

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

İNCE BAĞIRSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
TİROFİBANIN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Sümevra ERCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. Üyesi İnci TURAN

ZONGULDAK
2019

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

İNCE BAĞIRSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
TİROFİBANIN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Sümevra ERCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN

ZONGULDAK
2019

KABUL ve ONAY :

“İNCE BAĞIRSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA TİROFİBANIN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Yüksek Lisans Programı yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

26.06.2019

Başkan : Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZACMAK



Üye : Prof. Dr. Şerif DEMİR



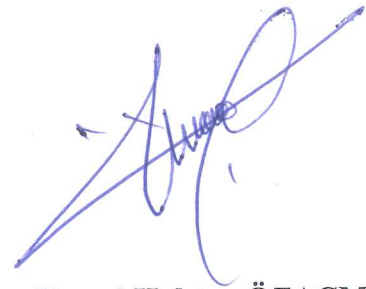
Üye : Dr. Öğretim Üyesi İnci TURAN (Danışman)



ONAY :

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TARİH: 26.06.2019



Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZACMAK

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın hocalarıma, tezimin her aşamasında fikirlerini aldığım, bana gereken tüm desteği gösteren, tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN'a eğitimim sırasında bilgi birikimi ve desteklerini esirgemeyen anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK'a, eğitimim süresince destek ve katkılarını dolayı Sayın Prof. Dr. Haktan ÖZAÇMAK'a en içten teşekkürü borç bilir, saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamın histolojik değerlendirmesini yapan Sayın Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH ve sayın Doç. Dr. Kanat GÜLLE 'ye,

Tez eğitimim boyunca aynı ortamı paylaştığım ve tezimin tüm aşamasındaki yardımlarını esirgemeyen Vet. Hekim Osman CENGİL'e ve Sayın Öğr. Gör. Birgül ALTUĞ'a, Büşra ONAR'a

Hayatım boyunca hiç bir zaman sevgi ve desteği esirgemeyen emektar anne babama ve kardeşlerime,

Bu zorlu yolda beni hiç yalnız bırakmayan beni hep destekleyen sevgili eşime sonsuz teşekkür ederim.

Sümevra ERCAN
ZONGULDAK, 2019

ÖZET

Sümeyra Ercan, İnce Bağırsak İskemi Reperfüzyon Hasarında Tirofibanın Etkilerinin İncelenmesi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2019.

İntestinal iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı, çoğu uzak organ sistemlerin çoğunu etkileyen ve yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkili önemli klinik bir problemdir. Tirofiban; glikoprotein IIb/IIIa reseptör inhibitörüdür ve deneysel İ/R modellerinde koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada amacımız tirofibanın intestinal İ/R hasarındaki olası etkilerini incelemektir. 24 adet Wistar Albino sıçan rasgele 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki (n=8) sıçanlara arter oklüzyonu yapılmadan yalnızca laparotomi uygulandı. İ/R grubundaki (n=8) sıçanların süperior mezenterik arterine 30 dk oklüzyon ve ardından 3 saat reperfüzyon uygulandı. İ/R+Tirofiban grubundaki (n=8) sıçanlara İ/R uygulandı ve reperfüzyon öncesi intravenöz 200 µg/kg tirofiban verildi. Deney sonunda sıçanların ileum dokuları alındı ve histopatolojik değişiklikler ile lipid peroksidasyon düzeyleri, indirgenmiş glutasyon (GSH) düzeyleri ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi değerlendirildi. İntestinal dokunun histopatolojik hasar skoru, MPO aktivitesi, malondialdehid (MDA) düzeyleri İ/R grubunda kontrol grubuna göre önemli bir artış gösterdi. GSH düzeyi İ/R grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu. Ancak, İ/R+Tirofiban grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında tüm parametreler için herhangi bir istatistiksel fark saptanmadı. Sonuç olarak, tirofiban tedavisi İ/R nedenli intestinal hasarı azaltmadı veya önleyemedi.

Anahtar Kelimeler: İntestinal iskemi reperfüzyon hasarı, tirofiban.

ABSTRACT

Sümeyra Ercan, The Investigation of Effects of Tirofiban on Small Intestine Ischemia and Reperfusion Injury, Zonguldak Bülent Ecevit University Institute of Health Sciences, Physiology Thesis. Zonguldak, 2019.

Intestinal ischemia reperfusion (I/R) injury is a significant clinical problem that impacts many remote organ systems, and associated with a high morbidity and mortality. Tirofiban, a glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitor, shows protective effects on I/R experimental models. The aim of the present study was to investigate the possible effects of tirofiban on intestinal I/R injury. 24 male Wistar albino rats were divided into 3 experimental groups. Rats in the control group (n=8) were subjected to laparotomy without artery occlusion, Rats in the I/R group (n = 8) were subjected to occlusion of superior mesenteric artery for 30 min and 3h reperfusion. Rats in the I/R+Tirofiban group (n = 8) were subjected to I/R and received intravenously 200 µg/kg before reperfusion. At the end of experiment terminal ileum tissues collected and analyzed histopathological changes, lipid peroxidation levels, reduced glutathion (GSH) levels and myeloperoxidase (MPO) activity. Intestinal tissue histopathological damage scores, the activity of MPO and the level of malondialdehyde (MDA) showed a significant increase in the I/R group as compared with the control group. GSH levels showed reduction in the I/R group as compared with the control group. However, I/R+Tirofiban group has no statistically differences as compared with the I/R group for all evaluated parameters. In conclusion, tirofiban treatment was not able to attenuate or prevent the I/R induced intestinal injury in rats.

Key Words: Intestinal ischemia reperfusion injury, Tirofiban

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY:.....	iii
ÖNSÖZ	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
GRAFİKLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnce ve Kalın Bağırsak Anatomisi.....	3
2.2. İntestinal İskemi	7
2.3. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı	8
2.3.1. Ksantin oksidaz yolu.....	11
2.3.2. Nötrofiller	12
2.3.3. Trombositler.....	12
2.3.4. Endotelyal faktörler	13
2.3.5. Komplemanlar	14
2.3.6. Sitokinler.....	14
2.3.7. Hücre içi kalsiyumunun aşırı artışı	15
2.4. Oksidanlar	15
2.5. Serbest Radikaller.....	16
2.5.1. Süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali.....	16
2.5.2. Reaktif azot türleri	17
2.5.3. Organik hidroperoksit (ROOH).....	17
2.5.4. Alkoksi (RO) ve peroksi (ROO) radikalleri	18
2.5.5. Hipokloröz asit (HOCl) ve singlet oksijen (¹ O ₂)	18
2.6. Serbest radikallerin etkileri.....	19
2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri	20
2.7.1. Endojen antioksidanlar	22
2.7.2. Ekzojen antioksidanlar.....	22

2.8. Lipid Peroksidasyonu	23
2.9. Tirofiban	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Araştırmanın Yöntemi	27
3.2. Biyokimyasal İncelemeler	28
3.2.1. Malondialdehid (MDA) düzeyi tayini	28
3.2.2. İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyi tayini.....	28
3.2.3. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi tayini	29
3.3. Histopatolojik İncelemeler	29
3.4. İstatistiksel İncelemeler	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. Biyokimyasal İncelemelere Yönelik Bulgular	31
4.1.1. Malondialdehid (MDA) düzeyi	31
4.1.2. İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyi.....	32
4.1.3. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi.....	32
4.1.4. Histopatolojik sonuçlar	33
5. TARTIŞMA	35
6. KAYNAKLAR	38
7. EKLER.....	45
Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	45
8. ÖZGEÇMİŞ	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

İ/R	: İskemi reperfüzyon
ROS	: Reaktif oksijen türleri
NO	: Nitrik oksit
MDA	: Malondialdehit
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
MPO	: Miyeloperoksidaz
AMİ	: Akut mezenterik iskemi
SMA	: Süperior mezenterik arter
KMİ	: Kronik mezenterik iskemi
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
MBL	: Mannoza bağlayıcı lektin yolakları
RAT	: Reaktif azot türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
HPETE	: Hidroperoksieikosatetraenoik asitler
HPODE	: 13- hidroperoksioktadekadienoat
HETE	: Hidroksieikosatetraenoik asit
HODE	: Hidrooktadekadienoat
GPx	: Glutatyon peroksidaz
4-HNE	: 4-hidroksinonenal
RGD	: Arg-Gly-Asp
ECM	: Ekstraselüler matriks
RI	: Reperfüzyon hasarı
AAR	: Alanın risk bölgesine oranı
ATP	: Adenozin trifosfat
PMN	: Polimorfonükleer lökositlerle
KDH	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz
ET-1	: Plazma endotelin-1
NO₂	: Azot dioksit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH•	: Hidroksil radikali

GSHPx : Glutasyon Peroksidaz
TBA : Tiyobarbütirik asit
TCA : Triklor asetik asit



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1: Bağırsak anatomisi	5
2: Kalın bağırsak anatomisi	7
3: Alkoxi (RO) ve peroksi (ROO) radikalleri.....	18
4: Lipid peroksidasyon prosesi.....	24



GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
1. Doku MDA düzeyleri.....	31
2. Doku GSH düzeyleri.....	32
3. Doku MPO aktivitesi.....	33



TABLolar DİZİNİ

Tablo

Sayfa

1. Deney gruplarına ait histopatolojik değerlendirme sonuçları 33



RESİMLER DİZİNİ

Resim

Sayfa

1. Kontrol ve deney gruplarına ait sıçan bağırsak dokularının ışık mikroskopik görünümü 34



1. GİRİŞ

İnce bağırsak iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı ciddi ve sık görülmekte olan klinik bir durumdur ve birçok etiyolojik etkenlerin neden olduğu süperiyor mezenterik arterin (SMA) tıkanması sonucunda meydana gelmektedir. Bu durum şiddetli lokal veya yaygın doku hasarıyla sonuçlanır. Bu hasarı takiben çoklu organ yetmezliği gelişebilir. Mezenterik dolaşım bozukluğu arteriyel tromboz, emboli, Henoch-Schonlein purpurası, dissemine intravasküler koagülasyon gibi damar içi veya volvulus, invaginasyon, fıtık, tümör, fibrotik bant gibi damarlara dışarıdan bası yapan nedenlerle ince bağırsak iskemisi oluşmaktadır (1, 2 ,3).

İntestinal İ/R hasarı yüksek mortaliteye sahip, erken tanısı zor olan acil bir durumdur (4). İ/R hasarı intestinal bölgeye kan akımının azaldığı çeşitli cerrahi girişimler ile sepsis, hemorajik şok, intestinal transplantasyon ve damarsal cerrahi gibi patolojik durumlara ikincil olarak gelişir (4, 5). İ/R hasarının bağırsaklarda motilite bozukluğuna, lokal ve sistemik inflamasyona ve bağırsak mukozasında hasara neden olduğu bilinmektedir (4, 6). Hem lokal hasarlara hemde sistemik hasarlara neden olmasından dolayı İ/R hasarı oldukça karmaşık bir süreçtir. İskemi ile dokuya giden kan akımının azalması, anaerobik metabolizma ile hücrelerde asidozise ve hücre ölümüne neden olmaktadır (7). Reperfüzyon ile serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşumu, proinflamatuvar sitokinlerin ve medyatörlerin salınması ve kompleman aktivasyonu meydana gelir (8). Aktive olan bu medyatörler postkapiller venüllerde lökosit ve trombosit birikimi ve adezyonuna neden olarak mikrosirkülasyonu bozmakta ve hasarı arttırmaktadır (7, 8). Trombositlerin aktive olması tromboksan A2 ve serotonin gibi trombosit ürünlerinin salınımına neden olmaktadır. Bu ürünlerde mikrovasküler spazm ve trombozise neden olarak oklüzyonun devam ettiği ‘no-reflow’ adı verilen fenomeninin oluşmasına ve var olan hasarın şiddetlenmesine neden olmaktadır (7, 9). Trombositlerin glikoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) reseptörleriyle fibrinojen aracılı agregasyonu, trombosit birikiminin temel aşamasıdır. Tirofiban trombosit GP IIb/IIIa reseptör antagonistidir ve klinikte kullanılan bir antiplatelet ajandır (10). Çeşitli deneysel çalışmalarla tirofibanın miyokard, böbrek ve serebral iskemi gibi patolojilerde koruyucu etkileri gösterilmiştir (9, 11, 12, 13, 14). Ancak literatürde intestinal İ/R hasarında tirofibanın etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada amacımız tirofibanın intestinal iskemi reperfüzyon hasarındaki lökosit infiltrasyonu ve lipid

peroksidasyonuna olan etkilerini ve histopatolojik değişimleri ayrıca MDA (Malondialdehid), GSH (İndirgenmiş Glutatyon) ve MPO (Miyeloperoksidaz) düzeylerini incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnce ve Kalın Bağırsak Anatomisi

“Bağırsak” terimi Latince’de “kök” anlamına gelen “internal” kelimesinden türemiş olup bu organlar abdominal kavitenin interior kısmını neredeyse tamamen doldurmaktadır. Bu organlar sindirim kanalının en uzun ve kütlece fazla olan kısmını oluştururlar ve besin alımı dışında sindirim sisteminin tüm fonksiyonlarını yerine getirirler. Bağırsak, ince ve kalın olarak ikiye ayrılmaktadır (15).

Mideden salınan kimüs, vücudun primer sindirim organı olan ince bağırsağa girer. Bu organ yalnızca sindirimin gerçekleştiği değil, aynı zamanda absorpsiyonun neredeyse tamamının gerçekleştiği kısımdır. İnce bağırsak, canlı bir bireyde 3,05 m; kadavralarda ise kas tonusunun kaybolmasına bağlı olarak bunun 2 katı uzunluktadır. Kalın bağırsağın 5 katı uzunlukta olmasına rağmen “ince” olarak adlandırılmasının sebebi, 2,54 cm’lik çapıyla kalın bağırsağa göre (7,62 cm) çok daha ince olmasıdır (15). İnce bağırsak 4 tabakadan oluşmaktadır:

Seroza: İnce bağırsağın dış tabakasını oluşturup mezotel ve epitelden oluşmaktadır. Jejunumu, ileumu ve posterior kısım retroperitoneal olduğundan duodenumun anterior yüzeyini çevreler. İnce bağırsak epitellerinin ömrü 3-5 gün olduğu için, buradaki hücrelerin kendini yenileme hızı oldukça yüksektir.

Muskularis: İki kas tabakasından oluşmaktadır: Dıştaki ince uzunlamasına tabaka, bağırsağın kısalıp uzamasını sağlamakla görevli olup içteki kalın tabaka bağırsağın büzüşmesini sağlamaktadır. Sinirler bu iki tabaka arasında yer alır ve iki kasın birlikte çalışmasını sağlayarak besinlerin proksimal ve distal yönde hareketine olanak sağlamaktadır.

Submukoza: Kan damarlarının, sinirlerin ve lenflerin yer aldığı bağ doku tabakasından oluşmaktadır.

Mukoza: En iç tabakayı oluşturmakta olup lümeneye doğru uzanan ve yüzey alanını arttıran villuslar aracılığıyla maksimum absorpsiyonu sağlamak için tasarlanmıştır. İnce bağırsağın kript tabakası, devamlı hücre yenilenmesi ve proliferasyonun gerçekleştiği bölgedir. Kriptten villuslara geçen hücreler enterositler, goblet hücreleri, Paneth hücreleri ya da enteroendokrin hücrelere farklılaşır (16).

İnce bağırsak 3 bölgeye ayrılmaktadır: Mideden itibaren (proksimalden distale) duodenum, jejunum ve ileum.

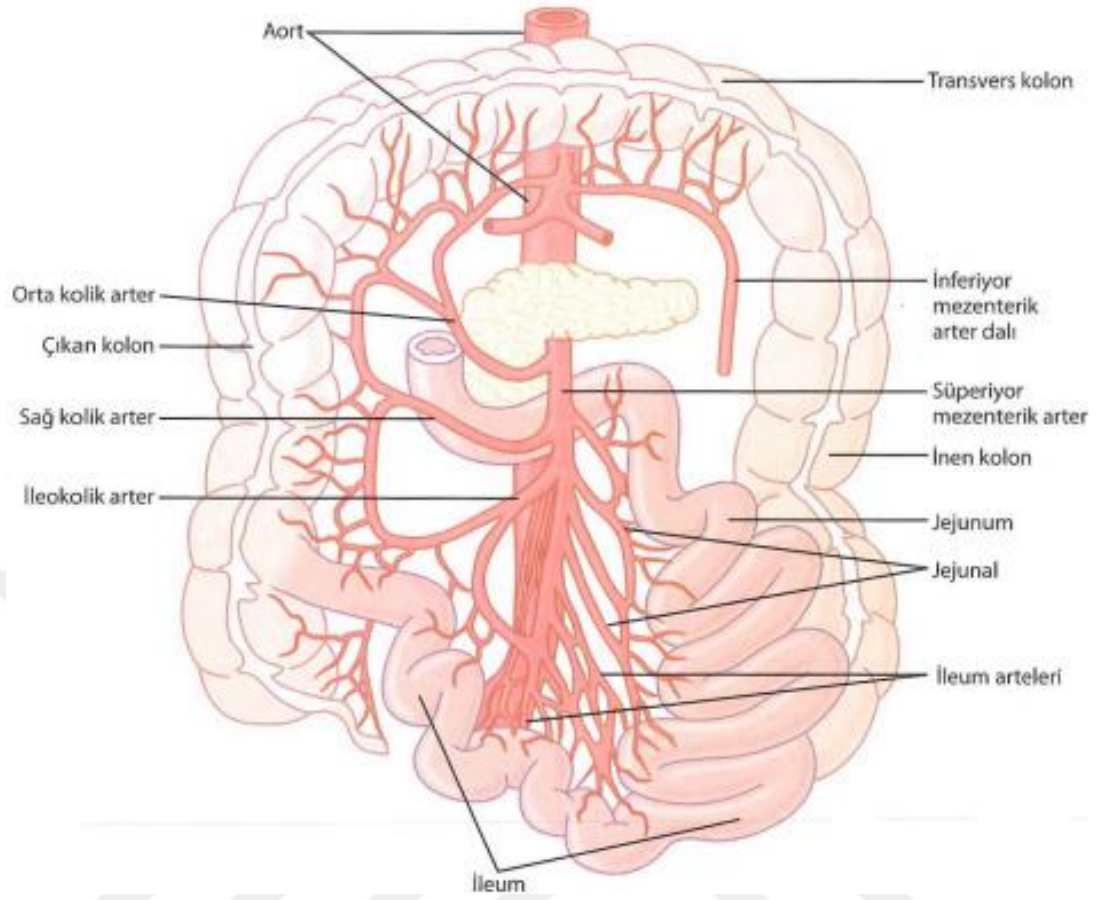
Duodenum bağırsağın en kısa bölgesi olup 25,4 cm uzunluğundadır ve pilorik sfinkterden başlamaktadır. Sfinkteri geçince peritoneum'un arkasına doğru eğilir, retroperitoneal duruma geçer ve peritoneal kaviteye geri dönüp jejunuma katılmak için anterior yönde yükselmeden önce pankreas başının etrafında C şeklinde bir kıvrım oluşturur. Bu nedenle duodenum süperior, inen, horizontal ve çıkan kısım olmak üzere dört segmentten oluşmaktadır.

Jejunum, 0,9 m uzunluğundadır ve duodenumdan ileuma kadar uzanan kısmı oluşturmaktadır. Latince'de "boş" anlamına gelmekte olup bu ismi yaşam süresince boş bir yapı olarak kalıyor olmasından almaktadır. Jejunum ile ince bağırsağın son segmenti ileum arasında kesin bir sınır bulunmamaktadır (17).

İleum ise ince bağırsağın en uzun bölgesi olup yaklaşık 1,8 m uzunluğundadır. Daha kalın, daha vasküler ve jejunumdan daha fazla mukozal katlanmalar içeren bir yapıdır. İleoçekal sfinkterde, kalın bağırsağın ilk kısmı olan çekuma dahil olur. Jejunum ve ileum, mezenter ile abdominal duvarın posterior kısmına bağlanır. Kalın bağırsak, ince bağırsağın bu üç kısmını çevrelemektedir.

Torakik splanknik sinirlerden çıkan sempatik sinir fibrilleri ve vagus sinirinden çıkan parasempatik sinirler, ince bağırsağın ekstrinsik innervasyonunu sağlamaktadırlar. İnce bağırsağın ana arteriyal kaynağı süperior mezenterik arterdir. Venler arterlere paralel uzanmakta olup süperior mezenterik venlere dökülürler.

İnce bağırsaktaki besinden zengin kan daha sonra hepatik portal ven üzerinden karaciğere taşınır. Şekil 1'de bağırsak anatomisi genel hatlarıyla verilmiştir (15).



Şekil 1: Bağırsak anatomisi (15)

Kalın bağırsak, sindirilemeyen besinlerden suyun absorblandığı kısımdır. Çekum, apendiks, kolon, rektum ve anal kanaldan oluşmaktadır. Kalın bağırsak, terminal ileumda çekum ile başlamaktadır. İnce bağırsağın aksine uzunluğu kısadır ancak lümeni çok daha büyüktür.

Çekum: Çıkan kolonun proksimal kör kesesidir ve ileoçekal birleşme noktasında yer alır. Terminal ileum, medial duvarda çekuma açılmaktadır ve bu açıklık ileoçekal valvler tarafından korunmaktadır.

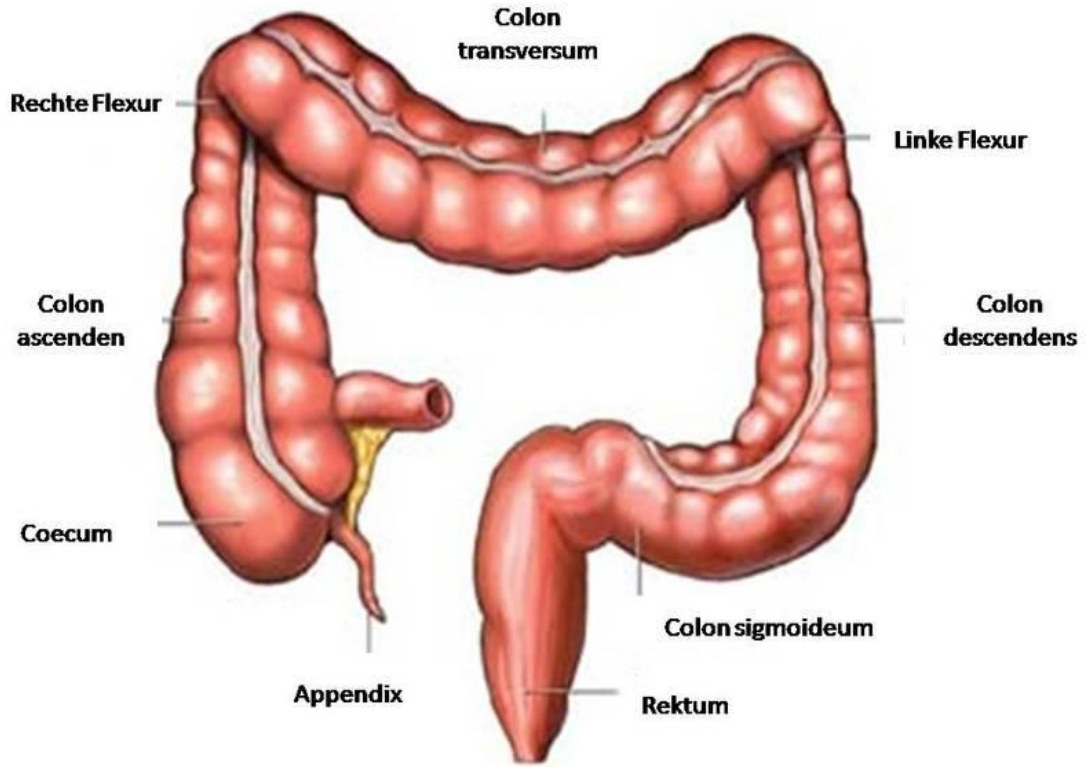
Apendiks: İnce silindirik bir organ olup çekuma bağlıdır. Tabanı, ileoçekal birleşme bölgesinin 1-2 cm aşağısında, çekumun posteromedial duvarına dayanmıştır. Üst kısmı ise peritoneal kavitede yüzer durumda olup retroçekal bir pozisyonda lokalize olabilir. Mezoapandis denilen kısa, üçgen bir mezentere sahiptir.

Kolon: Çekum, kalın bağırsağın ikinci kısmı çıkan kolondan oluşmaktadır. Çıkan kolon, sağ iliak fossa'dan karaciğerin sağ lobuna doğru, abdomenin sağ tarafında süperior konumdadır. Sağ kolik fleksura'dan (hepatik fleksura) sol dönüş

yapar. Sağ parakolik oluk olarak da bilinen, parietal peritoneum ile sınırlandırılmış derin vertikal alanda bulunur. Transvers kolon ise kalın bağırsağın üçüncü, en hareketli ve en uzun kısmını oluşturmaktadır. Sağ ve sol kolik fleksuraların arasında bulunur. Sol kolik fleksura sağdakinden daha az hareketli olup frenikokolik ligament ile diyaframa bağlanır. Transvers kolon, transvers mezokolon denilen bir mezentere bağlı olup kökü pankreasın inferior kısmı boyunca uzanır. Transvers kolon, sol kolik fleksura'nun süperior'u ve sol iliak fossa'nın inferior'u arasındaki sol parakolik oluğa ilerleyerek inen kolon olarak devam eder. Kalın bağırsağın beşinci kısmı sigmoid kolon olarak sonlanır. Sigmoid kolon, inen kolonu rektuma bağlar (18).

Rektum: Sigmoid kolondan çıkan besin, pelviste, 3. sakral vertebranın yanında bulunan rektuma girer. Beslenme kanalının son 20,3 cm'ini oluşturan rektum, sakrum ve koksiks kemiğine anterior uzanır. Rektum Latince'de "düz" anlamına gelse de, sakrumun çevresinde kıvrılan bir yapıdır ve rektal valvler denilen üçlü internal transvers katlanmalara sahiptir. Bu valvler, feçesi gazdan ayırarak ikisinin aynı anda geçişini engeller.

Anal kanal: Besinlerin kalın bağırsakta ulaştığı son kısım olan anüs, abdominopelvik kavitenin tamamen dışında, perineumda lokalizedir. Bu 3,8-5 cm uzunluğundaki bu yapı anüse açılmaktadır. Anal kanal iki sfinkterden oluşmaktadır. İnternal anal sfinkter yumuşak kas dokudan oluşmaktadır ve istemsiz kasılır. Eksternal anal sfinkter ise iskelet kasından oluşmakta olup istemli kasılır. Dışkılama dışında iki sfinkter de genellikle kapalıdır. Şekil 2'de kalın bağırsak anatomisi verilmiştir (15).



Şekil 2: Kalın bağırsak anatomisi (18)

2.2. İntestinal İskemi

Mezenterik iskemi, ince bağırsağa sağlanan oksijen desteğinin, organın ihtiyacını karşılayamaması durumu olarak tanımlanır (19).

Akut mezenterik iskeminin (AMİ) arteriyel emboli, arteriyel ya da venöz tromboz ve tıkanıklığa bağlı gelişen durumlar gibi pek çok sebebi vardır. Patofizyolojik durumlarda farklılıklar olsa da AMİ, geri dönüşümsüz hasara ve yaşamı tehlikeye sokan durumlara sebep olan hipoksemi ve intestinal hipoksi gibi durumlara yol açar. Mezenterik iskemi ile ilgili farkındalığın artması ile sağlanacak erken tanı ve tedavi, hastanın hayatını kurtaracak anahtar unsurları oluşturmaktadır (20).

İntestinal kan desteği, aorttan çıkan 3 büyük vasküler sistem ile sağlanır: Çölyak arter, süperior mezenterik arter (SMA) ve inferior mezenterik arter. Bu üç daldan türevlenen periferik vasküler ağlar, ana dallardan birinde problem olduğunda dahi, doğru intestinal perfüzyonun sağlandığından emin olmak için, çoklu kollateraller ile birbirine içten bağımlıdır. Ancak, bu kadar yoğun kollateraller olsa

bile ince ve kalın bağırsak mukozası, arteriyel kan desteğindeki küçük kesintilere bile oldukça duyarlıdır.

Arteriyel emboli, aorta paralel olması ve geniş açılı orijini nedeniyle en çok SMA'da lokalizedir. Daha büyük emboliler genellikle SMA orijininin 3-8 cm distalinde yakalanır (Proksimal jejunum iyi perfüze olmaya devam eder). Gerçek SMA embolilerinin aksine, akut mezenterik arteriyel tromboz genellikle SMA'nın ilk dallanma noktasında olur. SMA embolisi ile mezenterik arteriyel trombozun ayrımı klinik olarak zordur ve bazı durumlarda yalnızca hastanın hikayesiyle ayırt edilebilir (21).

Arteriyel tıkanıklığa bağlı olan mezenterik iskeminin aksine, sistemik koagülasyon bozuklukları genellikle, çoğu vakada süperior mezenterik veni etkileyen mezenterik venöz trombozdan kaynaklanır (22). Tromboz, travma ya da kalp gibi ciddi ameliyatlarda sırasındaki stres durumunda meydana gelen malignite veya inflamasyondan kaynaklanabilir (23).

Etiyolojilerine bağımlı olarak, akut ve kronik Mİ arasında klinik tablo açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır. AMİ'nin en tipik semptomu, fiziksel muayene bulgularında beklenenden fazla karın ağrısı görülmesidir. İskemi patolojik bir süreç olduğu için ağrı iç organlarda, diffüz, non-lokalize ve orta ya da yüksek şiddette, kolik benzeri ve opioid analjeziklere cevap vermeyen türde olabilir. Bağırsak nekrozu, septik şok ve ölüm, AMİ'nin yaygın komplikasyonlarındanıdır. Aksine, kronik mezenterik iskemide (KMI) yemek sonrası karın ağrısı (epigastrik veya periumbilikal), mide bulantısı ve kilo kaybı yaygın olarak görülür (24).

Mezenterik iskemi nedenine yönelik şekilde tedavi edilmelidir. Cerrahi, embolektomi, trombolitik tedavi gibi birçok tedavi yöntemi denensedede hala morbidite ve mortalite oranı oldukça yüksek bir hastalıktır. Bu yüzden yeni tedavi ajanları araştırılmaya devam edilmektedir.

2.3. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı

İskemi terimi, arteriyel akışının engellenmesine bağlı olarak dokulara giden kan desteğinin yetersiz kalması durumudur. İskemi sırasında oluşan sistemik, doku-spesifik, hücrel ve moleküler değişikliklerin anlaşılmasında son 30 yılda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Reperfüzyonun doku hasarı ve nekrozunu indükleyip şiddetlendirebileceğine dair kanıtlar, hasarlı doku bölgelerinin ilaçlara duyarlı olması

nedeniyle araştırmacıları bu alanda çalışma konusunda gdlemiştir. Yıllar süren araştırmalar sonunda, günümüzde bile iskemi ve reperfüzyon mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır (25, 26).

Bir organa gelen arteriyal veya venöz kan akımının yetersiz hale gelmesi sonucunda hücrelerde enerji depolarının boşılması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucu doku hasarı ortaya çıkar (27, 28). Hücre lm gerçekleşmeden hücrenin rejenerasyonunu sağlaması ve de toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için iskemik dokunun yeniden kanlanmaya ihtiyaı vardır. İskemik dönemde hücrede birçok metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Birbirini tetikleyen bu olaylar zinciri iskemik kaskad olarak isimlendirilir (27).

Hücrenin yaşamsal fonksiyonları bir denge içinde devam eder. Hücreler normalde yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için gerekli enerjiyi Adenozin trifosfat (ATP) ile sağlamaktadırlar. (26, 18). Bu dengenin sağlanması için gerekli ATP'nin iskemi sonucu eksilmesi plazma membranının sodyum-potasyum pompasını ve sodyum–kalsiyum değiş tokuşunu bozar, hücre içinde sodyum ve kalsiyum artışına, potasyumun hücre dışına difüzyonuna sebep olur. Hücre içinde Ca birikmesi iyon dengesizliğine, hücre içi osmotik basıncın artmasına ve asidoz gibi durumlara neden olur. Sonrasında hücrelerde histolojik değişiklikler başlamaktadır. Bunlar kromatin kümelenmesi, piknozis, apopitozis ve nekrozis gibi bulgulardır (28, 29, 30).

Hücre disfonksiyonu, hasar ve/veya ölümünün şiddeti, iskeminin şiddetine bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle, kan akışının restorasyonu ve revaskularizasyonun mümkün olduğunca kısa sürede gerçekleştirilmesi, iskemiye ilişkin tüm terapötik yaklaşımların ana dayanağıdır. Ancak tüm organlar iskemiye aynı derecede duyarlı değildir. Ayrıca, reperfüzyon, hücrelere oksijen ve besinlerin dağılımı için gerekli olsa da, özellikle iskemi durumunda patojenik prosesleri ve hasarın şiddetini arttırabilmekte olup, revaskle dokulardan kana karışan mediyatörlerin etkisi ile uzak organlarda da doku hasarına yol açabilmektedir (25).

İskemik dokuların reperfüzyonu sıklıkla, arteriyollerin endotel-bağımlı dilatasyonu, sıvı filtrasyonunun artması, kapillerlerde lökositlerin yol açığı tıkanmaların sebep olduğu mikrovasküler disfonksiyon ve postkapiller venüllerde plazma proteini ve lökositlerin ekstravazasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Perfüzyonun başlangıcında, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde, aktiflenmiş endotelial hücreler daha fazla oksijen radikali ve daha az nitrik oksit üretirler. Bunun

sonucunda nitrik oksit ve süperoksit arasında oluşan dengesizlik, inflamatuvar medyatörlerin (platelet aktive edici faktör ve tümör nekrozis faktör gibi) salınmasına yol açarak, lökosit-endotelyal hücre adezyonu moleküllerinin sentezini arttırmaktadır.

Kardiyovasküler hastalıklar için bilinen risk faktörlerinden bazıları (hiperkolesterolemi, hipertansiyon ve diyabet gibi), iskemi ve reperfüzyonun yol açtığı mikrovasküler değişimlerin şiddetini arttırmaktadır. Reperfüzyon sonucunda inflamatuvar medyatörler salınır ve iskeminin başladığı bölgeye uzak organlardaki endotelyal hücreler aktive edilir. İskemi ve reperfüzyona uzaktan gelen bu yanıt aynı zamanda, çoklu organ disfonksiyonu sendromunun karakteristik özelliklerinden biri olan lökosit-bağımlı mikrovasküler hasara yol açabilmektedir. İskemik hasar ve reperfüzyona verilen adaptasyonel yanıtlar, iskemik dokularda hastalığın ilerlemesini önlemeye olanak sağlamaktadır. Adaptasyonel yanıtın yol açtığı geçici ve mekanik olmak üzere iki tür koruma vardır (akut ve geç önkoşullama). Protein kinaz C aktivasyonu gibi faktörler ile akut ve geç önkoşullama yanıtları başlatılır; ancak akut önkoşullamanın koruyucu etkisi protein sentezinden bağımsız iken, geç önkoşullama için protein sentezi gerekmektedir (29).

İ/R hasarında meydana gelen olaylar zinciri, iskemik kaskad ve reperfüzyon hasarı olarak ayrılabilir. İskemik ataklar, “iskemik kaskad” adı verilen olaylar dizisi ile gelişmektedir. İskemi gelişmeye başladıktan sonraki ilk 5 dakika içinde, hücrelerin elektrolit dengesi bozulmaktadır. İskemik kaskad genellikle 2-3 saat boyunca devam eder ancak etkilenen bölgedeki perfüzyon onarıldıktan sonra bile etkisi günlerce sürebilir. “Kaskad” terimi sekansiyel bir paternde devam eden olaylar dizisini tanımlamakta olup, bu ifade iskemik kaskad için tam olarak doğru değildir. İskemide olaylar eş zamanlı gerçekleşebilmekte olup her zaman lineer bir patern göstermezler (30).

“İskemi-perfüzyon hasarı” terimi, reperfüzyon aritmileri, mikrovasküler hasar, geri dönüşlü myokardiyal mekanik disfonksiyon ve apoptoz ya da nekroza bağlı hücre ölümü şeklindedir. Bu olaylar bir arada ya da ayrı ayrı gerçekleşebilir. Oksidatif stres, hücre içi kalsiyumun aşırı yükselmesi ve nötrofil aktivasyonu, iskemi-perfüzyon hasarının kapsamlı bir şekilde çalışılmış mekanizmalarındandır (31, 32).

2.3.1. Ksantin oksidaz yolu

Normal koşullar altında, oksijen molekülü (O_2) mitokondride tetravalent redüksiyona maruz kalarak açığa su (H_2O) çıkmasına neden olur. Ancak O_2 'nin %1-2'si bu yolaktan kaçar ve univalent redüksiyona uğrayarak oksijen türevli serbest radikallerin ortaya çıkmasına neden olur. Normal koşullarda bu radikaller endojen antioksidan enzimler tarafından nötralize edilmektedir, ancak reperfüzyon boyunca aşırı miktarda serbest radikal meydana gelerek oksidatif strese yol açar ve oksidatif stresin zararlı sonuçları vardır. Serbest radikaller, reperfüzyon boyunca O_2 'nin iskemik dokuya tekrar girmesi ile meydana gelmekte olup, dış orbitalinde çiftlenmemiş bir elektronu bulundurlar. Bu nedenle serbest radikaller son derece reaktif ve kararsız moleküllerdir; organik ve inorganik kimyasal bileşenlerle, proteinlerle, lipidlerle, karbohidratlarla ve özellikle hücre membranı ve nükleik asitlerle etkileşebilirler. İskemi periyodu boyunca ATP, katabolize olarak hipoksantin üretir. Fizyolojik koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz (KDH) ile ksantine okside olur. İskemi süresince hücre içinde Ca^{2+} birikir ve KDH, ksantin oksidaza dönüşür (XO). Bu reaksiyon, intestinal dokuda diğer dokulara göre çok daha hızlı olup, intestinal iskemide XO ölçümünü güvenilir bir indikatör haline getirmektedir (33).

2.3.2. Nötrofiller

İskemi sonrası damar endotelinde oluşan hasar nedeni ile nötrofil ve trombosit aktivasyonu oluşmaktadır. Bununla birlikte, iskemik alanda ortaya çıkan kemotaktik faktörlerden kompleman 3a ve kompleman 5a nötrofillerin bölgeye doğru göç etmesine neden olmaktadır. İskemi reperfüzyon alanına yerleşen nötrofiller ise bu alanda SOR üretmektedir. Meydana çıkan SOR antiproteazları inaktive etmektedir. Bunun sonucunda lizozomlardan proteolitik enzimlerin salınması hasar oluşturmaktadır. Nötrofillerde uyarılma sonucunda esken yapılarının kaybedilmesinde mikrosirkülasyonda kalır ve embolizasyona neden olmaktadır (34, 35, 36).

İnfarkt dokunun polimorfonükleer lökositlerle (PMN) infiltrasyonu, 19. yüzyılda tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar, nötrofil birikiminin önlenmesinin hem iskemi hem de reperfüzyon hasarını azalttığını göstermektedir. Diğer çalışmalar ise lökositlerin zamana bağlı göçünü detaylı olarak incelemiş, reperfüzyonun ilk saatlerinde intravasküler kompartmanların yüklü miktarda aktiflenmiş lökosit içerdiğini; 4-6 saat içinde ise doğrudan miyosit-nötrofil etkileşiminin sağlandığını göstermiştir (28, 37, 22).

2.3.3. Trombositler

İ/R döneminde aktive durumunda aktif hale gelen trombositler hasarlı bölgeye doğru göç etmekte ve birikim yapmaktadırlar. Trombositlerin ve trombosit ürünlerinden tromboksan A2 ve serotonin mikrosirkülatuar spazm, mikrovasküler konjesyon, trombozis ve koroner akımda yavaşlamagibi nedenlerle oluşturdukları vasküler disfonksiyonla İ/R hasarında artışa neden olurlar (38).

Trombositler hemostaz ve yaranın iyileşme sürecinde oldukça önemli bir role sahiptirler. Ayrıca içerdikleri büyüme faktörleri ve sitokinlerin sayesinde rejeneratif tedavinin potansiyel olan hücreleri arasında bulunmaktadır. Trombositlerin dolaşıma serbest molekülleri salması ayrıca hücre yüzeyinde adhezyon moleküllerinin artmasına sebep olmaktadır. Serbestlenen bu moleküller trombosit, lökosit ve endotel hücreleri arasında olan etkileşimlerde düzenleme yaparlar. Adhezyon molekülleri de trombosit, lökosit ve endotel hücrelerinin birbirlerine bağlanmasına aracılık etmektedirler. Oluşan trombosit-lökosit agregatları nötrofillerin inflamasyonun olduğu damarsal yapılara göçünün artmasına neden olmaktadır (34).

2.3.4. Endotelial faktörler

İ/R, pH değişiminin indüklediği sitotoksikite, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) – nitrik oksit (NO) inhibisyonu gibi çoklu mekanizmalar üzerinden vasküler endotelial disfonksiyonu tetikler. Son yıllarda yapılan çalışmalar, iyon kanallarının modülasyonu ve gap-junction proteinleri gibi endotelial İ/R hasarının moleküler mekanizmalarına ışık tutmuştur (39, 40).

Asidozun neden olduğu sitotoksikitenin iskemik endotelial hasardaki rolü, kaspaz-12 ve kaspaz-3 gibi kaspazların, koroner arterlerdeki endotelial hücrelerde iskemik asidoza bağlı indüklenmesiyle kanıtlanmıştır. Antiapoptotik protein Bcl-xL'nin up-regülasyonu, koroner arter hücrelerinin asidik önkoşullanmasına neden olmakta ve koroner endotelial hücreleri iskemik apoptozdan korumaktadır. Ayrıca, ekstraselüler asidoz endotelial hücrelere Ca^{2+} girişini kuvvetli bir şekilde baskıladığı için vazoaaktif bileşenlerin üretimini inhibe etmektedir ve bu durum da İ/R'nin indüklediği endotelial disfonksiyon ile ilişkilendirilmektedir (35).

Yapılan çalışmalar, serebral, kardiyak, pulmoner, renal ve intestinal İ/R'de plazma endotelial-1 (ET-1) düzeylerinde artma olduğunu göstermekte olup ET-1, İ/R ile ilişkili organ hasarına en fazla katkıda bulunan endotelial faktörlerden biri olarak ifade edilmektedir. İ/R sonrası farelerin kalbinde ve orta serebral arterinde ET-1'e karşı kasılma yanıtı tespit edilirken, hipertansiyonu olan farelerin mezenterik arterlerinde yanıtın azaldığı bildirilmiştir. İ/R'nin ET-1 vazokonstriktör yanıt üzerindeki etkisini inceleyen çok az sayıda çalışma olmasına karşın, intestinal İ/R'de plazma ET-1'inin konsantrasyonundaki artışı gösteren pek çok çalışma mevcuttur (41).

2.3.5. Komplemanlar

Doku hasarı sırasında kompleman aktivasyonu gerçekleşmekte olup, uygunsuz ya da aşırı aktivasyon patolojik tabloyu ağırlaştırmaktadır. Komplemanların ve doğal regülatör moleküllerin doğasının anlaşılması, mezenterik İ/R sırasında aşırı hasar oluşumunun engellenmesi ve terapötik gelişmelerin sağlanmasının önünü açacaktır.

Mezenterik iskemiyi takiben gelişen reperfüzyon hasarına ilişkin değişimler, komplement aktivasyonu ve depozisyonu, nötrofil infiltrasyonu ve mukozal hasar ile ilişkilendirilen eikosanoid oluşumu gibi durumlarla karakterize lokal inflamasyona neden olur (42).

İskemik dokuda komplemanların aktiflediği mekanizmaların sayısı çok fazla olup klasik, alternatif ve mannoz bağlayıcı lektin yolakları (MBL) üzerinden ilerlemektedir. Klasik ve MBL yolakları yüksek ihtimalle erken evrede gerçekleşmekte olup, antikor ve lektinlerin yol açtığı iskemiyeye yanıt olarak doku antijenlerinin tanınmasına bağlı olarak meydana gelir. Öte yandan, alternatif yolak güçlü bir amplifikasyon mekanizması ile ilerlemekte olup bu mekanizma komplemanların düzenlediği antifosfolipid antikorları tarafından indüklenen fetal resorpsiyon gibi proseslerde de gereklidir (36).

Alternatif yolağın İ/R hasarındaki rolü ile ilgili çalışmalar, çelişkili sonuçlar vermektedir. Stah ve ekibi tarafından Faktör D-knockout hayvanlarda yapılan çalışmalar, intestinal İ/R'de alternatif yolağın önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak daha sonra aynı grup, Faktör B ve kompleman C2 ile çift knockout bir çalışma tasarlamış ve zıt yönde sonuç bildirmiştir (43).

2.3.6. Sitokinler

İntestinal iskemiyeye yol açan ve inflamatuvar yanıtı arttıran kesin mekanizmalar tam olarak bilinmese de, sitokinlerin immünoinflamatuvar yanıtta önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (38).

İskemi, bir takım proinflamatuvar gen ürünleri (lökosit adezyon molekülleri, sitokinler gibi) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2 gibi) ekspresyonunu başlatırken diğer koruyucu gen ürünleri (nitrik oksit sentaz, trombomodulin gibi) ve biyoaktif ajanların (prostasiklin, nitrik oksit gibi) ekspresyonunu baskılar. Böylece

iskemi, reperfüzyonda dokunun hasara karşı hassasiyetini arttıran bir proinflamatuvar durumu indüklemektedir.

ROS, lökosit adezyon molekülünü ve sitokin gen ekspresyonunu, nükleer faktör- κ B gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu üzerinden uyarır. Doğrudan hücre hasarına yol açmasına ek olarak reaktif oksijen türleri, I/R sonrası lökosit aktivasyonunu, kemotaksisi ve lökosit-endotel hücre tutunmasını da arttırmaktadır. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksise ek olarak, C5a, monosit kemoatraktan protein-1, tümör nekrozis faktör α , interlökin-1 ve interlökin6 gibi sitokinlerin üretimini indükleyerek inflamatuvar yanıtı daha da arttırmaktadır. İntestinal bakteriyel translokasyonunun, sitokinlerin kaskad yoluyla aktiflenmesi ile birlikte, sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (44).

2.3.7. Hücre içi kalsiyumunun aşırı artışı

Hiperkontraksiyon ile hücre boyunun aşırı kışalmasına yol açan mekanizmalar, myosit modelleri üzerinde yoğun olarak çalışılmış olup fizyolojik değişimler ve iyon dengesizlikleri, miyosit modelleri üzerinde yoğun olarak incelenmiştir. Bu çalışmalar, hiperkontraksiyonun reoksijenasyondan kaynaklandığını ve bu durumun intraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunun aşırı artışıyla yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ca^{2+} dengesindeki bozulma, sitozolik kompozisyonda önemli değişimlerin meydana geldiği iskeminin erken evrelerinde başlamaktadır.

İskemi boyunca ilk iyon dengesizliklerinden biri, Na^+/K^+ pompasının inhibisyonuna bağlı olarak hücre içi Na^+ konsantrasyonunda meydana gelmektedir. Hücre, içindeki aşırı Na^+ 'yı dengelemek için, enerjiye ihtiyaç duymayan bir Na^+/Ca^{2+} değişim mekanizmasını aktifleyerek hücre içindeki Na^+ 'yı dışarı atarken hücre dışındaki Ca^{2+} 'yı içeri alır. Bu şekilde, normal koşullarda intraselüler matrikste konsantrasyonu en sıkı kontrol altında olan katyonlardan biri olan Ca^{2+} 'nın kontrol mekanizmasında bozulma başlamaktadır (45).

2.4. Oksidanlar

Oksidanların endojen ve ekzojen kaynakları vardır. ROS'lar, normal hücresel metabolizmanın bir sonucu olarak moleküler oksijenden üretilirler. ROS, serbest radikaller ve radikal olmayanlar olarak iki gruba ayrılabilir. Bir veya daha fazla

ortaklanmamış elektron içeren bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküller serbest radikal olarak isimlendirilir. 2 serbest radikal ortaklanmamış elektronlarını paylaştığında ise nonradikal formlar oluşmaktadır. Sigara içmek, ozona maruz kalmak, hiperoksi, iyonize radyasyon ve ağır metal iyonları ise ekzojen oksidan kaynakları arasındadır (46).

Serbest radikallerin başlıcaları, tekli oksijen ($1O_2$), süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidroksi ($\cdot OH$), peroksi ($ROO\cdot$) ve alkoksi ($RO\cdot$) radikaller olarak sıralanmaktadır (43).

2.5. Serbest Radikaller

2.5.1. Süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali

O_2^- , O_2 'nin 1 elektron indirgenmiş formu olup pek çok otooksidasyon reaksiyonu ve elektron transport sistemi tarafından oluşturulmaktadır. Genellikle reaktif değildir ancak demir-sülfür proteinleri ve ferritinden Fe^{2+} salınımına yol açabilmektedir. Dismutasyona uğrayarak ya da enzimatik yolla spontane olarak H_2O_2 meydana getirmekte olup metal katalizli OH oluşumunun prekürsürüdür (47).

Süperoksitin biyolojik toksisitesi, demir-sülfür grupları içeren, metabolik yollarda kritik öneme sahip enzimleri inaktive etme kapasitesinden kaynaklanmaktadır. Bu yol ile hücre içe demir salınımı gerçekleşmekte olup, fenton kimyası üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikalleri açığa çıkmaktadır. HO_2 formundayken süperoksit, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Ayrıca karbonil bileşikleri ve halojenlenmiş karbonlarla da birleşerek toksik peroksi radikalleri açığa çıkarabilmektedir. Bu şekilde süperoksit, oksidatif stresin temel kaynaklarından birini oluşturmaktadır (48).

H_2O_2 , O_2^- 'nin dismutasyonu ya da O_2 'nin doğrudan redüksiyonu ile oluşan, 2 elektron indirgenmiş formudur. Lipide çözünebildiği için membranlardan diffüze olabilmektedir (47).

Granülositik enzimler, H_2O_2 'nin reaktivitesini, eozinofil peroksidaz ve myeloperoksidaz üzerinden arttırmaktadırlar. Aktiflenmiş nötrofillerde, H_2O_2 , myeloperoksidazlar tarafından tüketilmektedir. Klorür iyonu varlığında H_2O_2 , hipokloröz aside ($HOCl$) çevrilmektedir (46).

OH^- , Fenton reaksiyonu veya peroksinitritin dekompozisyonu ile oluşan, 3 elektron indirgenmiş bir formdur. Oldukça reaktif olup çoğu selüler bileşene saldırabilmektedir (47).

O_2^- kendisi de H_2O_2 ile etkileşerek OH^- açığa çıkarabilmektedir. Hidroksil radikalleri en reaktif oksijen türü olup protein, lipid, karbohidrat ve DNA'ya zarar verebilmektedir. Ayrıca çoklu doymamış yağ asitlerinden elektron alarak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (46).

2.5.2. Reaktif azot türleri

Nitrik oksit (NO), azot dioksit (NO_2) ve radikal olmayan bileşikler (peroksinitrit - ONOO^- - ve diazot trioksit- N_2O_3 - gibi) reaktif azot türleri (RAT) olarak adlandırılır. Bu serbest radikaller, dış orbitallerindeki ortaklanmamış elektronları yüzünden kararsız yapılardır. RAT, nitrosatif strese bağlı yol açan peroksinitritin oluşumunda ROS'a bağımlıdır (49). Reaktif azot türlerinden peroksinitril (ONOO^-), O_2^- ve NO arasında gerçekleşen hızlı bir reaksiyon sonucunda oluşmaktadır. Lipidde çözünebilmekte olup hipokloröz aside benzer bir reaktiviteye sahiptir. Protonlandığı zaman, homolitik yarıma ile hidroksil radikali ve azot dioksit açığa çıkarabilen peroksinitröz asit oluşturmaktadır (47).

2.5.3. Organik hidroperoksit (ROOH)

Lipid ve nükleobazlar gibi selüler komponentlerin radikal reaksiyonları ile meydana gelmektedirler (47).

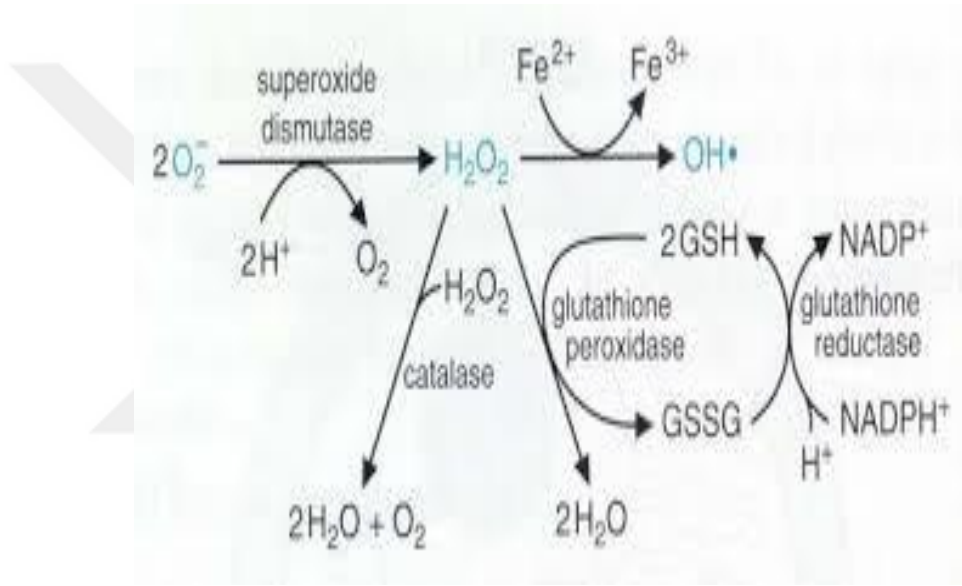
Hidrojen peroksit, oksijenin ve enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesi ya da süperoksitin enzimatik olmayan tepkimeleri sonucu oluşmaktadır. Nötral ve asidik koşullarda net yük taşımadığı için biyolojik zarlardan kolayca geçiş yapabilir. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediği için radikal özelliği taşımamaktadır. Dolayısıyla reaktif bir tür sayılmamaktadır.. Hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesindeki neden ise, Cu, Fe gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncülü olmasıdır (49).

Hidrojen peroksit özellikle proteinlerde ve hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek ferril (Fe (IV)) ve perferril (Fe(V)) oluşumuna neden olmaktadır. Bu formda olan reaktif demir çok güçlü olan oksitleyici özelliklere sahip olması ile

hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonun başlamasına neden olmaktadır. Belirtilmiş olan potansiyel oksitleyici özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'in derhal ortamdan uzaklaştırılması sağlanmalıdır. H_2O_2 'yi ortamdan uzaklaştıran antioksidan enzimler hücrelerde bulunan katalaz ve peroksidazdır (49).

2.5.4. Alkoksi (RO) ve peroksi (ROO) radikalleri

Oksijen temelli organik radikallerdir. Lipid formları lipid peroksidasyon reaksiyonlarına katılırlar. Oksijen varlığında çift bağlara radikal katılması ya da hidrojen ayrılması ile oluşmaktadır (47).



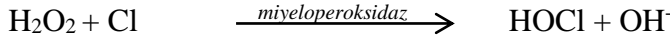
Şekil 3: Alkoksi (RO) ve peroksi (ROO) radikalleri (50)

2.5.5. Hipokloröz asit (HOCl) ve singlet oksijen (1O_2)

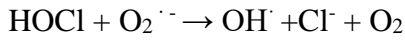
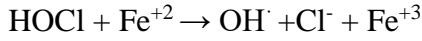
HOCl, H_2O_2 ve myeloperoksidazın reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Lipidde çözünebilen bu radikal oldukça reaktiftir. Tiyol grupları, amino grupları ve metiyonin gibi protein bileşenlerini kolaylıkla oksitleyebilmektedir (41). Ayrıca H_2O_2 ile reaksiyon vererek bir başka radikal olan 1O_2 'yi ve Cl^- iyonunu açığa çıkarmaktadır (49).

Güçlü oksidan özelliği olan HOCl radikal olmasa bile dokularda hasarına neden olmasından dolayı ROS içerisinde sayılmamaktadır. HOCl bağışıklık sistemine ait hücreler olan nötrofil makrofajlar tarafından bakterilerin öldürülmesi amacı ile üretilmektedir (51).

HOCl aşağıda görüldüğü üzere H₂O₂ ve Cl iyonunun *miyeloperoksidaz* enzimi tarafından okside edilmesi ile oluşmaktadır (52).



HOCl'den Fe bağımlı olan ve bağımlı olmayan çeşitli reaksiyonlar ise aşağıdaki tepkimeler ile gösterilmektedir ve bu tepkimeler OH⁻ radikallerinin kaynağını oluşturmaktadır (48).



2.6. Serbest radikallerin etkileri

Kısıtlı oksijen desteğine rağmen, iskemisinin başlangıcında (ROS)'un hızla biriktiğine dair kanıtların sayısı artmaktadır ve XO, bu oksijen türlerinin üretimine önemli bir katkı sağlamaktadır. XO ve O₂ varlığında hipoksantin, ksantine çevrilir aynı zamanda O₂•⁻ açığa çıkar. XO ve hipoksantin iskemi sırasında hızla biriktiği için O₂•⁻ üretimi de hızla gerçekleşecektir. İskemide O₂ kısıtlı bir substrattır ancak reperfüzyon sırasında yeterince mevcuttur. Bu durum, reperfüzyon sırasında iskemiden daha fazla ROS üretilmesine yol açmaktadır. Ayrıca, reperfüzyonda, bir reoksijenasyon prosesi gerçekleşir ve mitokondri aşırı miktarda ROS üreterek sitozolik Ca²⁺ miktarının artışına, dolayısıyla hücre ölümüne yol açar. Ayrıca, iskemide artan NADH miktarına bağlı olarak gelişen myoglobin otooksidasyonu, bir başka potansiyel ROS kaynağıdır (51).

Muskularis katmanı, submukozayı çevreler ve bağırsakları hareket ettirmek için birkaç kat düz kas dokusu sağlamaktadır. Peristaltizm ve segmentasyon gibi bağırsak hareketleri, gıdanın bağırsaktan geçmesine ve gıdanın bağırsak duvarlarıyla temas edebilmesi için çalkalanmasına yardımcı olmaktadır.

1-Membran Lipit peroksidasyonu: Serbest radikaller biyolojik açıdan molekülleri etkilemektedir. Lipitler ise bu hasarda en fazla etkiye uğrayan biyomoleküllerdir (52). Hücrede membranında bulunan kolestrolün ve yağ asitlerindeki doymamış bağların serbest radikaller ile tepkimeye girmesi sonucunda peroksidasyon ürünleri meydana gelmektedir. Oksidatif olayla ortaya çıkan membran

hasarı geri dönüşümsüz olan bir sonuçtur. Lipit peroksidasyonun sonucunda ise malondialdehit oluşmakta ayrıca bu maddeninde olan toksik etkisi proteinlerin amino grubuna, fosfolipitlere ya da nükleik asitlere gösterilmektedir. (53,54,55). Membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyonda kabiliyetini bozmaktadır. Sitotoksisiteye, mutajen oluşumu ayrıca, membran yıkımına yol açmaktadır (4).

2-Proteinlere olan etkileri: Triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein aminoasitleri gibi çift bağ ile tiyol içermekte olan moleküllere karşı serbest radikallerin reaktivitesi yüksek orandadır. Bu moleküllerin radikal hasarlara duyarlı olduğu bilinmektedir. Yapısındaki ya da katalitik aktivitesinde bu aminoasitlerinde bulunduğu enzimlerin radikallerin etkisi ile birlikte etkisiz hale geldiği bilinmektedir. Modifikasyonlara dirençli prolin, lizin gibi aminoasitler, O_2 , H_2O_2 ve OH^{\cdot} radikaller ile birlikte hidroksilasyona uğrayabilmektedir (4, 13).

3-Karbonhidratlara olan etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlara olan etkilerini monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda H_2O_2 ve okzoaldehitleri oluşturarak göstermektedirler. Okzoaldehitler, DNA, ribonükleik asit ve proteinler ile bağlanarak çapraz bağ oluşturmaktadırlar. Serbest radikallerin karbonhidratlara olan ikinci etkisi bağ dokusunda önemli bir mukopolisakkarid olan hyalüronik asitin serbest radikaller ile etkileşmesi sonucunda bağ dokusunda bozulma ve sıvı akışkanlığında kayıba neden olması durumudur (4, 7, 56).

2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller tarafından oluşabilecek oksidatif stresin ortadan kaldırılması için en fazla önem taşıyan silah ise antioksidan sistemleridir. Antioksidanlar serbest radikallerin temizlenmesinde ve hücre hasarının engellenmesindeki en önemli maddelerdir. İnsanlarda bulunan antioksidanlar vücut tarafından doğal olarak üretilir veya dışarıdan da ilave olarak alınabilmektedir. Gerek endojen gerekse eksojen antioksidanların serbest radikallere karşı süpürücü olarak hareket ettikleri bilinmektedir. Bu durumdan dolayı ise savunma sisteminde antioksidan sistemin etkisinin artması hastalık riskinde azalmayı sağlamaktadır (1).

İnsan vücudu, oksidanların etkisini dengeleyecek çeşitli antioksidanlar ile donatılmıştır (43). Antioksidanlar endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılmakta olup,

endojen antioksidanlar da kendi içinde enzimatik ve non-enzimatik olarak iki grupta incelenmektedir (57). Antioksidan savunma mekanizmalarının etkilerini şu şekillerde göstermektedirler:

1) Katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon redoks siklusunu enzimlerinde (glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz vb.) gibi enzim sistemleri ROS'u daha az toksik hale getirmektedirler (27, 58).

2) İnsanda hücre membranında oksidatif stresin oluşturacağı hasarı önlemeye yarayan E vitamini (alfa-tokoferol) bulunmaktadır. Hem ekstraselüler sıvıda hem de intrasellüler alanda antioksidanın etkinlik gösteren ve antiproteazların inaktivasyonunu önleyen, askorbik asit (C vitamini), indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asit, beta-karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümin ROS'u yakalayıp nötralize etmektedirler (48, 53).

3) Hidrojen peroksid ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonudur.

GSH en önemli endojen antioksidanlar arasındadır. GSH, hücrelerde ve dokularda okside olmuş (GSSG; glutathione disülfür) formlarında bulunur ve hayvan hücrelerinde glutatyon konsantrasyonu 0.5 ila 10 mM aralığındadır.

Glutatyonun çoğunluğu (% 90-95) sağlıklı hücrelerde düşük formda (GSH) bulunur. GSH, antioksidan enzimlere, hidroksil radikallerine, ROS'a indirgen eşdeğerleri sağlamaktadır ve kendisi de GSSG'ye oksitlenir; bu nedenle GSH / GSSG oranı, hücre sağlığının kritik bir göstergesidir. Oksidatif stres sırasında GSH seviyelerinde azalma, GSSG seviyelerinde artış ve dolayısıyla GSH / GSSG oranı azalır. Birkaç hastalık için potansiyel terapötik ajan olarak GSH rolü, antioksidan etkisinden dolayı önde gelen bir araştırma alanıdır (58).

GSH, glutamik asit, sistein (Cys) ve glisinden oluşan küçük moleküllü, değerli bir tri-peptiddir ve farmasötik, gıda ve kozmetikte yaygın olarak kullanılmaktadır.

Demir ve bakır iyonu bu reaksiyonu katalize eder. Hücrede ve plazmada serbest radikaller ferritin, transferin, laktoferin ve seruloplazmin ile bağlanır. Mitokondrielerde doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidazdır Bu maddeler ROS oluşmasını önleyen ve oluşan ROS'un yayılmasını engelleyen sistemlerdir (35, 59).

2.7.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidan savunması, sitoplazma ve çeşitli organellerde dağılmış halde bulunan, kompartmanlaşmış, antioksidan özellikle enzimatik ve non-enzimatik yapılu moleküllerin bir ağı şeklinde kendini göstermektedir (61). Temel antioksidanlar SOD, katalaz ve GSH-Px 'dir. Bu temel enzimlere ek olarak, hem oksijenaz-1 ve tiyoredoksinler, peroksiredoksinler (PRX) ve glutaredoksinlerin de antioksidan savunmada rolü olduğu tespit edilmiştir. Süperoksit çeşitli kaynaklardan üretilen başlıca ROS olduğu için, SOD ile dismutasyonu her hücre için öncelikli öneme sahiptir.

Non-enzimatik antioksidanlar sınıfı, vitaminler (C ve E), β -karoten, ürik asit gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler ve bir tiyol (sülfidril) grubu içeren bir tripeptid olan (1- γ -glutamil-1-sisteinil-1-glisin) GSH'dan oluşmaktadır (46).

2.7.2. Ekzojen antioksidanlar

İnsan vücudunun oksidatif strese bağlı ürettiği serbest radikallere karşı gelişen endojen enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunmanın ve ROS'un uzaklaştırılması, detoksifiye edilmesi ya da üretiminin bloklanması mekanizmalarının yanısıra, besin yoluyla (ekzojen) aldığı bir takım antioksidanlar mevcuttur.

Besinsel antioksidanlar temel olarak serbest radikalleri uzaklaştırmakla görevli olup, farklı mekanizmalar üzerinden hareket etmektedirler:

- 1) Serbest radikalleri nötralize ederler,
- 2) Okside olmuş membranları onarırlar,
- 3) ROS üretimini azaltırlar,
- 4) Lipid metabolizması üzerinden, kısa zincirli yağ asitleri ve kolesterol esterleri de ROS'ları nötralize ederler.

Ekzojen antioksidanların oksidatif stresi engellemesi, azaltması, ilgi çeken bir konudur. En iyi bilinen antioksidanlar tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), karotenoidler (β -karoten), ubikinon ve polifenollerdir (47).

Özellikle son yıllarda gerçekleşen araştırmalar ROS'un doku üzerindeki hasarlarına, etki mekanizmasına ve vücut savunma sistemleri üzerindeki etkisine yoğunlaşmıştır. İlaçlar, ultraviyole ışını, radyasyon ve çevre kirliliği gibi ekzojen

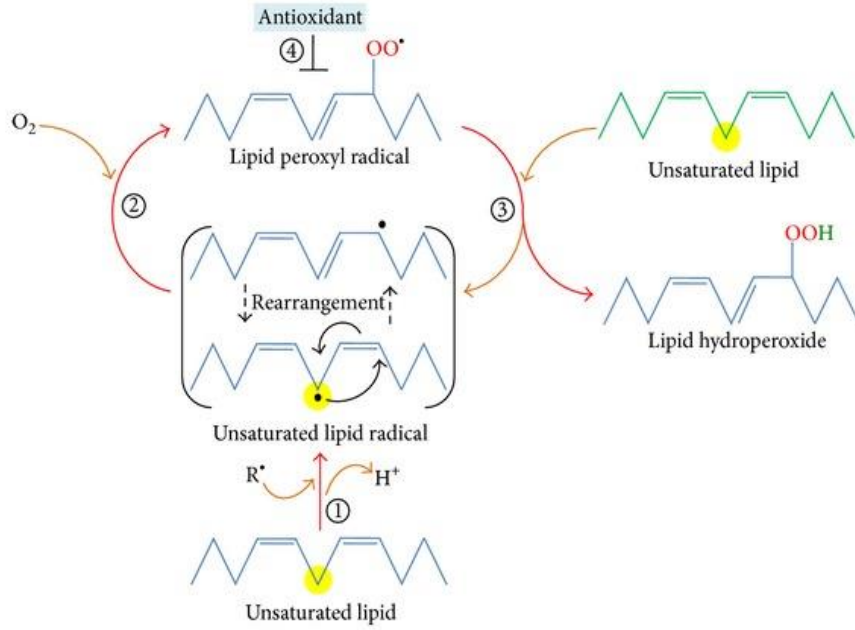
kaynaklar bunlara maruz kalan canlılardaki kanser, şeker hastalığı, karaciğer yetmezliği, otoimmün hastalıklar, multiple skleroz, artrit ve yaşlanma gibi fizyopatolojik durumlarında oluşmasında en büyük etken olmuştur (37).

Son yıllarda antioksidan aktiviteler ile ilgili olan çalışmalarda çoğu çalışmanın doğal elde edilen antioksidanlar ile ilgili olduğu dikkat çekmektedir. Bitkiler arasında yaygın olan birçok polifenolik bileşiklerin (tokeferoller, flavonoidler, kumarinler, antosiyanin ve fenolik asitler) hepsinin antioksidan aktiviteli olduğu izlenmiştir (37).

2.8. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, linoleik asit ya da araşidonik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin bir serbest radikal tarafından okside edilmesidir. Lipid peroksidasyonunun temel mekanizması, tipik otooksidasyon prosesinde (Moleküler oksijenin başlangıç, ilerleme ve sonlanma aşamaları ile meydana gelen oksidasyonu) gerçekleşen radikal zincir reaksiyonunda gözlenmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyonu, substrat tükenene ya da terminasyon gerçekleşene kadar kendiliğinden ilerleyen bir proses olup bu yönüyle diğer serbest radikal hasarlarından ayrılmaktadır ve ciddi doku hasarına yol açma potansiyeline sahiptir (52).

Lipid peroksidasyon prosesi 3 adımdan oluşmaktadır: Başlangıç, ilerleme ve sonlanma. Lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamasında, hidroksil radikalleri gibi prooksidanlar, allilik hidrojeni ayırarak merkezinde C atomu bulunan bir lipid radikali ($L\cdot$) oluşturur. İlerleme aşamasında, $L\cdot$ hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyon vererek bir başka lipid molekülünden hidrojen ayırarak yeni bir $L\cdot$ (Bu şekilde zincirleme reaksiyon oluşur.) ve lipid hidroperoksit (LOOH) açığa çıkaran bir lipid peroksi radikali ($LOO\cdot$) oluşturur. Sonlanma adımı ise, E vitamini gibi antioksidanlar $LOO\cdot$ üzerine bir hidrojen atomu transfer eder ve oluşan E vitamini radikali bir başka $LOO\cdot$ ile reaksiyona girerek radikal olmayan ürünler oluşturur. Lipid peroksidasyonu bir defa başladığında, son ürün oluşana kadar zincirleme reaksiyonlar devam eder. Lipid peroksidasyon prosesi Şekil 4'de şematik olarak gösterilmiştir (53).



Şekil 4: Lipid peroksidasyon prosesi (53)

Hidroksi asitler, lipid peroksidin doğrudan indirgenme ürünleridir. Hidroperoksieikosatetraenoik asitler (HPETE) ve 13- hidroperoksioktadekadienoat (HPODE), güçlü indirgeyici ajanlar varlığında hidroksieikosatetraenoik asit (HETE) ve hidrooktadekadienoata (HODE) indirgenebilir. Trifenilfosfin gibi indirgeyici kimyasal ajanlar, peroksit bağına indirgeyebilir; ancak hücrelerin zararlı peroksitleri daha fazla radikal üretimi olmadan elimine eden endojen mekanizmaları da vardır. Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimleri, özellikler GPx4, hücrelerde lipid peroksitlerin anahtar regülatörüdür, substrat olarak GSH kullanır ve lipid peroksitleri alkole indirger. Bu enzimin inaktivasyonu genellikle lipid peroksit birikimiyle ve sıklıkla ölümle sonuçlanır (37).

Lipid peroksitler, spontane olarak oluşturdukları yıkım ürünleri nedeniyle ayrıca bir toksisiteye sahiptir. Ferröz iyonu lipid peroksit ile reaksiyona girerek, yeni peroksidasyon reaksiyonları verebilen alkoksi radikallerini oluşturur. Lipid peroksitlerin yıkım ürünü olan aldehitler, hücre için toksiktir. Hem 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve (MDA) oldukça reaktif moleküllerdir. MDA, proteinlerin primer aminleri ile ya da DNA ile reaksiyon verebilen bir dialdehittir. Lipid peroksidasyonunun sekonder mesajcıları tarafından gerçekleştirilen kovalent modifikasyonlar, proteinler ile nukleik asitlerin yapı ve fonksiyonunu değiştirmekte olup bu moleküllerin sitotoksitesinden sorumludurlar.

Aldehitler, lipid peroksit degradasyonunun bir başka temel ürünü olup, 4-HNE ve MDA en iyi bilinenleridir (30, 46).

2.9. Tirofiban

Tirofiban (N-(metilsülfonil)-4-O-(4-(4-piperidinil)-L-tirozin), tirozinin nonpeptid türevi olup fibrinojenin platelet GPIIb/GPIIIa reseptörlerine bağlanmasını kısa süreli inhibe etmektedir. Boyutu ve yapısı nedeniyle vücuttan kolay elimine edilmektedir. Tirofiban, GPIIb/IIIa reseptörlerine, fibrinojenin bağlandığı şekilde bağlanmaktadır. Bu durumun sadece aktif bir pıhtıda görülüyor olması, akut ve kronik kan pıhtıları arasındaki farkın görüntülenmesinde Tirofiban kullanımına olanak sağlamaktadır (61). Tirofiban'ın yarı ömrü 1,5-2,5 saat kadardır (62).

Tirofiban'ın non-peptid yapısı, Arg-Gly-Asp (RGD) peptid dizisi kalıp olarak kullanılarak geliştirilmiştir. RGD, fibrinojenin GPIIb/IIIa'ya bağlanması için gerekli minimum sekansı ifade etmektedir. RGD, integrinlerin $\beta 3$ ailesinin iki üyesinden biri olan $\alpha IIb\beta 3$ 'e ve aynı $\beta 3$ altbirimine sahip olan $\alpha V\beta 3$ 'e bağlanmaktadır. Bilindiği gibi, integrinler ekstraselüler matriksi (ECM) intraselüler aktin filamentlerine bağlamakta ve protein kinazların da rol aldığı sinyal iletim mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır (63).

İntravenöz yol ile vücuda verildiğinde tirofibanın platelet agregasyonu üzerinde etkinliği plazma konsantrasyonuna bağlıdır ve klasik farmakokinetik bir profil izlemektedir. Kararlı bir durumda tirofibanın dağılım hacmi 0,2-0,3 L/kg aralığında olup başlıca dağıldığı bölge ekstravasküler boşluktur. Dolaşımda bulunan bağlanmamış ilaç, böbrekler ve feçes yoluyla, orijinal yapısıyla atılmaktadır. Tirofiban tedavisinden sonra, normal hemostatik fonksiyonun restorasyonu 3-4 saat içinde başlamaktadır (64, 65).

Akut myokard enfarktüsü yapılan farelere Tirofiban uygulanan bir çalışmada, tirofibanın enfarkt alanını azaltıp, kan akımını arttırdığı gösterilmiştir. Bu etkisini myokardiyal endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonlarını düzenleyerek ortaya çıkardığı bulunmuştur (14).

Chang ve ekibi (2015), tirofiban konsantrasyonlarının myokard reperfüzyon hasarı (RI) üzerindeki etkisini araştırarak optimizasyon çalışması yapmıştır. Sıçanlar 120 dakika boyunca koroner ligasyon ve 180 dakika reperfüzyona maruz bırakılmıştır. Sıçanlar daha sonra, koroner reperfüzyonun 30 dakika öncesi ve sonrası

intravenöz olarak verilen tirofibanın konsantrasyonlarına göre 7 gruba ayrılmıştır. Myokardiyal nekrotik alanın risk bölgesine oranı (AAR), myokardiyal (MDA) ve plazma myeloperoksidazı (MPO) aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuçlar, 2 µg/kg/dk tirofiban konsantrasyonunda MPO aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını ve sıçanlarda myosit apoptozisi ile kardiyak RI'nın önemli ölçüde iyileştiğini göstermektedir (13).

Guan ve ekibinin 2015 yılında yaptığı *in vivo* ve *in vitro* bir çalışmada, serum kreatinini (SCR) ve kan üre azotunun (BUN) I/R yapılan sıçanlarda önemli ölçüde arttığı ve böbreklerde histopatolojik hasar oluştuğu görülmüştür. I/R olan sıçanlarda apoptotik hücreler, lökosit infiltrasyonu ve ROS üretiminin arttığı bildirilmiştir. İntravenöz olarak verilen tirofiban ile (200 µg/kg) ön tedavi yapılan sıçanlarda SCR ve BUN düzeylerinin azaldığı, renal histopatolojik değişimlerde iyileşme görüldüğü, hasarlı böbrekte ROS üretiminin, hücre apoptozisinin ve lökosit infiltrasyonunun azaldığı da kaydedilmiştir (11).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yöntemi

Bu çalışmada kullanılan sıçanlar, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarından temin edildi. Çalışmada 24 adet ağırlıkları 250-290 gr arasında değişen Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deney öncesi uygun tel kafeslerde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde ve 20-22 °C sıcaklıkta tutuldular. Deneysel prosedürü için Bülent Ecevit Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik kurulundan onay alındı. 24 adet sıçan her grupta 8 hayvan olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı:

1. Kontrol grubu: İskemi uygulanmadan yalnızca laparotomi uygulanan grup, Bu gruptaki hayvanlara iskemi reperfüzyon işlemleri yapılmadan, yalnızca laparotomi uygulanmıştır.

2. İ/R grubu: Bu gruptaki hayvanlara İ/R prosedürü uygulanmıştır. Süperior mezenterik arter oklüzyonu ile 30 dk iskemi ve 3 saat reperfüzyon uygulanmıştır.

3. İ/R+Tirofiban grubu (İ/R+Tir): Bu gruptaki hayvanlara İ/R prosedürü sırasında reperfüzyon öncesinde tirofiban tedavisi uygulanmıştır.

Tüm hayvanlar deneyden 12 saat önce aç bırakıldı, ancak su içmelerine izin verildi. Hayvanlar intraperitoneal sodyum tiyopental (90mg/kg) enjeksiyonu ile anestezi edildiler. Hipotermiyi önlemek için cerrahi girişim ısıtıcı lamba altında yapıldı. Karın orta hattı temizlenerek açıldı, bağırsaklar karın sol tarafına alındı ve süperior mezenterik arter izole edildi. Arter 3/0 ipek iplikle bağlandı ve 30 dk iskemi uygulandı. Bağırsaklarda soluklaşma olması ve pulsasyonun kaybolması ile iskemi prosedürü teyit edildi. Daha sonra iplik çözülerek 3 saat boyunca reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyonun gerçekleşmesi bağırsak renginin kırmızıya dönmesi ve pulsasyonun tekrar gözlenmesiyle kontrol edildi. Tirofiban tedavisi kuyruk venlerine takılan intravenöz kanül aracılığıyla reperfüzyonun hemen öncesinde 200 µg/kg dozunda uygulandı. Reperfüzyon bitiminde terminal ileum dokuları alınarak bir kısmı histolojik çalışmalar için formaldehit içinde bir kısımda biyokimyasal incelemeler için -80 °C' de saklandı.

3.2. Biyokimyasal İncelemeler

3.2.1. Malondialdehid (MDA) düzeyi tayini

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA tayini, tiyobarbitirik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyon vererek 535 nm dalga boyunda ölçülebilen renkli bir bileşik vermesi esasına dayanmaktadır. Sonuçlar nmol/g doku olarak tanımlanmaktadır.

Lipid peroksidasyonunun indikatörü olan MDA düzeyi Casini ve arkadaşlarının yöntemi baz alınarak çalışıldı. -80 derecede muhafaza edilmiş olan ileum örneklerinin buzun içerisinde çözünmesi beklendi. Tartılmış olan dokunun 1 gramına 9 ml olacak biçimde soğuk %10'luk triklorasetik asit (TCA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) ilave edilerek, homojenizasyon sağlandı. Homojenat 18-20 °C'de 3000g'de 15 dakika santrifüje edildi. Oluşturulan 1,5 ml süpernatant mikrosantrifüj tüplerinde 18-20 °C'de 3000g'de 8 dakika santrifüj edildi. Meydana gelen 750 µl süpernatant üzerine %1'lik butilhidroksi toluenden (BHT, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 10 µl eklendi. Üstüne 750 µl %0,67'lik tiyobarbitirik asit (TBA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) ilave edildi. Karışım 15 dakika kaynamaya bırakılmıştır. Elde edilmiş olan örnekler 535 nm'de spektrofotometrik olarak okundu.

3.2.2. İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyi tayini

Endojen antioksidan olan GSH düzeyleri Aykac ve arkadaşlarının yöntemleri baz alınarak çalışıldı. -80 derecede saklanmış olan ileum örneklerinin buz içerisinde çözünmesi beklendi. Tartılmış olan dokunun 1 gramına 9 ml olacak biçiminde soğuk %10'luk TCA ilave edildi ve homojenizasyon sağlandı. Homojenat 18-20 °C'de 3000g'de 15 dakika santrifüj edildi. Oluşturulan 1,5 ml süpernatant mikrosantrifüj tüplerinde 18-20 °C'de 3000g'de 8 dakika santrifüj edildi. Meydana gelen 250 µl örnek süpernatanta 1 ml 0,3M Na₂HPO₄ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) ilave edildi. Üstüne 125 µl ditiobisnitrobenzoat (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) ilave edildi. Örnekler vorteksleme ardından 412 nm'de spektrofotometrede okundu.

3.2.3. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi tayini

Doku nötrofil birikiminin indikatörü olan MPO düzeyleri Bradley yöntem baz alınarak çalışıldı. -80 derecede saklanmış olan ileum örneklerinin buz içinde çözünmesi beklendi. Sonrasında dokular tartılma işleminden geçti. Doku ağırlığının 20 katı olacak biçiminde 50 mM'lık potasyum fosfat tamponu (PB) eklendi ve 0-2 °C'de mekanik homojenizatörle homojenize edildi. Homojenat 40,000g'de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantları dökülmüş alt bölümde kalmış olan pellet üstüne 10 kat olacak oranda 5g/L hegzadesiltrimetilamonyumbromid (Sigma Chemical Co.,St. Louis, MO, USA) içeren 50mM PB ilave edildi ve yeniden homojenize edildi. Örnekler üç defa dondurma işlemine tabi tutulup çözdürüldü ve her dondurma arasında sonikasyon yapıldı. Sonrasında örnekler 40,000g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilmiş olan süpernatandan 100 µl alınıp üstüne 2,9 ml reaksiyon karışımı ilave edilerek direk olarak 460 nm'de absorbans değişimi 5 dakika boyunca ölçüldü. Hazırlanmış olan reaksiyon karışımı 50 mM lık PB içerisinde 0,167 mg/ml Odianisidine (Sigma Chemical Co.,St. Louis, MO, USA) ve 20 mM H₂O₂ kapsamaktadır.

3.3. Histopatolojik İncelemeler

%10'luk formalin solüsyonunda fikse edilen ileum dokuları parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı ve kesitler deparafinize edilerek histopatolojik skorlama için hematoksilin-eozin ile boyandı. Hazırlanan örnekler kör olarak Hierholzer ve arkadaşlarının (1999) tarif ettiği bağırsak mukozal hasar skorlaması (0-4) esas alınarak ışık mikroskopunda değerlendirildi (66).

0: Normal yapıya sahip mukozal villi, kript, lamina propria ve muscularis externa,

1: hafif mukozal hasar, villi epitelinde kayıp dışında patolojik bulgu olmaması,

2: Orta dereceli hasar, mukozada konjesyon, hemoraji ve inflamasyonla birlikte villus yüksekliğinin kaybı ve epitelyal soyulma,

3: Ağır dereceli hasar, villusların çoğunda soyulma ve submukoza ile muscularis tabakasında granülatöz doku varlığı,

4: Şiddetli hasar ve nekroz, intestinal duvarın tüm katlarında inflamasyon ve nekroz.

3.4. İstatistiksel İncelemeler

Tüm istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences versiyon 24.0.0; SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı ile yapılmıştır. Analizlerde tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart hata olarak belirtildi. Gruplar arasında fark olup olmadığı Kruskal- Wallis testi ile değerlendirildi. Grup içindeki farklılıklar ise Dunn testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için hata değeri 0.05'in altında olan ($p<0.05$) durumlar anlamlı kabul edildi.

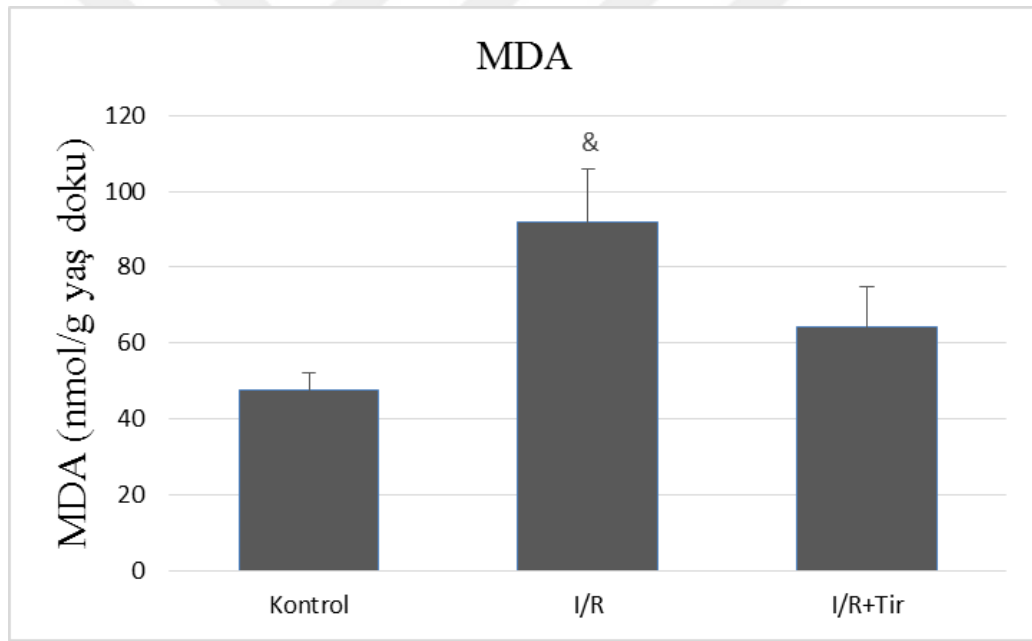


4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal İncelemelere Yönelik Bulgular

4.1.1. Malondialdehid (MDA) düzeyi

Grupların ortalama MDA düzeyleri kontrol grubu: 47.47 ± 4.54 , İ/R grubu: 91.75 ± 14.30 ve İ/R+Tirofiban grubu: $64,10 \pm 10,81$ 'dir. İ/R grubu MDA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$). İ/R+Tirofiban grubunda ise yükselen MDA düzeylerinde azalma tespit edilmesine rağmen bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Gruplara ait MDA düzeyleri Grafik 1'de gösterildi.

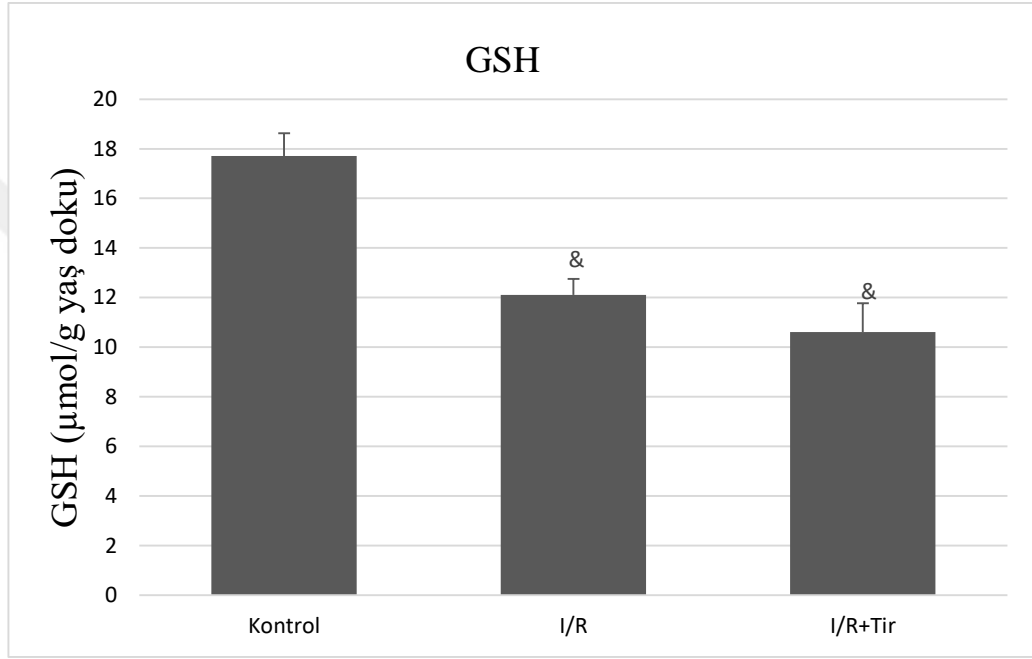


Grafik 1. Doku MDA Düzeyleri

Tirofiban tedavisi ile MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlenmemiştir. & Kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p < 0,05$). Sonuçlar ortalama \pm SE şeklinde verilmiştir.

4.1.2. İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyi

Grupların ortalama GSH düzeyleri kontrol grubu: 17.71 ± 0.92 , İ/R grubu: 12.11 ± 0.64 ve İ/R+Tirofiban grubu: $10,61 \pm 1,16$ 'dır. İ/R hasarı GSH düzeylerinin anlamlı bir şekilde azalmasına neden olmuştur ($p < 0.05$). Tirofiban uygulaması ise GSH düzeylerinde İ/R grubuna göre anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Dokulara ait GSH düzeyleri Grafik 2'de gösterildi.

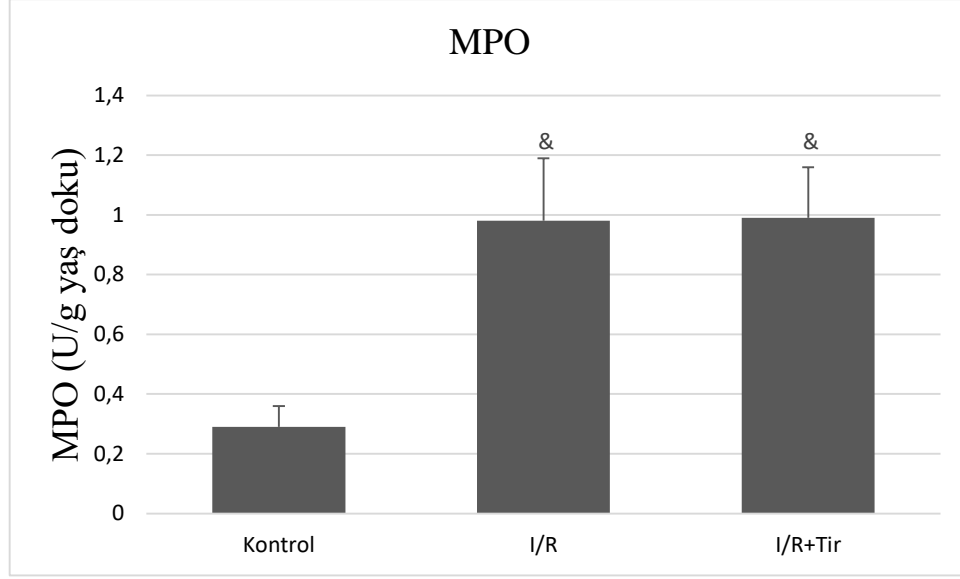


Grafik 2. Doku GSH Düzeyleri

Tirofiban tedavisi ile GSH düzeylerinin düşmesi önlenememiştir. & $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir. Sonuçlar Ortalama \pm SE şeklinde verilmiştir.

4.1.3. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi

Grupların ortalama MPO aktiviteleri kontrol grubu: 0.29 ± 0.07 , İ/R grubu: 0.98 ± 0.21 ve İ/R+Tirofiban grubu: 0.99 ± 0.17 'dir. İ/R hasarı bağırsak dokusunda MPO aktivitesini kontrol grubuna göre önemli bir şekilde arttırmıştır ($p < 0.05$). Ancak tirofiban tedavisi MPO aktivitesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır ($p > 0.05$). Dokulara ait MPO enzim aktivitesi Grafik 3'de gösterildi.



Grafik 3. Doku MPO Aktivitesi

Tirofiban tedavisi MPO düzeylerinde İ/R grubuna göre değişikliğe neden olmamıştır. & $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir. Sonuçlar Ortalama \pm SE şeklinde verilmiştir.

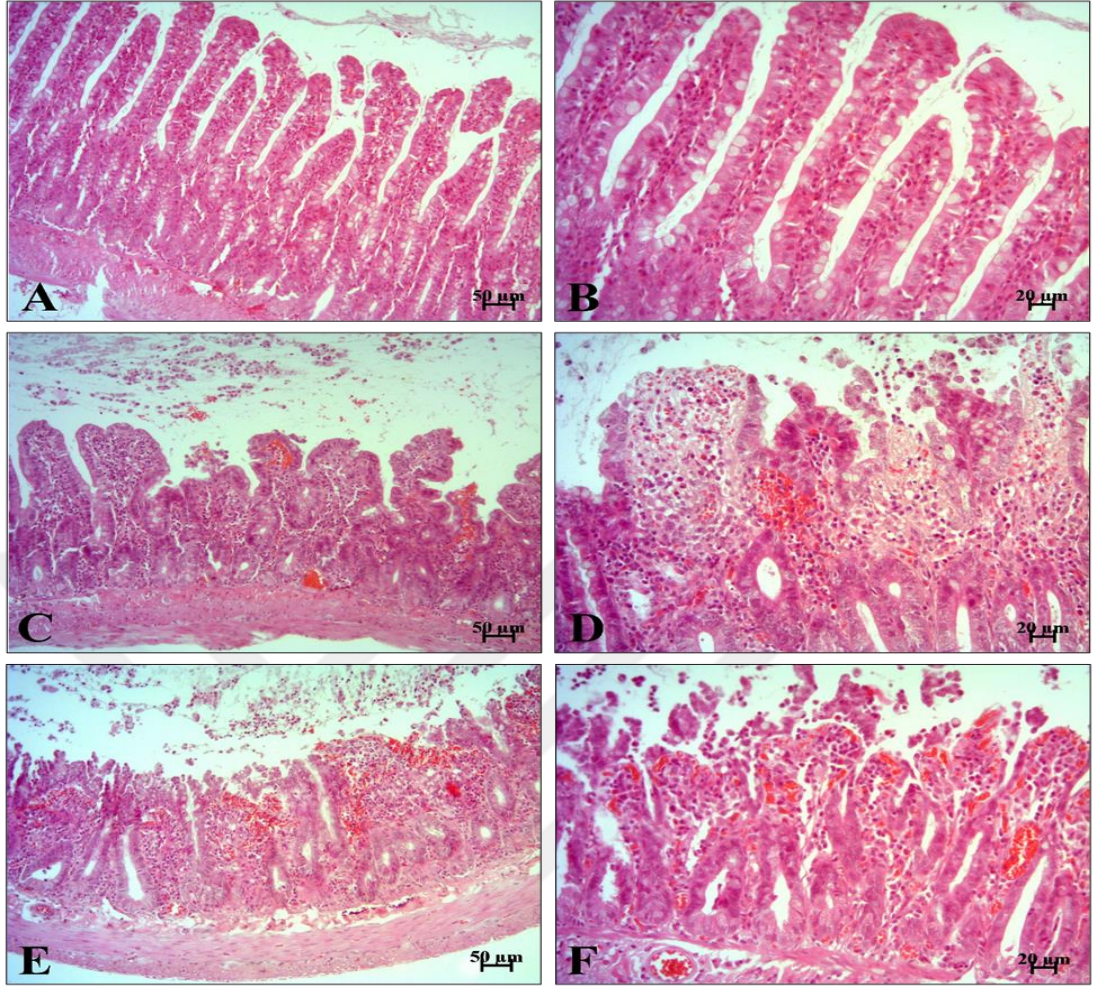
4.1.4. Histopatolojik sonuçlar

İleum dokularının mikroskopik incelemelerinde; kontrol grubunda düzenli, normal villüs yapısı izlenmiştir (Resim 1A ve 1B). İ/R grubunda villusların lamina epiteliyalisinde soyulma ve hücrelerde dökülme, lamina propriyada hemoraji ve villusların yıkımı izlenmektedir (Resim 1C ve 1D). Tirofiban uygulamasıyla İ/R ile oluşan bu hasarda iyileşme veya düzelme gözlenmemiştir (Resim 1E ve 1F). Histopatolojik değerlendirme skorları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Deney gruplarına ait histopatolojik değerlendirme sonuçları

Gruplar	Histopatolojik Skorlama
Kontrol	0 \pm 0
İ/R	2.30* \pm 0.33
İ/R+Tir	2.16* \pm 0.30

* Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$), Değerler ortalama \pm SE olarak verilmiştir.



Resim 1. Kontrol ve deney gruplarına ait sıçan bağırsak dokularının ışık mikroskopik görünümü

A-B: Kontrol grubu deneklerin ileumu normal histolojik yapıda izlenmekte. C-D: İskemi-Reperfüzyon (İR) grubu deneklerde, iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak villusların lamina epitelyalisinde soyulma ve hücrelerde dökülme, lamina propriyada hemoraji ve villusların yıkımı dikkati çekmekte. E-F: IR+Tirofiban grubunda ise iskemi- reperfüzyon hasarına bağlı ortaya çıkan histopatolojik değişikliklerin devam ettiği görülmekte. Hematoksilen- Eozin. Bar: A-C-E 50µm, B-D-F 20 µm.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular ile intestinal dokunun İ/R'nun tüm bağırsak duvarı boyunca histopatolojik olarak hasarlanmaya neden olduğu, oksidatif stresin artıp antioksidan enzim düzeylerinin azaldığı ve ayrıca lökosit infiltrasyonunda artış olduğu gösterildi. Çalışmamızda ayrıca glikoprotein IIb/IIIa reseptör antagonisti olan tirofibanın reperfüzyon öncesi tek doz uygulanmasının İ/R hasarını önlemede ya da düzeltmede etkili olmadığı gözlemlendi.

Bağırsakları besleyen arterlerin emboli, tromboz veya ateroskleroza bağlı tıkanıklıkları ile volvulus, intestinal strangülasyon, invajinasyon gibi mekanik vasküler nedenler veya bağırsağın venöz dönüşünde tıkanıklık gibi çok çeşitli nedenlerle bağırsaklarda iskemik hasar görülür (67, 68). Dokunun yaşaması için iskemiye takiben reperfüzyon zorunludur. Ancak reperfüzyon hasarının tek başına iskeminin neden olduğu doku hasarından daha fazla hasar yaptığı gösterilmiştir (68, 66). İ/R sonucunda endotelin hasarlanması ile birlikte NO biyoyararlanımında bir azalma meydana gelmektedir ve böylece NO süperoksit dengesinde süperoksit lehine bir kayma oluşmaktadır. Aynı zamanda oksijen kaynaklı serbest radikallerde de bir artma meydana gelmektedir (6). İ/R sonrasında ilk olarak etkilenen yerlerden biri endotel tabakasıdır. İ/R sonucu görülen vasküler disfonksiyonun mezenter arterin distal kısımlarında proksimale göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (5). İskemi süresi belirlenirken bunun belirgin hasar oluşturacak kadar uzun, fakat tam kat ve geri dönüşsüz nekroz oluşturmayacak kadar kısa olmasına özen gösterildi. Çünkü tam kat nekroz gelişen durumlarda cerrahi rezeksiyon dışındaki tedavilerin anlamsız olduğu bilinmektedir. Bu ölçütlere en uygun iskemi süresinin 30 dk olduğu düşünüldü. Aynı süreyle iskemi literatürdeki diğer çalışmalarda da uygulanmıştır (6, 8). Reperfüzyon süresi belirlenirken de uygulanan deneysel maddelerin etkilerinin görüleceği kadar uzun, rejenerasyon çalışmalarında geçen iyileşme sürecinin deneysel maddelerin etkilerini maskeleyecek kadar kısa olmasına özen gösterildi. Bu ölçütlere en uygun reperfüzyon süresinin 180 dk olduğu düşünüldü. Aynı süreyle reperfüzyon literatürdeki diğer çalışmalarda da uygulanmıştır (8).

İç organlar arasında bağırsaklar İ/R hasarına en duyarlı organdır. Mezenterik dolaşım kalp debisinin dinlenme sırasında yaklaşık %25'ini, yemek sonrasında ise yaklaşık %35'ini alır. Bu yüzden intestinal mukozal doku zengin bir damarsal ağa sahiptir ve iskemiye en duyarlı alandır (69). Kan akımının kesilmesiyle beraber oksijen miktarının azalması, ATP'nin tükenmesine neden olur ve hücresel fonksiyonlar azalarak sonuçta hücre ölümü gözlenir. Kan akımının tekrar sağlanmasıyla reperfüzyon hasarı meydana gelir (6, 7). Reperfüzyon sırasında ortama gelen aktive olmuş lökositler ve trombositlerin venüllerde birikerek tıkanıklığa yol açması mukozal hasarın artmasına neden olmaktadır (7, 8). Trombositler aktive olduğunda hücrelerin şekli değişir ve yüzeylerinde trombosit agregasyonuna neden olan GP IIb/IIIa reseptörleri ortaya çıkar (70). Tirofiban, GP IIb/IIIa reseptör antagonistidir ve klinikte akut koroner sendromlu hastalarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır (10,71).

Tirofibanın kalp ve böbrek gibi organlarda İ/R hasarını azalttığı gösterilmiştir (9, 11,13). Bu koruyucu etkilerinin özellikle antitrombolitik etkisinden kaynaklandığı ve enfarkt alanını azalttığı bildirilmiştir (13). Çalışmamızda tirofiban uygulamasının histopatolojik olarak İ/R ile meydana gelen hasarı azaltmada etkili olmadığını gözlemledik. Tirofiban pek çok dokuda İ/R hasarında antitrombolitik etki göstermesine karşın bağırsakta İ/R hasarını önlemeye yetecek kadar etkin olmadığı görülmektedir. Bu çalışmada uygulanan reperfüzyon süresi, tirofiban kullanılan diğer çalışmalara ve daha önceki çalışmalarımıza göre belirlenmiş olsa da intestinal İ/R'da trombositlerin en yoğun gözlendiği reperfüzyon süresinin 6-20. saatler arası olduğu da bildirilmektedir (34).

Tirofibanın intestinal hasarı azaltmada etkili olmaması bu durumdan kaynaklanabilir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda farklı reperfüzyon süreleri ile tirofiban tedavisinin etkinliğinin saptanması doğru bir yaklaşım olacaktır.

İ/R hasarının altında yatan en önemli mekanizmalardan biri aşırı miktarda SOR üretilmesidir (56). Serbest oksijen radikallerinin en zararlı etkisi protein, lipid ve DNA'nın oksidasyonuna sebep olmasıdır. Hücre membranları, poliansatüre yağ asitleri ve fosfolipitlerden oluşmaktadır (9). Özellikle lipidlerin peroksidasyonundaki son ürün MDA'dır ve dokuda MDA'nın ölçümü lipid peroksidasyonunun derecesi için bir göstergedir (56). Çalışmamızda reperfüzyon öncesi tek doz tirofiban uygulanan grupta MDA düzeyleri, iskemik gruba göre düşük bulunmasına rağmen bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Guan ve arkadaşları (2015) tek doz

tirofiban uygulaması ile MDA düzeylerinin böbrek iskemisinde azaldığını (11), Chang ve arkadaşları (2015) kalp iskemisinde reperfüzyon süresi boyunca tirofiban infüzyonunun MDA düzeylerini azalttığını bildirmişlerdir (13).

İ/R hasarında polimorfonükleer nötrofiller gibi lökositlerin aktive olması ve toplanması SOR için ana kaynak olarak bildirilmektedir (4, 69). Nötrofiller aktive olduğunda azurofil granülleri ve içerisinde bulunan elastaz, MPO, metalloproteinaz gibi enzimleri salarlar ve hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve hipoklorik asit gibi güçlü SOR'nin oluşmasına neden olurlar (69, 72). Dolayısıyla MPO enziminin düzeyi lökosit infiltrasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (57). Çalışmamızda MPO düzeyleri İ/R hasarı ile artarken, tirofiban uygulaması MPO düzeylerinde değişiklik oluşturmamıştır. Guan ve arkadaşları (2015) tirofibanın MPO enzim düzeylerini azaltarak lökosit infiltrasyonunu engellediğini bildirmişlerdir (11). Liu ve arkadaşları (2013) tirofibanın nitrik oksit sentaz düzeylerini değiştirip SOR oluşumunu engelleyerek MPO düzeylerini azaltmada etkili olduğunu göstermişlerdir (14). Chang ve arkadaşları miyokard iskemisinde infüzyon olarak uyguladıkları tirofibanın 2 µg/kg dozunda MPO düzeyini azalttığını, 5 µg/kg dozunda MPO düzeylerini değiştirmedeğini göstermişlerdir (13). Dolayısıyla ilerleyen çalışmalarda tirofibanın farklı konsantrasyonlarda denenmesi bu durumun açıklanmasına yardımcı olacaktır.

GSH vücutta bulunan önemli bir endojen antioksidandır ve bağırsak dokusu için mukozal bariyeri koruyucu özelliklere sahiptir (49). Çalışmamızda İ/R hasarı GSH düzeylerini önemli ölçüde azaltırken, tirofiban tedavisi antioksidan GSH düzeylerinde meydana gelen azalmayı önleyemedi. Oysa yapılan bir çalışmada tirofibanın böbrek iskemisinde GSH düzeylerini arttırdığı bildirilmektedir (11).

Sonuç olarak intestinal İ/R hasarında tirofiban tedavisinin reperfüzyon öncesi tek doz uygulanmasının hasarı önlemeye veya düzeltmeye yetecek düzeyde etkin olmadığını gösterdik. Ancak bu etkinin tirofibanın farklı dozlarında, farklı iskemi ve reperfüzyon süreleriyle yapılacak yeni çalışmalarla tekrar ortaya konulmasıyla altta yatan olası mekanizmaların açıklanmasının yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Badak B, Türk O, Caga T, Burukoglu D. The protective effect of milrinone on ischemia/reperfusion injury on superior mesenteric artery ligated rats. *Journal of Surgical Arts* 7(1):1-6, 2014.
2. Feng L, Ke N, Cheng F, Guo Y, Li S, Li Q, et al. The protective mechanism of ligustrazine against renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 166(2):298-305, 2011.
3. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 101(4):478-83, 1970.
4. Ueda T, Takagi T, Katada K, Iida T, Mizushima K, Dohi O, Okayama T, Yoshida N, Kamada K, Uchiyama K, Handa O, Ishikawa T, Konishi H, Naito Y, Nagasaki Y, Itoh Y. The protective effect of orally administered redox nanoparticle on intestinal ischemia-reperfusion injury in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 495(2):2044-2049, 2018.
5. Lin ZL, Tan SJ, Cheng MH, Zhao CY, Yu WK, He YL, Li J, Li N. Lipid-rich enteral nutrition controls intestinal inflammation, improves intestinal motility and mucosal barrier damage in a rat model of intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 213:75-83, 2017.
6. Turan I, Ozacmak HS, Ozacmak VH, Barut F, Araslı M. Agmatine attenuates intestinal ischemia and reperfusion injury by reducing oxidative stress and inflammatory reaction in rats. *Life Sci* 189:23-28, 2017.
7. Vollmar B, Menger MD. Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbecks Arch Surg* 396(1):13-29, 2011.
8. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Ischemia/Reperfusion. *Compr Physiol* 7(1): 113-170, 2016.
9. Pan G, Long SC, Xu XP, Zhao JH, Li ZZ, Zhang XB, Lu YH, Zhang ZW. Protective Effects of Tirofiban on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rabbits. *Am J Ther* 23(6): 1427-1435, 2016.
10. Zhou X, Wu X, Sun H, Li J. Efficacy and safety of eptifibatide versus tirofiban in acute coronary syndrome patients: A systematic review and meta-analysis. *J Evid Based Med* 10(2): 136-144, 2017.

11. Guan W, Wang Z, Liu Y, Han Y, Ren H, Eric Wang W, Yang J, Zhou L, Zeng C. Protective effects of tirofiban on ischemia/reperfusion-induced renal injury in vivo and in vitro. *Eur J Pharmacol* 761: 144-152, 2015.
12. Karaoglan A, Uçankale M.H, Barut S, Uzun H, Belce A, Çolak A. Neuroprotective Effect of Tirofiban on Temporary Brain Ischemia in Rats: A Preliminary Report. *Türk Nörosirürji Dergisi* 12: 40-47, 2002.
13. Chang ST, Chung CM, Chu CM, Yang TY, Pan KL, Hsu JT, Hsiao JF. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Inhibitor Tirofiban Ameliorates Cardiac Reperfusion Injury. *Int Heart J* 56(3): 335-340, 2015.
14. Liu X, Tao GZ. Effects of tirofiban on the reperfusion-related no-reflow in rats with acute myocardial infarction. *J Geriatr Cardiol* 10(1): 52-58, 2013.
15. OpenStax ,(2017), The Small and Large Intestines, , Anatomy and Physiology,Chapter23.(<https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/23-5-the-small-and-large-intestines/>)
16. Collins JT, Bhimji SS (2018) Anatomy, Abdomen and Pelvis, Small Intestine, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459366/StatPearls> [Internet].
17. Oztürk H, Kara IH, Otçu S, Kilinc N, Yagmur Y. Influence of L-NAME and L-Arg on ischaemia-reperfusion induced gastric mucosa damage. *Acta Gastroenterol Belg* 65:150-4, 2002.
18. Kahai P, Bhimji SS, (2018), Anatomy, Abdomen and Pelvis, Large Intestine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470577/ StatPearls> [Internet].
19. Haglund U, 2001, Mesenteric ischemia. Ed: Holzheimer, RG & Mannick JA. (2001). Surgical treatment: evidence-based and problem-oriented.pp. Zuckschwerdt.
20. Lobo Martínez E, Meroño Carvajosa E, Sacco O, Martínez Molina E. Embolectomy in mesenteric ischemia. *Rev Esp Enferm Dig* 83:351–354, 1993.
21. Renner P, Kienle K, Dahlke M.H, Heiss P, Pfister K, Stroszczyński C, Piso P,Schlitt H.J.Intestinal ischemia: current treatment concepts. *Langenbecks Arch Sur* 396:3–11, 2011.
22. Acosta S, Alhadad A, Svensson P, Ekberg O.Epidemiology, risk and prognostic factors in mesenteric venous thrombosis. *British Journal of Surgery* 95(10): 1245-1251, 2008.

23. English W.P, Pearce J.D, Craven T.E, Edwards M.S, Geary R.L, Plonk G.W, Hansen J. Chronic visceral ischemia: symptom-free survival after open surgical repair. *Vasc Endovascular Surg* 38:493–503, 2004.
24. Mastoraki A, Mastoraki S, Tziava E, Touloumi S., Krinos N, Dantias N, Lazaris A, Arkadopoulos N. Mesenteric ischemia: Pathogenesis and challenging diagnostic and therapeutic modalities, *World J Gastrointest Pathophysiol* 15;7(1):125-30, 2016.
25. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *International review of cell and molecular biology* 298, 229-317, 2012.
26. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 81:637-647, 1994.
27. Talbot W. Ischaemia and infarction. *General pathology*.Ed: Pearson Professional Limited. pp. 709-22, 1996
28. Brand JL, Boley JS. Ischemic and vascular lesions of the bowel. *Gastrointestinal Diseases*. pp.1927-31, 1993
29. Carden D.L, Granger D.N. Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury. *The Journal of Pathology* 190(3): 255-66, 2000.
30. Breton AN. (2010).Ischemia and reperfusion injury: When cells almost die. *Veterinary Technician*, <http://www.veterinariamachado.com>.
31. Di Napoli P, Taccardi AA., De Caterina R, Barsotti A. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury: experimental data. *Ital Heart J Suppl* 4:24S-28S, 2002.
32. Patel R, Costanza M, (2017), Mesenteric Ischemia, Chronic, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430748/> StatPearls [Internet].
33. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cirurgica Brasileira* 20(4), 336-34, 2005.
34. Lapchack PH, Kannan L, Ioannou A, Rani P, Karian P, Dalle Lucca JJ, Tsokos GC. Platelets orchestrate remote tissue damage after mesenteric ischemia-reperfusion, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 15;302(8):G888-97, 2012.
35. Yang Q, He GW, Underwood MJ, Yu CM. Cellular and molecular mechanisms of endothelial ischemia/reperfusion injury: perspectives and implications for postischemic myocardial protection. *American journal of translational research* 15;8(2):765-77, 2016.

36. Chen J, Crispín JC, Lucca J., Tsokos GC. A Novel Inhibitor of the Alternative Pathway of Complement Attenuates Intestinal Ischemia/Reperfusion-Induced Injury, *Journal of Surgical Research* 15;167(2):e131-6, 2011.
37. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications* 15;482(3):419-425, 2017.
38. Grotz M, Deitch EA., Ding J, Xu D, Huang Q, Regel G. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure. *Ann. Surg* 229(4):478-86,1999.
39. Lefer AM, Ma XL. Endothelial dysfunction in the splanchnic circulation following ischemia and reperfusion. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 17(Suppl.3):S186-S190, 1991.
40. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson G 3rd, Lefer AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 82(4):1402-12, 1990.
41. Martínez-Revelles S, Caracuel L, Márquez-Martín A, Dantas A, Oliver E, D'Ocon P, Vila E. Increased endothelin-1 vasoconstriction in mesenteric resistance arteries after superior mesenteric ischaemia-reperfusion, *British journal of pharmacology* 165(4):937-50,2012.
42. Fleming SD, Tsokos GC. *The Complement System*. Ed: Janos Szebeni. pp 437-449, Springer, Boston, MA, 2004.
43. Lee H, Green DJ, Lai L, Hou YJ, Jensenius JC, Liu D, Cheong C, Park CG, Zhang M. Early complement factors in the local tissue immunocomplex generated during intestinal ischemia/reperfusion injury. *Molecular immunology* 47(5):972-81,2010.
44. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 94(6):1133-8, 2001.
45. Ruiz-Meana M, García-Dorado D. Pathophysiology of Ischemia-Reperfusion Injury: New Therapeutic Options for Acute Myocardial Infarction. *Revista Española de Cardiología* 62(2):199-209, 2009.
46. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization journal* 5(1):9-19, 2012.
47. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews* 4(8):118–126, 2010.

48. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox biology* 6:524-551, 2015.
49. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews* 94(2):329-54, 2014.
50. Takoudes TG, Haddad J Jr. Evidence of oxygen free radical damage in human otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 120 (5): 638-42, 1999.
51. van den Heijkant TC, Aerts BA, Tejjink JA, Buurman WA, Luyer MD. Challenges in diagnosing mesenteric ischemia. *World journal of gastroenterology* 19(9), 1338–41, 2013.
52. Nam TG. Lipid peroxidation and its toxicological implications, *Toxicological research* 27(1):1–6, 2011.
53. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2014: 360438, 2014.
54. Aktan S, Aykut C, Yegen BC, Ozkutlu U, Okar I, Ercan S. Prostaglandin E2 and leukotriene C4 levels following different reperfusion periods in rat brain correlated with morphological changes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 46(4):287-90, 1992.
55. Casini A, Ferrali M, Pampella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *The American journal of Pathology* 123(3):520-31, 1986.
56. Wu MJ, Chen M, Sang S, Hou LL, Tian ML, Li K, Lv FQ. Protective effects of hydrogen rich water on the intestinal ischemia/reperfusion injury due to intestinal intussusception in a rat model. *Medical Gas Research* 30;7(2):101-106, 2017.
57. Uysal A, Sahna E, Ozguler IM, Burma O, Ilhan N. Effects of apocynin, an NADPH oxidase inhibitor, on levels of ADMA, MPO, iNOS and TLR4 induced by myocardial ischemia reperfusion. *Perfusion* 30(6): 472-477, 2015.
58. Townsenda DM, Tewa KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother* 57(3-4): 145–155, 2003.
59. Simioni C, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, Sacchetti G, Gonelli A, Neri, LM. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget* 30;9(24):17181-17198, 2018.

60. Rahal A, Kumar A, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int* 2014;761264, 2014.
61. Darkovska-Serafimovska M, Janevik-Ivanovska E, Djorgoski I, Arsova-Saradinovska Z, Zdravkovska M, Balkanov T, Ugresic N. Radiolabeled tirofiban - a potential radiopharmaceutical for detection of deep venous thrombosis, *Drug design development and therapy* 21;10:2989-2996, 2016.
62. Haqqani OP, Iafrazi MD, Freedman JE. *Pharmacology of Antithrombotic Drugs, Vascular Medicine: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. 2nd Edition. Pp 94-109, WB Saunders, Bostan, 94-109, 2013.
63. Giordano A, D'Angelillo A, Romano S, D'Arrigo P, Corcione N, Bisogni R, Messina S., Polimeno M, Pepino P, Ferraro P, Romano M.F. Tirofiban induces VEGF production and stimulates migration and proliferation of endothelial cells, *Vascular Pharmacology* 61(2-3):63-71, 2014.
64. Hashemzadeh M, Furukawa M, Goldsberry S, Movahed MR. Chemical structures and mode of action of intravenous glycoprotein IIb/IIIa receptor blockers: A review, *Experimental and clinical cardiology* 13(4):192-7, 2008.
65. KL, Hsu JT, Hsiao JF. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Inhibitor Tirofiban Ameliorates Cardiac Reperfusion Injury. *Int Heart J* 56(3): 335- 340, 2015.
66. Hierholzer C, Kalff JC, Audolfsson G, Billiar TR, Tweardy DJ, Bauer AJ. Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 68(9):1244-54, 1999.
67. Aykac G, Uysal M, Yalan AS, et al. The effects of chronic ethanol injection on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 36: 71-76, 1985.
68. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 78: 206- 209, 1982.
69. Tóth Š, Jonecová Z, Čurgali K, Maretta M, Šoltés J, Švaňa M, Kalpadikis T, Caprnda M, Adamek M, Rodrigo L, Kruzliak P. Quercetin attenuates the ischemia reperfusion induced COX-2 and MPO expression in the small intestine mucosa. *Biomed Pharmacother* 95: 346-354, 2017.

70. Periyah MH, Halim AS, Mat Saad AZ. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2011(4): 319-32, 2017.
71. Dong W, Chen YD, Qian G, Guo JC, Qi GX, Yang M. The prospective register study of domestic tirofiban for clinical application in acute coronary syndrome. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 52: 815-818, 2013.
72. Gonzalez LM, Moeser AJ, Blikslager AT. Animal models of ischemia-reperfusion-induced intestinal injury: progress and promise for translational research. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 308(2): G63-75, 2015.



7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 03.02.2016
TOPLANTI NO : 2016/02

- 11- Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2016-13-03/02 Protokol no'lu "İnce Bağırsak İskemi Reperfüzyon Hasarında Tirofibanın Etkilerinin İncelenmesi" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. K. Varım NUMANOĞLU
Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Başkanı

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sümeyra ERCAN
Mail : sumeyra303@gmail.com
Doğum Tarihi : 26.02.1990

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Ankara Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans	Fizyoloji	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi	2019
Doktora			

Deneyimler

- Alparslan Anadolu lisesi, Biyoloji öğretmeni (2016-2017)
- Sınav lisesi, Biyoloji öğretmeni (2017-2018)
- Özel Mektebim Okulları, Biyoloji Öğretmeni (2018 -)

Yayınlar

İnce Bağırsak İskemi Reperfüzyon Hasarında Tirofibanın Etkilerinin İncelenmesi.
Batı Karadeniz Tıp Dergisi
DOI: 10.29058 / mjwbs.2018.1.2

Sertifikalar

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası