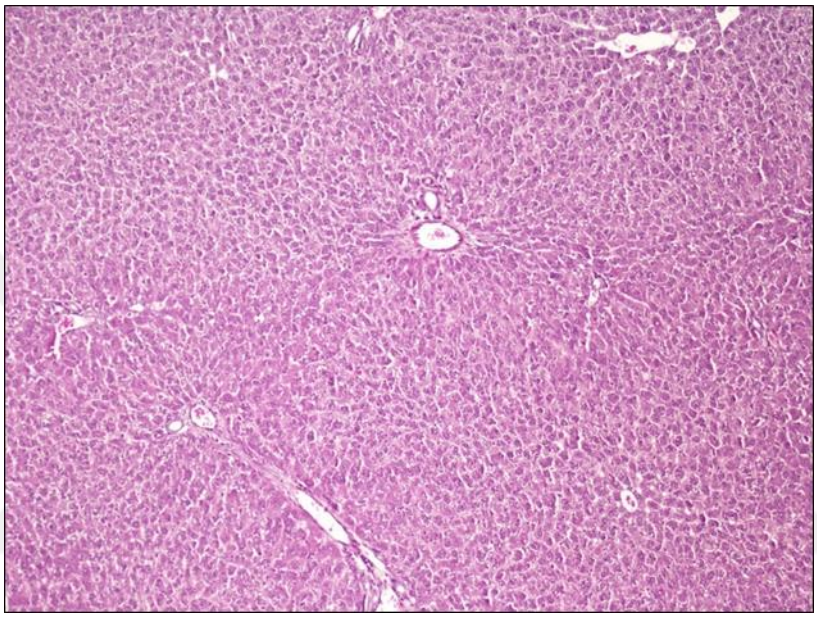
GPx: Glutatyon peroksidaz, p*: Sham-Kontrol, $p^{\dagger}$: Sham-Tedavi, p^{Δ}: Kontrol-Tedavi, p<0,05



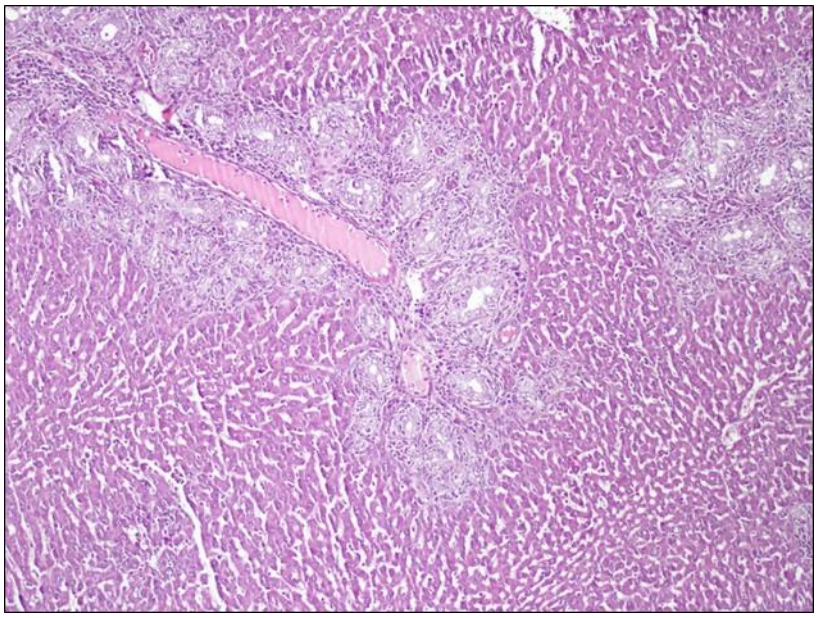
Şekil 4.10: GPx değerlerine ait grafik.

4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Sham grubunda portal inflamasyon izlenmemiş olup kontrol grubunda orta derecede inflamasyon (p=0,004) ve tedavi grubunda hafif derece inflamasyon (p=0,02) izlenmesinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiş olup tedavi grubunda inflamasyon derecesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (**Şekil 4.11, 4.12).**

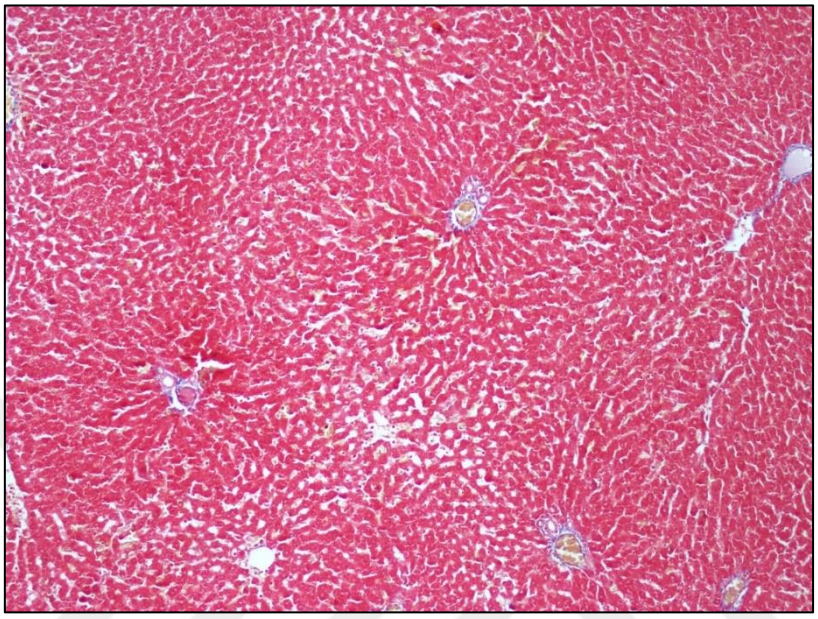


Şekil 4.11: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi (x100, Hemotoksilen- eozin)

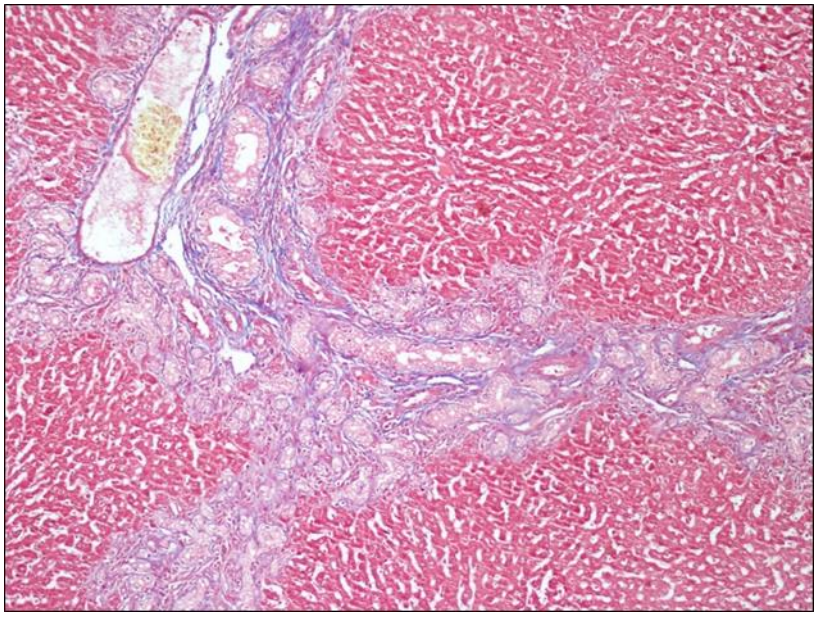


Şekil 4.12: Kontrol grubunda hasarlı portal alan ve belirgin duktüler proliferasyonun görüntüsü (x200, Hemotoksilen- eozin)

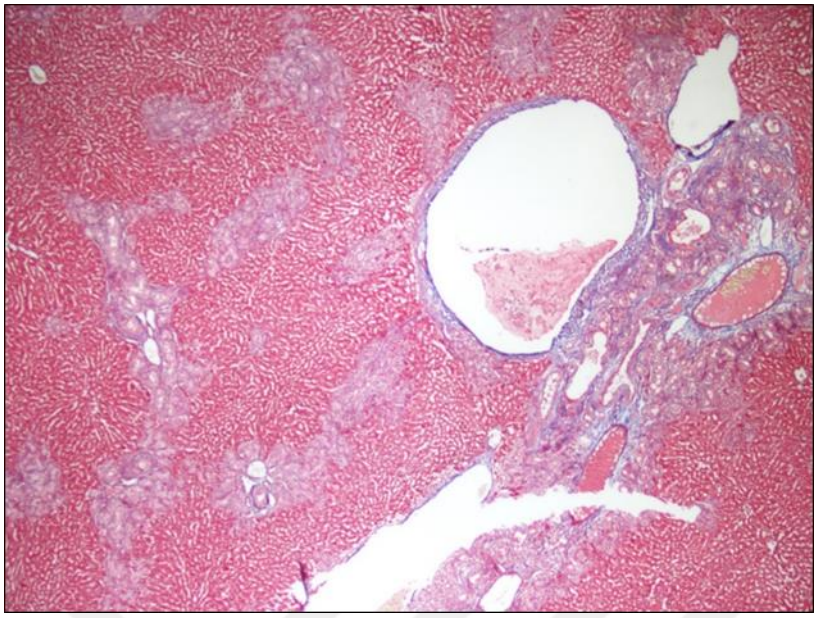
Sham grubunda karaciğer dokusunda fibrozis izlenmemiş, kontrol grubundaki sıçanların çoğunda porto-portal köprüleşme saptanmış ve tedavi grubunun fibrozis derecesi ile karşılaştırıldığında tedavi grubunda daha az fibrozis görülmüş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır (p=0,027) **(Şekil 4.13-16).**



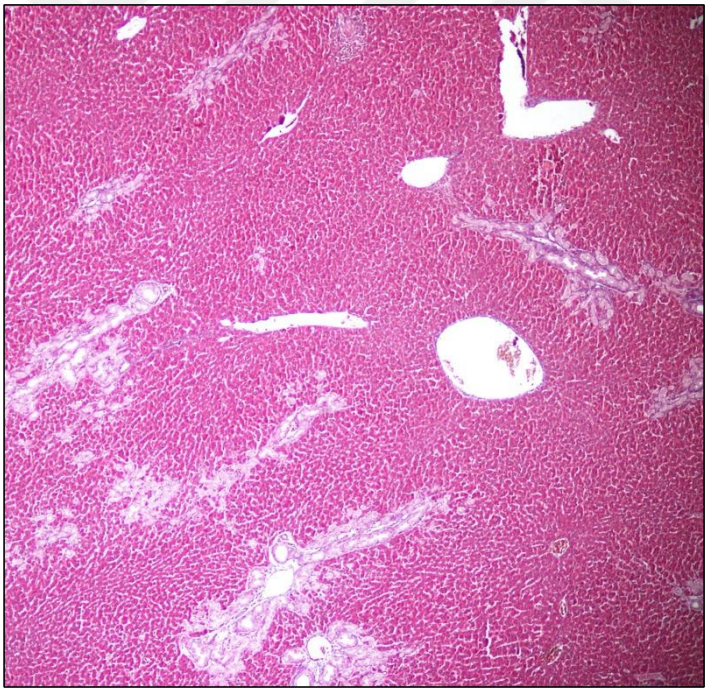
Şekil 4.13: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi (x100, Masson's Trichrome)



Şekil 4.14: Kontrol grubunda hasarlı portal alanda artmış duktüler proliferasyon ve çevresindeki fibrozisin görüntüsü (x200, Masson's Trichrome)

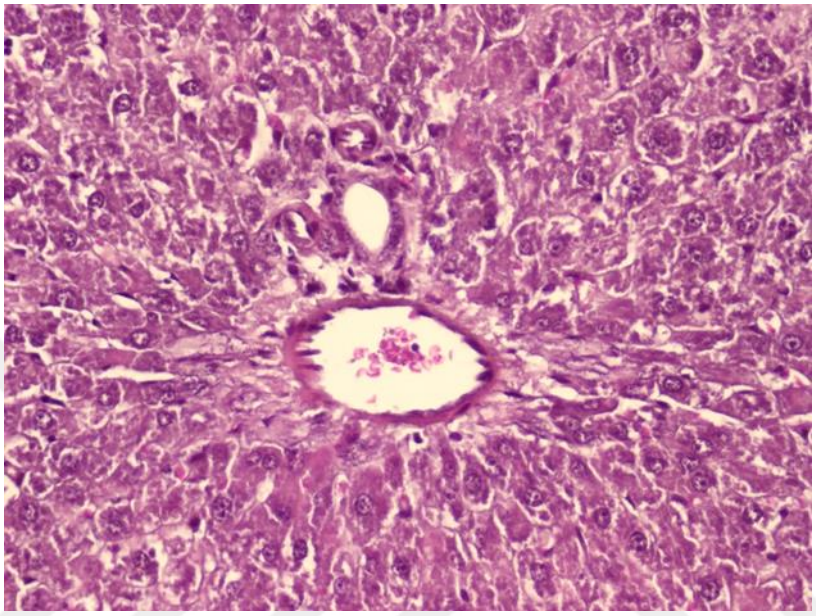


Şekil 4.15: Kontrol grubunda hasarlı portal alanlar arasındaki köprüleşme fibrozsinin görüntüsü (x100, Masson's Trichrome)

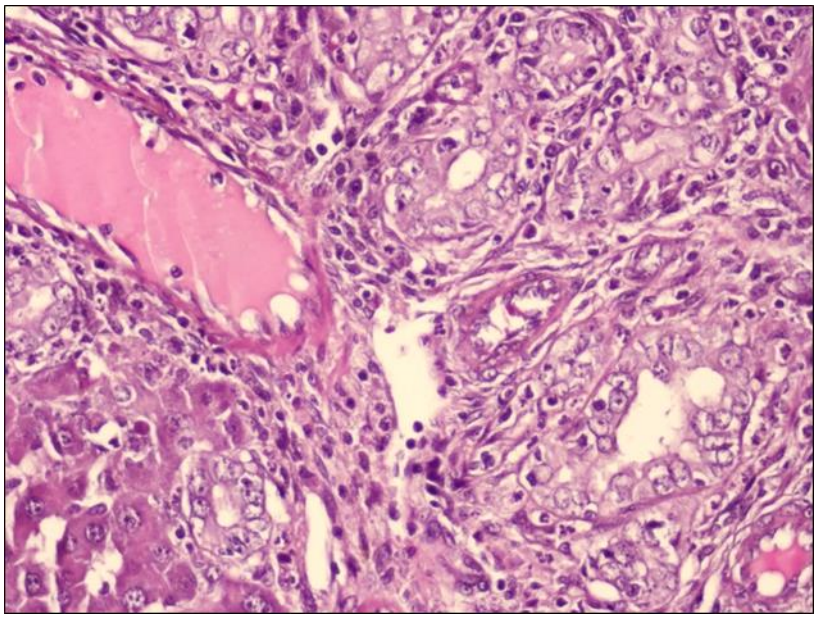


Şekil 4.16: Tedavi grubunda portoportal köprüleşme ve duktüler proliferasyon görünümü (x40, Masson's Trichrome)

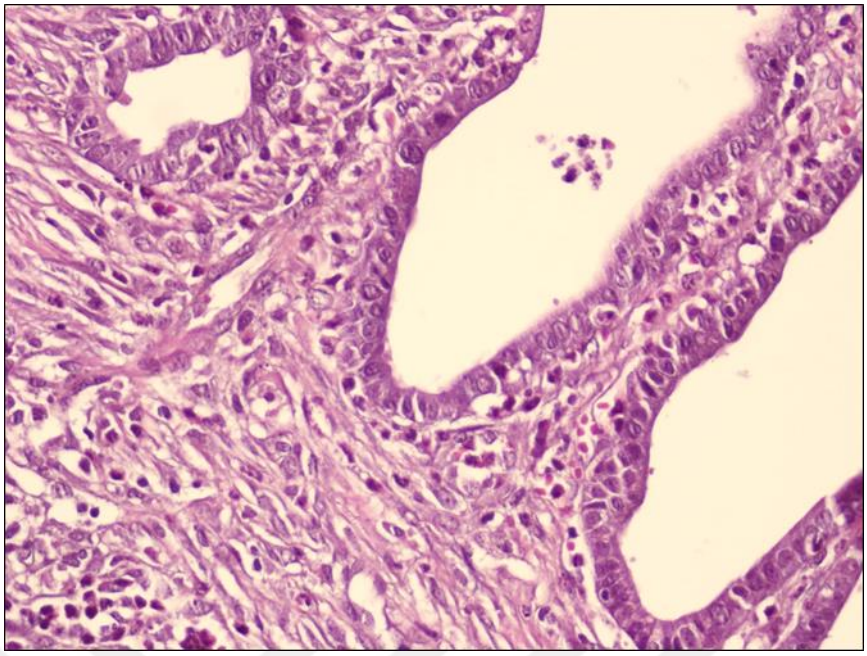
Sham grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon bulgusu gözlenmemiştir. Kontrol grubunda şiddetli derecede duktus hasarı ve duktüler proliferasyon ($p<0,001$), tedavi grubunda ise orta ve şiddetli derecede safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon ($p=0,002$) izlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur **(Şekil 4.12, 4.17-24).**



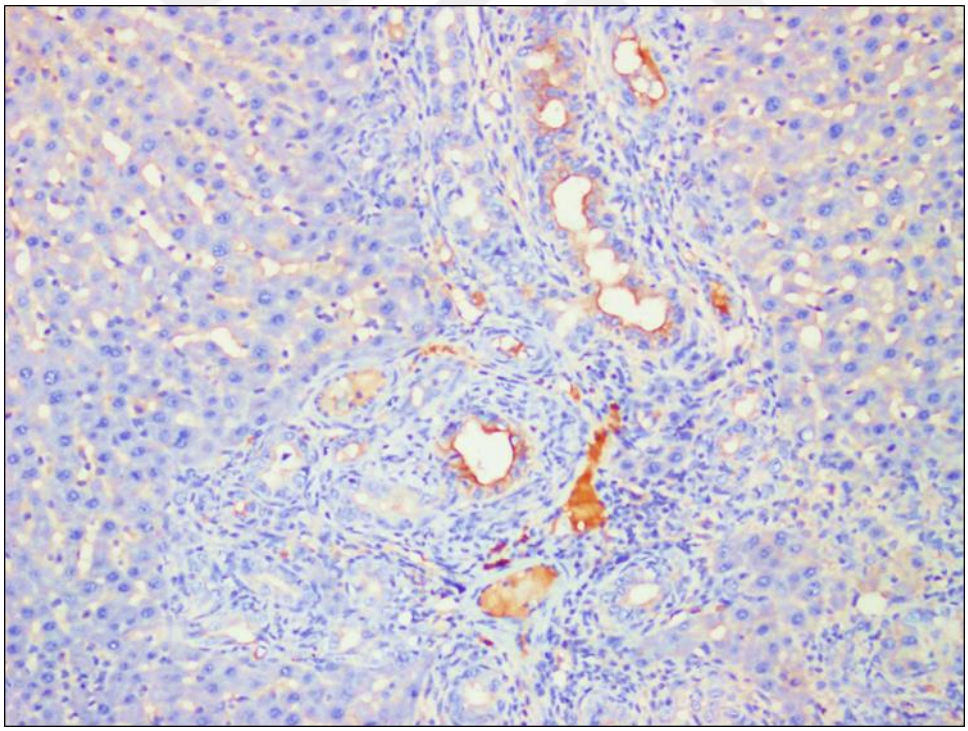
Şekil 4.17: Sham grubunda normal izlenen portal alanda safra duktusunun görüntüsü (x400, Hemotoksilen- eozin)



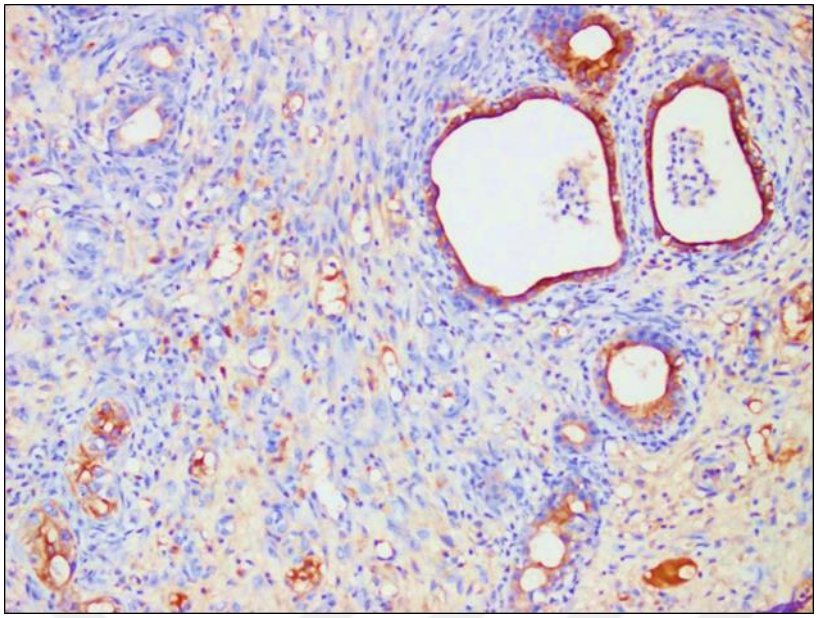
Şekil 4.18: Kontrol grubunda belirgin olarak görülen safra duktus hasarı (x400, Hemotoksilen- eozin)



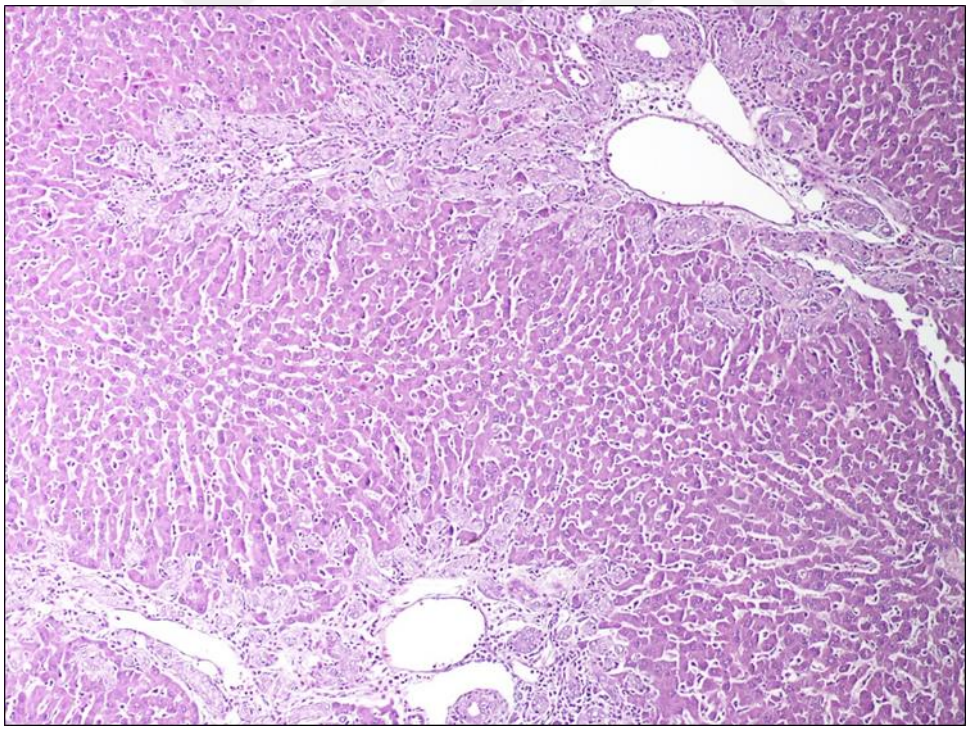
Şekil 4.19: Kontrol grubunda duktulit görüntüsü; hasarlı safra duktuslarında lenfosit ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu (x400, Hemotoksilen- eozin)



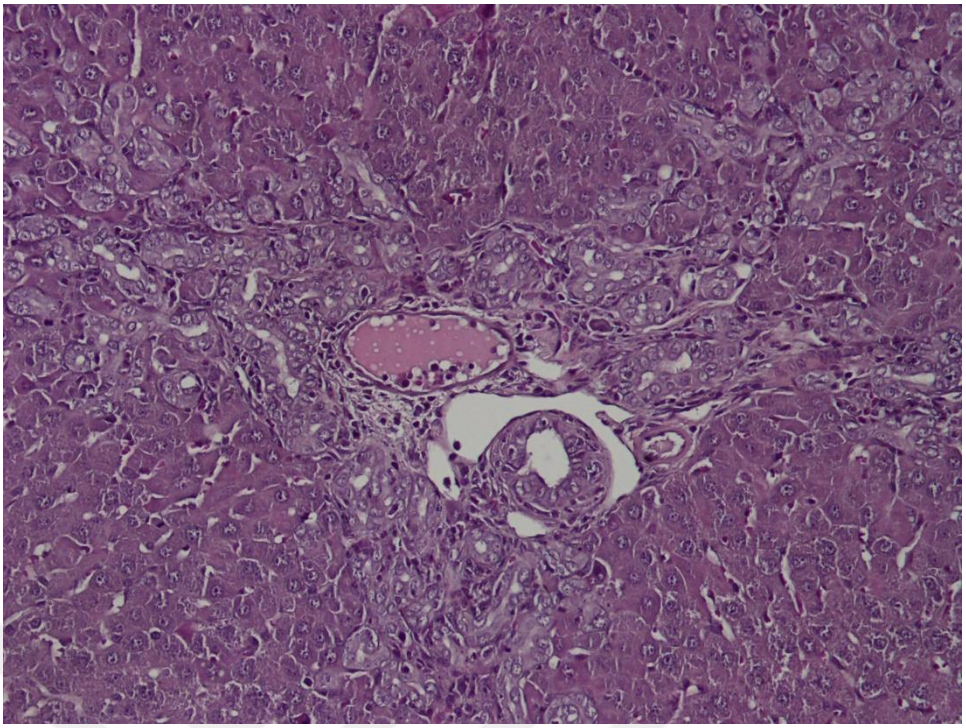
Şekil 4.20: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-7 (+)liği (x200, CK-7)

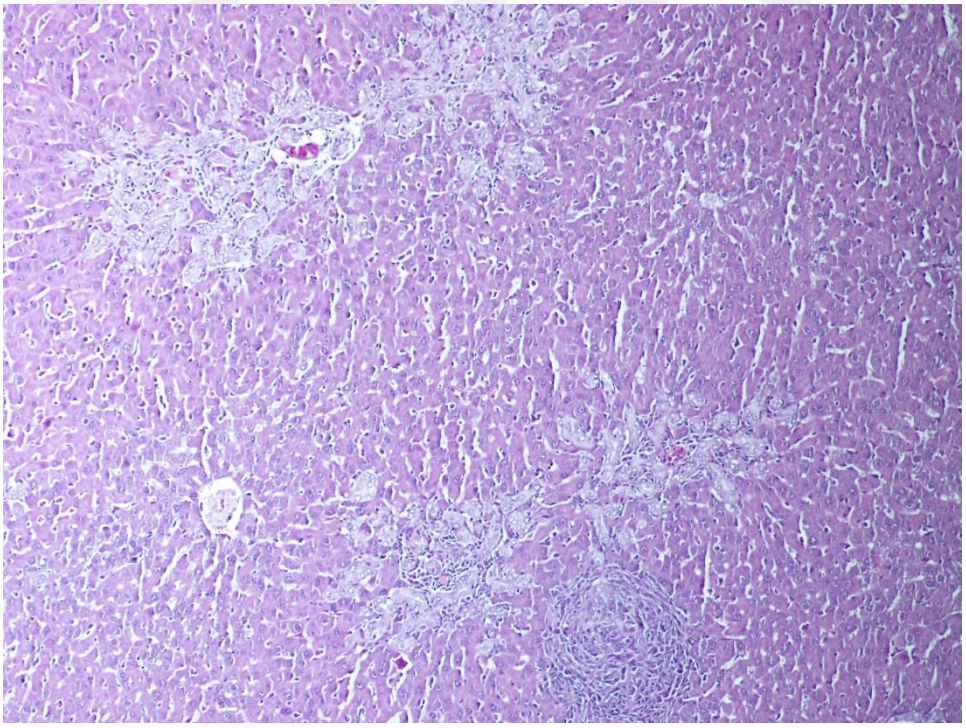


Şekil 4.21: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-19 (+) liği (x200, CK-19)



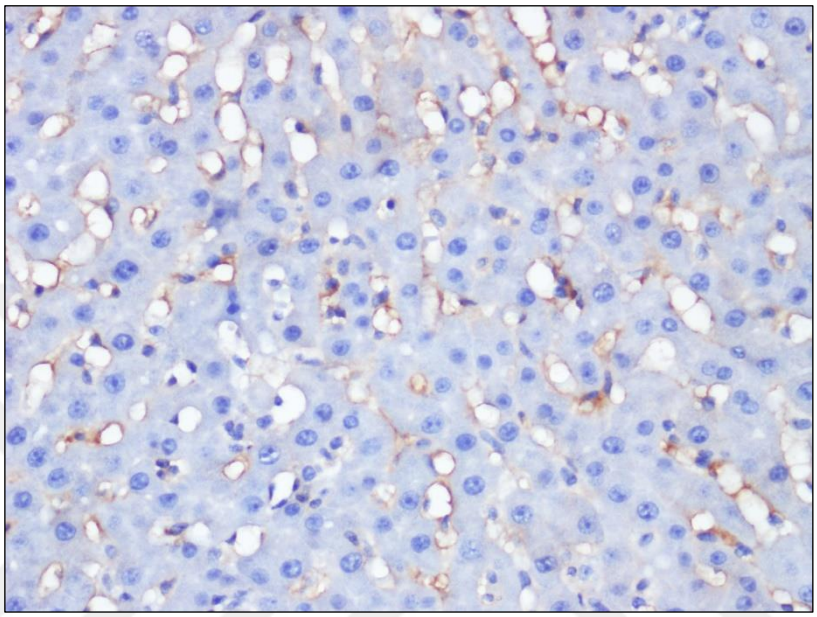
Şekil 4.22: Tedavi grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon; şiddetli duktus hasarı ve duktüler proliferasyon alanı (x100, Hemotoksilen- eozin)





Şekil 4.23, 4.24: Tedavi grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon;orta şiddetli duktus hasarı ve duktüler proliferasyon alanı (x100, Hemotoksilen- eozin)

Kolestaz dereceleri değerlendirildiğinde sham grubunda kolestaz bulgusu görülmemiştir. Kontrol grubunda şiddetli derece kolestaz izlenmiş olup (p<0,001), tedavi grubunda orta ve şiddetli derecede kolestaz izlenmiş (p=0,002) bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır **(Şekil 4.25)**.

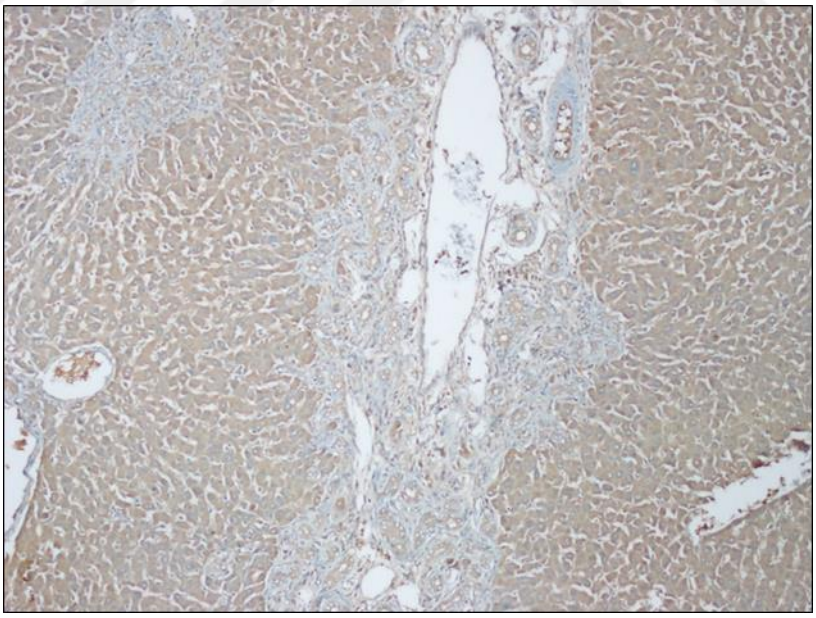


Şekil 4.25: Kanaliküler safra tıkaçlarının görüntüsü (x400, CK-19)

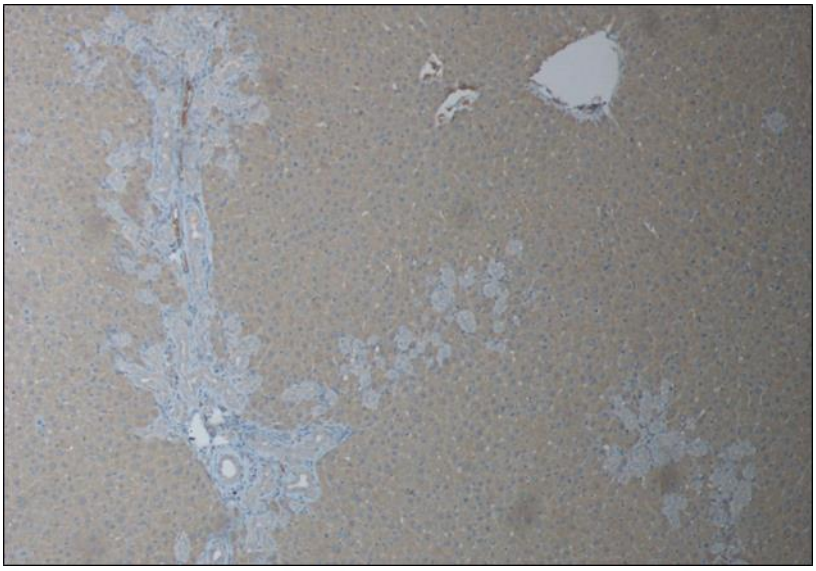
HGF değerlendirilmesinde sham grubunda HGF ile hafif derecede boyanma izlenmiştir (p<0,001). Kontrol grubunda HGF ile şiddetli boyanma görülmüş olup tedavi grubuna göre daha fazla izlenmiştir, iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,001). **(Şekil 4.26-28).**



Şekil 4.26: Sham grubunda HGF ekspresyonu, santral ven çevresinde yoğunlaşmış HGF ekspresyonunun görüntüsü (x100, HGF)



Şekil 4.27: Kontrol grubunda HGF ekspresyonu; hasarlı portal alanda ve santral ven çevresi parankimin tamamında gözlenen HGF ekspresyonu, safra duktus eptelinde de over-ekspresyon izlenmekte (x100, HGF)



Şekil 4.28: Tedavi grubunda HGF ekspresyonu; santral ven çevresi HGF ekspresyonu izlenirken, hafif hasarlı portal alanda ekspresyon görülmemekte (x100, HGF)

5. TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı (TS) safra taşı gibi iyi huylu bir durumdan kaynaklanabileceği gibi, inflamasyon veya safra yollarıyla ilişkili tümörler gibi nedenlerle de oluşabilir (1).

Tıkanma sarılığı sırasında gelişen patolojik süreçlerin temelinde, bağışıklık sistemi tarafından üretilen sitokinler yer almaktadır. Bu sitokinler, sadece karaciğer üzerinde değil, aynı zamanda diğer organ sistemleri üzerinde de olumsuz etkilere sahiptir. Artan sitokin seviyeleri ve endotoksinler, reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu artırarak hücresel düzeyde hasara yol açmaktadır (93,94).

Tıkanma sarılığının fizyopatolojisinde iki önemli durum öne çıkmaktadır: birincisi, bilirübin ve safra tuzlarının birikimi nedeniyle ortaya çıkan toksik etkiler, ikincisi ise antioksidan-oksidan mekanizmalarındaki dengenin bozulması ve lipid peroksidasyonunun artışıdır (95). Literatür incelendiğinde, tıkanma sarılığına bağlı patolojik süreçlere karşı çeşitli eksojen maddelerin kullanıldığı ve bunların etkili olduğu gösterilmiştir.

Literatür taraması yapıldığında ozon terapisinin farklı sistemik hastalıklar için kullanıldığı görülmekle beraber, tıkanma sarılığında kullanımı konusundaki veriler oldukça sınırlıdır. 1999 yılında Peralta C. ve ark.'larının yaptığı çalışmada, hepatik iskemi – reperfüzyon modelinde intrarektal ozon gazı verilmesini (2), 2004 yılında Gonzales R. ve ark.'larının çalışmasında sisplatine bağlı akut nefrotoksite oluşumunda intrarektal ozon gazı verilmesinin koruyucu etkide pozitif yönde katkısı olduğu gösterilmiş, biyokimyasal parametreler üzerinden karşılaştırılmıştır (3).

Karaciğerin sentez fonksiyonunu değerlendirmede serum total protein ve albümin değerleri önemli parametrelerdir. Kocaman ve ark.' nın yaptığı bir çalışmada, safra yolu obstrüksiyonu oluşturulan ratlarda gruplar arasında total protein seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (96). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, kontrol ve tedavi grupları arasında serum total protein ve albümin seviyelerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tıkanma sarılığı modeli oluşturulan sıçanlarda, ilk hasarlanan organ karaciğerdir ve bu hasarın belirlenmesinde AST ve ALT ölçümleri yaygın olarak kullanılmaktadır. AST, beyinde, böbreklerde ve kalp kasında da bulunduğundan, ALT kadar karaciğere özgü bir belirteç değildir (97). Bununla birlikte, karaciğer hasarında hem ALT hem de AST seviyelerinde artış gözlenir (98). Çalışmamızda, kontrol ve tedavi gruplarında AST ve ALT değerlerinin sham grubuna göre anlamlı derecede arttığı görülmüş ve bu da oluşturduğumuz tıkanma sarılığı modelinin karaciğerde hasara neden olduğunu göstermektedir. Gül H. ve ark.' nın yüksek doz asetaminofen verilen sıçanlarda intraperitoneal ozon tedavisinin oksidatif stresi azaltarak AST ve ALT değerlerini düşürdüğünü belirlemişlerdir (99). Ayrıca, Ajamieh ve ark.' nın hepatik iskemi-reperfüzyon modelinde ozon tedavisinin nitrik oksit sentetaz (NOS) ekspresyonu sonucu NO salınımını artırarak AST ve ALT'yi düşürdüğünü ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek karaciğer hasarını önlediğini bulmuşlardır (100). Bizim çalışmamızda ise, tedavi grubunda AST ve ALT seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Birçok deneysel sarılık modelinde, ana safra kanalının bağlanması sonrası total ve direkt bilirübin düzeylerindeki artış net bir şekilde gösterilmiştir (101,102). Çalışmamızda da beklendiği üzere, mekanik olarak oluşturulan sarılık modelinde, ozon tedavisinin kontrol ve tedavi grupları arasında bilirübin düzeylerinde bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir.

Hücre zarına bağlı bir glikoprotein olan ALP; kemik, karaciğer, bağırsak ve böbrek gibi organlarda bulunur (103). GGT ve LDH de benzer şekilde vücudun farklı organlarında yaygın olarak bulunur. Bu enzimlerin farklı dokularda bulunmaları nedeniyle, birlikte artış göstermeleri hepatobiliyer patolojiler açısından anlamlıdır. Safra epiteli hasara uğradığında ALP ve GGT üretilirken, karaciğer de LDH salgılar (104,105). Çalışmamızda, tedavi ve kontrol grupları arasında ALP, GGT ve LDH seviyeleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Serum amilaz ve lipaz düzeyleri, pankreatik rezervin dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilir. Taniguchi ve arkadaşlarının çalışmasında, tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanlarda pankreatik rezervde azalma gözlenmiş; serum amilaz düzeylerinin ilk üç günde arttığı, ancak 1 ve 4 haftalık dönemdeki takiplerde amilaz

seviyesinin düştüğü belirtilmiştir (106). Bizim deneysel çalışmamızda, serum amilaz düzeyleri kontrol ve tedavi grubunda sham grubuna kıyasla artış göstermiştir. Kontrol grubundaki amilaz seviyesindeki yüksekliğin sakrifikasyon zamanlamasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Lipaz seviyeleri değerlendirildiğinde ise, kontrol grubunda düşüş ve tedavi grubunda artış gözlenmiş; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Ozonun antienflamatuar etkisi çok yönlü olup karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. Ozon, H2O2'ye dönüştüğünde, H2O2 hücre içine girerek NFκB transkripsiyon faktörünü aktive eder ve proenflamatuar sitokinlerin sentezini başlatır. Ancak, inflamatuar hastalıklarda artmış oksidatif stres durumunda, ozonun antienflamatuar etkisi için iki farklı mekanizma öne sürülmektedir. İlk mekanizma, ozonun H2O2'ye dönüşmesiyle artan oksidatif stresin direkt olarak NFκB aktivasyonunu inhibe etmesi; ikinci mekanizma ise ozonun TNF-α ve IL-1β düzeylerini azaltarak NFκB aktivasyonunu inhibe etmesidir. Byun ve ark.' nın çalışmasında, düşük doz H2O2'nin HeLa hücre kültüründe NFκB aktivasyonunu gerçekleştirdiği, ancak yüksek dozların TNF-α ve IL-1 gibi inflamatuar moleküllerle uyarılan NFκB aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (107).

TNF-α ve IL-1 (özellikle IL-1β), enflamasyon süreçlerinde önemli rol oynayan moleküllerdir. Enflamasyonun başlangıcında, lökositlerin dokulara göçü sırasında, endotel yüzeyinde E ve P-selektin sunumunu ve lökosit yüzeyinde bu moleküllere tutunmayı sağlayan integrin sunumunu artırırlar. TNF-α, nötrofillerin bakteriyel endotoksin gibi uyaranlara karşı verdiği yanıtı ve makrofajların mikrobisidal aktivitesini artırır. IL-1 ise fibroblastların kollajen sentezini artırır ve sinovyal hücreler ile diğer mezenkimal hücrelerin çoğalmasını uyarır. Ayrıca, TNF-α ve IL-1, travma veya enfeksiyona bağlı olarak sistemik akut faz yanıtını tetiklerler (108). Chang ve ark.' nın çalışmasında, romatoid artritli hastaların eklemlerinden alınan sinovyal hücrelere in vitro ortamda ozon verilerek TNF-α, IL-1β ve IL-6 üzerindeki etkileri ölçülmüş ve tedavi ile bu değerlerde azalma olduğu saptanmıştır (109). Delgado-Roche ve arkadaşlarının çalışmasında ise, multiple sklerozlu hastalarda sistemik ozon tedavisi uygulandığında, Nrf-2 fosforilasyonu yoluyla kan dolaşımındaki TNF-α ve IL-1β düzeylerinde azalma sağlandığı görülmüştür (110).

Taiwan'da yapılan bir çalışmada, tıkanma sarılığı oluşturulmuş farelerde TNF-α düzeylerinin yükseldiği ve bunun sonucunda oksidatif stresin artarak karaciğer hasarına neden olduğu gösterilmiştir (111). Gültekin ve ark. 'nın deneyinde ise, hepatik I/R hasarı olan sıçanlarda artan serum TNF-α seviyeleri ozon tedavisi ile baskılanmıştır (112). Çalışmamızda, doku TNF-α düzeyleri incelendiğinde tedavi grubundaki ölçüm ortalamasının kontrol ve hatta sham grubundan bile düşük olduğu ve bu farkın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görülmüştür. Bu bulgu, ozonun antienflamatuar etkisini desteklemektedir.

Literatür incelendiğinde, karaciğer üzerinde farklı modellerle oluşturulan oksidatif strese karşı ozon tedavisinin, oksidan-antioksidan parametrelerde (MDA, total antioksidan kapasite, GPx, SOD1 vb.) anlamlı değişiklikler yarattığı görülmüştür (96,99,112). Bizim çalışmamızda da MDA, SOD1 ve GPx düzeyleri incelenmiştir. Ancak, tedavi ve kontrol grupları arasında MDA düzeyleri dışında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Literatürdeki bulgulara paralel olarak, tedavi grubunda MDA seviyeleri azalmış; SOD1 ve GPx seviyelerinde artış gözlemlenmiştir, fakat bu farklar MDA seviyesi haricinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu farkın olmamasının nedeni olarak deney ve tedavi süresinin planlanması ile gruplardaki en yüksek ve en düşük değerlerin etkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda, kolestaza bağlı bakır birikimini göstermek amacıyla rodamin ve orcein ile boyama yapılmış, ancak kontrol ve tedavi grubundaki hiçbir deney hayvanının karaciğer dokusunda anlamlı bir boyanma gözlenmemiştir. Bu durumun nedeni olarak, bakır birikiminin kolestaza bağlı karaciğer hasarında uzun vadede ortaya çıkması ve deney süresinin bu birikimi göstermek için yeterince uzun olmaması düşünülmektedir.

Son kanıtlar, büyüme hormonunun karaciğer yenilenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Kısmi hepatektomi yapılan farelerde indüklenen karaciğer yenilenmesinde, karaciğere özgü IGF tip 1 reseptörü knockout'u, erkeklerde hepatosit proliferasyonunda belirgin bir azalmaya yol açmıştır (114). TGF-beta 1, karaciğer hücresi yenilenmesinde ve atipik safra duktusu proliferasyonunda, hızla ilerleyen atipik safra duktusu proliferasyonu alanlarında rol oynar (115). Serum HGF seviyeleri, serum bilirubin seviyelerinde azalma görülen hastalarda biliyer drenajdan sonra

kademeli olarak azalmıştır (116). Çalışmamızda da ozonun etkinliğini değerlendirmek amacıyla karaciğer dokularında HGF yoğunluğu immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir.

Literatür incelendiğinde, Wolf ve arkadaşlarının çalışmasında normal karaciğer dokusunda HGF immünreaktivitesinin Kuppfer hücrelerinde, santral ven ve portal damarların endotelyal hücrelerinde gözlendiği, ancak portal ven endotelinde gözlenmediği bildirilmiştir (117). Tekkesin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, CCl4 ile indüklenmiş hepatotoksisite modelinde hasarlı karaciğer dokusunda HGF immünreaktivitesinin genel olarak arttığı görülmüştür (118). Bizim çalışmamızda ise, HGF ekspresyonu kontrol grubunda tüm karaciğer parankiminde gözlenmiş ve safra duktus epitelinde aşırı ekspresyon tespit edilmiştir. Tedavi grubunda HGF immünreaktivitesinin kontrol grubuna kıyasla portal alan çevresinde azaldığı bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

Çalışmamızın pozitif katkıları; TS' ye bağlı karaciğer hasarı ve oksidatif strese karşı birçok eksojen madde üzerinde çalışma yapılmış olup yeni bir modalite olan, düşük maliyetli ve sık tekrarlanabilen ozon tedavisinin etkinliğinin araştırıldığı ilk araştırma çalışmamız olmuştur.

Çalışmamızın kısıtlılıkları değerlendirildiğinde; deney hayvanı modeli olarak çalışılması yüzünden ile örneklem grubunun küçük olması nedeniyle bazı istatistiksel değerlendirmeler yeterli olmamıştır. Medikal ozon tedavisinin; teröpötik ve toksik doz aralıklarının, hastalıklara göre değişken olması nedeniyle kişiye özel tedavi protokolleri hazırlanmasında büyük zorluklar ortaya çıkarmaktadır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda ozonun tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarında ALT, AST, LDH ve ALP seviyelerini düşürdüğü gözlendi, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Doku düzeyinde inflamasyonu değerlendirmek amacı ile yapılan TNF-α ölçümlerinde ozon uygulanan tedavi grubunda TNF-α düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Doku oksidatif stres göstergesi olarak MDA düzeyleri tedavi grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Antioksidan parametre olarak SOD1 ve GPx düzeyleri tedavi grubunda kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen anlamlı fark saptanmamıştır.

Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde, tüm değerlendirilen parametrelerde ozon tedavisinin tıkanma sarılığında karaciğer üzerinde koruyucu etkisi olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

Yapılan bu deneysel çalışma, ozon tedavisinin tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarında sistemik ve histopatolojik etkilerinin geniş çaplı değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğine sahiptir.

Ozonun deneysel olarak oluşturulmuş tıkanma sarılığı modelinde tedavi edici etkisi kanıtlanmış olsa bile lokal uygulama ve klinik kullanıma geçişinin sağlanması için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. He Cs, Yue Hy, Xu J, et al. Protective Effects Of Capillary Artemisia Polysaccharide On Oxidative İnjury To The Liver İn Rats With Obstructive Jaundice. *Exp Ther Med*. 2012;4(4):645-648. Doi:10.3892/Etm.2012.666

2. Peralta, C., León, O. S., Xaus, C., Prats, N., Jalil, E. C., Planell, E. S., Puig-Parellada, P., Gelpí, E., & Roselló-Catafau, J. (1999). Protective effect of ozone treatment on the injury associated with hepatic ischemia-reperfusion: antioxidant-prooxidant balance. Free radical research, 31(3), 191–196.

3. González, R., Borrego, A., Zamora, Z., Romay, C., Hernández, F., Menéndez, S., Montero, T., & Rojas, E. (2004). Reversion by ozone treatment of acute nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. Mediators of inflammation, *13*(5-6), 307–312. https://doi.org/10.1080/09629350400008836

4. Thomas William S. Digestive System. In: *Langman's Medical Embryology*. 14th ed. Wolters Kluwer; 2019:230-255.

5. Yıldırım M. Karaciğer. In: *Topografik Anatomi*. 2nd ed. Nobel Tıp Kitabevleri; 2004:251-253.

6. Arıncı K, Elhan A. Karaciğer. In: *Anatomi*. Vol 1. 7th ed. Güneş Tıp Kitabevleri; 2020:265-274.

7. Jamieson GG. Karaciğer Anatomisi. In: *Genel Cerrahi Operasyonlarının Anatomisi*. Nobel Tıp Kitabevleri; 2007:8-22.

8. Graphic 81897 Version 5.0© 2024 UpToDate, Inc. Avaieble from: https://www.uptodate.com/contents/image?csi=c33e58bc-fcb0-4118-822d-771ef7d31ec3&source=contentShare&imageKey=SURG%2F81897.

9. Malarkey DE, Johnson K, Ryan L, Boorman G, Maronpot RR. New Insights into Functional Aspects of Liver Morphology. *Toxicol Pathol*. 2005;33(1):27-34. doi:10.1080/01926230590881826

10. Abdel-Misih SRZ, Bloomston M. Liver Anatomy. *Surgical Clinics of North America*. 2010;90(4):643-653. doi:10.1016/j.suc.2010.04.017

11. Fasel JHD. Portal Venous Territories Within the Human Liver: An Anatomical Reappraisal. *Anat Rec*. 2008;291(6):636-642. doi:10.1002/ar.20658

12. Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Skandalakis PN, Mirilas P. Hepatic surgical anatomy. *Surgical Clinics of North America*. 2004;84(2):413-435. doi:10.1016/j.suc.2003.12.002

13. DeMatteo RP. Surgical and radiologic anatomy of the liver, biliary tract, and pancreas. In: Jarnagin WR, ed. *Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas*. Vol 1. 7th ed. Elseiver Inc; 2023:27-53.

14. Netter F. Abdomen. In: Netter F, ed. *Netter Atlas of Human Anatomy: Classic Regional Anatomy Approach*. 8th ed. Elseiver Inc.; 2023:299-392.

15. Trutmann M, Sasse D. The lymphatics of the liver. *Anat Embryol (Berl)*. 1994;190(3):201-209. doi:10.1007/BF00234299

16. Tiniakos DG, Mathew J, Kittas C, Burt AD. Ontogeny of human intrahepatic innervation. *Virchows Archiv*. 2008;452(4):435-442. doi:10.1007/s00428-007-0569-2

17. Kandilis AN, Papadopoulou IP, Koskinas J, Sotiropoulos G, Tiniakos DG. Liver innervation and hepatic function: new insights. *Journal of Surgical Research*. 2015;194(2):511-519. doi:10.1016/j.jss.2014.12.006

18. Sasse D, Spornitz UM, Piotr Maly I. Liver Architecture. *Enzyme*. 1992;46(1-3):8-32. doi:10.1159/000468776

19. Masia R, Misdraji J. Embryology, Anatomy, Histology, and Developmental Anomalies of the Liver. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Vol 1. 11th ed. Elseiver Inc.; 2021:1129-1134.

20. Poisson J, Lemoinne S, Boulanger C, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*. 2017;66(1):212-227. doi:10.1016/j.jhep.2016.07.009

21. David H, Reinke P. The concept of the "Perisinusoidal Functional Unit" of the liver — importance to pathological processes. *Exp Pathol*. 1987;32(4):193-224. doi:10.1016/S0232-1513(87)80031-2

22. Ohtani O, Ohtani Y. Lymph Circulation in the Liver. *Anat Rec*. 2008;291(6):643-652. doi:10.1002/ar.20681

23. Roskams TA, Theise ND, Balabaud C, et al. Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: Canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology*. 2004;39(6):1739-1745. doi:10.1002/hep.20130

24. Matsumoto T, Kawakami M. The unit-concept of hepatic parenchyma--a re-examination based on angioarchitectural studies. *Acta Pathol Jpn*. 1982;32 Suppl 2:285-314.

25. Suchy FJ, Mack CL. Anatomy, Histology, Embryology, Developmental Anomalies, and Pediatric Disorders of the Biliary Tract. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Vol 1. 11th ed. Elseiver Inc; 2021:973-994.

26. Ober EA, Lemaigre FP. Development of the liver: Insights into organ and tissue morphogenesis. *J Hepatol*. 2018;68(5):1049-1062.

27. Bort R, Signore M, Tremblay K, Barbera JPM, Zaret KS. Hex homeobox gene controls the transition of the endoderm to a pseudostratified, cell emergent epithelium for liver bud development. *Dev Biol*. 2006;290(1):44-56. doi:10.1016/j.ydbio.2005.11.006

28. Tan CEL, Moscoso GJ. The developing human biliary system at the porta hepatis level between 29 days and 8 weeks of gestation: A way to understanding biliary atresia. Part 1. *Pathol Int*. 1994;44(8):587-599. doi:10.1111/j.1440-1827.1994.tb01719.x

29. Tan CEL, Moscoso GJ. The developing human biliary system at the porta hepatis level between 11 and 25 weeks of gestation: A way to understanding biliary atresia. Part 2. *Pathol Int*. 1994;44(8):600-610. doi:10.1111/j.1440-1827.1994.tb01720.x

30. Faa G, Van Eyken P, Roskams T, et al. Expression of cytokeratin 20 in developing rat liver and in experimental models of ductular and oval cell proliferation. *J Hepatol*. 1998;29(4):628-633. doi:10.1016/S0168-8278(98)80158-X

31. Masunari H, Shimada H, Endo I, et al. Surgical anatomy of hepatic hilum with special reference of the plate system and extrahepatic duct. *J Gastrointest Surg*. 2008;12(6):1047-1053. doi:10.1007/S11605-007-0358-X

32. Avisse C, Flament JB, Delattre JF. Ampulla of Vater. Anatomic, embryologic, and surgical aspects. *Surg Clin North Am*. 2000;80(1):201-212. doi:10.1016/S0039-6109(05)70402-3

33. Ellis H. Anatomy of the gallbladder and bile ducts. *Surgery*. 2011;29(12):593-596. doi:10.1016/J.MPSUR.2011.09.011

34. Ramesh Babu CS, Sharma M. Biliary Tract Anatomy and its Relationship with Venous Drainage. *J Clin Exp Hepatol*. 2014;4(Suppl 1):S18. doi:10.1016/J.JCEH.2013.05.002

35. Frierson HF. The Gross Anatomy and Histology of the Gallbladder, Extrahepatic Bile Ducts, Vaterian System, and Minor Papilla. *Am J Surg Pathol*. 1989;13(2):146-162. doi:10.1097/00000478-198902000-00008

36. Evett RD, Higgins JA, Brown AL. The Fine Structure Of Normal Mucosa In Human Gall Bladder. *Gastroenterology*. 1964;47:49-60.

37. Orhan DS. Ratların Anatomi ve Fizyolojisi. In: Çelik A, Gülçiçek OB, eds. *Genel Cerrahide Deneysel Çalışmalar ve Hayvan Modelleri*. Nobel Tıp Kitabevleri; 2021:23-37.

38. Hall JE, Hall ME, eds. Secretory Functions of the Alimentary Tract. In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 14th ed. Elseiver Inc; 2021:807-822.

39. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, eds. Overview of Gastrointestinal Function & Regulation. In: *Ganong's Review of Medical Physiology*. 23rd ed. McGraw-Hill; 2010:429-450.

40. Esteller A. Physiology of bile secretion. *World J Gastroenterol*. 2008;14(37):5641-5649. doi:10.3748/wjg.14.5641

41. Housset C, Chrétien Y, Debray D, Chignard N. Functions of the Gallbladder. In: *Comprehensive Physiology*. Wiley; 2016:1549-1577. doi:10.1002/cphy.c150050

42. Afghani E, Lo SK, Covington PS, Cash BD, Pandol SJ. Sphincter of Oddi Function and Risk Factors for Dysfunction. *Front Nutr*. 2017;4. doi:10.3389/fnut.2017.00001

43. Jazrawi RP. Measurement of gallbladder motor functions: an overview. *Digestive and Liver Disease*. 2003;35:51-55. doi:10.1016/S1590-8658(03)00095-1

44. Pallotta N. Ultrasonography in the assessment of gallbladder motor activity. *Digestive and Liver Disease*. 2003;35:67-69. doi:10.1016/S1590-8658(03)00098-7

45. Jüngst D, Niemeyer A, Müller I, et al. Mucin and phospholipids determine viscosity of gallbladder bile in patients with gallstones. *World J Gastroenterol*. 2001;7(2):203-207. doi:10.3748/wjg.v7.i2.203

46. Pitt HA, Nakeeb A. Bile secretion and pathophysiology of biliary tract obstruction. In: Jarnagin WR, ed. *Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas*. Vol 1. 7th ed. Elseiver Inc; 2023.

47. Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of Bile Acids and Bile Acid Receptors in Metabolic Regulation. *Physiol Rev*. 2009;89(1):147-191. doi:10.1152/physrev.00010.2008

48. Hofmann AF, Hagey LR, Krasowski MD. Bile salts of vertebrates: structural variation and possible evolutionary significance. *J Lipid Res*. 2010;51(2):226-246. doi:10.1194/jlr.R000042

49. Poša M, Sebenji A. Determination of number-average aggregation numbers of bile salts micelles with a special emphasis on their oxo derivatives—The effect of the steroid skeleton. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2014;1840(3):1072-1082. doi:10.1016/j.bbagen.2013.11.008

50. Hall JE, Hall ME, eds. Digestion and Absorption in the Gastrointestinal Tract. In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Elseiver Inc; 2021:823-832.

51. Hofmann AF, Hagey LR. Bile Acids: Chemistry, Pathochemistry, Biology, Pathobiology, and Therapeutics. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008;65(16):2461-2483. doi:10.1007/s00018-008-7568-6

52. Dowling RH. Review: pathogenesis of gallstones. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000;14(s2):39-47. doi:10.1046/j.1365-2036.2000.014s2039.x

53. Clinical Chemistry and Physiology of Bilirubin. *Semin Liver Dis*. 1994;14(04):346-351. doi:10.1055/s-2007-1007326

54. Hansen TWR, Wong RJ, Stevenson DK. Molecular Physiology and Pathophysiology of Bilirubin Handling by the Blood, Liver, Intestine, and Brain in the Newborn. *Physiol Rev*. 2020;100(3):1291-1346. doi:10.1152/physrev.00004.2019

55. Hall JE, Hall ME, eds. The Liver. In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 14th ed. Elseiver Inc.; 2021:871-876.

56. Nocentini A, Bonardi A, Pratesi S, Gratteri P, Dani C, Supuran CT. Pharmaceutical strategies for preventing toxicity and promoting antioxidant and anti-inflammatory actions of bilirubin. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2022;37(1):487-501. doi:10.1080/14756366.2021.2020773

57. Lo RC lam, Chan KK shuen, Chok KS ho, Ng IO lin. Liver allograft biopsies with histological cholestasis: a clinicopathological study of 254 cases from a single centre. *J Clin Pathol*. 2018;71(1):72-78. doi:10.1136/jclinpath-2017-204334

58. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med*. 2000;21(3):49-98. doi:10.1016/S0098-2997(00)00004-2

59. Ortiz C, Schierwagen R, Schaefer L, Klein S, Trepat X, Trebicka J. Extracellular Matrix Remodeling in Chronic Liver Disease. *Curr Tissue Microenviron Rep*. 2021;2(3):41-52. doi:10.1007/s43152-021-00030-3

60. Scott-Conner CEH, Grogan JB. The Pathophysiology of Biliary Obstruction and Its Effect on Phagocytic and Immune Function. *Journal of Surgical Research*. 1994;57(2):316-336. doi:10.1006/jsre.1994.1151

61. O'Connor MJ. Mechanical biliary obstruction. A review of the multisystemic consequences of obstructive jaundice and their impact on perioperative morbidity and mortality. *Am Surg*. 1985;51(5):245-251.

62. Alrehaili BD, Lee M, Takahashi S, et al. Bile acid conjugation deficiency causes hypercholanemia, hyperphagia, islet dysfunction, and gut dysbiosis in mice. *Hepatol Commun*. 2022;6(10):2765-2780. doi:10.1002/hep4.2041

63. Pavlidis ET, Pavlidis TE. Pathophysiological consequences of obstructive jaundice and perioperative management. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. 2018;17(1):17-21. doi:10.1016/j.hbpd.2018.01.008

64. Vitale GC, Siow Y, Baker PR, Cuschieri A. Reversible bile acid changes in bile duct obstruction and its potential for hepatocellular injury. *J Hepatol*. 1992;14(2-3):151-156. doi:10.1016/0168-8278(92)90151-E

65. Yeom DH, Oh HJ, Son YW, Kim TH. What Are the Risk Factors for Acute Suppurative Cholangitis Caused by Common Bile Duct Stones? *Gut Liver*. 2010;4(3):363-367. doi:10.5009/gnl.2010.4.3.363

66. Takada T, Takikawa H, Sawada N, et al. Cholangio-venous reflux of biliary contents through paracellular pathways between hepatocytes in patients with acute cholangitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2021;28(6):508-514. doi:10.1002/jhbp.937

67. Fraser IA, Krakowka S, Ringler S, Carey LC, Ellison EC. Lymphocyte function in obstructive jaundice. *The American Journal of Surgery*. 1989;157(4):405-409. doi:10.1016/0002-9610(89)90586-2

68. Andersson R, Wang X, Ihse I. The Influence of Abdominal Sepsis on Acute Pancreatitis in Rats. *Pancreas*. 1995;11(4):365-373. doi:10.1097/00006676-199511000-00008

69. J. Kordzaya, Vakhtang T. Goderdzishvili. Bacterial Translocation in Obstructive Jaundice in Rats: Role of Mucosal Lacteals. *The European Journal of Surgery*. 2000;166(5):367-374. doi:10.1080/110241500750008907

70. Bemelmans MH, Greve JW, Gouma DJ, Buurman WA. Increased concentrations of tumour necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors in biliary obstruction in mice; soluble TNF receptors as prognostic factors for mortality. *Gut*. 1996;38(3):447-453. doi:10.1136/gut.38.3.447

71. Gali D, Blendis LM, Bomzon A. Vascular reactivity in reversible experimental obstructive jaundice. *Journal of Surgical Research*. 1987;42(3):242-246. doi:10.1016/0022-4804(87)90140-5

72. Green J, Beyar R, Sideman S, Mordechovitz D, Better OS. The “jaundiced heart”: a possible explanation for postoperative shock in obstructive jaundice. *Surgery*. 1986;100(1):14-20.

73. van Slambrouck CM, Salem F, Meehan SM, Chang A. Bile cast nephropathy is a common pathologic finding for kidney injury associated with severe liver dysfunction. *Kidney Int*. 2013;84(1):192-197. doi:10.1038/ki.2013.78

74. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:1-8.

75. Southorn PA, Powis G. Free Radicals in Medicine. I. Chemical Nature and Biologic Reactions. *Mayo Clin Proc*. 1988;63(4):381-389. doi:10.1016/S0025-6196(12)64861-7

76. Krähenbühl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology*. 1995;22(2):607-612. doi:10.1002/hep.1840220234

77. Karmen A, Wróblewski F, LaDue JS. Transaminase Activity In Human Blood. *Journal of Clinical Investigation*. 1955;34(1):126-133. doi:10.1172/JCI103055

78. Kaplan MM. Alkaline Phosphatase. *Gastroenterology*. 1972;62(3):452-468. doi:10.1016/S0016-5085(72)80154-9

79. Kaplan MM. Serum alkaline phosphatase–another piece is added to the puzzle. *Hepatology*. 1986;6(3):526-528. doi:10.1002/hep.1840060334

80. Ruttenburg AM, Goldbarg JA, Pineda Ep. Serum Gamma-Glutamyl Transpeptidase Activity In Hepatobiliary Pancreatic Disease. *Gastroenterology*. 1963;45:43-48.

81. Borrelli E, Bocci V. The Use of Ozone in Medicine. Ann Med Health Sci Res. 2018;8:117-119

82. Stoker, G. The Surgical Uses of Ozone. Lancet 1916, 188, 712.

83. Sagai M, Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? Med Gas Res. 2011 Dec 20;1:29.

84. Bocci VA, Zanardi I, Travagli V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. J Transl Med. 2011 May 17;9:66.

85. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. J Nat Sci Biol Med. 2011;2:66-70.

86. Gulmen S, Kurtoglu T, Meteoglu I, Kaya S, Okutan H. Ozone therapy as an adjunct to vancomycin enhances bacterial elimination in methicillin resistant Staphylococcus aureus mediastinitis. J Surg Res. 2013;185:64-69.

87. Orakdogen M, Uslu S, Emon ST, Somay H, Meric ZC, Hakan T. The Effect of Ozonthe re Therapy on Experimental Vasospasm in the Rat Femoral Artery. Turk Neurosurg. 2016;26(6):860-865.

88. The International Scientific Committee of Ozone Therapy. Madrid declaration on ozone therapy. 3th edition, 2020.

89. Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. Med Gas Res. 2017 Oct 17;7(3):212-219. doi: 10.4103/2045-9912.215752. PMID: 29152215; PMCID: PMC5674660.

90. Erçetin C. Hepatopankreatobiliyer Deneysel Cerrahi Modelleri. In: Çelik A, Gülçiçek OB, eds. *Genel Cerrahide Deneysel Çalışmalar ve Hayvan Modelleri*. Nobel Tıp Kitablevleri; 2021:159-179.

91. Calkins CM, Bensard DD, Heimbach JK, et al. L-arginine attenuates lipopolysaccharide-induced lung chemokine production. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001;280(3):L400-8. doi:10.1152/ajplung.2001.280.3.L400

92. Hartree EF. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem*. 1972;48(2):422-427. doi:10.1016/0003-2697(72)90094-2

93. Sakrak O, Akpinar M, Bedirli A, Akyurek N, Aritas Y. Short and long-term effects of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage. *Hepatogastroenterology*. 2003;50(53):1542-1546.

94. Kaya O, Koca YS, Barut I, Baspinar S, Sabuncuoglu MZ. L-carnitine reduces acute lung injury in experimental biliary obstruction. *Saudi Med J*. 2015;36(9):1046-1052. doi:10.15537/smj.2015.9.12206

95. Montilla P, Cruz A, Padillo FJ, et al. Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra-hepatic bile duct ligation in rats. *J Pineal Res*. 2001;31(2):138-144. doi:10.1034/j.1600-079x.2001.310207.x

96. Kocaman, H., Erginel, B., Yesil Onder, S., Soysal, F. G., Keskin, E., Celik, A., & Salman, T. (2016). The Role of Ozone Therapy in Hepatic Fibrosis due to Biliary Tract Obstruction. *European Journal of Pediatric Surgery*, 26(2), 133–137.

97. Oh RC, Hustead TR, Ali SM, Pantsari MW. Mildly Elevated Liver Transaminase Levels: Causes and Evaluation. *Am Fam Physician*. 2017;96(11):709-715.

98. Prati D, Taioli E, Zanella A, et al. Updated Definitions of Healthy Ranges for Serum Alanine Aminotransferase Levels. *Ann Intern Med*. 2002;137(1):1. doi:10.7326/0003-4819-137-1-200207020-00006

99. Gul, H., Uysal, B., Cakir, E., Yaman, H., Macit, E., Yildirim, A. O., Eyi, Y. E., Kaldirim, U., Oztas, E., Akgul, E. O., Cayci, T., Ozler, M., Topal, T., Oter, S., Korkmaz, A., Toygar, M., & Demirbag, S. (2012). The protective effects of ozone therapy in a rat model of acetaminophen-induced liver injury. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(3), 547-554.

100. Ajamieh HH, Menéndez S, Martínez-Sánchez G, Candelario-Jalil E, Re L, Giuliani A, et al. (2004): Effects of ozone oxidative preconditioning on nitric oxide generation and cellular redox balance in a rat model of hepatic ischaemia reperfusion. Liver Int; 24(1): 55-62.

101. Sada E, Tashiro S, Morino Y. The significance of serum mitochondrial aspartate aminotransferase activity in obstructive jaundice: Experimental and clinical studies. *Jpn J Surg*. 1990;20(4):392-405. doi:10.1007/BF02470822

102. Shibayama Y. Endotoxaemia and hepatic injury in obstructive jaundice. *J Pathol*. 1989;159(4):335-339. doi:10.1002/path.1711590412

103. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014;29(3):269-278. doi:10.1007/s12291-013-0408-y

104. Leonard TB, Neptun DA, Popp JA. Serum gamma glutamyl transferase as a specific indicator of bile duct lesions in the rat liver. *Am J Pathol*. 1984;116(2):262-269.

105. Pratt D.S.: Liver chemistry and function tests.Feldman M.Friedman L.S.Brandt L.J.Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management.2016.SaundersPhiladelphia:pp. 1243-1253.

106. Taniguchi K, Yamashita A, Mutoh K. Morphological Changes in the Endocrine and Exocrine Pancreas of Rats after Experimental Obstructive Jaundice. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2011;73(2):161-168. doi:10.1292/jvms.10-0318

107. Byun MS, Jeon KI, Choi JW, Shim JY, Jue DM. Dual effect of oxidative stress on NF-kappakB activation in HeLa cells. Exp Mol Med. 2002 Nov 30;34(5):332-9.

108. Inflammation and Repair. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. Robbins Basic Pathology. 10th edition. Pennsylvania:Elsevier; 2018.p57-96

109. Chang JD, Lu HS, Chang YF, Wang D. Ameliorative effect of ozone on cytokine production in mice injected with human rheumatoid arthritis synovial fibroblast cells. Rheumatol Int. 2005 Dec;26(2):142-51.

110. Delgado-Roche L, Riera-Romo M, Mesta F, Hernández-Matos Y, Barrios JM, Martínez-Sánchez G et al. Medical ozone promotes Nrf2 phosphorylation reducing oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in multiple sclerosis patients. Eur J Pharmacol. 2017 Sep 15;811:148-154.

111. Bemelmans MHA, Gouma DJ, Greve JW, Buurman WA. Cytokines tumor necrosis factor and interleukin-6 in experimental biliary obstruction in mice. *Hepatology*. 1992;15(6):1132-1136. doi:10.1002/hep.1840150626

112. Gultekin, F. A., Karadeniz Cakmak, G., Ozel Turkcu, U., Yurdakan, G., Ofluoglu Demir, F. E., & Comert, M. (2013). Effects of ozone oxidative preconditioning on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Journal Name*, pages 242-252.

113. Adali, Y., Eroğlu, H. A., Makav, M., & Findik Guvendi, G. (2019). Efficacy of ozone and selenium therapy for alcoholic liver injury: An experimental model. *In Vivo*, 33(3), 763-769.

114. Desbois-Mouthon C, Wendum D, Cadoret A, Rey C, Leneuve P, Blaise A, Housset C, Tronche F, Le Bouc Y, Holzenberger M (2006) Hepatocyte proliferation during liver regeneration is impaired in mice with liver-specific IGF-1R knockout. FASEB J 20(6):773–775

115. Takiya S, Tagaya T, Takahashi K, Kawashima H, Kamiya M, Fukuzawa Y, Kobayashi S, Fukatsu A, Katoh K, Kakumu S (1995) Role of transforming growth fac- tor beta 1 on hepatic regeneration and apoptosis in liver diseases. J Clin Pathol 48(12):1093–1097

116. Higaki I, Yamazaki O, Matsuyama M, Horii K, Kawai S, Tsukamoto T, Tanaka H, Kubo S, Hirohashi K, Kinoshita H (1999) Serum endothelin-1 and hepatocyte growth factor levels in patients with obstructive jaundice. Hepatogastroenterology 46(27):1599–1602

117. Wolf HK, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Localization of hepatocyte growth factor in human and rat tissues: an immunohistochemical study. *Hepatology*. 1991;14(3):488-494.

118. Tekkesin N, Taga Y, Sav A, Almaata I, Ibrisim D. Induction of HGF and VEGF in hepatic regeneration after hepatotoxin-induced cirrhosis in mice. *Hepatogastroenterology*. 2011;58(107-108):971-979.