

T. C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN İNCE BAĞIRSAK
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
LİGUSTRAZİN'İN ETKİSİ

Dr. Hasan POLAT

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2012

T. C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN İNCE BAĞIRSAK
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
LİGUSTRAZİN'İN ETKİSİ

Dr. Hasan POLAT

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof.Dr.Bekir YAŞAR

ESKİŞEHİR

2012

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr.Hasan POLAT'a ait 'Sıçanlarda oluşturulan ince bağırsak iskemi reperfüzyon hasarında Ligustrazin'in etkisi'' adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Bekir YAŞAR
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr.Enver İHTİYAR
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr.Adnan ŞAHİN
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu' nun
Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Bekir YAŞAR
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocam Prof.Dr. Bekir YAŞAR'a, ,Histoloji bölümünden Yard.Doç.Dr.Onur UYSAL'a, Biyokimya bölümünden Prof. Dr. Mine İNAL ve Araş. Gör. Eda ÖZÇELİK'e İstatistik bölümünden Doç. Dr. Canan BAYDEMİR'e yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Polat,H. Sıçanlarda oluşturulan ince bağırsak iskemi reperfüzyon hasarında Ligustrazin'in etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir,2012.İ-R hasarı, cerrahi uygulamalarda sık rastlanan bir fenomendir. Klinik olarak İ-R hasarı transplantasyonda, travma cerrahisinde, vasküler cerrahide ve düşük kan akımının olduğu durumlarda önemlidir.Bu hasarın sonuçları, yerel ve uzak doku hasarı ve beyin ölümüdür. Bu nedenle, bu konuda günümüzde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Vazodilatatör etkisi olan ve yapılan çalışmalarda Kalsiyum kanal blokeri olabileceği belirtilen ligustrazin'in İskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stresi (antioksidan), nötrofil infiltrasyonu ve apopitozisi azalttığı gösterilmiştir.Bu çalışmada Ligustrazin'in iskemik ince bağırsaklar üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu amaçla ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 40 adet erkek Wistar cinsi rat randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Grup S'e (n=7) sham operasyonu; Grup Mİ'ye (n=7) 45 dk'lık mezenterik iskemi ve takiben 60 dk'lık reperfüzyon; Grup MİL'e (n=7) 45 dk'lık mezenterik iskemi, takiben 60 dk'lık reperüzyon ve reperfüzyon başında 80 miligram/kilogram (mg/kg) 2,3,5,6-Tetramethylpyrazine(TMP) 160 mg, 16 ml %0.9 luk izotonikle çözüldü, 250 gramlısıçanlara 2 mililitre intra peritoneal(i.p) Ligustrazin verildi. Tüm ratlardan reperfüzyon sonunda doku MDA ve SOD düzeyi, doku doku nitrat düzeyi için 5'er cm'lik doku örneği ve histopatolojik inceleme için 10'ar cm'lik jejunum ve ileum spesmeni alındı ve ratlar dekapite edildi. İncelenen her parametre istatistiksel analize tabi tutuldu.Yapılan işlem ve analizler ligustrazin'in mezenterik İ-R'da hem biyokimyasal olarak lipit peroksidasyonunu düzelttiği, hem de histopatolojik olarak jejunum ve ileumdaki İ-R hasarının şiddetini azalttığını gösterdi.

Anahtar Kelimeler:İnce barsak, İskemi-reperfüzyon, Ligustrazin, Nitrik oksit, MDA,SOD

ABSTRACT

Polat, H.The effect of Ligustrazin in the damage of small intestine ischemia reperfusion caused on rats.Eskisehir Osmangazi University, Department of General Surgery, Thesis on Expertise in Medicine, Eskişehir, 2012.I-R damage is prevalent phenomenon in surgery applications. Clinically I-R damage is important in transplantation, trauma surgery, and vascular surgery and in lower blood flow situations. The consequences of such damage, local and remote tissue harm and brain deaths. For this reason, nowadays many studies are conducted in this subject. In ischemia reperfusion damage of ligustrazin having Vazodilatator effect and specified as possibly being Calcium channel blocker is shown as reducing oksidative stress (antioksidan), notrofil infiltration and apopitozisi. In this study, the effect of Ligustrazin is examined on ischemic small intestine. To this end, 40 of male rat of type Wistar having weights of 200-250 grams are separated randomly into 3 groups. To Group S (n=7) sham operation; to Group Mİ (n=7) 45 mins. of mezenteric ischemia and following 60 mins. of reperfusion; to Grup MİL (n=7) 45 mins. of mezenteric ischemia, following 60 mins. of reperfusion and before reperfusion 80 miligrams/kilogram (mgs/kg) 2,3,5,6-Tetramethylpyrazine(TMP) 160 mg, solved with izotonic of 16 ml %0.9, To rats of 250 grams are given 2 mililitre intra peritoneal(i.p) Ligustrazin. After reperfusion, tissue MDA and SOD level, 5 cms of tissue sample for tissue-tissue nitrat level, 10 cms of jejunum and ileum specimen for histopatologic investigation are taken from all rats and rats are decapited. Every parameters examined also statistically analyzed. Conducted processes and analysis show that ligustrazin not only improves biochemically lipid peroksidation in mezenteric I-R but also histopatologically reduces the intension of I-R damage in jejunum and ileum.

Key Words:Small intestine, Ischemia, Ligustrazin, Nitricoxide, MDA,SOD

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Viseral Anatomi	3
2.2 Viseral Histoloji	5
2.3 Viseral Dolaşım	5
2.4 Viseral İskemi Sendromları	6
2.5 İskemi Reperfüzyon Hasarı	10
2.5.1 Serbest Oksijen Radikalleri	11
2.5.2 Polimorf Nüveli Lökositler	17
2.5.3 Komplemanın Rolü	19
2.5.4 Endotel Hücresinin Rolü	20
2.6 Malondialdehid (MDA)	20
2.7 Antioksidan Savunma Sistemleri	21
2.8 Ligustrazin	22
2.8.1 Genel Bilgiler	22
2.8.2 Doğada ve Besinlerde Bulunan Pyrazineler	23
2.8.3 İntra Venöz Uygulamasıyla Ligustrazine	24
2.8.4 Ağız Yoluyla Ligustrazine	24
2.8.5 Uygulamalar	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1 Deney Hayvanları	27
3.2 Çalışma Grubu	27
3.2.1 Cerrahi Teknik ve Tedavi Uygulanması	27

	Sayfa
3.3 Biyokimyasal İnceleme	28
3.4 Homojenat Hazırlanması	28
3.5 Doku Malondialdehit Düzeyi Tayini	29
3.6 Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Tayini	29
3.7 Doku Nitrik Oksit Tayini	30
3.8 Kullanılan Çözeltiler	30
3.9 İnce Bağırsak Dokusunun Histolojik İncelenmesi	30
3.10 İstatistiksel Değerlendirme	31
4. BULGULAR	33
4.1 Biyokimyasal Bulgular	33
4.1.1 Doku Malondialdehit Düzeylerinin Sonuçları	33
4.1.2 Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Sonuçları	34
4.1.3 Doku Nitrat Düzeylerinin Sonuçları	35
4.2 Histolojik Bulgular	37
4.2.1 İleum Spesmenlerinin Histolojik Değerlendirme Sonuçları	37
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
ÇA	Çöliak Arter
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
ET	Endotelin
GİS	Gastrointestinal Sistem
Gpx	Glutasyon Peroksidaz
Grup S	Sham Grubu
GSH	Glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksiti
ICAM-1	İnterselüler Adhezyon Molekülü 1
IL-1	İnterlökin-1
İMA	İnferior Mezenterik Arter
İ-R	İskemi-Reperfüzyon
KDH	Ksantin Dehidrojenaz
KMİ	Kronik Mezenterik İskemi
KO	Ksantin Oksidaz
LT-B ₄	Lökotrien B ₄
MCP- 1	Monosit Kemoatraktan Protein
MDA	Malondialdehit
MIP-2	Makrofaj İnflamatuvar Protein
Mİ	Mezenter İskemi
MİL	Mezenter İskemi Ligustrazine
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NO	Nitrik Oksit
NOMİ	Non-Oklüzif Mezenterik İskemi
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O ₂	Oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikal Anyon
OH ⁻	Hidroksil Radikali
OHAI	Oriental Healing Arts Institute
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
PECAM-1	Trombosit-Endotel Hücresi Adhezyon Molekülü 1

PG	Prostaglandin
PGI2	Prostoglandin I2
PMNL	Polimorf Nüveli Lökositler
SMA	Superior Mezenterik Arter
SMV	Superior Mezenterik Ven
SNAP	S-Nitrozo-N-Asetil-Penisilamin
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
TMP	Tetramethylpyrazine
TNF-a	Tümör Nekrozis Faktör
TXA2	Tromboxan A2
VCAM-1	Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü 1
VİP	Vazoaktif İntestinal Polipeptid

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Süperior mezenterik arter ve dalları	4
2.2.İnferior mezenterik arter ve dalları	6
3.1. Tetramethylpyrazine'in kimyasal yapısı	23
3.2. Ferulic asitin kimyasal yapısı	26
4.1. Sham grubundan alınan normal ileum spesmeninin mikroskopik görünümü	38
4.2. İ-R grubundan alınan ileum spesmeninin mikroskopik görünümü	39
4.3.İ-R+Ligustrazin grubundan alınan ileum spesmeninin mikroskopik görünümü	40

TABLolar

	Sayfa
4.1.Ratların doku MDA düzeyleri değerlerinin gruplara göre dağılımı	33
4.2. Gruplara göre doku MDA düzeylerinin ortalama ve standart hata değerleri	34
4.3.Ratların doku süperoksit enzim düzeylerinin gruplara göre dağılımı	35
4.4.Gruplara göre doku süperoksit dismutaz düzeylerinin ortalama ve standart hata değerleri	35
4.5.Ratların doku nitrat düzeyleri değerlerinin gruplara göre dağılımı	36
4.6.Gruplara göre doku nitrat düzeylerinin ortalama ve standart hata değerleri	36
4.7.İleum spesmenlerinin gruplara göre Chiu sınıflaması skorlarının dağılımı	37
4.8.Gruplara göre ileum spesmenlerinin Chiu sınıflaması skorları, ortalama ve standart hata değerleri	40

1. GİRİŞ

İskemi-Reperfüzyon (İ-R) hasarı tüm organ ve sistemleri ilgilendiren, dokulara yeterli oksijen (O₂) sağlanamamasının tetiklediği hücreyel olaylar dizisi ve son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan biridir. Klinik olarak İ-R hasarı intestinal cerrahi, organ transplantasyonu, travma cerrahisi ve vasküler cerrahide önem kazanmaktadır (1).

İntestinal iskemi çeşitli nedenlerle ortaya çıkan etiyojisine göre mortalite ve morbiditesi değişen klinik bir durumdur. Strangülyasyon ileusu ve akut mezenterik iskemi en sık karşılaşılan nedenlerdir (2). Akut mezenterik iskemiler erken teşhis edilmeleri halinde sonuçları yüz güldürücü olmakla birlikte, tanı kriterlerinin kesin temellere dayanmaması tanıda gecikmelere yol açmaktadır. İskemi sonrası reperfüzyon, hasarlı dokuların iyileşmesi için bir önkoşul olmasına rağmen hasarı daha da artırabilmektedir (3). Reperfüzyon ile iskemik dokuda oluşan Serbest Oksijen Radikalleri'nin (SOR), bu hasardan sorumlu olduğu ortaya konulmuş ve bazı farmakolojik ajanlar ile oluşan reperfüzyona bağlı hasarın azaltılabileceği veya önlenilebileceği yine bir dizi deneysel araştırmayla kanıtlanmıştır(4). Kliniğimizde bu konuda yapılan araştırmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (5, 6, 7).

1980 yılında Furchgott ve Zawadzki (8) Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör'ü (EDRF) izole etmişler ve daha sonra bu faktörün Nitrik Oksit (NO) olduğu anlaşılmıştır (9). NO'in primer kullanım alanı kalp hastalıkları ve periferik damar patolojileridir. Vazoaktif amin yapısındaki NO, endojen olarak endotel hücreleri tarafından salgılanmakta ancak iskemi sonrası reperfüzyon esnasında salınımı azalarak ya da vazodilatatör etkisini göstermeden hemoglobin ve SOR tarafından inaktive edilmektedir (10). İ-R hasarının azaltılmasında ekzojen nitro-vazodilatatör ajanların yanı sıra EDRF prekürsörleri ve agonistlerinin de etkili olduğu gösterilmiştir (11).

Vazodilatatör etkisi olan ve yapılan çalışmalarda Kalsiyum kanal blokeri olabileceği belirtilen Ligustrazin'in (Tetramethylpyrazine-TMP) hipoksik dokularda Prostoglandin I₂ (PGI₂) düzeyini artırarak ve Tromboxan A₂ (TXA₂) seviyesini azaltarak vazodilatasyona neden olduğu (12, 13), İ-R hasarında oksidatif stres,

nötrofil infiltrasyonu, trombosit agregasyonu ve apopitozisi azalttığı gösterilmiştir (13). Bu çalışmada intestinal İ-R hasarında ligustrazinin etkisinin araştırılması planlanmıştır. Bu şekilde Genel Cerrahi klinik uygulamalarında sık rastlanan ve günümüzdeki tıbbi imkanlara rağmen yüksek morbidite ve mortalitesini koruyan akut mezenterik iskemi sendromlarının tedavisine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

İ-R hasarı birçok dahili ve cerrahi olayın fizyopatolojisinde temel rol oynamakta ve bağırsakların içiçe geçmesi, akut mezenter arter tıkanması ve hemodinamik şok gibi durumlardan sonra meydana gelebilmektedir (14). Mezenter İ-R'ye bağlı oluşan lezyonlar ince bağırsak naklinde de görülebilmektedir (15). Mezenter arterlerdeki İ-R sonrasında akut vasküler yetmezlik ve çoklu organ yetmezliği gelişebilmektedir ve bu durumlar morbidite ve mortalite oranlarını artırmaktadır (16). İnce bağırsak İ-R hasarında meydana gelen patofizyolojik olayların değerlendirilmesi açısından intestinal morfolojinin kısaca gözden geçirilmesinin yararlı olacağı düşünülmüştür.

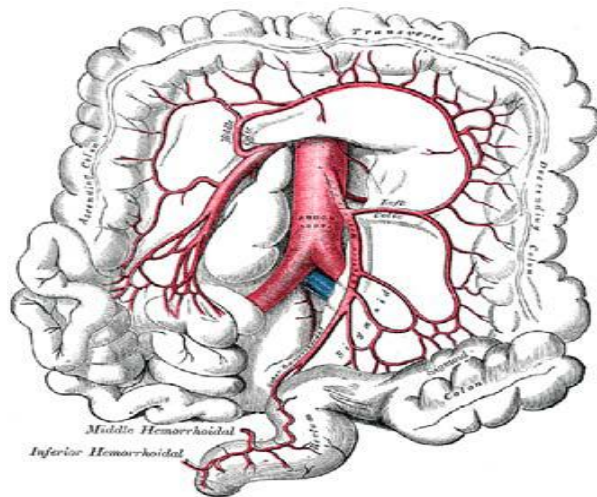
2.1 Viseral Anatomi

İnce bağırsaklar pılordan çekuma kadar uzanmaktadır. En önemli fonksiyonu olan absorpsiyon işlevi; yapısal, fizyolojik ve kimyasal faktörlerin entegrasyonuna bağlıdır. Mide, safra, pankreas ve bağırsak sekresyonlarının nörohormonal regülasyonu ve söz konusu organların motor fonksiyonu, besin maddelerinin sindirim ve emilimi için gerekli olan unsurlardır (17). İnce bağırsakların absorpsiyon alanını genişleten mukozal kıvrımlar; villuslar ve mikrovillusların yanı sıra çeşitli özellikteki intestinal hareketler sindirim ve emilimin etkinliğini artırmaktadır (18). Peritonun geniş bir kıvrımı olan mezenter ise ince bağırsağı batın arka duvarına tespit etmekle birlikte kan damarları, sinirler, lenfatikler ve değişken oranda yağ dokusu içermektedir (17).

İnce bağırsağın kan akımı abdominal aortun ikinci büyük dalı olan Superior Mezenterik Arter (SMA) tarafından sağlanmaktadır (Şekil 2.1). SMA, pankreasın unsinat çıkıntısının ve duodenum üçüncü kısmının önünden geçerek pankreas, duodenum, tüm ince bağırsaklar, çıkan ve transvers kolonu besleyen dallarına ayrılmaktadır. İntestinal arterler, mezenter içinde dallanarak ince bağırsağı besleyen düz dallar vermeden önce komşu dallarla arteriyel kollateral arkuslar oluşturacak şekilde tekrar birleşirler. İntestinal arterler, ince bağırsağı mezenterik kenarından anti-mezenterik kenara doğru seyrederek mukoza tabakaları arasına dallar

gönderirler. İnce bağırsağın venleri ise Vena porta'nın ana dalı olan Superior Mezenterik Ven'e (SMV) drene olur (19).

Peyer plakları ince bağırsağın submukozasında kümeleşen lenf nodlarıdır. Bu lenf nodları ileumda bol, jejunumda ise az miktardadır. İnce bağırsağın lenfatik drenajı üç mezenter lenf nodu engelini geçer. Birincisi, ince bağırsak duvarına yakın olanlar, ikincisi mezenter kollateral ağa komşu olanlar, üçüncüsü ise SMA'in kökü boyunca yerleşenlerdir. İnce bağırsağın lenfatik drenajı emilen lipidlerin dolaşıma katılmasının ana yoludur (19). İnce bağırsağın mukozal yüzeyi, Kerckring valvleri adı ile bilinen birçok sirküler mukozal kıvrım içerir. Bu kıvrımlar 8-10 mm yüksekliğinde, duodenum ve proksimal jejunumda daha uzun ve çok sayıda, distalde ise daha kısa ve sayıca daha azdır (17). Sempatik ve parasempatik sistemden oluşan Otonom Sinir Sistemi ince bağırsaklara efferent lifler gönderir. Parasempatik preganglionik lifler vagus sinirleri boyunca seyrederek bağırsağın intrinsik pleksuslarının nöronları ile sinapslar oluştururlar. Sempatik preganglionik lifler ise spinal kanalın 9. ve 10. torasik segmentlerinden çıkarak superior mezenterik ganglionla sinaps oluştururlar. Postganglionik sempatik fibriller SMA ile birlikte bağırsağa doğru ilerlerler. İntestinal ağrı duyusu torasik viseral afferent sinirlerle taşınır (20).



Şekil 2.1 Süperior mezenterik arter ve dalları

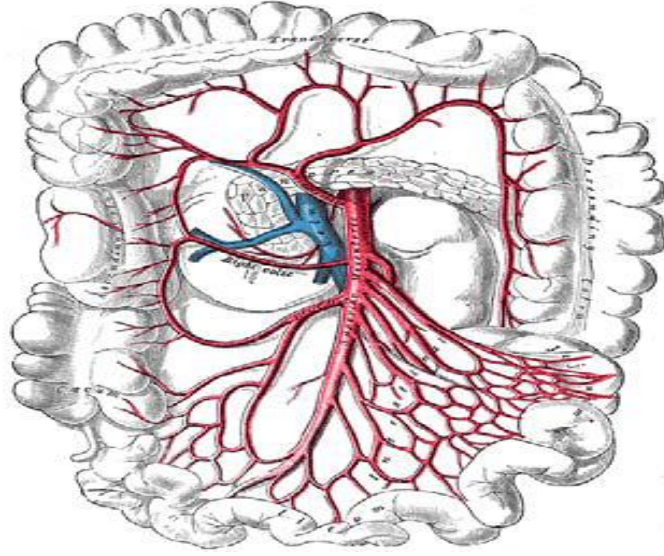
2.2 Viseral Histoloji

İnce bağırsak dört tabakadan oluşmuştur. Bunlar lümeden dışa doğru; mukoza, submukoza, muskularis ve serozadır (19). Mukoza tabakası epitel, lamina propria ve muskularis mukoza tabakalarından meydana gelmektedir. Mukozal yüzey villuslar ve Lieberkühn kriptaları olmak üzere iki önemli yapısal özellik içerir. Villuslar, kolumnar epitelyal yüzey ve lamina proprianın hücrel konnektif bağ dokusu çekirdeğine sahiptir. Her villus lakteal adı verilen; merkezi lenfatik damar, küçük arter, ven ve kapiller ağ içerir. Lieberkühn kriptaları veya intestinal glandlar villus tabanına komşu olarak bulunur ve muskularis mukozaya uzanır. İntestinal epitel ve muskularis mukoza arasındaki lamina propria; kan ve lenf damarları, sinir lifleri, düz kas lifleri, fibroblastlar, makrofajlar, plazma hücreleri, lenfositler, eozinofiller ve mast hücreleri ile birlikte konnektif doku elemanları içerir. Muskularis mukoza, mukozayı submukozadan ayıran ince bir düz kas tabakasıdır. Villuslarda bulunan kolumnar epitel hücreleri absorpsiyondan sorumludur. 22-26 mikron uzunluğunda olan bu hücreler, fırçamsı lüminal kenara sahiptir ve bazalde yerleşmiş nükleusları vardır. Mikrovilluslar epitel hücrelerinin emilim alanını önemli oranda artırmaktadır (21). Submukoza; damarlar, sinirler ve lenfatikler içeren güçlü fibroelastik ve areolar konnektif bir dokudur. İnce bağırsağın kas tabakası; içte sirküler, dışta longitudinal olmak üzere iki tabakadan oluşmuştur. İntestinal düz kas fibrilleri 250 mikron boyutunda iğsi yapılardır. Seroza ise ince bağırsağın en dış tabakasını oluşturan viseral peritonun bir parçasıdır (19).

2.3 Viseral Dolaşım

Bağırsakların arteriyel dolaşımı Çöliak Arter (ÇA), SMA ve İnfierior Mezenterik Arter (İMA) tarafından sağlanır (Şekil 2.2). Anatomik varyasyonlar fazla olmakla birlikte ÇA, duodenumu, hepatobiliyer sistemi ve dalağı; SMA, ince bağırsak ve kolonun proksimal yarısını ve İMA ise distal kolon ve rektumu beslemektedir. ÇA ve SMA, suprarenal abdominal aortanın ön yüzünden; İMA ise sol renal arter ile aort bifurkasyonu arasından çıkar. Bu anatomik ilişkiler arteriyel oklüzif lezyonların çoğunluğunun arterlerin ilk birkaç cm.sinde meydana gelmesi

açısından önemlidir (22). Gastrointestinal Sistem’i (GİS) bağırsak iskemisinden koruyan üç major viseral damar arasında bol miktarda arteriyel kollateral mevcuttur. ÇA ve SMA arasındaki kollateraller superior ve inferior pankreatikoduodenal arterlerden köken almaktadır. İMA; Drummond’un marjinal arteri, Riolan arkusu ve kıvrımlı mezenterik arterler olarak bilinen retroperitoneal kollateral damarlar vasıtasıyla SMA ile kollateral arteriyel akım oluşturur (23). İntestinal kan akımının regülasyonu hormonal ve nöral sistemlerce düzenlenir. Glukagon, Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP), NO gibi splanknik vazodilatatörler ve Pitressin gibi vazokonstriktörler hormonal regülasyonu; otonom innervasyon ise nöral regülasyonu sağlamaktadır (19).



Şekil 2.2İnferior mezenterik arter ve dalları

2.4 Viseral İskemi Sendromları

Mezenterik iskemi sendromlarının dekatlar boyunca sağlanan cerrahi deneyime rağmen klinik önemini korumasının nedeni, tanı ve tedavisinin gecikmesidir. Bağırsak nekrozu geliştiğinde mortalite oranları %50-80 arasında değişmektedir (24). Mezenterik iskemi sendromları semptomatik prezentasyonlarına göre akut-kronik; vasküler orijinine göre arteriyel-venöz olarak sınıflandırılabilirler (22). Akut mezenterik iskemi çoğunlukla çok şiddetli yaygın karın ağrısı oluşturur. Spazma bağlı olan bu ağrıya kusma ve diare eşlik edebilir. Bağırsak mukozası iskekiye en duyarlı bölge olduğu için mukozal dökülme kanlı ishale neden olabilir ve rektal

inceleme sırasında kanlı gaita görülebilir. Fizik muayene bulgularıyla uyumsuz şiddetli ağrı, AMİ'nin en değerli bulgusudur. Lokal veya generalize peritonit bulguları ise bağırsakta transmural nekroz geliştiğinin göstergesidir ve kötü prognozu gösterir (22). İntestinal iskemi tanısında kan testlerinin klinik önemi bulunmamakla birlikte hastalarda lökositoz ($25.000-40.000/mm^3$) ve metabolik asidoz olabilir. AMİ'nin morbidite ve mortalitesi dikkate alındığında, konvansiyonel görüntüleme yöntemleri beklenmeden definitif arteriyografik inceleme yapılmalıdır. Klinik olarak gerekliyse selektif mezenterik arteriyel enjeksiyonların venöz fazı incelenmelidir (25). Mezenterik emboli ani başlangıçlı, şiddetli karın ağrısı ile karakterizedir. Bu embolilerin neredeyse tamamı kardiyak kökenlidir. Bu hastalar sıklıkla ciddi periferik arteriyel hastalık hikayesi ve/veya fizik muayene bulgularına sahiptir. Atrial aritmiler veya ventriküler anevrizma ile birlikte geçirilmiş miyokard enfarktüsü hikayesi sıklıkla mevcuttur. Hastaların %15-20sinde geçirilmiş arteriyel emboli hikayesi vardır (22). Mezenterik emboli tanısı, arteriyografi ile doğrulanır (25). Belirgin peritonit bulgusu olmayan hastalarda, streptokinaz veya ürokinaz gibi trombolitik ajanların infüzyonu denenmelidir. Kliniğimizde Özçelikörs ve arkadaşlarının (26) yaptığı çalışmada da streptokinazın mezenterik emboli tedavisinde etkili olduğu saptanmıştır. Arteriyografi kateteri, trombolitik ajanların emboliye direkt infüzyonunu kolaylaştırır. Hızlı bir emboli lizisi yoksa veya klinik kötüleşme görülürse, acil cerrahi girişim gereklidir. Bununla birlikte tüm hastalara sistemik heparin verilmelidir (27). Cerrahi eksplorasyonun arteriyografi yapılmadan yani kesin tanı konulmadan yapıldığı vakalarda, jejunumun ilk kısmının korunduğunun görülmesi embolik bir olayı kuvvetle destekler. Embolinin ekstraksiyonu, standart embolektomi kateteri kullanılarak yapılır. SMA akımının sağlanmasından sonra etkilenen bağırsak segmentlerinin viabilitesi tekrar değerlendirilmeli, nekroza uğramış bağırsaklar rezeke edilerek anastomoz veya eksteriorizasyona karar verilmelidir (28).

AMİ sıklıkla ciddi viseral aterosklerozun terminal trombotik olayı şeklinde de meydana gelebilir. ÇA ve SMA'in orijinlerinde tipik oklüzif lezyonlar meydana gelir. Mezenterik emboliye benzer şekilde akut tromboz vakaları da sıklıkla koroner arter hastasıdır ve çoğunun aynı zamanda ciddi periferik arteriyel hastalığı ve aortoiliak oklüzif hastalığı vardır (22). Mezenterik trombozda görülen semptomlar,

mezenterik embolidekilerden başlangıçta daha sinsi olabilir. Bu hastalarda kısmi mezenterik oklüzyon uzun süreli ve nispeten yavaş olduğu için maksimum kollateral gelişim vardır. Vakaların %20-50sinde abdominal anjina ile birlikte kronik mezenterik iskemi hikayesi bulunur. Bu hastalarda daha sonra progresif abdominal distansiyon, oligüri ve metabolik asidoz gelişir. Peritoneal bulgular, cerrahi bir karın geliştiğine işaret eder (25). Mezenterik trombozun tanısında arteriyografiyle ÇA ve SMA'in orijininde veya hemen sonrasında oklüzyon görülür. Birçok hastada İMA, difüz infrarenal aort aterosklerozuna bağlı olarak daha önceden tıkanmış bulunur. Mezenterik trombozlu hastalarda tercih edilen tedavi cerrahi eksplorasyondur. Her üç ana mezenterik arter tutulduğu için bağırsak iskemisi duodenumdan distal kolona kadar uzanabilir. Başarılı cerrahi tedavi mezenterik revaskülarizasyonu ve mezenterik perfüzyonun tekrar sağlanmasını gerektirir. Revaskülarizasyon yapıldıktan sonra bağırsak rezeksiyonu hakkındaki karar iskemi tamamlanıncaya kadar ertelenmeli ve relaparotomi yapılmalıdır. Ancak optimal tedavi ve bakıma rağmen bu hastaların prognozu kötüdür (22).

Bazı hastalarda da ani splanknik arteriyel vazospazma bağlı olarak AMİ gelişebilir. Bu hastalarda mezenterik damarlarda majör oklüzif organik bir lezyon bulunmaz ve bu klinik antite Non-Oklüzif Mezenterik İskemi (NOMİ) olarak adlandırılır. Bu bozukluk tipik olarak kardiyojenik şok, septik şok veya ciddi kardiyopulmoner disfonksiyonu olan hastalarda görülür. Ayrıca NOMİ kardiyak cerrahi uygulanan hastalarda ve özellikle uzun süre vazopresör medikasyon alanlarda postoperatif dönemde görülebilir (29). NOMİ tanısı sadece mezenterik arteriyografiyle konulabilir. NOMİ vakalarında selektif SMA arteriyografisi ana damarın açık olduğunu ancak jejunal ve ileal dallarda vazospazm bulunduğunu gösterir. Bu vakalarda SMA'in kateterizasyonu ve bir splanknik vazodilatatör olan Papaverin'in direkt intraarteriyel infüzyonunun tedaviye katkısı büyüktür. Aslında NOMİ'nin başarılı tedavisi, stabilizasyon ve alta yatan hemodinamik disfonksiyonun nedenine bağlı olmaksızın düzeltilmesini gerektirir. Tüm AMİ vakalarında medikal tedavi esnasında peritonit bulgularının gelişmesi, cerrahi eksplorasyon gerekliliğine işaret eder. Herşeye rağmen NOMİ'nin mortalite oranları hala yüksektir. Çünkü birçok hasta alta yatan medikal problemlerine yenik düşmektedir (30).

Mezenterik venöz tromboz klinik olarak sinsi seyrederek ve tüm intestinal iskemiler içinde yalnız %8 oranında yer tutar. Portal hipertansiyon, intraabdominal sepsis, viseral maligniteler ve konjestif kalp yetmezliği venöz tromboza predispozisyon yaratır (31). Genç hastalarda mezenterik venöz tromboz; antitrombin, protein C ve S eksikliği ile antikardiolipin antikorları varlığı gibi altta yatan hiperkoagülabilitate durumlarına bağlı olarak gelişebilir. Bazı serilerde bu hastaların önemli bir kısmının derin ven trombozu hikayesi olduğu görülmüştür (32). Arteriyografi, mezenterik venöz trombozlu hastalarda sadece indirekt tanı sağlar. SMA arteriyografisinin venöz fazının dikkatle değerlendirilmesini gerektirir. Bilgisayarlı Tomografi, Manyetik Rezonans ve Doppler Ultrason mezenterik venöz sistemin direkt incelenmesini sağlayabilir (33). Standart heparin antikoagülasyonu, mezenterik venöz tromboz vakalarında tercih edilen başlangıç tedavisidir ve fizik muayene bulguları akut karına işaret ettiğinde eksplorasyon gereklidir. Bağırsak nekrozu eğer varsa, genellikle ince bağırsakla sınırlıdır ve yama tarzında segmenterdir, bu durum rezeksiyonu güçleştirmektedir. Antikoagülasyona postoperatif dönemde de devam edilmeli, hayatta kalan hastalara uzun süreli Warfarin tedavisi uygulanmalıdır (25).

Kronik Mezenterik İskemi (KMİ) genellikle ÇA, SMA ve İMA gibi mezenterik damarların aterosklerotik oklüzif hastalığı sonucu gelişir. KMİ daha çok kadınlarda görülür (Erkek/Kadın = 1/3). KMİ'nin en önemli klinik özelliği, postprandial gelişen epigastrik bölge ağrısıdır. Hastaların çoğunda periferik damar hastalığı ve aortoiliak oklüzif hastalık hikayesi veya bulguları vardır (34). Doppler Ultrason mezenterik iskemisi şüphesi olan hastalarda ilk tanısal testtir ve arteriyografiden fayda görecektir hastaların seçimini sağlamaktadır (35).

ÇA'nın ekstrinsik kompresyonu, bir anatomik varyant olarak diyafragmanın median arkuat ligamanı tarafından oluşturulabilmektedir ve KMİ ile karışabilmektedir (36). Her ne kadar ana mezenterik damarların aterosklerotik oklüzyonu, cerrahların karşılaştığı en sık kronik intestinal iskemisi nedeni olsa da; diğer nadir durumlar da ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar Poliarteritis Nodosa, alerjik veya radyasyona bağlı arterit, skleroderma, Sistemik

Lupus Eritematozus, fibromusküler displazi, Kawasaki hastalığı ve Cogan sendromudur (22).

2.5 İskemi Reperfüzyon Hasarı

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iske mi, hücre sel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücre nin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iske mi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (37). Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücre sel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (38). İskemik dönemde hücre de metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücre sel oksidatif fosforilasyon azalır ve adeno zin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (39). Hücre de enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na⁺, K⁺-ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na⁺ ve Ca²⁺ iyon konsantrasyonları artar (40). Hücre içinde Ca²⁺ iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (41). Nitekim yine bu dönemde hücre de iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücre yi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İske mi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adeno zin oluşur. Adeno zin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla iske mi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD⁺ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da

iskemi nedeniyle $KDH \rightarrow KO$ 'a dönüştüğünden hipoksantinün ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (42).

İ-R hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrenel ve humoral olaylar serisidir (43, 44, 45). Özellikle

1. Serbest oksijen radikalleri,
2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL),
3. Kompleman sistemi ve
4. Endotel hücreleri

olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır.

2.5.1 Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali (SOR) biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit geçiş metallerinin iyonları ve hidrosil radikalleridir (46).

- a. **Süperoksit Radikali:** Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) meydana gelir. Süperoksit bir radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (47).
- b. **Hidrojen Peroksit:** Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) oluşturur. H_2O_2 serbest bir radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar (48, 49).
- c. **Hidrosil Radikali:** Hidrosil radikali (OH^-) hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) meydana gelir (49). Suyun yüksek enerjili iyonize edici reaksiyona maruz kalması sonucunda

da hidroksil radikali oluşur. Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Oluştuğu yerde büyük hasara neden olur.

- d. Nitrit Oksit:** NO çoğunlukla vasküler tonusun regülasyonunda adıgeçen, multipotent, haberci bir moleküldür. NO'in enfeksiyonlarla savaşmak, damarlarıkan pıhtısioluşumundan korumak, sinir sisteminde sinyal molekülü olarak rol almak ve organlarda kan akımını kontrol etmek gibi birçok düzenleyici rolü üstlendiği bulunmuştur (50).

Serbest radikallerin etkileri:Serbest radikaller elektronlardan dolayı çok reaktif moleküller olduğundan; hücrenin herhangi bir bölümünü doğrudan oksitleme özelliğine sahiplerdir. Ancak, membran lipidleri, proteinler, deoksiribonükleik asit (DNA) zincirleri ve karbonhidratlar serbest radikallerin saldırısına en duyarlı moleküllerdir. Serbest radikaller mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (45, 51).

- a. Membran Lipitlerine Etkileri:** Membran yapısında yeralan doymamıyağasitlerinin, serbest radikaller tarafından,peroksitler, aldehitler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasına lipid peroksidasyonu denir (52). Membran yapısındaki proteinlerle etkileşime girebilen bu ürünler, proteinlerin çapraz bağlanmasına ve agregasyonuna neden olmakta; böylece, membran permeabilitesini arttırarak, hücrenin iyon dengesini bozmakta, membran akışkanlığını azaltmakta, membrana bağlıreseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açmaktadırlar. Ayrıca, mitokondri, mikrozom gibi hücrenel organellerin fonksiyonlarıda bozan bu ürünler, hücrenel bütünlüğün kaybolmasına neden olurlar (53). En toksik peroksidasyon ürünlerinden olan Malondialdehit (MDA), yukarıda verilen toksik etkilerinin yanısıra; kolay difüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmekte ve DNA zincirinde mutasyonların oluşmasına neden olmaktadır (54).
- b. Proteinlere Etkileri:** Serbest radikallerin ansatüre ve sülfür içeren moleküllerle olan reaktivitesi sebebiyle, triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asit içeren proteinler serbest

radikallerden kolayca etkilenirler. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur (55). Bu reaksiyonlar sonucu immunglobulin G ve albumin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (47).

- c. **Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri:** İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkiliyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksite büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonundan doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır (47). Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H_2O_2 membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşılarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta ölümüne yol açabilir (47).
- d. **Karbonhidratlara Etkileri:** Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehydler meydana gelirler. Okzalaldehydler DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterir. Böylece kanser ve yağlanma olaylarında rol oynarlar (47).

Nitrik oksit: 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki (8) lokal etki gösteren non-prostaglandin endotel kaynaklı vazodilatatör varlığını göstermişler ve buna EDRF adını vermişlerdir. Ignarro ve arkadaşları (56) 1987'de EDRF adı verilen bu mediatörün NO olduğunu ileri sürmüştür. NO spesifik sitozolik bir enzim olan Nitrik Oksit Sentaz (NOS) tarafından endotel hücrelerini de içerecek şekilde birçok doku tarafından L-argininin L-sitrülline dönüşümü sırasında oluşan bir maddedir (9). Şimdiye kadar üç tip NOS tanımlanmıştır:

1. Konstitüsyonel NOS (cNOS) az miktarda endotel ve nöronal NO yapımından sorumludur. Ca^{+2} ve kalmoduline bağımlıdır. Uyarılma sonucu saniyeler veya dakikalar içinde düşük veya orta derecede yapılan NO, daha çok fizyolojik amaçlı olaylarda etkilidir.
2. İndüklenebilir NOS (iNOS) sitokinler ve enzimlere maruz kaldıktan sonra özellikle makrofajlarda NO yapımından sorumludur. Ca^{+2} ve kalmoduline gereksinim göstermez. Bu enzim daha çok sitotoksik ve immünmodülatör etkilerden sorumlu, uzun sürede fazla miktarda NO yapımı ile ilişkilidir.

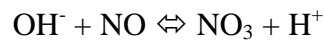
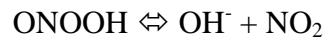
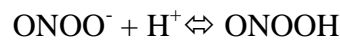
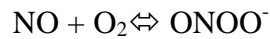
iNOS aktivasyonu gen transkripsiyonu gerektirdiğinden, NO yapımı birkaç saat sonra görülür ancak birkaç gün devam edebilir.

3. Üçüncü tip NOS nötrofillerde bulunur. Ca^{+2} bağımlıdır ancak kalmoduline gereksinim göstermez (57).

NO bazal durumlarda vasküler endotel tarafından salınan bir maddedir (11). Asetilkolin, ATP ve bradikinin gibi vazodilatatörler; reseptör aracılı Ca^{+2} iyonunun hücreye akışını sağlayarak endotelden NO'nun üretimini ve ekstraselüler salınımını tetikler. NO, vasküler düz kas ve trombositlerde çözünebilir guanilat siklazı stimüle eder ve intraselüler siklik Guanozin Monofosfat (cGMP) üretimini artırır. Artmış cGMP düzeyi, vasküler düz kasta relaksasyonu başlatır ve plateletlerin endotele agregasyon ve adezyonunu inhibe eder (10).

NO iki atom içeren, molekül ağırlığı 30 olan ve gaz yapısında bir serbest radikaldir. Küçük ve lipofilik bir moleküldür. Dayanıksız bir bileşiktir. Yarı ömrü 3-50 sn'dir (57). Vasküler duvardaki düz kas hücre zarına basit diffüzyonla geçer. Böylece damar tonusunun lokal regülasyonunda etkin rol oynar. Daha sonra hemoglobin ve diğer hem proteinleri ile hızla reaksiyona girerek absorbe olur. Dokularda çok kısa süre kalan NO; hızla stabil son ürünleri olan peroksinitrit, nitrit ve nitrata okside olur. Böylece etkisini parakrin yoldan gösterir. Hipoksi, elektriksel uyarı, kan akımındaki artış, Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi, sitokrom-C ve L-argininin fazlalığı NO'nun etkinliğini artırır (58).

Her ne kadar NO'nun mikrovasküler sistemlerde yararlı vazodilatatör etkileri varmış gibi görünüyorsa da, paradoks olarak sitotoksik radikal üretiminde kullanılabilir. Birçok durumda NO, süperoksit ile reaksiyona girerek peroksinitrit yoluyla sekonder sitotoksik ürünler oluşturabilir. Beckman ve arkadaşları (59) bu reaksiyon için şu biyokimyasal yolu önermişlerdir:



Peroksinitrit oluşum hızı, süperoksit ve NO düzeyleri ile ilgilidir. Süperoksit ve NO konsantrasyonunun her 10 kat artışına karşı, peroksinitrit 100 kat artabilir. Bu artış potansiyel olarak sitotoksik düzeylere çıkabilir (59). Radi ve arkadaşları (60) peroksinitritin veya bunun ayrışma ürünlerinin demire ihtiyaç duymadan lipid peroksidasyonunu başlatabileceğini göstermişlerdir.

İn vitro şartlarda endotoksinle oluşturulan hepatosit hasarında; NO'nin karaciğeri koruyucu rolü olduğu ve NO'nin inhibe edilmesi ile karaciğer hasarının arttığı gösterilmiştir. iNOS inhibe edildiğinde SOR'nin, NO ve glutasyon ile inaktivasyonu ortadan kalktığı için karaciğer hasarının arttığı rapor edilmiştir. NO'nin karaciğer hastalıklarında hemodinamik cevapta hepatosit fonksiyonlarında ve hepatotoksisitede etkili olduğu saptanmıştır (61).

NO GİS'de nörotransmitter, vazorelaksan ve parankim mediatörü olarak fonksiyon görmektedir (57). NO'ten üretilen nitrovazodilatatör S-Nitrozo-N-Asetil-Penisilamin (SNAP) İntravenöz (İV) olarak ratlara verildiğinde, bağırsak hasarına neden olan endotoksinin etkisini azaltmıştır. Bu sonuçlar endojen NO'nin hasara yol açan endotoksine karşı bağırsak mukozasını ve mikrovasküler yapıyı koruduğunu göstermektedir (61). Endotel kökenli NO vasküler tonusun endotel tarafından kontrolünü sağlar ve endotelin kan elemanları ile etkileşimini düzenler. NO düz kas kasılmasını ve proliferasyonunu inhibe eder (antiproliferatif etki). Bu etkisini cGMP artışına yol açarak gerçekleştirir (57). Damar lümeninde trombositlerin endotel hücrelerine adezyonunu, agregasyonunu önleyerek trombolizisi sağlar. NO nötrofillerin agregasyonunu da inhibe eder ve nötrofillerden lizozomal enzimlerin salınımını engeller. Aktive olan nötrofillerden NO salınımı ile süperoksit anyon üretimi azalır (62). Makrofajlarda TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerle aktivasyon sonucu iNOS indüksiyonu ile oluşan NO; birçok hücre dışı mikroorganizmanın ve bazen tümör hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder ve bunlara karşı sitotoksiktir. NO'nin immünolojik olarak aktive olan lenfositlerde DNA sentezini artırdığı ve blastojenik çoğalmayı sağladığı, supresör T hücrelerini inhibe ettiği bildirilmiştir (63). Birçok klinik çalışmada sepsis ve travma hastalarında NO'nin rolü araştırılmıştır. Sepsisli hastalarda NO'nin serum seviyesinin arttığı fakat travmaya maruz kalan hastalarda NO seviyesinin normalden az olduğu saptanmıştır (64). Sepsisli hastalarda NO

seviyesinin artışı, serum endotoksin seviyesi ile doğru orantılı olarak bulunmuş ve NO'nin artışı endotoksine bağlanmıştır. Travmalı hastalarda ise NO'nin azalan seviyesinin, travma sonrası gelişen hipovolemi ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda nonspesifik NOS blokajının sepsisli hastalarda kan basıncını, sistemik vasküler rezistansı ve periferik vasküler rezistansı artırdığı gösterilmiştir (65). Endotoksemi öncesinde ya da sonrasında NOS blokajının kardiyak debiyi düşürdüğü, pulmoner hipertansiyonu ve mortaliteyi önemli ölçüde artırdığı saptanmıştır. iNOS'a spesifik ajanların kullanıldığı deneylerde bu inhibitörlerin nonspesifik ajanlara göre hem dolaşım yetmezliğini hem de çoğul organ yetmezliğini ve mortaliteyi azalttığı görülmüştür (66). Fizyolojik koşullarda NO, stabil anyonik ürünleri olan nitrit ve nitrata okside olur (67). NO ölçümleri indirekt ve direkt yöntemler olmak üzere iki şekilde yapılabilir:

- 1- İndirekt yöntemler biyolojik örneklerde guanil siklaz ve NOS aktivitesinin bioassay yöntemiyle incelenmesi veya düz kas gevşetici etki, trombosit agregasyonu üzerine inhibitör etkinin ölçülmesi gibi yöntemleri içerir. L-arginin, cGMP ve L-sitrülin gibi L-arginin-NO-cGMP kaskatında rolü olan maddelerin düzeylerinin ölçülmesi ile de NO hakkında indirekt bilgi edinilebilmektedir (68, 69).
- 2- NO düzeyinin tayininde kullanılan direkt yöntemler ise genellikle spektroskopik ve elektroanalitiktir. Bu yöntemlerden başka fluorimetri, gaz ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi yöntemler de kullanılmaktadır (70, 71).

NO düzeyi tayininde en çok kullanılan yöntem olan diazotizasyon yöntemi, hemen her biyolojik örnekte nitrit ölçümü için kullanılacak standart bir spektroskopik yöntemdir. Bu yöntem ilk olarak 1879'da Griess tarafından tanımlanmıştır. Griess reaksiyonu; nitritin asidik bir ortamda primer bir aromatik aminle (sulfanilamid) diazotizasyonu ve N-(1-naftil)etilen diamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanır (72). Sonuçta oluşan bileşik, 545-555 nm dalga boyundaki ışığı absorbe edebilen mor bir azo boyasıdır. Diazotizasyon yöntemi nitrit iyonlarına duyarlı olduğundan ortamdaki nitratın çeşitli indirgeme yöntemleriyle nitrite indirgenmesi gerekmektedir. İndirgeme için kullanılan yöntemler örneklerin bakırla kaplı kadmiyum kolonlarından geçirilmesi veya uygun

partikül büyüklüğündeki kadmiyum tozlarıyla muamele edilmesi ve bakteriyel nitrat redüktaz enziminin kullanılmasıdır (72, 73). Bazı araştırmacılar serum, plazma veya idrar örneklerinin deproteinize edilmesini önermektedirler. Deproteinizasyon için kullanılan yöntemler ultrafiltrasyon, $ZnSO_4$, kadmiyum veya çeşitli asitlerle muamele ve Somogyi ayırıcının kullanılmasını içerir (73).

2.5.2 Polimorf Nüveli Lökositler

Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adhezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabilededeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir (74). İ-R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir (75). Diğer taraftan PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İ-R hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (76). Bunlar

1. Mikrovasküler oklüzyon,
2. SOR salınması,
3. Sitotoksik enzim salınması,
4. Vasküler permeabilite artışı ve
5. Sitokin salınmasında artıştır.

PMN'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ-R endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. Bu molekül PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (77). Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için

gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlekin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-a) sentezine yol açar (75). Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarırlar. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar (78). Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıt şu mekanizmalar ile gerçekleştirilir (79, 80):

1. Fosfolipaz A₂ aktivasyonu araşidonik asit metabolitleri (prostoglandinler ve lökotrienler) sonucu üretilir.
2. Degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınır.
3. SOR üretimi gerçekleşir.

Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü araçlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirirler. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya yoğunluğunu azaltmaya yönelik bu inflamatuvar yanıt sonucu, mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve makrofajlar aracılığıyla lenfatik dolaşım yoluyla ortamdan uzaklaştırılırlar (78, 79). İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF ve TNF-a gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur (80, 81).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ-R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz ezimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde ksantin-oksidaz'ın artması ile SOR'un salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır (82).

2.5.3 Komplemanın Rolü

İ-R hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır (83):

1. Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1),
2. İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1),
3. E-selektin ve
4. P-selektin'dir.

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi arttırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (84, 85).

2.5.4 Endotel Hücresinin Rolü

İ/R hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımında ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/R hasarında endotelin/ NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur (86). Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak İL-1, PAF, prostaglandinler (PG I₂, PG E₂), GM-CSF, büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A₂ (T_xA₂) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir (87). Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipit radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'in dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler (88).

2.6 Malondialdehid (MDA)

Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu Malondialdehid (MDA) oluşur. Yağ asidi peroksidasyonu MDA'in asıl kaynağını oluşturmakla birlikte hemoglobin (Hb) ve myoglobin H₂O₂ ile etkileşmesi ile de oluşum gerçekleşebilir (89). Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artmasına ve sonuçta hücrenin hasarına ve hücre içeriğinin

serbestleşmesine neden olur. Peroksidasyon sonucu oluşan MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına neden olur. Bu durum hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini ve iyon transportunu etkileyebilir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olduğundan lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikal oluşumunu MDA'yı ölçerek izlemek mümkündür (90).

2.7 Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta oksidan ve antioksidan savunma sistemleri bir denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidasyon lehine dönmesi ile oksidatif hasar oluşabilir. Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için organizmada bulunan sistemler antioksidan sistemler olarak adlandırılır. Antioksidan sistemler primer, sekonder ve tersiyer olarak üç gruptur. Primer antioksidan sistemler, serbest radikal oluşumunu engelleyerek etkili olan sistemlerdir. Serbest radikalleri biyolojik önemi olan daha zararlı moleküllere dönüşmeden etkisiz hale getirirler. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, ferritin ve seruloplazmin gibi enzimler bu grupta yer alır (91).

Vitamin E ve C, P-karoten, ürik asit, bilirubin ve albümin sekonder antioksidanlardandır. Bunlar serbest oksijen radikallerini yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engellerler (91, 92). Tersiyer antioksidanlar etkilerini serbest radikallerin neden olduğu biyomoleküler hasarı onararak gösterirler. DNA onarım enzimleri (Glikozilaz, endonükleaz ve ekzonükleaz) ve metiyonin sülfoksit redüktaz tersiyer antioksidanlardır. Antioksidan savunmanın en önemli elemanları süperoksit ve hidrojen peroksidi (H_2O_2) temizleyen süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleridir. SOD molekül ağırlığı 32.000 dalton olan mitokondri ve sitoplazmada bulunan ve süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden bakır ve çinko içeren bir metalloenzimdir. Süperoksit radikallerin daha toksik substratlar oluşturması SOD tarafından önlenir. Oluşan H_2O_2 katalaz ve glutatyon peroksidazla suya dönüştürülür. Katalaz dokularda çok yaygın olarak bulunan ve yüksek seviyelerdeki hidrojen peroksidi (H_2O_2) metabolize eden bir enzimdir (93).

Glutasyon (GSH), glutamik asit, glisin ve sisteinden oluşan intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. Önemli bir antioksidan ve indirgeyici olan GSH hücreyi ekzojen ve endojen oksidazların zararlı etkilerinden korur. GSH vücutta bulunan ana antioksidan maddedir. Glutasyon sentezi, gama-glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz adlı enzimlerin katıldığı iki basamaktan oluşur. İlk reaksiyon hız kısıtlayıcı basamaktır ve aktif olarak GSH tarafından inhibe edilir. İkinci basamak GSH ile inhibe olmaz. Glutasyon peroksidaz (Gpx), glutasyonu kullanarak düşük seviyedeki H₂O₂ gibi serbest radikalleri indirger. Gpx GSH'yi indirgeyerek reaksiyonları katalizler ve GSSH ve H₂O oluşur. İ-R hasarında da hücre içi glutasyon düzeyi ne kadar yüksekse hücre hasarı o kadar düşük olmaktadır. Glutasyonun indirgeyici rolü özellikle eritrositlerin yüksek okside edici ortamlarında önemlidir. GSH'nin sülfidril grubu oksijen transportu sırasında oluşan peroksitleri azaltmada yararlıdır. Glutasyon indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) olarak iki şekilde bulunur. GSH zararlı oksi radikaller tarafından kullanıldığı zaman bu feedback inhibisyon kaybolur. En yüksek oranda karaciğerde bulunur. Okside olmuş E ve C vitamininin tekrar yapılandırılmasında görevlidir. GSSG/GSH oranı oksidatif stresin önemli bir göstergesidir. Oksidatif streste bu oran artar (91, 93, 94).

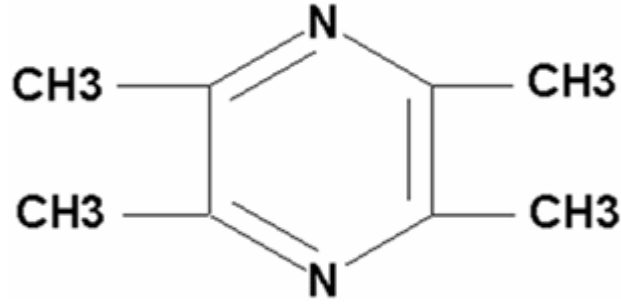
2.8 Ligustrazin

2.8.1 Genel Bilgiler

Chuanxiong sıkça kullanılan bir Çin şifalı bitkisidir ve genel olarak *ligusticum* ya da *cnidium* olarak anılır. 30 yıl önceki yayınlardan Oriental Healing Arts Institute (OHAI) tarafından önerilerek benimsenmiştir. Bitki Çin'de *Ligusticum chuanxiong* (= *Ligusticum wallichii*) ve Japonya'da *Cnidium officinale*'den elde edilmektedir. OHAI literatürü ağırlıklı olarak Japon şifalı bitki araştırmacılarından etkilenmiştir. Bu iki kaynak malzemenin yakın zamanlardaki genetik madde değerlendirmeleri aslında bu iki bitkinin aynı olduğu fikrini öne sürmüştür ve *Cnidium officinale*, *Ligusticum chuanxiong* olarak tekrar adlandırılmalıdır (95).

Chuanxiong'un içeriğinde birçok aktif bileşenler vardır. Ancak bunlardan en ilginç olanı kimyasal ismi tetramethylpyrazine (simetrik biçimde yerleşmiş dört metil

grubundan oluşan halka biçimli bir pyrazine'dir) olan alkaloid Ligustrazine'dir (Şekil 3.1). Bu nedenle kimi zaman kısaca TMP olarak anılır. Chuanxiong'den izole edilen alkaloidler ve arıtılmış sentetik ligustrazine Çin'de tıbbi ilaç olarak 30 yıldır kullanılmaktadır. Başlangıçtaki uygulamalar kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kan dolaşımını canlandırmak ve baş ağrısı ile baş dönmesinin tedavisinde kullanılmak üzere, geleneksel yöntemlere dayanan ham bitkinin kaynatılması ve haplar biçimindedir (95, 96).



Şekil3.1 Tetramethylpyrazine'in kimyasal yapısı

2.8.2 Doğada ve Besinlerde Bulunan Pyrazineler

Metil pyrazinler doğada pek rastlanmaz ve tipik kaynakları karakteristik özütünün önemli kısmını metil, dimetil ve trimetilpyrazinelerden alan akçaağaç şurubudur. Aslında trimethylpyrazine, akçaağaç şurubunun yerine kullanılan yapay olarak tatlandırılmış şurupların yapımında kullanılmaktadır (97). Pyrazineler ısı tedavisi sırasında peynirlerden üretilir ve trimethylpyrazine ana bileşendir. Lezzet karakteristiğinin “çikolata” ya da “kahve” gibi olduğu söylenir. Dimethylpyrazine Çinliler tarafından yemek yapımında kullanılır; kavrulmuş fıstık, çikolata, tereyağ veya patates gibi tadı vardır. Methylpyrazine ayrıca içindeki ekmek kabuğu, ceviz, patlamış mısır, patates ve çikolatayı andıran aroma ve kokusundan dolayı yemek katkı maddesi olarak da kullanılır. Metil ve dimetil pyrazineler yemeklere kavrulmuş tadı katar. Tetramethylpyrazine çikolataya benzeyen tadı ve aroması için kullanılır. Pyrazineler kahve çikolata üretimindeki artık maddelerden de elde edilir. Pyrazinlerin gıdalarda kullanımının güvenli olduğu düşünülmektedir. Çin chuanxiong kök saplarında akçaağaç şurubu benzeri tatların bulunmasının nedeni

TMP'nin varlığıdır. Chuanxiong en çok kullanılan Çin şifalı bitkilerinden birisidir (95, 98).

2.8.3 İntra Venöz Uygulamasıyla Ligustrazine

Ligustrazin ağız yoluyla alınırsa hızla emilir, ancak idrar yoluyla da hızlıca atılır. Yüksek kan değerlerini koruyabilmek için birkaç saatte bir oral dozlar alınmalıdır. Alternatif olarak ligustrazin kan değerlerini yüksek tutmak için İntra Venöz (İV) serumlar ile birkaç saat boyunca verilebilir. Bu uygulama Çin'de tipik olarak kalp krizi ve felç nedeniyle hastanede yatan hastalar ile ciddi çocukluk dönemi hastalıklarının tedavisinde kullanılır (99, 100).

2.8.4 Ağız Yoluyla Ligustrazine

Chuanxiong'un bir bileşeni olarak ligustrazine sadece küçük miktarlarda bulunur, belki %1, öyle ki 9-12 gr miktarındaki ham bitki kaynatıldıktan sonra (Çin'de kullanılan modern klinik uygulamasında olduğu gibi) bir günlük doz için yaklaşık 90-120 mg ligustrazine sağlar. Bu miktar, karmaşık bir karışıma aktif bir bileşen katkısı yaparak bazı yararlar sağlayacak olsa da, izole edilmiş bileşen ile yapılan klinik ve laboratuvar çalışmalarında belirtilen tam faydayı elde etmek için yetersizdir. Her defasında 100 mg veya daha fazlası ağız yoluyla alınan doz düşünülürse, istenilen etkiyi oluşturmak için gereken kan değerlerine ulaşmak için günde en az üç kez alınması gerekir (97, 101).

2.8.5 Uygulamalar

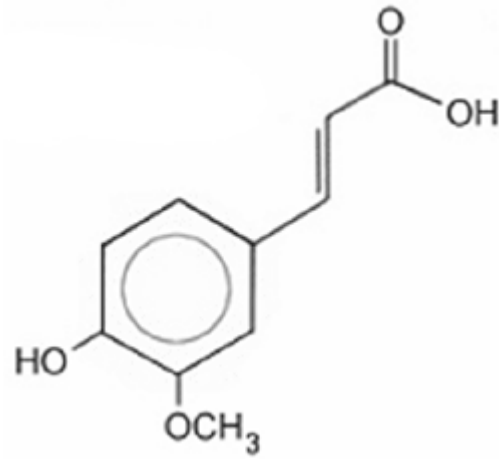
Ligustrazine'in uygulaması birçok alandadır. Ancak birçok uygulaması incelendikten sonra Ligustrazine'in "koruyucu etki" sağladığı kavranabilir. Ligustrazine'in bazı kullanımları şöyledir:

1. Böbrek yetmezliği ve diyaliz: Ligustrazine Çinli haastalarda böbrek yetmezliği sürecini yavaşlatmak ya da durdurmak için kullanılmaktadır (102). Bu etkiyi göstermek için laboratuvar hayvanlarıyla deneysel çalışmalar yapılmıştır (101). Önerilen mekanizmalardan birisi bir tür antioksidan etkisi yaratan superoxide temizleme etkisidir. Salvia'da ayrıca

böbrek yetmezliğine karşı koruma oluşturmada kullanılmıştır. Ligustrazine ile salvia ve tang-kuhei diyalize giren hastalara yardım etmek için kullanılmıştır (97). TMP ayrıca temel nefritik sendromu hastalarında prednisone ile birlikte kullanılmaktadır. Bunun yalnız başına prednisone tedavisinden daha etkili olduğu söylenmiştir (103). Yeni doğanların tedavisinde, böbrekte gentamycin zehirlenmesine karşı koruyucu olarak kullanılmıştır (104). Tang-kuei'nin muhtemel temel aktif bileşeni ve Chuanxiong'nin aktif bileşenlerinden biri olan Ferulic asit, diyabetik nefropati hastalarının tedavisinde faydalar göstermiştir (98).

2. Fibrozis ile akciğer hastalıkları: Ligustrazine bir pulmoner vasodilatör olarak bilinmektedir (105). Ancak belirli etki gösterdiği alan pulmoner fibrosise karşı koruyucu etkisidir (106). Salvia ve Salvia'nın aktif bir parçası (IH764-3 işaretlenmiş) ayrıca tek başına ve ligustrazine ile birlikte, pulmoner fibrosise karşı koruyucu olarak kullanılmıştır (107, 108, 109).
3. Cerebro vasküler hastalıklar: Çinli doktorlar Chuanxiong ve Ligustrazine'i felç hastalarının tedavisinde kullanmaktadırlar. Ligustrazine'in nöronlar üzerinde, muhtemel olarak antiinflamatuvar aktiviteye dayanan koruyucu etkisi gösterilmiştir (99, 100). Klinik uygulamalarda, felç hastalarında yüksek dozda ligustrazine (480 mg/gün) kullanımının fibrinojeni düşürdüğü ve kan dolaşımını iyileştirdiği bulunmuştur (110). Ayrıca Salvia'nın da felç üzerinde nörokoruyucu etkilerinin tartışıldığı, Ferulic asit veya onun sodyum tuzu (sodium ferulate) Çin tıbbında felç hastalarını tedavi etmek için kullanılır; laboratuvar çalışmalarında, zayıflayan sinir hücrelerinin uğradığı zararı sınırladığı ve tekrar aktivasyon sağladığı gösterilmiştir (111).

Tek başına ligustrazine veya salvia ile birlikte kullanımı böbreklere, akciğerlere ve beyine antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle koruma sağlar; bu maddeler fibrosisi azaltır ve kan dolaşımını iyileştirir. Özellikle iyi bir ferulic asit olan tang-kuei'nin etkileri daha da iyiye götürebilir (Şekil 3.2).



Şekil3.2 Ferulic asitin kimyasal yapısı

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 17.11.2011 tarih ve 240 sayılı onayı alınarak, ESOĞÜ Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (TİCAM) laboratuvarında yapıldı.

Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen Sprague-Dawley cinsi 21 adet rat kullanıldı. Deney hayvanları standart laboratuvar koşullarında, rat yemi ve çeşme suyuyla beslendi. Cinsiyet farkı gözetilmedi.

3.2 Çalışma Grubu

Deney hayvanları randomize olarak üç gruba ayrıldı:

1. Sham grubu: (n = 7)
2. İ-R grubu: (n = 7)
3. İ-R+Ligustrazin tedavi grubu: (n = 7)

3.2.1 Cerrahi Teknik ve Tedavi Uygulanması

Tüm ratlara sekiz saatlik açlık sonrasında, subkutan olarak 50 mg/kg Sodyum Pentotal (Pental Sodyum, İ.E Ulagay, Türkiye) anestezisi verildi. Anestezinin ardından ratlar supin pozisyonda yatırılarak %10luk povidon iodin (İsolol, Merkez Lab, Türkiye) ile bölge temizliği yapılarak geleneksel asepsi ve antisepsi kurallarına uyuldu.Orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı.Ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldı:

1. Grup I: Sham grubu (Grup S) (n = 7)
2. Grup II: Mezenterik İ-R grubu (Grup Mİ) (n = 7)
3. Grup III: Mezenterik İ-R+Ligustrazin grubu (Grup MİL) (n = 7)

Sham grubundaki (Grup S) ratlara mezenterik pedikül diseksiyonu yapılarak sadece %0,9 Sodyum Klorür (NaCl) İP olarak verildi. Mezenterik iskemi grubundaki (Grup Mİ) ratların SMA'ı aortadan çıktığı yerden askıya alınarak, atravmatik

mikrovasküler klemp (Bulldog klemp) yardımıyla 45 dk. süreyle kapatıldı. İnce bağırsakların önce soluklaştığı, sonra morumsu bir renk aldığı ve SMA nabzının kaybolduğu görülerek iskeminin oluştuğundan emin olundu. Bunu takiben median laparotomi kesisi 3/0 ipekle devamlı dikişle kapatıldı. İskemi süresini takiben ipek sütün alınarak laparotomi kesisi tekrar açıldı. Ratların SMA'ine yerleştirilen bulldog klemp açılıp çıkarıldı. SMA nabzının alındığı ve ince bağırsak beslenmesinin düzeldiği gözlemlendi. Bu gruptaki ratlar 60 dk. süreyle reperfüzyona maruz bırakılmak üzere laparotomi kesisi tekrar 3/0 ipekle devamlı dikişle kapatıldı.

Mezenterik iskemi+Ligustrazin grubundaki (Grup MİL) ratlara laparotomi yapılmadan 30 dk. önce 80 mg/kg 2, 3, 5, 6-Tetramethylpyrazine (TMP) 160 mg, 16 ml %0,9 luk izotonikle çözüldü, 250 gramlık sıçanlara 2 ml intra peritoneal (i.p) ligustrazin verildi. Bu gruptaki ratlara da Mezenterik iskemi grubundaki ratlara uygulanan işlemler tekrarlandı.

60 dakikalık reperfüzyon süresi sonunda tüm gruplarda histolojik inceleme ve doku MDA, SOD ve doku NO düzeylerinin biyokimyasal ölçümü için 10 cm.lik bir ileum ansı alınarak ratlar dekapite edildi. Histolojik inceleme için alınan spesmenler, %0,9 Sodyum Klorür (NaCl) solüsyonunda yıkandıktan sonra %10 formaldehitte tespit edildi. Doku MDA, SOD ve NO düzeyleri tayini için alınan örnekler, buzlu %0,9 NaCl solüsyonunda yıkandıktan sonra alüminyum folyoya sarılarak biyokimyasal incelemenin yapılacağı güne kadar -70 °C'de derin dondurucuda saklandı.

3.3 Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal değerlendirmeler ESOGÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalında yapıldı. Biyokimyasal değerlendirme için lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA düzeyi ve antioksidan savunma sisteminde bulunan SOD enzimi ve NO aktivitesi araştırıldı.

3.4 Homojenat Hazırlanması

Doku örnekleri hassas terazide tartıldıktan sonra SOD, NO ve protein tayinleri için pH = 7.0 fosfat tampon ile (1/10, w/v), MDA tayini için her gram başına 9ml

/1.15'lik KCl olacak şekilde homojenizatörde 4.000 devirde ortalama 10 vuru yapılarak homojenize edildi. Homojenatlar 4.000 g × 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst faz homojenatlarda MDA, SOD, NO ve protein tayinleri yapıldı.

3.5 Doku Malondialdehit Düzeyi Tayini

-70°C'de derin dondurucuda saklanan ratlardan alınan spesmenlerde MDA düzeyleri, Okhawa metoduna uygun olarak MDA'nın tiyobarbitürik asit ile oluşturduğu rengin ölçülmesi yoluyla belirlendi (112). Spesmenler her biri 1 gr olacak şekilde tartılarak 10 volüm%1,15 N Potasyum Klorür (KCl) tamponunda homojenizer (Ultra-Turrax T25, Janke&Kunker, Staufen, Germany) ile homojenize edildi. 5.000 rpmdeki santrifüjde elde edilen 0,4 ml doku süpernatantının üzerine 0,2 ml %8lik Sodyum Dodesil Sülfat, 1,5 ml %20lik Asetik Asit ve 1,5 ml %8lik Tiyobarbitürik Asit eklendi. Karışım 95°C'de 60 dakika inkübe edildi. Üzerine 1 ml distile su eklendikten sonra 4.000 rpmde 10 dakikasantirifüj edildi. Süpernatantın absorbansı 532 nmde spektrometre (Perkin Emler LS 50B, Luminescence Spektrometer) ile köre karşın okundu. Standart olarak 1, 1, 3, 3-Tetraetoksi Propan kullanılarak hesaplanan MDA düzeyleri, miligram protein başına nanomol (nmol/mg protein) olarak ifade edildi.

3.6 Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Tayini

SOD aktivitesi fotoredükte riboflavin ve oksijenin reaksiyonu ile oluşan süperoksitin, nitrobluetetrazolium'u redükte etmesinin SOD tarafından inhibe edilmesi temeline dayanan, Fridovich ve Beuchamp'ın yönteminin Winterbourn ve arkadaşları tarafından modifiye edilen şekliyle ölçüldü. 0,05 ml örnek üzerine 100 mlsinde 1,5 mg NaCN içeren 0,1 M EDTA'dan 0,2 ml, 1,5 mM NBT'den 0,1 ml eklendi ve 60 × 15 × 20 cm boyutlarında ve 15 W bir floresanla üniform aydınlatılan lüminasyon kutusuna konuldu. 15 dakika bekletildikten sonra örnek konmayan tüp kör olarak kullanılarak, 560 nmde absorbansları ölçüldü. SOD standartının verdiği inhibisyon grafiğine işlenerek örneklerin SOD aktivitesi bulundu. Bir SOD ünitesi NBT redüksiyonunun maksimum inhibisyonunun yarısını sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandı. Enzim aktivitesi eritrositlerde U/mg protein olarak verildi (113).

3.7 Doku Nitrik Oksit Tayini

Nitrik oksit çok kuvvetli bir molekül olduğu için direkt ölçümü çok güçtür. Bu nedenle biyolojik sıvılarda NO'nin stabil oksidasyon ürünleri olan nitrat (NO^{-3}) ve nitrit (NO^{-2}) düzeyleri in vivo ve in vitro NO markırı olarak kullanılmaktadır. Çalışmada rat beyin sinaptozomlarındaki nitrit miktarı Cortas ve arkadaşlarının yöntemine göre belirlendi (114).

3.8 Kullanılan Çözeltiler

Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi: Kadmiyum granülleri 2,5–3g ağırlığında tartıldı. H_2SO_4 içerisinde tutulan kadmiyum granülleri distile su içerisinde üçdefa yıkandı. CuSO_4 'ta iki dakika bekletilen granüller daha sonra glisin-NaOH tamponu ile üç defa yıkandı ve 10 dakika içerisinde kullanıldı.

Glisin-NaOH tamponu: 15g glisin distile suda çözüldü. 2mol/L NaOH ile pH 9.7'ye tamamlandı.

Renklendirici: 1g sülfanilamid, 0,1g N-1-naftiletilediamin.

Yöntem: Deproteinizasyon işlemi için 0,5 ml homojenata, 2 ml NaOH, 2,5 ml ZnSO_4 ilave edilip 10 dakika beklenildi. $3.500 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edildi ve supernatant alındı. Bakır kaplı kadmiyum granülleri üzerine 1ml glisin tamponu eklendi. Üzerine 1ml deproteinize süpernatant eklendi. Üzerine 2 ml deiyonize su ilave edildi. Oda ısısında 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda reaksiyon karışımından 2 ml alınıp üzerine 2,5 ml deiyonize su ve 2 ml renklendirici ilave edildi. Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildikten sonra 545 nmde köre karşı okundu. Stok standart olarak 1mmol/L lik stok NaNO_2 çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden, distile su ile seyreltme yoluyla 10 $\mu\text{mol/L}$ ile 100 $\mu\text{mol/L}$ arasında bir seri dilüsyonla standart grafiği çizildi. NO değerleri nmol/mg protein olarak hesaplandı.

3.9 İnce Bağırsak Dokusunun Histolojik İncelenmesi

Histolojik değerlendirme ESOGÜ Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalında yapıldı. %10luk formaldehit solüsyonunda tespit edilen jejunum ve ileum spesmenlerinin tamamı 2-6 parça halinde örneklendi. Rutin takip işlemleri

sonrasında parafin bloklar hazırlandı ve ortalama 4-5 mikron kalınlığında kesitler yapılarak Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar kör olarak Chiu ve arkadaşlarının (115) tarif ettiği mezenterik İ-R hasarı skorlaması esas alınarak ve aşağıdaki kriterler göz önünde bulundurularak ışık mikroskopunda değerlendirildi:

1. **Grade 0:** Normal mukozal villuslar.
2. **Grade 1:** Subepitelyal Gruenhagen aralığının oluşması. Genellikle mukozal villus apeksinde oluşur ve sıklıkla kapiller konjesyonla birlikte.
3. **Grade 2:** Subepitelyal aralığın artması ve epitelyal tabakanın lamina propriadan ayrılması.
4. **Grade 3:** Masif epitelyal ayrılma. Villuslar arasında bazı uçlarda çıplaklaşma.
5. **Grade 4:** Çıplak villuslar. Lamina propria ile birlikte dilate kapillerlerin görülmesi. Bazen lamina propriada artmış hücre yoğunluğu (selülarite) görülür.
6. **Grade 5:** Lamina proprianin sindirimi ve parçalanması. Beraberinde ülserasyon ve hemoraji de görülür.

3.10 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler ESOGÜ Tıp fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapıldı. Verilerin istatistiksel değerlendirmelerinde SPSS15.0 ve Sigma Stat 3.1 paket programlar kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) yanı normal dağılımın incelenmesi için Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanıldı. MDA, SOD ve NO düzeyleri için tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) uygulanmış olup, bu testin çoklu karşılaştırmalarında ise Turkey HDS metodundan yararlanıldı. Histopatolojik bulgular için skor değerlerinden oluşan altı parametremizin değerlendirilmesinden niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway ANOVA testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Turkey HDS testi kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde

Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Bulgular

4.1.1 Doku Malondialdehit Düzeylerinin Sonuçları

Doku MDA düzeylerinin gruplara göre değerleri Tablo-1’de gösterildi. Bu değerlerin Tek Yönlü Varyans Analizi ile incelenmesi sonucunda; ortalama doku MDA düzeyleri Grup S’de 32.70 nmol/mg protein, Grup Mİ’de 116,85nmol/mg protein, Grup MİL’de 75,02 nmol/mg protein olarak bulunmuş olup, her üç grup arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,01$) (Tablo4.1).

Tablo 4.1.Ratların doku MDA düzeyleri değerlerinin gruplara göre dağılımı
(nmol/mg protein)

Rat No	Grup S	Grup Mİ	Grup MİL
1	35,40	140,55	57,91
2	26,94	107,65	75,27
3	25,47	154,81	78,32
4	24,59	97,78	52,20
5	35,62	94,56	86,04
6	48,27	96,73	84,43
7	32,64	125,86	91,02

Ratlarda S, Mİ, MİL, gruplarındaki doku MDA düzeyleri değerlendirildiğinde; Grup S’de doku MDA düzeyinin ölçülebilir minimal değerlerde olduğu, mezenterik İ-R uygulanan Grup Mİ’de doku MDA düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı, mezenterik İ-R uygulanarak ligustrazin verilen Grup MİL’de doku MDA düzeyinin sham grubundan bir miktar daha yüksek olmakla birlikte Mİ grubundan daha düşük olduğu görüldü (Tablo4.2).

Tablo 4.2. Gruplara göre doku MDA düzeylerinin ortalama ve standart hata değerleri (nmol/mg protein) ($F_{(4;35)} = 12,60$, $p < 0,05$)

Gruplar	Doku MDA Düzeyleri (Ort. \pm Std. hata)
Grup S (n = 7)	8,26 \pm 3,12
Grup Mİ (n = 7)	23,92 \pm 9,04
Grup MİL (n = 7)	14,67 \pm 5,54

Gruplar kendi içlerinde birbirleri ile Tamhane Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırıldıklarında; Grup S ile Grup Mİ ($p < 0,001$), Grup S ile Grup MİL ($p < 0,01$), Grup Mİ ile Grup MİL arasında anlamlı istatistiksel fark olduğu görüldü ($p < 0,01$) (Tablo 4.2).

4.1.2 Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Sonuçları

Doku SOD düzeylerinin gruplara göre ölçülen değerleri Tablo4.3'te gösterilmiştir. Bu değerlerin Tek Yönlü Varyans Analizi ile incelenmesi sonucunda; ortalama doku SOD düzeyleri Grup S'de 6,60 U/mgr protein, Grup Mİ'de 4,53 U/mgr protein, Grup MİL'de 6,25 U/mgr protein olarak bulunmuş olup, Grup S ile Grup Mİ arasında anlamlı istatistiksel fark tespit edildi. Grup S ile Grup MİL arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte ($p > 0,05$) Grup Mİ ile Grup MİL arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,01$) (Tablo 4.4).

Ratlarda S, Mİ, MİL gruplarında doku SOD düzeyleri değerlendirildiğinde: Grup S'de SOD düzeyinin yüksek olduğu; mezenterik İ-R uygulanan Grup Mİ'de doku SOD düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı, mezenterik İ-R uygulanarak ligustrazin verilen Grup MİL'de doku SOD düzeyinin Grup S'deki değere yakın olduğu görüldü (Tablo 4.3).

Tablo 4.3.Ratların doku süperoksit enzim düzeylerinin gruplara göre dağılımı
(U/mgr protein)

Rat No	Grup S	Grup Mİ	Grup MİL
1	6,216	4,457	6,357
2	6,005	4,808	6,412
3	6,048	4,691	5,454
4	6,092	4,564	6,390
5	7,977	3,625	6,489
6	7,823	5,838	6,494
7	6,157	3,736	6,121

Tablo 4.4.Gruplara göre doku süperoksit dismutaz düzeylerinin ortalama ve standart hata değerleri (U/mgr protein) ($F_{4:35} = 35,25$, $p < 0,05$)

Gruplar	Doku SOD Düzeyleri (Ort.± Std. hata)
Grup S (n = 7)	0,89 ± 0,34
Grup Mİ (n = 7)	0,74 ± 0,28
Grup MİL (n = 7)	0,37 ± 0,14

Gruplar kendi içlerinde birbirleri ile Tamhane Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırıldıklarında; Grup S ile Grup Mİ arasında ileri düzeyde önemli fark mevcuttu ($p < 0,001$) , Grup S ile Grup MİL arasında anlamlı istatistiksel fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Grup Mİ ile Grup MİL arasında ileri düzeyde önemli istatistiksel fark olduğu görüldü ($p < 0,01$) (Tablo 4.4)

4.1.3 Doku Nitrat Düzeylerinin Sonuçları

Doku nitrat düzeylerinin gruplara göre ölçülen değerleri Tablo4.5'te gösterilmiştir. Bu değerlerin Tek Yönlü Varyans Analizi ile incelenmesi sonucunda; ortalama doku nitrat düzeyleri Grup S'de 14,48 $\mu\text{mol/mgr}$ protein, Grup Mİ'de 45,24 $\mu\text{mol/mgr}$ protein, Grup MİL'de 21,90 $\mu\text{mol/mgr}$ protein olarak bulunmuş olup,

Grup S ile Grup MİL arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$). Grup Mİ ile diğer iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,001$) (Tablo 4.6).

Ratlarda S, Mİ, MİL gruplarında doku nitrat düzeyleri değerlendirildiğinde Grup S’de doku nitrat düzeyinin ölçülebilir minimal değerlerde olduğu; mezenterik İ-R uygulanan Grup Mİ’de doku nitrat düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı, mezenterik İ-R uygulanarak ligustrazin verilen Grup MİL’de doku nitrat düzeyinin S grubuyla benzer olduğu, Mİ grubuna göre anlamlı derecede azalmış olduğu görüldü (Tablo4.6).

Tablo 4.5.Ratların doku nitrat düzeyleri değerlerinin gruplara göre dağılımı ($\mu\text{mol/mgr protein}$).

Rat No	GrupS	Grup Mİ	Grup MİL
1	11,94	44,92	24,22
2	9,82	55,32	34,20
3	16,21	38,24	18,26
4	17,23	28,31	16,24
5	18,82	48,46	20,12
6	14,64	52,24	19,16
7	12,73	49,17	21,12

Tablo 4.6.Gruplara göre doku nitrat düzeylerinin ortalama ve standart hata değerleri ($\mu\text{mol/mgr protein}$). ($F_{4:35}=35,25$, $p < 0,05$)

Gruplar	Doku Nitrat Düzeyleri(Ort. \pm Std. hata)
Grup S (n=7)	3,18 \pm 1,20
Grup Mİ (n=7)	9,24 \pm 3,49
Grup MİL (n=7)	5,96 \pm 2,25

Gruplar kendi içlerinde birbirleri ile Tamhane Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırıldıklarında Grup S ile Grup Mİ arasında ileri düzeyde önemli istatistiksel

fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Grup S ve Grup MİL arasında anlamlı istatistiksel fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Grup Mİ ve Grup MİL arasında ileri düzeyde önemli istatistiksel fark mevcuttu (Tablo 4.6).

4.2 Histolojik Bulgular

4.2.1 İleum Spesmenlerinin Histolojik Değerlendirme Sonuçları

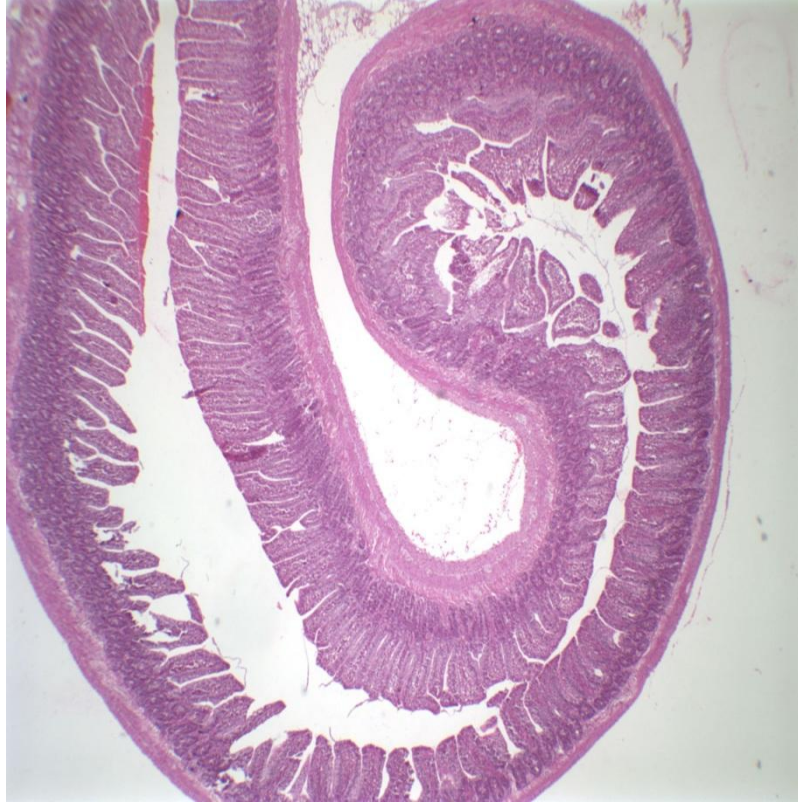
Deney sonucunda ratların distal ileumundan alınan spesmenler daha önce tarif edildiği gibi çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra her rat için sayıları iki ile altı arasında değişen preparat elde edildi. Her bir preparat Chiu ve arkadaşlarının (115) sınıflama sistemi kullanılarak bir histolog tarafından kör olarak incelendi ve her preparata bir skor verildi. Her rata ait preparatlardan elde edilen skorlar toplanarak ortalamaları alındı ve bu şekilde her rata ait tek bir ortalama ileum skoru elde edildi.

İleum spesmenlerinin histopatolojik değerlendirilmesi sonucunda tüm gruplardaki her ratın Chiu sınıflamasına göre ortalama skorları Tablo4.7’de gösterilmiştir. Bu değerlerin Kruskal-Wallis Tek Yönlü Varyans Analizi ile incelenmesi sonucunda ortalama ileum skorları; Grup S’de 0,00, Grup Mİ’de 3,45, Grup MİL’de 2,71 olarak bulunmuş olup, her üç grup arasında çok anlamlı istatistiksel fark tespit edildi ($p < 0,001$) (Tablo4.7).

Tablo 4.7.İleum spesmenlerinin gruplara göre Chiu sınıflaması skorlarının dağılımı

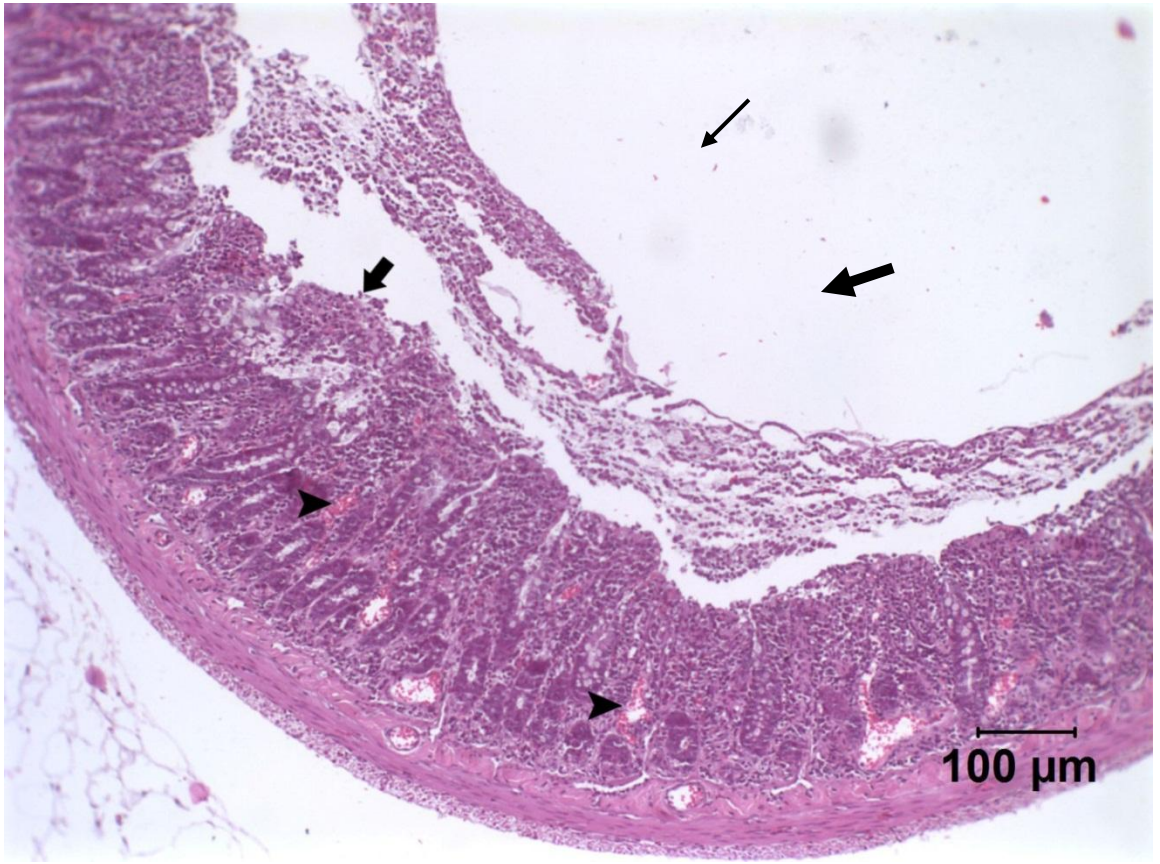
Rat No	GrupS	GrupMİ	Grup MİL
1	0	4	3
2	0	4	4
3	0	4	1
4	0	3	1
5	0	4	1
6	0	3	4
7	0	3	1

Ratlarda S, Mİ ve MİL gruplarında ortalama ileum skorları değerlendirildiğinde; sham grubuna ait dokular normal mukoza görünümüne sahipti (sham grubundan alınan normal ince bağırsak spesmeninin mikroskopik fotoğrafı Şekil 4.1’de görülmektedir).



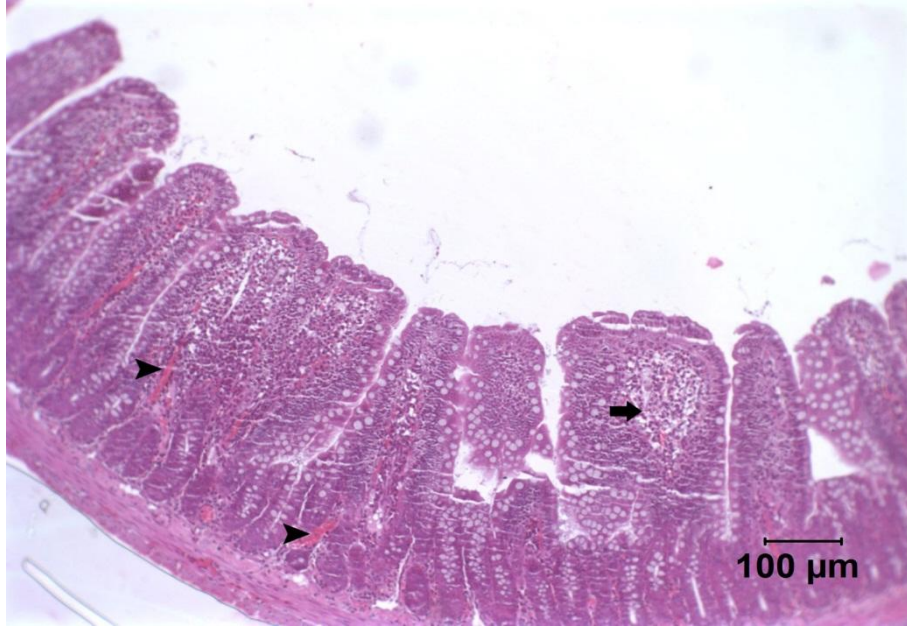
Şekil 4.1 Sham grubundan (Grup S) alınan normal ileum spesmeninin mikroskopik görünümü (Grade 0) (H&E, 100×).

Mezenterik İ-R uygulanan Grup Mİ’de ortalama ileum skorunun tüm gruplardan anlamlı derecede daha yüksek olduğu görüldü. Mukozal hasarın genellikle Grade 3 ve 4 arasında olduğu, bu gruptaki mukozal hasarda, villus uçlarında gözlenen çıplaklaşma, yer yer lamina propriaya doğru ilerlemişti. Kapillerlerdeki dilatasyonlar oldukça belirgindi (İ-R grubundan alınan ince bağırsak spesmeninin mikroskopik fotoğrafı Şekil 4.2’de görülmektedir).



Şekil 4.2 İ-R grubundan (Grup Mİ) alınan ileum spesmeninin mikroskopik görünümü (Grade 4) (H&E, 100X) (Çıplak villuslar) (Lamina propriada artmış hücre yoğunluğu ve dilate kapillerler)

Mezenterik İ-R uygulanarak ligustrazin verilen Grup MİL’de ortalama ileum skorunun sham grubundan yüksek olmakla birlikte diğer gruplardan daha düşük olduğu görüldü. Mukozal hasar incelemesinde iyileşmeye ait bulgulara rastlandı. Bu grupta Grade-1 düzeyinde villusların ucunda subepitelial boşlukların gelişmeye başladığı ve yer yer kapiller konjesyon olduğu gözlemlendi. Bu grupta da Grade-3 ve 4’e ait bulgulara da rastlandı (Grup MİL’den alınan hafif-orta derecede hasarlı jejunum spesmeninin mikroskopik fotoğrafı Şekil 4.3’te görülmektedir).



Şekil4.3Î-R + Ligustrazin grubundan (Grup MİL) alınan ileum spesmeninin mikroskopik görünümü (Grade 2) (H&E, 100X) (Gruenhagen aralığında artış)

Gruplar kendi içlerinde birbirleri ile Student-Newman-Keuls Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırıldıklarında Grup S ile Grup Mİ, Grup S ile Grup MİL arasında anlamlı istatistiksel fark olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Grup Mİ ve Grup MİL grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$) (Tablo 4.8). Mezenterik Î-R uygulanarak ligustrazin verilen Grup MİL’de ortalama ileum skorunun sham grubundan yüksek olmakla birlikte diğer grupdan daha düşük olduğu görüldü

Tablo 4.8.Gruplara göre ileum spesmenlerinin Chiu sınıflaması skorları, ortalama ve standart hata değerleri ($H = 28,54$, $sd = 4$, $p < 0,001$).

Gruplar	ileum Spesmenlerinin Skorları(Ort.± Std. hata)
Grup S (n=7)	0,00 ± 0,08
Grup Mİ (n=7)	3,45 ± 0,17
Grup MİL (n=7)	2,71 ± 0,08

5. TARTIŞMA

Bağırsakları besleyen arterlerin emboli, tromboz veya ateroskleroza bağlı tıkanıklıkları ile volvulus, intestinal strangülasyon, invajinasyon gibi mekanik vasküler nedenler veya bağırsağın venöz dönüşünde obstrüksiyon gibi çok çeşitli nedenlerle bağırsaklarda iskemik hasar görülür (116, 117). Dokunun yaşaması için iskemiye müteakip reperfüzyon zorunludur. Ancak reperfüzyon hasarının tek başına iskeminin neden olduğu doku hasarından daha fazla hasar yaptığı gösterilmiştir (118, 119).

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 (120, 121). 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 (122).

İ-R hasarı cerrahi uygulamalarda sıkça rastlanan bir durumdur. Bu hasar hem yerel olarak İ-R'un meydana geldiği bölgede hem de hasarın geliştiği bölgeden uzakta akciğer, böbrek gibi dokularda etkisini gösterir (123, 124). Konuyla ilgili birçok değişik araştırma yapılmıştır. İ-R hasarını tanımlayan birçok mekanizma ortaya çıkarılmış ve birçok tedavi yöntemi önerilmiştir (123).

Mezenterik iskemiler tıptaki gelişmelere rağmen yüksek mortalite (%50-80) ve ciddi komplikasyonları nedeniyle klinisyenlerin en fazla uğraş verdiği vasküler problemlerdendir. Diğer vasküler problemlerle karşılaştırıldığında mezenterik iskemilerin prevalansı düşük olmakla birlikte intestinal enfarktı önleyecek erken tanı ve efektif tedavi bu hastalar için tek umuttur (22).

Mezenterik iskemilerin mortalite ve morbidite oranlarının günümüz tıbbındaki gelişmelere rağmen hala azaltılamamış olması ve klinik tedavisindeki zorluklar bizi bu konu hakkında araştırma yapmaya yöneltti. Bu amaçla ratlarda deneysel bir mezenterik İ-R modeli oluşturularak Ligustrazin'in İ-R hasarına etkileri incelendi. Araştırmamızın temelini Ligustrazin'in yapılan çalışmalarda hipoksik dokularda

PGI₂ düzeyini artırarak ve T_xA₂ seviyesini azaltarak vazodilatasyona neden olduğu (12, 13) İ-R hasarında oksidatif stres, nötrofil infiltrasyonu ve apoptozisi azalttığı (13) ve damar endotelini de içeren birçok dokuda NO sentezini artırıcı etkisinin İ-R hasarını önleyebileceği hipotezini oluşturdu (125). NO'nun İ-R hasarına etkileri birçok araştırmada yararlı (126, 127, 128), bazılarında ise zararlı (129) olarak rapor edilmiştir.

İntestinal iskemide oksijen ve doku kanlanması azalır ve doku hasarı oluşur. İntestinal reperfüzyon ile doku hasarı daha da şiddetlenir (116, 130). İskemik mukoza hasarında ilk olarak kapiller geçirgenlik, daha sonra mukoza geçirgenliği artar, mukoza yüzeyindeki hasarı transmukozal ve transmural hasar takip eder (131, 132, 133). Bağırsak mukoza engelinin bozulmasına değişik patolojik mekanizmalar neden olmaktadır.

Bunlar içinde en önemli mekanizmanın İ-R hasarı olduğu yönünde görüş birliği vardır (37, 134). İ-R hasarını açıklayan kesin bir mekanizma bulunmamakla birlikte, hasardan sorumlu birkaç mekanizmadan sözedilebilir. Sitokinler, nötrofil aktivasyonu, endotel adezyonu ve bunun sonucunda üretilen toksik metabolitler, PAF, fosfolipaz A₂'nin aktivasyonu, ksantin oksidaz enzim sistemi ve serbest oksijen radikalleri en önemli hasar mekanizmalarıdır. İskemik bağırsak sistemik ve portal dolaşıma hidrojen peroksit, süperoksit radikalleri, sitokinler, araziidonik asit metabolitleri gibi inflamatuvar metabolitler salgılar. Yapılan çalışmalar reperfüzyon sonrası moleküler oksijene bağlı olarak oluşan hasarın iskemiyeye bağlı intestinal mukoza hasarından daha şiddetli olduğunu göstermektedir (135, 136). İskemik dokunun kurtarılması için kan dolaşımının yeniden sağlanması gerekliliği inkar edilemez. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu paradoksal olarak doku yaralanmasına neden olan olaylar zincirinin başlamasına neden olur (37). Birçok çalışma oksijen kaynaklı serbest radikallerin, bu hasarın reperfüzyon komponentinin mediatörleri olduğunu göstermiştir (137, 138). Mutlu ve arkadaşları (139) ratlarda intestinal İ-R'un böbrek dokusunda hasara neden olduğunu ve bu hasardan SOR'nin sorumlu olduğunu göstermişlerdir.

Serbest oksijen radikali eşleşmemiş bir ya da daha fazla elektron içeren dengesiz bir moleküldür (137). Birçok serbest radikal moleküler oksijenin

indirgenmesi veya yükseltgenmesi ile oluşturulabilir. Az miktarda serbest radikal, mitokondrial elektron transport zinciri tarafından fizyolojik olarak üretilmektedir (140). Patolojik durumlarda SOR; ksantin oksidaz metabolizması, aktive nötrofiller, katekolamin reaksiyonu, endotel hücreleri ve Pg'lerden elde edilir (138). Nötrofil-endotel hücresi etkileşimleri, İ-R'na bağlı mikrovasküler hasarın ön koşuludur. Endotelde artmış nötrofil adezyonu, iskemi sonrasında post-kapiller venüllerde görülmekle birlikte belirgin cevap reperfüzyon sırasında meydana gelir. PAF, LTB₄ ve SOR bu cevabın en önemli kimyasal mediatörleridir (141). Lokal hormon ve otakoidler, vasküler düz kas tonusunu değiştirirler. Bunlar PgI₂, TxA₂, LTB₄, NO ve endotelin gibi mediatörlerdir (142). İ-R'da rol oynayan diğer mediatörler PAF, kompleman ve sitokinlerdir (10, 143). Endotelyal hücreler; ICAM-1, ICAM-2 ve ELAM gibi CD₁₁/CD₁₈ nötrofil integrinleri ile etkileşime giren adezyon moleküllerinin ekspresyonunu regüle ederek inflamatuvar cevabı değiştirirler. Endotel aynı zamanda; koagülasyonun regülasyonunda, lipit transportu ve immunolojik reaktivitede de önemli rol oynamaktadır (144).

İ-R hasarını birçok endojen mekanizmanın inhibe ettiği ve bazı kimyasal maddelerin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. SOR çöpçülüğü (145, 146, 147), SOR oluşumunun inhibisyonu (149, 152), nötrofil inhibisyonu (150, 151), antioksidasyon (152), iskemik prekondisyon (153, 154) ve hipotermi üzerinden etki gösteren ajanlar mevcuttur (155, 156). Ratlarda intestinal İ-R hasarını azaltmaya yönelik çalışmalarda hipotermimin (157), ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinolün (158), antioksidan olan melatoninin (49) ve daha birçok ajanın çeşitli mekanizmalarla bu hasarı azaltmada başarılı oldukları saptanmıştır.

İ-R'da reperfüzyon sürecinin, no-reflow fenomeni (progresif mikrosirkülatuar obstrüksiyon) nedeniyle her iskemi sonrası gelişmeyebileceği, bunun iskemik intervalin uzunluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiş, 1-3 saat iskemik kalan kaslar reperfüze edilebilirken, 5 saat iskemiye maruz kalan olgularda ise %40-50 oranında no-reflow fenomeni gelişmiştir (159). Bu fenomenin kesin nedeni tam olarak anlaşılacakla birlikte doku düzeyindeki etkileri; fibrinolitik ajanlar, mannitol gibi hiperozmotik ajanlar ve fasyotomi ile azaltılabilmektedir (148, 159, 160).

Bazı araştırmacılar, ratlarda yaptıkları İ-R çalışmalarında iskemiden önce deneklere heparin uygulamışlardır (3, 161). Diğer birçok araştırmacı deneylerinde herhangi bir uygulamaya ihtiyaç duymamışlardır (49, 162, 163). Bu çalışmada iskemi süresinin kısa olmasından dolayı no-reflow fenomeni gelişmeyeceği düşünülerek koruyucu medikasyon uygulanmamış, iskemi sonunda vasküler klemler açıldığında mezenterik dolaşımın (damar atımının) geri gelmesi ve dokunun normal rengine dönmesi ile reperfüzyonun gerçekleştiği görülmüştür.

Mezenterik İ-R ile ilgili çalışmalarda; anestezi amacıyla birçok farklı madde, farklı dozlarda, farklı aralıklarla ve farklı yollarla uygulanmıştır. Pentobarbital, Ketamine ve Xylazine literatürde en sık kullanılan anestetik maddelerdir ve sıklıkla İM veya İP olarak uygulanmışlardır (49, 164, 165, 166). Çalışmada literatür verilerine uygun olarak 50 mg/kg Tiopental Sodyum İP olarak uygulanmış ve ratların hiçbirinde anesteziye bağlı komplikasyon görülmemiştir.

Literatürde deneysel mezenterik İ-R modeli oluşturmak için çok sayıda farklı yöntem tarif edilmiştir. Sadece SMA köküne atravmatik klemp konularak oluşturulan soğuk iskemi (49, 157, 167), SMA ile birlikte SMV'in de klemlendiği sıcak iskemi (166), SMA'in dallarının oklüzyona uğratıldığı parsiyel iskemi (164) ve SMA'in kollateralleri ile birlikte klemlendiği total iskemi modeli (158) bunlardan bazılarıdır.

Deneylerin amaçlarına göre mezenterik iskemi ve reperfüzyon süreleri de çok değişkendir. Literatürde rastladığımız iskemi süreleri 15 dakika (165) ile 4 saat (3) arasında değişirken; reperfüzyon süreleri 15 dakika (168) ile 1 hafta (139) arasında değişmektedir.

Park ve arkadaşlarının (169) yaptığı bir çalışmada; total sıcak iskemide 20 dk'dan daha kısa bir zamanda mikroskopik olarak saptanabilen mukozal hasar başladığını görmüşlerdir. Buna ilaveten, arteriyel oklüzyon uygulanan deneylerde rat ince bağırsağında reperfüzyon hasarının iskemi süresinin 40, 50 ve 60 dakikadan daha kısa veya daha uzun olduğunda gelişmediğini keşfetmişlerdir. Daha uzun iskemi sürelerinin, çok derin ve bazen transmural hasara neden olduğu da aynı çalışmada görülmüştür. Leung ve arkadaşlarının (170) yaptığı başka bir çalışmada; 1

ve 3 saatlik arteriyel oklüzyonla oluşturulan ince bağırsak iskemisinin çok şiddetli olması nedeniyle reperfüzyon hasarının görülemediği saptanmıştır. Ratlarda deneysel mezenterik iskemi sonrası rejenerasyon bulgularının araştırıldığı başka bir çalışmada; iskemi başlangıcından 10 dk sonra villuslarda ciddi hasar geliştiği, 30 dakikalık iskemi sonrası hızlı bir onarım süreci başlayarak hayvanların %47,6sında birinci saatte, %75inde dördüncü saatte ve %100ünde onikinci saatte villus epitelindeki iyileşmenin tamamlandığı tespit edilmiştir (171). Diğer bir çalışmada 45 dakikalık total sıcak iskemi sonrası 3 saat içinde değişik derecede rejenerasyon bulguları görüldüğünü, 90 dakikalık iskemi sonrası iyileşme süreci için 18 saat geçmesi gerektiğini rapor etmiştir (172).

Çalışmada literatüre uygun olarak SMA atravmatik bir mikrovasküler klemp vasıtasıyla kleplendi. Mezenter arter nabzının kaybolduğu ve ince bağırsakların renginin soluklaştığı görüldükten sonra bağırsaklar karın içine konup karın kapatıldı. 45 dk'lık iskemi sonunda karın açılarak klemp kaldırıldı. Mezenter arter nabzının geri geldiği ve bağırsak renginin tekrar pembeleştiği görüldükten sonra bağırsaklar karına konup karın tekrar kapatıldı. 60 dakikalık reperfüzyon sağlandıktan sonra, relaparotomi yapılarak biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler için ince bağırsaktan doku örnekleri alındı ve hayvanlar dekapite edildi.

İskemi süresi belirlenirken bunun belirgin hasar oluşturacak kadar uzun, fakat tam kat ve irreversible nekroz oluşturmayacak kadar kısa olmasına özen gösterildi. Çünkü tam kat nekroz gelişen durumlarda cerrahi rezeksiyon dışındaki tedavilerin anlamsız olduğu bilinmektedir (22). Bu ölçütlere en uygun iskemi süresinin 45 dk olduğu düşünüldü. Aynı süreyle iskemi literatürdeki diğer çalışmalarda da uygulanmıştır (139). 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 60 dk olduğu düşünüldü. Aynı süreyle reperfüzyon literatürdeki diğer çalışmalarda da uygulanmıştır (166).

SOR'nin en zararlı etkisi lipit peroksidasyonudur. Hücre membranları, poliansatüre yağ asitleri ve fosfolipitlerden oluşmaktadır (173). SOR, yapısal ve

fonksiyonel hücre hasarı ile sonuçlanan lipit peroksidasyonunu artırarak hücre ölümüne neden olur. Lipit peroksidasyonu, lipit molekülünde iki doymamış bağ arasında bulunan bir metilen grubundan H atomunun uzaklaştırılması ile başlayan kompleks bir süreçtir. Bu olay sonucunda, oksijen varlığında lipit peroksitleri veya hidroksiperoksitleri oluşturan karbon merkezli lipit serbest oksijen radikali meydana gelir. Bu karbon kökenli lipit radikallerin daha da bozulması ile rölatif olarak daha stabil olan son ürün, malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, lipit peroksidasyonu göstergesi olarak kullanılabilir (174).

Birçok çalışmada İ-R hasarında SOR'nin etkilerini değerlendirmek amacıyla serum veya doku MDA düzeyleri incelenmiştir. Doku MDA düzeyi ölçümleri, serum MDA ölçümlerinden farklı olarak sadece İ-R hasarından etkilenen dokuyu ilgilendirdiği için literatürde MDA düzeyi sıklıkla doku düzeyinde incelenmiştir. Baykal ve arkadaşları (167) çalışmalarında Nihara ve Uchiyama, Öztürk ve arkadaşları (175) çalışmalarında Hiroshi ve arkadaşları, Kazez ve arkadaşları (49) ise çalışmalarında Okhawa ve arkadaşlarının tarif ettiği doku MDA ölçüm yöntemini kullanmışlardır. Çalışmamızda ince bağırsak MDA düzeyleri incelenmiştir. Doku MDA düzeyleri; Okhawa ve arkadaşlarının (112) tarif ettiği spektrofotometrik yöntemle ölçülerek, nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

Deney sonucunda elde edilen doku MDA düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Sham grubunun (Grup S) MDA değerlerinin diğer tüm gruplardan anlamlı olarak daha düşük olması; doku MDA düzeylerinin İ-R hasarı ile birlikte yükseldiğini ve lipit peroksidasyonu için önemli bir ölçüt olduğunu göstermiştir. Çalışmamızın bu bulguları, literatürde doku MDA düzeylerinin incelendiği diğer çalışmalarla uyumludur (49, 139, 158).

Bizim çalışmamızda Grup S ile Grup Mİ karşılaştırıldığında grup Mİ'de doku MDA düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı, SOD düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı, nitrat düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı görüldü. Grup S'de doku MDA ve Nitrat düzeyinin ölçülebilir minimal değerlerde olduğu, SOD düzeyinin yüksek değerlerde olduğu görüldü. Histolojik incelemede sham grubuna ait dokular normal mukoza görünümüne sahipti. Grup Mİ'de ortalama ileum skorunun tüm gruplardan anlamlı derecede daha yüksek olduğu görüldü. Mukozal hasarın genellikle Grade 3 ve 4

arasında olduğu, bu gruptaki mukozal hasarda, villus uçlarında gözlenen çıplaklaşma, yer yer lamina propriaya doğru ilerlemişti ve kapillerlerdeki dilatasyonlar oldukça belirgindi.

Grup S ile Grup MİL karşılaştırıldığında grup MİL’de doku MDA düzeyinin sham grubundan bir miktar daha yüksek olmakla birlikte Mİ grubundan daha düşük olduğu, SOD düzeyinin Grup S’deki değere yakın olduğu, nitrat düzeyinin S grubuyla benzer olduğu görüldü. Histolojik incelemede sham grubuna ait dokular normal mukoza görünümüne sahipti. Grup MİL’de ortalama ileum skorunun sham grubundan yüksek olmakla birlikte diğer gruplardan daha düşük olduğu görüldü. Mukozal hasar incelemesinde iyileşmeye ait bulgulara rastlandı. Bu grupta Grade-1 düzeyinde villusların ucunda subepitelial boşlukların gelişmeye başladığı ve yer yer kapiller konjesyon olduğu gözlemlendi. Bu grupta da Grade-3 ve 4’e ait bulgulara da rastlandı.

Grup Mİ ile Grup MİL karşılaştırıldığında Grup Mİ’de doku MDA düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı, Grup MİL’de doku MDA düzeyinin sham grubundan bir miktar daha yüksek olmakla birlikte Mİ Grubundan daha düşük olduğu, Grup Mİ’de doku SOD düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı, Grup MİL’de doku SOD düzeyinin Grup S’deki değere yakın olduğu, Grup MİL’de doku nitrat düzeyinin S grubuyla benzer olduğu, Mİ grubuna göre anlamlı derecede azalmış olduğu görüldü. Histolojik incelemede Grup Mİ’de ortalama ileum skorunun tüm gruplardan anlamlı derecede daha yüksek olduğu görüldü. Mukozal hasarın genellikle Grade 3 ve 4 arasında olduğu, bu gruptaki mukozal hasarda, villus uçlarında gözlenen çıplaklaşma, yer yer lamina propriaya doğru ilerlemişti. Kapillerlerdeki dilatasyonlar oldukça belirgindi. Mezenterik İ-R uygulanarak ligustrazin verilen Grup MİL’de ortalama ileum skorunun sham grubundan yüksek olmakla birlikte diğer gruplardan daha düşük olduğu görüldü. Mukozal hasar incelemesinde iyileşmeye ait bulgulara rastlandı. Bu grupta Grade-1 düzeyinde villusların ucunda subepitelial boşlukların gelişmeye başladığı ve yer yer kapiller konjesyon olduğu gözlemlendi. Bu grupta da Grade-3 ve 4’e ait bulgulara rastlandı.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Mezenterik İskemi-Reperfüzyonun İnce Bağırsak ve Nitrik Oksite Etkileri: Grup Mİ, Grup S ile karşılaştırıldığında;

- a. Doku MDA düzeylerinin yani lipit peroksidasyonunun anlamlı olarak yükseldiği görüldü.
- b. Doku nitrat düzeylerinin yani endojen NO'in anlamlı olarak yükseldiği saptandı.
- c. Doku SOD düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı görüldü.
- d. Jejunumda İ-R hasarının histopatolojik göstergesi olan, jejunum Chiu sınıflaması skorlarının anlamlı olarak yükseldiği, yani jejunumda İ-R hasarının geliştiği tespit edildi.
- e. İleumda İ-R hasarının histopatolojik göstergesi olan ileum Chiu sınıflaması skorlarının anlamlı olarak yükseldiği, yani ileumda İ-R hasarının oluştuğu görüldü.

2. Ligustrazin'in Mezenterik İskemi-Reperfüzyona ve Nitrik Oksite Etkileri: Grup MİL, Grup Mİ ile karşılaştırıldığında;

- a. Doku MDA düzeylerinin yani lipit peroksidasyonunun anlamlı olarak azaldığı görüldü.
- b. Doku nitrat düzeylerinin yani endojen NO'in anlamlı olarak azaldığı saptandı.
- c. Doku SOD düzeyinin Grup S'deki değere yakın olduğu görüldü.
- d. Jejunumda İ-R hasarının histopatolojik göstergesi olan jejunum Chiu sınıflaması skorlarının anlamlı olarak azaldığı, yani jejunumda gelişen İ-R hasarının ligustrazin verildiğinde azaldığı tespit edildi.
- e. İleumda İ-R hasarının histopatolojik göstergesi olan ileum Chiu sınıflaması skorlarının anlamlı olarak azaldığı, yani ileumda gelişen İ-R hasarının ligustrazin verildiğinde azalmış olarak bulundu.

KAYNAKLAR

1. McMillen MA, Huribal M, Sumpio B. Common pathway of endothelial-leukocyteinteraction in shock, ischemia, and reperfusion. *Am. J. Surg.* 1993; 166: 557-62.
2. İlgi S. Gastrointestinal Sistem Anatomisi. İçinde: Sayek İ. (ed): *Temel Cerrahi* (2. baskı). Güneş Kitabevi, Ankara 1996, S. 899-901.
3. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am. J. Physiol.* 1986; 250: G749-53.
4. Jiang-Hual W, Humsun C, Tao W, et al. Role of oxygen derived free radicals in superior mesenteric artery occlusion shock in rats. *Chines Med. J.* 1990; 103: 278-82.
5. Aydın A, Kiper H, Karahüseyinoğlu E, Yaşar B, Paşaoğlu E, İhtiyar E, vd. Deneysel karaciğer iskemisinde dimethyl sulphoxide'in hücre koruyucu etkileri. *Anadolu Tıp Dergisi* 1987; C:9, S:2: 27-40.
6. Şahin A, Yaşar B, İhtiyar E, Polat L, Kiper H, Karahüseyinoğlu E, vd. İskemik hepatitin profilaksisinde Allopurinol'ün normotermik ve hipotermik ortamlardaki etkisi. *Anadolu Tıp Dergisi* 1992; C:14, S:1: 1-10.
7. Paşaoğlu E, Paşaoğlu Ö. Akut inestinal iskemide allopurinol ve dimethyl sulphoxide'in koruyucu etkisi. *T.C. Osmangazi Üniversitesi Yayınları* No: 007, Eskişehir 1994.
8. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
9. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
10. Bassenge E. Clinical relevance of endothelium-derived relaxing factor (EDRF). *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1992; 34: 37S-42S.

11. Luscher TF. Endogenous and exogenous nitrates and their role in myocardial ischaemia. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1992; 34: 29S-35S.
12. Feng J, Liu R, Wu G, Tang S. Effects of tetramethylpyrazine on the release of PGI₂ and TXA₂ in the hypoxic isolated rat heart. *Mol Cell Biochem.* 1997 Feb;167 (1-2): 153-8.
13. Feng L, Ke N, Cheng F, Guo Y, Li S, Li Q, Li Y. The protective mechanism of ligustrazine against renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res.* 2011 Apr; 166 (2): 298-305. Epub 2009 May 14.
14. Stefanutti, G., Vejchapipat, P., Williams, SR., Pierro, A., ve Eaton, S. (2004). Heart energy metabolism after intestinal ischaemia and reperfusion. *Journal of Pediatric Surgery*, 39, 179-183.
15. Massberg, S., ve Messmer, K. (1998). The nature of ischemia/reperfusion injury. *Transplantation Proceedings*, 30, 4217-4223.
16. Berlanga, J., Prats, P., Ramirez, D., Gonzalez, R., Lopez-Saura, P., Aguiar, J., ve diğerleri. (2002). Prophylactic use of epidermal growth factor reduces ischemia/reperfusion intestinal damage. *The American Journal of Pathology*, 161, 373-379.
17. Jones RS. The Small Intestine. In: Sabiston DC Jr, Lyerly HK, (eds.): *Textbook of Surgery (The Biological Basis of Modern Surgical Practice)*. 15'th Edition, W.B.Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 1997: 909-15.
18. Zeren Z. *Sistematik İnsan Anatomisi*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1971: 330-9.
19. Evers BM, Townsend CM Jr, Thompson JC. Small İntestine. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC, (eds): *Principles of Surgery*. 7'th Edtion. McGraw-Hill Company. New York. pp. 1999: 1217-29.
20. Guyton AC. *Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1989: 1086-92.
21. Ottinger LW. Mesenteric ischemia. *N. Engl. J. Med.* 1982; 307: 535-7.

22. Flinn WR, Bergan JJ. Visceral ischemic syndromes: Obstruction of the superior mesenteric artery, celiac axis and inferior mesenteric artery. In: Sabiston DC Jr, Lysterly HK, (eds.): Textbook of Surgery (The Biological Basis of Modern Surgical Practice). 15'th Edition, W.B.Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 1997: 1750-9.
23. Daly JM, Adams JT, Fantini GA, Fischer JE. Abdominal Wall, Omentum, Mesentery, and Retroperitoneum. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC, (eds.): Principles of Surgery. 7'th Edition. McGraw-Hill Company. New York. pp. 1999: 1558-62.
24. Levy PJ, Krausz MM, Manny J. Acute mesenteric ischemia: improved results- a retrospective analysis of ninety-two patients. Surgery 1990; 107: 372-80.
25. Daly JM, Adams JT, Fantini GA, Fischer JE. Abdominal Wall, Omentum, Mesentery, and Retroperitoneum. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC, (eds.): Principles of Surgery. 7'th Edition. McGraw-Hill Company. New York. pp. 1999: 1562-71
26. Özçelikörs Y, Paşaoğlu E, Polat L, İhtiyar E, Çağa T, Tel N. Mezenter arter embolisinde sistemik streptokinazın etkileri. Ulusal Cerrahi Dergisi 1993; V:9, S:2: 102-6.
27. Flickinger EG, Consrude IS, Ogburn NL, et al. Local streptokinase infusion for superior mesenteric artery thromboembolism. A.J.R. 1983; 140: 771-5.
28. Bulkley GB, Zuidema GD, Hamilton SR, O'Mara CS, Klacsmann PG, Horn SD. Intraoperative determination of small intastinal viability following ischemic injury: a prospective, controlled trial of two adjuvant methods (Doppler and fluorescein) compared with standart clinical judgment. Ann. Surg. 1981; 193: 628-37.
29. Allen KB, Salam AA, Lumsden AB. Acute mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass. J. Vasc. Surg. 1992; 16: 391-6.

30. Moneta GL, Misbach GA, Ivey TD. Hypoperfusion as a possible factor in the development of gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Am. J. Surg.* 1985; 149: 648-50.
31. Matthews JE, White RR. Primary mesenteric venous occlusive disease. *Am. J. Surg.* 1971; 122: 579-84.
32. Broekmans AW, van Rooyan W, Westerveld BD, Briet E, Bertina RM. Mesenteric vein thrombosis as presenting manifestation of hereditary protein S deficiency. *Gastroenterology* 1987; 92: 240-2.
33. Harward TR, Green D, Bergan JJ, Rizzo RJ, Yao JS. Mesenteric venous thrombosis. *J. Vasc. Surg.* 1989; 9: 328-33.
34. Poole JW, Sammartano JW, Boley SJ. Hemodynamic basis of pain of chronic mesenteric ischemia. *Am. J. Surg.* 1987; 153: 171-6.
35. Moneta GL, Yeager RA, Dalman R, Antonovic R, Hall LD, Porter JM. Duplex ultrasound criteria for diagnosis of splanchnic artery stenosis or occlusion. *J. Vasc. Surg.* 1991; 14: 511-8.
36. Reilly LM, Ammar AD, Stoney RJ, Ehrenfeld WK. Late results following operative repair for celiac artery compression syndrome. *J. Vasc. Surg.* 1985; 2: 79-91.
37. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
38. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137:1-53.
39. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.
40. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview

- of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun* 1989;7: 255-64.
41. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: S33-42.
 42. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 1988 May;254(5 Pt 1):G768-74.
 43. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997 ;14: 195-203.
 44. Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 2001; 15: 293-306.
 45. Athar M.,Abdulla M., Sultana.: Free radicals and trace elements. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 1993; 6: 65-73.
 46. Cross C.E., Halliwell B , Allen A Antioxidant protection: A function of tracheobronhial and gastrointestinal mucus. *Lancet.* 1984 Jun 16;1 (8390):1328-30.
 47. Akkuş İ, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Konya, MimozaYayımları*,: 1-80, 1995.
 48. Mc Cord, J.M.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985 Jan 17; 312 (3): 159-163.
 49. Weiss SJ, Lobuglio AF: Phagocyte-generated oxygen metabolites and sellüler injury. *Lab Invest.*1982 Jul; 47 (1): 5-18.
 50. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory,cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 434-456.

51. Miller RA., Britigan BE.: Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clinic Microbiol Rev.* 1997 Jan; 10 (1): 1-18.
52. Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *Free Radical Biol Med* 1985;1: 87-95.
53. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-135.
54. Saltman P. Oxidative Stress: A radical view. *Semin Hematol* 1989; 26: 249-256.
55. Freeman, B.A., Crapo, J.D.: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982 Nov; 47(5):412-26.
56. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84: 9265-9.
57. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric-oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991; 43: 109-41.
58. Kalpaklıoğlu AF . Nitrik oksit (Nitrojen Monoksit, N=O) "iki ucu keskin kılıç". *MN Doktor Nisan* 1996; 4/2: 88-90.
59. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 1620-4.
60. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.* 1991; 288: 481-7.
61. Stark ME, Szurszewski JH. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 1928-49.

62. Clancy RM, Leszcznska-Piziak J, Abramson SB. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 1116-21.
63. Efron DT, Kirk SJ, Regan MC, Wasserkrug HL, Barbul A. Nitric oxide generation from L-Arginine is requires for optimal human peripheral blood lymphocyte DNA synthesis. *Surgery* 1991; 110: 327-34.
64. Ochoa JB, Udekwu AO, Billiar TR, Curran RD, Cerra FB, Simmons RL, et al. Nitrogen oxide levels in patients after trauma and during sepsis. *Ann. Surg.* 1991; 214: 621-6.
65. Petros A, Bennett D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hipotension in patients with septic shock. *Lancet* 1991; 338: 1557-8.
66. Park JH, Chang SH, Lee KM, Shin SH. Protective effect of nitric oxide in an endotoxin-induced septic shock. *Am. J. Surg.* 1996; 171: 340-5.
67. Ignarro LJ, Fukuto JM, Griscavage JM, Rogers NE, Byrns RE. Oxidation of nitric oxide in aqueous solution to nitrite but not nitrate: comparison with enzymatically formed nitric oxide from L-arginine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993; 90: 8103-7.
68. Kondo K, Mitchell JA, de Nucci G, Vane JR. Simultaneous measurement of endothelium-derived relaxing factor by bioassay and guanylate cyclase stimulation. *Br. J. Pharmacol.* 1989; 98: 630-6.
69. Hecker M, Mitchell JA, Harris HJ, Katsura M, Thiemermann C, Vane JR. Endothelial cells metabolize NG-monomethyl-L-arginine to L-citrulline and subsequently to L-arginine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990; 167: 1037-43.
70. Muller CD, Schuber F. Fluorometric determination of polystyrene latex: application to the measurement of phagosomes and phagocytosis. *Anal. Biochem.* 1986; 152: 167-71.

71. Pai TG, Payne WJ, LeGall J. Use of chemiluminescence detector for quantitation of nitric oxide produced in assays of denitrifying enzymes. *Anal Biochem.* 1987; 166: 150-7.
72. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982; 126: 131-8.
73. Granger DL, Taintor RR, Boockvar KS, Hibbs JB. Determination of nitrate and nitrite in biological samples using bacterial nitrate reductase coupled with the Griess reaction. *Methods Enzymology* 1996; 268: 142-51.
74. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J Surg Res* 1996; 61: 469-472.
75. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007; 97: 738-747.
76. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 2004; 70: 71-86.
77. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2514-2523.
78. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 84-90.
79. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386.
80. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.

81. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007; 376): 1-43.
82. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol*.1993; 16(4 Suppl 1): I19-26.
83. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses*2007; 68: 1363-1370.
84. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 1991; 42: 125-138.
85. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999; 101:148-160.
86. García-Villalón AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol*. 2008; 48:109-114..
87. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.
88. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009; 22: 46-55.
89. Hirayama K, Yasutake A, Inoue M. Free radicals and trace elements. *Progress in clinical and biological research* 1993;380:257-68.
90. Bird RP, Draper HH. Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Methods in enzymology* 1984;105:299-305

91. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics* 1990;280(1):1-8.
92. Maxwell SR. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49(3):345-61.
93. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics* 1986;246(2):501-14.
94. Witschi A, Reddy S, Stofer B, Lauterburg BH. The systemic availability of oral glutathione. *European journal of clinical pharmacology* 1992;43(6):667-9.
95. Liu YP, et al., matK and its nucleotide sequencing of crude drug chuanxiong and phylogenetic relationship between their species from China and Japan, *Journal of Crude Drug Studies* 2002; 37(1): 63-68.
96. Liu CF, et al., Protective effect of tetramethylpyrazine on absolute ethanol-induced renal toxicity in mice, *Journal of Biomedical Science* 2002; 9(4): 299-302.
97. Li JC, Yang ZR, and Zhang K, The intervention effects of *Angelica sinensis*, *Salvia miltiorrhiza* and ligustrazine on peritoneal macrophages during peritoneal dialysis, *Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine* 1997; 22(3): 190-192.
98. Zheng FM, Ren YZ, and Zhao TF, Preliminary clinical observation on effect of sodium ferulate in treating diabetic nephropathy, *Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine* 2005; 25(5): 419-421.
99. Liao SL, et al., Tetramethylpyrazine reduces ischemic brain injury in rats, *Neuroscience Letter* 2004; 372 (1-2): 40-45.
100. Kao TK, et al., Neuroprotection by tetramethylpyrazine against ischemic brain injury in rats, *Neurochemistry International* 2005;

101. Cao WF, Li RH, and Chen BX, Status of experimental and clinical studies in retarding kidney damage of chronic nephropathy by ligustrazine, Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine 1997; 17(5): 314-315.
102. Tang X, Effect of ligustrazine on proliferative glomerulonephritis, Chinese Herbal Drugs 2003; 26(8): 611-612.
103. Huang LC and Zhan F, Effects of tetramethylpyrazine and prednisone on 38 cases of nephritic syndrome, Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine 1998; 4(1): 51-52.
104. Yang DS and Ren XH, Observation on the protection by ligustrazine from renal toxicity of gentamycin, Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine 1994; 14(10): 621.
105. Oddoy A, et al, Effects of ligustrazine on the pressure/flow relationship in isolated perfused rat lungs, European Respiratory Journal 1991; 4: 1223-1227.
106. Dai L, Hou J, and Cai HR, Using ligustrazine and Angelica sinensis treat the bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats, Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases 1996; 19(1): 26-28.
107. Dai LJ, Hou J, and Cai HR, Experimental study on treatment of pulmonary fibrosis by Chinese drugs and integrative Chinese and Western medicine, Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine 2004; 24(2): 130-132.
108. Chen XY, Effects of Salviae miltiorrhizae, Ligustrazine, and hydrocortisone on the bleomycin-induced lung fibrosis in mice, Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases, 1987 Apr;10(3):152-4, 191, 12.
109. Liu J, et al., Experimental study of the effect of IH764-3 on pulmonary fibrosis, Chinese Medical Science Journal 1993; 8(1): 9-14.
110. Cai Y, Ren M, and Yang R, Observation on curative effect of acute ischemic cerebrovascular disease treated with different dosage of ligustrazine, Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine 2000; 20(10): 747-749.

111. Wang Q, Xiong LZ, Chen SY, Effect of sodium ferulate on activation of extracellular signal regulated kinase after cerebral ischemia/reperfusion injury in rats, *Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine* 2003; 23(12): 918-921.
112. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979; 95: 351-8.
113. Winterbourn, C.C., Hawkins, R.E., Brian M, Carrell, R.W., 1975, the estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med.*, 85, 337-342.
114. Cortas, N.K., Wakid, N.W., 1990, Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method, *Clin. Chem.*, 36 (8), 1440–1443, p.
115. Chiu CJ, MacArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. *Arct. Surg.* 1970; 101: 478-83.
116. Talbot W.: *Ischaemia and infarction. Genel Pathology Seventh Edition;* Pearson Professional Limited 1996; 709-722.
117. Brand JL., Boley JS.: *ischemic and vascular lesions of the bowel. Gastrointestinal Diseases 1993; Vol: 2; Chapter: 97; 1927-1931.*
118. Grace PA: *Ischemia-reperfusion injury. Brit J Surg* 1994; 81: 634-47.
119. Aktan S, Aykut C, Yegen BÇ, Özkutlu TD, 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* 1992; 46: 287-90.
120. Tsao, P. S., Aoki, N., Lefer, D. J., Johnson G., ve Lefer A. M.(1990). Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation*, 82, 1402–1412.

121. Zweier, J. L., Flaherty, J. T. ve Weisfeldt, M. L. (1987). Observation of free radical generation in the post-ischemic heart Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 84, 1404–1407.
122. Lefer, A. M., ve Ma, X. L. (1991). Endothelial dysfunction in the splanchnic circulation following ischemia and reperfusion. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 17, Suppl. 3, S186–S190
123. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury (Review). British Journal of Surgery; 1994; 81: 637-47.
124. Anner H, Kaufman RP Jr, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pulmonary leukosequestration induced by hind limb ischemia. Ann. Surg. 1987; 206: 162-7.
125. Sha0 Z, Li J, Zhao Z, Gao C, Sun Z, Liu X. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, 23 Youzheng Street, Nan Gang District, Harbin, Heilongjiang 150001, PR China.
126. Andrews FJ, Malcontenti-Wilson C, O'Brien PE. Protection against gastric ischemia-reperfusion injury by nitric oxide generators. Digest. Dis. Sci. 1994; 39: 366-73.
127. Ozturk H, Kara IH, Otcu S, Kilinc N, Yagmur Y. Influence of L-NAME and L-Arg on ischaemia-reperfusion induced gastric mucosa damage. Acta Gastroenterol. Belg. 2002; 65: 150-4.
128. Kubes P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. Am. J. Physiol. 1993; 264: G143-G149.
129. Wu B, Iwakiri R, Tsunada S, Utsumi H, Kojima M, Fujise T, et al. iNOS enhances rat intestinal apoptosis after ischemia-reperfusion. Free Radic. Biol. Med. 2002; 33: 649-58.
130. Kazez A., Demirbağ M., Üstündağ B.: The role of melatonin in prevention of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. Journal of Pediatric Surgery. 2000 Oct; 35(10): 1444-1448.

131. Haglund U. Gut ischaemia. *Gut* 1994; 1: 73-76.
132. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986; 250: 749-753.
133. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery* 1983; 94: 415-421.
134. Hebra A, Hong J, McGowan KL, et al. Bacterial translocation in mesenteric ischemiareperfusion injury: Is dysfunctional motility the link ? *J Pediatr Surg* 1994; 29: 280-287.
135. Günel E., Çağlayan F., Çağlayan O.: Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *Journal of Pediatric Surgery*. 1998 Oct; 33(10): 1536-1539.
136. Şener G., Akgün U.şatiroğlu H.: The effect of pentoxifylline on intestinal ischemia/reperfusion injury. *Blackwell Science Fundamental & Clinical Pharmacology* 2001; 15; 19-22.
137. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *British Journal of Experimental Pathology* 1989; 70: 737-57.
138. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312: 159-63.
139. Mutlu G, Abbasoglu L, Dogru-Abbasoglu S, Solakoglu S, Bulut M. Morphologic changes and lipid peroxidation in renal tissues in young rats following intestinal ischemia-reperfusion. *Pediatr. Surg. Int.* 2002; 18: 337-40.
140. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J* 1987; 1: 358-64.
141. Lewis MS, Whatley RE, Cain P, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet activating factor by

- endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion. *J. Clin. Invest.* 1988; 82: 2045-55.
142. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br. J. Surg.* 1991; 78: 651-5.
143. Lindsay TF, Hill J, Ortiz F, Rudolph A, Valeri CR, Hechtmann HB, et al. Blockade of complement activation prevents local and pulmonary albumin leak after lower torso ischemia-reperfusion. *Ann. Surg.* 1992; 216: 677-83.
144. Forman MB, Velasco CE, Jackson EK. Adenosine attenuates reperfusion injury following regional myocardial ischaemia. *CardioVasc. Res.* 1993; 27: 9-17.
145. Halliwell B. Superoxide, iron, vascular endothelium and reperfusion injury. *Free Radic. Res. Commun.* 1989; 5: 315-8.
146. Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, Aruoma OI, Halliwell B, Lai EK, et al. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion. Evidence that myocardial "stunning" is a manifestation of reperfusion injury. *Circ. Res.* 1989; 65: 607-22.
147. Loesser KE, Qian YZ, Wei EP, et al. In vivo protection of ischemia reperfusion injury by histidine: a singlet oxygen scavenger. *FASEB J.* 1992; 6: A1342-7.
148. Perry MO. Compartment syndromes and reperfusion injury. *Surg. Clin. North Am.* 1988; 68: 853-64.
149. Lelli JL Jr, Pradhan S, Cobb ML. Prevention of postischemic injury in immature intestine by deferoxamine. *J. Surg. Res.* 1993; 54: 34-8.
150. Lewis MS, Whatley RE, Cain P, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet activating factor by
151. Carden DL, Korthuis RJ. Mechanisms of postischemic vascular dysfunction in skeletal muscle: implications for therapeutic intervention. *Microcirc. Endothelium Lymphatics* 1989; 5: 277-98.

152. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J* 1987; 1: 358-64
153. Walker DM, Yellon DM. Ischaemic preconditioning : from mechanisms to exploitation. *CardioVasc. Res.* 1992; 26: 734-9.
154. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 1264-72.
155. Davis EA, Gillinov AM, Cameron DE, Reitz BA. Hypothermic circulatory arrest as a surgical adjunct: a 5-year experience with 60 adult patients. *Ann. Thorac. Surg.* 1992; 53: 402-7.
156. Busto R, Globus MY, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 1989; 20: 904-10.
157. Kalia N, Pockley G, Wood RFM, Brown NJ. Effects of hypothermia and rewarming on the mucosal villus microcirculation and survival after rat intestinal ischemia-reperfusion injury. *Ann. Surg.* 2002;236: 67-74.
158. Vaughan WG, Horton JW, Walker PB. Allopurinol prevents intestinal permeability changes after ischemia-reperfusion injury. *J. Pediatr. Surg.* 1992; 27: 968-73.
159. Quinones-Baldrich WJ, Chervu A, Hernandez JJ, Coburn M, Moore WS. Skeletal muscle function after ischemia: "no-reflow" versus reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 1991; 51: 5-12.
160. Magovern GJ Jr, Bolling SF, Casale AS, Bulkley BH, Gardner TJ. The mechanism of mannitol in reducing ischemic injury: hyperosmolarity or hydroxyl scavenger? *Circulation* 1984; 70: I91-5.
161. Ikeda H, Suzuki Y, Suzuki M, Koike M, Tamura J, Tong J, et al. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. *Gut* 1998; 42: 530-7.

162. Wu B, Iwakiri R, Tsunada S, Utsumi H, Kojima M, Fujise T, et al. iNOS enhances rat intestinal apoptosis after ischemia-reperfusion. *Free Radic. Biol. Med.* 2002; 33: 649-58. endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion. *J. Clin. Invest.* 1988; 82: 2045-55.
163. Khanna A, Rossman JE, Fung H-L, Caty MG. Attenuated nitric oxide synthase activity and protein expression accompany intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2000; 269: 160-4.
164. Pillai SB, Hinman CE, Luquette MH, Nowicki PT, Besner GE. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor protects rat intestine from ischemia/reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 1999; 87: 225-31.
165. Phillips ARJ, Abu-Zidan FM, Farrant GJ, Zwi JL, Cooper GJS, Windsor JA. Plasma amylin concentration is related to the severity of intestinal ischemic injury in rats. *Surgery*, 2001; 129: 730-5.
166. Itoh H, Yagi M, Hasebe K, Fushida S, Tani T, Hashimoto T, et al. Regeneration of small intestinal mucosa after acute ischemia-reperfusion injury. *Digest. Dis. Sci.* 2002; 47: 2704-10.
167. Baykal A, Kaynaroglu V, Demirpence E, Kilinc K, Sayek I, Sanac Y. Experimental study of effect of the adrenaline tolerance on intestinal ischaemia-reperfusion. *Brit. J. Surg.* 1998; 85: 947-50.
168. Andrews FJ, Malcontenti-Wilson C, O'Brien PE. Protection against gastric ischemia-reperfusion injury by nitric oxide generators. *Digest. Dis. Sci.* 1994; 39: 366-73
169. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Falt K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 1990; 107: 574-80.
170. Leung FW, Su KC, Passaro E Jr, Guth PH. Regional differences in gut blood flow and mucosal damage in response to ischemia and reperfusion. *Am. J. Physiol.* 1992; 263: G301-G305.

171. Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *J. Surg. Res.* 1994; 56: 221-5.
172. Park PO, Haglund U. Regeneration of small bowel mucosa after intestinal ischemia. *Crit. Care Med.* 1992; 20: 135-9.
173. Kellog EW. Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. *J. Biol. Chem.* 1975; 250: 8812-7.
174. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochemistry* 1984; 22: 1-15.
175. 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: 171-7.

