

27

TC
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı
MALATYA

ASETİL SALİSİLİK ASİT, α -İNTERFERON
VE VİTAMİN E'NİN TOTAL PARENTERAL
NÜTRİSYON UYGULAMASI SIRASINDA
GELİŞEN HEPATOBİLİYER
DİSFONKSİYON ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Dr Sema UĞURALP

Uzmanlık Tezi

MALATYA-1996

İÇİNDEKİLER

| | SAYFA NO |
|-----------------|----------|
| ÖNSÖZ | 2 |
| GİRİŞ | 3 |
| GENEL BİLGİLER | 4-18 |
| GEREÇ VE YÖNTEM | 19-22 |
| BULGULAR | 23-29 |
| TARTIŞMA | 30-40 |
| SONUÇLAR | 41 |
| ÖZET | 42-43 |
| KAYNAKLAR | 44-51 |

ÖNSÖZ

Günümüzde, özellikle pediatrik yaş grubu hastalarında sıkça başvurduğumuz, mortalite ve morbidite oranlarını önemli derecede düşüren bir tedavi modalitesi olan parantral nütrisyon; öneminin anlaşılmasından sonra, üzerinde yoğun çalışmalar yapılan bir konu haline gelmiştir. TPN uygulaması sırasında "hepatobiliyer disfonksiyon" ortaya çıkabilmektedir. TPN'nin kesilmesini gerektiren bu durumundan korunmak için veya tedavisinde kullanılmak üzere bir takım farmakolojik ajanlar denenmiş ancak yüz güldürücü sonuçlar alınamamıştır. Bu deneysel çalışma ile; TPN sırasında gelişebilecek hepatobiliyer disfonksiyonun önlenmesinde, TPN ile beraber verilen asetilsalisilik asit, α -interferon ve vitamin E'nin etkilerini araştırdık.

Bu çalışmanın sorumlu öğretim üyesi olan, tamamlanması için sabır ve özveriyle yardımlarını esirgemeyen Yrd Doç Dr Mehmet Demircan'a, tüm çalışma süresince her konuda tam desteğini gördüğüm Araş Gör Dr Murat Mutuş'a, yardımlarından dolayı Yrd Doç Dr M Harun Gürsoy'a, biyokimyasal testleri gerçekleştiren İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalından Biyolog Fahri Turan'a, karaciğerdeki histopatolojik değişiklikleri ortaya koyan Patoloji Anabilim Dalından Öğr Gör Dr E İnanç Gürer'e, çalışmanın sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesini yapan Yrd Doç Dr Saim Yoloğlu'na, anlayışlarından dolayı klinikteki değerli öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine, çalışma süresince sabır ve katkılarından dolayı eşime teşekkürlerimi sunarım.

Dr Sema Uğuralp

GİRİŞ

Uzun süreli Total Parenteral Nutrisyon (TPN) uygulaması ile son yıllarda abdominal duvar defekti, intestinal atrezi, nekrotizan enterokolit, kısa barsak sendromu olan yenidoğanların yaşam şansı artmıştır (1). Ancak bu uygulama sırasında gelişebilen "hepatobiliyer disfonksiyon" TPN'un major bir komplikasyonudur (2). Total parenteral nutrisyon uygulanan düşük doğum ağırlıklı bebeklerin %65'inde kolestaz gelişmektedir. Kolestatik sendrom insidansı, TPN süresiyle doğru orantılı olarak artar (3). Kolestaz geliştiğinde TPN'un kesilmesi gerekir. Aksi halde pediatrik hastalarda siroz ve hepatik karsinomaya kadar ilerleyen ve ölümlü sonuçlanan olgular bildirilmiştir (4,5).

Total parenteral nutrisyona bağlı kolestaz gelişimini önlemek için çeşitli farmakolojik maddeler ve/veya nutrisyonel substratlar kullanılarak birçok klinik ve deneysel çalışmanın yapılmış olmasına karşın; TPN'a bağlı kolestazın önlenmesi için kullanılacak bir farmakolojik ajan kesin olarak gösterilememiştir (6-13).

Bu deneysel çalışmada amaç; TPN ile beraber verilen asetilsalisilik asit, α -interferon ve vitamin E' nin TPN uygulaması sırasında gelişebilecek hepatobiliyer disfonksiyon üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

Total Parenteral Nütrisyon

Total parenteral nütrisyon, gastrointestinal sistemin, susama ve acıkma ile ilgili santral regülatuar mekanizmaların devre dışı bırakılarak, hayati fonksiyonların ve anabolik ortamın devamı için hastanın gereksinimi olan su, protein, karbohidrat, lipid, elektrolit, vitamin ve eser element gibi substratların uygun preparatlar halinde periferik veya santral venöz kompartmana verilmesi ile yapılan bir besleme tekniğidir (14). Bu tür beslenmeye ihtiyacı olan hastalar ya enteral yolu kullanamayan (cerrahi gastrointestinal hastalıklar) ya da enteral yolu kullandıkları halde metabolik ihtiyaçlarını bu yolla tam olarak karşılayamayan (yanık) hastalardır. Pediatrik hastalarda TPN indikasyonları Tablo 1'de gösterilmiştir (15,16).

Çocuklarda ilk başarılı TPN uygulaması 1944'de Helfrick ve Abelson tarafından rapor edilmiştir (17,18). TPN'nun modern uygulaması ise; 1960'larda TPN solüsyonlarının Vena Cava Superior'a verilmesi ile başlamıştır (18).

Total parenteral nütrisyon uygulaması ile pediatrik yaş grubu ve özellikle yenidoğanlarda mortalite ve morbidite önemli derecede azalmıştır (19). Diğer bir ifade ile; TPN'un yaygın kullanımı ile gastrointestinal sistemin konjenital ve akkiz lezyonlarının düzeltilmesinde uygulanan cerrahi işlemler sonucundaki mortalite önemli ölçüde azalmıştır (20). Bununla beraber bu yöntem pahalı, invazif ve fizyolojik olmayan bir yöntemdir (19).

Tablo 1. Pediatrik yaş grubunda TPN indikasyonları.

Cerrahi Gastrointestinal Hastalıklar

- Gastroşizis, omfalosel
- Trakeoözefageal fistül
- Multipl intestinal atreziler
- Mekonyum ileus ve Peritonitler
- Malrotasyon ve volvulus
- Enterokolitli Hirschsprung Hastalığı
- Diafragma hernisi, Ekstrakorporeal Membranöz Oksijenasyon (ECMO)

Düşük Doğum Ağırlıklı Bebekler

- Asfiksik bebekler, respiratuvar distres sendromu
- Çok düşük doğum ağırlıklı bebekler

İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

- Crohn hastalığı, Ülseratif Kolit

Bebeklerin İnatçı Diareleri

Kronik İdiopatik İntestinal Psödoobstrüksiyon Sendromları

Kısa Barsak Sendromu

Ağır Akut Alimenter Hastalık

- Pankreatit
- Psödomembranöz kolit
- Nekrotizan enterokolit

Ağır Malabsorbsiyon

- İdiopatik villöz atrofi

Gastrointestinal Fistüller

Hipermetabolik Durumlar

- Ağır yanık ve travma

Renal Yetmezlik

Malignensiler

- Özellikle abdominal irradiasyon alanlar (radyasyon enteriti)
- Ağır bulantı ve intestinal disfonksiyona neden olan kemoterapi

Kemik İliği ve Organ Transplantasyonları

Spesifik Durumlar ve Nadir Hastalıklar

- Anoreksia Nervoza, Kistik fibrozis, kardiak kaşeksi, sepsis, şilotoraks yetmezlik

Bu beslenme yöntemi ile gastrointestinal sistem devre dışı bırakılıp besin maddeleri doğrudan dolaşıma verilirken, aşırı alınan maddelerin kontrolü, diğer maddelerin üretilmesi, aktif şekillerine döndürülmeleri gibi birçok doğal mekanizmalar da ortadan kaldırılmış olur (21).

Prematüre ve hasta yenidoğanların besin ihtiyaçları hakkında yeterli bilgi olmaması, kaynak olarak başvuru olan standart değerlerin normal yenidoğanlardan sağlanmış olması ve bu normların prematür ve hasta yenidoğanlara uygunluk göstermemesi, hesaplanarak verilen miktarın bebek tarafından yeterince kullanılamaması, TPN'un organ sistemleri üzerine olan toksisite nedenlerinin aydınlatılamamış olması ve TPN'nun reçetelendirilme, hazırlanma ve hastaya verilmesi sırasındaki uygulamalar; bebeklerde TPN'a bağlı komplikasyonlara neden olan genel etkenler olarak sıralanabilir (21).

Total parenteral nütrisyon uygulaması sırasında ortaya çıkabilen komplikasyonlar Tablo II'de gösterilmiştir (16).

Tablo II. TPN komplikasyonları.

Kateter komplikasyonları

- Sepsis
- Mekanik komplikasyonlar
 - Pnömotoraks
 - Malpozisyon
 - Hemotoraks
 - Trombozis / Tromboflebit

Sıvı dengesi ile ilgili komplikasyonlar

- Sıvı yüklenmesi / Dehidratasyon

Metabolik komplikasyonlar

- Hipo/Hiperglisemi
- Metabolik asidoz
- Hiperamonyemi
- Azotemi
- Akciğer komplikasyonları
- Hepatobilyer komplikasyonlar*
- Elektrolit bozuklukları
- Vitamin ve eser element eksikliği
- Esansiyel yağ asitleri eksikliği

Hepatobilyer Komplikasyonlar

Total parenteral nütrisyon uygulaması sırasında gelişebilen hepatobilyer disfonksiyon; şiddeti hastanın yaşıyla ilişkili olan, klinik gidişi ve oluşan patolojik değişiklikleri iyi bilinen, ancak etyopatogenezi tam olarak açıklanamamış majör bir problemdir (22). Bu sendromun hasta ve / veya TPN'ye bağlı faktörler nedeniyle oluştuğu, dolayısıyla patogenezinin multifaktöriyel olduğu kabul edilmektedir (Tablo III) (1,2,6,22-26).

Hepatobilyer disfonksiyon TPN uygulanmasından hemen sonra başlayabilir ve erken dönemde klinik ve rutin biyokimyasal bulgu olmayabilir (2). Sheard ve Kleinman'a göre TPN uygulaması sırasında gelişen kolestazın insidansı %7-42 arasındadır ve

doğum ağırlığı azaldıkça insidans dramatik olarak artar (27). Prematür bebeklerde TPN ile ilgili kolestazın daha fazla görülmesinin nedeni immatür hepatik ekskretuar sistemdir. Lester tarafından ilk defa fizyolojik kolestaz görüşü ileri sürülmüştür (25,28). Yapılan çalışmalar immatür organizmada total safra tuzu havuzunun hacminin, safra tuzlarının karaciğere alımının ve intestinal lümeden safra asitlerinin emiliminin az olduğunu göstermiştir (3). Majör gastrointestinal sistem hastalığı olmayan, enteral beslenmeye eğilimli prematürlerde bile TPN'a bağlı kolestaz gelişimi klinik olarak önemli bir problemdir. Bu probleme sahip bebeklerde TPN kesilip oral beslenme başlayınca hepatik disfonksiyon geriye döner. Ancak pediatrik cerrahlar için, gastrointestinal sistem cerrahisi gerektiren yenidoğanlarda uzamış TPN zorunlu olduğundan, TPN'a bağlı kolestaz gelişimi major klinik problem olarak kalır (2). Uzun süreli TPN (3 ay ve üzeri) uygulanan çocukların %43'ünde, erişkinlerin ise %45'inde kolelithiyazis geliştiği bildirilmiştir (6).

Total parenteral nütrisyon uygulanan bebeklerde daha yaygın olarak kolestazis ortaya çıkar, diğer hepatobiliyer bozukluklar fibrozis, mikronodüler siroz, abdominal psödotümör (şişmiş safra kesesi), safra çamuru, hepatosellüler Ca ve kolelithiyazistir. Erişkinlerde ise hepatosellüler hasar (steatozis ve steatonekrozis) dominanttır, daha az olarak sırasıyla kolestazis, fibrozis, mikronodüler siroz, safra çamuru, kolelithiyazis, akalküloz kolesistitler gelişir (25,29).

Tablo III. Total parenteral nütrisyonda hepatobiliyer disfonksiyon patofizyolojisine ait hasta faktörleri ve TPN ile ilgili etkiler.

| Komplikasyon | Hasta Faktörleri | TPN ile ilgili etkiler | |
|--------------------------------------|--|---|--|
| | | Majör | Minör / Tartışmalı |
| Steatozis | -Açlık -Protein-kalori malnütrisyonu -Glukoz intoleransı | -Kalori fazlalığı -Karbohidrat fazlalığı -KH-Nitrojen imbalansı | -EYA eksikliği -Karnitin eksikliği -İlaç oksidasyonunda azalma -Diyetsel koruyucu faktörlerin yokluğu -L-Glutamin eksikliği -Lipid fazlalığı |
| Çocuklarda Kolestazis | -İmmatür biliyer sekr. sistem -Oral alımın yokluğu (enterik stimulus eksikliği) -Sepsis -Majör cerrahi (öz. GIS) -Bozulmuş enterohepatik sirkülasyon -İnce barsakta bakteriyel aşırı artım -Hipoksi | -Amino asit fazlalığı -Uzun süreli TPN | -Serin eksikliği -Methionin eksikliği -Taurin eksikliği -Selenyum eksikliği -Vit E eksikliği -TPN Kontaminantları -Alüminyum -Na bisülfid -Bakteriyel translokasyon -L-glutamin eksikliği -Litokolat toksisitesi |
| Erişkinlerde Kolestazis | -Oral alımın yokluğu (enterik stimulus eksikliği) -Sepsis -İleal hastalık / rezeksiyon -Kısa barsak sendromu -İnflamatuvar barsak hast. -Malign hastalık -Bakteriyel aşırı artım -Litokolat toksisitesi | -TPN süresi | -Enerji/nitrojen oranının düşük olması -Devamlı uygulama -Bakteriyel translokasyon -L-glutamin yokluğu / eksikliği -TPN sol.'da Bakır -Lipid kontenti -Litokolat toksisitesi |
| Safra Kesesi Hastalığı ve Safra Taşı | -Açlık -Enterik stimulus yokluğu -Safra kesesi stazı ve safra akışının bozulması | -Azalmış safra akımı | -Safra kompozisyonu değişikliği |

Kolestazın hücrel mekanizmaları hakkında öne sürülen çeşitli ihtimaller aşağıda sıralanmıştır (30):

1. Yapısal, fiziksel özellikler ve karaciğer enzim aktivitesinde değişiklikler.
2. Mikrofilament ve mikrotübüllerin disfonksiyonu.
3. Kanaliküler geçirgenliğin değişmesi.
4. Kimyasal ajanlar ve safra solütlerinin arasında fizikokimyasal etkileşim.
5. Safra asitlerinin etkileri:

a- Primer: Konjenital olarak anormal safra asit transportu veya

monohidroksi safra asitlerin aşırı üretimi yoluyla başlayan kolestaz

b-Sekonder: Kolestazdan dolayı biriken safra asitlerine bağlı hepatosellüler disfonksiyon.

TPN İle İlgili Hepatobiliyer Bozuklukta Tanı Yöntemleri

Biyokimyasal Yöntemler: TPN uygulaması sırasında gelişen hepatobiliyer bozuklukları göstermek için rutin karaciğer fonksiyon testleri kullanılır. Bu rutin testler; serum glutamik oxaloasetik asit transferaz (SGOT), serum glutamik piruvik asit transferaz (SGPT), alkalin fosfataz (ALP), gamma-glutamil transpeptidaz (GGT) ve bilirubinlerdir (29,31-34).

Transaminazlar karaciğer hücresindeki sitoplazmik enzimlerdir. Hepatositlerin zedelendiği durumlarda kanda artarlar. SGPT karaciğer hastalıkları için daha özgüldür. Transaminazlardan SGOT, karaciğerin yanında miyokard, böbrek, kan ve

beyin dokusu zedelenmelerinde de artar. Genellikle akut olaylarda SGPT, kronik olaylarda ise SGOT artar (35).

Gamma glutamil transpeptidaz, lösin aminopeptidaz ve 5' nükleotidaz karaciğer plazma membranındaki enzimlerdir. Hepatosit etrafında yüksek konsantrasyonda safra asiti biriktiği zaman hepatosit plazma membranının çözüleceği görüşü üzerinde durulmaktadır. Bu görüşe paralel olarak kolestazda karaciğer plazma membranı enzimlerinde karakteristik olarak yükselme görülür (34).

Bilirubinler safra yoluyla atılan safra pigmentleridir. Serum bilirubininin artışında karaciğer hastalıklarının yanısıra pre- ve posthepatik nedenler de vardır. Ayrıca hiperbilirubinemi olmaksızın kolestaz oluşabilir (35).

Alkalin fosfataz bir grup izoenzimden oluşur ve karaciğer, böbrek, barsak, plasenta ve lökositlerde bulunur. Karaciğer hastalıklarında artması karaciğerde yapılan bu enzimin, safra yoluyla atılamaması sonucu oluşur (35). Alkalin fosfataz pediatrik yaş grubunda TPN ile birlikte metabolik kemik hastalığı gelişmesine bağlı olarak da artabilir (3).

Transaminazlar, ALP ve safra asitlerinin kolestatik durumlarda serumda arttığı bildirilmiştir. SGOT ve SGPT hepatosit sitoplazmasına ait enzimler olduğundan bunların düzeyleri kolestaz için iyi bir indikatör değildir (35). Çocuklarda direkt bilirubinin yükselmesi en yaygın görülen laboratuvar bulgusudur (3). Postuma ve Trevenen, 1979'da yaptığı bir çalışmada 92 infantın %30'unda TPN'un başlaması ile

birlikte 2.2 hafta sonra direkt bilirubinun arttığını göstermişlerdir. Alkalen fosfataz ve SGOT yükselmesi de vakaların 1/3'ünde 4-6 hafta sonra gözlenmiştir (25). Ancak diğer bir retrospektif çalışmada serum bilirubin seviyesinin karaciğer hasarının yaygınlığıyla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (2). Erişkinlerde TPN başlangıcından 1-2 hafta sonra sıklıkla SGOT ve SGPT artışı görülür. Bilirubin ve ALP ise daha geç dönemde (2-3 hafta sonra) artar. SGOT ve SGPT düzeylerindeki artış sıklıkla spontan olarak geriye döner (25).

Safra Asitleri: Primer safra asitleri karaciğerde kolesterolden sentezlenir. Bunlar kolik asit ve kenodeoksikolik asittir. Kolik asit, safra içinde en fazla bulunanıdır. Hem kolik hem de kenodeoksikolik asit kolesterolden sentezlenirken önce ortak bir prekürsörden oluşurlar. Safra asit sentezinde ilk adım kolesterolün hidrosilasyonudur ve bu reaksiyon safra asit sentezinin hız sınırlayıcı basamağıdır. Bu reaksiyonda bir mikrozomal enzim olan 7- α -hidrosilaz oksijen, NADPH, ve Sitokrom P₄₅₀' ye ihtiyaç duyar ve bu enzim tipik bir monooksijenazdır (36).

Safra asitleri normal olarak glisin veya taurin konjugatları şeklinde safra kanaliküllerine salgılanır ve safraya girerler. Yeni sentez edilmiş primer safra asitleri hepatositlerde CoA'nın esterleri gibi (Kolik-CoA veya Kenodeoksikolik-CoA gibi) bulunurlar. CoA deriveleri karaciğer mikrozomlarında aktive edici bir enzimin yardımı ile oluşur. İkinci bir enzim CoA derivelerinin glisin ve taurin ile konjugasyonunu katalize eder. Böylece glikolik, glikokenodeoksikolik, taurokolik asit ve taurokenodeoksikolik asitleri oluşur. Bunlar *primer safra asitleridir*. Miktar olarak, insanda glisin konjugatları taurin konjugatlarınının 3 katıdır. Safra oldukça fazla

Na, K içerdiği ve pH'ı alkalen olduğu için safra asitleri ve onun konjugatları safra içinde tuz şeklinde bulunurlar. Bu nedenle safra tuzları deyimi de safra asitlerinin yerine kullanılabilir (30).

Barsaklarda primer safra asitlerinin bir bölümü intestinal bakteriyel flora tarafından dekonjugasyona ve dehidroksilasyona uğrarlar. Böylece kolik asitten deoksikolik asit ve kenedeoksikolik asitten litokolik asit oluşur. Bunlara da *sekonder safra asitleri* adı verilmektedir (37).

Kolesterolu de kapsayan yağ sindirim ürünleri ince barsağın proksimalinden absorbe edilmelerine rağmen primer ve sekonder safra asitlerinin hemen hemen tümü ileumdan absorbe edilir. Böylece ince barsaklara salgılanmış olan safra asitlerinin yaklaşık % 98-99'u portal dolaşım yolu ile karaciğere döner (enterohepatik dolaşım). Ancak litokolik asit çözünür olmadığından reabsorbe olamaz. Absorbsiyondan kurtulan az miktardaki safra asidi feçesle atılır. Safra asitlerinin enterohepatik dolaşımı günde 6-10 defa olabilir. Hergün feçes içinde kaybolan safra asitine eşdeğer miktarda safra asiti, karaciğer tarafından sentezlenir. Böylece sabit büyüklükte safra tuzu havuzu korunur. Safra asitleri sentezinin düzenlenmesi bir biofeedback mekanizması ile olur (36).

Histopatolojik İncelemeler: TPN uygulanan pediatrik hastalarda, karaciğerde görülen histolojik değişiklikler Tablo IV'de gösterilmiştir (3).

Ağır karaciğer yaralanmasında karaciğer enzimleri normal sınırlarda olabilir. Bu nedenle Lawrence ve arkadaşları, TPN'a bağlı kolestaz tanısının histolojik olması gerektiğini belirtmişlerdir (2). Bir grup çalışmada, pediatrik hastalardaki en erken histolojik bulgunun steatozis olduğu görüşü savunulurken (3,22,24) diğer bir grup, kolestazın en erken histolojik bulgu olduğunu savunmaktadır (2,25).

Tablo IV. Pediatrik hastalarda TPN uygulaması sırasında karaciğerde görülen histopatolojik değişiklikler.

| Histolojik lezyon | <u>TPN süresi (gün)</u> | | | |
|----------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|
| | 0-10 | 10-30 | 30-60 | >60 |
| Steatozis | ++ | + | + | |
| Extramedullar eritropoezis | ++ | ++ | + | |
| Periportal inflamasyon | + | + | ++ | +++ |
| Kolestazis | | ++ | +++ | +++ |
| Fibrozis | | + | + | +++ |
| Duktus proliferasyonu | | + | + | +++ |
| Siroz | | | + | +→+++ |

İnterferon: İlk olarak 1957' de Alick Isaacs ve Jean Linderman, interferonun infekte hücrelerden salgılanan, protein yapısında bir madde olduğunu göstermişlerdir (38). Uyarılan lenfositlerin spesifik antijen ve mitojenlere karşı salgıladıkları efektör moleküller lenfokin olarak isimlendirilir. İnterferonlar lenfokinlerin farklı bir grubudurlar ve immün sistemin hemen hemen her komponentinin aktivitesini düzenlerler. Vücudun enfekte ajanlara karşı supresyon yeteneğini arttıırırlar. İnterferonlar, m-RNA moleküllerinin bazı genleri kopyalaması için hücredeki var olan yolu aktive ederler (39). Direkt olarak virüsle etkileşime girmezler, virüs hücre ile

temas ettiğinde, hasta hücreler ve onların komşu hücrelerindeki virüsün çoğalmasını ve hücre içine girmesini engelleyecek olan proteinlerin sentezlenmesini uyarırlar. Kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterirler (38). İnterferonlar, m-RNA moleküllerinin bazı genleri kopyalaması için hücredeki var olan yolu aktive ederler (39) ve hücre membran yüzeyindeki kendi reseptörlerine bağlanarak sitoplazmadaki proteinleri aktive ederler. Aktive olan proteinler, nükleustaki belirli genlerin etrafına toplanarak bağlı genlerin m-RNA moleküllerine kopyalanmasını sağlarlar, oluşan kalıp protein sentezinde kullanılır (38).

İnterferonlar antijenik yapı ve moleküler tiplerine göre iki gruba ayrılmışlardır. Tablo V (38). Potansiyel terapötik ajan olarak, sağlıklı hücreye zarar vermeden, kanserlerin ve virüslerin geniş bir oranına etkili olabileceği umulmaktadır ve bu konu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bununla birlikte oldukça geniş kullanım alanı mevcuttur (38).

Tablo V. İnterferonların sınıflandırılması.

| | Tip 1 | Tip 2 |
|---------------------------|--|--|
| Ana tipler | alfa ve beta | gamma |
| Diğer tipler | tau ve omega | |
| Etkili olduğu alan | alfa; virüsle infekte hücreye beta; fibroblastlara etkili | T lenfositler ve natural killer hücreler |
| Ana etki | virüs ve hücre proliferasyonunu inhibe eden proteinleri oluşturması için infekte hücreyi indükler | hücrede enfeksiyon ve tümörü erdike eden immün sistemin komponentlerinin aktivitesini arttırır |

Asetilsalisilik asit (ASA): Prostaglandinler nosisepsiyonda, inflamasyon ve ateş oluşumunda santral rol oynamaktadırlar. Asetilsalisilik asit analjezik, anti-inflamatuar, antipiretik ve antiagregan özelliklere sahip bir farmakolojik ajandır. Asetilsalisilik asit siklooksijenazı ve bu yolla da araşidonik asidin siklik endoperoksitlere (Tromboksan-A₂, Prostaglandinler, Prostosiklin) dönüşümünü geriye dönüşümsüz olarak inhibe eder (40,41). Fizyolojik koşullarda prostosiklin ve tromboksan arasında dinamik bir denge mevcuttur. Tromboksan-A₂ trombositlerde oluşur ve belirgin agregasyon- tetikleyici ve vazokonstriktör özelliklere sahiptir. Prostosiklin ise damar duvarında sentezlenir, antiagregan ve vazodilatatör özelliklere sahiptir. Hasar görmüş vasküler endotel nedeniyle prostosiklin sentezi bozulursa Tromboksan A₂ etkisi baskın hale gelir ve artmış trombosit agregasyonu ve adezyonuna yolaçar. ASA, siklooksijenazı geriye dönüşümsüz olarak inhibe ettiğinden trombositlerdeki tromboksan üretimini de inhibe etmiş olur (42,43,44). Asetilsalisilik asitin antiinflamatuvar etkisi de prostoglandin sentezinin inhibisyonuna dayanır (40,45,46). Aşağıdaki farmakolojik etkiler, asetilsalisilik asidin anti-inflamatuar etkinliği için öne sürülmüşlerdir (40):

- Kapiller membranın stabilizasyonu,
- Mediatörlerin inhibisyonu,
- Trombosit agregasyonunun önlenmesi,
- Lizozomların stabilizasyonu,
- Anti-inflamatuar etkili proteine bağlı peptidlerin salınımı,
- Mukopolisakkarit metabolizmasına etki.

Asetilsalisilik asit oral ve intravenöz yolla kullanılır. Rektal yoldan emilim yavaş ve az güvenilir olduğundan tercih edilmez (47). Oral uygulamadan sonra çabuk ve tam olarak emilir. Asetilsalisilik asitin sindirim sistemi membranlarından emilimi pasif difüzyonla olur. Non-iyonize olan ASA gastrointestinal sistem Ph'ı arttıkça iyonize hale geçer, artmış Ph ASA'nın erirliğini ve emilimini artırır (47). Emilimden sonra maksimum plazma düzeylerine 1-2 saat içinde erişilir (48). Asetilsalisilik asit % 80-90 oranında plazma proteinlerine (özellikle albümin) bağlanır (47,49), metabolizması basittir, asetilasyon ve hidroliz yolu ile metabolize olur. Esas metabolik yol enzimatik hidrolizdir, bu yolla asetilsalisilik asit, gastrointestinal sistem mukozası ve karaciğerdeki esterazlar tarafından salisilik asit ve asetik aside çevrilir, salisilik aside dönüşüm sadece 15-20 dakikalık bir yarı ömür ile gerçekleşir (47,49), oluşan salisilik asit glukronik asite bağlanır. Hidrolizin % 20'si kanda, % 80'i ise karaciğer ve böbreklerde gerçekleşir (47).

Vitamin E (α - tokoferol) : Antioksidandır, ubikinon (koenzim Q) gibi hücre için esansiyel olan oluşumların oksidasyonunu önler. Hücrelerdeki membran fosfolipitleri (linoleik asit ve araşidonik asit gibi), spontan olarak veya oksidan metabolitlerle temas sonucu oksitlenip peroksidasyon türevlerine dönüşürler ve serbest oksijen radikalleri oluşur. E vitamini bu olay zincirini önleyen ve eğer serbest oksijen radikalleri oluşmuş ise bunları nötralize eden en güçlü antioksidandır (C vitamini, glutatyon ve beta karotene göre). Membran lipitleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranın stabilitesini artırır (50). Hayvanlarda destekleyici E vitamini kullanımı farmakolojik ajanların, metallerin, kimyasal ajanların serbest oksijen radikal oluşturmasına karşı organizmayı korumuştur. Yiyeceklerle fazla miktarda poliansatüre yağ asidi alınması

E vitamini gereksinimini artırır. Hayvan türlerinde E vitamini eksikliğine bağlı semptomlarda sentetik antioksidanların, selenyumun, sülfür içeren aminoasitlerin birkaçının, koenzim Q grubunun, bazı semptomları düzelttiği, bazı semptomları da geriye döndürdüğü gösterilmiştir. Ancak E vitamini eksikliğinde gelişen semptomların tümünün diğer antioksidanların verilmesi ile düzelmemesi E vitamininin etkisinin daha spesifik olduğunu gösterir. Malabsorbsiyonlu hastalarda absorpsiyonu ve transportu bozulduğundan, nörolojik bozukluklar (hiporefleksi, ilerleyici yürüme ataksisi, vibrasyon ve propriyosepsiyon duyusunda azalma, oftalmopleji) ortaya çıkar. Birkaç memeli türünde normal üreme için esansiyeldir. Erkek ratlarda uzamış E vitamini eksikliği geriye dönüşümsüz steriliteye yolaçar (51). Bebeklerde hemolitik anemide ve oksijen tedavisi sırasında gelişebilecek olan retrolental fibroplazinin profilaksisinde, çocuklarda kistik fibrozis, kolestazis ve malabsorbsiyon sendromunda görülen E vitamini eksikliğinde kullanılır (51).

E vitamininin günlük 10-30 mg alınması normal sınırlarda kan konsantrasyonu sağlar. İnce barsak epitel hücrelerinden difüzyon ile emilir, emilim için safra gereklidir. Lenfatik yolla şilomikronlara bağlı şekilde kan akımına girer, şilomikron artıkları ile karaciğere alınır ve oradan çok düşük dansiteli lipoproteinler içinde dolaşıma verilir. Dolaşımda plazma beta-lipoproteinlerine bağlanıp, tüm dokulara dağılır. E vitamini esas olarak karaciğer ve yağ dokusunda depolanır (51,52).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 4 haftalık, dişi, ortalama 140 ± 25 g ağırlığında 100 adet Wistar tipi rat kullanıldı. 10 ayrı deney grubu oluşturularak tüm ratlara günde bir kez intraperitoneal (İP) yolla TPN uygulandı (Resim 1). Deney süresi boyunca ratlar her biri 5 rattan oluşan gruplar halinde kafeslerde izlendi. Ayrıca ratlara çalışma süresi boyunca istedikleri kadar peroral su ve besin verildi.

Deney grupları :

- 1- Kontrol-10 grubu (K_{10}): Bu gruptaki ratlara 10 gün süre ile İP yolla %0,9 NaCl verildi. 10. günün sonunda kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 2- Kontrol-20 grubu (K_{20}): Bu gruptaki ratlara 20 gün süre ile İP %0,9 NaCl verildi. 20. günün sonunda kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 3- TPN-10 grubu (T_{10}): Bu gruptaki ratlara 10 gün süre ile İP-TPN uygulandı. 10. günün sonunda kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 4- TPN-20 grubu (T_{20}): Bu gruptaki ratlara 20 gün süre ile İP TPN uygulandı. 20. günün sonunda kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 5- "TPN + Asetilsalisilik asit"-10 grubu (TA_{10}): Bu gruptaki ratlara 10 gün süre ile İP TPN+ ASA uygulandı. 10. günün sonunda, kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 6- "TPN+Asetilsalisilik asit"-20 grubu (TA_{20}): Bu gruptaki ratlara 20 gün süre ile İP-TPN+ASA uygulandı. 20. günün sonunda, kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.

- 7- "TPN+Vitamin E"-10 grubu (TE₁₀): Bu gruptaki ratlara 10 gün süre ile İP-TPN+ Vitamin E uygulandı. 10. günün sonunda, kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 8- "TPN+Vitamin E"-20 grubu (TE₂₀): Bu gruptaki ratlara 20 gün süre ile İP-TPN+Vitamin E uygulandı. 20. günün sonunda, kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 9- "TPN+ α -İnterferon"-10 grubu (TF₁₀): Bu gruptaki ratlara 10 gün süre ile İP-TPN+İF uygulandı. 10. günün sonunda, kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.
- 10- "TPN+ α -İnterferon"-20 grubu (TF₂₀): Bu gruptaki ratlara 20 gün süre ile İP-TPN+İF uygulandı. 20. günün sonunda, kan ve doku örnekleri alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi.

Total parenteral nütrisyon, %0.09 NaCl, α -İnterferon, Asetisalisilik asit ve Vitamin E dozları:

Tüm gruplara verilen TPN solüsyonları 37⁰ C'ye kadar ısıtıldı ve İP enjeksiyonla yavaş infüzyon şeklinde verildi. Kullanılan TPN solüsyonlarının içeriği ve özellikleri Tablo VI'da gösterilmiştir. Bu TPN karışımıyla her rat 78.4 kcal/kg/gün enerji almıştır. Her 100 g vücut ağırlığı için 14,2 ml olan günlük hacim tek doz halinde infüze edilmiştir. Kontrol gruplarında %0.09 NaCl de 14,2 ml/100gr/gün olarak uygulanmıştır. Alfa-İnterferon 100.000 IU/rat/gün, ASA (steril şartlarda tablet formu %0.09 NaCl ile solüsyon haline getirildi) 100mg/kg/gün, Vitamin E 50 mg/kg/gün dozunda TPN solüsyonu içine eklenerek İP enjeksiyonla infüze edilmiştir.

Tablo VI: Ratlara uygulanan TPN nun özellikleri

| Solüsyonlar | Doz (g/kg) | Volüm (ml/100g) | Enerji (kkal/kg) | Ozmolalite (mOsm/L) |
|--------------------|---------------|--------------------|---------------------|------------------------|
| %6 TrophAmine® | 2.1 | 3.5 | 8.4 | 525 |
| %20 Dextroz® | 12.5 | 6.2 | 42.5 | 1000 |
| %20 Lipovenös® | 2.5 | 1.2 | 27.5 | 273 |
| %0.9 NaCl | (3 mEq/kg) | 2 | - | 310 |
| KCl | (3 mEq/kg) | 0.3 | - | - |
| Total TPN Karışımı | - | 14.2 | 78.4 | 600 |

Deneyin sonlandırılması, kan ve doku örneklerinin alınması

Deney sürelerinin sonunda Ürethane (1,2-1,4 g/kg) anestezisi altında toraks ve batin açılarak intrakardiyak ponksiyonla ortalama 5 ml kan alındı ve rat karaciğerleri total olarak çıkarıldı. Kan örnekleri biokimya, karaciğerler patoloji laboratuvarına gönderildi.

Biyokimyasal çalışmalar

Serum transaminazlar (SGOT, SGPT) ve ALP konvansiyonel yöntemlerle bakıldı. Serum safra asitleri düzeyleri 3-alfa hidrosisteroid dehidrogenaz enzim yöntemi kullanılarak ölçüldü. Bunun için *Randox Bile Acids fully enzymatic colour test (BI 1605 Randox kiti)* kullanıldı. Deney Ciba Corning Express Plus 550 rutin otoanalizatörüne adapte edilerek “reagent ve blank deneyi” olarak çalışıldı, aradaki fark serum safra asitleri düzeyi olarak kaydedildi.

Histopatolojik değerlendirme

Tüm karaciğer biyopsileri *ışık mikroskopu* ile değerlendirildi. Hepatobiliyer disfonksiyonu gösteren histopatolojik değişiklikler araştırıldı. Hematoxilen-eozin boyaması yapılan preparatlarda kolestaz, portal inflamasyon, portal proliferasyon, fibrozis gibi değişiklikler arandı. Normalde her portal mesafede 1-2 polimorfonükleer lkosite rastlanmaktadır. Eğer bu sayı artmış ise bir portal inflamasyondan bahsedilmektedir. Portal inflamasyonun derecesini sayısal hale getirebilmek için bir morfolojik portal inflamasyon indexi (MPIİ) hesaplandı (53).

İnflamasyonlu Portal Alan Sayısı

$$\text{MPIİ} = \frac{\text{-----}}{\text{Total Portal Alan Sayısı}} \times 100$$

Total Portal Alan Sayısı

İstatistiksel değerlendirme

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmeleri İnönü Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında *Kruskal-Wallis 1-Way Anova Varyans Analizi*, *Mann Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W testi* ve *oklu Regresyon testi* kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada elde edilen tüm veriler Tablo VII'de gösterilmiştir.

- 1- Ratların deney başlangıcı ve bitimindeki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (140 ± 10 ve 145 ± 18) ($p > 0.05$).
- 2- Deneyin bitiminde yapılan laparotomi sırasında iki rat haricinde, makroskopik olarak intraperitoneal herhangi bir patolojik bulgu (enfeksiyon, adezyon) saptanmamıştır.
- 3- Gruplar, konvansiyonel biyokimyasal testlerin (SGOT, SGPT, ALP) sonuçlarına göre karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Grafik 1, 2, 3).
- 4- Sadece TPN (T_{10} ve T_{20}) verilen gruplarda elde edilen serum safra asiti konsantrasyonlarının kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır ($p < 0.05$). T_{10} ve T_{20} grupları karşılaştırıldığında süre ile doğru orantılı olarak serum safra asit konsantrasyonlarının arttığı saptanmıştır ($p < 0.05$).
- 5- T_{10} ile TA_{10} ve T_{20} ile TA_{20} grupları birbirleriyle karşılaştırıldıklarında; ASA alan gruplarda (TA_{10} ve TA_{20}) serum safra asit konsantrasyonları ASA almayan TPN gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.01$).
- 6- T_{10} ile TE_{10} grupları karşılaştırıldığında; serum safra asit konsantrasyonları arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0.05$). Ancak T_{20} ile TE_{20} gruplarının serum safra asit konsantrasyonları arasında fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).
- 7- T_{10} ile TF_{10} ve T_{20} ile TF_{20} grupları karşılaştırıldığında 10 günlük gruplar arasında serum safra asit konsantrasyonları arasında anlamlı fark olmadığı halde ($p > 0.05$),

20 günlük gruplarda; TF₂₀ grubunun serum safra asit konsantrasyonları T₂₀ grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0.05).

Serum safra asit düzeyleri T₂₀ > TE₂₀ > T₁₀ > TF₁₀ > TA₂₀ > TF₂₀ > K₁₀ > K₂₀ > TE₁₀ > TA₁₀ şeklinde sıralanmıştır (Grafik 4).

8- Toplam MPIİ; K₁₀ ve K₂₀ grubunda % 0, T₁₀ grubunda % 10, T₂₀ grubunda %16.20, TA₁₀ grubunda % 3, TA₂₀ grubunda % 5.50, TE₁₀ grubunda % 4.10, TE₂₀ grubunda %12, TF₁₀ grubunda % 8, TF₂₀ grubunda %5 olarak hesaplanmıştır. Sırasıyla T₂₀ > TE₂₀ > T₁₀ > TF₁₀ > TA₂₀ > TF₂₀ > TE₁₀ > TA₁₀ > K₁₀ = K₂₀ bulunmuştur (Grafik 5) (Resim 1,2).

9- Gruplara ait MPIİ değerleri ile serum safra asit düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptandığı halde (p<0.05) (Grafik 6), diğer biyokimyasal ölçümlerle anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır (p>0.05). Çoklu regresyon modeline göre MPIİ = 24.81 -0.08 ALP (p>0.05) + 2.01 Safra Asiti (p<0.05) - 0.002 SGOT (p>0.05) - 0.116 SGPT (p>0.05) şeklinde olduğu bulunmuştur. Yani karaciğerdeki kolestazi yansıtması açısından biyokimyasal yöntemler içinde serum safra asit ölçümlerinin en iyi indikatör olduğu görülmüştür.

10- Tüm gruplarda safra asit konsantrasyonları yönünden bulunan istatistiksel farkların MPIİ için de geçerli olduğu saptanmıştır.

Sadece TPN verilen gruplarda gelişen hepatobiliyer disfonksiyon hızını; ASA, İnterferon ve Vitamin E'nin hangi yönde etkiledikleri Tablo 8'de özetlenmiştir.

TABLO VII. Gruplarda elde edilen ortalama sonuçlar

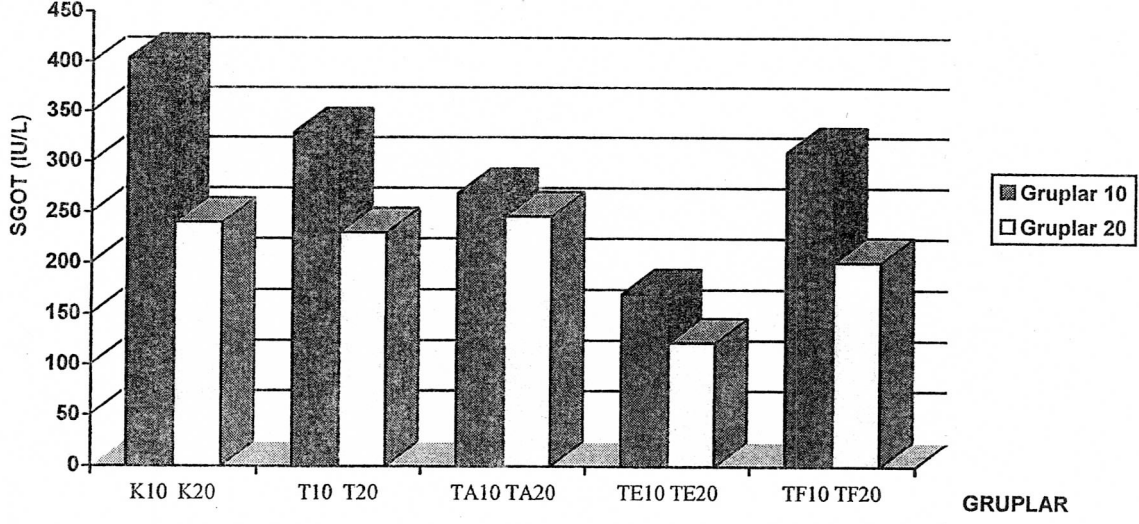
| Gruplar | SGOT (IU/L) | SGPT (IU/L) | ALP (IU/L) | Safra Asiti (μ mol/L) | MPIİ* (%) |
|------------------|----------------|----------------|---------------|-------------------------------|--------------|
| K ₁₀ | 403 | 66.3 | 228 | 3.22 | 0 |
| T ₁₀ | 329.8 | 59.6 | 180 | 5.4 | 10 |
| TA ₁₀ | 269 | 34.8 | 243 | 1.54 | 3 |
| TE ₁₀ | 170 | 52.6 | 237 | 2.3 | 4.1 |
| TF ₁₀ | 311.4 | 36.5 | 261 | 4.4 | 8 |
| K ₂₀ | 240 | 43.6 | 227 | 2.95 | 0 |
| T ₂₀ | 230 | 47 | 214 | 8.76 | 16.2 |
| TA ₂₀ | 247 | 45.4 | 260 | 4.0 | 5.5 |
| TE ₂₀ | 122 | 42.5 | 225 | 6.3 | 12 |
| TF ₂₀ | 201 | 43.8 | 248 | 3.5 | 3.5 |

*MPIİ: Morfolojik portal inflamasyon indeksi, MPIİ (%) değerleri gruplardaki ratlara ait toplam değerlerdir.

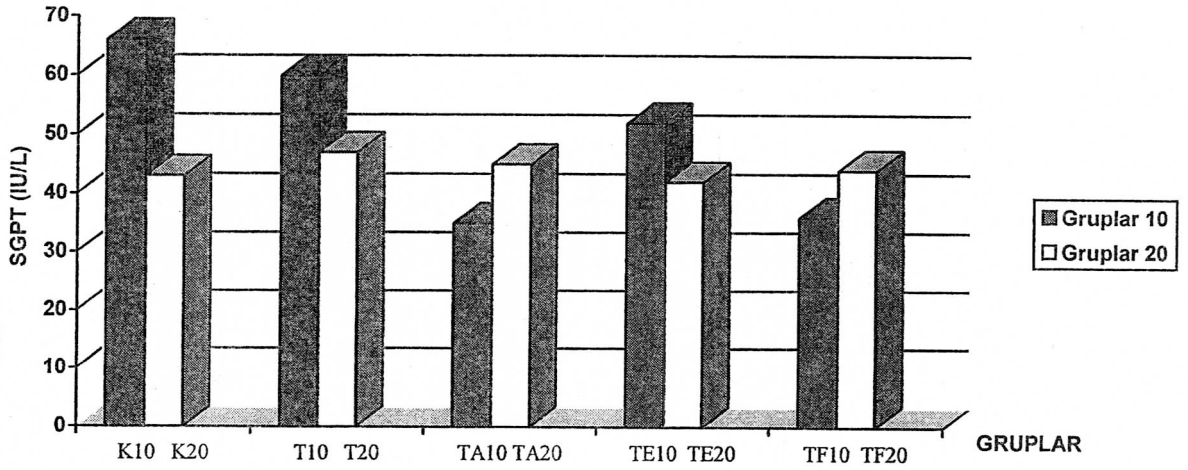
Tablo VIII. Farmakolojik ajanlar ile hepatobiliyer disfonksiyon gelişimi arasındaki ilişki

| Farmakolojik ajanlar | Hepatobiliyer disfonksiyon gelişimi | |
|-----------------------|-------------------------------------|--------------|
| | Erken (10 gün) | Geç (20 gün) |
| Asetil salisilik asit | ↓ | ↓ |
| Vitamin E | ↓ | ↑ |
| α -interferon | ↑ | ↓ |

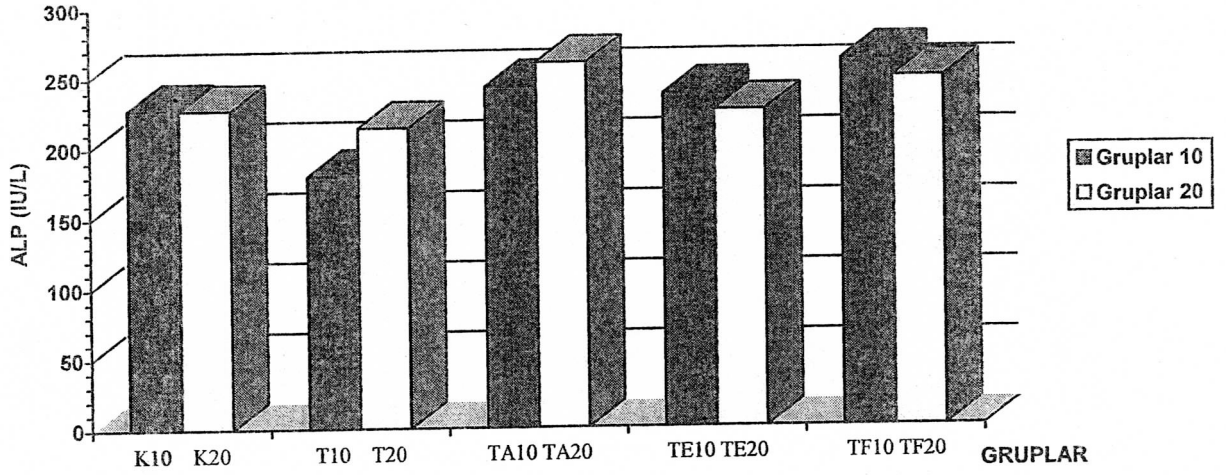
Grafik 1. Grupların SGOT değerleri



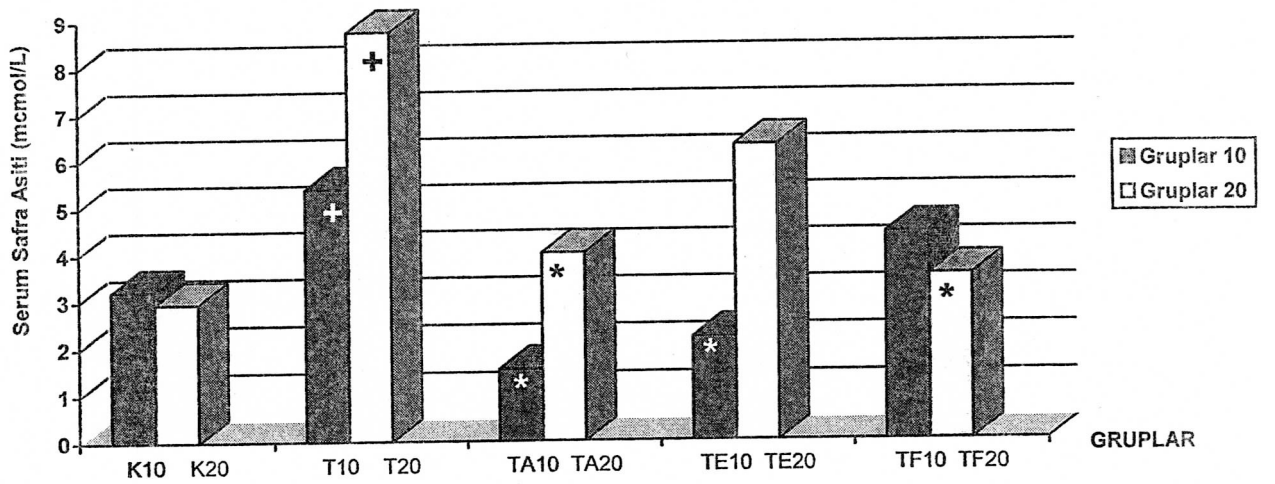
Grafik 2. Grupların SGPT değerleri



Grafik 3. Grupların ortalama serum alkalen fosfataz düzeyleri.



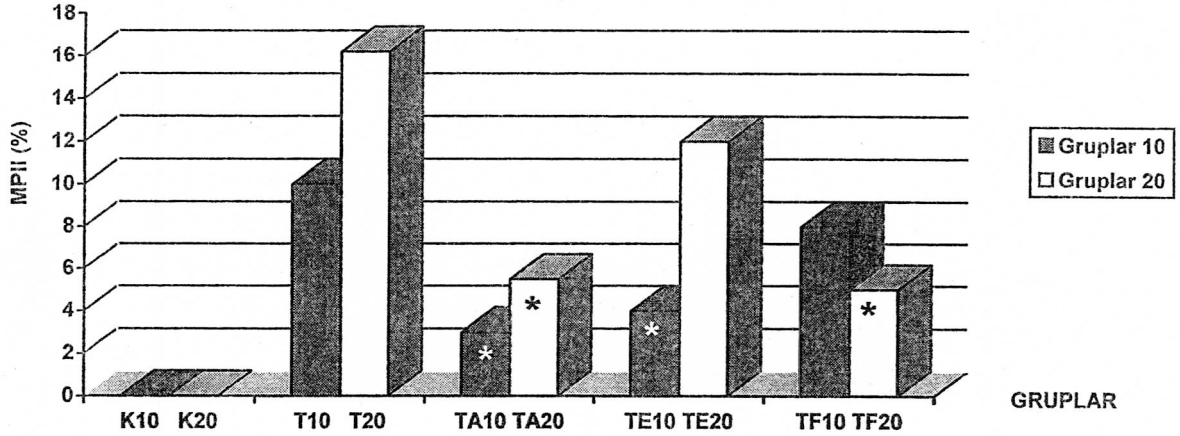
Grafik 4. Grupların ortalama serum safra asidi düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$).



* $p < 0.05$; Sadece TPN alan gruplara göre anlamlı fark.

+ $p < 0.05$; Kontrol gruplarına göre anlamlı fark.

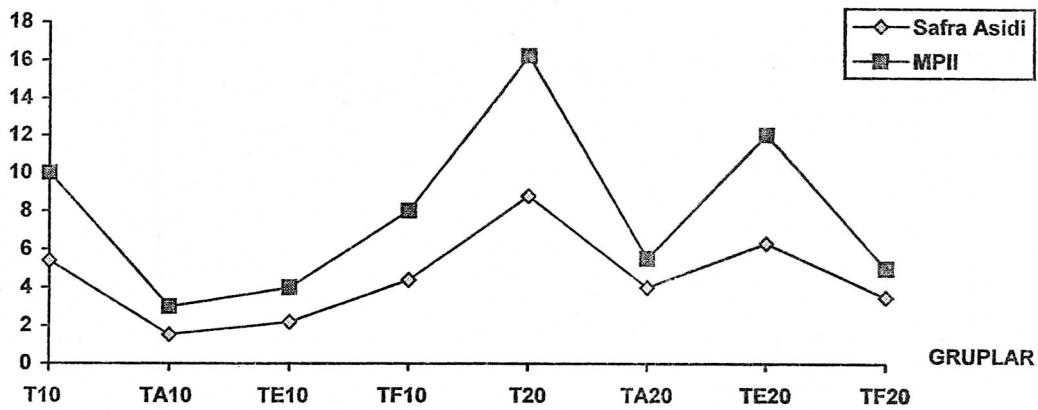
Grafik 5. Grupların morfolojik portal inflamasyon indeksleri.

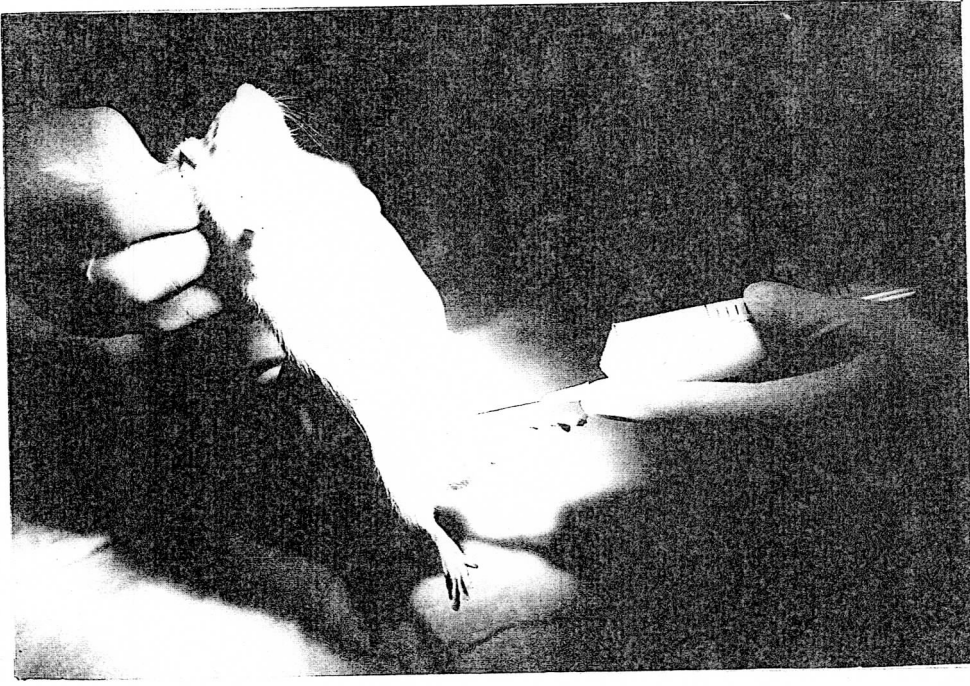


* $p < 0.05$, Sadece TPN alan gruplara göre anlamlı fark.

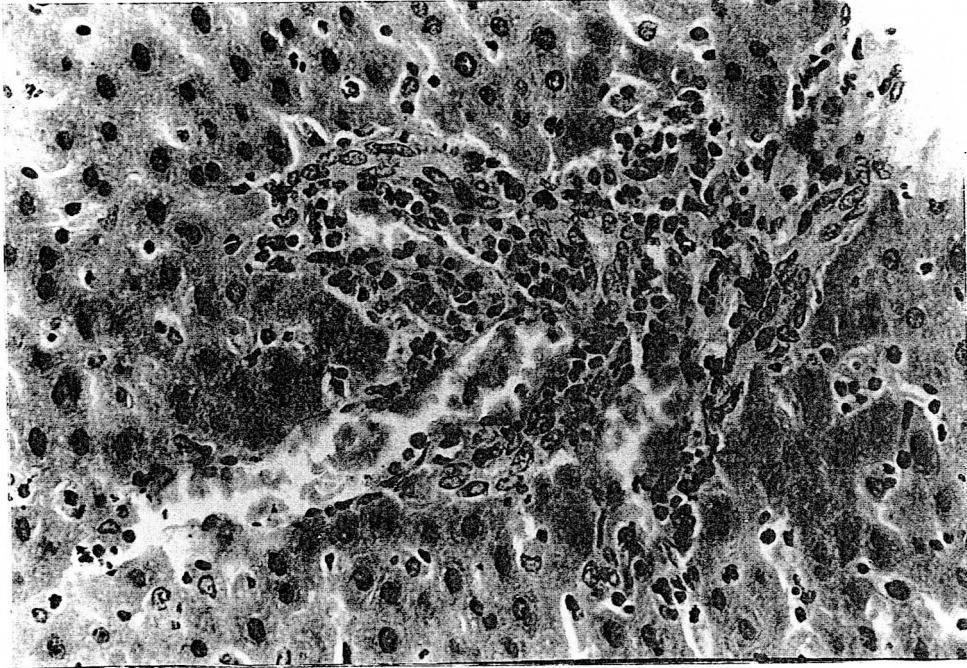
MPII: Morfolojik portal inflamasyon indeksi.

Grafik 6. Deney gruplarında serum safra asit düzeyleri ve morfolojik portal inflamasyon değerleri arasındaki ilişki.





Resim 1. Ratlara TPN ve diğerk farmakolojik ajanların intraperitoneal yolla verilmesi.



Resim 2. Ratta, ağır portal inflamasyonlu karaciğerk histolojisinin görünümü
(Hematoxilen Eozin x 100)

TARTIŞMA

İntraperitoneal TPN uygulamasının etkinliği köpeklerde ve ratlarda deneysel olarak gösterilmiştir (14,54,55). Bizim çalışmamızda da ratlarda IP yolla TPN'un etkin olarak yapılabileceği gösterilmiştir. Bu uygulamayı çok iyi tolere eden ratların sakrifikasyonları sırasında iki rat haricinde makroskopik olarak herhangi bir peritonit bulgusuna rastlanmamıştır. Periton, kısa ve uzun süreli TPN için potansiyel alternatif bir yol olup sürekli bir damar yoluna bağımlı kalmadan günde birkaç kez peritoneal kateter yoluyla TPN solüsyonlarının verilmesi mümkündür. Periton boşluğundaki ince barsaklar, mezenter ve omentumun kan akımı oldukça fazladır, buna paralel olarak absorpsiyon kapasiteleri de yüksektir. Dolayısıyla inflamatuvar barsak hastalığı olan ya da kısa barsak sendromlu hastalar intraperitoneal TPN için uygun aday değildirler (54). İntraperitoneal yol kronik böbrek yetmezlikli hastalarda dializ için kullanılmasına rağmen insanda intraperitoneal TPN kullanımına dair bilgi yoktur.

Moss, Das ve Raffensperger'in klinik çalışmalarında; TPN ile ilgili hepatobilyer disfonksiyonun, histopatolojik olarak karaciğer zedelenmesinin karakteristik paternini gösteren progresif bir hastalık olduğu vurgulanmıştır. Bu patolojik değişikliklerin özellikle prematür bebeklerde, TPN'un başlaması ile birlikte klinik ve biyokimyasal bulgular ortaya çıkmadan çok önceleri gelişmeye başladığını göstermişlerdir. Parsiyel enteral beslenmenin karaciğer zedelenmesini geriye döndürmediğini veya durdurmadığını göstererek, TPN solüsyonlarının karaciğere direkt olarak toksik etki yaptığını ileri sürmüşlerdir (2,56). Robert G. Knodell ve arkadaşları ratlar üzerine yaptıkları deneysel bir çalışmada intravenöz TPN ile oral verilen TPN'u

karşılaştırdıklarında intravenöz TPN alan ratların hepatik sitokrom P₄₅₀ seviyesi ve drog metabolizmasının azaldığını göstermişlerdir. Sitokrom P₄₅₀ fonksiyon ve sentezindeki selektif değişikliklerin, portal kan akımındaki farklılıklardan dolayı değişmiş gen transkripsiyonuna bağlı olduğunu savunmuşlardır (57). Bizim çalışmamızda da TPN uygulamasının erken dönemlerinde hepatobiliyer disfonksiyon gelişimi; 10 gün TPN verilen tüm rat gruplarında hem karaciğerde meydana gelen portal inflamasyon ile hem de serum safra asit düzeylerindeki artış ile ortaya konulmuştur. Çalışmamızda ratlara günde iki kez olmak üzere intermittant TPN uygulandığı ve aynı zamanda enteral olarak da beslendikleri halde erken dönemde kolestaz ve portal inflamasyonun meydana gelmesi ve bu değişikliklerin TPN süresi ile doğru orantılı olarak artması yukarıda bahsedilen "TPN direkt hepatotoksiktir " görüşünü desteklemektedir.

Total parenteral nütrisyon sırasında gelişebilen hepatobiliyer disfonksiyon; klinik gözlem ve rutin karaciğer fonksiyon testleri ile tanı konulmaya veya doğrulanmaya çalışılır. Birçok klinik ve deneysel çalışmada; karaciğer fonksiyonlarına ait rutin biyokimyasal parametrelerin karaciğer histopatolojisini tam olarak yansıtmadığını ve beklenildiği kadar korelasyon saptanamadığı bildirilmiştir (2,14,56,58). Ayrıca karaciğer enzimlerinin kolestazdan bağımsız olarak yükselebileceğini ve hatta ağır karaciğer zedelenmesinin sözkonusu olduğu durumlarda enzim düzeylerinin normal olabileceğini bildirmişlerdir (2,56). Karaciğer fonksiyon testlerinin kullanımı konusundaki çoğu çalışma hiperbilirubinemiye değerli bulmaktadır (58). Ancak Whittington, TPN ile ilgili kolestazın insidansının konvansiyonel testlerle çok düşük hesaplandığını ve serum safra asitlerinin daha duyarlı bir indikatör olabileceğini

bildirmiştir (59). Serum safra asitleri ile elde ettiğimiz bulgular da bunu desteklemektedir. Çalışmamızda serum safra asit düzeylerindeki değişikliklerin hepatobiliyer patoloji ile istatistiksel olarak en iyi korelasyona sahip rutin olmayan biyokimyasal test olduğu gösterilmiştir. Ayrıca SGOT, SGPT ve alkalin fosfataz değerlerindeki değişiklikler ile histopatolojik bulgular arasında herhangi bir anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Bu sonuç rutin biyokimyasal testlerin, ortaya çıkmış olan karaciğer patolojisini tam olarak yansıtmadığı şeklinde değerlendirilebilir.

Hepatosit plazma membranındaki Na-K ATPaz enzimi, safra asitleri ve elektrolitlerin biliyer ekskresyonunda önemli rol oynar (60). Membran taşıyıcı mekanizmaların inorganik elektrolitler kadar bilirubin gibi organik anyonların ve safra asitlerinin hepatic alım ve ekskresyonlarında önemli fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir. Plazma membranına bağlı reseptörlerin ve membrandan membrana tanıma süreçlerinin veziküler transportta rol oynadığı sanılmaktadır. Membran lipidlerinin fiziksel özellikleri ve kompozisyonu safra formasyonunda önemlidir. Na-K ATP'az aktivitesi kolestaz içeriği ve membran lipidleri ile yakından ilişkilidir. Lipid kompozisyonu veya akışkanlığındaki bozukluk veziküler ve taşıyıcı transport sistemlerini bozar. Bu nedenle bütün biliyer solütlerin hepatosite giriş ve çıkışları kısmen plazma membran fonksiyonuna bağlıdır. Taurolitokolat gibi monohidroksi safra asitleri deney hayvanlarına infüze edildiği zaman kanaliküler membranda belirgin morfolojik anormalliklerle beraber kolestaza yolaçarlar. Bu morfolojik anormallik hepatosit plazma membran kolesterolünde bir artışla ve çeşitli hepatosit plazma membran enzimlerinin azalmış aktivitesi ile ilişkilidir. Sonuç olarak hepatosit

plazma membranındaki yapısal, fonksiyonel ve fiziksel özelliklerin değişiklikleri kolestaza yolaçar (60).

Mikrofilaman ve mikrotübüler fonksiyonların inhibiyonu safra formasyonunu potansiyel olarak çeşitli şekillerde etkileyebilir. Bu mekanizmalar şunlardır: I- Normal kanaliküler tonüsün kaybı ve kanaliküler mikrovillüslerin bozulması, II- Solütleri kanaliküle getirmekle sorumlu veziküler transport süreçlerinin inhibisyonu, III- Membran taşıyıcı sistemlerin sayısında ve fonksiyonlarında bozulma (60).

Safra asit formasyonu aktif solüt akımından sonra pasif su akımının sonucunda oluşur. Kanaliküler permeabilite artışının; solütlerin geri difüzyonuna, ozmotik gradiyentin dağılmasına, su akımında azalmaya yani kolestaza yolaçması beklenir. Biliyer solütler ve ekzojen bileşikler veya onların metabolitleri solüt transportunu bozar. Rölatif olarak suda çözünmeyen monohidroksi safra asitleri kanaliküllerin içinde veya etrafında presipite olurlar. Hepatosit plazma membranının içinde gözle görülür şekilde birikirler. Monohidroksi safra asitlerinin kolestatik etkileri eş zamanlı olarak verilen miçel yapan safra asitleri ile önenebilir (60).

Safra asit metabolizmasındaki veya ekskresyonundaki bazı anormallikler kolestazı başlatabilir. Safra asitlerinin birikmesi hücre hasarına ve solüt ekskresyonunun daha da bozulmasına yolaçar. İntra- ve ekstrahepatik kolestazda; sistemik serum safra asit konsantrasyonları ve muhtemelen hepatositlerdeki konsantrasyon da artmıştır. Ayrıca kolestaz sırasında; olağan olmayan safra asitleri de ortaya çıkar, safra asit sentezi ve havuzu kaybolabilir. İn vitro olarak 0,25-0,50 mmol gibi düşük konsantrasyonlu safra

asitleri bile Na-K ATP'az plazma membran enzimlerini reversibl olarak inhibe edebilir ve revesibl olarak membran lipid akışkanlığını bozabilir. 1 mmol'den daha yüksek konsantrasyonlarda safra asitleri, enzimatik aktivitede irreversibl azalmaya ve kültür hücrelerinde enzimlerin dışarı sızmasına yolaçar. Bütün bu gözlemlere göre sebep ne olursa olsun safra asit birikimi hepatosellüler hasar ve disfonksiyona yolaçar (60).

Ratlar üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada karaciğer plazma membranındaki Ca^{2+} ATP'az aktivitesine ve bazı membran lipid komponentlerine ASA'nın etkileri araştırılmıştır. Yüksek ancak toksik olmayan dozda (200mg/kg) ASA'nın kronik olarak verilmesi (30 gün) sonucunda karaciğer plazma membranının kolesterol ve tofolipid seviyelerinin önemli derecede arttığı , karaciğer plazma membranındaki Ca^{2+} ATP'az aktivitesinin önemli derecede inhibe olduğu bulunmuştur. Yüksek doz ASA'nın Ca^{2+} ATP'azı inhibe etmesinin sonucunda Ca^{2+} 'un karaciğer hücrelerinde birikebileceği ve hücre yaralanmasına yolaçacağı savunulmuştur. Düşük dozda (50mg/kg) ASA ise membran lipidlerini etkilemezken enzim aktivitesinde hafif fakat önemli olmayan bir azalma meydana getirmiştir (61).

Asetilsalisilik asit pKa değeri 3-5 arasında olan zayıf asidik maddedir. Salisilatların emilimi, emilimden sonra vücut dokularına ve hücreler arası sıvıya dağılımı Ph'a bağımlı pasif difüzyonlardır. Artmış Ph'da salisilatlar daha iyonize hale geçerler böylece erirlikleri ve absorpsiyonları artar. Hücrelerin içi ile dışı arasında oluşan Ph farkından dolayı nisbeten bazik olan hücre içinde, buna benzer şekilde inflame hücrelerde konsantre olurlar (47,62). Çalışmamızda TPN solüsyonuna eklenen

oksijen radikallerinin oluşmasını inhibe ederek ve/veya oluşmasını engeller
ederek gösterir (62).

Bizim çalışmamızda T₁₀ ile TA₁₀ ve T₂₀ ile TA₂₀ grupları karşılaştırıldığında safra asit değerleri ve MPİİ değerlerinin TA gruplarında anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. Deney süresi 10 ve 20 gün olan TA gruplarında safra asitlerinin normal sınırlar içinde kalması ve MPİİ'nin TPN grubuna göre önemli derecede düşük olması ASA'nın TPN'ye bağlı kolestaz profilaksisinde kullanılabileceğini düşündürülebilir. Ayrıca ASA'nın antiagregan özelliğinin de olması TPN'de heparin kullanımına alternatif olabilir.

döndüğü rapor edilmiştir (63).

Farklı bir deneysel çalışmada, intraperitoneal olarak düşük dozda alfa- ve gamma-tokoferol enjekte edilen ratlar ile Vitamin E eksikliği olan ratlar üzerinde tokoferolün endojen lipid peroksidasyonuna ve sitokrom P₄₅₀ sistemine etkileri araştırılmıştır. Çalışmadaki bütün tokoferol preparasyonlarının tokoferol verilmeyen ratlarla karşılaştırıldığında karaciğerde lipid Schiff baz konsantrasyonunda iki kattan fazla azalmaya yolaçtığı bulunmuştur. Ancak sitokrom P₄₅₀ ve b5 seviyelerindeki ve mikrozomal oksidasyon sisteminin aktivitesinde artış sadece lipozomal gamma tokoferol enjeksiyonundan sonra indüklenmiştir (64).

Bizim çalışmamızda 10 gün TPN ile birlikte vitamin E alan gruba, sadece TPN alan gruba göre serum safra asidi düzeylerinde ve MPIİ'de belirgin derecede azalma kaydedilmiştir. Ancak 20 gün vitamin E kullanıldığında 20 gün sadece TPN alan gruba göre serum safra asit düzeyleri ve MPIİ değerleri arasında fark bulunamamıştır. Dolayısıyla, vitamin E erken dönemde kolestazi azaltan etkisini geç dönemde göstermemiştir. Vitamin E yağda eriyen ve depolanan vitaminlerdendir. Belki de belli bir eşik değerine kadar kolestaza etkili olmakta kan seviyesi bu eşik değerine üzerine çıktığında bu etkisini kaybetmektedir.

Karaciğer yaralanmasının karbon tetraklorür tarafından indüklendiğini vurgulamıştık. Karbon tetraklorür verildiğinde hepatik lipositler (perisinüzoidal hücreler) aktive

İnterferonlar ve diğer immünmodölatörlerin, hepatic sitokrom P₄₅₀ drog metabolize edici sistemi deprese ettikleri bilinmektedir. Sitokrom P₄₅₀'nin dengesi sentezin azalması ya da degradasyonun artmasına bağlı olarak bozular. İnterferonlar Xantin oksidazı indükleyerek süperoksit oluştururlar, bu da sitokrom P₄₅₀'yi tahrip eder. Mannering ve arkadaşları deneysel bir çalışmada interferonun oluşturduğu Xantin oksidaz indüksiyonu ve sitokrom P₄₅₀ kaybının birbiriyle ilişkili fenomenden ziyade rastlantısal olduğu sonucuna varmışlardır (70). Başka bir deneysel çalışmada ise α -interferonun; akciğer, adrenal ve dalaktaki sitokrom P₄₅₀ üzerine bifazik, böbrekte ise sadece depresan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (71).

Bizim çalışmamızda, interferonun erken dönemde (10 gün) etkili olmamasına karşın geç dönemde (20 gün) kolestaz ve portal inflamasyonu azalttığı saptanmıştır. İnterferon alan ratlarda (TF₁₀ ve TF₂₀) safra asit düzeyleri ve portal inflamasyon miktarı, sadece TPN alan ratlara göre daha düşük olduğu halde, bu fark ancak 20 günlük gruplar arasında anlamlı bulunmuştur. İnterferonların hem immünmodülatör hem de antifibrotik etkilerinin olması TPN uygulamasında avantaj sağlayabilir. Bos, Tibboel ve arkadaşları, pediatrik cerrahi yoğun bakım ünitelerinde, TPN'ye bağlı kolestaz gelişen bebeklerde sepsis insidansın oldukça yüksek olduğunu bulmuşlardır. Kolestazın konak immünitesine etkisine dair az bilgi vardır. Biliyer obstrüksiyon oluşturulan rat modellerinde, spesifik hücresel immünitenin bozulduğu gösterilmiştir. Bu bozukluk internal biliyer direnaja geriye döndürülmüştür. Yine biliyer obstrüksiyonun polimorfonükleer lökositler kadar pulmoner alveolar makrofajların fagositoz yeteneğini de bozduğu gösterilmiştir (1). Total parenteral nütrisyonla birlikte interferonun kullanılması kolestazı önlemesi yanında, hem direkt olarak immünmodülatör etki ile hem de indirekt olarak kolestazı önleyerek bağışıklık sistemi bozuk olan hasta yenidoğan ve prematürlerin TPN'ye bağlı komplikasyonlarını ve buna bağlı olarak mortalitelerini azaltabilir.

İnterferonlar lenfatik veya hematopoetik sistem neoplazmları, solid neoplazmlar ve viral hastalıkların (hepatit vs) tedavisinde başta olmak üzere oldukça geniş kullanım alanına sahiptirler. Total parenteral nütrisyonla birlikte interferon kullanımı ratlarda iyi tolere edilmiştir. İnterferon kullanan tümör hastalarında TPN gerektiğinde ikisinin birlikte kullanılabilmesi TPN'ye bağlı komplikasyonları azaltabilir.

Çalışmamızda ASA, α -interferon ve Vitamin E kolestazı önlemeye yönelik olarak TPN ile eş zamanlı verilmiştir. Bu profilaktik uygulamada α -interferonun ilk 10 günlük kullanımda etkisiz olduğunun saptanması, interferonun kolestaz oluştuktan sonra etkili olduğunu düşündürmektedir. ASA'nın hem erken hem de geç dönemde etkili bulunması ASA ile TPN'nin eş zamanlı kullanılabilceğini yani kolestazın profilaksisinde etkili olabileceğini göstermektedir .

Bu farmakolojik ajanların kolestaz oluştuktan sonra kullanıldıklarında etkilerinin nasıl olacağını bilemiyoruz. Kolestaz oluşturulmuş ratlarda ASA 100mg/kg/gün, α -interferon 100.000 IU/rat/gün, Vitamin E 50 mg/kg/gün kullanılarak etkilerinin araştırıldıktan sonra kolestazı azaltan ajanların klinikte uygulamaları söz konusu olabilir.

SONUÇLAR

1. Ratlarda intraperitoneal TPN kolaylıkla uygulanabilir bir yöntemdir.
2. Hepatobiliyer patoloji TPN uygulamasının çok erken dönemlerinde gelişmektedir.
3. Serum Transaminazları ve alkalin fosfataz gibi rutin karaciğer fonksiyon testleri, karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikleri tam olarak yansıtamamaktadır.
4. TPN'deki hepatobiliyer değişiklikleri en iyi yansıtan biyokimyasal tanı yöntemi serum safra asitleri düzeyidir.
5. TPN ile birlikte kullanılan asetilsalisilik asit, hem erken (10 gün) hem de geç (20 gün) dönemde TPN'ye bağlı hepatobiliyer disfonksiyon gelişimini azaltmaktadır veya önlemektedir. Bu sonuca; hem histopatolojik hem de biyokimyasal verilerle ulaşılmıştır.
6. TPN ile birlikte verilen vitamin E; erken dönemde kolestaz oluşumunu geciktirdiği halde daha geç dönemde (20 gün) etkili olamamıştır.
7. TPN ile birlikte verilen α -interferon erken dönemde kolestaza etkisiz iken daha geç dönemde (20 gün) kolestazı azaltmıştır.

ÖZET

Total parenteral nütrisyona (TPN) bağlı gelişen komplikasyonlardan birisi hepatobiliyer disfonksiyondur (2). Bu deneysel çalışmada amaç; TPN ile birlikte asetilsalisilik asit (ASA), vitamin E (Vit E) ve α -interferon (İF) verilerek, bu farmakolojik ajanların TPN sırasında gelişebilecek hepatobiliyer disfonksiyon üzerine etkilerini, biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerden yararlanarak araştırmaktır.

Wistar ratlar ile yapılan çalışmada her biri 10 rattan oluşan Kontrol-10 ve Kontrol-20 grubu (10 ve 20 gün %0,9 NaCl verildi), TPN-10 ve TPN-20 grubu (10 ve 20 gün sadece TPN verildi), "TPN+ASA"-10 ve "TPN+ASA"-20 grubu (10 ve 20 gün TPN+ASA verildi), "TPN+Vit E"-10 ve "TPN+Vit E"-20 grubu (10 ve 20 gün TPN+Vit E verildi), "TPN+ α -İF"-10 ve "TPN+ α -İF"-20 grubu (10 ve 20 gün TPN+ α -İF verildi) olmak üzere 10 ayrı deney grubu oluşturuldu. Deney süresince per oral beslenen ratlara; TPN, %0.9 NaCl ve farmakolojik ajanlar intraperitoneal enjeksiyonla verildi. Biyokimyasal olarak serum safra asiti, transaminazlar (SGOT, SGPT) ve alkalen fosfataz (ALP) düzeyleri ölçüldü. Histopatolojik olarak kolestaz bulguları "morfolojik portal inflamasyon indeksi" (MPIİ) kullanılarak araştırıldı.

Tüm grupların SGOT, SGPT, ALP değerleri arasında fark saptanmazken ($p>0.05$), safra asit düzeyleri ve MPIİ değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Serum safra asit değerleri ve MPIİ değerleri arasında anlamlı korelasyon saptandı ($p<0.05$). Tüm deney gruplarında çeşitli derecelerde portal inflamasyon geliştiği halde kontrol grubunda hiç saptanmadı. Asetil salisilik asit verilen ratlarda saptanan serum safra asit

konsantrasyonları ve MPIİ değerleri, sadece TPN alan gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.01$). Vitamin E alan ratlarda ise; erken dönemde kolestaz oranı nisbeten daha az olduğu halde daha geç dönemde (20 gün) fark bulunmadı ($p>0.05$). İnterferon'un ise geç dönemde kolestazı azalttığı görüldü ($p<0.05$).

Sonuç olarak; TPN ile birlikte gelişen hepatobiliyer disfonksiyonu önlemek amacıyla asetilsalisilik asitin ve α -interferonun kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bos AP, Tibboel D, Hazebroek FW, Bermeijer JH, van Kalsbeek EJ, Molar JC. Total parenteral nutrition associated cholestasis: a predisposing factor for sepsis in surgical neonates? *Eur J Pediatr* 1990; 149: 351-3.
2. Moss RL, Das JB, Raffensperger JG. TPN-Associated Cholestasis. Clinical and Histopathologic Correlation. *J Ped Surg* 1993; 28: 1270-75.
3. Russell JM. Cholestasis associated with TPN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986; 5: 9-22.
4. Vileisis RA, Sorensen K, Gonzalez-Crussi F, Hunt CE. Liver malignancy after parenteral nutrition. *J Pediatr* 1982; 100: 88-93.
5. Bowyer BA, Fleming CR, Ludwing J, Petz J, McGill DB. Does long-term home parenteral nutrition in adult patients cause chronic liver disease? *Gastroenterology* 1984; 86: 1033.
6. Sitzmann JV, Pitt HA, Steinborn HA, Pasha ZR, Sanders RC. Cholecystokinin prevents parenteral nutrition induced biliary sludge in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170: 25-31.
7. Gleghorn EE, Merritt RJ, Subramanian N, Ramos A. Phenobarbital does not prevent TPN-associated cholestasis in noninfected neonates. *J Parenter Enteral Nutr* 1986; 10: 282-3.
8. Cooper A, Ross AJ 3, O'Neill JA Jr, Bishop HC, Templeton JM Jr, Ziegler MM. Resolution of intractable cholestasis associated with TPN following biliary irrigation. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 772-4.

9. Curran TJ, Uzoaru I, Das JB, Ansari G, Raffensperger JG. The effect of cholecystokinin-octapeptide on the hepatobiliary dysfunction caused by TPN. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 242-6.
10. Guertin F, Roy CC, Lepage G, Perea A, Giguere R, Yousef I, Tuchweber B. Effect of taurine on TPN-associated cholestasis. *J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15: 247-51.
11. Kubota A, Okada A, Imura K, Kawahara H, Nezu R, Kamata S, Tagaki Y. The effect of metronidazole on TPN-associated liver dysfunction in neonates. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 618-21.
12. Kandrotas RJ, Gal P, Hansen CJ, Ransom JL, Weaver RL. The effect of TPN-induced cholestasis on theophylline clearance in neonates. *Ther Drug Monit* 1988; 10: 390-4.
13. Li SJ, Nussbaum MS, McFadden DW, Gapen CL, Dayal R, Fischer JE. Addition of glucagon to TPN prevents hepatic steatosis in rats. *Surgery* 1988; 104: 350-7.
14. Demircan M. Total parenteral nütisyon sırasında gelişen hepatobiliyer disfonksiyon ile alüminyum arasındaki ilişkinin deneysel olarak araştırılması. Ege Üniversitesi. 1995, İzmir, Türkiye.
15. Kerner JA Jr. Parenteral nutrition. In: Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, ed(s). *Pediatric Gastrointestinal Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management*. St Louis MO. Mosby Year Book. 1991: 1645-75.
16. Wesley JR, Coran AG. Intravenous nutrition for pediatric patient. *Seminars in Pediatr Surg* 1992; 3: 212-30.
17. Helfrick FN, Abelson NM. Intravenous feeding of a complete diet in a child. Report of a case. *J Pediatr* 1944; 25:400.

18. Heird WC. Amino acid and energy needs of pediatric patients receiving parenteral nutrition. *Ped Nutr* 1995; 42: 765-89.
19. Abina JE, Mmelnik G. Fluids, electrolytes and body composition. In: Rombeau JJ, Caldwell MD, ed(s). *Parenteral Nutrition*. Philadelphia: WB Saunders 1986: 38-143
20. Heird WC. Amino acid and energy needs of pediatric patients receiving parenteral nutrition. *Ped Nutr* 1995; 42: 765-85.
21. Guteher G, Cutz E. Complication of parenteral nutrition. *Seminars in Perinatology* 1986; 10: 196.
22. Whalen GF, Shamberger RC, Atayde AP, Folkman J. A Proposed Cause for the Hepatic Dysfunction Associated With Parenteral Nutrition. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 622-6.
23. Lirussi F, Vaja S, Murphy G, Dowling RH. Cholestasis of TPN. Bile acid and bile lipid metabolism in parenterally nourished rats. *Gastroenterology* 1989; 96: 493-502.
24. Cohen IT, Meunier KM, Hirsh MP. The effect of enteral stimulation on gallbladder bile during TPN in the neonatal piglet. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 163-7.
25. Fisher RL. Hepatobiliary Abnormalities Associated with TPN. *Gastroenterology Clinics of North America* 1989; 18: 645-67.
26. Goplerud JM. Hyperalimentation associated hepatotoxicity in the newborn. *Ann Clin Lab Sci* 1992; 22: 79-84.
27. Sheard NF, Kleinman RE. TPN cholestasis in premature infants. *Pediatr Ann* 1987; 16: 243- 52.
28. Lester R. Physiologic cholestasis. *Gastroenterology* 1980; 78: 864-65

29. Quigley EMM, Marsh MN, Shaffer JL, Markin RS. Hepatobiliary complication of TPN. *Gastroenterology* 1993; 104: 286-301.
30. Schaschmidt BF. Bile formation and cholestasis. In: Zakim D, Boyer TD, ed(s). *Hepatology*. 2th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1990; 12: 303-40.
31. Bengoa JM, Hanauer SB, Sitrin MD, Baker AL, Rosenberg IH. Pattern and prognosis of liver function test abnormalities during parenteral nutrition in inflammatory bowel disease. *Hepatology* 1985; 5: 79-84.
32. Levy JS, Winters RW, Heird WC. TPN in pediatric patients. *Pediatr Rev* 1980; 2: 99-106.
33. Gimmon Z, Kelley RE, Simko V, Fisher JE. TPN solution increases bile lithogenicity in rat. *J Surg Research* 1982; 32: 256-263.
34. Scharschmidt BF. Bile formation and cholestasis. In: Zakim D, Boyer TD ed(s). *Hepatology*. 2th ed. Chapt. 12. Philadelphia: WB Saunders Company 1990: 303-39.
35. Vlahcevic ZR, Heuman DM, Hyleman PB. Physiology and pathophysiology of enterohepatic circulation of bile acids. In: Zakim D, Boyer TD, ed(s). *Hepatology*. 2th ed. Philadelphia: WB Saunders Company 1990: 341-77.
36. Mayes PA. Cholesterol synthesis, transport and excretion. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, ed(s). *Harper's Biochemistry*. 21th ed. Norwalk: Appleton and Lange, 1988; 27: 241-52.
37. Vlahcevic ZR, Heuman DM, Hyleman PB. Physiology and pathophysiology of enterohepatic circulation of bile acids. In: Zakim D, Boyer TD, ed(s). *Hepatology*. 2th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 1990; 13: 341-77.
38. Johnson HM, Bazer FW, Szente BE, Jarpe MA. *Scientific American* 1994; 68-75.

39. Sodeman WA Jr, Sodeman T. Sodeman's Pathologic Physiology; 7th ed. Philadelphia: WB Saunders 1985: 157-158.
40. Cohen LS. Clinical pharmacology of acetylsalicylic acid. *Sem Thromb. Haemostas* 1976; 2: 146-75.
41. Roth, GJ. Acetylation of prostaglandin synthetase by aspirin. *Proc Natl Acad Sci*. 1975; 72: 3073-6.
42. Brandon RA, Eadie MJ. The basis for aspirin dosage in stroke prevention. *Clin Exp Neurol* 1987; 23: 47-54.
43. Smith JB. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature New Biol* 1971; 231: 235-7.
44. Vinazzer H. Influence of intravenously administered acetylsalicylic acid on platelet functions. *Haemostasis* 1975; 4: 12-22.
45. Halla JT, Hardin JG. Salicylate ototoxicity in patients with rheumatoid arthritis. A controlled study. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 134-7.
46. Hart FD, Huskisson EC. Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs* 1984; 27: 232-55.
47. Flower RJ, Moncada S, and John RV. Analgesic- antipyretics and antiinflammatory agents; Drugs employed in the treatment of gout. In: Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F, ed(s). *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. 7th ed. Newyork USA 1985; 29: 674-715.
48. Verbeek RK. et al. Clinical pharmacokinetics of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Pharmacokin* 1983; 8: 297-331.
49. Needs CJ, Brooks PM. Clinical pharmacokinetics of the salicylates. *Clin Pharmacokin* 1985; 10: 164-77.

50. Kayaalp O. Vitaminler. In: Kayaalp O, ed. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 3. Baskı. Ankara 1986: 2646-52.
51. HG Mandel ,VH Cohn. Fat-soluble vitamins. In: Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F, ed(s). Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 7 th ed. Newyork USA 1985; 67: 1573-91.
52. 52-Cogny A, Paul JL, Soni T, Atger V, Moatti N. Vitamin E: metabolism and role in atherosclerosis. Ann Biol Clin 1994; 52: 515-22.
53. Hata S, Nezu R, Kubota A, Kamata S, Takagi Yand Okada A. Effect of amino acids in total parenteral nutrition on cholestasis in newborn rabbits. J Pediatr Surg 1994; 29: 892-5.
54. Klein MD, Coran AG, Drogowski RA, Wesley JR. Long-term survival of dogs maintained solely on intraperitoneal nutrition. J Pediatr Surg 1985; 20: 765-71.
55. Klein MD, Coran AG, Drogowski RA, Wesley JR. The quantitative transperitoneal absorpsion of the fat emulsion: Implications for intraperitoneal nutrition. J Pediatr Surg 1983;18: 724-31.
56. Moss DL, Das JB, Ansari G. Total parenteral nutrition associated cholestasis is caused by the infusate not the route of administration. J Pediatr Surg 1993; 28: 391-97.
57. Robert G. Knodell, David G. Wood and F. Peter Guengerich. Selective alteration of constitutive hepatic cytochrome P-450 enzymes in the rat during parenteral hyperalimentation. Biochem Pharma 1989; 38: 3341-5.
58. Balistreri WF, Bove KE. Hepatobiliary consequences of parenteral alimentation. Prog Liver Dis 1990; 9: 567-601.

59. Whittington PF. Cholestasis associated with total parenteral nutrition in infants. *Hepatology* 1983; 5: 693-6.
60. Schaschmidt BF. Bile formation and cholestasis. In: Zakim D, Boyer TD, ed(s). *Hepatology*, 2th ed. Philadelphia: WB Saunders 1990; 2: 303-40.
61. Omer B, Oner P, Baysal K, Oz H. Effect of acetylsalicylic acid on liver plasma membrane Ca²⁺ATP'ase activity. *Pol J Pharmacol Pharm* 1990; 42: 441-6.
62. Kayaalp Oğuz. Narkotik olmayan analjezikler. 4. Baskı. Ankara; 1988: 1929-76.
63. Gons'kyi Ial, Korda MM, Klishch IM. Status of the free radical oxidation and antioxidant system in rats with toxic liver damage; effect of tocopherol and dimethylsulfoxide. *Ukr Biokhim Zh.* 1991; 63: 112-6
64. Lokshina EA, Abishev BKh, Sagindykova SE, Aidarkhanov BB. Effect of alpha and gamma-tokopherols on the cytochrome P-450 system in the liver of rats with E-avitaminosis. Effectiveness of liposomal forms of gamma-tokopherol. *Biokhim.* 1988; 53: 1188-92
65. Horvath EM, Blazovics A, Kemeny T, Vasarhelyi B, Weinbrenner Z, Feher J. Antioxidant effect of vitamin E in experimental hyperlipidemia. *Orv Hetil* 1993; 134: 1757-60
66. Florabel GM, Cesar AM, Kamal GH. Total Parenteral Nutrition: A Histopathologic Analysis of the Liver Changes in 20 Children. *Modern Pathology* 1994; 7: 190-4.
67. Rockey DC, Chung JJ. Interferon gamma inhibits lipocyte activation and extracellular matrix mRNA expression during experimental liver injury: implications for treatment of hepatic fibrosis. *J Investig Med.* 1994; 42: 660-70.

68. Moreno MG, Muriel P. Remission of liver fibrosis by interferon alfa- 2b. *J Gastroenterol & Hepatol* 1995; 10: 344-350.
69. Brunetto MR, Oliveri F, Demartini A, Calvo P, Manzini P, Cerenzia MT, Bonino F. Treatment with interferon of chronic hepatitis B associated with antibody to hepatitis B antigen. *J of Hepatol* 1991: 8-11.
70. Mannering GJ, Deloria LB, Abbott V. Role of xanthine oxidase in the interferon-mediated depression of the hepatic cytochrome P-450 system in mice. 1988; 48: 2107-12.
71. Mochhala SM, Renton KW, Stebbing N. Induction and depression of cytochrome P-450 dependent mixed-function oxidase by a cloned consensus alpha-interferon (IFN-alpha CON 1) in the hamster. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 439-447.