

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Yrd.Doç.Dr.Mustafa İNAN

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN İNCE BAĞIRSAK  
İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA CURCUMİN'İN  
ETKİNLİĞİ**

**(Uzmanlık Tezi)**

**Dr. Turan CEYLAN**

EDİRNE - 2006

Cerrahi sanatını bana öğreten Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı hocam, Sayın Prof. Dr. Mehmet PUL'a, tez yazımımın her aşamasında bilgi ve deneyimini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr Mustafa İNAN'a, yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Şemsi Altaner ve Kimyager Şentürk ÇİFTÇİ' ye teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>İNCE BAĞIRSAKLARIN EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİ</b> .....	3
<b>İNCE BAĞIRSAKLARIN ANATOMİSİ</b> .....	4
<b>İNCE BAĞIRSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI</b> .....	6
<b>SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN OLUŞUMU</b> .....	8
<b>SERBEST RADİKALLER</b> .....	10
<b>ANTIOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI</b> .....	13
<b>CURCUMİN</b> .....	15
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	18
<b>ANESTEZİ VE CERRAHİ İŞLEMLER</b> .....	18
<b>BİYOKİMYASAL İNCELEME</b> .....	21
<b>HİSTOPATOLOJİK İNCELEME</b> .....	22
<b>İSTATİSTİKSEL İNCELEME</b> .....	23
<b>BULGULAR</b> .....	24
<b>TARTIŞMA</b> .....	32
<b>SONUÇLAR</b> .....	36

<b>ÖZET.....</b>	<b>37</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>41</b>
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>CUR</b>	: Curcumin
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>GPx</b>	: Glutatayon peroksidaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HO•</b>	: Hidroksil radikali
<b>İ/R</b>	: İskemi-reperfüzyon
<b>İP</b>	: İntraperitoneal
<b>KAT</b>	: Katalaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehid
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>O<sub>2</sub>•</b>	: Süperoksit radikali
<b>SMA</b>	: Süperior mezenterik arter
<b>SOD</b>	: Süperoksid dismutaz
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen radikalleri
<b>XD</b>	: Ksantin dehidrogenaz
<b>XO</b>	: Ksantin oksidaz

## GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı cerrahi uygulamalarda sık karşılaşılan bir klinik tablodur. Örneğin invaginasyon, tekrarlayan boğulmuş fitiği olan çocuklar ya da sık brid ileusu atağı geçiren hastalarda olduğu gibi dokulara yeterli miktarda oksijen (O<sub>2</sub>) ve diğer metabolik gereksinimlerin ulaştırılamaması sonucunda oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres çoklu organ yetmezliğine kadar varan ciddi klinik sonuçlara neden olabilir (1). İ/R hasarının mekanizması damarsal endotelial hücre yıkımı, mikrosirkülasyonda dağılım, nötröfillerle ilişkili doku travması ve her üç aşamada ortaya çıkan reaktif oksijen ürünlerinin saldırısı olarak tanımlanabilir (2). Özellikle dokuların beslenmesi ve oksijenizasyonu bozulduktan sonra serbest oksijen radikelleri (SOR) ortaya çıkar. Reperfüzyonu takiben de ortaya çıkan bu SOR sistemik dolaşıma katılarak periferde yıkıcı etkisini gösterir. Bu etkiyi önlemek amacıyla bazı antioksidan ajanlar; C vitamini, E vitamini, mannitol, melatonin, bilirubin, allopurinol, kafeik asit, fenetil ester olup deneysel ve klinik birçok çalışmada kullanılmışlardır (3). İskemik hasarda ve reperfüzyon sonucunda ortaya çıkan yerel ve sistemik etkilerin önlenmesinde antioksidanların kullanımı kabul edilmiş bir uygulamadır.

Curcumin (CUR); biyolojik etkileri son zamanlarda bir çok araştırmacı tarafından *invivo* ve *invitro* çalışmada gösterilmiştir (4). “Curcuma longa” bitkisinin yumrusundan elde edilen, sarı renkte ve oldukça lipofilik bir pigmenttir (5,6). CUR’un antioksidan özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, immunomodulatuvar, antitümoral ve antipsöriyatik etkinliği olduğu bildirilmiştir (7). CUR’un antioksidan etkinliği ile böbrek, kalp, beyin dokusu, karaciğer İ/R hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (6). Ama literatürde CUR’un antioksidan ajan olarak ince bağırsak İ/R modelinde etkisinin ve uygulama biçiminin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda oluşturulan

deneysel ince bağırsak İ/R hasarına CUR'un etkisini araştırmaktır. Bu modelin sonuçlarının değerlendirilmesiyle CUR'un antioksidan olarak bağırsakları oksidatif stresten koruyup korumadığı sorusuna açıklık getirileceği düşünölmektedir.

## **GENEL BİLGİLER**

### **İNCE BAĞIRSAKLARIN EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİ**

İnce bağırsak, intrauterin yaşamın dördüncü haftasında, baş-kuyruk ve lateral kıvrılmalarla, vitellus kesesi dorsal kısmının embriyon içine katılmasıyla meydana gelir. İlkel bağırsak endodermi, bezlerin ve sindirim kanalı epitelinin çoğunun kökenini oluşturur. Sindirim kanalı duvarındaki kas, bağ dokusu ve diğer yapılar ilkel bağırsak kanalı endodermi çevresindeki siplenik mezodermden köken alır (8).

### **Duedonumun Gelişimi**

Duedonum dördüncü haftanın başlarında; ön bağırsak kaudal parçasından, orta bağırsak kranial parçasından ve ilkel bağırsağın bu endoderm kısımları ile ilgili siplenik mezenşiminden köken alarak gelişir. Duedonumun iki parçası tam olarak ana safra kanalı orijininin distaline bağlanır. Ön ve orta bağırsağın bu parçaları hızla büyüdüktan sonra, ventrale doğru çıkıntı yaparak bir halka oluştururlar. Midedeyse; rotasyon yaparken gelişen duedonum halkası da sağa dönüşünü yaparak retroperitoneal bölgedeki yerini alır.

Duedonum lümeni beş ve altıncı haftalarda giderek daralır, epitelinin çoğalması nedeniyle geçici olarak oblitere olur. Normal koşullarda epitel hücrelerinin dejenerasyonu sonucu oluşan vakuoller nedeniyle, embriyonel dönem sonunda yeniden kanalize olur (8).

### **Orta Bağırsak**

Orta bağırsak beş haftalık embriyoda, karın arka duvarına kısa bir mezenterle asılı olarak yolk kesesiyle vitellin kanal veya yolk sapıyla ilişkidir. Erişkin insanda orta bağırsak, koledok kanalının duedonuma açıldığı noktadan başlar ve transvers kolonun 2/3



proksimal ile 1/3 distal parçalarının birleşim yerine kadar devam eder. Orta bağırsağın tüm uzunluğu boyunca süperior mezenterik arter (SMA) ile beslenir. Tüm orta bağırsak dorsal karın duvarına uzun bir dorsal mezenterle asılıdır. SMA'nın üstünde kalan bağırsak segmentine duodonojejunal, altında kalan parçasına çekokolik halka denir. Orta bağırsak gelişimi özellikle proksimal parçada hızlı bir uzama ile meydana gelmektedir. Bağırsak boyunun hızla uzaması yanında karaciğerin de hızla büyümesiyle birlikte karın boşluğu bağırsakların tümünü barındıramaz hale gelir. Bu nedenle bağırsaklar geçici bir süre umblikal kort içinde ekstra-embriyonik çölem boşluğuna doğru fitiklaşır. Buna fizyolojik göbek fitiklaşması adı verilmektedir. Orta bağırsak boyuna uzarken, eş zamanlı olarak SMA eksenine etrafında da döner. Bu rotasyon, saat yönünün tersine 270 derecelik bir dönüştür. Bu dönüşün ilk 90 derecesi fizyolojik fitiklaşma, geri kalan 180 derecesi ise bağırsakların karın içine dönüşleri sırasında meydana gelmektedir (9).

Göbek kordonu içine fitiklaşan bağırsaklar, 10. haftadan itibaren karın boşluğuna geri dönmeye başlar. Proksimal jejunum karın içine ilk olarak geri dönen bağırsak segmentidir. Bu bağırsak segmenti, karın sol üst kadrana yerleşir. Daha sonra geri dönen her bağırsak halkası bir öncekinden daha sağda yer alacak şekilde karın içine yerleşir. Çekum karın içine en son dönen bağırsak segmentidir. Karın içine dönen çekum geçici bir süre karaciğerin sağ lobu altında, karının sağ üst kadranda yer alır. Daha sonra hepatic fleksura ve çıkan kolonu oluşturarak sağ fossa iliakaya yerleşir.

Bağırsakların tespiti mide ve duodonumun rotasyonu, duodonum ve pankreasın sağa itilmesine ve burada kolon tarafından, posterior karın duvarına doğru baskılanmasına neden olur. Komşu periton yaprakları birleşir ve sonra kaybolurlar. Sonuçta duodonumun çoğunluğu ve pankreas başı retroperitoneal olur.

Dorsal mezenterin karın arka duvarına yapışıklığı, bağırsakların karın boşluğuna dönüşünden sonra değişikliğe uğrar. Önceleri, dorsal mezenter orta düzlemdeyken bağırsakların genişlemesi, boyunun artması ve son konumlarını almaları ile mezenterleri, karın arka duvarına doğru itilir. Çıkan kolonun mezenterleri bu duvardaki parietal peritonla birleşir ve kaybolur, sonuçta çıkan kolon da yine retroperitoneal yerleşimli olur (10)

## **İNCE BAĞIRSAKLARIN ANATOMİSİ**

Karın boşluğunun büyük bir kısmını dolduran ve onun içinde oldukça serbest hareketli olan ince bağırsak pilordan ileoçekal bileşkeye kadar uzanan sindirim kanalının en uzun bölümünü oluşturur. Yaklaşık 5-7 m uzunluğunda olan ince bağırsak duodonum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölümde incelenir (11).

## **Duedonum**

C şeklinde lümenli bir organ olan duodenum pilordan *flexura duodenojejunalis* (L<sub>2</sub> hizasında ve orta hattın solunda) kadar yaklaşık 30 cm uzunluğundadır. L<sub>1</sub> hizasında orta hattın sağından başlayıp, önce arka ve yukarı doğru, sonra da L<sub>3</sub>-L<sub>4</sub> (göbek) düzeyine kadar alçalan bir yol izler (12). Duodenum dört kısımda incelenir.

*Pars superior*, duodenumun ilk bölümü olup intraperitonealdır ve klinikte *bulbus* olarak isimlendirilir.

*Pars descendens*, eklenti salgı organlarının (karaciğer ve pankreas) döküldüğü bölümdür (*papilla duodeni*). Retroperitoneal yerleşimlidir.

*Pars horizontalis*, retroperitoneal konumda ve L<sub>3</sub> düzeyinde horizontal olarak yer alır.

*Pars ascendens*, *flexura duodenojejunalis*le sonlanan duodenumun son kısmıdır. *Ligamentum suspensorium* (Treitz bağı) ile karın arka duvarına asılır (13).

## **Jejunum ve İleum**

Jejunum ve ileum *flexura duodenojejunalis* ile *ostium ileocaecale* arasındaki ince bağırsak bölümüdür. Makroskopik görünümüleriyle jejunum ve ileumu ayıran kesin bir sınır yoktur. Ancak bir kural olarak jejunumun karın sol alt tarafında, ileumun ise karın sağ alt tarafında yer aldığı söylenmektedir. Tüm jejunum, ileum ve bunların mezenterleri visseral peritonla örtülüdür. İnce bağırsak mezenterisi sol üstte duodenojejunal bileşkedenden (Treitz bağı, ikinci bel omuru düzeyi) sağ altta ileoçekal bileşkeye uzanır ve boyu yaklaşık 15 cm'dir. Bir yelpaze şeklinde açılarak, ortalama altı metre uzunluğundaki ince bağırsağı karın arka duvarına asar. Peritondan oluşan yapraklar arasında bağırsakların arterleri, venleri, lenfatikleri, lenf ganglionları, visseral sinirleri ve değişik miktarlarda yağ dokusu bulunur (13,14).

## **İnce Bağırsağın Arteriyel Kanlanması**

Çölyak eksenden beslenen duodenum dışında tüm ince bağırsağın arteriyel beslenmesi SMA'dan sağlanır. SMA'dan çıkan jejunal ve ileal dallar kendi aralarında arklar oluştururlar. Bu arklardan çıkan vasa rektalar bağırsak duvarına mezenterik kenardan girerek kanlanmayı sağlarlar. Vasa rektalar arasında kolleteral dallar da bulunmaktadır. Bağırsak duvarını delerek içeriye giren arterler submukozada güçlü bir arteriyel ağ oluştururlar. Venler arterlere eşlik ederler ve üst mezenter ven üzerinden vena portaya dökülürler (14).

İnce bağırsakların kas ve salgı bezlerinin uyarılması parasempatik, baskılanması sempatik sinir sistemi yoluyla gerçekleştirilir. Birinci nöronlar parasempatik sinir sistemi

içinde beyin sapında, sempatik sinir sisteminde ise *trunkus sympathicusda* bulunmaktadır. Sempatik sinir sistemin ikinci nöronları *aorta abdominalisin* önünde bulunan *ganglion coeliacumda* bulunmaktadır. Parasempatik sistemin ikinci nöronları ise bağırsak duvarında (*plexus myentericus*: Aurbach, *plexus submukoza*: Meissner) yer almaktadır (13).

## İNCE BAĞIRSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin yapısal atomlarını oluşturur. Organik moleküllerdeki temel görevinin yanı sıra, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle O<sub>2</sub> hayati bir öneme sahiptir. Çok sayıda oksidaz ve katalaz (KAT) enzimleri O<sub>2</sub>'yi substrat olarak kullanıp organik moleküllerin yapılarına katılımını katalizler. Canlı dokuları, kendi yapılarını oluşturan elementlerden sadece O<sub>2</sub> enzimatik olarak kullanabilir. Bu nedenle O<sub>2</sub>'nin yapısal görevi dışında enerji metabolizmasında olduğu gibi fonksiyonel görevleri de vardır (15).

İskemi, dokunun O<sub>2</sub> ve yaşam için gerekli diğer maddelere olan ihtiyacı ile sunumu arasındaki dengesizlik halidir (16). İskemi sırasında hücrel enerji depolarının tükenmesi sonucunda iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zinciri başlamaktadır. İskemik dokunun reperfüzyonu yani kesilen kan akımının tekrar sağlanması durumunda bir yandan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri dönmesi sağlanırken, diğer yandan da ani ve fazla miktardaki O<sub>2</sub> radikalleri ile daha ileri hasarlara yol açılmaktadır (17).

İnce bağırsak İ/R hasarı ciddi ve sık görülen klinik bir durum olup bir çok etyolojik etkenin neden olduğu SMA'nın tıkanmasının sonucudur. Bu durum şiddetli yerel 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, boğulmuş kasık fıtığı, tümör, fibrotik bant gibi damarlara dışarıdan bası yapan nedenlerle ince bağırsak iskemisi oluşmaktadır. Ayrıca sistemik hipertansiyon, vasokonstrüksiyon, kan viskozite bozukluğu, ateroskleroz ve hipotansiyon gibi damar içi tıkanıklık oluşturmeyen nedenlerde ince bağırsak iskemisine yol açmaktadır (18).

Etyolojik neden ne olursa olsun akut bağırsak iskemisinin prognozu kötü olup mortalite oranı %25-75 arasındadır. Bütünüyle mezenterik kan akımına bağlı olan ince bağırsaklar bazı bölgelerinde karın arka duvarıyla damarsal bağlantıları olan kalın bağırsağa göre iskemiden daha çok etkilenir. Ancak yakın düzeylerdeki iskeminin oluşturduğu hasar, hızla gelişen ikincil bakteriyel yayılmaya bağlı olarak kalın bağırsakta daha fazladır. Kalın

bağırsak tutulumunda iskemik zedelenme daha çok inen kolon ve rektumun orta kısmında görülür. Çünkü bu alanlar superior mezenterik, inferior mezenterik ve hipogastrik arter sistemlerinden en az beslenen bölgelerdir (19). İnce bağırsakların mukozası gelen kan akımının yaklaşık yarısını alırken, bağırsak duvar kalınlığının yarısını oluşturan muskularis propriya toplam kan akımının %10-15'ini almaktadır. Bu nedenle ince bağırsakların mukozaya ve submukozaları iskemiye kalın bağırsaklara oranla daha duyarlıdır. Arteriyel tıkanmada, komşu normal bağırsak dokusundan keskin bir sınırla ayrılma söz konusudur. Venöz tıkanmada ise sınırlar belirgin değildir (20).

İskeminin şiddetine göre bağırsak duvarındaki hasarın düzeyi tüm bağırsak tabakalarını içeren transmural enfarktüstün, kas tabakasını sağlam bırakarak sadece mukozaya ve submukozayı etkileyen mural enfarktüse, muskularis mukozadan daha derine uzanmayan mukozal enfarktüse kadar değişir. İskemik hasar genelde içeride mukozadan başlayıp dış yüzeye doğru ilerler. Histopatolojik olarak ödem, villuslarda yassılaşıma, interstisyel kanama, nekroz ve mukozanın parçalanması gözlenir. Bağırsak bakterileri 24 saat içinde gangrene ya da perforasyona neden olurlar. İskemi mural veya mukozal tabakayı etkilediğinde bu bölgelerde özgün çok odaklı tutulum gözlenir. Bağırsak mukozasında kanamalı ve ödemli bir kalınlaşma, bazen de yüzeysel ülserasyonlar görülür (21). Mukozaya tabanındaki hasar ise proteolitik enzimlerin, bakterilerin ve endotoksinlerin bağırsak lümeninden sistemik dolaşıma katılmasına yol açar (22).

Klinik tabloda bağırsak kan akımının azalmasından hemen sonra sıklıkla şiddetli ve aralıklı karın ağrısı gelişir. Dışkı çıkışı yavaşlar, bazen tabloya rektal kanama ve kusma eşlik edebilir. Genellikle şiddetli ağrı atakları arasında ağrısız dönemler de vardır ve bu sırada fizik bakıda kayda değer bulgular görülmez. Dinlemekle bağırsak seslerinin arttığı duyulur. İlerleyen saatlerde karın ağrısının şiddeti azalır, ancak sürekli ve yaygın bir hal alır. Fizik bakıda karın da yaygın hassasiyet vardır. Bu evrede dinlemekle bağırsak sesleri duyulmaz. Bağırsakta nekroz gelişmesiyle birlikte sıvı, protein ve elektrolit kaybı başlar (23). Yaygın peritonit tablosu gelişir. Sıvı ve elektrolit dengesindeki bozukluk sonucu hastanın genel durumu iyice kötüleşir ve şok dönemine girilir. Tedavi edilmediği takdirde ölüm oranı oldukça yüksektir (19,24).

Sıklıkla bağırsağın neovaskülarizasyonu için bir kaç hafta gereklidir. Bu süre genellikle sürgün ve malabsorbsiyonla birlikte geçer. Sıklıkla mukozal ülserasyon ve lümen içine kanama görülür ki, bu durumda nadiren yaşamı tehdit eden kan transfüzyonuna ihtiyaç olur. Mukozal lezyonların bundan sonraki fazı intestinal strüktür gelişmesi ve bağırsaklarda mekanik tıkanıklıktır (25).

Bu hastalıklardaki yüksek mortalite ve morbidite nedeniyle, araştırmacılar dikkatlerini doku nekrozundan korunmak ve organ fonksiyonlarını geri kazanmak için iskemik dokunun kan akımını onarma üzerine yoğunlaştırmışlardır. Ancak son zamanlarda, iskemi döneminden sonra kan akımı onarımının, yani reperfüzyonun, iskemik organları geç hücrenel nekroz riskine maruz bıraktığı ve bu nedenle fonksiyonun geri kazanımını sınırladığı ortaya çıkmıştır. Reperfüzyon hasarı geçici intestinal iskemi döneminden sonra ortaya çıkmakta ve hipoksinin meydana getirdiği doku tahribatını artırmaktadır (16).

Kan damarlarının iç yüzeyini döşeyen endotel hücreleri I/R'ın zararlı etkilerine karşı oldukça hassas bir yapıya sahiptirler. Uzamış hipoksinin membran potansiyelini değiştirdiği, iyon dağılımını bozduğu, hücre içi hacmi arttırıp membran akışkanlığını azalttığı ve endotel hücrelerinin yapısal düzenini bozduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu değişikliklere enerji depolarının tükenmesi, prostasiklin, nitrik oksit (NO) gibi bazı biyoaktif ajanların üretiminde azalma ve endotelin, tromboksan A<sub>2</sub> üretiminde artma eşlik eder. Benzer şekilde hipoksik endotel hücrelerinde bazı genler uyarılırken (örn. adezyon molekülleri ve sitokinler), diğerleri (örn. nitrik oksit sentaz ve trombomodulin) baskılanır. Endotel hücrelerinin hipoksiye yanıtları reperfüzyon ile arttırılır. Sonuç olarak reperfüzyon sonrası erken dönemde, belirgin yapısal hasarlanma olmaksızın endotel hücre işlevi önemli ölçüde bozular. Uzamış iskemi sonrası reperfüzyona eşlik eden morfolojik değişiklikler, hücre şişmesi, pinositoz veziküllerinin kaybı, endotel hücrelerinin alttaki bazal membrandan ayrışması ve endotel hücre yüzeyine aktive lökositlerin (öncelikle nötrofiller) yapışmasıdır. Reperfüzyon sırasında aniden ve çok miktarda O<sub>2</sub> sisteme katılır. Reperfüzyon sonrası erken dönemde gözlenen en belirgin değişiklikler reaktif oksijen metabolitlerinde artış ve NO azalmadır (25).

## **SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN OLUşUMU**

Dokuya gelen kan akımı kesildiğinde dokunun oksijenlenmesi ve aerobik metabolizma ile sağlanan enerji üretimi bozular. Enerji tüketimi devam ettiği için anaerobik metabolizma egemen olur ve laktik asit birikir. Hipoksi sırasında adenzin trifosfat (ATP) kullanılması devam ettiği halde üretimi düşer. Enerjiden zengin fosfatlar ATP'den adenzin monofosfata indirgenir ve ardından adenzine redükte edilir. Adenzin ise hücre dışı aralığa difüze olarak hipoksantine indirgenir. İskemi sırasında dokuda aşırı miktarda hipoksantin birikir. Normal koşullarda hipoksantin, nikotinamid adenindinükleotid varlığında kıasantin dehidrogenaz (XD) enzimi aracılığı ile ürik asit çevrilir. Bu tepkimede nikotinamid adenindinükleotid okside formu elektron alıcısıdır. İskemi sırasında hücrenel enerji bozulduğu için hücrenin kalsiyum

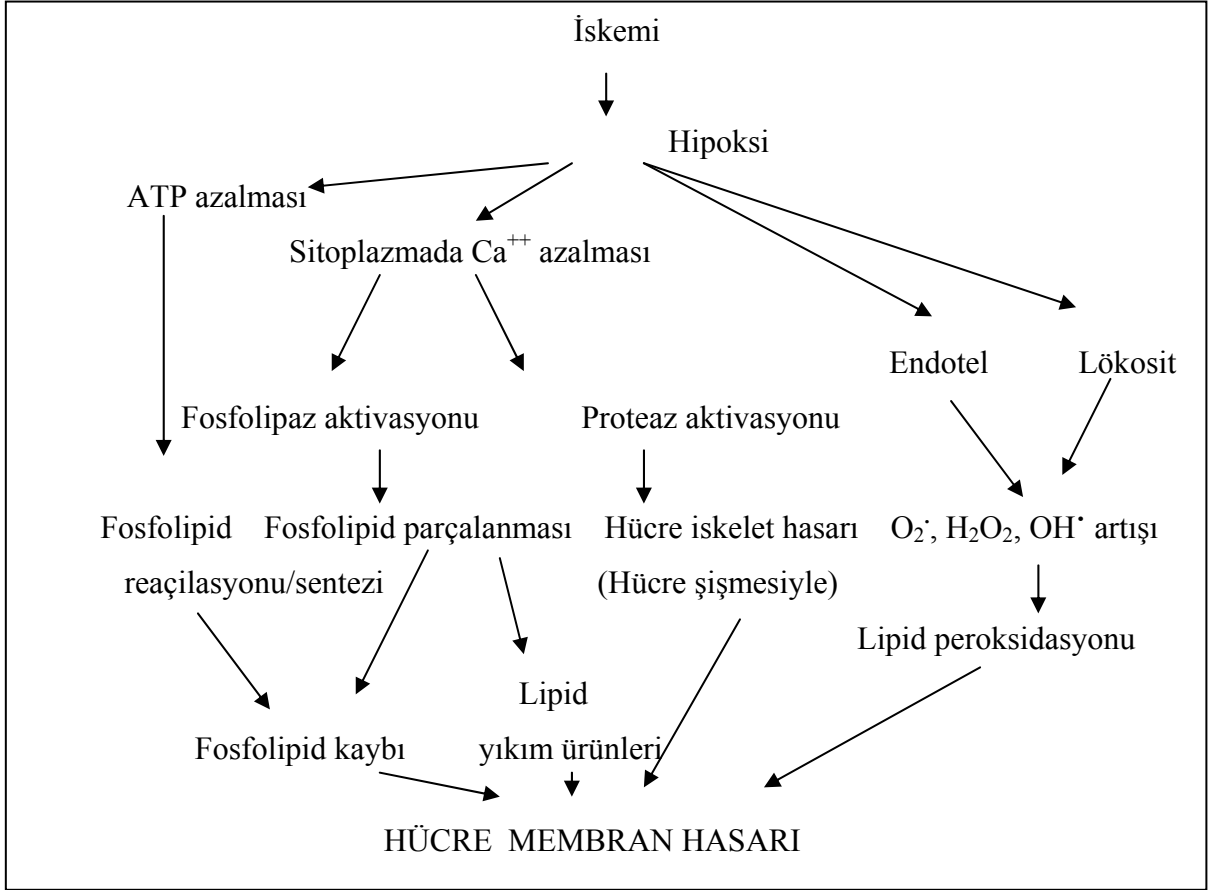
(Ca<sup>++</sup>) dağılımını dengeleme yeteneği de bozulur. Hücre içi Ca<sup>++</sup> birikimi olur. Bu olay XD'1, kisansin oksidaz (XO) formuna dönüşmesine neden olur (26). Vücuttaki XD ve XO'un en zengin kaynağı bağırsaklardır. Bu enzimin en fazla bağırsak duvarında villus tabakasında olduğu gösterilmiştir (27).

Reperfüzyon sırasında aniden ve çok miktarda O<sub>2</sub> sisteme katılır. Hipoksantin XO katalizörlüğü altında ürik aside dönüşür. Elektronlar moleküler O<sub>2</sub> aktarılır, böylece O<sub>2</sub> süperoksid radikaline (O<sub>2</sub><sup>·</sup>) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'e dönüşmektedir. Ayrıca süperoksid anyon radikali endotel hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>) ve hipoklorit asit (HOCL) gibi diğer O<sub>2</sub> metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur (28).

Reperfüzyon sırasında, hücre içine Ca<sup>++</sup> akışının artması ya da endojen fosfolipaz A<sub>2</sub> inhibitörlerinin inaktivasyonu, fosfolipaz A<sub>2</sub> aktivasyonuna neden olur. Fosfolipaz A<sub>2</sub>, membrandaki fosfolipitlerden yağ asitlerini ayırarak, lesitinden lisesitin, sefalinden lizefalin ve fosfatidilkolinden lizofosfatidilkolin oluşturan hidrolitik bir enzimdir. Bu ürünlerin çoğu iskemi ile hasarlanmış doku için toksiktir, özellikle lizofosfatidilkolin konsantrasyonu reperfüzyon sonrası fosfolipaz aktivasyonundaki artışla paralellik gösterir, yüksek konsantrasyonlarda oldukça sitotoksiktir ve iskemi sonrası oluşan aşırı geçirgenliği artırır (29).

Ca<sup>++</sup> iyonları XD'in XO'a dönüşümünde gereklidir ve reperfüzyon sırasında serbest Ca<sup>++</sup> belirgin bir şekilde yükselmektedir, bu da fosfolipaz A<sub>2</sub>'nin aktivasyonunda önemli bir basamaktır. Fosfolipaz A<sub>2</sub> aktivasyonu ile siklooksijenaz yolu prostoglandinler, lipooksijenaz yolu ile lökotrien B<sub>4</sub> ve diğer araşidonik asit metaboliti olan tromboksan A<sub>2</sub> oluşur. Tromboksan A<sub>2</sub>, lökotrien B<sub>4</sub> gibi güçlü bir kemotaktik ajanlardır ve elastaz gibi proteolitik enzimleri artırarak, O<sub>2</sub> radikallerinin artışına neden olurlar. Membran fosfolipitlerinin, aktive olan fosfolipaz tarafından parçalanması sonucu ise hücre bütünlüğü bozulur. Ayrıca reperfüze olan dokuda nötrofil aktivasyonu ve birikimine neden olur (3).

İskemi sonrasında damar endotelinin hasar görmesi ile nötrofil ve trombosit aktivasyonu meydana gelmektedir. Bunun yanısıra iskemik alanda ortaya çıkan kemotaktik faktörlerden kompleman 3a ve kompleman 5a nötrofillerin bölgeye göç etmesine neden olur. İ/R alanına gelen nötrofiller, bu bölgede SOR üretirler. Ortaya çıkan SOR antiproteazları inaktive eder. Sonuçta, lizozomlardan proteolitik enzimler salınarak membran hasarı oluşur (Şekil 1). Ayrıca nötrofiller de uyarılmaları sonucunda esnek yapılarını kaybederek mikrosirkülasyonda kalır ve embolizasyona neden olurlar (30).



**Şekil 1. İskemide membran hasarı (30)**

### SERBEST RADİKALLER

Atomlar bir çekirdek içerirler ve elektronlar bu çekirdek etrafında genellikle çiftler halinde hareket ederler. Serbest radikal, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren herhangi bir atom veya moleküldür. Bu moleküller eşlenmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif ya da negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde bulunabilirler (31).

### Süper Oksit Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller  $O_2$ 'den oluşan radikallerdir. SOR biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler  $O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$  ve geçiş metallerinin iyonlarıdır.  $O_2$ 'nin elektron dağılımında iki tanesi eşlenmemiştir. Bu nedenle  $O_2$  bazen bir diradikal olarak da değerlendirilir.  $O_2$ 'nin bu özelliği onu diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girmesine neden olur (32). Tablo 1'de hücrede oluşan serbest radikaller gösterilmiştir.

1-Süperoksit radikali: Hemen tüm aerobik hücrelerde O<sub>2</sub>' nin bir elektron olarak indirgenmesi sonucu, serbest O<sub>2</sub>' meydana gelir.

Süperoksit radikali direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. O<sub>2</sub>' fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Fagositöz görevi yapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilirler (33).

2-Hidrojen peroksit: Moleküler O<sub>2</sub>'nin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi meydana getirir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. KAT enzimi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> ye yıkılır.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif O<sub>2</sub> türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest radikal olan OH' radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Buna Haber-Weiss tepkimesi adı verilir. Haber-Weiss tepkimesi, ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz olarak gerçekleşir. Fakat katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Bu tepkime aşağıdaki gibi ilerler.



Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu tepkimede önce ferri demir (Fe<sup>3+</sup>) süperoksit tarafından ferro demire (Fe<sup>2+</sup>) indirgenir. Sonra ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den hidroksil radikalleri üretilir. Bu tepkime aşağıdaki gibi ilerler. Görüldüğü gibi süperoksit, hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. İndirgenmiş geçiş metalleri (demir ve bakır) okside şekillerine göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile birlikte daha reaktiftirler (34),



3-Hidroksil Radikali: Hidroksil radikali H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda OH' oluşur. OH' yarılanma ömrü çok kısa olan son derece reaktif bir O<sub>2</sub> radikali (35).

4-Nitrik Oksit: NO hemostatik olaylarda ve organizmanın savunma mekanizmalarında otokrin ve parakrin etkisi olan bir araçtır. Makrofajlar, nötrofiller, hepatositler ve endotel



hücreler tarafından üretilir. En önemli fonksiyonu vücudun çeşitli dokularında interlökin-1 ve sitokinlerin etkilerine paralel bir işlev görmesidir (36). Tümör hücrelerini, parazitleri, bakteri ve mantar hücrelerini öldürmede görev alır. Ancak yüksek seviyelerde normal hücreler üzerinde toksik etkisi vardır.  $O_2^-$  anyonları ile inaktifleşir ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile korunur. Bu bakımdan serbest radikal tutucu olarak kabul edilse de uygun ortamlarda süperoksit ile güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Düşük pH'da durağan değildir. Spontan olarak parçalanarak hidroksil radikali ve nitrojen oksit oluşur (17).

**Tablo 1. Serbest radikaller ve diğer reaktif  $O_2$  bileşikleri (37)**

Serbest radikaller	Radikal olmayan reaktif $O_2$ bileşikleri	SOR etkisi sonucu oluşan radikaller
Süperoksit ( $O_2^-$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )	Karbon merkezli radikaller ( $R^\cdot$ )
Hidroksil ( $OH^\cdot$ )	Singlet oksijen ( $^1O_2$ )	Peroksil/Karboksil ( $ROO^\cdot$ )
Hidroperoksil ( $HO_2^\cdot$ )	Hipokloröz asit ( $HOCl$ )	Alkoksil ( $RO^\cdot$ )
Nitrik oksit ( $NO^\cdot$ )	Peroksinitrit ( $ONOO^\cdot$ )	Thiyl radikaller ( $RS^\cdot$ )
Azot dioksit ( $NO_2^\cdot$ )	Ozon ( $O_3$ )	
	Lipid hidroperoksit ( $LOOH$ )	

### Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, deoksinükleik asit (DNA), karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklere etki ederler.

1-Membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu): Biyolojik moleküllerin hepsi serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler serbest radikal hasarından en fazla etkilenen biyomoleküllerdir. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin ve kolesterolün oksidatif hasarlanmasına lipit peroksidasyonu denilmektedir. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.

Lipit peroksidasyonu üç basamakta meydana gelmektedir. Birinci basamakta; çoklu doymamış yağ asitlerinin metil grubuna serbest radikal saldırısı ile lipit molekülündeki alkilik hidrojen kopartılır ve eş zamanlı alkil radikali oluşur. Alkil radikali  $O_2$ 'yle tepkimeye girerek lipit peroksidasyonunu başlatabilen  $OH^\cdot$  radikali oluşturur. İkinci aşamada; radikal membran lipitlerinin moleküler  $O_2$ 'yle reaksiyona girmesi ile lipit peroksit radikalleri oluşur. Lipit peroksit radikalleri de hücre membranının da bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek

yeni lipit radikallerini sağlamakta ve kendileri de açığa çıkan H atomlarını alarak lipit peroksitlerine dönüşmektedir. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA) proteinlerin amino grubuna, fosfolipitlere veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir. Sonuçta zincirler arası reaksiyon durmakta ve radikal olmayan ürün oluşmaktadır (38). MDA, yağ asidi oksidasyonunun özgün ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle benzerlik gösterir (39).

2-Proteinlere etkileri: Serbest radikallerin çift bağ ve tiyol içeren moleküllerle reaktivitesinin yüksek olmasından dolayı; triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein aminoasitleri serbest radikal hasarına duyarlıdır. Yapısında veya katalitik aktivitesinde bu aminoasitler yer alan enzimler radikal etkisi ile inhibe olurlar. Ayrıca radikal etkisi ile sitoplazmik ve membran proteinlerinde çapraz bağlanmalar ve agregat oluşumu görülür. Normalde modifikasyonlara dirençli olan prolin, lizin gibi aminoasitler,  $O_2$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^*$  radikallerinin etkisi ile nonenzimatik olarak hidroksilasyona uğrayabilirler (40).

3-Karbonhidratlara etkileri: Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu  $H_2O_2$ , okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler, DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanabilir ve çapraz bağ oluşturabilirler. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asitin serbest radikallerle etkileşerek bağ dokusunun durağanlığının bozulmasına ve sıvının akışkanlığının kaybına neden olur (40).

4-Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: İyonize edici serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksiste de hem nükleobaz modifikasyonuna hem de DNA'nın çift sarmal yapısının bozulmasına bağlıdır (41).

## **ANTIOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI**

Serbest radikaller, organizmada normal metabolik yolların işleyişleri sırasında sürekli oluşan ve endojen antioksidanlar adı verilen moleküller tarafından etkisizleştirilen maddelerdir. Oksidan moleküller belirli düzeyde kaldıkları sürece, organizmanın yabancı maddelere ve infeksiyon ajanlarına karşı önemli savunma molekülleridir. Ancak belirli düzeyin üzerinde oluştuklarında veya antioksidan sistemin yetersizliğinde serbest radikal molekülleri, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asitler ve enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (42).

Hücrede oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonu özellikle daha çok enzimatik mekanizmalarla gerçekleşir. Antioksidan savunmanın önemli bir kısmını  $O_2^*$  radikalini ve

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> temizleyen özel enzimler oluşturur. Bunlar SOD, KAT ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir (43).

### **Süperoksid Dismutaz**

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir. SOD, O<sub>2</sub><sup>·</sup> radikalini metabolize eder ve daha zararlı olan hidroksil radikalinin oluşumunu engeller. O<sub>2</sub><sup>·</sup> radikalini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye ve moleküler O<sub>2</sub>'ye dönüştürür. Tepkime ürünü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından inhibisyona uğrar (32).

Enzim metalloprotein yapısındadır. Ökaryotik hücrelerde dört farklı şekli bulunmaktadır. O<sub>2</sub><sup>·</sup> molekülleri ile spontan olarak dismutasyona uğrayabilir. Sulu ortamda kendiliğinden ve hızlı bir şekilde dismutasyona uğrayarak O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturur. SOD varlığı dismutasyon hızını 10<sup>4</sup> kat artırır. Böylece O<sub>2</sub><sup>·</sup> radikalinin potansiyel substratla reaksiyona girmesi ve OH<sup>·</sup> gibi daha toksik ürünlerin oluşması SOD tarafından önlenir. Organizmada oksidatif stresin ve dokuda pO<sub>2</sub>'nin arttığı durumlarda SOD enzim aktivitesi artmaktadır.

Hidrojen peroksit, Fenton reaksiyonu veya Haber-Weiss reaksiyonları ile çok daha reaktif olan OH<sup>·</sup> radikali oluşturabilir. Oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e karşı ikinci savunma KAT ve GPx enzimleriyle sağlanır (42).

### **Katalaz**

KAT, konsantrasyonu değişmekle birlikte tüm hücrelerde bulunan yapısında bir hemoprotein içeren enzimdir. % 20 oranında sitoplazma da, %80 oranında peroksizomlarda bulunur. Tetramerik yapıda ve her bir aktif merkezde bir hem grubu içerir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyonla 2 molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (39).

Katalaz reaksiyon sırasında bir molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye e<sup>-</sup> vericisi, diğerini de elektron alıcısı olarak kullanır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretim hızı arttıkça KAT aktivitesi de artar. Böylece aşırı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi sırasında glutatyon tükenmesi önlenmiş olur. KAT O<sub>2</sub><sup>·</sup> tarafından inhibe edilir (44)

### **Glutatyon Peroksidaz**

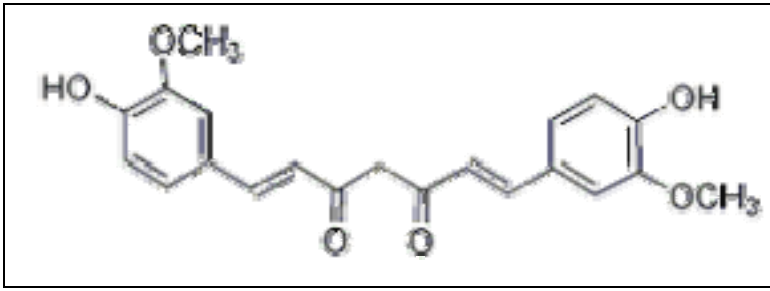
Glutatyon sistemi, oksidatif hasarın azaltılmasında rol oynayan, serbest radikallerin hücre içinde detoksifikasyonuna neden olan ve lipid peroksidasyonunu önleyen en önemli endojen mekanizmalardandır. İntrasellüler glutatyon olarak bulunan en güçlü tiol bileşiğidir.

GPx enzimi, glutatyondan ayırarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya dönüştürür, selenyuma bağlı sitoplazmik bir enzimdir, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi detoksifiye ederek su ve okside glutatyona dönüştürür.

GPx'in antioksidan aktivitesini göstermesi, hücre içinde yeterli konsantrasyonda glutatyon redüktaz, GSH ve nikotinamid adenin dinükleotid bulunmasına bağlıdır (45).

## CURCUMİN

Curcuma Longa, Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan CUR (difuruloylmetan) portakal sarısı rengi ile gıda boyası olarak da kullanılmaktadır. Çok iyi bilinen ve sıklıkla kullanılan köri baharatının ana komponentidir. Kimyasal yapısı Şekil 2'de gösterilmiştir. CUR yerel paramedikal kullanımı son yıllarda bir çok araştırmacı için zihinlerinde yanıt bekleyen sorular oluşturmuştur (46). CUR'un antioksidan özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, immunomodulatuvar, antitümoral ve antipsöriyatik etkinliği gösterilmiştir (7).



Şekil 2. Curcuminin kimyasal yapısı (5)

## Metabolizması

Curcumin suda çözünmez, hücre membranının hidrofobik ceplerinde lokalize olur. CUR moleküler özellikleri nedeniyle hücrelere hızlıca penetre olmakta, plazma membranından kolayca geçerek sitozole girmektedir. Stoplazmada biriken CUR çekirdeğe girmez. Lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı, endoplazmik retikulum ve çekirdek kılıfı gibi membranöz yapıların içinde yoğunlaşmaktadır. CUR dolaşımında çok düşük düzeyde veya hiç bulunmamaktadır (47).

Curcumin bağırsaklardan emilimi sırasında renksiz ve daha az polar olan tetrahydrocurcumin adlı metabolitine dönüşmektedir. Tetrahydrocurcumin bağırsaklardan emilerek tüm dokulara dağılmaktadır. Tetrahydrocurcumin karaciğerde glukuronlanarak safra yolu ile atılmaktadır (48). Ağızdan alınan CUR'in yaklaşık % 75 i feçesle, geri kalan kısmı idrarla atılmaktadır. İntraperitoneal uygulamalarda da vücuttan atılımı benzerdir, ancak % 11'i dekonjuge olarak safra ile atılmaktadır (49)

### **Moleküler Özellikleri**

Curcuminler genel olarak doğal ve yapay curcuminler şeklinde sınıflandırılmaktadır. CUR, demetoksicurcumin, bisdimetoksicurcumin doğal olarak bulunan bileşiklerdir (50). Suda erimez, etanol, keton, asetik asit ve kloroform gibi maddelerle çözünür (51). Ticari CUR aseton içinde eritildikten sonra kromatografik yöntemle subfraksiyonlara ayrılarak %77 CUR (CUR I), %17 dimetoksicurcumin (CUR II) ve %3 bisdemetoksicurcumin (CUR III) izole edilir (52).

Yapılan araştırmalar sonucu doğal CUR'un kimyasal koruyucu, antioksidan ve benzeri etkilerinin kanıtlanması ile araştırmacılar benzer yapıda ancak farklı içerikteki sentetik curcuminlere yönelmişlerdir (53).

### **Curcuminin Antioksidan Etkileri**

Curcuminin antioksidan özellikleri böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğer I/R hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (6). CUR antioksidan etkinliğini XD'nin XO ya dönüşümünün önlenmesi, lipit peroksidasyonu oluşumunun engellenmesi ve iskemik ortamda bulunan SOR'ları toplayarak gösterir (7). CUR KAT, SOD ve GPx enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipitlerin peroksidasyonunu azaltır (51).

Curcuminlerin yapısındaki fenolik ve metoksi gruplarının serbest radikallerle reaksiyona girmesiyle fenoksil radikali oluşmaktadır (54). Ayrıca CUR'in primer metaboliti tetrahidrocurcumin, antioksidan  $\beta$  diketo etki ile birlikte 2 karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağınyı yıkararak antioksidan etki yapar. Bu antioksidan etkileriyle SOR oluşumunu doğrudan veya XD/XO dönüşümünün inhibisyonu ile dolaylı etkileyerek olmaktadır. Ancak CUR'un diğer hasar veren hidroksil radikalleri veya peroksinitrit üzerindeki etkisi henüz aydınlatılamamıştır (55). Kronik enflamasyon ve sitokinler NO sentezini indükleyerek DNA hasarına ve kansere yol açan peroksinitrit ve nitrit oluşumuna yol açmaktadır. Yapılan pek çok çalışmada curcuminin NO sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir(56).

Antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerine CUR' in etkileri doza bağımlı olarak incelendiğinde doz artışına paralel olarak enzim aktivitelerinde artış görülmektedir. Piper JT ve ark (57) CUR'un 1mg/kg ile 500 mg/kg arasında değişen dozlarda enzim düzeylerinde anlamlı değişiklikler tespit etmişlerdir. Ancak maksimum artış 75-500mg/kg dozlarında sağlanmaktadır.

### **Curcuminin Diğer Etkileri**

Curcuminin potansiyel antikanser etkinliği sağlıklı hücelere zarar vermeden kanserli hücelerde apoptozise neden olmasından kaynaklanmaktadır (5). CUR proliferen olan hücrenin bölünme sürecini değiştirmez, hücre bölünmesini geciktirmez. Büyüme inhibisyonu doza bağlıdır ve CUR'in uzaklaştırılmasıyla beraber geri dönüşümlüdür, CUR hücrede toksisite oluşturmaz. CUR'nin sebep olduğu büyüme inhibisyonu büyüme faktörlerinin ortama konulması ile geri döndürülemez, bu da CUR hücre siklus olaylarına etki ettiğini göstermektedir. CUR ile inkübe edilen hücre kültürlerinde, hücrelerin DNA içeriklerinin G<sub>1</sub>/S fazında yoğunlaştığını gösterilmiştir. S fazındaki hücre sayıları ve hücre proliferasyonundaki inhibisyon hücrelerin S fazında yavaşladıklarını veya durduklarını ve DNA sentezinin CUR siz gruba göre aktif olmadığını düşündürmektedir (58).

Curcumin diyetle alındığında kolonik mukozadaki siklooksigenaz ve lipooksigenaz enzimlerinin aktivitelerini inhibe etmektedir. Bu enzimlerin inhibe olması sonucu enflamatuar yanıtta rol alan araşıdonik asit metabolizması önlenerek anti enflamatuar etki gösterdiği rapor edilmiştir (59-60).

Curcuminin ateroskleroz gelişimini önleyici etkisi vardır. Düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu ateroskleroz gelişimde en önemli role sahiptir. CUR plazma kolesterol, lipoproteinler ve trigliserit düzeylerini azaltarak ateroskleroz gelişimini önlediği ileri sürülmüştür (61)

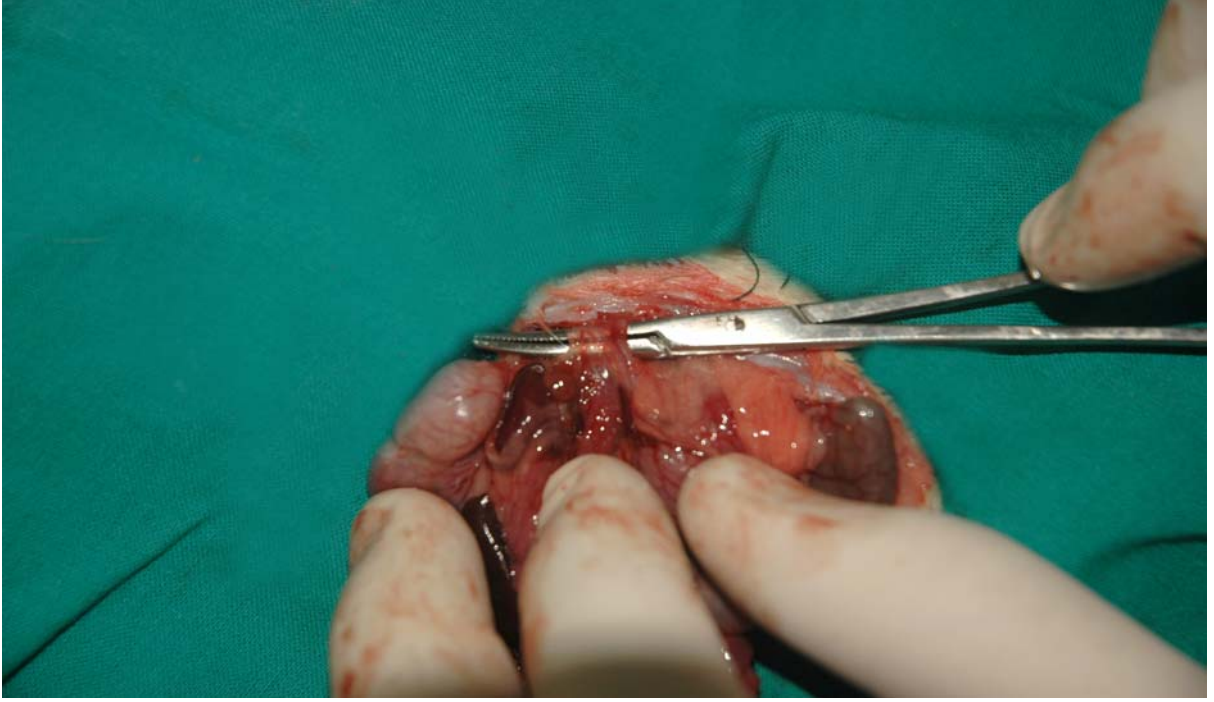
Curcuminin potent bir antitrombotik ajandır. Bu etkisini siklooksigenaz aktivitesinin inhibe ederek gerçekleştirmektedir (60). CUR psöriyazisli hastalarda topikal kullanıldığında klinik, histolojik ve immünolojik kriterlere göre psöriyazisi geriletteği gösterilmiştir. CUR'un bu etkisini immunomodülatör, antiinflammatuar ve siklooksigenaz inhibisyonu etkilerinden dolayı olduğu öne sürülmüştür (7).

## **GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'nun 21.11.2004 tarih ve 15 sayılı oturumunda alınan karar doğrultusunda (EK-1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı (AD), Patoloji AD ve Biyokimya AD tarafından Aralık 2005-Ocak 2006 tarihleri arasında "Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi"nde yapıldı. Deneyde bu laboratuarda üretilen 48 adet erişkin, 180-200 g ağırlığında Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Denekler  $22\pm 1$  °C ısıda, 12 saat karartılıp 12 saat aydınlatılan ve % 50-60 oranında nemlendirilen bir ortamda tutuldular. Deney gününe kadar sıçanların beslenmesinde standart pellet yem ve şehir içme suyu kullanıldı. Deney öncesi 12 saat aç bırakıldılar. Çalışma için Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında destek sağlanmıştır. (TÜBAP No:671)

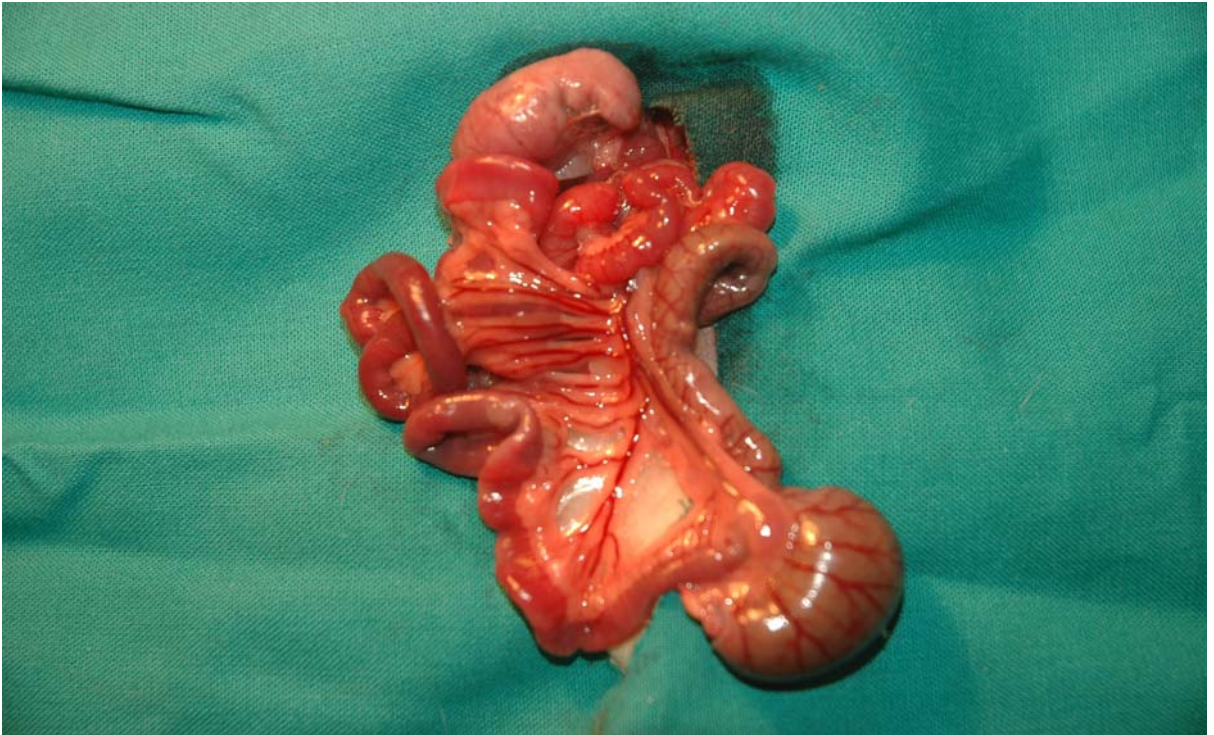
### **ANESTEZİ VE CERRAHİ İŞLEMLER**

Cerrahi işlem öncesinde deneklere 5-10 mg/kg dozunda xylazin hidroklorür (Rompun<sup>®</sup>, Bayer-İstanbul) ve 50-70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar<sup>®</sup>, Pfizer-İstanbul) kas içine uygulanarak anestezi sağlandı. Tüm sıçanların karnı %10'luk povidon iyot çözeltisi ile temizlenerek örtüldü ve orta hat kesisi ile karına girildi. SMA aortadan çıktığı yerin hemen distalinden etraf dokulardan dikkatlice diseke edildikten sonra 3/0 ipeklerle bağlandı (62). Şekil 3'de SMA'nın bağlanması görülmektedir. SMA bağlandıktan sonra bağırsaklarda solukluk görüldü ve nabzın kaybolduğundan emin olundu. Daha sonra orta hat



**Şekil 3. Arteriya mezenterika süperiyorun bağlanması görülmektedir.**

kesisi 3/0 atravmatik ipeklerle tek tek kapatıldı. Bu şekilde uygulanan iskemi işlemi 45 dakika boyunca devam etti (Şekil 4). Bu sürenin sonunda aynı kesi yerinden tekrar karına girildi. Bağlama sütürleri açılarak 1 saat reperfüzyon işlemi yapıldı (Şekil 5).



**Şekil 4. İskemi sonrası bağırsakların görünümü izlenmektedir.**





**Şekil 5. İskemi reperfüzyon sonrası bağırsakların görünümü izlenmektedir.**

Reperfüzyonun gerçekleştiği, bağırsaklardaki solukluğun kaybolup daha pembe bir renk alması ve nabızın tekrar hissedilmesi ile gözlemlendi. Reperfüzyon süresince karın kapalı tutuldu. Sıçanlara dahil oldukları gruplara göre intraperitoneal (İP) 200 mg/kg dozunda CUR (SİGMA) uygulandı. CUR dimetil sülfoksit (DMSO) ile deney esnasında çözüldükten sonra İP uygulandı (6,7,63,64). Tüm sıçanların yaklaşık son 20 cm'lik ince barsakları alındı. Çıkarılan bu ince barsak segmentleri, 18 numara branül yardımıyla serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra yaklaşık 10 cm'lik segment histopatolojik inceleme için %10 formaldehit içinde, geri kalan barsak segmenti ise kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra ependorf tüpüne konarak çalışma gününe kadar -80 °C de derin dondurucuda (Heraeus HFU 486 Basic) saklandı. Cerrahi işlemlerin sonunda tüm denekler servikal dislokasyon ile öldürüldüler.

### **Gruplar**

Çalışma, her biri sekiz sıçandan oluşan altı grupta toplam 48 sıçan kullanılarak yapıldı. İlk grup kontrol (K) grubuydu. Bu gruptaki deneklerin karnına orta hat kesisi ile girilerek ince bağırsağın son 20 cm'lik kısmı çıkartıldı. Serum fizyolojik ile bağırsak segmentinin temizliği yapılarak yarısı histopatolojik, diğer yarısı biyokimyasal inceleme için ayrıldı.

İkinci grup DMSO (Aldrich-Chemie, Steinheim, Germany) uygulanan kontrol grubuydu. Bu gruptaki deneklerin karnına aynı şekilde girilerek SMA bağlandıktan 15 dakika sonra deneklere 200 mg CUR'u çözmek için kullanılan miktarda DMSO verildi. Karın duvarı 3/0 atravmatik ipek ile tek tek kapatıldıktan sonra iskemi işlemi 45 dakika uygulandı. Sürenin sonunda deneklerin dikişleri açılarak bir saat süreyle reperfüzyon işlemi uygulandı. İnce bağırsağın son 20 cm'lik kısmı çıkartıldı ve histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için alındı.

Üçüncü grup iskemi (İ) grubuydu. Bu gruptaki deneklerin karnı açıldıktan sonra SMA 3/0 serbest ipekle bağlandı. Daha sonra karın duvarı 3/0 atravmatik ipekle tek tek kapatıldı. İskemi işlemi 45 dakika uygulandı. Bu sürenin sonunda tekrar karnına girilerek ince bağırsağın son 20 cm'lik kısmı çıkartılarak histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için ayrıldı.

Dördüncü grup İ/R grubuydu. Bu gruptaki deneklerin karnına girildikten sonra SMA aynı yöntemle bağlandı. Karın duvarı 3/0 ipeklerle kapatıldıktan sonra 45 dakika iskemi uygulandı. Bu sürenin sonunda tekrar karnına girilerek SMA'yi bağlayan 3/0 ipek açıldı ve iskemi işlemi sonlandırıldı. Karın tekrar 3/0 ipekle tek tek kapatıldıktan sonra bir saat reperfüzyon işlemi uygulandı. Sürenin sonunda ince bağırsağın son 20 cm'lik kısmı çıkartılarak histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için ayrıldı.

Beşinci grup iskemi ile birlikte CUR (İ+CUR) uygulanan gruptu. Bu gruptaki deneklerin karnına aynı şekilde girilerek SMA bağlandıktan 15 dakika sonra deneklere ip 200 mg/kg dozunda CUR verildi. Daha sonra karınları 3/0 atravmatik ipek ile tek tek kapatıldı. İskemi işlemi 45 dakika uygulandı. Sürenin sonunda karnı tekrar açılarak deneklerin ince bağırsaklarının son 20 cm'i çıkartılarak histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için hazırlandı

Altıncı grup İ/R ile birlikte CUR (İ/R+CUR) uygulanan gruptu. Bu gruptaki deneklerin karnı açılıp, SMA bağlandı ve 3/0 ipeklerle kapatıldı. İskemi işlemi 45 dakika uygulandı. Bu sürenin sonunda SMA'e konulan dikiş açıldı ve karın 3/0 ipekle kapatıldıktan hemen sonra 200 mg/kg dozunda CUR İP yolla uygulandı. Reperfüzyon işlemi bir saat sürdü. Süre sonunda tekrar karın açıldı ve ince bağırsağın son 20 cm'lik kısmı histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için alındı.

## **BİYOKİMYASAL İNCELEME**

Biyokimyasal değerlendirme için lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA düzeyi ve antioksidan savunma sisteminde bulunan KAT enzimi aktivitesi araştırıldı. Ağırlıkları

0.20-0.25 gr olan doku parçaları serum fizyolojik ile üç kez yıkanıp kurutma kağıdı ile iyice kurutulduktan sonra “Ependorf” tüplerine konularak inceleme gününe kadar  $-80^{\circ}\text{C}$  de saklandı. Tüm örneklemeler sona erdiğinde dokular derin dondurucudan alınıp çözülmesi beklendikten sonra otomatik doku homojenizatörü (Heidolph DIAX900-Almanya) ile homojenize edildi. Doku MDA düzeyi Ohkawa ve ark. (65), tarafından tanımlanan yöntemle çalışıldı. Sonuçlar spektrofotometrede (Shimadzu UV1208-Japonya) nmol/ml/g protein olarak okunup önceden hazırlanan veri formuna işlendi.

MDA miktarı ölçümü, lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan kırmızı rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptandı. Doku homojenizasyonunda 0,15 M KCl ile hazırlanmış 1:10'luk homojenizat kullanıldı. Ölçüm prensibi, bir molekül MDA ile iki molekül tiobarbitürik asidin kondansasyonu sonucu oluşan renkli kompleksin 535 nm'deki absorbansının spektrofotometrik saptanması temeline dayanmaktaydı. Sonuçlar nmol/gr protein olarak ifade edildi.

Bu çalışmada KAT enzimi tayini için Aebi (44) yöntemi kullanıldı. 520mM, pH 7 olan fosfat tampon çözeltisi ile 1:10 oranında dokular homojenize edildi. KAT, katalitik aktivitesi ile  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'i dekompoze ederek su ve  $\text{O}_2$ 'ye dönüştürmektedir.  $\text{H}_2\text{O}_2$  ultraviyole spektrumunda absorpsiyon veren bir maddedir. Maksimal absorbans 240 nm'de meydana gelmektedir. Deney ortamına ilave edilen  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin KAT tarafından su ve  $\text{O}_2$ 'ye parçalanması 240'nm'de absorbans azalması ile kendini gösterir. Absorbansda gözlenen bu azalma ortamdaki KAT enzim aktivitesi ile doğru orantılı bir eğilim göstermektedir. Sonuçlar k/mg protein şeklinde ifade edildi.

## **HİSTOPATOLOJİK İNCELEME**

Histopatolojik inceleme için ayrılan dokular %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilerek Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD'ye gönderildi. Materyaller 24 saat %10'luk formalin solüsyonunda tespit için bekletildi. Tespiti takiben her bir rezeksiyon materyalinden uzunlamasına bir cm kesit alınıp kurutma kağıdına yandık yatırılarak doku takibine alındı. Rutin doku işlemlerinden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan beş mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin eozin ile boyandı.

Tüm preparatlar aynı patoloji uzmanı tarafından, Chiu ve ark (66) tarafından yapılan sınıflamaya uygun olarak ışık mikroskopunda (Nikon E600-Japonya) incelendi. Tablo 2 de bu sınıflama gösterilmiştir. Elde edilen veriler önceden hazırlanan bir forma işlendi.

**Tablo 2. Histopatolojik değerlendirme (66)**

<b>EVRE</b>	<b>BULGU</b>
<b>0</b>	Normal villus
<b>1</b>	Subepiteliyal alanın gelişmesi, genellikle villusların apeksinde kapiller konjesyon
<b>2</b>	Subepiteliyal alanın genişlemesi ile epiteliyal tabakanın lamina propriadan orta derecede ayrılması
<b>3</b>	Villusların alt kısımlarının lamina propriadan ileri derecede epiteliyal ayrılması
<b>4</b>	Villusların soyulması, kapiller dilatasyon, lamina proprianın geçirgenliğinde artma
<b>5</b>	Lamina propriada parçalanma, hemoraji ve ülserasyon

### **İSTATİSTİKSEL İNCELEME**

Araştırmada tanımlayıcı istatistikler, nicel değişkenler için normal dağılıma uygunluk için Kolmogorov-Smirnov tek örnek testi, kategorik veriler için pearson  $\chi^2$  analizi ve Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Nicel değişkenler için gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı, varyansları homojen çıktığı için gruplar arasındaki fark için Banferroni t testi kullanıldı. İstatistiksel analizler, SN-AXA507C7755006FAN3 lisanslı Statistica ‘‘AXA’’ paket programı ile yapıldı.

## BULGULAR

Deney sırasında yüksek doz anestezi nedeniyle üç denek kaybedildi ve bu sıçanlar çalışma dışı bırakıldı. Deney süresince iskeminin makroskopik bulguları olan ödem ve venöz staza bağlı renk değişiklikleri kontrol grubu dışında tüm gruplarda görüldü. Alınan doku örneklerinden elde edilen MDA, KAT ve histopatolojik değerlendirmelerin sonuçları hazırlanan formlara kaydedildi.

Deney sonrası elde edilen MDA sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplara göre tanımlayıcı MDA değerleri ( $X \pm SD$ ) olarak Tablo 3’de sunuldu. İlk grup olan kontrol grubunda MDA ortalaması  $4.42 \pm 0.41$  nmol/mg bulundu. DMSO verilen kontrol grubumuzun MDA değeri  $7.03 \pm 0.86$  nmol/mg idi. İskemi grubunda  $5.63 \pm 0.78$  nmol/mg, İ/R grubunda  $7.70 \pm 0.94$  nmol/mg olarak bulundu. İ+CUR grubunun MDA değeri  $6.23 \pm 0.35$  nmol/mg bulundu. İ/R+CUR grubunda MDA değeri  $6.10 \pm 0.49$  nmol/mg bulundu.

MDA bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı yapılan varyans analizi ile değerlendirildi ve istatistiksel yönden anlamlı bulundu ( $f=2.767$ ,  $p=0.030$ ). Yapılan varyans analizi sonrasında anlamlı fark çıktığı için, gruplar arası kıyaslamalarda MDA değeri bakımından kontrol grubu ile İ/R grubu arasında anlamlı bir fark olmasına karşın ( $p=0.022$ ), diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Gruplara ait doku MDA değerlerinin dağılımı Şekil 6’da gösterilmiştir.

Deney sonrası elde edilen KAT aktivitesi sonuçları ( $X \pm SD$ ) olarak Tablo 3’te verilmiştir. Kontrol grubunun KAT aktivitesi  $0.106 \pm 0.013$  k/mg protein, DMSO verilen ikinci kontrol grubunun KAT aktivitesi  $0.099 \pm 0.013$  olarak bulundu. İskemi grubunun KAT aktivitesi  $0.079 \pm 0.008$  k/mg protein, İ/R grubunda  $0.103 \pm 0.017$  k/mg protein olarak bulundu. İCUR grubunda KAT aktivitesi  $0.079 \pm 0.011$  k/mg protein, İ/R CUR grubunda KAT aktivitesi

0.077±0.0044 k/mg protein bulundu. KAT değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (F=1.225, p=0.314). Tüm gruplara ait doku KAT aktiviteleri Tablo 3 ve doku KAT değerlerinin dağılımı Şekil 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 3. Gruplara ait doku MDA ve KAT değerleri**

GRUP	MDA X±SD	KAT X±SD
Kontrol (n=8)	4.42±0.418*	0.106±0.013
DMSO (n=8)	7.03±0.86	0.099±0.013
İ (n=8)	5.63±0.78	0.079±0.008
İ/R (n=8)	7.70±0.94*	0.103±0.017
İ+CUR (n:8)	6.23±0.35	0.079±0.011
İR+CUR (n=8)	6.10±0.49	0.077±0.004
f:	2.767	1.225
p	0.030**	0.314

**K:** Kontrol

**İ/R:** İskem Reperfüzyon

**DMSO:** Dimetil Sülfoksit

**İ:** İskemi

**İ+CUR:** İskemi Curcumin

**İ/R+CUR:** İskem Reperfüzyon Curcumin

\*1 ve 3, p<0.05

\*\* p<0.05

Deneysel çalışma sonunda gruplardaki deneklerin ince bağırsaklarında oluşan hasarların histopatolojik sonuçları Tablo 4 ve Şekil 8’de gösterilmiştir.

Kontrol grubundan alınan örneklerden hazırlanan barsak mukoza, submukoza, kas ve seroza katmanları düzenli yapıdaydı. Mukoza düzenli ve devamlı yüzey epiteli ile çevriliydi ve altta aynı epitelle çevrili mukozal bezler izlendi. Lamina propriada seyrek mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü. Muskularis mukoza ve seroza düzenliydi. DMSO verilen grupta ise İ/R grubundakine benzer yüzey epitelinde yaygın dejenerasyon ve lamina propriada hücrelerde artış dikkati çekti. Muskularis mukoza ve seroza düzenliydi.

İskemi grubunda yaygın yüzey epitel hücre dejenerasyonu vardı. Kript uçlarının tamamı yakını nekroze görünümdeydi. Lamina propriada mononükleer yangı hücreleri artmıştı ve ileri derecede konjesyon izlendi. Muskularis mukoza ve seroza düzenli yapıda görüldü. İ/R grubunda iskemik değişiklikler daha az yaygın olmakla birlikte yüzey epitelinde yaygın dejenerasyon ve lamina propriadan ayrılma görüldü. Lamina propriada mononükleer iltihabi hücrelerde artış dikkati çekti. Muskularis mukoza ve seroza düzenliydi.

**Tablo 4. Gruplardaki deneklerin Chiu sınıflamasına göre dağılımları.**

Gruplar	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5	Toplam
K	8						8
DMSO			3	5			8
İ			2	6			8
İ/R			6	2			8
İ+CUR			6	2			8
İ/R+CUR			6	2			8

**K:** Kontrol

**İ/R:** İskem Reperfüzyon

**DMSO:** Dimetil Sülfoksit

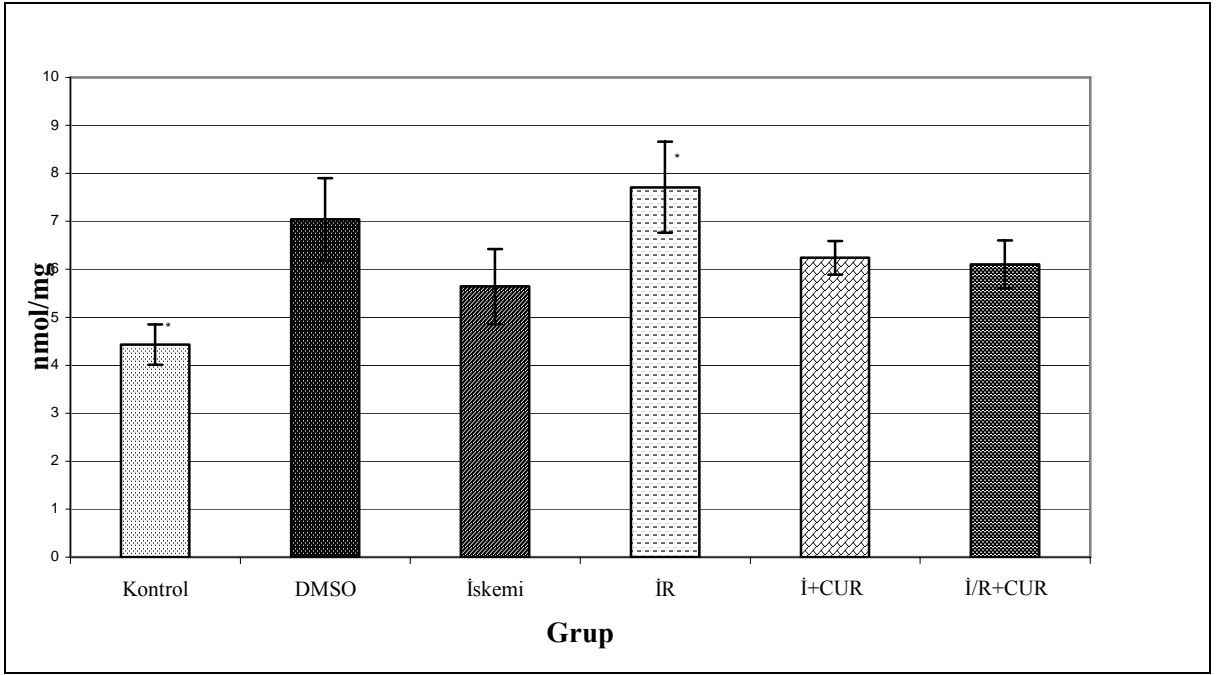
**İ:** İskemi

**İ+CUR:** İskemi Curcumin

**İ/R+CUR:** İskem Reperfüzyon Curcumin

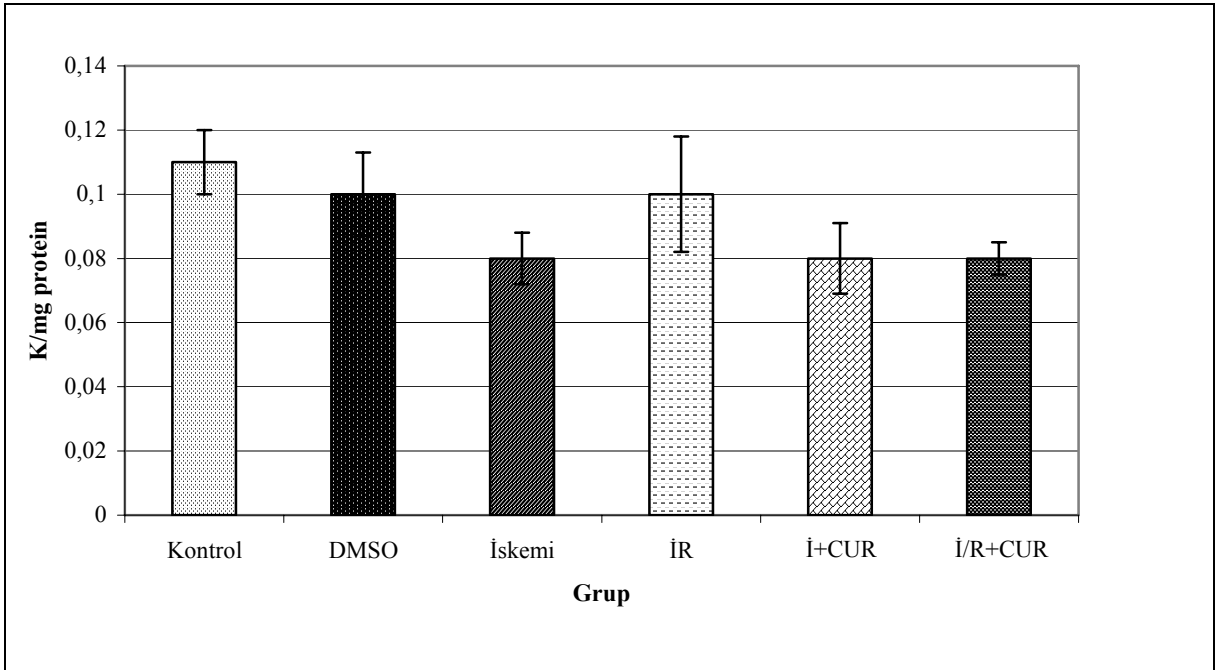
Curcumin verilen her iki grupta da benzer değişiklikler izlendi. Yüzey epitel dejenerasyonu daha az olmakla birlikte epitelde yaygın ayrışma ve dökülme görüldü. Lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu. Kript/villus oranı da kript lehine artmıştı. Muskularis mukoza ve seroza düzenli yapıdaydı.

Histopatolojik incelemede kontrol grubunda 8 denekten hiç birinde iskemi bulguları görülmedi. Villus yapısı tamamen normal görünümdeydi (Şekil 9). DMSO grubundaki deneklerin üçünde evre 2 ve beşinde evre 3 histopatolojik değişiklikler görüldü (Şekil 10). İskemi grubunun ikisi evre 2 ve altısı evre 3 olarak değerlendirildi (Şekil 11). Evre 2 hasarlanma da subepitelyal alanın genişlemesi ve epitel tabakanın lamina propriyadan orta derecede ayrıldığı, evre 3 hasarda ise villusların lamina propriyadan ileri derecede ayrışmış olduğu görüldü. İ/R grubundaki deneklerden altısı evre 2 ve ikisi evre 3 olarak değerlendirildi (Şekil 12). İ+CUR grubundaki deneklerin histopatolojik incelemesinde altısında evre 2 ve ikisinde evre 3 mikroskopik değişiklikler görüldü (Şekil 13). İ/R+CUR verilen gruptaki deneklerin altısı evre 2 ve ikisi evre 3 olarak değerlendirildi (Şekil 14). Deneklerin hiç birinde evre 4 ve 5 gözlenmedi.



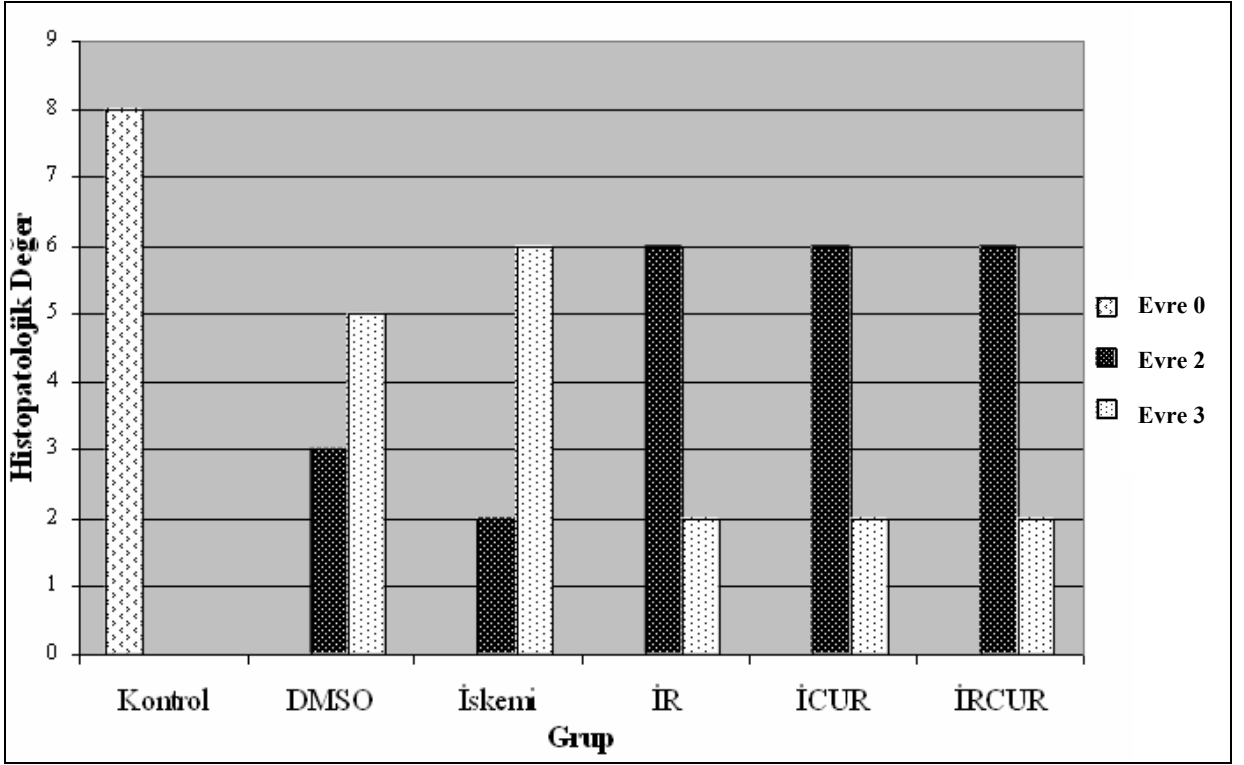
**Şekil 6. MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı görülmektedir.**

\*1 ve 3,  $p < 0.05$

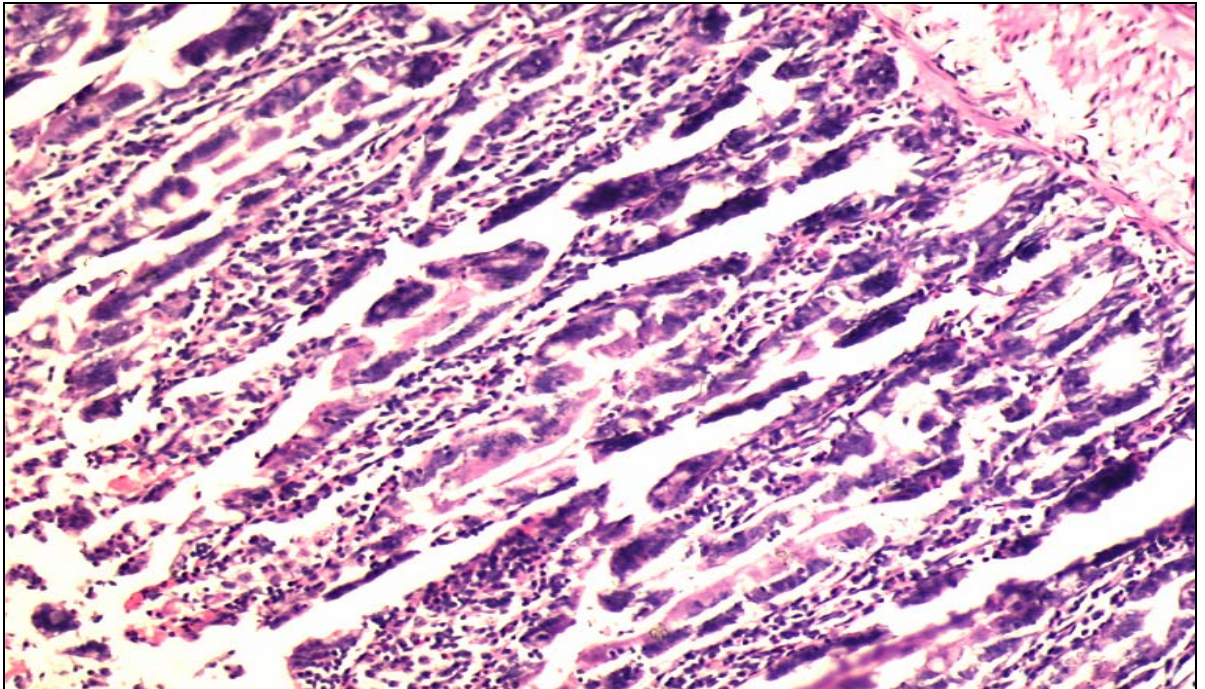


**Şekil 7. KAT değerlerinin gruplara göre dağılımı görülmektedir.**



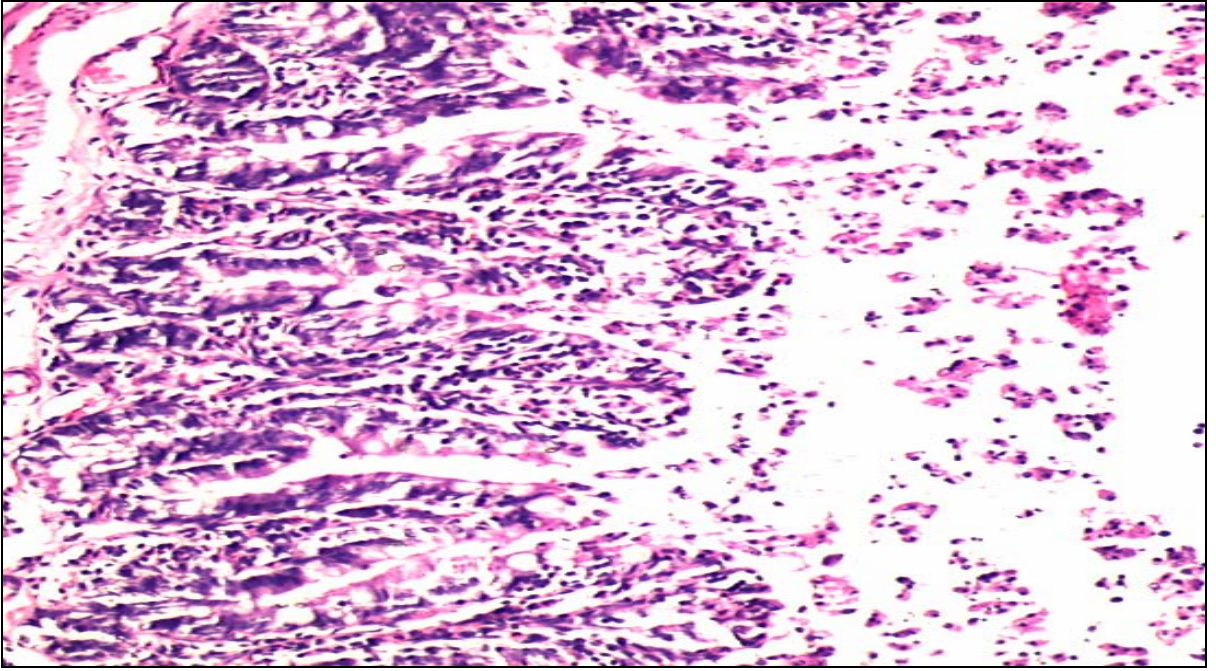


Şekil 8. Histopatolojik değerlerin gruplara göre dağılımı görülmektedir.

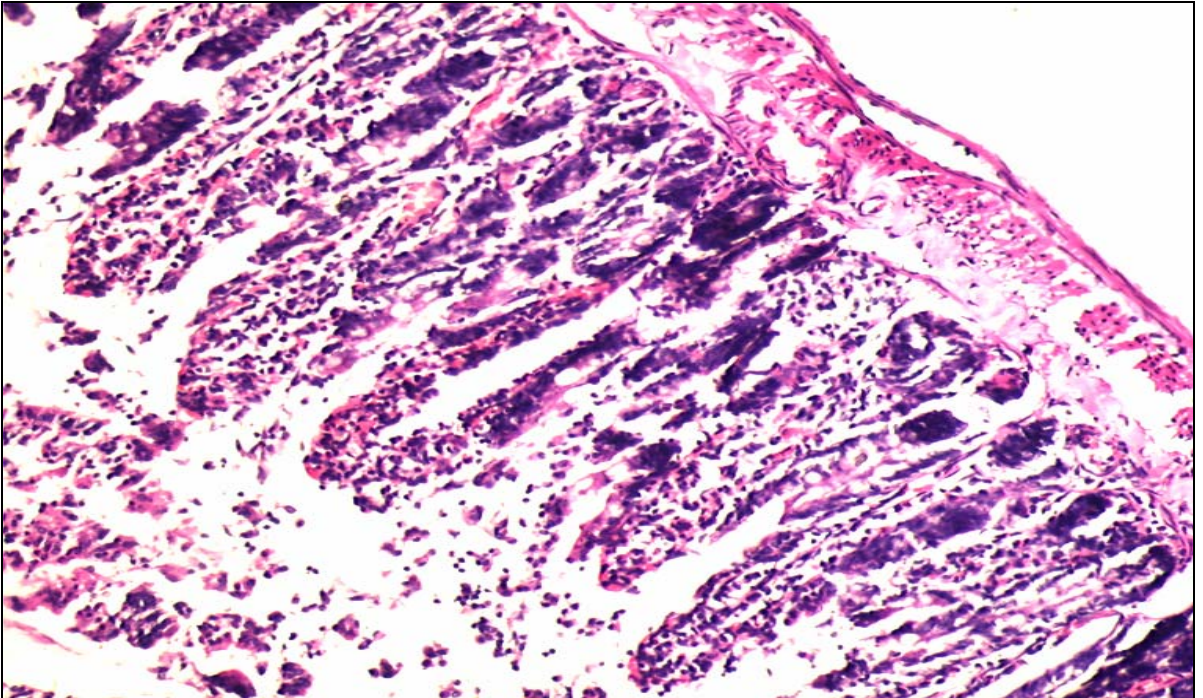


Şekil 9. Kontrol grubu. Kript villus oranı 1/6. Yüzey epiteli, lamina propria ve muskularis mukoza düzenli yapıda izlenmektedir (H+E, X100).



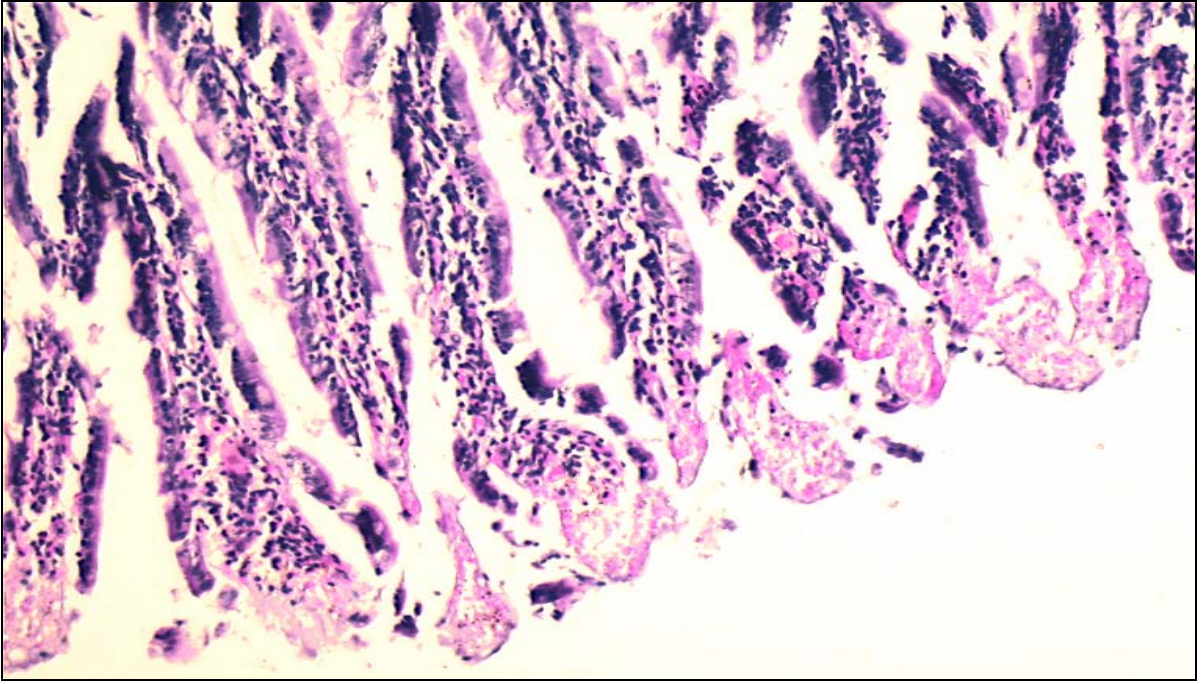


**Şekil 10. DMSO verilen grup. Yüzey epitel hücrelerinde yaygın dökülme izlenmektedir. Lamina propriada yoğun infiltrasyonu gözlenmektedir (H+E, X100).**

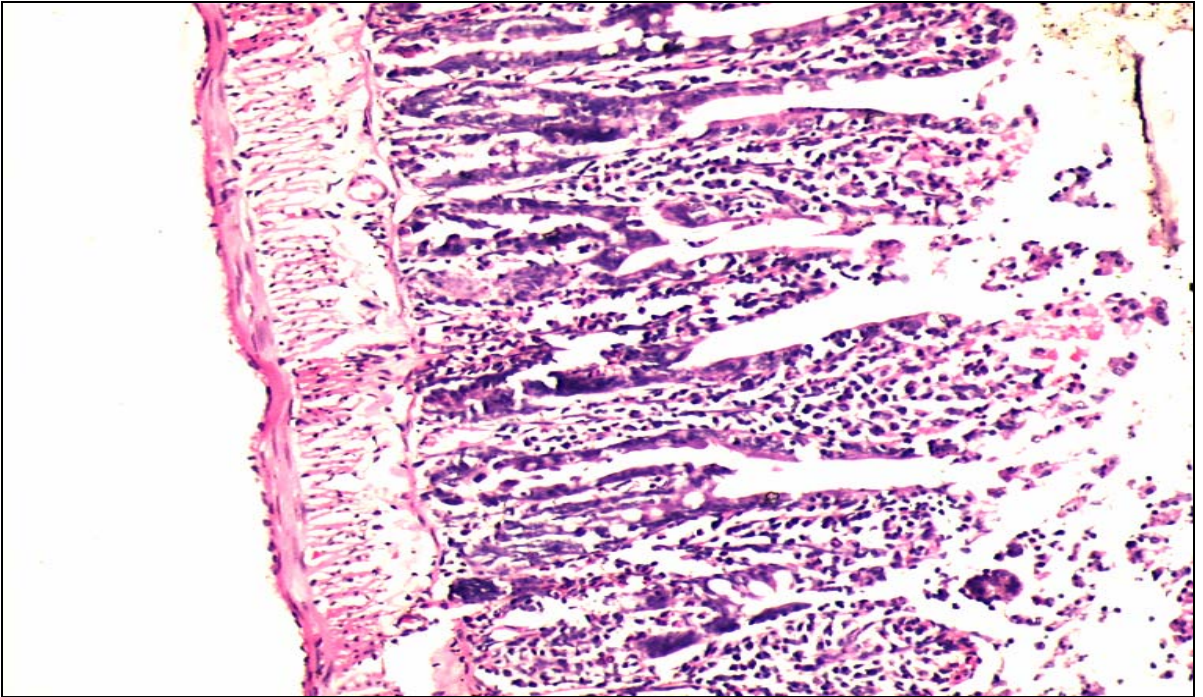


**Şekil 11. İskemi grubu. Villus tepesindeki yüzey epitel hücrelerinde nekroz, erezyon ve kanama görülmektedir (H+E, X100).**

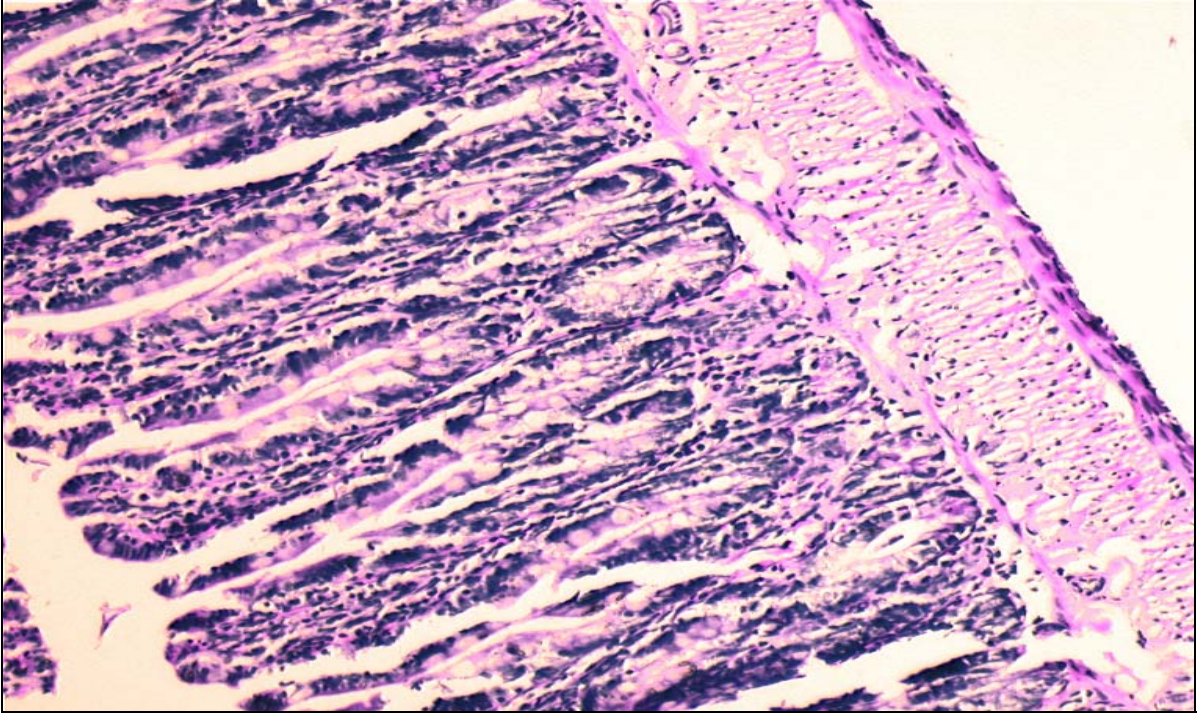




**Şekil 12. İskemi reperfüzyon grubu. Yüzey ve villus tepesindeki bez epitelinde dökülme, lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu görülmektedir (H+E, X100).**



**Şekil 13. İskemi sırasında “curcumin” verilen grup. Yüzey epitel hücrelerinde nekroz lamina propriada mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu görülmektedir (H+E, X100).**



**Şekil 14.** Reperfüzyon başlangıcında “curcimin” verilen grup. Kript/villus oranı artmış. Yüzey epitelinde yer yer dökülme ve lamina propriada hücre infiltrasyonu görülmektedir (H+E, X100).



## TARTIŞMA

İskemi reperfüzyon hasarına bağı gelişebilecek problemler tam olarak açıklanabilmiş değildir (67). Ancak özellikle ince bağırsaklarda oluşan İ/R hasarı sırasında lizozomal hidrolazların lokal salınışı ve mikrovasküler permeabilite artışı mukozada belirgin ödem, villuslarda yassılaşıma, kanama, nekroz ve mukoza bütünlüğünün parçalanmasına neden olur. Tüm bunlar ortalama arteriyel kan basıncının düşmesi ile ilişkilidir (68). Paradoks gibi görünse de kan akımının düzelmesi, reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan daha fazla hücre hasarına yol açmaktadır (69). Hayvanlarda 3 saatlik iskemi sonunda reperfüzyonla oluşan hasar, 4 saatlik reperfüzyon yapılmadan oluşturulan iskemi ile meydana gelen hasardan daha fazladır. İskemik dokuda ATP miktarı azalmakta, adenozin, hipoksantin ve inozin gibi yıkım ürünleri oluşmaktadır. İskemik dokuda reperfüzyon yapılırsa XO enzimi hipoksantini ksantine dönüştürür (70). Bunun sonucunda SOR'lar oluşur. Oluşan serbest radikaller reperfüzyonla ilişkili doku hasarında esas rolü oynarlar. Bu serbest radikallerin bir kısmı oldukça reaktif olup, hücrenin membran lipidlerinin peroksidasyonuna, yapı proteinlerinin, nükleik asitlerin ve hyalüronik asitin niteliğinin değişmesine neden olurlar. Metal iyonları, serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyerek lipid peroksidasyonuna katkıda bulunurlar (71).

Enzimatik ve nonenzimatik mekanizmalarla SOR'ların etkilerini ortadan kaldıran maddelerin etkinlikleri deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Bu amaçla Bryka-Owczarek ve ark. (71) tavşanlarda deneysel ince bağırsak İ/R hasarı oluşturarak C vitamini, mannitol, N-asetil sisteinin antioksidan özellikleri karşılaştırmışlardır. Boyd ve ark. (72) hamsterlerin ince bağırsaklarında 30 dk iskemi ve ardından üç saat reperfüzyon yaptıkları deneysel çalışmada  $\gamma$  hidroksibutirat, allopurinol ve E vitamini uygulamışlardır. Bağırsak İ/R modeli sık kullanılan deneysel bir model olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tür çalışmalarda birbiriyle çelişen

sonuçlar olduğu görülmektedir. Ancak her Őeye karşın ince bağırsak İ/R modelinin çalıŐılması kolay, klinik uygulamalarla örtüŐen ve sonuçlarının objektif olarak değerlendirilebildiği bir model olduğunu düşünmekteyiz.

Yoshida ve ark. (73) sıçanlarda splanknik bölgede 40 dk. iskemi ve 110 dk. reperfüzyon uygulayarak yaptıkları deneysel çalışmada antioksidan ajan olarak E vitamini, taurin ve selenyum kullanmıŐlardır. Sonuç olarak selenyumun, E vitamini ve taurine göre ortalama kan basıncını daha fazla arttırarak mikrosirkulatuvar perfüzyonu daha çabuk dzelittiğini bildirmıŐlerdir. Schmeling ve ark. (74) sıçanların bağırsaklarında iki saat iskemi ve bir saat reperfüzyon uygulayarak yaptıkları çalışmada antioksidan ajan olarak diklofenak sodyum, lodoksamid, desferoksamin, dimetilsulfoksid, SOD ve KAT kullanmıŐ, İ/R hasarını diklofenak sodyumun diğer ajanlardan daha fazla oranda azalttığını göstermiŐlerdir. Ceran ve ark. (75) sıçanların bağırsaklarında 45 dakika iskemi ve bir saat reperfüzyon uyguladıkları çalıŐmalarında bilirübini iŐlemden iki saat önce vermiŐler ve deney sonunda bilirbinin İ/R hasarını önemli ölçüde azalttığını göstermiŐlerdir. Juel ve ark. (76) iskemi sonrası bir saatlik reperfüzyonun ince bağırsakta mukozal hasarlanma için yeterli olduğunu belirtmiŐlerdir. Biz de çalışmamızda bu verilerden yola çıkarak 45 dk. iskemi ve bir saatlik reperfüzyon yapmayı planladık ve deneysel modelimizi bu çerçevede kurguladık. Ayrıca Ceran ve ark.'na (75) benzer Şekilde gruplardan birine reperfüzyondan önce antioksidan madde vererek CUR'un oksidatif stresten koruyucu etkinliğini değerlendirdik. Böylelikle klinik kullanıma daha da uygun bir model oluŐurmaya çalıŐtık.

Gnel ve ark. (35) tavŐanların bağırsaklarında bir saat iskemi ve ardından bir saat reperfüzyon oluşturarak yaptıkları çalıŐmalarında antioksidan etkinliklerini araŐtırmak amacıyla mannitol, C vitamini, E vitamini ve kortikosteroid kullanmıŐlar, sonuçta mannitol ve C vitamininin İ/R hasarını azaltırken, kortikosteroid ve E vitamininin oluşan hasara karşı koruyucu etkilerinin bulunmadığını bildirmıŐlerdir. İnce bağırsak İ/R hasarında antioksidan etkinliklerini araŐtırmak amacıyla, pentoksifilin, kafeik asit, melatonin, verapamil, nitrogliserin, allopurinol, trimetazidin gibi ajanlar kullanılmıŐ ve oksidatif strese karşı etkili oldukları gösterilmiştir (3,62). Biz de çalışmamızda, bağırsak İ/R hasarına karşı CUR'un etkinliğini araŐtırdık. CUR doğada bulunan fenolik yapıda bir bileŐik olup İP yolla verildiğinde oral uygulanımına göre emilimi daha yüksektir (77). Bir çok araştırmacı çalıŐmalarında CUR'u oral yolla uygulamıŐtır (78). Buna karŐılık Thiyagarajan ve ark. (6) İP uygulama sonrası çeşitli dokularda CUR konsantrasyonlarını karŐılaŐtırmıŐlar ve ilk 15 dakikada en yüksek konsantrasyona bağırsak dokusunda ulaŐtıėını bildirmıŐlerdir. Dolayısıyla alıŐmamızda CUR'u İP yolla kullanarak en fazla etkinliği sağlayabileceğimizi düŐündük.

Curcuminin bilinen yan etkisi ve toksisitesi olmaması nedeniyle antioksidan etkinliğini araştırmak için 75-500 mg/kg doz aralığında kullanılmıştır (53). Ghoneim ve ark. (79) ratlarda bilateral ana karotis arterin bir saatlik oklüzyonu ve bir saatlik reperfüzyonu ile oluşturdukları serebral İ/R modelinde CUR'un 50mg/kg, 100mg/kg ve 200mg/kg dozlarını İP uygulayarak antioksidan etkinliğini, oksidatif stresin biyokimyasal parametrelerini (XO aktivitesi, O<sub>2</sub><sup>•</sup> üretimi, MDA, GPx, SOD, KAT, laktat dehidrogenaz ve glutatyon) ölçerek araştırmışlardır. 50 ve 100 mg/kg dozunda uygulanan CUR'un oksidatif stresin biyokimyasal parametrelerinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığını, ancak 200 mg/kg dozunda oksidatif hasarı azalttığını bildirmişlerdir. Biz de mevcut bilgilerinin ışığında CUR'u İP yolla ve 200 mg/kg dozunda uygulamaya karar verdik (6,53,78,79).

Lipitler oksidatif strese en fazla maruz kalan makromoleküller olduğu bilinmekte olup doku lipit peroksit içeriği İ/R'un en önemli belirtecidir (55,70). Doku lipit peroksit içeriği çeşitli yöntemlerle ölçülmektedir. Çalışmamızda İ/R hasarını lipit peroksidasyon ürünleri ile değerlendirmek amacıyla etkinliği bir çok yayında ortaya konmuş önemli bir belirteç olan MDA düzeyleri Okhawa ve ark. (65) tarafından tanımlanan yöntemle göre araştırıldı. Bizim çalışmamızda İ/R grubunda MDA değerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde bulunması deneysel modelin sorunsuz bir şekilde gerçekteştirdiğini göstermektedir. Ancak İ/R grubu ile CUR verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmaması, ilacın oksidatif stresi engellemediği şeklinde yorumlanabilir. Bu sonuç CUR verildikten sonra bekleme süresinin kısalığına ya da uygulanan dozun az olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Katalaz oksidatif streste aktivitesi artan, süperoksit anyonundan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu önleyen, hücreleri oksidatif stresin hasarlandırıcı etkilerine karşı koruyan bir enzimdir (39). Manikandan ve ark. (55) myokardial İ/R'de KAT aktivitesinin CUR verilmesiyle yükseldiğini ve İ/R hasarını azalttığını rapor etmişlerdir. Ancak Ghoneim ve ark. (79) yapmış oldukları serebral İ/R modelinde CUR in etkinliğini araştırmışlar, kontrol grubuna göre KAT aktivitesinde anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda KAT değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamış olması nedeniyle CUR'un H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu engellemediği ve antioksidan etkisini bu mekanizma üzerinden göstermediğini düşünmekteyiz.

İntestinal İ/R hasarının histopatolojik değerlendirilmesinde bir çok sınıflama tanımlanmıştır. Chui ve ark. (66), Stalion ve ark. (80), Yoshida ve ark. (73), Hierholzer ve ark. (81) farklı sınıflamalar yapmışlardır. Chui ve ark. (66) tarafından tanımlanan histopatolojik sınıflamayı basit, sade, kullanılabilir olması ve ince bağırsak doku hasarını iyi göstermesi nedeniyle tercih ettik. Çalışmamızda iskemi ve İ/R oluşturulan bütün gruplarda

ışık mikroskopisinde yaygın yüzey epitel hücre dejenerasyonu vardı ve kript uçları tama yakın nekroze görünümdeydi. Elde edilen histopatolojik veriler İ/R hasarının oluşturulduğunun bir başka göstergesi olarak kabul edilebilir. Ancak MDA sonuçlarına benzer şekilde CUR'un histopatolojik olarak da oksidatif strese bağlı hücrede ortaya çıkan morfolojik değişiklikleri de engellemediği düşüncesindeyiz. İnce bağırsak İ/R oluşturduğumuz deneysel çalışmamızda İP CUR uygulanmasının İ/R hasarı üzerinde olumlu ya da olumsuz bir etkinliğini tespit edemedik.

Antioksidan savunma mekanizmalarının bilinmesi ve ince bağırsak da oluşan oksidatif strese bağlı hasarlanmanın iyi anlaşılması, klinik ortamda cerrahiye yardımcı yeni antioksidan tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi bakımından önemlidir. Cerrahi uygulamalara yardımcı olabilecek bu tür destek tedavileri İ/R'in etiolojisinde rol aldığı hastalıkların tedavisinde kullanılması ile bu tür hastalıklarda mortalite ve morbiditeyi azaltabilir.

Konuyla ilgili bundan sonra yapılacak araştırmalarda dokuların elektron mikroskobu ile incelenmesi reperfüzyon hasarının etkilerini ve CUR'un neden olduğu ultrastrüktürel değişimleri ortaya koyması bakımından yararlı olabilir. Ayrıca İ/R hasarından koruyucu etkinlikleri bilinen glutatyon, arjinin, hidrokisprolin gibi amino asitlerin dokudaki miktarlarının tespit edilmesi ve immünohistokimyasal çalışmaların yapılması CUR'un iskemik hasarlanmadaki etkinliğini anlamamızda faydalı olabilir.



## SONUÇLAR

Oluşturduğumuz deneysel ince bağırsak İ/R modelinde CUR'un oksidatif hasarlanmaya karşı koruyucu etkinliği araştırıldı. İskemi 45 dakika reperfüzyon bir saat süreyle uygulandı. İ/R hasarı doku MDA, katalaz düzeyleri ve histopatolojik inceleme ile değerlendirildi. Çalışmanın sonucunda:

1. 45 dakikalık iskemi ve bir saatlik reperfüzyon bağırsaklarda oksidatif hasarlanma için yeterli gibi görünmektedir.
2. Oluşturduğumuz deneysel ince bağırsak iskemi reperfüzyon modelinde intraperitoneal CUR uygulamasının doku hasarının göstergesi olan MDA ve katalaz üzerinde etkili olmadığı ve ayrıca histopatolojik hasarı azaltmadığını düşündürmektedir.
3. Dokuların elektron mikroskopik olarak ile incelenmesi ve immünohistokimyasal boyama yapılması İ/R hasarının etkilerini ve CUR'un neden olduğu ultrastrüktürel değişiklikleri göstermesi bakımından yararlı olabilir. Ayrıca CUR verilen gruplarda reperfüzyon süresinin uzatılması CUR'un etkinliğini ortaya koymada daha faydalı olabilir.

## ÖZET

İskemi reperfüzyon hasarı cerrahi uygulamalarda sık karşılaşılan klinik bir tablo olduğu için ince bağırsak iskemi reperfüzyon modelinde curcuminin oksidatif hasarlanma üzerine etkinliği araştırıldı.

Çalışmada 48 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Her biri sekiz adet sıçan içeren altı grup oluşturuldu. Sıçanlar kontrol grubu, dimetilsülfoksit uygulanan kontrol grubu, iskemi grubu, iskemi reperfüzyon grubu, iskeminin 15. dakikasında curcumin verilen grup ve reperfüzyonun başlangıcında curcumin verilen grup olarak ayrıldı. Kontrol grubu hariç diğer gruplarda iskemi 45 dakika ve reperfüzyon bir saat yapıldı. Curcumin 200 mg/kg dozunda ve intraperitoneal olarak uygulandı. Deney sonunda tüm hayvanlardan histopatolojik ve biyokimyasal çalışmalar için doku örnekleri alındı. Oksidatif hasarlanmanın tespiti için biyokimyasal olarak doku örneklerinde malondialdehit ve katalaz enzim aktivitesi ile histopatolojik değerlendirme yapıldı. Araştırmada; tanımlayıcı istatistikler pearson  $\chi^2$  analizi ve Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı.

Malondialdehit değeri bakımından gruplar arası kıyaslamalarda kontrol grubu ile iskemi reperfüzyon grubu arasında anlamlı bir fark olmasına karşın ( $p<0.05$ ), diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Katalaz değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Histopatolojik incelemede kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark varken ( $p<0.05$ ) kontrol grubu dışında kalan diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Sonuç olarak oluşturduğumuz deneysel ince bağırsak iskemi reperfüzyon modelinde intraperitoneal curcumin uygulamasının doku hasarının göstergesi olan malondialdehit, katalaz ve histopatolojik hasarı azaltmada etkili olmadığını düşündürdü.

**Anahtar Kelimeler:** ince bağırsak, iskemi reperfüzyon, malondialdehit, antioksidan, curcumin.

## **THE EFFECTIVENESS OF CURCUMIN ON THE ISCHEMIA REPERFUSION INJURY OF THE SMALL INTESTINE IN RATS**

### **SUMMARY**

As ischemia reperfusion is one of the most encountered clinical issues in surgical cases, for this reason the effectiveness of curcumin on oxidative damage was researched in the model of the small intestine.

Forty eight rats which the Sprague-Dawley species were used in this study. They are composed of 6 groups each consist of 8 rats. The rats were divided into control group, dimethylsulfoxide applied control group, ischemia group, ischemia reperfusion group, curcumin given group at the 15<sup>th</sup> minute during ischemia and curcumin given group at the beginning of reperfusion. Except control group, ischemia was performed for 45 minutes and reperfusion was applied for 60 minutes. Curcumin (200 mg/kg) was administered by intraperitoneally. After the experiment, tissue samples were taken out for both histopathological and biochemical examinations. Oxidative damage is evaluated via malondialdehyde and catalase enzymes both biochemically and histopathologically on the tissue samples. Descriptive statistics, Pearson's  $\chi^2$  analysis and Kolmogorov-Smirnov test were used for statistical analyses.

There was a statistically significant difference in malondialdehyde values between control and ischemia reperfusion group ( $p < 0.05$ ) but other groups. Curcumin treatment was not significantly predictive regarding of malondialdehyde values ( $p > 0.05$ ). No significant difference is determined amongst the groups considering catalase values. The histopathologic

findings of control group was significantly different from the others ( $p < 0.05$ ). However there was no histopathological difference between ischemia reperfusion and curcumin treatment groups ( $p > 0.05$ ).

In conclusion, it is thought that the administration of curcumin is not effective agent on decreasing histopathological injury and oxidative stress parameters in the model of experimental intestinal ischemia reperfusion in rats.

**Key words:** small intestine, ischemia reperfusion, malondialdehyde, antioxidant, curcumin.

## KAYNAKLAR

1. Chen Y, Milles AM, Grisham BM. Pathophysiology and reactive oxygen metabolites. In: Ahmad S. (Eds.). Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. New York: Chapman and Hall Co;1995.p.62-95.
2. Yokota R, Fukai M, Shimamura T, Suzuki T, Watanabe Y, Nagashima K et al. A novel hydroxyl radical scavenger, nicaraven, protects the liver from warm ischemia and reperfusion injury. *Surgery* 2000;127(6):661-9.
3. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004;49(9):1359-77.
4. Eybl V, Kotyzova D, Bludovska M. The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicol Lett* 2004;151(1):79-85.
5. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 2005;223(2):181-90.
6. Thiyagarajan M, Sharma SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci* 2004;74(8):969-85.
7. Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Arch Gerontol Geriatr* 2002;34(1):37-46.
8. Şeftalioğlu A. Genel ve özel İnsan embriyolojisi. Ankara: Tıp & Teknik Yayıncılık, 1998:291-313.

9. T.W.Sandler (Çeviri:C. Başaklar). Langman's medikal embryology. Ankara: Palme Yayıncılık; 1996:231-55.
10. Başaklar C. Yenidoğanın cerrahi hastalıkları. Ankara: Palme Yayıncılık, 1994:151-5.
11. Erimoğlu C. İnsan anatomisi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi, 1990:132-5.
12. Yıldırım M. Topografik anatomi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2000:244-8.
13. Özkuş K, Demirci S, Barlas BO. İnce bağırsak anatomisi. J Surg Med Sci 2005;1(8):1-2.
14. Kalaycı G. Genel cerrahi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002:374-5,1299-3000.
15. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002;33(2):110-8.
16. Vejchapipat P, Williams SR, Spitz L, Pierro A. Intestinal metabolism after ischemia-reperfusion. J Pediatr Surg 2000;35(5):759-64.
17. Ayvaz S. N-Asetilsisteinin intestinal iskemi-reperfüzyon hasarına etkisi (tez). Edirne:Trakya Üniversitesi Tıp Fak; 2005.
18. Dixon M.F. The small intestine. In: Whitehead R (Eds). Gastrointestinal and Oesophageal Pathology. Livingstone: Curchill;1995.p.665-77.
19. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Ed). Temel patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2000:3-24.
20. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. J Pathol 2000;190(3):255-66.
21. Mitsuda S, Brandt LJ. Pathology of intestinal ischemia. Surgical Clinics of North America 1992;72(1):43-63.
22. Ozturk C, Avlan D, Cinel I, Cinel L, Unlu A, Camdeviren H et al. Selenium pretreatment prevents bacterial translocation in rat intestinal ischemia/reperfusion model. Pharmacol Res 2002;46(2):171-5.
23. Yasuhara H. Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology. Surg Today 2005;35(3):185-95.
24. Hanglud U, Bergqvist D. Intestinal ischemia-the basics. Langenbeck's Arch Surg 1999;384:233-8.

25. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993;21(9):1376-86.
26. Hatungil R. Serbest radikallerin yol açtığı doku hasarı. *MEÜ Tıp Fak Derg* 2002;3:460-9.
27. Van Ye TM, Roza AM, Pieper GM, Henderson J Jr, Johnson CP, Adams MB. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage. *J Surg Res* 1993;55(5):553-8.
28. Urbaniak J.R, Seaber A.V, Chen L. Assessment of ischemia and reperfusion injury. *Clin Orthop Relat Res* 1997;334:30-6.
29. Schoenberg MH, Beger HG. Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem Biol Interact* 1990;76(2):141-61.
30. Türkyılmaz Z. Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve eksojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fak; 2003.
31. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994;344(8924):721-4.
32. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2001;426(1-2):1-10.
33. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81(5):637-47.
34. Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest radikaller. *MEÜ Tıp Fak Derg* 2000;1:52-8.
35. Gunel E, Caglayan F, Caglayan O, Dilsiz A, Duman S, Aktan M. Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *J Pediatr Surg* 1998;33(10):1536-9.
36. Aktan ÖA, Yalçın SA. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites and the surgeon. *Turk J Med Sci* 1998;1-5.
37. Aydın ÇY. Deneysel testis torsiyonunda doku hasarının önlenmesinde N-asetilsisteinin rolü (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fak; 2005.
38. Cui K, Luo X, Xu K, Ven Murthy MR. Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004;28(5):771-99.



39. Shah PC, Brodin RE, Amenta PS, Deshmukh DR. Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury. *Mech Ageing Dev* 1999;107(1):37-50.
40. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000;9:31-9.
41. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998;11:336-41.
42. Yalçın SA. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998;2:342-7.
43. Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol Rev* 2002;54(2):271-84.
44. Aebi H. Catalase in-vitro assay methods. *Methods Enzymol* 1994;105:121-6.
45. Oral T. İnsan biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002:665-74.
46. Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett* 2000;115(3):195-204.
47. Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, Chrul S, Bandorowicz-Pikula J, Sikora E et al. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Lett* 1998;433(3):287-93.
48. Gautam SC, Xu YX, Pindolia KR, Janakiraman N, Chapman RA. Nonselective inhibition of proliferation of transformed and nontransformed cells by the anticancer agent curcumin (diferuloylmethane). *Biochem Pharmacol* 1998;55(8):1333-7.
49. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin. *Life Sci* 2006;78(18):2081-7.
50. Jayaprakasha G.K, Rao L.J.M, Sakariah K. Chemistry and biological activities of *C. Longa*. *Trends Food Sci Tech* 2005;16:533-48.
51. Araujo CC, Leon LL. Biological activities of *Curcuma longa*. *L Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96(5):723-8.
52. Limtrakul P, Lipigorngoson S, Namwong O, Apisariyakul A, Dunn FW. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett* 1997;116(2):197-203.

53. Ahsan H, Parveen N, Khan NU, Hadi SM. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chem Biol Interact* 1999;121(2):161-75.
54. Wright JS Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *J Mol Struct* 2002;591(1-3):207-17.
55. Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2004 ;36(10):1967-80.
56. Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nde L. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001;43(2):145-50.
57. Piper JT, Singhal SS, Salameh MS, Torman RT, Awasthi YC, Awasthi S. Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30(4):445-56.
58. Singh AK, Sidhu GS, Deepa T, Maheshwari RK. Curcumin inhibits the proliferation and cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cell. *Cancer Lett* 1996;107(1):109-15.
59. Manson MM, Gescher A, Hudson EA, Plummer SM, Squires MS, Prigent SA. Blocking and suppressing mechanisms of chemoprevention by dietary constituents. *Toxicol Lett* 2000;112-113:499-505.
60. Shah BH, Nawaz Z, Pertani SA, Roomi A, Mahmood H, Saeed SA et al. Inhibitory effect of curcumin, a food spice from turmeric, on platelet-activating factor- and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca<sup>2+</sup> signaling. *Biochem Pharmacol* 1999;58(7):1167-72.
61. Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez-Tortosa CL et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999;147(2):371-8.
62. Ozacmak V.H, Sayan H, Arslan S.O, Altaner S, Aktas R.G. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury by ischemia and reperfusion of rat ileum. *Life Sci* 2005;76:1578-88.
63. Song Y, Sonawane ND, Salinas D, Qian L, Pedemonte N, Galietta LJ et al. Evidence against the rescue of defective DeltaF508-CFTR cellular processing by curcumin in cell culture and mouse models. *J Biol Chem* 2004;279(39):40629-33.

64. Strasser EM, Wessner B, Manhart N, Roth E. The relationship between the anti-inflammatory effects of curcumin and cellular glutathione content in myelomonocytic cells. *Biochem Pharmacol* 2005;70(4):552-9.
65. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipidperoxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.
66. Chui CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970;101(4):478-83
67. Parmaksız ME, Kazez A, Gürsü MF, Gülcü F, Özel ŞK, Köseoğulları AA. İntestinal iske-mi-reperfüzyon modelinde plazma homosistein, vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> ve folik asit düzeyleri. *Pediatr Cerrahi Derg* 2005;19(3):101-5.
68. İlhan H, Alatas O, Tokar B, Çolak O, Paşaoğlu O, Koku N. Effects of the anti-ICAM-1 monoclonal antibody, allopurinol, and methylene blue on intestinal reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2003;38(11):1591-5.
69. Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, Atila K, Sarıoğlu S. Sıçandaki renal iske-mi-reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travma Derg* 2004;10(3):160-7.
70. Czyrko C, Steigman C, Turley DL, Drott HR, Ziegler MM. The role of reperfusion injury in occlusive intestinal ischemia of the neonate: malonaldehyde-derived fluorescent products and correlation of histology. *J Surg Res* 1991;51(1):1-4.
71. Byrka-Owczarek K, Steplewska M.K, Krason M, Bohosiewicz J, Koszutski T, Wojtynek G. The evaluation of the protective action of antioxidants on small intestine of rabbits experimentally injured by ischemia and reperfusion. *J Pediatr Surg* 2004;39(8):1226-9.
72. Boyd AJ, Sherman IA, Saibil FG, Mamelak M. The protective effect of gamma-hydroxybutyrate in regional intestinal ischemia in the hamster. *Gastroenterology* 1990;99(3):860-2.
73. Yoshida WB, Alasio T, Mazziotta R, Qin F, Kashani M, Lee S et al. Effect of alpha-tocopherol, taurine and selenium on the attenuation of ischemia/reperfusion injury of splanchnic organs. *Cardiovasc Surg* 1998;6(2):178-87.
74. Schmeling DJ, Caty MG, Oldham KT, Guice KS. Cytoprotection by diclofenac sodium after intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 1994;29(8):1044-8.

75. Ceran C, Sonmez K, Turkyilmaz Z, Demirogulları B, Dursun A, Duzgun E, Basaklar AC, Kale N. Effect of bilirubin in ischemia/reperfusion injury on rat small intestine. *J Pediatr Surg* 2001;36(12):1764-7.
76. Juel IS, Solligard E, Lyng O, Stromholm T, Tvedt KE, Johnsen H et al. Intestinal injury after thoracic aortic cross-clamping in the pig. *J Surg Res* 2004;117(2):283-95.
77. Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos* 1999;27(4):486-94.
78. Chan M.M.Y, Huang H.I, Fenton M.R, Fong D. InVivo Inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties. *Biochemical Pharmacology* 1998;55:1955-62.
79. Ghoneim AI, Abdel-Naim AB, Khalifa AE, El-Denshary ES. Protective effects of curcumin against ischaemia/reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol Res* 2002;46(3):273-9.
80. Stallion A, Kou TD, Latifi SQ, Miller KA, Dahms BB, Dudgeon DL, Levine AD. Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation. *J Pediatr Surg* 2005;40(3):470-7.
81. Hierholzer C, Kalff JC, Audolfsson G, Billiar TR, Tweardy DJ, Bauer AJ. Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury. *Transplantation*.1999;15;68(9):1244-54.

## **EKLER**



**EK I**  
T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ETİK KURUL KARARLARI

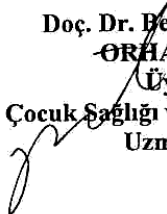
Oturum Sayısı:


Karar Tarihi:


13-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 25.11.2004 tarihinde Etik Kurul onayı almış olan "Sıçanlarda Oluşturulan Bağırsak İskemi Reperfüzyon Hasarında Curcumin'in Etkisi" adlı TÜTFEK-2004/146 protokol no.lu Araş.Gör.Dr.Turan CEYLAN'ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı.

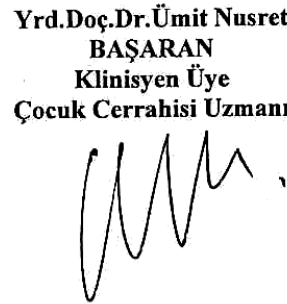
Yapılan inceleme sonucunda çalışmanın Fakültemiz Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalında yapılacağı ve yürütücüsünün Yrd.Doç.Dr.Mustafa İNAN olduğu; araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılan değişikliğin uygun olduğuna ve yeni protokol değişikliğiyle Dr.Burhan AKSU'nun katılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

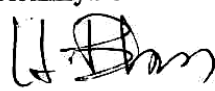
  
**Doç.Dr.Dikmen DÖKMECİ**  
**BAŞKAN**  
Farmakolog


  
**Doç. Dr. Betül BİNER**  
**ÖRMANER**  
Üye  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları  
Uzmanı

  
**Doç. Dr. Dilek MEMİŞ**  
Klinisyen Üye  
Anesteziyoloji Uzmanı

  
**Doç.Dr.Betül UĞUR ALTUN**  
Klinisyen Üye  
İç Hastalıkları Uzmanı

  
**Yrd.Doç.Dr.Ümit Nusret**  
**BAŞARAN**  
Klinisyen Üye  
Çocuk Cerrahisi Uzmanı

  
**Yrd.DoçDr.Hakan ERBAŞ**  
Üye  
Biokimya Uzmanı

  
**Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA**  
Üye  
Patoloji Uzmanı

Posta Adresi:  
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Güllapoğlu Yerleşkesi  
22030 EDİRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52