

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ
SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**İNTESTİNAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİNDE ÇİNKO,
ALFA TOKOFEROL, BUFLOMEDİL, PENTOKSİFİLİN VE İKİLİ
KOMBİNASYONLARININ ROLÜ**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR.ERTAN BÜLBÜLOĞLU**

**DR.AHMET ÖNDER
UZMANLIK TEZİ**

KAHRAMANMARAŞ/2007

TEŞEKKÜR

Bilgi ve tecrübelerini, büyük bir sabır ve içtenlikle bize aktaran ve bir cerrah olarak yetişme sürecimizde bize iyi bir örnek olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. İlhami Taner Kale'ye,

Asistanlığım sürecinde bilgi ve tecrübelerini bize hoşgörü ve sevecenlikle aktaran saygıdeğer hocam Doç. Dr. Fikret Ezberci' ye,

Cerrahiye bize sevdiren ve bir cerrah olarak bize özgüven aşıl原因an tez hocam Doç. Dr. Ertan Bülbüloğlu' na,

Asistanlık sürecimin ikinci yarısından itibaren bize bilgi, deneyim ve imkanlarını içtenlikle sunan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. M. Fatih Yüzbaşıoğlu' na

Tez çalışmamda değerli katkıları olan Yrd. Doç. Dr. Ergül Belge Kurutaş ve Yrd. Doç. Dr. Harun Çıralık ve Yrd. Doç. Dr. Ali Çetinkaya hocalarıma,

Tez çalışmamın düzenlenmesinde değerli katkıları olan meslektaşım Dr. Mehmet Kabalcı' ya, eğitim sürecim içerisinde beraber çalıştığım Genel Cerrahi ve diğer bölümlerdeki asistan arkadaşlarıma ve tüm hastane personeline,

Bugünlere gelmemde büyük katkı sahibi olan ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme ve sevgili nişanlıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ahmet ÖNDER

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	iii
KISALTMA LİSTESİ	iv
ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	v-vi
ABSTRACT, KEYWORDS	vii-viii
GİRİŞ VE AMAÇ	ix
GENEL BİLGİLER	1-19
MATERYAL VE METOD	20-25
BULGULAR	26-33
TARTIŞMA	34-42
SONUÇLAR	43
KAYNAKLAR	44-52

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo I	İskemi reperfüzyon hasarına karşı endojen savunma mekanizmaları	8
Tablo II	Deney gruplarının MDA ve antioksidan enzim değerleri	29
Tablo III	Grupların histopatolojik analiz sonuçları	33
Şekil 1	Fenton ve Haber Weiss reaksiyonları	5
Şekil 2	Serbest radikallerin eliminasyonu ve antioksidan enzim sistemi	6
Şekil 3	İskemi Reperfüzyon Hasarı	8
Şekil 4	Enflamasyon sahasına lökosit göçünün güncel modeli	12
Şekil 5	Mediyan laparotomi insizyonu	22
Şekil 6	SMA'nın transeksiyonu	22
Şekil 7	SMA'nın klempajı	22
Şekil 8	Çıkarılacak terminal ileumun belirlenmesi	22
Şekil 9	Grupların MDA düzeyleri	30
Şekil 10	Gruplarda katalaz aktivitesi	30
Şekil 11	Gruplarda GPX aktivitesi	31
Şekil 12	Gruplarda SOD aktivitesi	31
Şekil 13	Grade 0 histopatolojik hasar	32
Şekil 14	Grade 1 histopatolojik hasar	32
Şekil 15	Grade 2 histopatolojik hasar	32
Şekil 16	Grade 3 histopatolojik hasar	32

KISALTMA LİSTESİ

- AMİ: Akut mezenterik iskemi
- SMA: Superior mezenterik arter
- İRH: İskemi Reperfüzyon hasarı
- ATP: Adenozin trifosfat
- SR: Serbest radikaller
- NO: Nitrik oksit
- SOR: Serbest oksijen radikalleri
- XO: Ksantin oksidaz
- XD: Ksantin dehidrogenaz
- MPO: Myeloperoksidaz
- SNR: Serbest nitrojen radikalleri
- O₂⁻: Süperoksit radikali
- H₂O₂: Hidrojen peroksit
- GPX: Glutatyon peroksidaz
- MDA: Malonilaldehit
- PAF: Platelet aktive edici faktör
- MOF: Multipl organ yetmezliği
- ICAM: İntrasellüler adezyon molekülü
- İNOS: Uyarılabilir nitrik oksit sentaz
- MAC: Membran atak kompleksi
- NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
- ET: Endotelin
- PLA₂: Fosfolipaz A₂
- PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

ÖZET

İntestinal iskemi reperfüzyon hasarı, birçok cerrahi olgu esnasında oluşan ve patofizyolojisi hala tam olarak anlaşılamayan bir problemdir. Bu çalışmamızda, ratlarda intestinal iskemi reperfüzyon hasarını önlemede Çinko, Alfa tokoferol, Buflomedil, Pentoksifilin ve ikili kombinasyonlarının etkinliğini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 8 rattan oluşan toplam 8 grup oluşturuldu. Sham grubundaki ratlara, superior mezenterik arterin transeksiyonunu takiben herhangi bir işlem uygulanmadı. Kontrol grubundaki ratlara 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Etkin madde verilen gruplarda da aynı iskemi ve reperfüzyon yöntemi uygulandı. Bu gruplarda, reperfüzyondan 15 dakika önce etken maddeler intraperitoneal yolla verildi. Deney sonunda ratlardan biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amaçlı terminal ileum örneği alındı. Gruplarda, oksidan hasarın belirteci olan MDA düzeyi ve antioksidan enzimler olan SOD, GPX ve katalaz aktiviteleri çalışıldı. Histopatolojik hasarın tesbitinde bir 6 aşamalı skorlama sistemi kullanıldı.

Kontrol grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında, kontrol grubu MDA düzeyi anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Çinko ve Çinko+Alfa tokoferol gruplarında, MDA düzeyinin anlamlı bir şekilde düştüğü saptandı ($p<0.05$). Diğer grupların MDA düzeyleri de kontrol grubuna göre düşük çıkmasına rağmen, aradaki fark anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Çinko+Alfa tokoferol grubu ile sham grubu arasında MDA düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Alfa tokoferol grubu haricinde diğer tüm gruplarda SOD düzeyi, kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p<0.05$). Diğer antioksidan enzim düzeyleri açısından gruplar arasında oldukça farklı sonuçlara ulaşıldı. Histopatolojik olarak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sadece Buflomedil+Pentoksifilin grubunda anlamlı olarak daha iyi sonuca ulaşıldı ($p<0.05$).

Sonuç olarak;

1- İntestinal iskemi reperfüzyon sonrası oluşan oksidan hasarı önlemede, Çinko etkin bulunmuş ve Alfa tokoferol ile kombine uygulandığında bu etki daha da artmıştır.

2- Alfa tokoferol tek başına kullanıldığında, bir miktar antioksidan etki göstermiş, MDA düzeyini kontrol grubuna göre düşürmüştü fakat bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

3- Buflomedil ve Pentoksifilin tek tek kullanıldığında MDA düzeyini düşürmüşlerdir ama bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Buflomedil grubunda MDA düzeyi, Pentoksifilin grubuna göre düşük bulunmuş ama bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

4- Buflomedil+Pentoksifilin kombinasyonu, MDA düzeyini kontrol grubuna kıyasla düşürmüş ama bu düşüş anlamlı çıkmamıştır ($p>0.05$). Bu grup, kontrol grubuna göre, histopatolojik tabloyu anlamlı şekilde düzelten tek grup olmuştur ($p<0.05$). Bu durum, Buflomedil ve Pentoksifilin' in iskemi reperfüzyon sonrası oluşan hasarı, antioksidasyon yoluyla değil de, dolaşım düzenleyici etkileri nedeniyle azalttıklarını düşündürmektedir.

5- Antioksidan enzim aktiviteleri açısından gruplar arasında farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Alfa tokoferol grubu hariç diğer tüm gruplarda, SOD düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükselmiştir ($p>0.05$).

Anahtar kelimeler: İskemi reperfüzyon hasarı, Çinko, Alfa tokoferol, Buflomedil, Pentoksifilin.

ABSTRACT

The pathophysiology of intestinal ischemia reperfusion injury, which occurs during many surgical cases, has not been understood completely. In our study, We aimed to evaluate the preventive efficiency of Zinc, Alpha tocopherol, Buflomedil and Pentoxifylline in intestinal ischemia reperfusion injury in rats.

In our study, eight groups have been constituted, each contained eight rats. To the rats in sham group, nothing has been applied following transection of superior mesenteric artery. 60 minutes ischemia and 60 minutes reperfusion has been applied to the rats in the control group. The same ischemia and reperfusion procedure has also been applied to the groups which were given medication. In these groups, the agents have been given intraperitoneally 15 minutes before reperfusion. At the end of experiment, terminal ileum sampling has been carried out from rats for biochemical and histopathologic evaluation. In the groups, MDA levels, a marker of oxidant injury and the activities of antioxidant enzymes; SOD, GPX, catalase, have been evaluated. A six-level ranking system has been used to determine histopathologic injury.

Control group's MDA level was significantly higher, in comparison with sham group ($p < 0.05$). When compared with control group, a statistically significant decrease of MDA levels has been determined in Zinc and Zinc+Alpha tocopherol groups ($p < 0.05$). Despite the other groups' MDA levels were lower than the control group, the differences were not statistically significant ($p > 0.05$). A statistically significant difference was not noted between sham and Zinc+Alpha tocopherol groups in terms of MDA levels ($p > 0.05$). SOD levels in all groups except Alpha tocopherol group were higher than control group ($p < 0.05$). Different antioxidant enzyme levels have been determined among the groups. Histopathologically, only Buflomedil+Pentoxifylline group has better results significantly, comparing with control group ($p < 0.05$)

In conclusion;

1. Zinc has been effective to prevent oxidant injury occurred after intestinal ischemia reperfusion and this efficiency has increased when this drug has been applied in a combination with Alpha tocopherol.

2. Alpha tocopherol, when used alone, has shown some antioxidant effects decreasing MDA levels, but this decrease has not been statistically significant ($p>0.05$).

3. Buflomedil and Pentoxifylline, when each used alone, has decreased MDA levels, but these decreases have not been statistically significant ($p>0.05$). MDA level of Buflomedil group has been lower than Pentoxifylline group's level, but this difference has not been statistically significant ($p>0.05$).

4. Buflomedil+Pentoxifylline group has decreased MDA levels when compared with control group, but this decrease has not been statistically significant ($p>0.05$). Only this group has improved histopathologic picture comparing with control group ($p<0.05$). In this occasion, Buflomedil and Pentoxifylline, may possibly have prevented injury occurred after intestinal ischemia reperfusion not by antioxidation but because of their circulation regulatory effects.

5. Different results have been determined among the groups, in terms of antioxidant enzyme activities. In all groups except Alpha tocopherol group, SOD levels has increased significantly, comparing with control group ($p<0.05$).

Keywords: Ischemia reperfusion injury, Zinc, Alpha tocopherol, Buflomedil, Pentoxifylline.

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut mezenterik iskemi, birçok cerrahi ve cerrahi dışı olay sonucunda oluşan, son yıllarda tanı ve tedavi olanaklarındaki gelişmelere rağmen yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sahip bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır (1,2). İskemik atak sonrasında, nekroze olan barsak segmentlerinin çıkarılmasını takiben, geride kalan dokunun canlılığını sürdürebilmesi için reperfüzyon şarttır. Bununla birlikte, iskemi süreci içerisinde biriken bazı toksik metabolitler, reperfüzyon fazında dolaşıma katılarak, iskemiyeye maruz kalan dokuda ve uzak organlarda sistemik enflamatuvar bir yanıtı oluşturmaktadırlar. Reperfüzyon sırasında oluşan hasar, iskemi sürecinde oluşan hasardan daha büyüktür (6).

İskemi reperfüzyon hasarının oluşmasında rol oynayan faktörlerden en etkin olanları; serbest oksijen radikalleri ve aktive olan nötrofillerdir. Reperfüzyon fazında, yüksek miktarda oksijen dokuya sunulduğunda, hızlıca serbest radikal üretimi başlar ve oluşan serbest radikaller başta hücre membranı olmak üzere bazı hücrenel komponentlerle etkileşime girerek yapılarını bozarlar (3).

Vücutta, serbest radikal aracılıklı hasara karşı dokuları koruyan endojen bir antioksidan sistem bulunmaktadır. Bunların en önemlileri; superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimleri, A, C, E vitaminleridir (3). Fakat bu sistem, reperfüzyon fazında yüksek miktarda oluşan serbest oksijen radikallerini elimine edememektedir. Bu yüzden çeşitli antioksidanlar, iskemi reperfüzyon hasarının tedavisinde denenmektedir. Çinko ve Alfa tokoferol, antioksidan etkinlikleri bilinen maddelerdir ve çeşitli iskemi reperfüzyon modellerinde çalışılmışlardır (15,16, 18,24).

İskemi reperfüzyon sürecinde aktive olan nötrofiller serbest radikalleri ve çeşitli sitokinleri üretirler. Bu maddeler, nötrofil aktivasyonunu artırmak yoluyla kısır bir döngü oluştururlar.

İskemi reperfüzyon hasarı patogeneğinde nötrofillerin merkezi rolü ortaya konulduktan sonra, bu hasarı önlemek için nötrofil fonksiyonları üzerine etkili birçok madde çalışılmıştır. Buflomedil ve Pentoksifilin, mikrosirkülasyonu düzenleyen ve nötrofil fonksiyonları üzerinde etkileri gösterilen maddelerdir.

Biz bu çalışmada, intestinal iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde veya azaltılmasında Çinko, Alfa tokoferol, Buflomedil ve Pentoksifilin' in etkinlikleri araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Mezenterik İskemi

Akut mezenterik iskemi (AMİ), potansiyel olarak, intestinal kan akımının, etkilenen organların hayatiyetlerini tehdit edecek ve metabolik gereksinimlerini bozacak kadar azalması olarak tanımlanabilir. Bu problem, ilk olarak yaklaşık 50 yıl önce superior mezenterik arterde (SMA) yapılan başarılı bir embolektomi işleminin tanımlanmasından sonra artan sıklıkta görülen bir hastalık haline gelmiştir. Mezenterik dolaşımın kronik tıkalıcı hastalığı ise, seyrek görülen bir durum değildir (1).

Mezenterik iskemi;

-Akut trombotik ve akut embolik mezenter arter iskemisi

-Viseral venöz tromboz

-Kronik mezenterik iskemi

-Nonokluziv mezenterik iskemi'yi içermektedir (2).

SMA embolisi, AMİ vakalarının en sık nedenidir ve olguların yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Emboli kaynağı, tipik olarak enfarktüs sonrası akinetik hale gelen veya anevrizma oluşumu gösteren sol ventrikül, atrial fibrilasyon paternindeki bir sol atrium veya nadiren bakteriyel endokarditli hastalarda kapakta yerleşen vejetasyonlardır.

Mezenterik veya portal venöz sistemde gelişen tromboz, etkilediği barsak anslarının canlılığını tehdit eden bir intestinal iskemiyeye yol açabilir. Yaşlı hastalarda mezenterik dolaşım, aterosklerotik lezyonların sıkça yerleştiği bir alan olmasına karşın, artmış potansiyel kollateral ağların mevcudiyeti nedeniyle bu hastalarda sıklıkla semptom görülmemektedir.

İntestinal kan akımının bozulması, tıkayıcı bir durumun olmadığı durumlarda, ciddi vazokonstriksiyon sonucu gelişebilir. Nonokluziv mezenterik iskemi, nadir görüldüğü kanısının aksine AMİ olgularının yaklaşık %20 sini oluşturmaktadır (1).

İskemi-reperfüzyon hasarı (İRH)

İntestinal iskemi, mezenterik damarlarda kan akımının yetersiz olması, bunun sonucunda oluşan hipoksi ve tam açıklanamamış mekanizmasıyla sadece barsaklarda değil, diğer hayati organlarda da hasar oluşturmasıyla karakterize olan bir hastalıktır. Ayırıcı tanısı çok güç olup, erken tanı ve gerekli cerrahi girişimle, yüksek olan morbidite ve mortalite aşağı çekilebilir. Bu nedenle, erken tanı amaçlı birçok biyokimyasal belirteç çalışılmıştır. Artmış serum fosfat ve kreatin fosfokinaz düzeyleri nispeten faydalı bulunmuş parametrelerdir (3).

Arteriyel iskemi, oksijen sunumunu engelleyerek dokularda bazı değişimleri başlatır, böylece aerobik enerji metabolizması bozulur. Bu durum, intrasellüler adenozin trifosfat (ATP) miktarında azalmaya ve hücresel homeostazın bozulmasına yol açar (4).

İskemi süreci boyunca, yetersiz oksijen sunumu sonucunda mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun bozulmasıyla birlikte biriken bazı metabolitler, direkt veya medyatörler aracılığıyla hücre hasarına yol açarlar (5).

Dokuların canlılığının şüpheli olduğu durumlarda, iskemiye takiben reperfüzyon sağlanması şarttır. Ama, reperfüzyon sağlandığı anda oluşan hasarın iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan çok fazla olduğu aşikardır. Parks ve Granger, kedilerdeki iskemi-reperfüzyon modelinde, reperfüzyon esnasında oluşan doku hasarının iskemi esnasında oluşan hasardan daha büyük olduğunu bildirmişlerdir (6).

İRH oluşmasında bazı etyolojik faktörler tanımlanmış olsa da, hasarın oluşmasında rol oynayan mekanizmalar ve bu mekanizmaları işleten medyatörler kesin olarak ortaya konamamıştır. Suçlanan faktörler arasında, proteazların ve

fosfolipazların aktivasyonu, kalsiyum konsantrasyonlarındaki değişiklikler, ATP rezervinin tüketilmesi, serbest radikaller (SR) le oluşan hücre hasarı, nitrik oksit (NO) sentezinin inhibisyonu, sitokinler, kemokinler ve endotelin (ET) gibi bazı medyatörler bulunmaktadır. Bunlara ilave olarak, nötrofil gibi bazı immün sistem hücrelerinin aktif rol oynadığı belirlenmiştir (7).

İskemi esnasında, hücre ve doku düzeyinde, sinyal yollarında ve yüzey molekülü oluşumunda çeşitli karışıklıklar oluşur. İskeminin süresi ve ciddiyetine bağlı olarak hücre içerisinde toksik ürünler birikir. Bu ürünler, nekroza neden olarak sonuçta organ fonksiyonunda bozulmaya yol açar. Reperfüzyon süreci boyunca da, biriken toksik metabolitler sisteme akarak, diğer organları ve/veya iskemik organın rejenerasyon sürecini olumsuz yönde etkilerler (8).

İntestinal İRH; AMİ, kardiyovasküler cerrahi, abdominal aorta cerrahisi, ince barsak transplantasyonu, travmatik veya septik şok, ciddi yanıklar, strangülasyon-obstruksiyon, nekrotizan enterokolit ve abdominal laparoskopik girişimler sırasında oluşturulan pnömoperitonium gibi bazı olaylar esnasında oluşmaktadır (9,10,11).

Daha önce yapılan bazı çalışmalarda, barsakların İRH' na karşı oldukça hassas olduğu gösterilmiştir. Villus nekrozu, intestinal iskemi sırasında görülen en erken histopatolojik bulgudur. Barsaklar, serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşumu için gerekli olan ksantin dehidrogenaz (XD)-ksantin oksidaz (XO) sisteminin en zengin kaynağıdır (11,12).

Splanknik arterlerin oklüzyon ve reperfüzyonu, başlıca artmış vasküler permeabilite nedeniyle meydana gelen dolaşımsal bir şoka neden olabilir. Vasküler permeabilitede artış sonucu, polimorfonükleer hücrelerin adezyonunda artış, proinflatuar maddelerin salınımı ve nitrojen-oksijen kaynaklı SR'in oluşumu gibi toplam hasarın meydana gelmesine katkı sağlayan olaylar başlar (13).

İnce barsağın iskemi ve reperfüzyonu, mukozal bariyerin kırılmasına yol açarak, uzak organlarda da görülen sıvı-elektrolit ve asit-alkali dengesi bozulması,

bakteriyel translokasyon ve yangısal cevapların başlaması gibi bir takım olayları tetikler (13).

İRH ve serbest radikaller

SOR ve serbest nitrojen radikallerinin (SNR) üretimi, İRH' nin oluşumundaki başlıca faktörlerden birisidir (3,14,15,16).

Bu radikallerin iskemi-reperfüzyon sürecindeki kaynakları; mitokondrilerin elektron transport zincirleri, XO metabolizması, endotel hücreleri, prostoglandinler ve aktive olan nötrofillerdir (13).

Normal koşullarda, oksijen molekülü (O_2), su (H_2O) oluşturacak şekilde mitokondrilerdeki sitokrom sistemi tarafından dört değerlikli indirgenmiş vaziyette tutulurlar. Ama, O_2 ' nin yaklaşık %1 ila 2 si, SOR oluşturmak üzere, bu yoldan kurtulup tek değerlikli redüksiyona uğrarlar. Yine normal şartlar altında, bu radikaller, endojen antioksidan enzimler tarafından nötralize edilir. Fakat, reperfüzyon esnasında yüksek konsantrasyonda SOR oluşur ve sonradan zararlı etkiler meydana getirecek, oksidatif stres adı verilen bir süreci açığa çıkarırlar (13).

Reperfüzyon sırasında, iskemik dokuya O_2 yeniden sunulduğunda SR' in oluşumu başlar. SR, en dış yörüngelerinde bir tek çiftleşmemiş elektron taşıyan kimyasallardır. Bu durumda, yüksek oranda kararsız ve reaktiftirler. Özellikle hücre membranları ve nükleik asitler başta olmak üzere; lipidler, karbonhidratlar, proteinler ve diğer organik-inorganik kimyasallara karşı reaksiyona girmek için oldukça isteklidirler (13,17).

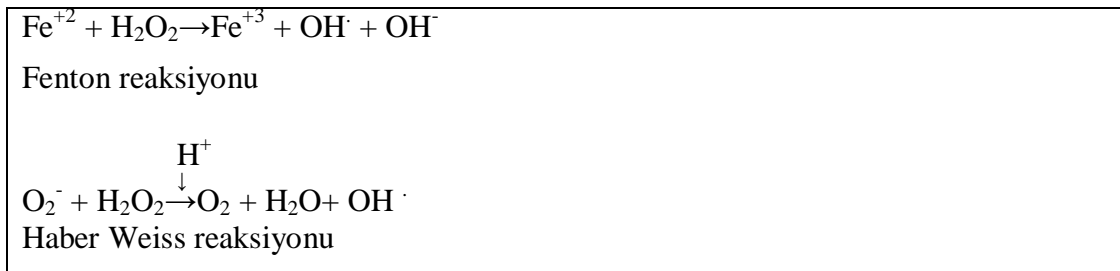
İskemik periyot sırasında, ATP hipoksantine dönüşür. Normal fizyolojik koşullarda, XD sistemi ile hipoksantin ksantine, ksantin ise ürik asite dönüşür. Reperfüzyon esnasında, pürin metabolitlerinin (hipoksantin, ksantin, ürik asit) oksidasyonu için yüksek oranda O_2 konsantrasyonuna ihtiyaç duyulur (13,17).

İskemi süreci içinde Ca^{+2} iyonu, nötrofillerin içine geçip orda birikerek, XD' in XO'a dönüşümünü sağlar. Bu dönüşümün miktarı, iskeminin süresi ile

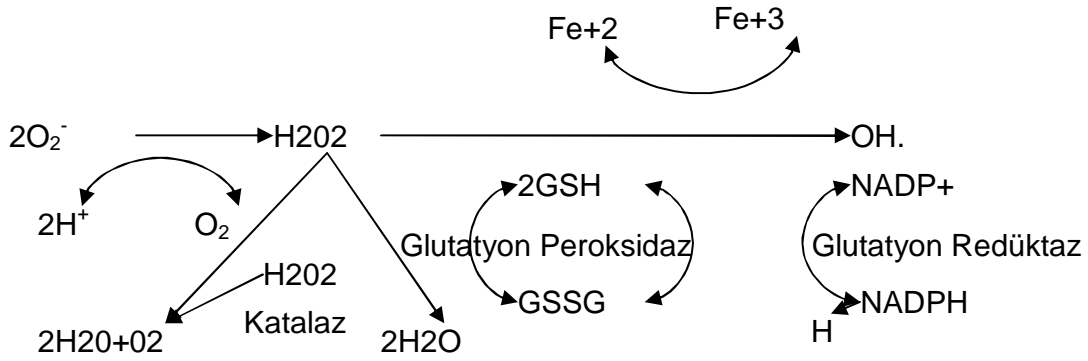
doğru orantılıdır ve reperfüzyon esnasında süperoksit radikallerinin (O_2^-) üretimi ile sonuçlanır. Bu reaksiyon, intestinal dokuda diğer dokulardan daha hızlıdır ve XO ölçümünün intestinal doku iskemisi için güvenilir bir belirteç olmasını sağlar (13,18).

XD' ın XO' a dönüşmesi intestinal dokuda sadece 10 saniye almaktadır (19).

Reperfüzyon süreci boyunca, O_2 hücre içerisine girerek, hipoksantin ve XO ile reaksiyona girmek suretiyle O_2^- yi oluşturur. O_2^- , süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen perokside (H_2O_2) dönüşür. Nihai olarak katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPX) aracılığı ile H_2O_2 suya dönüştürülür.(Şekil 2) Ama diğer yandan, Fe^{+2} ve Cu^{+2} varlığında, H_2O_2 bu yoldan çıkıp, oldukça reaktif ve sitotoksik olan hidroksil radikallerine (OH^-) dönüşebilir.(Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu) (Şekil1) Hidroksil radikalleri, hücre membran komponentlerinin lipidik peroksidasyonunu başlatıp, granüositlerin mikrovasküler endotele yapışmasını sağlayan birtakım maddelerin salınımına yol açar. Yapışan granüositler, O_2^- ve bazı proteazların salınımı yoluyla endotel hasarını daha da artırır (13,16).



Şekil 1: Fenton ve Haber Weiss reaksiyonları



Şekil 2: Serbest radikallerin eliminasyonu ve antioksidan enzim sistemi

Önceki bazı çalışmalar, $O_2^{\cdot -}$ nin NO ile hızla reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturduklarını göstermiştir. Güçlü ve oldukça reaktif bir oksidan madde olan peroksinitrit, sülfhidril gruplarının oksidasyonu, tirozinin nitasyonu ve özellikle membran lipidlerinin peroksidasyonu ile hasara yol açmaktadır (12).

Peroksinitrit radikalinin, lipid peroksidasyonu yanında, ciddi protein ve DNA modifikasyonlarına yol açtığı da bilinmektedir (20).

Ksantin oksido-redüktaz sistemi ile NO arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. NO, XO' ın endojen bir süpresörü olarak çalışırken, bu enzimin nitrit ve nitratın NO' e redüksiyonunu katalizlediğine dair kanıtlar mevcuttur (14).

SOR' nin lipid peroksidasyonu yapmaları yanında, nötrofilleri uyarma ve aktive etme özellikleri vardır. Aktive olan nötrofillerin de sitotoksik SOR' nin salınımını sağladığı iyi bilinen bir gerçektir. Önceki bazı çalışmalara göre, SOR' in nötrofil-endothel ilişkisini artırarak mezenterik İRH patofizyolojisinde önemli rol oynadığı saptanmıştır (21). (Şekil 3)

SOR' in aktive ettiği nötrofiller, endotele yapışarak kapiller damarları tıkamakta, daha fazla SOR, prostoglandin, myeloperoksidaz, elastaz ve proteazlar gibi bazı hasar yapıcı maddeleri salgılamaktadır (12,10). (Şekil 3)

SR, monositleri, interlökin-1 ve TNF-alfa gibi bazı sitokinleri salgılatmak üzere uyarırlar. Bu sitokinler de endothel hücrelerini, yeni sitokinler üretmek ve respiratuar nötrofil patlaması sağlamak üzere harekete geçirirler (22). (Şekil 3)

Vasküler endotel, damar lümenini saran yarı geçirgen bir membran olması yanında, önemli metabolik ve endokrin fonksiyonlara sahip aktif bir organ olarak ele alınmalıdır (23).

SOR ve SNR, hücrel membranların lipid peroksidasyonuna yol açar ve böylece hücrenin enerji üretimini, transport kapasitesini ve ayrıca yapısal bütünlüğünü bozar (24,17).

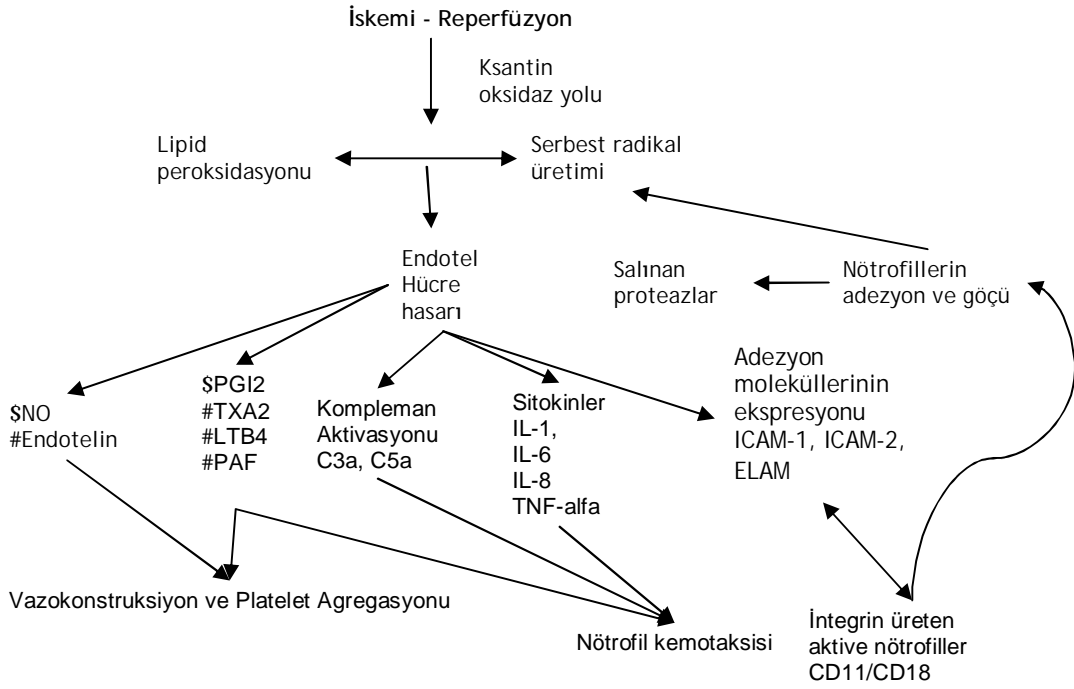
Membran yapısındaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif hasarı sonucu oluşan malonilaldehit (MDA), SR aracılıklı oksidatif hasar için önemli bir belirteçtir (24).

İRH' da, SR aracılıklı oksidan hasarın merkezi rolü ortaya konduktan sonra, antioksidan tedavi yöntemlerine ilgi artmıştır. Vücutta, SOR' ni yıkarak dokuları koruyan ve SOD, GPX ve katalazdan oluşan bir antioksidan enzim sistemi bulunmaktadır (24,10,25). (Tablo I)

Bunun yanında, A, C, E vitaminleri ve karotenler diğer endojen antioksidanlar arasında sayılabilir (3,10).

Reperfüzyon şartlarında, endojen antioksidan sistem, özellikle mitokondriler içinde SOR kaçışını önleyemez (24). Bu yüzden, çeşitli antioksidan ilaçlarla yapılan destekleyici tedaviler İRH' nı önlemede faydalı bir strateji olabilir. Bu amaçla son zamanlarda, dimetiltiyöüre, dimetil sülfoksit, mannitol, allopürinol, desferrioksamin, glutatyon ve A,C,E vitaminlerinin kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır (16). (Tablo I)

Çinko, yine son zamanlarda faydalı bir antioksidan olarak göze çarpmaktadır (16,18). Alfa tokoferol, önemli bir doğal antioksidandır ve poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı savunmada ilk sırada olduğu düşünülmektedir. Alfa tokoferol, radikal süpürücü ve/veya serbest radikal zincir reaksiyonlarını kıran bir antioksidan olarak görev yapar (3,15,17). (Tablo I)



Şekil 3: İskemi reperfüzyon hasarı

Tablo I: İskemi reperfüzyon hasarına karşı endojen savunma mekanizmaları

<p>A. Serbest radikal temizleyicileri Katalaz Süperoksit dismutaz Histidin</p> <p>B. Antioksidanlar Vitamin E(alfa tokoferol) Vitamin C</p> <p>C. Nötrofil inhibitörleri Adenozin Transforming growth faktör beta</p>

İRH ve lökositler

İntestinal İRH ile ilgili olarak, nötrofillerin kendi başlarına ve kompleman aracılığıyla, intestinal dokuda ve akciğer başta olmak üzere uzak organlarda birtakım olumsuz etkilere yol açtığı iyi bilinmektedir. Lökosit aracılıklı hasar oluşumunda çeşitli sitokinlerin oynadığı rol yadsınmaz (27). Ayrıca SR üretimini

artırıp bir kısır döngü oluşturmak suretiyle, oluşan hasarı daha da artırdıkları saptanmıştır. (Şekil 3)

Uzamış iskemi esnasında anoksik hücre ölümü oluşması kaçınılmazdır. Ama bunun yanında, reperfüzyon sırasında, subletal hasarın enflamatuvar ve sitotoksik kaskatlar tarafından artırıldığına dair yeni kanıtlar oluşmaktadır (28).

Öncelikli olarak hayvan modellerinde olmak üzere birtakım öncül insan çalışmalarında da, İRH patogenezinde enflamatuvar mekanizmaların esas bir rolü olduğuna dair yeni kanıtlar sunulmaktadır. Enflamatuvar yanıt gösterilen bu ilgi sonucunda, İRH patogenezinde, lökositler, lökosit adezyon molekülleri ve sitokinleri içeren enflamatuvar medyatörlerin rolleri tanımlanmıştır (28). (Şekil 3)

İRH' nin kompleks patofizyolojisi içerisinde hücrel ve humoral komponentleri de içinde barındıran bir enflamatuvar süreç mevcuttur. İRH' nin mekanizmaları organa bağlı olarak değişebilmektedir. Her organda benzer ama farklı yollar söz konusu olabilir. Geçen 10 yıl içerisinde, İRH oluşumunda lökositler ve lökosit adezyon moleküllerinin rollerini doküman eden çalışmalar yapılmıştır. Mikrovasküler oklüzyon, SOR salınımı, sitotoksik enzim salınımı, artmış vasküler permeabilite ve artmış sitokin salınımı, lökosit aracılıklı doku hasarının oluşumuna yardım eden faktörlerdir (28).

İntestinal İRH; SR, bakteriyel endotoksinler, NO, araşidonik asit deriveleri, platelet aktive edici faktör (PAF), kompleman, sitokinler ve nötrofiller gibi bazı dolaşan enflamatuvar medyatörleri aktive eder. (Şekil 3) Bu medyatörler, generalize mikrovasküler bir hasarı ve multipl organ yetmezliği (MOF) ile sonuçlanan sistemik enflamatuvar bir yanıtı başlatırlar. İntestinal İRH' nin böyle bir enflamatuvar sürece nasıl bir katkı sağladığı tam olarak bilinmese de, sitokinlerin başlıca bir rol üstlendiğine inanılmaktadır. Bu süreç içerisinde, mononükleer fagositik sistem hücreleri, sitokinlerin esas kaynağıdır (22).

Postiskemik dokularda nötrofillerin toplanması ve aktive olması, bu hasarın oluşma sürecinin ilerlemesinde hızı belirleyen aşama gibi görülmektedir (29).

XO, PAF ve SOR, kemotaksisi ve takiben nötrofil infiltrasyonunu başlatabilir. Lökosit infiltrasyonu, iskemi-reperfüzyon kaskatının çok önemli bir parçasıdır. Lökosit yüzeyindeki hücre adezyon molekülleri, endotel hücreleri üzerindeki ligandlara bağlanarak, lökositlerin mikrosirkülasyondan ekstravaze olmasıyla sonuçlanan bir dizi olayı başlatırlar. Reperfüzyon süresince oluşan doku hasarı, üretilen oksidanlarla ve yerleşik veya invaze olan çok sayıdaki nötrofillerin salgıladığı proteolitik enzimlerle oluşmaktadır. Aktive olan nötrofiller doku hasarına, respiratuar patlama esnasında oluşan SOR sentezi, intrinsik proteolitik enzim sentezi ve kapillerin fiziksel obstruksiyonu (No-reflow fenomeni) ile yol açmaktadırlar (30,31).

Lökosit adezyon molekülleri, lökositler ve diğer hücre tipleri üzerinde üretilir ve lökositlerin birçok fonksiyonunu düzenlerler. Lökosit adezyon moleküllerinin; gelişim, sinyal yolları, enflamasyon ve apoptozis gibi bazı biyolojik süreçlerde önemli rolleri vardır. Lökositlerin enflamasyon sahasına göçünde, spesifik lökosit adezyon moleküllerini de içine alan çok aşamalı bir paradigma sözkonusudur (28).

Lökositler, dokuya göçmek için başlangıçta vasküler endotele doğru yuvarlanırlar ve bağlanırlar. Bu nisbeten gevşek olan yapışma, adezyon moleküllerinin selektin ailesi ve ligandları tarafından sağlanır. Sonraki lökosit ve endotel aktivasyonu, integrin adezyon molekülünün ve reseptörünün aracılık ettiği daha sıkı bir adezyona yol açar. (örneğin CD18 ve onun reseptörü olan intrasellüler adezyon molekülü:ICAM-1) Lökosit transmigrasyonu son aşamadır ve endotel hücreleri arasında gelişir. Lökositler, daha sonra doku hasarının kaynağı olan ekstrasellüler matrikse göç ederler. Bu olay, hasar alanında üretilen kemokin ve sitokinlerin konsantrasyon farkı rehberliğinde oluşur (28). (Şekil 4)

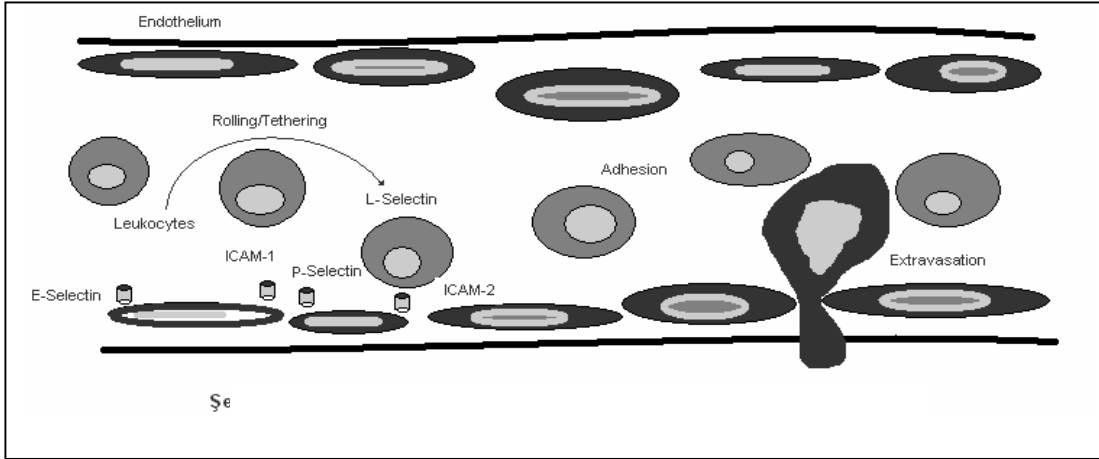
Postiskemik mikrodamarların içinde lökosit yuvarlanmasının, faz-kontrast mikroskopik analizlerinde, P-selektin' in major bir rol üstlendiği tespit edilmiştir. Bu adezyon molekülü, normalde endotel hücreleri ve plateletlerin içindeki granüllerde depolanır ve süratle hücre yüzeyine boşaltılırlar. P-selektin antibodylerin İRH' nı önlemede olumlu rolleri gösterilmiştir (29).

Süpergen immünglobulin ailesinin bir üyesi olan adezyon molekülü ICAM-1, lökositler ve endotel hücreleri arasında sıkı adezyonların oluşmasına ve lökositlerin postkapiller venüllerden, reperfüze olan dokuya göçüne aracılık etmektedir. ICAM-1, hücre göçü, antijen sunumu ve lökosit aktivasyonu gibi olaylarda rol oynayan uyarılabilir bir transmembran molüküldür (32). (Şekil 4)

ICAM-1' in postkapiller venüllerdeki lökositlerin endotelle sıkı yapışmasını ve hücre göçünü düzenlediğinin belirlenmesinden sonra, lokal ve uzak organ hasarı oluşumunda, bu molekülün up-regülasyonunun önemli bir aşama olduğu kabul edilmektedir (33). İlhan ve arkadaşları, İRH' da ICAM-1 monoklonal antibodinin nötrofil aktivasyonunu baskıladığını ve histopatolojik hasarı azalttığını gösterdiler (34).

Lökositlerin aktivasyonu ve bunun sonucunda mukozal ve mikrovasküler alanda infiltrasyonu, barsağın selektif bariyer fonksiyonunun kaybıyla ve neticede enterik bakteriyel ürünlerin translokasyonu ile beraber MOF ve ölümle sonuçlanır (35).

Önceki kısa iskemi ile birlikte ince barsağın ön şartlanmasının, lökosit yuvarlanması ve nötrofil sekestrasyonu için kritik bir aşama olan P-selektin inhibisyonunu yapmak kaydıyla endotel hücrelerini hasardan koruduğu gösterilmiştir (36).



Şekil 4: Enflamasyon sahasına lökosit göçünün güncel modeli

İRH ve Kompleman sistemi

İskemi reperfüzyon olayında, doku hasarına yol açan 2 başlıca komponent; kompleman aktivasyonu ve SR aracılıklı hasara eşlik eden nötrofil aktivasyonudur (8,37). Öncül çalışmalar, nötrofil rezervinin boşalımı sonucu İRH' dan korunma sağlandığını göstermiştir. Ama, nötrofillerin varlığı, doku hasarının oluşumu için yeterli değildir. Kompleman aktivasyonunun bu süreçte kritik bir rol üstlendiği ortaya konmuştur. Kompleman aktivasyon ürünlerinin inhibisyonu ve tükenmesi, iskemi-reperfüzyona cevaben oluşan yerel ve uzak organ hasarını önler (37).

Klasik kompleman yolu, iskemi-reperfüzyonun indüklediği doku hasarından sorumlu tutulmuştur (37). Nötrofillerin, endotele yapışması olayında, kompleman sisteminin önemli etkisi bulunmaktadır. Örneğin, kompleman protein C3' ün endotel hücreleri içinde birikmesi, bir nötrofil adezyon glikoproteini olan CD11b/CD18' in aracılık ettiği hızlı nötrofil adezyonu ile sonuçlanır. Kompleman aktivasyonu, sadece nötrofil-endotel adezyonunda değil, aynı zamanda endotel hücre hasarının oluşumunda da önemli pay sahibidir. Kompleman aktivasyonunun hangi mekanizmalar aracılığıyla endotel hasarına yol açtığı tam olarak açıklanamasa da, kanıtlar, komplemanla aktive edilen nötrofillerin öncelikli olarak SOR üretmek suretiyle bu hasarın oluşumuna yardım ettiğini telkin etmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar, kompleman aracılıklı akciğer nötrofil

sekestrasyonunun, artmış pulmoner mikrovasküler permeabiliteyle ilgili olduğunu ortaya koymuştur (38). Gastrointestinal sistemin İRH' nda kompleman, rat intestinal epitelinde uyarılabilir nitrik oksit sentaz (İNOS) üretimini artırarak bu hasarın şiddetlenmesine yol açmıştır (39).

Kompleman aktivasyonunun İRH' daki rolü tesbit edildikten sonra, bu sistem, deneysel İRH çalışmalarında, önemli bir hedef haline gelmiştir. Bir glikozile peptid olan C5a; nötrofil, monosit ve T hücrelerinin güçlü bir kemoatraktanıdır. İn vitro çalışmalarda, C5a' nın nötrofillerin apoptozunu geciktirdiği, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırdığı ve respiratuar patlamayla birlikte degranulasyonu tetiklediği gösterilmiştir. Ek olarak, C5a antibodylerin kullanıldığı çeşitli in vivo iskemi-reperfüzyon modellerinde, C5a' nın nötrofil aktivasyonu ve vasküler permeabiliteyi değiştirici etkisi ortaya konmuştur (40). Anti C5 monoklonal antibody yardımıyla C5 aktivasyonunun inhibisyonu sonucu hasarlı dokuda nötrofil infiltrasyonunun, C5a üretiminin ve membran atak kompleksi (MAC) birikiminin önlendiği saptanmıştır (41).

Rekombinant eriyebilir CR1, miyokardiyal İRH modellerinde, deneysel akciğer ve karaciğer transplantasyonunda ve intestinal İRH modelinde, C3 ve C4 konvertaz inhibisyonu sağlamak suretiyle kesin faydalı etkiler göstermiştir (42).

İRH ve NO-Endotelin ilişkisi

Vasküler endotel, fizyolojik ve patolojik koşullarda, vasküler tonusun düzenlenmesinde ve idame ettirilmesinde önemli rol sahibidir. Bu etki, prostasiklin, tromboksan A2, lökotrien B4, NO ve ET gibi bazı endojen sentezlenen vazoaktif maddeler aracılığı ile olmaktadır. İnce barsak damarlarının endoteli, ET' in vazokonstriktör etkisine diğer dokulardan daha duyarlıdır (43,44).

NO, bazı değişik fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde rol alan bir biyolojik habercidir. Bu madde, NO sentaz izoenzimleri ailesi tarafından nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve O₂ bağımlı bir süreç içinde L-arjininin oksidatif metabolizmasından elde edilmektedir (45).

İntestinal enflamasyonun düzenlenmesinde NO' nun rolü son zamanlarda araştırılmalan konulardan biridir. Vazodilatör fonksiyonuna ek olarak, NO' nun, serbest radikal temizlenmesi, hücre-hücre ilişkilerini azaltması ve nötrofil aktivasyonunu inhibe etmesi gibi bazı fonksiyonları bulunmaktadır. NO' nun yerel salınımı, mezenterik perfüzyon ve nötrofil-endotel etkileşimini düzenlemek kaydıyla barsak homeostazisinin devam ettirilmesine önemli katkı sağlar (35). Diğer dokular gibi intestinal doku içinde de, metabolik, fizyolojik ve immünolojik fonksiyonların sürdürülmesinde önemli rol oynar. İRH' da NO' nun rolü çok açık olmasa da, son zamanlarda, mikrovasküler dolaşımın ve epitel hücre permeabilitesinin düzenlenmesindeki etkisi ortaya konmuştur (46).

Dışardan uygun miktarda NO verilmesi ile, deneysel İRH' na eşlik eden yapısal ve fonksiyonel hasarın azaltıldığı ve mikrovasküler sirkülasyonun olumlu yönde ekilendiğı gösterilmiştir (35,46,47). Ama, NO' nun fazla üretiminin, iskemi-reperfüzyon sırasında oluşan bazı olumsuz etkilerden sorumlu olduğuna dair kanıtlar da sunulmuştur (46).

Halihazırda 3 adet nitrik oksit sentaz (NOS) izoformu bilinmektedir; NOS-1 (nöronal), NOS-2 (indüklenebilir) ve NOS-3 (endotelyal). NOS-3, gastrointestinal kanalda en baskın olan izoformdur. İskemi-reperfüzyonla ilgili hayvan deneylerinde, NOS inhibitörlerinin (L-NAME), intestinal bozukluğu artırdıkları saptanmıştır (47).

ET, intestinal İRH' da oldukça önemli bir rol oynamaktadır. İRH oluşumu esnasında, ET-1 reseptörünün bağlanma alanları artmaktadır ve ET-1' in başlıca ETa reseptörleri aracılığıyla aktive edilen vazokonstriktör etkisi kuvvetlenmektedir. Tüm bunlar, mikrosirkülasyon bozukluklarına yol açmaktadır. Bir ETa antagonisti olan LU135252 nin mezenterik İRH üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; bölgesel perfüzyonun yükseltilmesi, mezenterik laktat üretiminin ve CK salınımının azaltılması ve serbest radikal aktivitesinin inhibisyonu ile İRH' nın azaltıldığı gösterilmiştir (43).

İRH' da, NO ve ET' nin birbirleri üzerinde dengeleyici etkileri vardır. Bu etki, muhtemelen serbest radikal süpürücüleri ve anjiyotensin dönüştürücü enzim

inhibitörü gibi davranan bazı ajanlar tarafından etkilenmektedir (44). Durakbaşı ve arkadaşları, bir çalışmada, NO ve ET' nin birbirleri üzerindeki feedback etkisi ile NO sentezinin inhibisyonunun İRH' nı azalttığını gösterdiler (44).

İRH ve sitokinler

Proinflamatuvar sitokinler, intestinal iskemi-reperfüzyon olayının yerel ve uzak organ hasarı oluşturmasında önemli role sahiptirler. Sitokinlerin endotel hücreleri ve lökositler arasında çift yönlü bir etkileşimi söz konusudur. IL-1 ve TNF-alfa, lökositlerin ekstravazasyonunu ve enflamasyon sahasındaki lokalizasyonunu belirler (26).

IL-1 ve TNF-alfa' nın deneysel hayvan modellerinde, doku hasarı ve hemodinamik şoka yol açtıkları gösterilmiştir (48).

Reperfüzyon içindeki çeşitli toksik maddelerden olan TNF-alfa ve IL-1, önce portal ven yoluyla kalbe ulaşırlar. Reperfüzyon kalbe ulaştıktan sonra sistemik dolaşıma dağılır. Böylece sistemik bir enflamatuar yanıt tetiklenmiş olur. TNF-alfa ve IL-1, lökositler üzerinden sistemik enflamatuar yanıtı açarlar. Bu maddeler, akciğer, karaciğer ve miyokard hasarına neden olan başlıca sitokinlerdir (22,27,48,49).

İntestinal İRH oluşumu esnasında TNF-alfa, başlıca ince barsaklardan salınır. Artmış lökosit aktivasyonu ve lökosit-endotel yapışması ile sonuçlanan adezyon molekül ekspresyonu, TNF-alfa tarafından teşvik edilmektedir (32).

Bir metilksantin türevi olan Pentoksifilin, uzun yıllardır dolaşım düzenleyicisi olarak bilinmektedir ve TNF-alfa üretiminin güçlü bir inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır (50).

TNF-alfa antibodyleri ile yapılan tedavi, ratlarda reperfüzyonun uyardığı doku hasarını önlemiştir (51).

MOF' lu olan kritik hastalarda, IL-6 genelde yüksek bulunmuştur (52). İntestinal iskemi-reperfüzyonu takiben, IL-18' in eksojen enjeksiyonu akciğer

hasarını artırırken, aksine, endojen IL-18 inhibisyonu bu hasarı azaltmıştır (53). İnce barsak adaptasyonu ve intestinal iskemi-reperfüzyon olaylarının çalışıldığı hayvan modellerinde, IL-11' in, ince barsak absorptif kapasitesini artırdığı bulunmuştur (54).

Fosfolipaz A2 (PLA2); PAF, lizofosfolipidler, eikozanoidler ve araşidonik asit gibi güçlü lipid medyatörlerinin oluşumuna yol açar. PLA2 ve PAF, hücreyel infiltrasyon, artmış permeabiliteye bağlı alveolo-kapiller ödem, hyalen membran oluşumu ve sürfaktan disfonksiyonu gibi bulgularla karakterize olan akciğer hasarını başlatabilir veya sürdürebilirler (55).

Lökotrien B4, in vivo olarak, nötrofillerin aktive edilmesini ve birikmesini sağlayan enflamatuar medyatörlerden biridir. Souza ve arkadaşları, SMA'nın iskemi ve reperfüzyonundan sonra ciddi miktarda lökotrien üretimi oluştuğunu gösterdiler (56).

İntestinal enterokromaffin hücrelerde sentezlenip, platelet içinde depolanan Serotonin, güçlü bir vazokonstriktördür ve İRH' nı takiben gelişen karaciğer hasarında, muhtemelen platelet agregasyonunu teşvik ederek rol oynamaktadır (57).

İRH ile ilişkili enflamatuar yanıtın bir parçası olan TNF-alfa, IL-1beta ve IL-6 gibi sitokinler dual bir fonksiyona sahiptirler. Enflamatuar yanıtlara aracılık etmeleri yanında karaciğer rejenerasyonu gibi reperatif etkiler göstermektedirler (58).

İRH, koagülasyon sistemi ve plateletler

İskemi şartlarında, endotel hücreleri anti-adeziv özelliklerini kaybederek, pıhtılaşmaya elverişli bir yüzey oluşturur. İskemi sürecinin hazırladığı endotel hücreleri, reperfüzyon esnasında, permeabiliteyi ve hücre etkileşimini artıracak şekilde lökosit ve platelet adezyonuna yatkın bir ortam meydana getirir (58).

Postiskemik reperfüzyon hasarı patogeneğinde, plateletlerin de çeşitli roller üstlendiğine ilişkin yeni kanıtlar oluşmaktadır. Plateletler, aktivasyonu

takiben, SR üretirler ve tromboksan A2, lökotrien, serotonin, platelet faktör-4, platelet kaynaklı growth faktör (PDGF) gibi bazı proinflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlarlar (59).

Plateletlerin bunlara ek olarak, lökositlerin fonksiyonel yanıtlarını düzenleme potansiyelleri mevcuttur. Bu yüzden postiskemik endotel hücrelerde plateletlerin birikmesi ve aktivasyonu, endotel hücre hasarını artırır, ayrıca hasarlı alanda lökositlerin birikmesine ve aktive olmalarına katkı sağlar (59).

İskemi-reperfüzyon aracılıklı sitotoksik hasar oluşumunda, mast hücrelerinin dikkate değer bazı rolleri olduğuna dair bulgular mevcuttur. Olgun mast hücreleri, aktivasyonu takiben, sekretuar granüllerinin içeriklerini hızlıca boşaltırlar. Bu granüller içerisinde histamin, serotonin, heparin ve kondroitin sülfat, serjilin proteoglikanlar, multipl serin proteazlar, karboksipeptidaz A3 ve TNF-alfa gibi bazı sitokinlerin öncül formları bulunur. Mast hücre aktivasyonu, ayrıca prostaglandin D2 (PGD2) ve sisteinil lökotrien C4 (LTC4) gibi bazı eikozanoidlerin hızlı üretimine yol açar (60).

Protein C ve antitrombin antikoagülan yolları, iskemi-reperfüzyon ve sepsis esnasında oluşan mikrovasküler disfonksiyonun kontrol edilmesinde etkin olan major mekanizmalar olarak göze çarpmaktadır. Organ hasarı oluşumunda lökositlerin merkezi öneminin ortaya konulmasıyla, bazı otörler tarafından, aktif protein C' nin nötrofil adezyonunu inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Böylece, vasküler permeabiliteyi artıran nötrofil elastazlar ve SOR salınımının azaltıldığı düşünülmektedir (61).

Trombin üretiminin selektif bir inhibitörü olan inaktif faktör 10a türevinin, sitokin kaynaklı nötrofil kemoatraktanlarının (CINC) konsantrasyonlarını azaltarak, lökosit birikiminin önlenmesinde etkili olduğu saptanmıştır (61).

Antitrombin 3 (AT); faktör 9A, 10A, 11A ve 12A ve trombin gibi bazı serin proteazların fizyolojik inhibitörü olan bir beta2 globulindir. Trombin, lökosit yuvarlanması ve adezyonunda önemli bir role sahiptir. Trombin aktivitesinin en

önemli doğal inhibitörü olan AT3 ün birçok organda İRH' nin istenmeyen etkilerini azalttığı gösterilmiştir (62).

Doku faktörü (TF), enflamasyon şartlarında kan monositleri ve endotel hücreleri tarafından üretilebilen ve koagülasyonun fizyolojik başlatıcısı olan bir moleküldür. İskemi-reperfüzyon ortamında, TF oldukça fazla üretilir. İntestinal İRH' da aktif faktör 7 inhibitörü (F7ai) kullanılarak TF-F7a kompleksinin inhibe edilmesinin enflamatuvar yanıtları azalttığı ortaya konmuştur (63).

Heme oksijenaz-1 (HO-1), birçok memeli hücresinde bulunan ve stresle uyarılabilen bir proteindir. Güçlü bir HO-1 uyarıcı ajan olan kobalt protoporfirin (CoPP) ile tedavi edilmiş ratlarda, intestinal İRH' nin azaltıldığı gösterilmiştir (64).

İRH, bariyer fonksiyon bozulması, uzak organ hasarı ve MOF

Mukozal bariyer, ince barsak epitel hücrelerinin apikal yüzeylerine yakın enerji bağımlı sıkı bağlantıların aktivitesi tarafından idame ettirilir. Hücresel enerji depolarının boşalımı, epitel hücreleri tarafından bu bariyerin korunamaması sonucunu doğurur. İskemik koşullarda, ATP ve total adenilatlar gibi hücresel enerji kaynakları, yapısal ve fonksiyonel kaliteye, ince barsakta diğer birçok organdan fazla katkı sağlar (65).

İskemi-reperfüzyon boyunca intestinal bariyerin zedelenmesi, bakterilerin ve bakteri ürünleri olan endotoksinlerin transloke olmasına yol açar. Bu maddelerin sistemik disseminasyonu, uzak organ hasarının oluşumu ile ilişkilidir. Endotoksinler, çeşitli sitokinleri ve TNF-alfa gibi diğer bazı enflamatuvar medyatörleri salgılatmak üzere makrofajları stimüle ederler (49,66,67).

Mukozal seviyede bariz değişiklikler yaparak, sistemik enflamatuvar yanıt ve akabinde MOF oluşturabilen ince barsağın greft reperfüzyon hasarı, transplantasyon sırasında en fazla dikkat çeken konulardan biridir (48).

Glutamin, ince barsak epitel hücrelerinin primer metabolik yakıtıdır ve bu hücrelerin proliferatif fonksiyonlarının esansiyel bir maddesidir. Hayvan

modellerinde, glutamin destekli TPN' nin intestinal İRH' nı azalttığı ve sürviyi artırdığı rapor edilmiştir (66,68).

MOF' un en önemli nedenlerinden birisi, oksijen sunumunun akut olarak kesilmesidir. Splanknik saha, hipoksik hasara diğer dokulardan daha hassastır ve iskemik barsak mukozası nötrofil aktive eden bir alan olarak karşımıza çıkar.

MOF, intestinal İRH sonrası önemli bir oranda gelişir ve sıklıkla yüksek bir mortalite sözkonusudur.(69)

Artmış membran permeabilitesinin en önemli nedenlerinden birisi İRH' dir. Bu artışa neden olan muhtemel mekanizmalardan birisi ince barsak epiteli, nötrofiller ve vasküler endotelde artmış NO sentezidir.(67)

İRH' dan sonra, uzak organ hasarı oluşması nadir değildir.Etkilenen uzak organların en çok çalışılanları başta akciğer olmak üzere karaciğer, kalp ve beyindir.

İRH' nın uyardığı akciğer hasarının patogenezi oldukça karışıktır. Burada rol oynayan mekanizmalar, muhtemelen ICAM-1' i de içeren çeşitli medyatörler, sitokinler ve nötrofillerdir.(33)

Pulmoner hasar oluşumu esnasında görülen en önemli 2 olay, lökosekestrasyon ve mikrovasküler permeabilite artışıdır. (62) İntestinal iskemi-reperfüzyon sonrası gelişen akciğer hasarından, terapotik hiperkapni sağlanması ile korunulduğu gösterilmiştir. (70)

MATERYAL VE METOD

Hayvanlar ve modelin oluşturulması

Bu deneysel çalışma, etik kurul onayı sonrası Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi (K.S.Ü) Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvar' ında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın finansmanı K.S.Ü araştırma fonundan sağlandı. Araştırma materyali olarak kullanılan 220-250 g ağırlığında 4-5 aylık, toplam 64 adet erkek Sprague-Dawley cinsi rat Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi deneysel araştırma laboratuvarından alındı. Ratlar 22-24°C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlatma periyodunda tutularak ve standart laboratuvar yemi ile beslendi.

Ratlar, 8'er hayvandan oluşan toplam 8 gruba ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: Sham grubu

Grup 3: Alfa tokoferol grubu

Grup 4: Pentoksifilin grubu

Grup 5: Buflomedil grubu

Grup 6: Çinko grubu

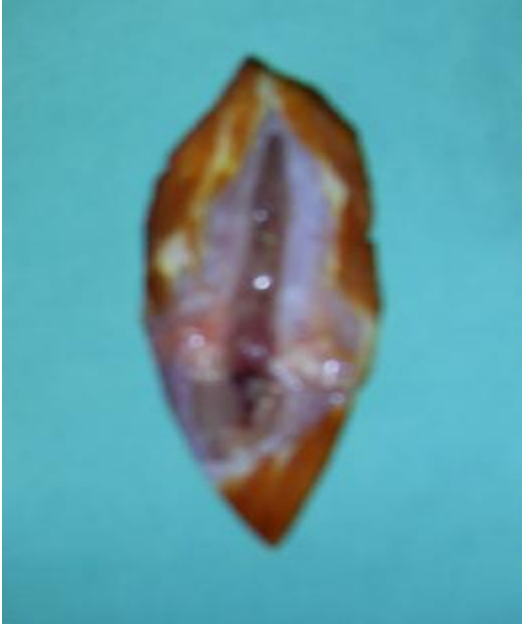
Grup 7: Çinko+Alfa tokoferol grubu

Grup 8: Buflomedil+Pentoksifilin grubu

Intramüsküler 40 mg/kg Ketamin hidroklorid (Ketalar[®], Eczacıbaşı Türkiye) ve 6 mg/kg Xylazin (Rompun[®] Bayer Türk Türkiye)' le yapılan anesteziyi takiben, yaklaşık 3 cm boyunda mediyan laparotomi ile abdomen açıldı (Şekil 5) ve SMA izole edildi. (Şekil 6) Sham grubundaki ratlara hiçbir ek işlem yapılmadı. Kontrol grubundaki ve diğer tüm etken madde uygulanan gruplardaki ratlara 60 dakika süren arter klempajını takiben (Şekil 7) 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Çalışmamızda mezenterik dolaşıma gelen kollateral akımın kesilmesine yönelik bir işlem uygulanmadı. Alfa tokoferol grubundaki deneklere reperfüzyondan 15 dakika önce 100 mg/kg dozunda Vitamin E (Evigen[®] Aksu Türkiye) intraperitoneal olarak uygulandı. Çinko grubundaki deneklere 50 mg/kg dozunda Çinko Aspartat (Unizinc[®] Köhler Pharma Germany), yine reperfüzyondan 15 dakika önce intraperitoneal

olarak verildi. Çinko ve Alfa tokoferol ortak grubuna bu maddeler, yukarıdaki doz ve uygulama Őekliyle verildi. Buflomedil grubundaki deneklere 6 mg/kg dozunda etken madde (Buflomedil Hydrochloride B5899-1G Sigma Germany) solüsyon halinde intraperitoneal olarak verildi. Pentoksifilin grubundaki deneklere 50 mg/kg dozunda etken madde (Pentoxifylline P1784-10G Sigma Germany) yine reperfüzyondan 15 dakika önce solüsyon halinde intraperitoneal olarak verildi. Buflomedil ve Pentoksifilin ortak grubuna bu maddeler yukarıdaki doz ve uygulanım Őekliyle verildi.

Deney sonunda, ratlardan biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amaçlı terminal ileum doku örneği alındı. İşlem sonunda tüm ratlar sakrifiye edildi. Çalışma süresince mortalite meydana gelmedi.



Şekil 5: Mediyan laparotomi insizyonu



Şekil 6: SMA'nın transeksiyonu



Şekil 7: SMA'nın klempajı



Şekil 8: Çıkarılacak terminal ileumun belirlenmesi

Biyokimyasal değerlendirme

Doku örnekleri, biyokimyasal değerlendirme yapılana kadar alüminyum folyo içinde $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de bekletildi ve işleme başlamadan hemen önce $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de erimeye bırakıldı. Alınan doku örnekleri tartılıp, 1 g doku 3 hacim soğuk %1.15 M KCl ile homojenize edildi. Homojenatlar 14.000 xrpm'de santrifüj edilerek süpernatantlarda antioksidan enzim düzeyleri ve oksidatif hasarın göstergesi olan MDA düzeyleri ölçüldü.

GPX aktivitesi Beutler yöntemiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı 1 ml'lik total volümde 100µl 1M Tris-HCl pH 8.0 tampon, 20µl 0.1 M GSH, 100µl 10 U/ml GR, 100µl 2mM NADPH ve belirli miktarda saf su ve enzim içeren süpernatant 37°C de 10 dakika inkübe edildikten, 10µl 7 mM t-butyl hidroperoksit konulduktan sonra başlatılmıştır. Tepkime, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ de enzim tarafından oksitlenen 1µmol NADPH'ın 340 nm dalga boyunda ışık yolu 1cm olan kuvars küvetlerde 10 dakika süreyle her 5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir.(71)

Katalaz aktivitesi, hemolizatta Beutler yöntemiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 50 µl 1 M Tris-HCl pH 8,0 tampon, 900 µl 10 mM H_2O_2 ve 30 µl saf su ve 20 µl hemolizattan oluşur. Tepkime, ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 37°C ' de 230 nm dalga boyunda 5 dakika süreyle her 2,5 dakikadaki absorbans değişimi izlenerek gerçekleştirilmiştir.(71)

SOD aktivitesi, hemolizatta Fridovich yöntemiyle saptanmıştır. SOD aktivite tayini için, hemolizat 1:20 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edildi, bu dilüsyonda aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 25 µl enzim içeren hemolizat, 850 µl ksantin ve p-iyodonitrotetrazolium viyole (INT) içeren miks substrat ve 125 µl 80 Ü/L ksantin oksidazdan oluştu. Kör de tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Tepkime, 37°C ' de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları (A_1) okundu. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A_2) tekrar okundu ve değerler standart eğriden değerlendirildi.(72)

Süpernatantta MDA düzeyleri Okawa'dan modifiye edilerek spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür (20). Bu yöntemin esası TBA

(tiyobarbitürik) ile MDA'nın asidik pH ve sıcak ortamda tepkimesi sonucu oluşan pembe renkli pigmentin spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. MDA'nın kendisi stabil olmadığından, standart olarak test sırasında MDA'ya hidroliz olan 1,1,4,4-tetramethoksiopropan kullanılmıştır. Yöntem uygulama prosedürüne göre; 0,1 ml süpernatant süspansiyonu üzerine 0,2 ml %8,1'lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml %20'lik asetik asit, 1,5 ml %0,8'lik tiyobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak 95°C'de 30 dakika su banyosunda kaynatılır. Tüpler soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml butanol/piridin (1:15 oranında) ilave edilir ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonraki üsteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans okunur ve değerler standart eğriden değerlendirilir.(73)

Antioksidan enzim aktivite sonuçları U/mg protein ve MDA seviyesi ise, nmol/mg protein olarak tayin edilmiştir.

Doku örneklerinde protein düzeyi, Shimadzu-UV 1601 spectrophotometer (Japan) 'de by Lowry metoduna göre ölçüldü.

Histopatolojik değerlendirme

Terminal ileumdan alınan doku örneğinden 2 adet parça alınmıştır. Barsak dokularının histopatolojik incelemesi için, doku kesitleri %10'luk formaldehitte fikse edilmiş ve rutin işlemlerden sonra 5µm kalınlığındaki doku kesitleri Harris hematoksilin-eosin boyası ile boyanarak, ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Deney gruplarında oluşan hasarı belirlemede 6 aşamalı bir skorlama sistemi kullanıldı. Grade 0:Normal, Grade1: Nekrozun eşlik etmediği süperfisial mukozal hücre dökülmesi, Grade 2: Kriptlerin korunduğu mukozal villus nekrozu, Grade 3: Kriptleri de içeren mukozal villus nekrozu, Grade 4: Müskülaris tabakasının iç kısmının nekrozu veya müskülaris tabakasının incelmesine eşlik eden komplet mukozal nekroz, Grade 5: Transmural nekroz. (15)

İstatistik

Elde edilen verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde, Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak verildi. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi. Bu işlemler, bilgisayarda SPSS for Windows istatistik programının Release 9,05 versiyonu (SPSS Inc USA) ile yapıldı.

BULGULAR

Biyokimyasal analiz sonuçları

1) Kontrol grubu, ile sham grubu karşılaştırıldığında, kontrol grubunda barsak MDA düzeyi ve GPX aktivitesi anlamlı derecede yüksek ($P<0.05$) iken, katalaz ve SOD aktivitelerinin her iki grup arasında değişmediği saptanmıştır ($P>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

2) Pentoksifilin grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyi yaklaşık %40 oranında düşmüştür fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). SOD aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) iken, katalaz ve GPX aktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Pentoksifilin grubu, sham grubu ile karşılaştırıldığında, MDA değeri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). SOD aktivitesi, Pentoksifilin grubunda anlamlı derecede yüksekken, GPX aktivitesi anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Katalaz aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

3) Buflomedil grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, MDA düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0.05$). GPX aktivitesinin gruplar arasında değişmediği saptanmıştır ($p>0.05$). Katalaz aktivitesi, Buflomedil grubunda anlamlı derecede düşük çıkarken, SOD aktivitesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Pentoksifilin grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında, MDA düzeyi Buflomedil grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). GPX ve katalaz aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamazken ($p>0.05$), SOD aktivitesi Buflomedil grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

4) Pentoksifilin grubu ile Buflomedil grubu karşılaştırıldığında ise, Pentoksifilin grubunun MDA düzeyinin düşük olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlam ifade etmediği saptandı ($p>0.05$). Öte yandan, Pentoksifilin grubunda Buflomedil grubuna göre GPX aktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğu, SOD

aktivitesinin anlamlı derecede arttığı ($p<0.05$), buna karşın CAT aktivitesinin değişmediği gözlenmiştir ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

5) Pentoksifilin+Buflomedil grubunun MDA düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, iki ilacın ortak katıldığı gruptaki MDA düzeyinde düşüş gözlenmesine rağmen, bu düşüşün istatistiksel olarak anlam ifade etmediği bulunmuştur ($p>0.05$). Ortak uygulama grubunda, GPX ve katalaz aktivitelerinin anlamlı oranda düştüğü SOD aktivitesinin de anlamlı derecede arttığı saptanmıştır ($p<0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Ortak uygulama grubu sham grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyi ortak grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ortak grupta GPX aktivitesi düşük çıkarken SOD aktivitesi yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

6) Çalışmamızda iki adet antioksidan etkinliği olan madde kullanılmıştır. Bunlardan birisi Çinko idi. Çinko uygulanan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, Çinko grubunun MDA düzeyini anlamlı derecede düşürdüğü, SOD aktivitesini anlamlı derecede arttırdığı ($p<0.05$) ve katalaz ile GPX aktivitesini değiştirmedeği saptanmıştır ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Çinko grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında, Çinko grubunda MDA düzeyi anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Çinko grubunun SOD aktivitesini arttırdığı ($p<0.05$) ve CAT ile GPX aktivitesini değiştirmedeği saptanmıştır ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Çinko grubu ile Alfa tokoferol grubu kıyaslandığında, MDA düzeyinin iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark taşımadığı bulundu ($p>0.05$). Yine her iki grup arasında, GPX ve katalaz aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($P>0.05$), SOD aktivitesinin Çinko grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Çinko uygulanan grup ile Pentoksifilin grubu karşılaştırıldığında, Pentoksifilin grubunda SOD aktivitesinin anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) olduğu, diğer parametrelerin her iki grup arasında anlamlı artış ya da düşüş göstermediği gözlenmiştir ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Çinko verilen grup ile Buflomedil grubu karşılaştırıldığında, tüm parametreler yönünden her iki grupta da anlamlı artış ya da düşüş saptanmamıştır ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Çinko tedavisi uygulanan grup ile Pentoksifilin+Buflomedil grubu karşılaştırıldığında, tüm parametrelerin her iki grup arasında anlamlı farklılıklar göstermediği saptanmıştır ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

7) Diğer antioksidan uygulama grubumuz Alfa tokoferol' dür. Söz konusu olan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Alfa tokoferol' ün MDA düzeyini yaklaşık olarak %50 oranında düşürdüğü fakat bu düşüşün istatistiksel olarak anlam ifade etmediği bulunmuştur ($p>0.05$). Alfa tokoferol grubunda, GPX ve katalaz aktiviteleri anlamlı oranda düşük çıkarken ($p<0.05$), SOD aktivitesinin gruplar arasında anlamlı fark göstermediği tespit edilmiştir ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Alfa tokoferol grubu sham grubu ile karşılaştırıldığında, Alfa tokoferol grubunda MDA düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunurken ($p<0.05$), antioksidan aktivitenin her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Alfa tokoferol grubu ile Pentoksifilin grubu karşılaştırıldığında, Pentoksifilin grubunda SOD aktivitesinin anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenirken ($p<0.05$), diğer parametrelerin her iki grup arasında anlamlı farklılıklar göstermediği saptanmıştır ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

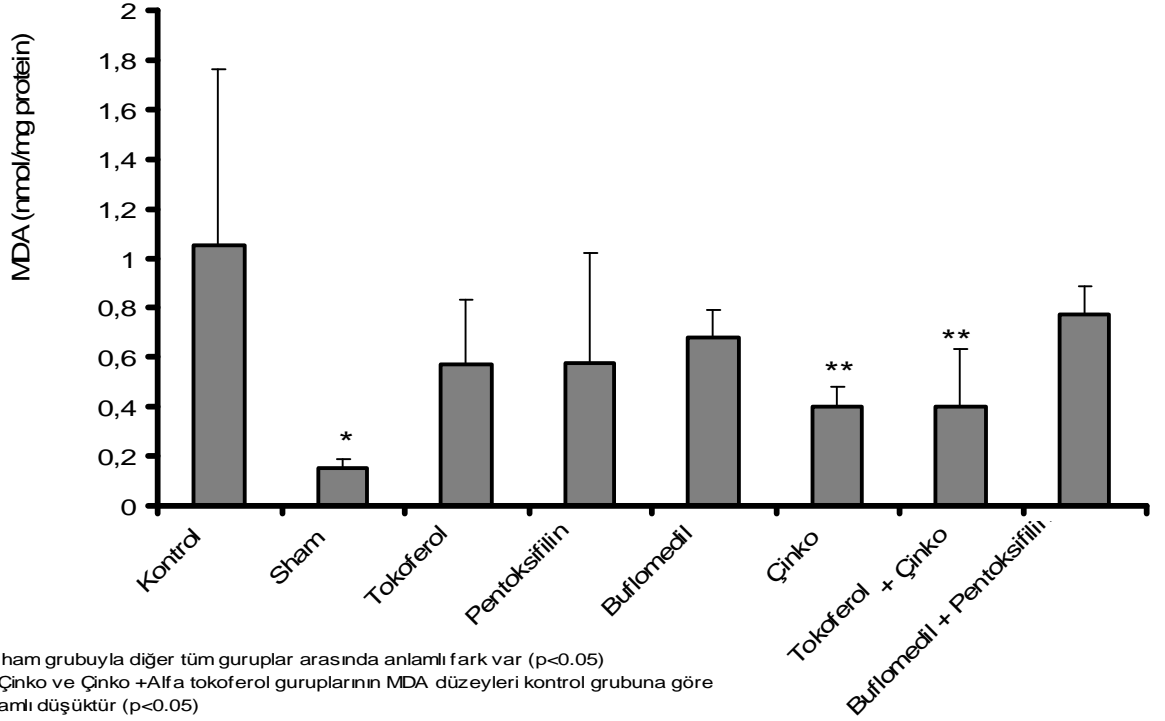
Alfa tokoferol grubu Buflomedil grubu ile karşılaştırıldığında, Buflomedil grubunda GPX ve SOD aktivitelerinin anlamlı derecede yüksek olduğu ($p<0.05$), diğer parametrelerin her iki grup arasından anlamlı farklılık göstermediği bulunmuştur ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

8) Çinko+Alfa tokoferol' ün ortak verildiği grupla kontrol grubu karşılaştırıldığında, ortak uygulama grubu MDA düzeyini belirgin şekilde düşürürken ($p<0.05$), SOD aktivitesini anlamlı derecede arttırmıştır ($p<0.05$). Buna karşın, diğer parametrelerin her iki grup arasında anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

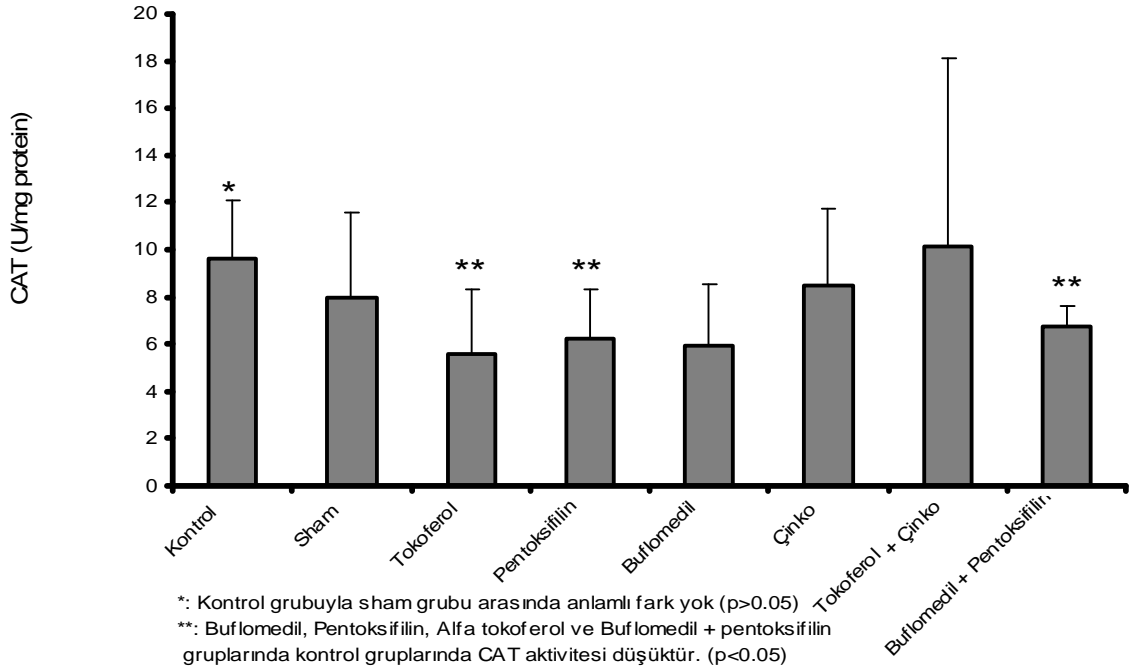
Çinko+Alfa tokoferol grubu sham grubu ile karşılaştırıldığında, sham grubu MDA düzeyi düşük olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$). Buna karşın, sham grubunda SOD ve GPX aktivitelerinin anlamlı derecede düşük olduğu ($p<0.05$), katalaz aktivitesinin her iki grup arasında artış ya da düşüş göstermediği gözlenmiştir ($p>0.05$). (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

Çinko+Alfa tokoferol grubu Buflomedil+Pentoksifilin grubu ile karşılaştırıldığında, Çinko+Alfa tokoferol grubunda MDA düzeyi düşük, GPX düzeyi yüksek bulunurken ($p<0.05$), SOD ve katalaz aktiviteleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo II-Şekil 9, 10, 11, 12)

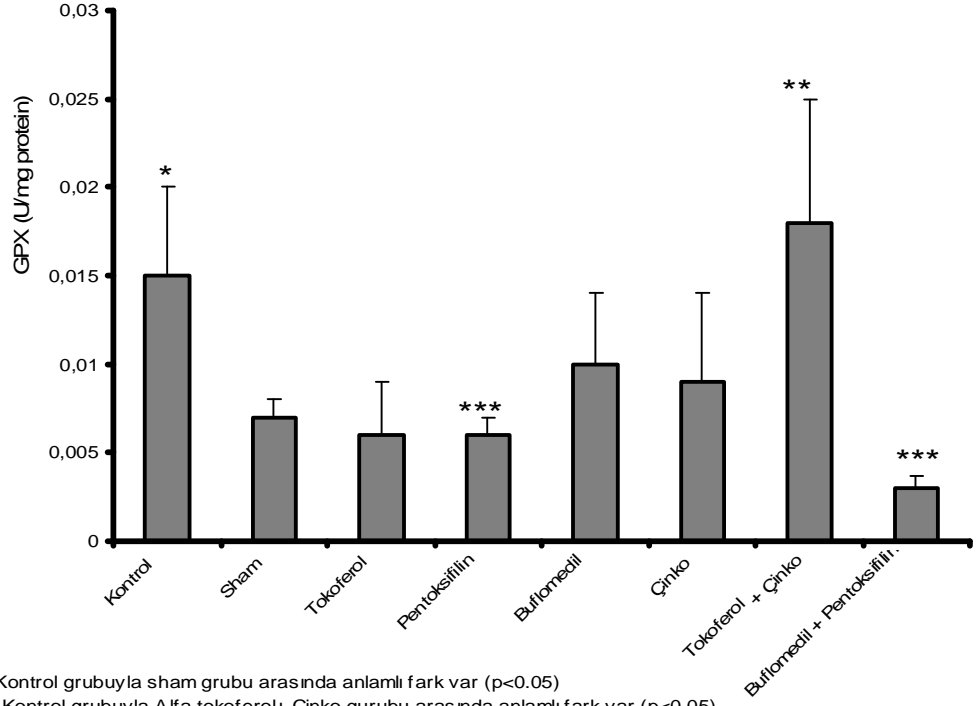
Tablo II: Deney gruplarının MDA ve antioksidan enzim değerleri (Ort. değer±St.sapma)				
	MDA (nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	GPX (U/mg protein)	Katalaz (U/mg protein)
Kontrol	1,059±0,710 (0.29-2.38)	1.396±0.896 (0.73-3.13)	0.015±0.005 (0.01-0.03)	9.632±2.460 (6.41-13.63)
Sham	0.158±0.486* (0.07-0.23)	1.330±0.324 (1.03-1.97)	0.007±0.001 (0.01-0.01)	8.003±3.638 (4.48-14.25)
Alfa Tokoferol	0.574±0,264 (0.22-1.16)	1.922±0.911 (0.64-3.42)	0.006±0.003 L (0.00-0.01)	5.619±2.696 Ö (1.38-9.27)
Pentoksifilin	0.586±0.448 (0.12-1.46)	6.957±3.296# (3.51-12.26)	0.006±0.001 L (0.00+0.01)	6.267±2.107 Ö (2.94-8.33)
Buflomedil	0.685±0.114 (0.52-0.88)	2.968±0.888# (2.01-4.38)	0.010±0.004 (0.01-0.02)	5.968±2.593 Ö (1.99-10.59)
Çinko	0.426±0.104* (0.27-0.60)	3.838±1.543# (2.28-7.20)	0.009±0.005 (0.00-0.02)	8.509±3.272 (5.33-14.71)
Çinko + Alfa Tokoferol	0.380±0.241* (0.13-0.70)	4.570±1.346# (2.53-6.22)	0.018±0.007 (0.01-0.03)	10.160±7.939 (3.93-26.88)
Pentoksifilin+ Buflomedil	0.775±0.125 (0.63-1.00)	5.122±0.573# (4.21-6.12)	0.003±0.000 L (0.00-0.00)	6.764±0.885 Ö (5.35-8.02)
*: Kontrol gurubuna göre MDA düzeyi anlamlı derecede düşük ($p<0.05$) #: Kontrol gurubuna göre SOD düzeyi anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) L : Kontrol gurubuna göre GPX düzeyi anlamlı derecede düşük ($p<0.05$) Ö : Kontrol gurubuna göre Katalaz düzeyi anlamlı derecede düşük ($p<0.05$)				



Şekil 9:Grupların MDA düzeyleri

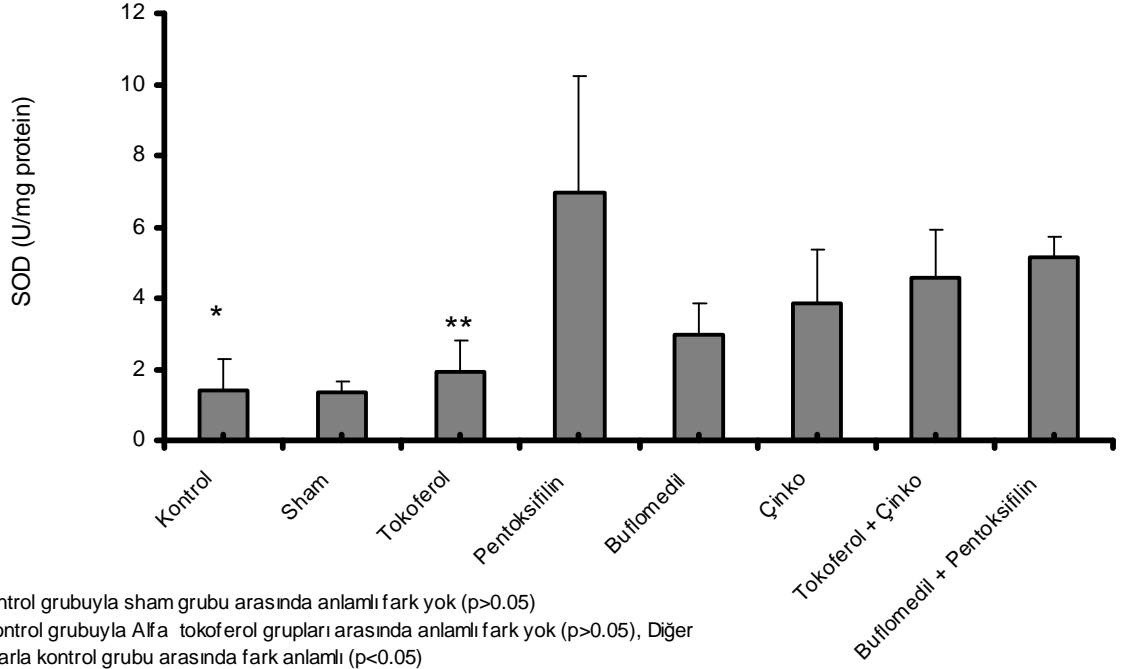


Şekil 10: Gruplarda katalaz aktivitesi



*: Kontrol grubuyla sham grubu arasında anlamlı fark var ($p < 0.05$)
 **: Kontrol grubuyla Alfa tokoferol+ Çinko gurubu arasında anlamlı fark var ($p < 0.05$)
 ***: Pentoksifilin ve Buflomedil + Pentoksifilin guruplarında kontrol gurubuna göre GPX düzeyi anlamlı azalmıştır. ($p < 0.05$)

Şekil 11: Gruplarda GPX aktivitesi

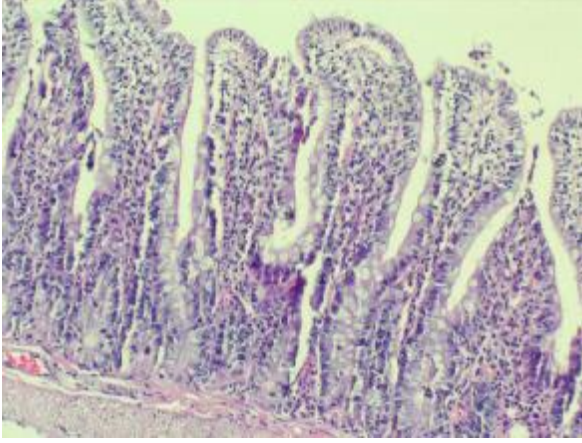


*: Kontrol grubuyla sham grubu arasında anlamlı fark yok ($p > 0.05$)
 **: Kontrol grubuyla Alfa tokoferol gurupları arasında anlamlı fark yok ($p > 0.05$), Diğer guruplarla kontrol grubu arasında fark anlamlı ($p < 0.05$)

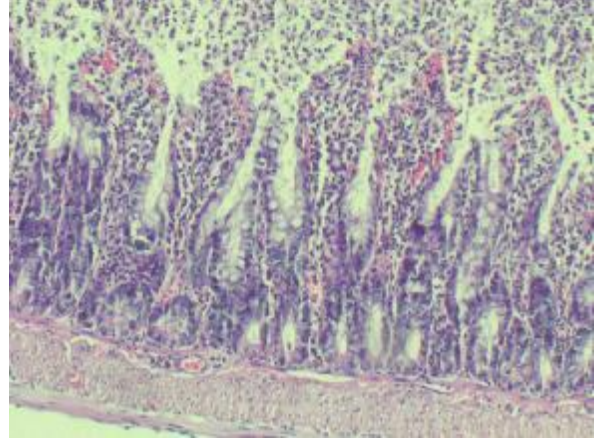
Şekil 12: Gruplarda SOD aktivitesi

Histopatolojik analiz sonuçları

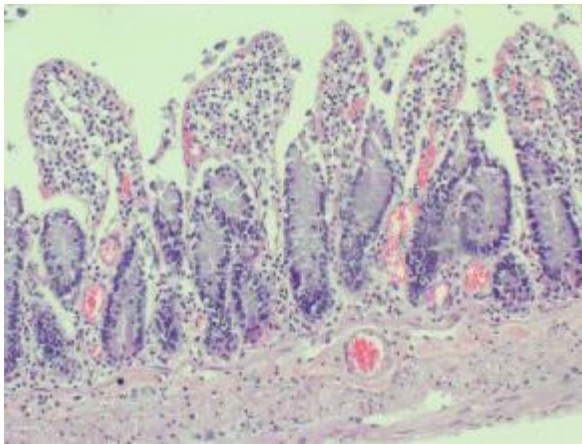
Grupların histopatolojik analizlerinde, sham grubunda hiç hasar oluşmazken kontrol grubu en fazla hasarın gözleendiği grup olmuştur. Kontrol grubu ile diğer gruplar kıyaslandığında yalnızca Buflomedil+Pentoksifilin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az hasar tespit edilmiştir ($p<0.05$). Diğer grupların kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırılmalarında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



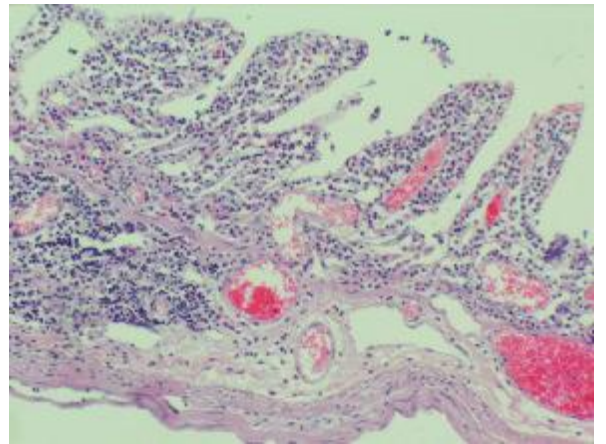
Şekil 13: Grade 0: Normal ince barsak dokusu



Şekil 14: Grade 1: Mukozal hücrelerin dökülmesi. Kript yapıları korunmuş.



Şekil 15: Grade 2: Mukozal villus nekrozu. Kript yapıları korunmuş.



Şekil 16: Grade 3: Kript yapılarının da bozulduğu mukozal villus nekrozu

Tablo III: Gurupların histopatolojik analiz sonuçları	
	Ortalama değer±St.Sapma (Minimum-Maksimum)
Kontrol grubu	1.250±0.886 (0.00-3.00)
Sham grubu	0.000±0.000 (0.00-0.00)
Alfa tokoferol grubu	1.125±0.640 (0.00-2.00)
Pentoksifilin grubu	0.500±0.534 (0.00-1.00)
Buflomedil grubu	0.500±0.534 (0.00-1.00)
Çinko grubu	0.875±0.640 (0.00-2.00)
Çinko + Alfa tokoferol grubu	0.625±0.517 (0.00-1.00)
Buflomedil + Pentoksifilin grubu*	0.125±0.353 (0.00-1.00)
*: Kontrol gurubuna göre anlamlı olarak daha iyi sonuç (p<0.05)	

TARTIŞMA

İntestinal iskemi, mezenterik damarlarda kan akımının yetersiz olması, bunun sonucunda oluşan hipoksi ve tam açıklanamamış mekanizmasıyla sadece barsaklarda değil, diğer hayati organlarda da hasar oluşturmasıyla karakterize olan bir hastalıktır. Tanı ve cerrahideki tüm ilerlemelere, preoperatif ve postoperatif bakımdaki tüm gelişmelere rağmen son 30 yılda %70 civarında olan mortalite oranı korunmaktadır. Gastrointestinal sistemin iskemi ve reperfüzyonunun, MOF oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (15).

Ratlarda mezenterik İRH' ını ve çeşitli ajanların bu hasarı önlemede etkinliklerini çalışmak amacıyla, in vivo olarak birtakım deneysel modeller uygulanmıştır. Bu modellerde, mezenterik iskemi oluşturmak için, SMA'nın transeksiyonu ve oklüzyonu uygulanmıştır. Bununla birlikte, uygulanan iskemi ve reperfüzyon süreleri noktasında, modeller arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ayrıca daha derin bir iskemi oluşturmak için, kollaterallerin de akımının kesildiği modeller çalışılmıştır. Pentoksifilin' in intestinal İRH' ını önlemedeki rolünün araştırıldığı bir çalışmada 1 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon uygulanmıştır (50). Çinko' nun intestinal iskemi reperfüzyon sonrası oluşan uzak oküler hasarı önlemedeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada 60 dakika iskemiye takiben 90 dakika reperfüzyon uygulanmıştır (74). Biz de çalışmamızda, öncül deneylerde intestinal İRH oluşumunun histopatolojik olarak tespit edilmesi üzerine 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uyguladık.

SMA akımının kollaterallerden gelen akımla birlikte kesilmesi, mezenterik alana gelen akımın tamamen kesildiği komplet iskemiye yakın bir duruma yol açar (75). Bazı çalışmalarda, sadece SMA oklüzyonunun ratlarda mortaliteyi artırmadığı ortaya konmuştur. Oysa kollateral akımın da kesildiği derin iskemi grubunda, reperfüzyon aşamasında, kayda değer mortalite ve morbidite artışı meydana gelmiştir (76). Bizim çalışmamızda da mortalite oluşmadı. Megison ve arkadaşları, sadece SMA oklüzyonunun yapıldığı durumlarda mezenterik akımın %83 oranında azaldığını, kollateral akımın da kesilmesiyle bu oranın %98 in üstüne çıktığını gösterdiler (77). SMA akımının %75 oranında 12 saat kesilmesi, ışık mikroskopuyla tanımlanabilen hiçbir değişikliğe yol açmamaktadır (76). Bizim çalışmamızda,

iskemi-reperfüzyon uygulanan kontrol grubunda, 8 rattan 2 sinde hemen hiç histopatolojik hasar tespit edilmedi. Bununla beraber, bu grup içerisinde en yüksek Grade 3 hasar meydana geldi. Bizim çalışmamızda, kollateral akımın kesilmesine yönelik bir işlem yapılmadığı için mezenterik akım retrograd olarak bir miktar da olsa devam etmiştir.

Lökositler, iskemi-reperfüzyon sürecine saatler içinde dahil olurlar (78). Bizim çalışmamızda reperfüzyon süresinin 60 dakika olması, lökosit aracılıklı reperfüzyon hasarının oluşmasında engelleyici bir etken olabilir.

Son yıllarda, iskemi ve takiben gelişen reperfüzyon esnasında, SOR aracılığı ile meydana gelen hasara ilgi artmıştır. SOR oluşumunda XD'ın XO'a dönüşümünün rol oynadığı ispatlanmıştır. İskemiye maruz kalan dokularda artan XO miktarı, artmış XO aktivitesi ve artmış serbest radikal üretimi ile sonuçlanır. Myeloperoksidaz (MPO), monositlerde de bulunan major bir nötrofil proteindir. İRH' da, MPO kaynaklı oksidanların yaptığı hasar iyi bilinen bir durumdur. Yüksek miktarda oluşan SOR, başlıca hücre membranında bulunan serbest yağ asitlerinin peroksidasyonuna yol açar. Bu olayı hücrenin diğer komponentlerinin peroksidasyonu izler. Bu reaksiyon, İRH patogenezinde önemli rol oynamaktadır (79).

Biyokimyasal seviyedeki birçok çalışma ve hayvan deneyleri, yeniden oksijenasyonun zararlı oksijen radikallerinin fazla miktarda üretilmesine yol açtığını, bunun da doğal antioksidan savunma mekanizmasını tahrip ettiğini ve başta reperfüze olan organ olmak üzere tüm vücutta oksidatif yükü artırdığını göstermiştir (80).

SOR' nin direkt ölçümü, bu maddelerin stabil olmamaları ve kısa olan yarı ömürleri nedeniyle mümkün olmamaktadır. Lipoperoksidasyonun stabil bir son ürünü olan MDA, hücre membranındaki lipidler üzerindeki serbest radikal etkisinin ölçülebilen kimyasal bir belirteçidir (74,80,81). Komplet ve inkomplet iskemi uygulanan deneysel modellerde yapılan bazı çalışmalarda, MDA' nın hücre duvarı ayrışmasının göstergesi olduğu ortaya konmuştur. Bu sebeple, MDA düzeylerinin ölçümü, iskemi reperfüzyon olgularında serbest radikal aktivitesini tespit etmek için kullanılmaktadır (81). Biz de çalışmamızda oksidan hasarı belirlemek ve kullandığımız maddelerin bu hasarı önlemedeki başarısını saptamak amacıyla denek gruplarında MDA düzeyleri çalıştık.

SOR aracılığı ile vücutta oluşan oksidan hasara karşı dokular, SOD, katalaz ve GPX gibi birtakım radikal temizleyici enzimler taşırlar. Bu enzimler, H₂O₂ ve süperoksitleri temizler veya inaktive ederler (14). SOD, süperoksit radikallerini H₂O₂ e katalizler. H₂O₂ ise, katalaz ve GPX tarafından moleküler oksijen ve suya indirgenir. GPX, glutatyon redüktaz aracılığı ile oluşan redükte glutatyonu okside forma dönüştürür. GPX, düşük H₂O₂ konsantrasyonunda daha etkindir. Bu bilgilerin ışığında, bu enzimlerin konsantrasyonlarının ölçümü, iskemi sonrasında oluşan SR formasyonu hakkında indirekt olarak bilgi verirler (82,83). Önceki bazı çalışmalarda, uzun süre iskemi ve reperfüzyona maruz bırakılan dokularda antioksidan enzim düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir. Pentoksifilin ve koenzim Q10' un hepatik İRH' daki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, iskemi-reperfüzyon grubunda antioksidan enzim düzeylerinin anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. Bazı otörler ise, hepatik iskemi-reperfüzyon esnasında glutatyon redüktaz ve GPX düzeylerinin değişmediğini göstermişlerdir (82). Bizim çalışmamızda, kontrol grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında, SOD ve katalaz düzeylerinde anlamlı bir fark bulunamazken, GPX düzeyi kontrol grubunda anlamlı şekilde yükselmiştir. Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, SOD düzeyleri diğer gruplarda anlamlı şekilde yüksek bulunurken GPX ve katalaz düzeylerinde çok farklı sonuçlara ulaşılmıştır. SOD' un tedavi gruplarında yüksek çıkması, verilen maddelerin antioksidan bir cevaba yol açtıkları şeklinde yorumlanabilir.

İRH' dan hastaları korumak amacıyla birçok ilaçla birlikte değişik yöntemler önerilmiş ve denenmiştir. Bunlar arasında; hipotermi sağlama, iskemik ön şartlanma ve başarılı bir iskemi reperfüzyon sağlamak amacıyla değişik periyotlarda geçici klempaj yapmak gibi çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Deneysel çalışmalarda, İRH' nın azaltılması veya önlenmesinde birtakım ilaçların etkili olduğu gösterilmiştir (79). İRH' nı önleyen ajanlar bir takım mekanizmalar üzerinden etki göstermektedirler. Bunlar; antioksidasyon, serbest radikal üretiminin inhibisyonu, serbest radikal temizlenmesi ve nötrofil inhibisyonu gibi mekanizmalardır (15).

Alfa tokoferol, önemli bir doğal antioksidandır ve poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyondan korunmasında ilk sıralarda etkinliği olduğu düşünülmektedir. Bu madde, hem serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak antioksidan etkinlik gösterir hem de serbest radikalleri temizler (15,79). Alfa tokoferol' ün antioksidan

etkinliği yanı sıra, iskemi sonrası kas hücrelerinde ödemi azaltarak koruyucu etkinlik gösterdiği saptanmıştır (79). Buna rağmen, Alfa tokoferol' ün İRH' daki önleyici rolünün araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşılmıştır.

Bazı araştırmacılar, Alfa tokoferol' ün ince barsakta koruyucu etkinliğinin ortaya çıkması noktasında yeterli doku konsantrasyonuna ulaşmak için 15 güne kadar varan uzun dönem uygulamanın gerekli olduğunu öne sürmektedirler. Bu noktada, çeşitli organ sistemlerinin bu maddeye karşı verdiği cevabın farklılığı öne çıkmaktadır (15).

Literatürde Alfa tokoferol uygulama yöntemi ve dozajı farklılık gösterdiğinden ortaya çıkan farklı görüşlerden nihai bir karar çıkarmak zordur. Kapalı lipid peroksidasyon reaksiyonlarında Alfa tokoferol' ün antioksidan etkinliği azalmaktadır hatta yüksek konsantrasyonlarda prooksidan gibi işlev gösterebilmektedir (80). Bizim çalışmamızda Alfa tokoferol, uygulanan dozaj ve uygulama şekliyle, istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile antioksidan etkinlik göstermiştir.

Alfa tokoferol, taurin ve selenyumun splanknik organların İRH' ını önlemedeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Alfa tokoferol' ün tek başına kullanıldığında şoku önlemede ve viseral lezyonları azaltmada bir etkinliğinin olmadığı gösterilmiştir (15). Yine Alfa tokoferol' ün rat böbreğindeki deneysel İRH üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bu gruptaki MDA değerlerinin, sadece serum fizyolojik uygulanan gruba yakın olduğu saptanmıştır.(80)

Buna karşın bir çalışmada, Alfa tokoferol, ratlardaki hepatik İRH' da hem biyokimyasal hem de histolojik olarak faydalı etkiler göstermiştir (17). Alfa tokoferol, ratlarda pelvik İRH modelinde biyokimyasal olarak iyileşmelere yol açarken buna ilaveten kas hücrelerinde oluşan ödemi de azaltmıştır (79). Alfa tokoferol' ün değişik maddelerle kombinasyonları birçok İRH modelinde çalışılmıştır. Köpek ince barsak ototransplantasyon modelinde, bir antioksidan olan Euro Colin solüsyonu ile kombinasyonu, lipid peroksidasyonunu azaltarak membran bütünlüğünün sürdürülmesine katkı sağlamıştır (84). Verapamil' le kombinasyonunun, rat ince barsak İRH' nda çalışıldığı bir çalışmada, kombine tedavi uygulanan grupta MDA değerlerinin Alfa tokoferol grubuna göre düşük olduğu bulunmuştur (85). Ginkgo biloba ile kombinasyonu, kasık cilt flebindeki İRH' da

MDA seviyelerini düşürmüştür (81). Tüm bu çalışmalar, Alfa tokoferol' ün diğer bir antioksidanla kombine kullanıldığında hasarı önleme etkinliğinin ciddi bir şekilde artmasına yol açtığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda da Çinko ile kombine yapılan grupta MDA değerleri sham grubuna oldukça yaklaşmış ve iki grup arasında istatistiksel fark bulunmamıştır ($p<0.05$). Ayrıca antioksidan enzimler olan SOD ve GPX aktiviteleri, ortak uygulama grubunda Alfa tokoferol ve Çinko gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur.

Kendi çalışmamızda Alfa tokoferol uygulanan grupla kontrol grubu karşılaştırıldığında, Alfa tokoferol' ün MDA düzeyini %50 lere kadar düşürdüğü, fakat aradaki farkın istatistiksel anlam taşımadığı saptandı ($p>0.05$). Histopatolojik incelemede Alfa tokoferol grubunun kontrol grubuyla benzer oranda hasarlı olduğu görüldü. Elde ettiğimiz bu sonuçlarla birlikte, Alfa tokoferol' ün ince barsak İRH' da oksidan hasarı azalttığı ve Çinko ile kombine kullanıldığında hasarı azaltıcı etkinin oldukça yükseldiği sonucuna vardık.

Çinko' nun başta aspartatla olmak üzere çeşitli bileşikleri, SOR inhibitörleri olarak görev yapar (18). Çinko' nun antioksidan etkinliğini birtakım mekanizmalarla açıklamak mümkündür; antioksidan enzimlerin (SOD ve katalaz) indüksiyonu, doku içinde redükte glutatyon seviyelerinin korunması, SOR üretiminin zayıflatılması ve SOR' in direkt olarak temizlenmesi (Radical scavenging) (16). Öte yandan bazı araştırmacılar, Çinko' nun antioksidan etkilerinden bağımsız olarak, direkt doku koruyucu etkisine dikkat çekmişlerdir. Bu etki, muhtemelen DNA bağlayıcı kapasitesine veya kalsiyumun içeriye akışını önleme özelliğine bağlıdır (74).

SOD, SR' in ortadan kaldırılmasında rol oynayan anahtar enzimdir. SOD' un değişik formları mevcuttur ve bunlardan birisi Cu-Zn SOD dur. Bir çalışmada bu enzimin renal İRH' ını azalttığı gösterilmiştir (86). Çinko bu enzimin komponenti olarak ta muhtemelen antioksidan etkinlik göstermektedir. Çinko ayrıca NO sentezini de inhibe etmektedir. Bir çalışmada artmış NO seviyesi ve doku hasarı, düşük Çinko ve SOD düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (74).

İntestinal İRH' ın Çinko' nun plazma ve doku konsantrasyonlarını düşürdüğü ortaya konmuştur (87). Merkezi sinir sistemi İRH' ının araştırıldığı bir çalışmada, iskemi ve reperfüzyon esnasında hücre dışı mesafeye Çinko salınımının olduğu

ortaya konmuştur. Reperfüzyon esnasındaki salınımın, iskemide olandan daha büyük olduğu gösterilmiştir (88).

Çinko aspartat' la yapılan bir çalışmada Ergun M.D ve arkadaşları, bu bileşiğin iskelet kası İRH modelinde MDA seviyesini anlamlı şekilde düşürdüğünü göstermişlerdir. Ama aynı çalışmada sadece Çinko aspartat verilen grupta MDA seviyesinin yükseldiği ve antioksidan enzim seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir. Bu durum, normal koşullarda Çinko nun zararlı bir etki gösterebileceği şeklinde yorumlanmıştır (16). Yine bir çalışmada, intestinal iskemi-reperfüzyon sonrası gelişen uzak göz hasarının Çinko aspartatla düzeldiği gösterilmiştir (74). Unilateral testis torsiyonu yapılan ratlarda İRH' ının Çinko aspartat' la gerilediği saptanmıştır (18).

İntestinal İRH' da Çinko' nun önleyici rolü ilk defa bizim çalışmamızda araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda, Çinko grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyi Çinko grubunda anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır ($p<0.05$). Bu grupta SOD düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuş ($p<0.05$), katalaz ve GPX düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır ($p>0.05$). Çinko grubu Alfa tokoferol grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında MDA düzeyi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çinko grubunda SOD düzeyi, Alfa tokoferol grubundan anlamlı bir şekilde yüksekti. Histopatolojik olarak kontrol ve Alfa tokoferol gruplarına kıyasla hasar daha az idi.

Bu bulgularla birlikte Çinko aspartat' ın, intestinal İRH' ını önlemede etkin bir ajan olduğu kanısına vardık. Ve ayrıca antioksidan potansiyelinin Alfa tokoferol'den daha yüksek olduğunu saptadık. Bununla birlikte Alfa tokoferol' le kombine uygulandığında, oldukça yüksek antioksidan etki oluşturmaktadır.

Postiskemik dokularda, nötrofiller SOR için potansiyel bir kaynaktır. Nötrofiller, oksidan bir enzim olan NADPH ve nötrofil-spesifik bir enzim olan MPO bulundurlar. Bu enzimler güçlü oksidanların salınımının muhtemel sorumlusudurlar (89). SOR, dokulara direkt hasar yapmasının yanı sıra, iskemik dokuda nötrofil birikimini de tetikler (83). İskemik periyodun sonunda endotele yapışarak aktive olan nötrofiller, membran ilişkili enzim NADPH oksidaz aracılığı ile süperoksit radikali üretirler (82). SR, monositleri TNF-alfa ve IL-6 gibi çeşitli

sitokinleri üretmek üzere uyarırlar. Bu sitokinler, diğer interlökinleri (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8) salınımını artırmak için endotele etki ederler. Üretilen sitokinler, solunumsal nötrofil patlaması sağlayarak ve serbest radikal salınımını artırarak sürece katkı sağlar (83). Tüm bu bilgiler, İRH' nin kompleks patofizyolojisi içerisinde, toplam hasarın oluşmasını sağlayan komponentlerin ne denli birbirleriyle ilişki içinde olduklarını ve birbirlerinin etkilerini potansiyelize ettiklerini göstermektedir.

Pentoksifilin, bir ksantin türevidir. Uygulanımı sonucunda, eritrosit esnekliğini ve kan viskozitesini artırdığı tesbit edilip, bu hemoreolojik etkilerinden dolayı periferik tıkaçıcı damar hastalıklarının tedavisinde kullanılagelmiştir. Pentoksifilin in değişik dokuların İRH' da çeşitli faydalı etkileri bulunmuştur. Bunlar; iskemik alana nötrofil akışının ve MPO salınımının engellenmesi, XO aktivitesinin inhibisyonu, PAF üretiminin azaltılıp, prostaglandin I2 sentezinin artırılarak İRH' nin geri çevrilmesi ve SOD aktivitesinin artırılmasıdır (89). Pentoksifilin, intestinal mikrovasküler kan akımını yerine koymakta ve kanama sonrası doku oksijenasyonunu artırmaktadır. Birkaç çalışmada antioksidan etkinliği tanımlanmıştır. İntraperitoneal uygulanımı sonucu birkaç dakika içinde yüksek doku yoğunluğuna ulaşılmaktadır (78). Bu sebeple çalışmamızda intraperitoneal yolu kullandık.

Çeşitli İRH modellerinde, Pentoksifilin' in çalışıldığı deneysel çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Ratlarda spinal kord İRH' da, Pentoksifilin' in biyokimyasal hasar belirteçlerinin seviyesini düşürdüğü bulunmuştur (83). Öte yandan, hepatik İRH' da Pentoksifilin' in etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bu ajanın herhangi bir düzeltici rolü gösterilememiştir (82). İRH sonrasında yapılan ince basak anastomozunun güvenilirliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, reperfüzyondan önce uygulanan Pentoksifilin' in MPO seviyesini normale getirdiği ve doku hasarını azalttığı belirlenmiştir (89). Hepatik İRH modelinde Pentoksifilin' in rolünün araştırıldığı bir çalışmada, enteresan olarak bu ajanın MDA seviyesini kontrol grubuna göre artırdığı bulunmuştur. Bu sonuç, Pentoksifilin' in iskemi sonucu reperfüzyonu artırarak dokulara serbest radikal maruziyetini artırdığı şeklinde açıklanmıştır. Şener ve arkadaşları, 60 dakika iskemi ve 90 dakika reperfüzyon uygulanan bir intestinal İRH modelinde Pentoksifilin in MDA ve MPO düzeylerini düşürücü etkisini göstermişlerdir (50).

Bizim çalışmamızda, Pentoksifilin grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyinde düşüşe yol açmış fakat istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$). SOD aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yükselmiştir ($p<0.05$). Yine hemoreolojik etkinlik gösteren bir ajan olan Buflomedil grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyi Pentoksifilin grubunda düşük bulunmuş ama istatistiksel fark ortaya konamamıştır ($p>0.05$). Buflomedil ile kombine uygulanan grupta ise, MDA düzeyi kontrol grubuna göre oldukça düşmüş ama yine fark anlamlı çıkmamıştır ($p>0.05$). Histopatolojik olarak, kontrol grubuna oranla daha iyi bulgular elde edilmiştir.

Bu bulgular ve bilgiler ışığında Pentoksifilin' in intestinal İRH' ını azaltıcı etkisinin bulunduğu fakat bu etkinliğin istatistiksel olarak ortaya konmadığı sonucuna vardık. Kendi çalışmamızda reperfüzyon süresinin (60 dk), Şener ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki reperfüzyon süresinden (90 dk) kısa olması bu sonucun nedeni olabilir.

Bir orijinal sentez molekülü olan Buflomedil, belirli birtakım vazodilatör etkilere sahiptir ve periferik ve serebrovasküler hastalıkta iskemik dokuya besleyici kan akımını artırmaktadır. Bu ajanın etki mekanizması tam olarak anlaşılmasına rağmen, kan damarları, plateletler ve kırmızı kan hücreleri üzerinde etkin olduğu birkaç çalışmada gösterilmiştir (23). Kan damarları üzerindeki etkinliği, muhtemelen alfa reseptör blokajı yapması ile ilişkilidir. Bunların yanı sıra, zayıf kalsiyum antagonist etkisi ve oksijen koruyucu etkisi bulunmaktadır (90). Buflomedil' in, lökositler üzerinde de birtakım etkileri bulunmaktadır. Bir çalışmada postiskemik reperfüzyon esnasında lökosit yapışmasını engellediği, endotelial bütünlüğü ve mikrovasküler perfüzyonu koruduğu gösterilmiştir (23). Bu ajanın esas kullanım alanı periferik dolaşım bozukluklarıdır ve halihazırda bazı Avrupa ülkelerinde bu amaçla kullanılmaktadır. Bir çalışmada nikotin uygulanan dorsal cilt fleplerinde oluşan hasarı önlemede etkili bulunmuş ve Pentoksifilin ile yapılan kombinasyonu herhangi bir aditif etki göstermemiştir (91). Yine başka bir in vitro çalışmada hipoksinin uyardığı nötrofil adezyonunu, endotel hücreleri üzerindeki P-selektin ekspresyonunu azaltmak suretiyle geriletmiştir (90).

İntestinal İRH modelinde Buflomedil' in etkinliği ilk defa bizim çalışmamızda araştırılmıştır.

Bizim çalışmamızda, Buflomedil grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Buflomedil grubu MDA düzeyi kontrol grubundan düşük bulunmuş, fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). SOD düzeyi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Pentoksifilin ile kombinasyon yapılan grupta MDA değerleri Buflomedil ve Pentoksifilin grubuna göre yükselmiş ama istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Kontrol grubuyla karşılaştırılarda ortak grup MDA düzeyi kontrol grubundan düşük çıkmış, ama istatistiksel fark yine bulunamamıştır ($p>0.05$). Kombine uygulama yapılan grupta MDA değerinin daha da yükselmesi bu ajanların oksidan hasarı önleme noktasında aditif etki göstermediklerini düşündürmektedir. Ama ilgi çekici bir şekilde, kombine uygulama yapılan grubun histopatolojik bulguları, diğer tüm gruplardan ciddi bir şekilde daha iyi bulunmuş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında, hasarı anlamlı olarak azaltan tek uygulama grubu, bu grup olmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç, Buflomedil' in intestinal İRH' da koruyucu etkisinin antioksidasyon yoluyla değil de mikrosirkülasyon üzerindeki restoratif etkisi ve nötrofillerin adeziv fonksiyonlarını inhibe etmesi özelliğinden kaynaklandığını düşündürmekle birlikte, konu üzerinde yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

SONUÇLAR

1- Kontrol grubunda, sham grubuna kıyasla MDA değeri anlamlı şekilde yüksek, histopatolojik tablo belirgin şekilde kötü bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum, uyguladığımız modelin intestinal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturmak için yeterli olduğunu göstermektedir.

2- İntestinal iskemi reperfüzyon sonrası oluşan oksidan hasarı önlemede, Çinko etkin bulunmuş ve Alfa tokoferol ile kombine uygulandığında bu etki daha da artmıştır.

3- Alfa tokoferol tek başına kullanıldığında, bir miktar antioksidan etki göstermiş, MDA düzeyini kontrol grubuna göre düşürmüştü, fakat bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

4- Buflomedil ve Pentoksifilin tek tek kullanıldığında MDA düzeyini düşürmüşlerdir ama bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Buflomedil grubunda MDA düzeyi, Pentoksifilin grubuna göre düşük bulunmuş ama bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

5- Buflomedil+Pentoksifilin kombinasyonu, MDA düzeyini kontrol grubuna kıyasla düşürmüştü ama bu düşüş anlamlı çıkmamıştır ($p>0.05$). Bu grup, kontrol grubuna göre, histopatolojik tabloyu anlamlı şekilde düzelterek tek grup olmuştur ($p<0.05$). Bu durum, Buflomedil ve Pentoksifilin' in iskemi reperfüzyon sonrası oluşan hasarı, antioksidasyon yoluyla değil de, dolaşım düzenleyici etkileri nedeniyle azalttıklarını düşündürmektedir.

6- Antioksidan enzim aktiviteleri açısından gruplar arasında farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Alfa tokoferol grubu hariç diğer tüm gruplarda, SOD düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükselmiştir ($p>0.05$).

KAYNAKLAR

1. Dang C., et al. Acute mesenteric ischemia. eMedicine world medical library 2006.
2. Tessier DJ., et al. Mesenteric artery ischemia eMedicine world medical library 2006.
3. Uncu H, Uncu G, İlçöl Y, Aker Y. Diagnosis of intestinal ischemia by measurement of serum phosphate and enzyme changes and effectiveness of vitamin E treatment. Turk J Gastroenterol. 1999; 10:3, 272-275
4. De Toma G, Marazano D, Salvatore P. Enzymatic and metabolic changes in the peripheral serum after superior mesenteric artery ligation in dogs. Ital J Surg Sci 1983; 13: 269-273
5. Stein HJ, Oosthuizen MMJ, Hinder RA, Lamprechts H. Effect of verapamil on hepatic ischemia reperfusion injury. Am J Surg 1993; 165: 96-99
6. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986; 250: 749-753
7. Bilbao G, Contreras JL, Eckhoff DE, Mikheeva G, Krasnykh V, et al. Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by in vivo adenovirus gene transfer of antiapoptotic Bcl-2 gene. Ann Surg 1999; 230(2): 185-189
8. Riedemann NC, Ward PA. Complement in ischemia reperfusion injury. Am J Pathol 2003; 162: 363-367
9. Udassin R, Haksel Y, Samuni A. Nitroxide radical attenuates ischemia/reperfusion injury to the rat small intestine. Gut 1998; 42: 623-627
10. Mallick IH, Winslet MC, Seifalan AM. Pyrrolidine dithiocarbamate protects the small bowell from warm ischemia/reperfusion injury of the intestine: the role of haem oxygenase. Clinical Science 2006; 111: 373-380
11. Ogura W, Itagaki S, Kurokawa T, Noda T, et al. Protective effect of lutein on ischemia-reperfusion injury in rat small intestine. Biol.Pharm.Bull. 2006; 29(8): 1764-1766

12. Desmukh DR, Mirochnitchenko O, Ghole VS, Agnese D, et al. Intestinal ischemia and reperfusion injury in transgenic overexpressing copper-zinc superoxide dismutase. *Am J Physiol Cell Physiol* 1997; 273: 1130-1135
13. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Patophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion injury: a review. *Acta Cir. Bras.* 2005; 20(4): 336-343
14. Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C. Therapeutic effects of xantine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discover of allopurinol. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 87-114
15. Yoshida WB, Alasio T, Maziotta R, Qin F, Kashani M, et al. Effect of alpha tocopherol, taurine and selenium on the attenuation of ischemia/reperfusion injury of splanchnic organs. *Cardiovascular Surgery* 1998; 6: 178-187
16. Ergun Y, Kurutas EB, Cetinus E, Ergun UG. Ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle is attenuated by zinc aspartate. *J Surg Res.* 2006; 137(1): 109-116
17. Carvalho CA, Souza HS, Fagundes DJ, Simoes MJ, Novo NF, et al. Cytoprotective effects of alpha tocopherol on ischemia/reperfusion injury in rat liver :biochemical and histological evaluation. *Transplant Proc.* 2004; 36 (2): 276-282
18. Özkan KU, Boran Ç, Kiliç M, Garipardıç M, Kurutas EB. The effect of zinc aspartate pretreatment on ischemia-reperfusion injury and early changes of blood and tissue antioxidant enzyme activities after unilateral testicular torsion-detorsion. *J Pediatr Surg.* 2004; 39(1): 91-95
19. Aktan AÖ, Yalçın AS. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the surgeon. *Turk J Med Sci* 1998; 28: 1-5
20. Montalto MC, Hart ML, Jordan JE, Wada K, Stahl GL. Role for complement in mediating intestinal nitric oxide synthase-2 and superoxide dismutase expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: 197-206
21. Tomatsuri N, Yoshida N, Takagi T, Katada K, Isozaki Y, Imamoto E, et al. Edaravone, a newly developed radical scavenger, protects against ischemia-reperfusion injury of the small intestine in rats. *Int J Mol Med* 2004; 13: 105-109
22. Savas Ç, Özogül C, Karaöz E, Delibas N, Özgüner F, et al. Splenectomy reduces remote organ damage after intestinal ischemia-reperfusion injury. *Acta chir belg* 2003; 103: 315-320

23. Nolte D, Lehr HA, Sack FU, Messmer K. Reduction of postischemic reperfusion injury by the vasoactive drug Buflomedil. *Blood Vessels* 1991; 28: 8-14
24. Gurel A, Armutcu F, Sahin S, Sogut S, Ozyurt H, et al. Protective role of alfa tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys. *Clin Chim Acta* 2003; 339(1-2): 33-41
25. Al-Mehdi AB, Fisher AB. Invited editorial on tumor necrosis factor-alpha in ischemia and reperfusion injury in rat lungs. *J Appl Physiol* 1998; 85: 2003-2004
26. Pirat A, Zeyneloglu P, Aldemir D, Yucel M, Ozen O. et al. Pretreatment with simvastatin reduces lung injury related to intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Anesth Analg* 2006; 102: 225-232
27. Yamagishi Y, Horie Y, Kato S, Kajihara M. et al. Ethanol modulates gut ischemia/reperfusion induced liver injury in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: 640-646
28. Chamoun F, Burne M, O'Donnell M, Rabb H. Patophysiological role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Frontiers in Bioscience* 2000; 5: 103-109
29. Wolfgagn H, Cerwinka D, Granger N. Influence of hypercholesterolemia and hypertension on ischemia-reperfusion induced P-selectin expression. *Atherosclerosis* 2001; 154: 337-344
30. Kuwabara Y, Kato T, Sato A, Fujii Y. Prolonged effect of leucocytosis on reperfusion injury of rat intestine: real-time ATP change studied using PMRS³¹. *J Surg Res* 2000; 89: 38-42
31. McMichael M, RM Moore. Ischemia-reperfusion injury pathophysiology part I. *Journal of Veterinary emergency and critical care* 2004; 14(4): 231-241
32. Vejchapipat P, Leawhiran N, Poomsawat S, Theamboonlers A. et al. Amelioration of intestinal reperfusion injury by moderate hypothermia is associated with serum ICAM-1 levels. *J Surg Res* 2006; 130: 152-157
33. Tian XF, Zihang XS, Li YH, Wang ZZ, et al. Proteasome inhibition attenuates lung injury induced by intestinal ischemia reperfusion in rats. *Life Sciences* 2006; 79: 2069-2076

34. Ilhan H, Alatas Ö, Tokar B, Çolak Ö, et al. Effects of the anti-ICAM-1 monoclonal antibody, allopurinol, and methylene blue on intestinal reperfusion injury. *J Ped Surg* 2003; 38: 1591-1595
35. Khanna A, Rossmann JE, Fung HL, Caty MG. Attenuated nitric oxide synthase activity and protein expression accompany intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Biochem biophys Res Commun* 2000; 269: 160-164
36. Um JW, Matthews JB, Song JC, Mun EC, et al. Role of protein kinase C in intestinal ischemic preconditioning. *J Surg Res* 2005; 124: 289-296
37. Fleming SD, Egan SP, Chai C, Girardi G, et al. Anti-Phospholipid antibodies restore mesenteric ischemia/reperfusion-induced injury in complement receptor 2/complement receptor 1-deficient mice. *J Immunol* 2004; 173: 7055-7061
38. Xiao F, Eppihimer MJ, Willis BH, Carden DL. Complement-mediated lung injury and neutrophil retention after intestinal ischemia-reperfusion. Department of Medicine and Physiology and Biophysics, Louisiana State University 1997
39. Cuzzocrea S, Chatterjee PK, Mazzon E, Dugo L, et al. Role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after postischemic injury. *Shock* 2002; 18 (2): 169-176
40. Fleming SD, Mastellos D, Karpel-Massler G, Shea-Donohue T, et al. C5a causes limited polymorphonuclear cell-independent, mesenteric ischemia/reperfusion-induced injury. *Clin Immunol* 2003; 108: 263-273
41. Fleming SD, Anderson J, Wilson F, Shea-Donohue T, et al. C5a is required for CD49d expression on vascular endothelial cells following mesenteric ischemia/reperfusion. *Clin Immunol* 2003; 106: 55-64
42. Kryakides C, Woodcock SA, Wang Y, Favuzza J, et al. Soluble P-Selectin moderates complement-dependent reperfusion injury of skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: 520-528
43. Andrasi TB, Kekesi V, Blazovics A, Dobi I, et al. ET_A receptor blockade protects the small intestine against ischemia/reperfusion injury in dogs via an enhancement of antioxidant defences. *Clin Sci* 2002; 103(48): 595-635

44. Özel Ş.K, Yüksel M, Haklar G, Durakbaşa Ç.U, Dağlı TE. Nitric oxide and endothelin relationship in intestinal ischemia/reperfusion injury (II). Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2001; 64(4-5): 253-257
45. Barocelli E, Ballabeni V, Ghizzardi P, Cattaruzza F, Bertoni S, et al. The selective inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents intestinal ischemia-reperfusion injury in mice. Nitric Oxide 2006; 14: 212-218
46. Guo WH, Chan KL, Fung PPCW, Chan KW, Tam PKH. Nitric oxide protects segmental intestinal grafts from ischemia and reperfusion injury. Transplant Proc 2000; 32: 1297-1298
47. Hacıoğlu A, Algin C, Pasaoğlu O, Pasaoğlu E, et al. Protective effect of leptin against ischemia-reperfusion injury in the rat small intestine. BMC Gastroenterol 2005; 5: 37
48. Yamamoto S, Tanabe M, Wakabayashi G, Shimazu M, et al. The role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in ischemia-reperfusion injury of the rat small intestine. J Surg Res 2001; 99:134-141
49. Börjesson A, Norlin A, Wang X, Anderson R, et al. TNF-alpha stimulates alveolar liquid clearance during intestinal ischemia-reperfusion in rats. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000; 278: 3-12
50. Şener G, Akgün Ü, Şatrioğlu H, Topaloğlu Ü, et al. The effect of Pentoxifylline on intestinal ischemia/reperfusion injury. Clin Pharmacol 2001; 15: 19-22
51. Souza DG, Ferreria FL, Fagundes CT, Amaral FA, et al. Effects of PKF242-484 and PKF241-466, novel dual inhibitors of TNF-alpha converting enzyme and matrix metalloproteinases in a model of intestinal reperfusion injury in mice. Eur J Pharmacol 2007; 571: 72-80
52. Stallion A, Kou TD, Berger DS, Knotts KA et al. Intestinal expression of interleukin-6 after intestinal ischemia and reperfusion injury: a primary mediator of multisystem organ failure? Current Surgery September/October 2001; 58 (5)
53. Yang YJ, Chen SH, Ge XR. Role of interleukin-18 in the development of acute pulmonary injury induced by intestinal ischemia/reperfusion and its possible mechanism. J Gastroenterol Hepatol 2007; 22: 253-260

54. Kuenzler KA, Pearson PY, Schwratz MZ. IL-11 pretreatment reduces cell death after intestinal ischemia-reperfusion. *J Surg Res* 2002; 108:268-272
55. Kostopanogiotou G, Avgerinos E, Costotopanogiotou C, Arkadopoulos N, et al. Acute lung injury in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion: the potential time dependent role of phospholipases A₂. *J Surg Res* 2007; 20 (10)
56. Souza DG, Pinho V, Cassali GD, Poole S, et al, Effects of a BLT receptor antagonist in a model of severe ischemia and reperfusion injury in the rat. *Eur J Pharmacol* 2002; 440: 61-69
57. Nakamura N, Hamada N, Murata R, Kobayashi A, et al. Contribution of Serotonin to liver injury following canine small intestinal ischemia and reperfusion. *J Surg Res* 2001; 99: 17-24
58. Boros P, Bromberg JS. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *Am J Transplant* 2006; 6: 652-658
59. Massberg S, Enders G, Leiderer R, Eisenmenger S, et al. Platelet-endothelial cell interactions during ishemia-reperfusion: the role of P-selectin. *Blood* 1998; 92:507-515
60. Abonia JP, Friend DS, Austen WG, Moore FD, et al. Mast cell protease-5 mediates ischemia-reperfusion injury of mouse skeletal muscle. *J Immunol* 2005; 174: 7285-7291
61. Hoffmann JN, Vollmar B, Laschke MW, Fertmann JM, et al. Microcirculatory alterations in ischemia-reperfusion injury and sepsis: effects of activated protein C and thrombin inhibition. *Crit Care* 2005; 9: 33-37
62. Aytekin FO, Tekin K, Kabay B, Erdem E, et al. Antitrombin-III attenuates pulmonary tissue injury caused by mesenteric ischemia-reperfusion. *Am J Surg* 2005;189: 161-166
63. Olanders K, Börjesson A, Zhao X, Andersson R. Effects of anticoagulant treatment on intestinal ischemia and reperfusion injury rats. *Acta Anesthesiol Scand* 2005; 49: 517-524
64. Wasserberg N, Pleggi A, Salgar SK, Ruiz P, et al. Heme oxygenase-1 upregulation protects against intestinal ischemia/reperfusion injury: a laboratory based study. *Int J Surg* 2007; 5: 216-224

65. Salehi P, Madsen K, Zhu J, Castillo E, et al. Alleviating ischemia-reperfusion in small bowel. *Am J Transplant* 2004; 4: 728-737
66. Rosile D, Kong SE, Hall JC, McCauley , et al. Influence of glycine on intestinal ischemia-reperfusion injury. *J PEN J Parentr Enteral Nutr* 2002; 26 (2): 130-135
67. Hoare C, Warhust G. Effect of hypoxia-reoxygenation on gut epithelium: is 4-hydroxynoneal capable of inducing barrier dysfunction? *Injury Research*, Hope Hospital, University of Manchester.
68. Wu GH, Wang H, Zhang YW, Wu ZG. Glutamine supplemented parenteral nutrition prevents intestinal ischemia reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol* 2004 Sep 1; 10 (17): 2592-2594
69. Pierro A, Simon E. Intestinal ischemia reperfusion injury and multisystem organ failure. *Semin Pediatr Surg* 2004; 13 (11): 11-17
70. Laffey JG, Jankov RP, Engelberts D, Tanswell AK, et al. Effects of therapeutic hypercapnia on mesenteric ischemia-reperfusion injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1383-1390
71. Beutler E. *Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods.* 2nd edition, Grune and Stratton Inc., New York ; 1984.
72. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Adv. Enzymol.* 1974; 41: 35-97
73. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979; 95: 351-358
74. Ozdemir G, Inanc F. Zinc may protect remote ocular injury caused by intestinal ischemia reperfusion in rats. *Tohoku J Exp. Med.* 2005; 206: 247-251
75. Terzi C, Kuzu MA, Aşlar AK, Kale IT, et al. Prevention of deleterious effects of reperfusion injury using one-week high-dose Allopurinol. *Dig Dis Sci* 2001; 46 (2): 430-437
76. Kuzu MA, Köksoy C, Kale IT, Tanık A, Terzi C, Elhan AH. Reperfusion injury delays healing of intestinal anastomosis in a rat. *Am J Surg* 1998; 176: 348-351
77. Megison SM, Horton JW, Chao H, Walker PB. A new model for intestinal ischemia in the rat. *J Surg Res* 1990; 49: 168-173

78. Demir S, Erden MI. Pentoxifylline and N-acetylcysteine in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin Chim Acta* 1998; 275: 127-135
79. Silva MG, Castro AA, Ramos EAG, Peixoto E, et al. Histological and biochemical serum effects of alpha-tocopherol on ischemia-reperfusion injuries induced in the pelvic limb of rats. *Acta Cir Bras* 2005; 20 (5): 375-381
80. Başay S, Adsan Ö, İnal G, Çetinkaya M. Verapamil ve alfa-tokoferolün rat böbreğindeki deneysel reperfüzyon hasarı üzerine karşılaştırılmalı etkileri. *Türk Üroloji Dergisi* 2003; 29 (1): 11-15
81. Deveci M, Dibirdik I, Çeliköz B, Selmanpakoğlu N, Kisa U. Alpha-tocopherol and ginkgo biloba treatment protects lipid peroxidation during ischemic period in rat groin island skin flaps. *Eur J Plast Surg* 1997; 20: 141-144
82. Portakal O, Erden MI. Effects of Pentoxifylline and coenzyme Q10 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin Biochem* 1999; 32 (6): 461-466
83. Savaş S, Delibaş N, Savaş Ç, Cindaş A. Pentoxifylline reduces biochemical markers of ischemia-reperfusion induced cord injury in rabbits. *Spinal Cord* 2002; 40: 224-229
84. Yağmurdur MC, Özdemir A, Coskun T, Kılınç K, Özenç A. Effects of alpha-tocopherol on reperfusion injury in the canine small bowel autotransplantation model. *Transplant Proc* 1998; 30: 824-827
85. Yağmurdur MC, Özdemir A, Topaloğlu S, Kılınç K, Özenç A. Effects of alpha tocopherol and verapamil on liver and small bowel following mesenteric ischemia-reperfusion. *Turk J Gastroenterol* 2002; 13 (1): 40-45
86. Yin M, Wheeler MD, Connor HD, Zhong Z, Bunzendahl H, et al. Cu/Zn-Superoxide dismutase gene attenuates ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2691-2700
87. Grossie VB. Zinc, copper and iron in plasma and tissues after intestinal ischemia and reperfusion in the rat. *Nutrition* 2003; 19 (11-12): 1003-1005
88. Frederickson CJ, Giblin LJ, Krezel A, McAdoo DJ, et al. Concentrations of extracellular free zinc (pZn)_e in the central nervous system during simple anesthetization, ischemia and reperfusion. *Experimental Neurology* 2006; 198: 285-293

89. Tireli GA, Salman T, Özbey H, Abbasoğlu L, et al. The effect of Pentoxifylline on intestinal anastomotic healing after ischemia. *Pediatr Surg Int* 2003; 19: 88-90

90. Boisseau MR, Pruvost A, Renard M, Closse C, Belloc F, et al. Effect of Buflomedil on the neutrophil-endothelial cell interaction under inflammatory and hypoxia conditions. *Haemostasis* 1996; 26 (4): 182-188

91. Mauad RJ, Shimizu MHM, Mauad T, Tolosa MCA. Buflomedil and Pentoxifylline in the viability of dorsal cutaneous flaps of rats treated with nicotine. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2006; 59 (4): 387-392