

Kafeik Asit Fenetil Ester Sıçanlarda Göğüs Travması Sonrası Gelişen Hepatik Hasarı Nükleer Faktör Kappa Beta ve İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentezini Baskılayarak Azaltır

Caffeic Acid Phenethyl Ester Reduces Hepatic Injury Following Chest Trauma by Suppressing Nuclear Factor Kappa Beta and Inducible Nitric Oxide Synthase in Rats

İhsan Karaboğa

Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, 59030, Tekirdağ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada göğüs travması modeli oluşturulan sıçanlarda meydana gelen hepatik hasara karşı kafeik asit fenetil ester (KAFE)'nin Nükleer Faktör Kappa Beta (NF- κ B) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivitesi üzerine etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Yöntem: Çalışmada 40 adet erişkin Wistar albino erkek sıçan sırasıyla 4 gruba ayrıldı; kontrol, göğüs travma modeli, göğüs travma modeli+KAFE ve KAFE grubu. KAFE uygulaması 7 gün boyunca 10 μ mol/kg/gün dozda intraperitoneal olarak gerçekleştirildi. Deney süresi sonunda karaciğer dokusu alınarak meydana gelen histopatolojik değişiklikler Hematoksilin-Eozin (H&E) boyaması ile değerlendirildi. Ayrıca hepatik NF- κ B ve iNOS aktiviteleri indirek immünohistokimyasal yöntemle incelendi.

Bulgular: Göğüs travması uygulanan grupta hepatosit kordonlarında dejenerasyonları ve sinüzoidal dilatasyon bulgularına rastlandı. Göğüs travması+KAFE grubunda histopatolojik bulguların göğüs travması grubuna göre daha hafif seyrettiği belirlendi. Ayrıca, göğüs travması+KAFE grubunda, göğüs travması grubuna kıyasla hepatik NF- κ B ve iNOS immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı derecede bir azalma olduğu görüldü ($p<0.05$).

Sonuç: KAFE'nin göğüs travması uyarımlı sıçan hepatik hasarında NF- κ B ve iNOS aktivitesini baskılayarak koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: travma, kafeik asit fenetil ester, nitrik oksit sentaz, NF-kappa B

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate the effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ B) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity against hepatic injury with chest trauma model in rats.

Method: In the study, 40 adult Wistar albino male rats were divided into 4 groups respectively; control, chest trauma, chest trauma+CAPE and CAPE groups. CAPE administration was performed intraperitoneally at a dose of 10 μ mol / kg / day for 7 days. At the end of the experiment, histopathologic changes were determined by hematoxylin-eosin (H&E) stain in liver tissue. In addition, hepatic NF- κ B and iNOS activities were examined by indirect immunohistochemical method.

Results: Degeneration of hepatocyte cords and sinusoidal dilatation findings were found in the chest trauma group. Histopathological findings of chest trauma + CAPE group were found to be milder than chest trauma group. In addition, a statistically significant reduction in hepatic NF- κ B and iNOS immunoreactivity was seen in the chest trauma + CAPE group compared to the chest trauma group ($p<0.05$).

Conclusion: CAPE has been shown to exert protective effects by suppressing NF- κ B and iNOS activity in chest trauma induced hepatic damage in rats.

Key Words: trauma, caffeic acid phenethyl ester, nitric oxide synthase, NF-kappa B

Giriş

Travmalar dünyada en yaygın ölüm sebeplerinin başında gelmektedir (1). Göğüs travması genel travma maruziyetinin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır olup, travmaya bağlı ölümlerin yaklaşık %25'inin sebebi olarak gösterilmektedir (2,3). Göğüs travması ile birlikte var olan çoklu travmalarda çoklu organ yetmezlikleri (karaciğer, akciğer, beyin) görülebilir (4). Çoklu travmalarda künt göğüs travması en kritik travmayı temsil eder ve travma sonrası ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıtın en önemli tetikleyicisi olarak kabul edilir (5).

Göğüs travmasının, proinflamatuvar sitokinler Tumor Nekrozis Faktör-alfa (TNF- α), İnterlökin-6 (IL-6) salınımını aynı zamanda kompleman sistemi hareketine geçirici sistemik etkileri olduğu bildirilmiştir (5,6).

Nükleer faktör kappa-beta (Nf- $\kappa\beta$) inflamasyonla ilişkili proinflamatuvar sitokinler TNF- α , İnterlökin 1-beta (IL-1 β), inflamasyon ilişkili indüklenebilir nitrik oksit (iNOS), adezyon molekülleri ve diğer bazı mediyatörlerin ekspresyonunu kontrol eden kritik bir transkripsiyon faktörüdür (7, 8). Nf- $\kappa\beta$ 'nin göğüs travması sonrası artan proinflamatuvar sitokin salınımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE), işçi anlar tarafından üretilen propolisin bir bileşeni olup; güçlü antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antioksidatif etkilere sahiptir (10,11). *In vivo* ve *in vitro* birçok deneysel çalışmada CAPE'nin, Nf- $\kappa\beta$ inhibe edici bir ajan olduğu bildirilmiştir (12-14). Literatürde, künt göğüs travması sonrası gelişen hepatik hasarda Nf- $\kappa\beta$ aktivasyonu üzerine CAPE'nin etkisinin incelendiği çalışma bulunmamaktadır. Deneysel olarak künt göğüs travması oluşturulan bu çalışmada; CAPE'nin karaciğerde oluşan histopatolojik değişikliklerin yanı sıra iNOS ve Nf- $\kappa\beta$ ekspresyonları üzerine olan etkilerinin immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirildi (Etik kurul onayı: 17/10/2017-Karar no:7). Çalışmada 40 adet erişkin *Wistar albino* erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında (22 \pm 2 °C, %60 nem, 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusu) içme suyu ve standart pellet yemle *ad libitum* olarak beslendi. Sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı;

1. Kontrol grubu (n=10); hiçbir uygulama yapılmayan grup,

2. Göğüs travması grubu (n=10); travma modeli uygulanan ve tedavi edilmeyen grup,

3. Göğüs travması + CAPE grubu (n=10); travma modeli uygulanan ve CAPE uygulaması yapılan grup,

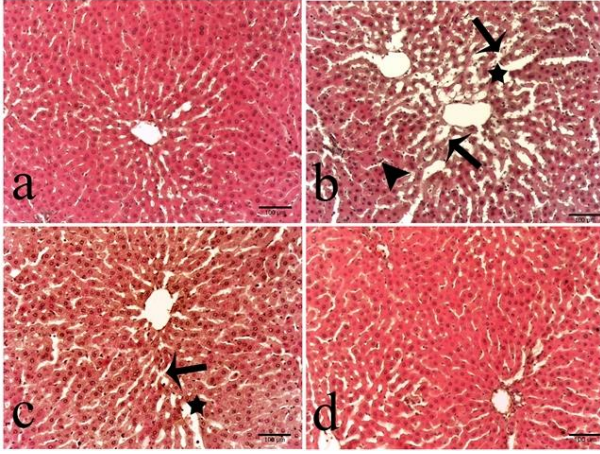
4. CAPE grubu (n=10); travma oluşturulmaksızın CAPE uygulaması yapılan gruptur.

Künt göğüs travma modeli Raghavendran ve ark. (12)'nin tanımladığı şekilde oluşturuldu. Sıçanlara genel anestezi ve sedasyon sağlandıktan sonra supin pozisyonda platforma sabitlenen sıçanların sağ hemitoraksı üzerine 400 g ağırlığında metal silindir 50 cm yükseklikten bırakıldı. Bu şekilde $E=m.g.h$ formülüne göre; E=Enerji (Joule), m=düşen cismin kütlesi (kg), g=yer çekim sabiti (9.8 m/s²), h=yükseklik toplamda 1.96 J' lük enerjinin aktarılması sağlandı (15).

CAPE (Sigma Aldrich, C8221) uygulaması intraperitoneal yolla, 10 μ mol/kg dozda dimetil sülfoksit (% 0,4) içerisinde çözünerek 7 gün süreyle uygulandı (16). Deney süresi sonunda sıçanlar ketamin-ksilazin (90-10 mg/kg) anestezisi altında orta hattan açıldı, kalpten kan alınarak sakrifiye edilen hayvanlardan karaciğer dokusu elde edildi. Elde edilen karaciğer dokusu histolojik ve immünohistokimyasal analizler için tamponlanmış nötral formaldehit (% 4) içerisinde 48 saat süreyle fiks edildi.

Histolojik İnceleme: Fiksasyon işlemi sonrasında dokular çeşme suyu altında bir gece yıkandıktan sonra yükselen alkol serisinden (%70-80-90-96-100) geçirilerek ksilol ile şeffaflandırıldı. Sırasıyla yumuşak ve sert parafin inklüzyonu yapılan dokular bloklanarak kesit alma işlemi için hazır hale getirildi. Gömme işlemi parafin dispenser (Slee, MPS) yardımıyla gerçekleştirildi. Alınan 5 μ m' lik doku kesitleri ksilolde deparafinize edilerek azalan alkol derecelerinden geçirilip suya indirildi. Önce Hematoksilin (Merck, 105174) ile çekirdek ve zemin boyaması yapıldı ve yıkama işleminden sonra Eozin (Merck, 102439) ile boyandı. Boyanın fazlası alındıktan sonra yükselen alkol serisinden geçirilerek toluolde şeffaflandırma işlemi yapıldı ve entellan yardımıyla kesitler kapatıldı.

İmmünohistokimyasal inceleme: Nf- $\kappa\beta$ ve iNOS immünohistokimyasal boyamaları indirekt immünohistokimyasal metot kullanılarak gerçekleştirildi. Bir gece etüvde bekletilen kesitler toluole alınarak parafinden arındırıldıktan sonra azalan alkol serisinden (%100-90-80-70) geçirilerek distile suya indirildi. PBS (Phosphate buffered saline, Thermo Fisher Scientific, 003002) ile yıkanan kesitler pappen kalem yardımıyla sınırlandırıldı. Antijen geri kazanımı işlemi sitrat tamponu (Merck, C9999) ile mikrodalga fırında (Arçelik, MD564) kaynatılarak gerçekleştirildi. Kesitlerin soğumasının ardından endojen peroksit baskılanması işlemi hidrojen peroksit

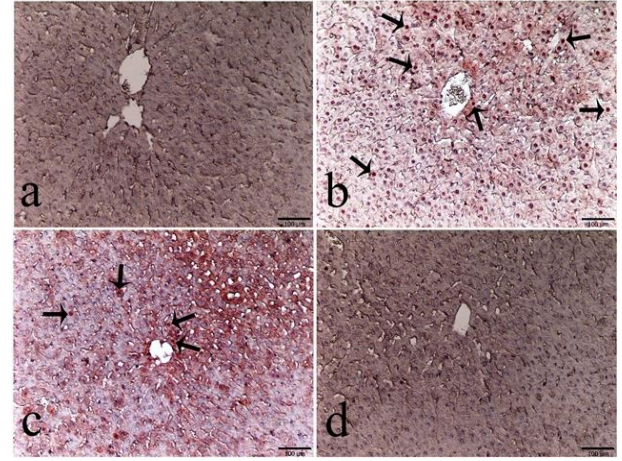


Şekil 1. Gruplara ait H&E ile boyanmış karaciğer kesitleri. (a) Kontrol, (b) Göğüs travma modeli, (c) Göğüs travma modeli+CAPE, (d) CAPE grubu (ok başı; inflamatuvar hücreler, ok; hepatik kordonda düzensizlik, yıldız; sinüzoidal genişleme, bar; 100µm, Büyütme; 200X)

(Sigma-Aldrich, H1009) kullanılarak yapıldı. Kesitlere laboratuvar sıcaklığında bir saat bloklama işlemi yapıldıktan sonra nemli kutu içerisinde primer antikor inkübasyonu (Nf- $\alpha\beta$ 1:50, iNOS 1:20) bir saat süreyle uygulandı. Sonrasında biotin ve streptavidinli sekonder antikorlarla işaretleme yapıldı (Ultravision Detection System, Thermo Fisher Scientific, TL-60-HL). Kromojen olarak AEC (3-Amino-9-ethylcarbazole, Thermo Fisher Scientific, TL-015-HAJ) kullanıldı. Zemin boyaması Mayers hematoksilen ile yapıldı. Histolojik ve immünohistokimyasal boyamalar Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Histoloji ve Embriyoloji Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi.

Mikroskopik İncelemeler: Elde edilen preparatlar ışık mikroskobu (Olympus CX41) ve görüntü analiz programı (Kameram, 2.1, Argenit) yardımıyla iki histolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Nf- $\alpha\beta$ immünreaktivitesi her aydınlık alanda pozitif boyanan çekirdeklerin (her gruptan 100 farklı alanda, 400x büyütmede) sayılmasıyla kantitatif olarak belirlendi. iNOS immünreaktivitesi ise semikantitatif olarak (0; boyanma yok, 1; zayıf, 2; orta, 3; şiddetli, 4; çok şiddetli) derecelendirildi (17).

İstatistiksel Değerlendirme: Veriler PASW (PASW Statistics 18.0.0, SPSS Inc, Chicago, IL) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplara ait sayısal parametreler non-parametrik test (Kruskal-Wallis) kullanılarak, iki yönlü karşılaştırma yapılan gruplarda elde edilen değerlerin anlamlılığı Mann-Whitney U-testi ile ölçüldü. Gruplar arasındaki fark, $p < 0.05$ 'ten daha az olduğu durumda anlamlı olarak kabul edildi.



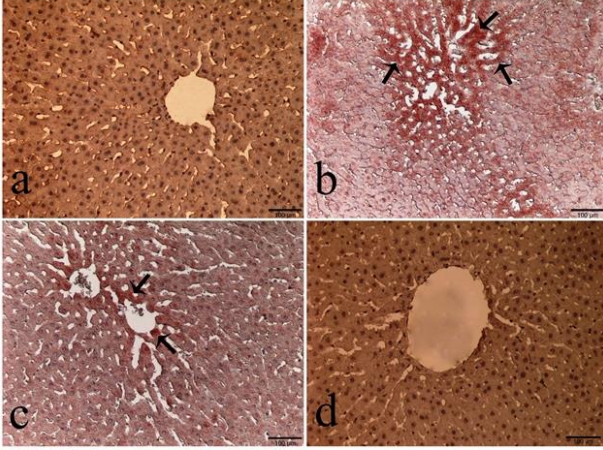
Şekil 2. Karaciğer dokusunda Nf- $\alpha\beta$ aktivitesi. (a) Kontrol, (b) Göğüs travma modeli, (c) Göğüs travma modeli+CAPE, (d) CAPE grubu. Nf- $\alpha\beta$ ' nin nükleer aktivasyonu (b) ve (c)' de görülmektedir. (Bar; 100µm, Büyütme; 200X, Zıt boyama; Mayers Hematoksilen).

Bulgular

Histopatolojik bulgular: Karaciğer dokusuna ait H&E boyanmış kesitlerin genel görünüşleri Şekil 1' de sunulmuştur. Kontrol grubu doku yapısı incelendiğinde karaciğer dokusunun normal görünümde olduğu gözlemlendi. Merkezde santral ve etrafında ışınal tarzda yerleşen hepatosit kordonlarının, sinüzoidlerin ve portal alanların yapısı sağlıklı doku yapısıyla uyumludur (Şekil 1-a). Göğüs travması grubu karaciğer yapısında hepatosit kordonlarının yer yer bozukluğu ve sinüzoidal genişleme belirgin olarak izlenmiştir (Şekil 1-b). Göğüs travması+CAPE grubunda belirtilen histopatolojik değişikliklerin daha hafif seyrettiği gözlemlenmiştir (Şekil 1-c). CAPE uygulanan grubun doku yapısı ise kontrol grubu ile benzerdir (Şekil 1-d).

İmmünohistokimyasal bulgular: Nf- $\alpha\beta$ immünohistokimyasal boyama bulguları incelendiğinde, göğüs travması uygulanan grupta immünreaktivitenin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmış olduğu ve özellikle nükleer bir boyanmanın olduğu belirlenmiştir (Şekil 2-a ve 2-b, $p < 0.05$). Göğüs travması+CAPE grubunda ise göğüs travması grubuna göre azalmış Nf- $\alpha\beta$ immünreaktivitesi belirlendi (Şekil 2-c, $p < 0.05$). CAPE grubunun boyanma yoğunluğu kontrol grubu ile benzerlik göstermektedir (Şekil 2-d). Boyanma yoğunlukları ortalaması Kontrol; 1.4 ± 0.69 , Göğüs travması; 21.7 ± 6.09 , Göğüs travması+CAPE; 11.4 ± 2.71 ve CAPE; 1.3 ± 0.67 olarak belirlenmiştir.

iNOS boyanma bulguları Şekil 3' de sunulmuştur. iNOS immünreaktivitesi hepatositlerde sitoplazmik olarak izlenmiştir. Kontrol grubunda yer yer çok



Şekil 3. Hepatositlerde iNOS immünreaktivitesi bulguları. (a) Kontrol, (b) Göğüs travma modeli, (c) Göğüs travma modeli+CAPE, (d) CAPE grubu. Göğüs travması oluşturulan gruba göre Göğüs travma modeli+CAPE grubunda azalmış ekspresyon izlenmekte (c). (Bar; 100µm, Büyütme; 200X, Zıt boyama; Mayers Hematoksilen)

hafif olarak gözlenen immünreaktivite göğüs travması uygulanan grupta anlamlı derecede artmıştır ($p<0.05$). Özellikle santral ven çevresinde yerleşen hepatositlerde boyanma belirgin olarak izlenmiştir (Şekil 3-b). Göğüs travması sonrası CAPE uygulaması yapılan grupta ise azalmış iNOS immünreaktivitesi izlenmiştir ($p<0.05$). Sadece CAPE uygulanan grupta ise kontrol grubuna benzer olarak zayıf bir iNOS immünreaktivitesi izlenmiştir. Grupların ortalama iNOS immünreaktivite skorları sırasıyla Kontrol; 0.3 ± 0.4 , Göğüs travması; 3.3 ± 0.6 , Göğüs travması+CAPE; 1.3 ± 0.4 ve CAPE; 0.3 ± 0.4 olarak kaydedilmiştir.

Tartışma

Bu çalışmada literatürde ilk kez, CAPE' nin göğüs travması oluşturulan sıçanlarda meydana gelen hepatik hasarı engellediği ve hepatik $\text{Nf-}\kappa\beta$ ile iNOS aktivitesini baskıladığı immünohistokimyasal olarak ortaya koyuldu.

Künt travmaya bağlı organ yaralanmaları, organların nisbi hareketliliğine göre değişebilmektedir. Karın boşluğundaki hareketli organlara kıyasla sabit organlarda görülen hasar daha yüksek olmaktadır (18). İçi hava, sıvı veya boşluk içeren organların aldığı hasar karaciğer gibi solid organlara göre farklı mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Çalışmamızda karaciğerdeki histopatolojik değişiklikler H&E boyama ile değerlendirildi. Göğüs travması oluşturulan grubun karaciğer dokusunda hepatosit kordonlarının organizasyonunda bozulmalar ve sinüzoidal dilatasyonlar önemli histopatolojik bulgular olarak değerlendirildi. Wagner ve ark. (19) künt göğüs travması oluşturulan sıçanların karaciğer dokusunda

nekroz bulgusu bildirmişlerdir. Abdominal ve diğer travma modellerinde de karaciğerde meydana gelen biyokimyasal ve histolojik değişiklikler farklı araştırmacılar tarafından ortaya koyulmuştur (19-22).

Çalışmalar, göğüs travmasının sistemik inflamatuvar cevabı tetiklediği; $\text{Nf-}\kappa\beta$, $\text{TNF-}\alpha$ ve $\text{IL-1}\beta$ gibi inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonlarını artırdığını göstermektedir (23). $\text{Nf-}\kappa\beta$ inflamatuvar yanıtta yer alan genlerin ekspresyonlarını düzenleyen ana transkripsiyon faktörüdür. Sitoplazmada inhibitör proteini olan $\text{I}\kappa\text{B}\alpha'$ ya bağlı olarak bulunan $\text{Nf-}\kappa\beta$, inflamatuvar sitokinler, bakteriyel lipopolisakaritler ve reaktif oksijen türevleri (ROT) gibi dış etkenlerle $\text{I}\kappa\text{B}$ kinazların aktive olmasıyla serbest hale geçerek translokasyona uğrar ve iNOS, $\text{TNF-}\alpha$ ile IL-6 gibi inflamatuvar proteinlerin ekspresyonlarını düzenler (8,24). Chu ve ark. (25) akut radyasyon uyarımlı hepatik hasar modelinde CAPE' nin $\text{Nf-}\kappa\beta$ ekspresyonunu ve apoptozisi azaltarak karaciğer koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir. Zhao ve ark. (26) lipopolisakarit uyarımlı modelde CAPE' nin karaciğerde $\text{Nf-}\kappa\beta$ ekspresyonunu azaltarak inflamasyon ve fibrozisi engellediğini bildirmiştir. Çalışmamızda göğüs travması oluşturulan grupta nükleer olarak artan $\text{Nf-}\kappa\beta$ ekspresyonu immünohistokimyasal olarak gösterildi. CAPE uygulanan grupta ise $\text{Nf-}\kappa\beta$ ekspresyonunda anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Çalışmamıza benzer olarak karaciğerde artan $\text{Nf-}\kappa\beta$ ekspresyonun CAPE uygulamasıyla azaltıldığı farklı çalışmalarda da ortaya konulmuştur (27,28).

Nitrik oksit (NO) yüksek oranda reaktif bir oksidan ve çok fonksiyonlu serbest radikaldir. İnflamasyon sürecinde NO, bir izoformu olan iNOS tarafından üretilerek ROT yoluyla karaciğerde oksidatif hasarı tetikleyebilir (29). iNOS sentezinin $\text{Nf-}\kappa\beta$ aktivasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (8). Artan iNOS aktivitesinin baskılanması organ hasarının azaltılmasında etkin bir strateji olabilir. Altıntaş ve ark. (17) bleomisin uyarımlı akciğer fibrozis modelinde artan iNOS aktivitesinin bir $\text{TNF-}\alpha$ inhibitörü olan Infliximab uygulamasıyla azaldığını ve buna bağlı olarak akciğerde apoptozis ve histopatolojik bulgularla önemli bir azalma olduğunu göstermişlerdir. Cho ve ark. (30) karbon tetraklorür uyarımlı karaciğer hasarı modelinde iNOS ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Çalışmamızla uyumlu olarak Shi ve ark. (31) sıçan karaciğer fibrozis modelinde iNOS ekspresyonunun arttığını ve CAPE uygulamasının iNOS aktivitesini baskıladığını göstermişlerdir.

Elde edilen bulgular, CAPE uygulamasının göğüs travması kaynaklı sıçan karaciğer hasar modelinde $\text{Nf-}\kappa\beta$ aktivitesini ve iNOS sentezini baskılaması yoluyla hasarı hafifletebileceğini göstermektedir. Çalışmanın

bulguları konu ile ilgili yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutucu niteliktedir.

Teşekkür: Bu çalışmaya desteklerinden dolayı Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Sakran JV, Greer SE, Werlin E, McCunn M. Care of the injured worldwide: trauma still the neglected disease of modern society. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2012;20(1):64.
2. Bakan V, Kurutaş EB, Çıralık H, Gül M, Çelik A. Künt göğüs travmasıyla oluşturulan pulmoner kontüzyon sıçan modelinde eritropoietin düzeyleri ve eksojen eritropoietinin etkileri. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2016;22(4):322–327.
3. Perl M, Gebhard F, Braumüller S, Tauchmann B, Brückner UB, Kinzl L, et al. The pulmonary and hepatic immune microenvironment and its contribution to the early systemic inflammation following blunt chest trauma. *Crit Care Med* 2006;34(4):1152-1159.
4. Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers GT, Leenen LP. Trauma: the role of the innate immune system. *World J Emerg Surg* 2006;1(1):15.
5. Recknagel S, Bindl R, Kurz J, Wehner T, Ehrnhaller C, Knöferl MW, et al. Experimental blunt chest trauma impairs fracture healing in rats. *J Orthop Res* 2011;29(5):734-739.
6. Knöferl MW, Liener UC, Seitz DH, Perl M, Brückner UB, Kinzl L, et al. Cardiopulmonary, histological, and inflammatory alterations after lung contusion in a novel mouse model of blunt chest trauma. *Shock* 2003;19(6):519-525.
7. Wu X, Song X, Li N, Zhan L, Meng Q, Xia Z. Protective effects of dexmedetomidine on blunt chest trauma-induced pulmonary contusion in rats. *J Trauma Acute Care Surg* 2013;74(2):524-530.
8. Sordi R, Chiazza F, Johnson FL, Patel NS, Brohi K, Collino M, et al. Inhibition of I κ B kinase attenuates the organ injury and dysfunction associated with hemorrhagic shock. *Mol Med* 2015;21(1):563-575.
9. Fudala R, Allen TC, Krupa A, Cagle PT, Nash S, Gryczynski Z, et al. Increased levels of nuclear factor κ B and Fos-related antigen 1 in lung tissues from patients with acute respiratory distress syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135(5):647-6454.
10. Ho YJ, Lee AS, Chen WP, Chang WL, Tsai YK, Chiu HL, et al. Caffeic acid phenethyl amide ameliorates ischemia/reperfusion injury and cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol* 2014;13(1):98.
11. Parlakpınar H, Örum MH, Acet A. Kafeik asit fenetil ester (KAFE) ve miyokardiyal iskemi reperfüzyon (Mİ/R) hasarı. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2012; 1: 5-10. 2012.
12. Linard C, Marquette C, Mathieu J, Pennequin A, Clarençon D, Mathé D. Acute induction of inflammatory cytokine expression after γ -irradiation in the rat: effect of an NF- κ B inhibitor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58(2), 427-434.
13. Toyoda T, Tsukamoto T, Takasu S, Shi L, Hirano N, Ban H, et al. Anti-inflammatory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a nuclear factor- κ B inhibitor, on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Int J Cancer* 2009;125(8):1786-1795.
14. Liu X, Zhang X, Wang F, Liang X, Zeng Z, Zhao J, et al. Improvement in cerebral ischemia-reperfusion injury through the Tlr4/nf- κ b pathway after Kudiezi injection in rats. *Life Sci* 2017;191:132-140.
15. Raghavendran K, Davidson BA, Helinski JD, Marschke CJ, Manderscheid P, Woytash JA, et al. A rat model for isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma. *Anesth Analg* 2005;101(5):1482-1489.
16. Firat U, Senol S, Gelincik I, Kapan M, Tokgoz O, Tekin R, et al. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on bacterial translocation and inflammatory response in an experimental intestinal obstruction model in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19(10):1907-1914.
17. Altıntaş N, Erboga M, Aktas C, Bilir B, Aydin M, Sengul A, et al. Protective effect of infliximab, a tumor necrosis factor- α inhibitor, on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Inflammation* 2016;39(1):65-78.
18. Stewart DJ. Blunt Chest Trauma. *J Trauma Nurs* 2014;21(6):282-284.
19. Wagner N, Dieteren S, Franz N, Köhler K, Mörs K, Nicin L, et al. Ethyl pyruvate ameliorates hepatic injury following blunt chest trauma and hemorrhagic shock by reducing local inflammation, NF- κ B activation and HMGB1 release. *PloS one* 2018;13(2):e0192171.
20. Kafadar H, Kafadar S, Tokdemir M. Comparison of internal organ injuries by blunt abdominal trauma in rats with empty or full stomach. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2014;20(6):395-400.
21. Bartolini L, Danti G, Raspanti C, Addeo G, Cozzi D, Trinci M, et al. Hepatic Injuries. *Diagnostic Imaging in Polytrauma Patients*: Springer; 2018. p. 315-334.
22. Lu Q, Lu Y, Zhang Y, Li Z, Xie X. Establishment and evaluation of rat trauma hemorrhagic liver injury model. *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(7):7340-7349.
23. Seitz DH, Perl M, Liener UC, Tauchmann B, Braumüller ST, Brückner UB, et al. Inflammatory alterations in a novel combination model of blunt

- chest trauma and hemorrhagic shock. *J Trauma* 2011;70(1):189-196.
24. Hinz M, Scheidereit C. The I κ B kinase complex in NF- κ B regulation and beyond. *EMBO Rep* 2014;15(1):46-61.
25. Chu J, Zhang X, Jin L, Chen J, Du B, Pang Q. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester against acute radiation-induced hepatic injury in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 2015;39(2):683-689.
26. Zhao WX, Wang L, Yang JL, Li LZ, Xu WM, Li T. Caffeic acid phenethyl ester attenuates pro-inflammatory and fibrogenic phenotypes of LPS-stimulated hepatic stellate cells through the inhibition of NF- κ B signaling. *Int J Mol Med* 2013;33(3):687-94.
27. Saavedra-Lopes M, Ramalho FS, Ramalho LN, Andrade-Silva A, Martinelli AL, Jordão AA, et al. The protective effect of CAPE on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *J Surg Res* 2008;150(2):271-277.
28. Bezerra RMN, Veiga LF, Cactano AC, Rosalen PL, Amaral MEC, Palanch AC, et al. Caffeic acid phenethyl ester reduces the activation of the nuclear factor κ B pathway by high-fat diet-induced obesity in mice. *Metabolism* 2012;61(11):1606-1614.
29. Farombi EO, Shrotiya S, Surh YJ. Kolaviron inhibits dimethyl nitrosamine-induced liver injury by suppressing COX-2 and iNOS expression via NF-kappaB and AP-1. *Life Sci* 2009; 30;84(5-6):149-55.
30. Cho BO, Ryu HW, So Y, Jin CH, Baek JY, Park KH, et al. Hepatoprotective effect of 2, 3-dehydrosilybin on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Food Chem* 2013;138(1):107-115.
31. Shi Y, Guo L, Shi L, Yu J, Song M, Li Y. Caffeic Acid Phenethyl Ester inhibit Hepatic Fibrosis by Nitric Oxide Synthase and Cystathionine Gamma-Lyase in Rats. *Med Sci Monit* 2015;21:2774-2780.