

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSSEL STRANGÜLASYON
İLEUSUNDA TROLOKS
TEDAVİSİNİN
ETKİLERİ

Dr. Barış Rafet KARAKAŞ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2007

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL STRANGÜLASYON
İLEUSUNDA TROLOKS
TEDAVİSİNİN
ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Barış Rafet KARAKAŞ

TEZ SORUMLUSU
Prof. Dr. Bekir YAŞAR

ESKİŞEHİR
2007

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA,

Dr. Barış Rafet KARAKAŞ'a ait "Deneysel Strangülasyon İleusunda Troloks Tedavisinin Etkileri" 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	İmza
	G. Cerrahi Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Ercüment PAŞAOĞLU	İmza
	G. Cerrahi Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Ersin ATEŞ	İmza
	G. Cerrahi Anabilim Dalı	

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özcan BÖR
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan sayın hocam Prof. Dr. Bekir YAŞAR'a ve değerli hocalarıma, kliniğimizde birlikte çalıştığım meslektaşlarıma; ayrıca tezimin hazırlanmasında katkıları olan Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Mine İNAL'a, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Yard. Doç. Dr. Cengiz BAL'a, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Evrim ÇİFTÇİ'ye yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Karakaş, BR. Deneysel strangülasyon ileusunda troloks tedavisinin etkilerinin araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2007. Bu çalışmada, toplam 28 adet rat 4 eşit gruba ayrılarak kullanıldı. 14 ratta 60 dakika süresince strangülasyon ileusu oluşturuldu ve bu sürenin sonunda strangülasyon ortadan kaldırıldı. 1. grup rata laparotomi yapıp sadece intraperitoneal olarak 1 cc serum fizyolojik verilirken, 2. grup rata intraperitoneal olarak 1 cc serum fizyolojik içinde 15 mg/kg troloks verildi. 3. grup rata 60 dakikalık strangülasyon ileusunu takiben reperfüzyondan 5 dakika önce sadece intraperitoneal 1 cc serum fizyolojik verilirken, 4. grup rata intraperitoneal 1 cc serum fizyolojik içinde 15 mg/kg Troloks verildi. 24 saat sonra relaparotomi yapılarak ince bağırsak örnekleri alındı. Bu örneklerden doku biyokimya incelemesi ve histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. İntrakardiyak kan örnekleri alınarak serum biyokimyası değerlendirildi. Yapılan tüm bu incelemeler (histopatolojik incelemesi, serum biyokimya çalışması ve intestinal dokuda MDA, SOD, katalaz değerlendirmesi) sonucunda, strangülasyon ileusu oluşturulan ve sadece serum fizyolojik verilen grup ile troloks verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Strangülasyon obstrüksiyonu, iskemi-reperfüzyon hasarı, Troloks

ABSTRACT

Karakaş, BR. Examination of the effects of Trolox treatment in the experimental strangulation obstruction. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in the Department of General Surgery, Eskişehir, 2007. In this study, the total number of 28 rats was divided into 4 groups. In 14 of them, strangulation obstruction has been made for 60 minutes long. In the first group, the laparotomy was made in each rat and 1 cc physiological serum was given intraperitoneally. In the second group, 15mg/kg Trolox was added to 1 cc physiological serum and given intraperitoneally. In the third group, 1 cc physiological serum was given five minutes, before the reperfusion, following the 60 minutes strangulation obstruction. In the fourth group, 15 mg/kg Trolox was added to 1 cc physiological serum and given intraperitoneally five minutes, before the reperfusion, following the 60 minutes strangulation obstruction. After 24 hours, relaparotomy for each rat was performed and small intestinal specimens were obtained. From these samples, biochemical examinations of tissues and histopathologic evaluations were conducted. Intra-cardiac blood samples were obtained and biochemical examinations were made. As a result of those examinations, (histopathologic evaluations, serum biochemical examinations, and tissue levels of MDA, SOD, catalase) no statistical difference existed between groups having physiological serum and Trolox applied during the strangulation obstruction.

Key words: Strangulation obstruction, ischemia-reperfusion injury, Trolox

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Strangülasyon İleusu	3
2.2. Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)	5
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri	7
2.3.1. Süperoksit (O_2^-)	9
2.3.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	10
2.3.3. Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	10
2.3.4. Nitrik oksit (NO)	11
2.4. İskemi reperfüzyon hasarında SOR'in rolü	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
4. BULGULAR	20
4.1. Histopatolojik bulgular	20
4.2. İntestinal dokudaki biyokimyasal bulgular	23
4.3. Serumdaki biyokimyasal bulgular	25
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ VE ÖNERİ	34
KAYNAKLAR	35

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALT	Alanin Aminotransferaz
ALP	Alkalen Fosfotaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenin Trifosfat
BUN	Kan Üre Azotu
°C	Santigrat derece
cc	Santimetre küp
cm	Santimetre
CK	Kreatinin Fosfokinaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
gr	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
LDL	Düşük Molekül Ağırlıklı Lipoprotein
MDA	Malonil Dialdehid
mg/dl	Miligram/desilitre
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid
nmol/ml	Nanomol/mililitre
NO	Nitrik Oksit
O ₂	Oksijen Molekülü
O ₂ ⁻	Süperoksit Anyonu
[·] OH	Hidroksil Radikali
SD	Standart Deviasyon
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
U/L	Ünite/Litre
U/mg protein	Ünite/miligram protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Vitamin E ve Troloks arasındaki yapısal benzerlik.	6
2.2. Hücredeki oksidatif ve anti-oksidatif sistem.	9
2.3. Hipoklorik asit üretiminde ara ürün olan hidrojen peroksite ait reaksiyon.	10
2.4. Fenton ve Haber- Weiss Reaksiyonları.	11
2.5. L-arjininden enzimatik olarak NO sentezi.	11
2.6. İntestinal iskemi reperfüzyonda nötrofil infiltrasyonu ve SOR oluşumu.	13
3.1. Ratta strangülasyon oluşturulmadan önceki bağırsak segmenti.	17
3.2. Ratta strangülasyon ileusu oluşturulduğu andaki ince bağırsak segmentinin görünümü.	17
3.3. Rata strangülasyon oluşturulduktan 60 dakika sonra, reperfüzyondan hemen önceki ince bağırsak segmentinin görünümü.	18
3.4. Ratta reperfüzyon anındaki strangüle bağırsak segmentinin görünümü.	18
3.5. Ratta reperfüzyondan 24 saat sonra strangüle bağırsak segmentinin görünümü.	19
4.1. STRx grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 1 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X4, Hematoksilen-Eozin. Ok: Subepitelyal sahadaki ayrılma.	20
4.2. LS grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 2 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X4, Hematoksilen-Eozin. Oklar: Subepitelyal sahadaki ayrılma.	21
4.3. LTRx grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 3 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X10, Hematoksilen-Eozin. Oklar: Subepitelyal sahadaki ayrılma.	21

- 4.4. SS grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 6 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X10, Hematoksilen-Eozin.
Ok: Villuslardaki soyulmanın intestinal kript tabakasına kadar ilerlemesi. 22
- 4.5. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının intestinal dokudaki MDA ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 23
- 4.6. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının intestinal dokudaki SOD ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 24
- 4.7. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının intestinal dokudaki katalaz ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 24
- 4.8. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum AST ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 26
- 4.9. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum ALT ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 26
- 4.10. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum LDH ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 27
- 4.11. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum ALP ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 27
- 4.12. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum CK ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 28
- 4.13. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum amilaz ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 28
- 4.14. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum BUN ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 29
- 4.15. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum kreatinin ortalama değerlerinin grafiksel görünümü. 29

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
2.1. İnce bağırsak obstrüksiyonlarının etiyojisi- Miller ve ark. (16)'dan alınmıştır.	4
4.1. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının histopatolojik evrelendirmesi.	22
4.2. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının MDA, SOD ve katalaz değerleri.	23
4.3. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum biyokimyasının değerlendirilmesi.	25

1. GİRİŞ

İntestinal iskemi reperfüzyon hasarı ciddi ve yaygın klinik bir problemdir. Mortalite oranı %60'in üzerindedir. Başta akut mezenter iskemisi ve strangüle herni olmak üzere intestinal volvulus, hemodinamik sok, sepsis, travma gibi farklı etiyolojik faktörler sonucunda oluşabilir. Bu durum ciddi, lokal ya da geniş doku hasarı ve takiben çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanabilir. Jamieson ve ark. (1)'nin yaptığı bir çalışmada, intestinal iskemide mortalite oranı %95 olarak saptanmıştır. Bu yüksek mortalite oranı, hastaların hastaneye geç başvurularından ve tedavinin erken başlanmamasından dolayıdır. Bununla birlikte, hastalar 24 saat içinde opere edilseler bile mortalite oranı %50'nin üzerindedir (1-5).

İskemi reperfüzyon hasarının önemli nedenlerinden biri olan strangülasyon ileusu, tüm ince barsak obstrüksiyonlarının %5-%42'inde görülür. Mortaliteyi 4 ile 10 kat arttırdığı gösterilmiştir. Basit obstrüksiyondan strangülasyonun ayırımı çok zordur. Strangülasyon bulgusu olsun ya da olmasın ince barsak obstrüksiyonu bulunan hastalara birçok cerrah erken cerrahi yaklaşım önermektedir. Başarılı bir tedavi strangülasyon ya da perforasyon gelişmeden müdahale etmeyi gerektirmektedir (6,7).

İntestinal iskemide kan akımının geri dönmesine rağmen hücre fonksiyonunu ve canlılığını korumak zordur. İlginç olarak, intestinal iskemi reperfüzyon hasarındaki patofizyolojik değişiklikler genellikle reperfüzyon sırasında görülür. Zamanla-sınırlı iskemiden sonra reperfüzyon ya da revaskülarizasyon sırasında SOR (Serbest Oksijen Radikalleri)'nin oluşması sonucunda doku hasarının arttığı gösterilmiştir. SOR hasarı, direkt ya da ilk birkaç kısır döngü sonunda mukozal lezyonların oluşması, intestinal fonksiyonlarda bozulma, bakteri ve endotoksinlerin absorpsiyonunun artması şeklinde kendini gösterir (2).

İntestinal iskemi reperfüzyon sırasında ATP üretimi durur ve bununla birlikte yıkımı devam eder. ATP, adenezine son olarak ta hipoksantine metabolize olur. Normal sağlıklı hücrede, hipoksantin ksantin dehidrogenaz enzimi ile ksantin ve sonrada ürik aside dönüşür. İntestinal iskemide bir dakika içinde ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür. Ksantin oksidaz aktivite olmak için oksijen molekülüne ihtiyaç duyar ve iskemik dokuda hipoksantin birikir. Reperfüzyon sırasında moleküler oksijen elde

edilir ve süperoksit anyonunun üretimi ile birlikte hipoksantin ürik asite dönüşür. Süperoksit, takiben hidrojen peroksit ve diğer SOR formlarına dönüşür. SOR normal hücre metabolizması sırasında da üretilir ancak normal miktarın üzerinde çıkarsa SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazı içeren antioksidan enzimler tarafından hızlıca yıkılır (8). Antioksidan savunma kapasitesinin yetersizliğinde SOR' ne bağlı az miktarda oksidatif hasar görülür (9). SOR lipid, protein, nükleik asit ile reaksiyona girerek biyolojik moleküllerde hasar oluşturur. Hücre membranında SOR' a bağlı lipid peroksidasyonu; hücre parçalanması ve eninde sonunda hücre ölümü ile sonuçlanır (10,11,12).

SOR'nin önemli hedeflerinden birisinin biyomembranların esas parçası olan poliansature yağ asitleri olduğu gösterilmiştir. SOR'nin bağlı lipid peroksidasyonu poliansatüre yağ asitlerinin yapısı değiştirilerek membran fonksiyonları inaktif hale gelir. Hücre membranında permeabilite artışına ve transport fonksiyonlarının bozulmasına, mitokondri membranında oksidatif fosforilasyonun bozulmasına, lizozomal membranda hidrolitik enzimlerin lizozom dışına çıkmasına neden olur. Sonuçta hücre hasarı ortaya çıkar (2).

6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit bileşiği olan Troloks, suda eriyebilen α - tokoferol analogudur. Lipid peroksidasyonunda peroksit radikallerini temizlediği ve zincir reaksiyonunu kırarak serbest radikal kaynaklı membran hasarını güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (13). Erken operasyona bağlı revaskülarizasyonun sağlanması ile birlikte radikal temizleyicileri ile intestinal iskemi gelişen hastaların yüksek mortalite ve morbidite oranının azaltılması sağlanabilir (1).

Bu deneysel çalışmada ratlarda 60 dakikalık strangülasyon ileusunu takiben reperfüzyondan 5 dakika önce intraperitoneal olarak verilen Troloks'un etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Strangülasyon ileusu

Lokal veya sistemik bir nedene bağlı olarak, sindirim kanalı içeriğinin pilordan distale doğru ilerleyişinin engele uğraması ile ortaya çıkan klinik tabloya ileus (barsak tıkanması) adı verilir. İleus, etiopatogenezine göre mekanik ve fonksiyonel olmak üzere iki başlıkta toplanır. Bunlardan fonksiyonel olanı da paralitik ve spastik ileus olarak ikiye ayırılır. Mekanik ileus organik bir lezyona bağlı olarak gelişirken, fonksiyonel ileus organik lezyonlar olmaksızın yetersiz propulsif motiliteye (paralitik) ve sinirsel refleksin neden olduğu spazma (spastik) bağlı olarak gelişir (14,15).

Tıkanıklığın başlamasıyla birlikte, tıkanıklığın olduğu bölgenin proksimalindeki bağırsak lümeninin içinde gaz ve sıvı birikir. Biriken gazın büyük çoğunluğu yutulan, az bir kısmı da bağırsak içinde üretilen havadan oluşur. Biriken sıvı içeriği ise yutulan sıvılardan ve gastrointestinal sekresyonlardan oluşmaktadır. Gaz ve sıvı birikimi devam ettikçe bağırsakta distansiyon gelişir, intralüminal ve intramural basınç yükselir. İntralüminal basınç olması gerekenden çok fazla yükselirse, mikrovasküler perfüzyon bozular. Bunu intestinal iskemi ve nekroz izler. Bu durum strangülasyon ileusu olarak isimlendirilir (14).

Miller ve ark. (16) ince bağırsak obstrüksiyonlarının en sık sebebinin (Bkz. Tablo 2.1.) adezyonlar olduğunu, bunu Crohn hastalığının ve neoplazmların izlediğini rapor etmişlerdir.

Tüm ince bağırsak obstrüksiyonlarının %5-%42'inde strangülasyon görülür (7). İnce bağırsak strangülasyon obstrüksiyonlarının etiolojisinde ise en sık nedenin herni (%7,5) olduğu, bunu adezyonların (%1,9) takip ettiği saptanmıştır. Mortalite ve strangülasyon oranları sırasıyla %6,9 ve %7,5 olarak rapor edilmiştir. En sık strangüle olan herniler femoral hernilerdir (6).

Birçok çalışmada strangülasyon ileusundan basit tıkanıklığa kadar erken tanının çok zor olduğu ve sıklıkla klinik ya da laboratuvar çalışmalarla bunun mümkün olmadığı belirtilmiştir. Strangülasyon ileusunun göstergeleri geleneksel olarak yüksek ateş,

Tablo 2.1. İnce bağırsak obstrüksiyonlarının etiyojisi- Miller ve ark. (16)'dan alınmıştır.

Etiyoloji	Hastaların oranı (%)
Adezyonlar	74
Crohn hastalığı	7
Neoplazm	5
Fıtık	2
Radyasyon hasarı	1
Yukarıdakilerin eş zamanlı birlikte bulunmaları	4
Diğer (bezoar, volvulus, paralitik ileus, fekal impakt, arteryel iskemi, divertikülit, safra taşı ileusu, abse, tüberküloz peritoniti, Meckel divertiküli)	7

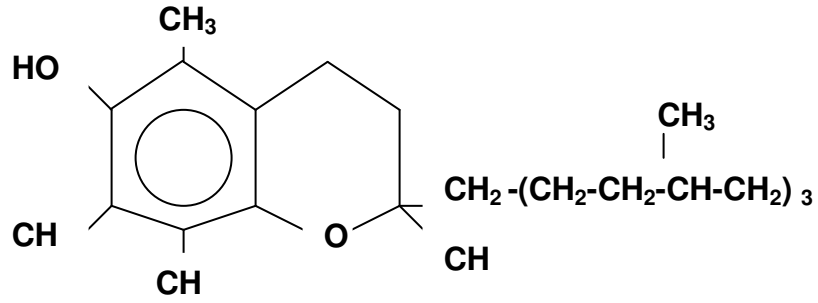
taşıkardi, lökositoz ve batin duvarında rijidite olarak tanımlanmaktadır. Deneysel ve klinik çalışmalarda birçok farklı enzim alınan kan örneklerinde değerlendirilmiş, ancak güvenilir bir belirteç saptanamamıştır. İnce bağırsağın strangüstasyon ileusu acil serviste cerrahi tedavi gerektiren en sık klinik durumlardan birisidir. Strangüstasyon ileusunun erken tanısı zordur ve tanıdaki gecikmeyi sıklıkla peritonit, sepsis ve çoklu organ yetmezliği gibi şiddetli komplikasyonları izler. Strangüstasyon ileusu tanısı konulduğunda acil operasyon uygulanmalıdır. Buna karşılık basit tıkanıklıkların büyük bir kısmı cerrahi olmayan dekompresyon ile tedavi edilebilir. Basit bir tıkanıklıkla strangüstasyon ileusu ayırıcı tanısı çok önemlidir. Son zamanlarda bilgisayarlı tomografi ya da ultrasonografi gibi radyolojik tekniklerin kullanılması strangüstasyon ileusunun erken tanısında çok büyük ilerleme sağlamıştır (17).

Strangüstasyona bağlı barsak iskemisinin çözülmesi ise reperfüzyon hasarına neden olur. Reperfüzyon hasarının engellenmesi için kullanılacak maddelerden birisi de Troloks'tur (13).

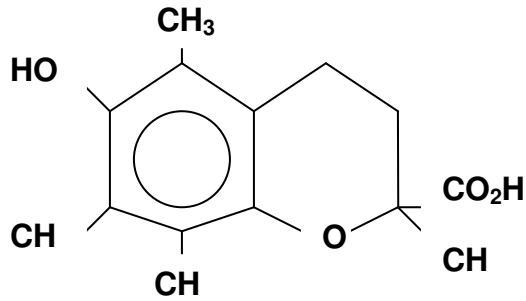
2.2. Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)

Doymamış yağ asitlerin zincir kıran fenolik antioksidanlarla otooksidasyonunun engellenmesi günümüzde bir hayli ilgi çekicidir. Membran lipidlerinin otooksidasyonunda serbest radikaller suçlanmış ve birkaç koruyucu mekanizma tarif edilmiştir. Bunlardan birisi E vitaminidir. Vitamin E, esas olarak hücrede α -tokoferolun serbest radikal kaynaklı membran hasarını güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve α -tokoferolun fenoksi radikal oluşumu sonucunda zincir taşıyan peroksil radikallerini temizlediği gösterilmiştir. 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit bileşiği olan Troloks ise suda eriyebilen α -tokoferol analogudur (Bkz. Şekil 2.1.). Bu bileşiğin yapılan bazı kinetik çalışmalarda antioksidanlara benzediği bulunmuş ve rapor edilmiştir. Bu bileşik için fenoksi radikal ürünüyle, çeşitli biyolojik indirgeyici ajanlarla olan reaksiyonu incelendiğinde, biyolojik koruyuculuğuyla ilgili olarak α -tokoferol ile aynı amaca yönelik hareket edebildiği belirtilmiştir (13).

Troloks kromanol yapısı ile antioksidan aktivitesini, karboksil grubuyla da suda eriyebilme özelliğini göstermektedir. Yağda eriyebilen α -tokoferol, lipoproteinde ve membran iç kısmında toplanma eğilimindedir. Troloks ise hücre içine hızla alınır ve su içeren hücre içi kompartmanlarında bulunur. Hücre sitozolünde de serbest radikallere karşı koruyucu etki sağlar. Normal hücre metabolizması için, hücre içi süperoksit ve hidroksil radikal prekürsörü hidrojen peroksidi azaltır. Endojen enzimatik antioksidanların aktivitesini arttırarak oksidatif hasardan hücreyi korur. Troloks tedavisi uygulanan hücrede, DNA hasarına karşı koruyucu rolü ek olarak desteklenmiştir. Troloks'un intraselluler antioksidan etkisi verildiği andan itibaren başlayıp, ilk 20 dakikalık sürede en yüksek düzeye ulaşmaktadır. İlk bir saatlik sürede hücre içinde etkisinin en yüksek düzeyde kaldığı gösterilmiştir. Daha sonra bu etkinin azalmaya başladığı ve 24 saatin sonunda en düşük düzeye indiği izlenmiştir (18). Daha önce yapılan çalışmalarda Troloks'un yüksek suda çözünürlüğünden dolayı α -tokoferolden daha hızlı etkisinin olduğu gösterilmiştir (19). Troloks'un toksik özellikleri ile ilgili tam bir inceleme yapılmamıştır.



Vitamin E



Troloks

Şekil 2.1. Vitamin E ile Troloks arasındaki yapısal benzerlik- Davies ve ark. (13)'ndan alınmıştır.

Mcanulty ve Huang (20) köpek böbreğinde basit soğuk korumada, UW-laktobiyonat organ korucu solüsyonuna Troloks'un eklenmesiyle antioksidan etkinin önemli ölçüde yükseldiğini rapor etmişlerdir. Sagach ve ark. (21) kardiyak iskemi reperfüzyon hasarı modelinde, Troloks'un vitamin E' den çok daha güçlü etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Eum ve Lee (22) Troloks'un hepatik iskemi reperfüzyon hasarı modelinde, mikrozomal oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek, iskeminin neden olduğu hepatik ilaç metabolizma bozukluğunu düzelttiğini göstermişlerdir. Sharma ve Gupta (23) gerbillerde oluşturdukları global serebral iskemi modelinde, Troloks'un hipokampal lipid peroksidasyonunu azaltarak önemli

nöroprotektif etki sağladığını belirtmişlerdir. Salehi ve ark. (24) Troloks'un soğuk saklama sırasında ince bağırsak greftinin oksidatif hasarını azaltarak, mukoza fonksiyonlarını koruduğunu rapor etmişlerdir.

2.3. Serbest oksijen radikalleri (SOR)

SOR'nin, tüm aerobik organizmalarda oluştuğu ve yıkıldığı bildirilmiştir. Hücrenin normal fonksiyonları için gerekli fizyolojik konsantrasyonlarda izlenebildiği gibi oksidatif stres denilen durumlarda aşırı miktarlarda da bulunabilir. Hücre içinde oksijen ara ürünlerinden üretilen SOR protein, lipid, lipoprotein ve DNA içeren çeşitli biyomoleküllerin bütünlüğünü tehdit eder. Yaşam için gerekli SOR'in fizyolojik olarak faydalı hücresel kullanımının, farklı yerlerde hücre içi haberleşmeyi ve redoks regülasyonunu içerdiği gösterilmiştir. Hidrojen peroksit ve süperoksitin, transkripsiyon faktör aktivitelerini ve belirleyici gen ekspresyonlarını düzenlediği bilinen sinyal molekül olarak tanımlanan nitrik okside benzer hücre içi etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar ve nörotransmitterler hücre içi sinyal üretiminde SOR'ni ikincil haberci olarak kullanır. SOR'in enfeksiyondan korunma ve redoks regülasyonu gibi yararlı etkileri olabildiği gibi DNA, lipid ve proteinler üzerine zararlı etkileri de olabilir (25).

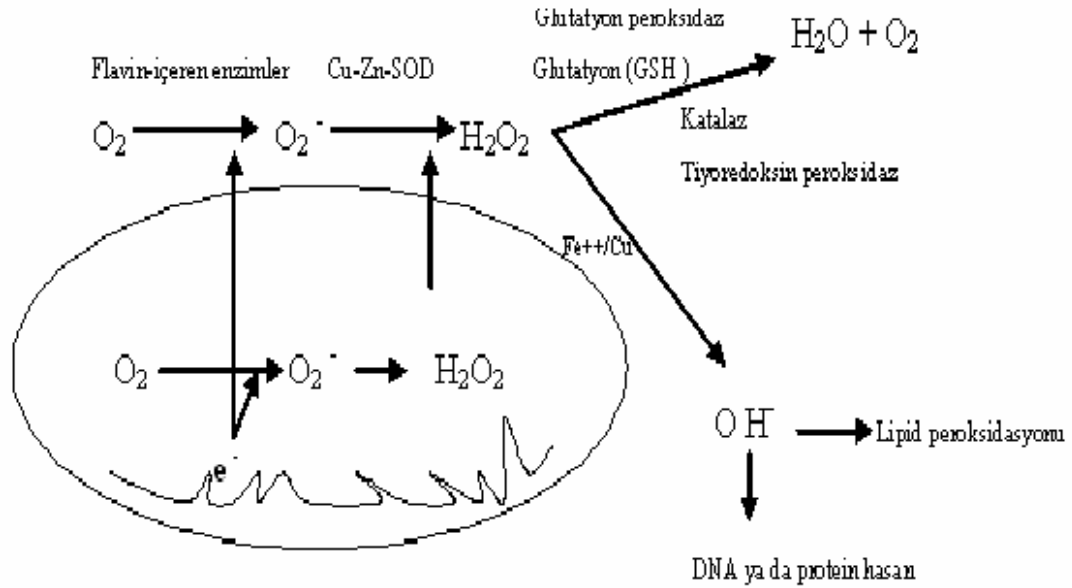
Fagositler aktive olduklarında bakteri öldürülmesine yetecek miktarda SOR üretirler (26). Oksijen NADPH oksidaz kompleksi vasıtasıyla süperoksite dönüşür (27,28). Süperoksit, fagolizozomda SOD ile hidrojen perokside indirgenir, daha sonra da miyeloperoksidaz aracılığıyla hipoklorik asite dönüştürülür. Hipoklorik asit kendiliğinden hidroksil radikali oluşturur. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonuna benzer ancak hidrojen peroksitin yerini hipoklorik asit alır (29). Özellikle fagozomda bulunan hipoklorik asit ve hidroksil radikal gibi iki güçlü reaktif SOR molekülü, fagosit tarafından alınan bakteri için yüksek toksisiteye sahiptirler. Miyeloperoksidaz reaksiyonuyla üretilen hipoklorik asit bakteriyel membranda DNA sunucularının yıkımıyla, sonuçta antimikrobiyal savunmada önemli rol oynar (30). Transkripsiyonun kontrolünde SOR fizyolojik mediyatör olarak görev alır. SOR, tiyol kısımlarının oksidasyonu ile tüm sülfhidril içeren protein ya da GSH (glutatyon) gibi moleküllerin

adaptasyonunu ve/veya aktivitesini direkt etkileyebilir. En iyi bilinen redoksa duyarlı transkripsiyon faktörleri Nükleer faktör κB (NF- κB) ve Aktivatör Protein (AP-1)'dir (31).

Oksidatif hasarın nedeni SOR, yüksek reaktivitesinden dolayı hasar oluşturma eğilimindedir. Potansiyel olarak toksik, mutajenik ya da karsinojeniktir. SOR, biyomoleküllerin tüm majör gruplarını içeren hasardan sorumludur. SOR'in DNA'nın kimyasında yaptığı değişikliklerden dolayı mutajenik özellikleri sahip olduğu gösterilmiştir. DNA onarım sistemi mümkün olmaz ise acilen sağlam olan DNA rejenere olur. Mutasyon, replikasyon sırasında hatalı eşleşmeden kaynaklanır. Bu mekanizma kısmen oksidatif strese maruziyette yüksek kanser prevalansını açıklayabilir (32,33). Gerçekte bazı durumlarda apoptozis, SOR'dan kaynaklı DNA hasarıyla, azalmış mitokondrial permeabiliteyle, serbestleşmiş sitokrom C'yle, artmış hücre içi kalsiyum ve diğer etkilerle ilişkilendirilmiştir (34).

Lipid peroksidasyonu, belki de SOR'in ortaya çıkmasından sonra en çok incelenen konudur. Poliansature yağ asitleri, çoklu çift bağından dolayı serbest radikallerin saldırısı için mükemmel bir hedeftir. Aterosklerotik plak oluşumunda temel, lipid peroksidasyonudur. Plak oluşum mekanizması, LDL (Düşük Molekül Ağırlıklı Lipoprotein)'in subendotelyal bölgede yerleşmiş temizleyici reseptörler vasıtasıyla fagositler tarafından alınmasını ve oksidasyonunu içerir. Sonuçta subendotelyal alanlarda fagositik hücrelerin birikimiyle aterosklerotik plak oluşumu stimüle edilir (4,35,36). SOR'in birkaç aminoasit rezidüsü ile in vitro etkileşime girdiği gösterilmiştir. SOR, enzim aktivitesinin kaybı ve düzenlenmesinden, non-fonksiyonel proteinlerin denaturasyonuna kadar birçok durumda rol alır (37).

SOR moleküllerden bazıları, hidroksil radikalleri gibi aşırı derecede reaktifken, bazıları da süperoksit ve hidrojen peroksit gibi daha az reaktiftir. İntrasellüler serbest radikaller serbest, eşleşmemiş elektronla birlikte düşük molekül ağırlığına sahiptir. Reaktif oksijen ürünleri ve serbest oksijen radikalleri terimleri, yaygın ve eş anlamlı olarak kullanılmaktadır (25).



Şekil 2.2. Hücredeki oksidatif ve anti-oksidatif sistem- Nordberg ve Arner (25)'dan alınmıştır.

Bir elektronun transferi yolu ile moleküler oksijenin indirgenmesiyle üretilen majör SOR molekülleri aşağıda listelenmiştir:

1. Süperoksit (O_2^-)
2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)
3. Hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$)
4. Nitrik oksit (NO)

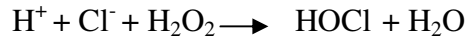
2.3.1. Süperoksit (O_2^-)

Süperoksit anyonu, moleküler oksijene bir elektron eklenmesiyle meydana gelmektedir. Serbest radikal olmasına karşın çok reaktif değildir. Lipid membrana penetre olma gereksinimi vardır ve üretildiği yerde bulunur. Süperoksit spontan olarak, özellikle elektrondan zengin aerobik çevrede, mitokondrial iç membranda, solunum zincirinin etrafında oluşur. Süperoksit ve hidrojen peroksit, endojen olarak iskemi reperfüzyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavoenzimler tarafından da üretilir.

Diğer süperoksit üreten enzimler ise lipooksijenaz ve siklooksijenazlardır. Fagositik hücrelerdeki NADPH-bağımlı oksidaz ve membran ilişkili enzim kompleksi, yüksek seviyeli süperoksit üretimine bir örnek oluşturur. Bu enzim kompleksinin komponentlerine benzeyen enzimler, aynı zamanda sinyalle fonksiyonları ilişkilendirilecek non-fagositik hücrelerde de bulunur. Süperoksitin iki molekülü, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene değişim gösterir. Bu reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD)'la daha da hızlanır (25).

2.3.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit serbest radikal değildir, ancak biyolojik membrana penetrasyon kabiliyetinden dolayı yine de çok önemlidir. Nötrofil fagozomunda bulunan miyeloperoksidaz aktivitesiyle, hipoklorik asit (HOCl) içeren çok reaktif SOR molekülerinin üretiminde ara ürün olarak rol oynar. Geçiş metallerinin oksidasyonu yoluyla hidroksil oluşumunda çok önemlidir. Hidrojen peroksitin diğer önemli bir fonksiyonu da, intrasellüler sinyal moleküllerinin dışarı taşınmasındaki rolüdür. Hidrojen peroksit, bir kez üretildiğinde en az üç antioksidan enzim sistemi (katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksin) vasıtasıyla ortadan kaldırılır (25).

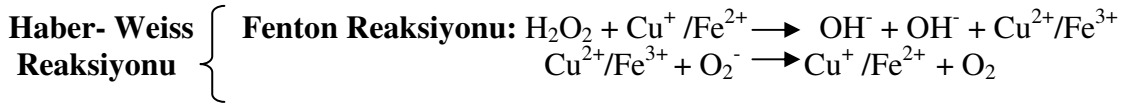


Şekil 2.3. Hipoklorik asit üretiminde ara ürün olan hidrojen peroksit için reaksiyon- Nordberg ve Arner (25)'dan alınmıştır.

2.3.3. Hidroksil radikali (·OH)

Hidroksil radikalleri, biyomoleküllerle çok güçlü reaktivite göstermelerinden dolayı biyolojik sistemde daha fazla hasar yapabilme yeteneğine sahiptirler. Farklı protein ya da molekül kompleksine bağlı metal iyonların katalizlediği reaksiyonlarda, hidrojen peroksit tarafından üretilirler. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak bilinir. Ayrıca bu reaksiyon için gerekli metal iyonların geri dönüşümünde süperoksitin de önemli rol oynadığı başka bir reaksiyon daha vardır. İşte bu iki reaksiyona birden Haber-

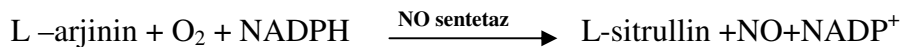
Weiss reaksiyonu denir. Burada da görüldüğü gibi geçiş metalleri hidroksil radikallerinin oluşmasında önemli bir rol oynar (25).



Şekil 2.4. Fenton ve Haber- Weiss Reaksiyonları- Nordberg ve Arner (25)'dan alınmıştır.

2.3.4. Nitrik oksit (NO)

NO, birçok açıdan süperoksite benzer. Birçok biyomolekülle, eşleşmemiş elektronları olması nedeniyle hemen reaksiyona giremez. Diğer taraftan serbest radikallerle (peroksil ve alkil radikalleri) kolaylıkla reaksiyona girer ve daha az reaktif olan molekülleri üretir. Serbest radikal temizleyicisi olarak fonksiyon gösterebilirler. NO'in hücre membranındaki lipid peroksidasyonunu engelleyebilir. Fakat süperoksit NO'e paralel olarak eğer yüksek miktarda üretilirse, ikisinin birbiriyle reaksiyonu sonucu aşırı sitotoksik olan peroksinitrit oluşabilir. Peroksinitrit direkt olarak, bir veya iki elektron reaksiyonu içinde farklı biyomoleküllerle reaksiyona girebilir. CO₂ (karbondioksit) ile kolaylıkla reaksiyona girerek oldukça reaktif nitrozoperoksokarboksilat üretebilir. Peroksinitrit, proton alarak peroksonitroz asite yıkılarak ya hidroksil radikali ve nitrit radikali ya da nitrat meydana getirebilir. Peroksinitrit, çevresindeki ortamda bulunan bileşiklerin tipine, ısısına, pH'na bağlı olarak farklı reaksiyonlara girebilir. Peroksinitrit LDL'nin oksitlendiği, yıkılan serüloplazminin bakır iyonunu serbestlendiği, farklı proteinlere tirozin rezidülerinin saldırdığı reaksiyonlarda direkt ya da dolaylı yoldan üretilerek birçok inflamatuvar hastalıkta rol oynayabilir (25).



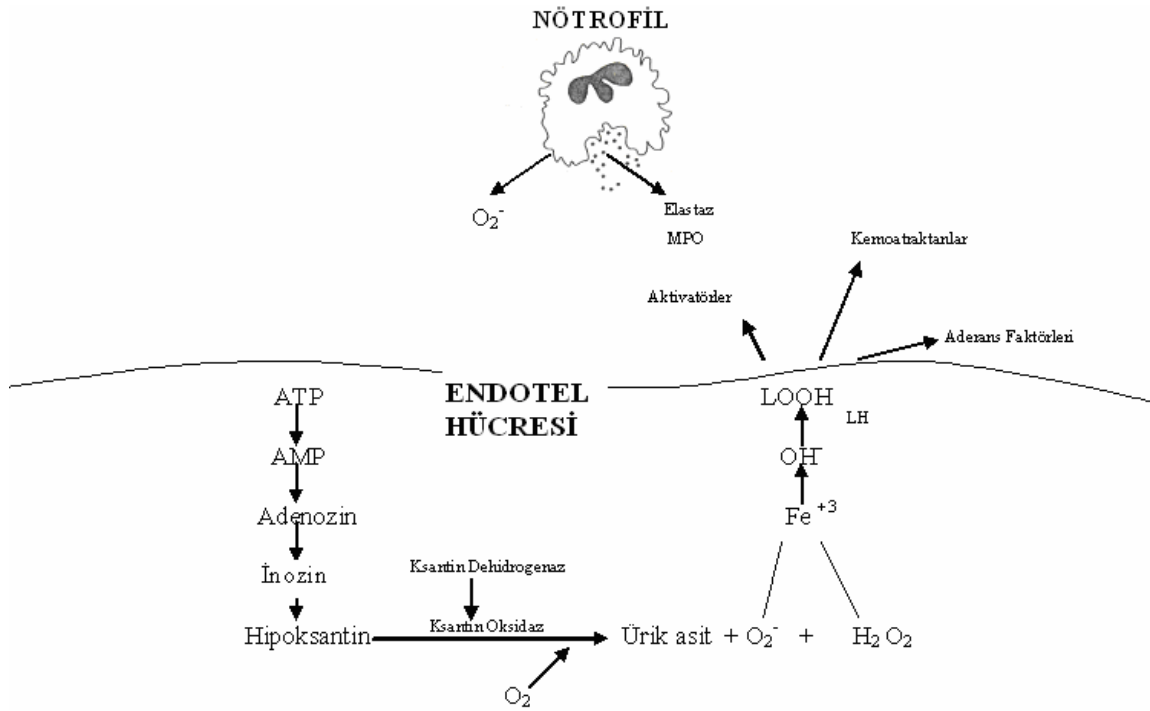
Şekil 2.5. L-arjinden enzimatik olarak NO sentezi- Nordberg ve Arner (25)'dan alınmıştır.

2.4. İskemi reperfüzyon hasarında SOR'in rolü

İskemik dokularda reperfüzyon hasarı sıklıkla arteriyollerdeki dilatasyona bağlı endotel zayıflığıyla, sıvı geçişinin artışıyla, kapillerde lökosit toplanmasıyla ve postkapiller venüllerden lökosit ve plazma proteinin geçişiyle kendini gösteren mikrovasküler disfonksiyonla ilişkilidir (38).

İskemi dönemi boyunca ATP hipoksantine katabolize olur. İskemi, proteazlar vasıtasıyla NAD-indirgeyici ksantin dehidrogenazın oksijen radikal üreten ksantin oksidaza değişimine neden olur. Reperfüzyonda ise moleküler oksijen tekrar dokuyla karşılaşınca, hipoksantin-ksantin oksidaz reaksiyonu ile süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşur. Süperoksit ve hidrojen peroksit de, geçiş metalleri ile birlikte Haber - Weiss reaksiyonuyla hidroksil radikallerini oluşturur. Hidroksil radikalleri, hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olur. Ayrıca endotele lökositlerin çekilmesini, yapışmasını ve aktive edilmesini sağlayan ürünlerin salıverilmesini başlatır. Endotele yapışan bu lökositler çeşitli proteaz ve süperoksit salıvermesine neden olarak endotel hücrelerinde hasar oluştururlar. Hidroksil radikalleri, oldukça güçlü sitotoksik ve reaktif etkiye sahip SOR'dir (39).

İnce barsak iskemi reperfüzyon hasarında SOR'nin önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Ancak, artmış vasküler permeabilite ve mukozal membran hasarının mekanizmasında SOR'nin etkisi oldukça karışıktır. SOR sitotoksik etkiye sahiptir. Bu sitotoksik etki SOR'nin mitokondri membranındaki ve hücre lipid komponentlerindeki peroksidasyondan kaynaklanır. SOR, bazal membranın (ekstrasellüler matriksteki hiyalüronik asit ve kollajenin) parçalanmasına neden olarak kapiller ve mukozal membran bütünlüğü etkiler. İnce barsakta iskemi oluştuğunda kapiller ve epitelyal bazal membran bütünlüğünün bozulması vasküler permeabilitedeki artışı ve epitelyal ayrılmayı açıklar. Ayrıca SOR iskemi reperfüzyon hasarında kemotaktik özelliği olan ajanların salınmasına neden olur. Bunu lökosit kümelenmesi ve aktivasyonu izler. Lökositlerden serbestlenen ürünlerde endotelial ve epitelyal hasar meydana getiriler (40).



Şekil 2.6. İntestinal iskemi reperfüzyonda nötrofil infiltrasyonu ve SOR oluşumu- Arndt ve ark. (41)'dan alınmıştır.

Şekil 2.6.'da intestinal iskemi sırasında NAD^+ indirgeyici enzim ksantin dehidrogenazın, oksijen indirgeyici enzim ksantin oksidazı indirgemesi ve ATP hidrolizi ile hipoksantin oluşumu izlenmektedir. İntestinal reperfüzyonda da oksijenin pürin metaboliti hipoksantin ile ksantin oksidaz vasıtasıyla reaksiyona girerek süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerini (demir bulunan) içeren SOR meydana gelmesi gösterilmiştir (41,42).

SOR, lökotrien B_4 ve platelet aktive edici faktörü (PAF) içeren birkaç pro inflamatuvar ajanın üretilmesine neden olan fosfolipaz A_2 enzimini aktive eder. Yapılan birkaç çalışmada lökotrien B_4 ve PAF'ün, reperfüzyonda nötrofil kümelenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Mangino ve ark. (43) köpek ileum mukozasında reperfüzyon sırasında lökotrien B_4 'ün arttığını göstermişlerdir. Zimmerman ve ark. (44) ise kedi bağırsağında yaptıkları çalışmada iskemi reperfüzyon da artan nötrofil infiltrasyonunun lipooksijenaz inhibitörleri ve lökotrien B_4 antagonistleri ile

engellendiğini rapor etmişlerdir. Yine bu çalışma, iskemik barsak reperfüzyonunun lökotrien B₄ üretimi ve nötrofil infiltrasyonu arasında bir ilişkiye neden olduğunu önermiştir (44). Lewis ve ark. (45) endotel hücrelerinden çıkan SOR olan hidrojen peroksitin, PAF üretimini ve nötrofil adezyonunu arttırdığını rapor etmişlerdir.

Reperfüzyonda, inflamatuvar mediyatörlerin salıverilmesi ile uzak organların endotel hücrelerinde de aktivasyon görülür. Bu iskemi-reperfüzyona uzak yanıt, çoklu organ yetmezliği ile karakterize, lökosite bağlı mikrovasküler hasar ile sonuçlanabilir (38).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışmada, etik kurul onayı (Sayı:2007/255, Ref: MSW-Etik-Toplantı/2007-05-22) alınarak, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi İnceleme Cerrahi Araştırma Merkezi laboratuvarında, ağırlıkları 250 ± 25 gr arasında değişen 28 adet dişi Spraque-Dawley cinsi rat 4 gruba ayrılarak kullanıldı. Ratlar ortam sıcaklığı $22-25$ C°'de kontrol edilen, nemi (%45-50) otomatik ayarlanmış, 12 saatlik karanlık-aydınlık dönem ışıklandırması olan ortamda, polikarbon kafesler içinde yaşatıldı. Hayvanlar standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendiler. Ratlar deneyden 12 saat önce aç bırakıldılar, ancak su içmelerine izin verildi.

İntramuskuler verilen 80 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer), anestezisi altında, % 10'luk polivinilpirolidon-iyot (İsosal, Merkez Lab.) ile bölge temizliğini takiben orta hattın 2 cm'lik insizyon ile laparotomi yapıldı.

Grup I: Laparotomi + Serum Fizyolojik (Grup LS) (n=7): Laparotomiden sonra batin içerisine 1 cc serum fizyolojik verilerek, batin devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı. 60 dakika sonra benzer protokolle relaparotomi yapılarak intraperitoneal 1 cc serum fizyolojik verilerek batin devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı.

Grup II: Laparotomi + Troloks (Grup LTrx) (n=7): Laparotomiden sonra batin içerisine 1 cc serum fizyolojik verilerek, batin devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı. 60 dakika sonra benzer protokolle relaparotomi yapılarak, 1 cc serum fizyolojik içinde 15 mg/kg Troloks (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA) intraperitoneal olarak verilerek batin devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı.

Grup III: Strangülasyon + Serum Fizyolojik (Grup SS) (n=7): Laparotomiden sonra distal ileumdan çekuma 5 cm uzaklıkta, 10 cm uzunluğunda bir segment, lümen ve damarlar tam olarak kapatılıp strangülasyon ileusu oluşturulacak şekilde bir numara ipekle bağlandı. İntraperitoneal 1 cc serum fizyolojik verilerek batin devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı. 60 dakikalık iskemi sonrası, benzer protokolle relaparotomi yapılarak strangülasyon ileusu oluşturulan segmentteki sütür alınarak reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyondan 5 dakika önce 1 cc serum fizyolojik periton içine verildikten sonra, batin devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı.

Grup IV: Strangülasyon + Troloks (Grup STRx) (n=7): Grup III' tekine benzer şekilde strangülasyon ileusu oluşturuldu. İntraperitoneal 1 cc serum fizyolojik verilerek batın devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı. 60 dakikalık iskemi sonrası, benzer protokolle relaparotomi yapılarak strangülasyon ileusu yapılan segmentteki sütür alındı ve reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyondan 5 dakika önce, 1 cc serum fizyolojik içinde 15 mg/kg troloks intraperitoneal olarak verildi ve batın devamlı 2/0 ipek sütürlerle kapatıldı.

Tüm denekler 24 saat boyunca, yiyecek içecek kısıtlaması yapılmadan takip edildiler. 24 saatin sonunda benzer protokolle laparotomi yapıldı.

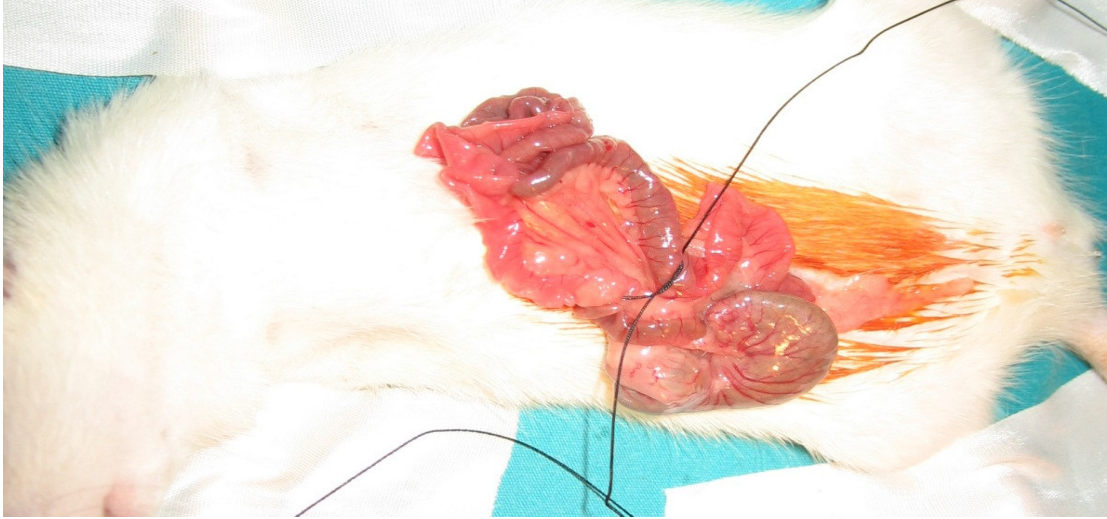
Tüm ratların distal ileumdan çekuma 5 cm uzaklıkta, 10 cm uzunluğunda bir barsak segmentinden histopatolojik inceleme ve dokuda MDA, SOD, Katalaz ölçümü için rezeksiyon yapıldı. Alınan doku örneklerinin 5 cm uzunluğundaki kısmı %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Parafin bloklar hazırlandıktan sonra, preparatlar Hematoksilen- Eozin (HE) boyası ile boyandı. Işık mikroskobu altında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tek bir patolog tarafından intestinal doku hasarının derecesi değerlendirildi.

Alınan doku örneklerinin 5 cm uzunluğundaki diğer kısmı ise -70°C'de muhafaza edildi. Daha sonra Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda bu dokudan elde edilen doku homojenizatlarında MDA, SOD, Katalaz ölçümü yapıldı. Aynı anabilim dalında intrakardiyak olarak alınan 3 cc kan örneğinden alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), alkalen fosfotaz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), kreatin fosfokinaz (CK), amilaz, kan üre azotu (BUN), kreatinin ölçümü yapıldı.

İntrakardiyak 150mg/kg pentobarbital verilerek tüm ratların yaşamlarına son verildi.

İstatistiksel çalışmalar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Analizlerde Windows'un SPSS paket programı kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak özetlendi. Değişkenlere ait normal dağılım varsayımı Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren verilere parametrik testlerden tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) testi yapıldı. Çoklu

karşılaştırma testi olarak Tukey HSD testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen verilere parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis testi uygulandı. Çoklu karşılaştırma testi (POST HOC) olarak ta Tukey HSD testi kullanıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 3.1. Ratta strangülasyon oluşturulmadan önceki bağırsak segmenti.



Şekil 3.2. Ratta strangülasyon ileusu oluşturulduğu andaki ince bağırsak segmentinin görünümü.



Şekil 3.3. Ratta strangülasyon oluşturulduktan 60 dakika sonra, reperfüzyondan hemen önceki ince bağırsak segmentinin görünümü.



Şekil 3.4. Ratta reperfüzyon anındaki strangüle bağırsak segmentinin görünümü.

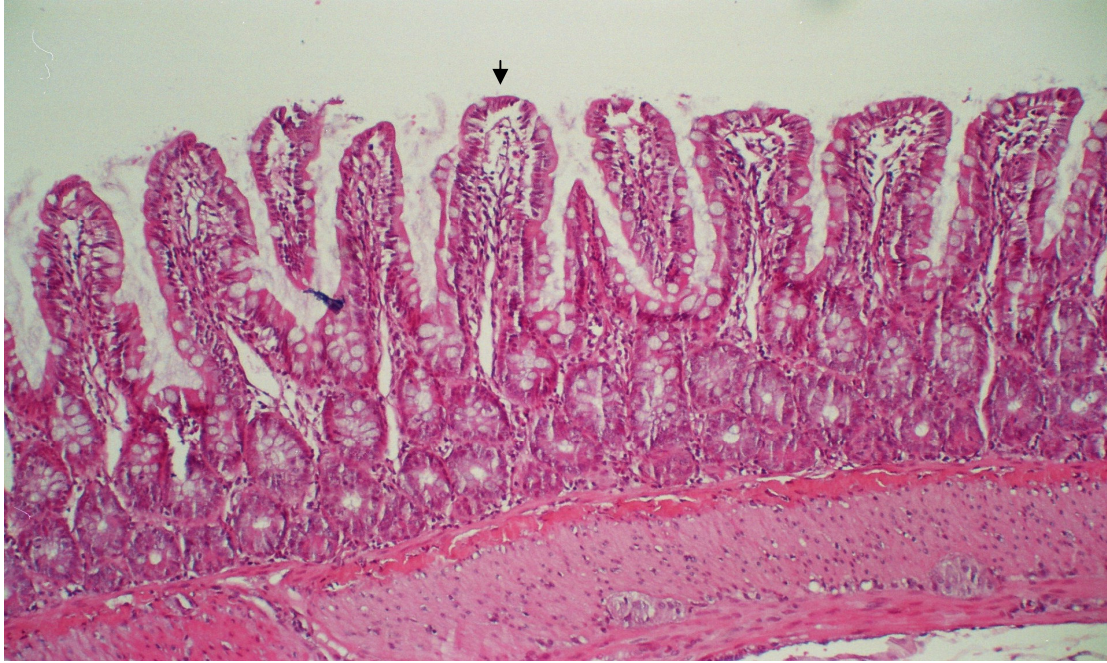


Şekil 3.5. Ratta reperfüzyondan 24 saat sonra strangüle bağırsak segmentinin görünümü.

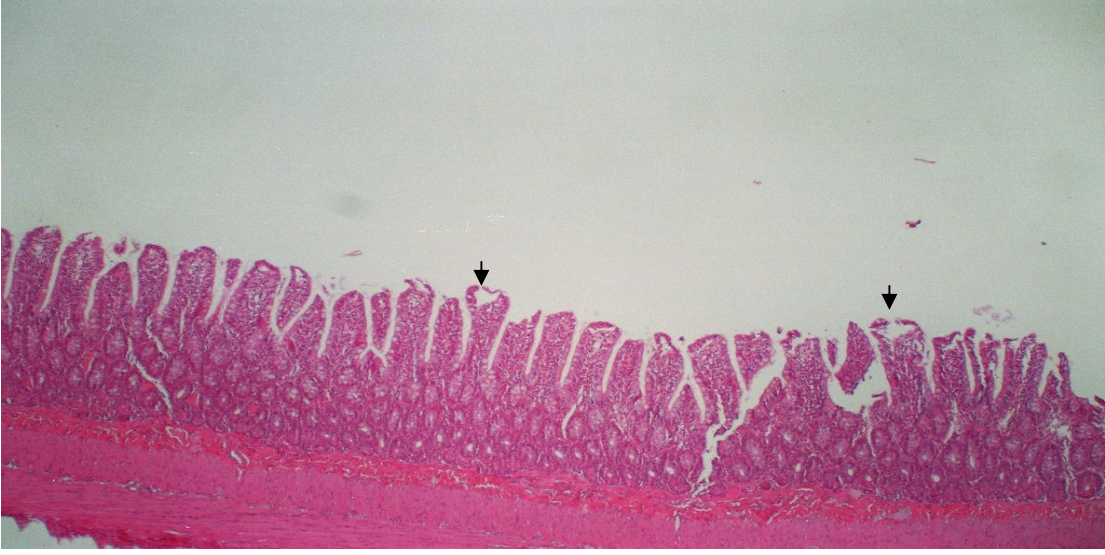
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik bulgular

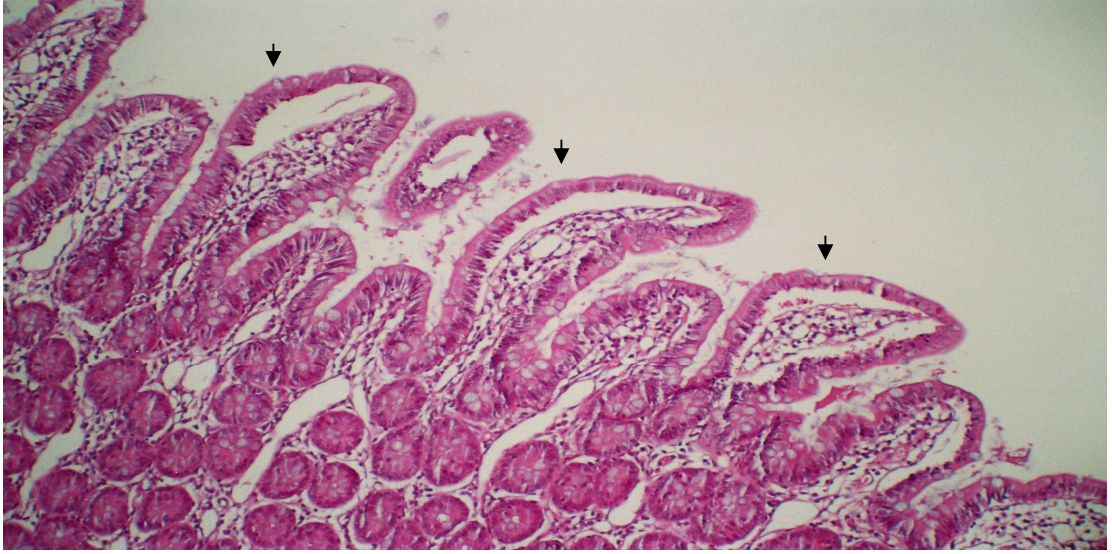
Histopatolojik çalışma için toplam 28 rata biyopsi yapıldı. İnce bağırsak hasarı 0'dan 8'e kadar evreleme skalası kullanılarak değerlendirildi. Evre 0: Normal mukoza, Evre 1-3: Subepitelyal sahada artma, Evre 4: Villuslarda soyulma, Evre 5: Villus kaybı, Evre 6: İntestinal kript tabakasında hasar, Evre 7: İntestinal mukozada nekrozun başlaması, Evre 8: Transmural infarkt olarak değerlendirilmiştir (53).



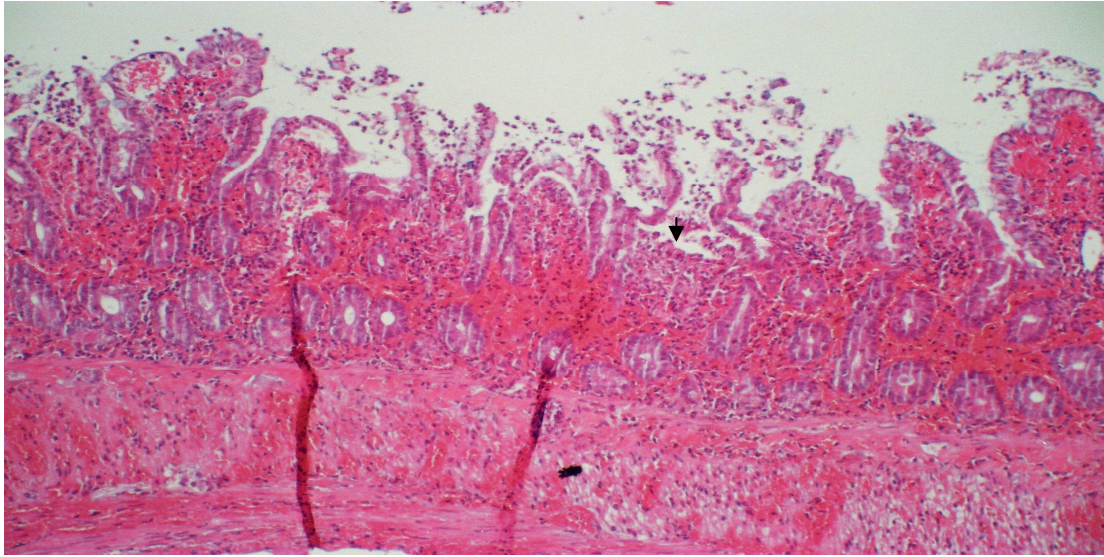
Şekil 4.1. STrx grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 1 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X4, Hematoksilen-Eozin. Ok: Subepitelyal sahadaki ayrılma.



Şekil 4.2. LS grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 2 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X4, Hematoksilen-Eozin. Oklar: subepitelyal sahadaki ayrılma.



Şekil 4.3. LTrx grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 3 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X10, Hematoksilen-Eozin. Oklar: Subepitelyal sahadaki ayrılma.



Şekil 4.4. SS grubuna ait deneğin iskemik bağırsak segmentinin Evre 6 ile uyumlu histopatolojik görünümü. X10, Hematoksilen-Eozin. Ok: Villuslardaki soyulmanın intestinal kript tabakasına kadar ilerlemesi.

Tablo 4.1. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının histopatolojik evrelemesi.

	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 6
Grup LS	2	2	3	0	0
Grup LTrx	5	2	0	0	0
Grup SS	1	2	1	1	2
Grup STrx	1	4	1	1	0

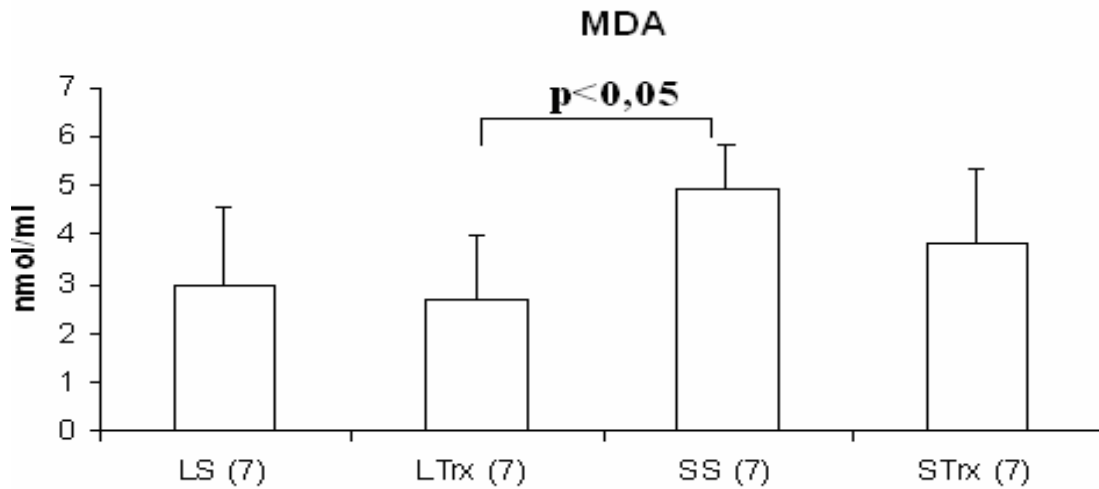
Tablo 4.1.'de grupların histopatolojik evrelemesinde Evre 4, Evre 5, Evre 7 ve Evre 8 ile uyumlu histopatolojik görünümeler saptanmadığı için bu evreler tabloya dâhil edilmedi. Grupların histopatolojik evrelemesinde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde fark bulundu. Bu fark için ikili karşılaştırmada Mann –Whitney U Testi kullanıldı. Grup LTrx'de Grup SS ve Grup STrx'e göre histopatolojik evrelemenin önemli düzeyde daha düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Grup LTrx'de Grup LS'e, Grup LS'de Grup STrx'e ve Grup STrx'te Grup SS'e göre histopatolojik evrelemenin azaldığı gözlemlense de bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0,05$).

4.2. İntestinal dokudaki biyokimyasal bulgular

Tüm grupların intestinal dokudaki MDA, SOD ve katalaz değerleri Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Gruplar arasında MDA, SOD ve katalaz değerleri Shapiro-Wilk Testi'ne göre normal dağılım gösterdiğinden ANOVA analizi uygulandı.

Tablo 4.2. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının MDA, SOD ve katalaz değerleri.

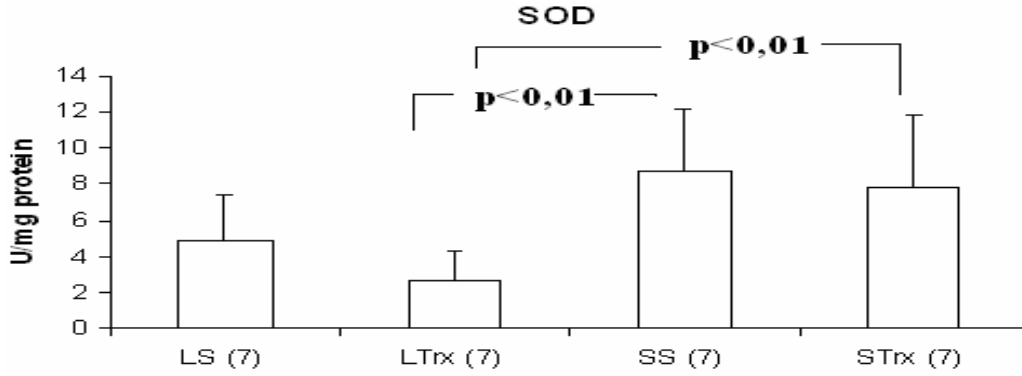
	LS (7) (Ortalama ± SD)	LTrx (7) (Ortalama ± SD)	SS (7) (Ortalama ± SD)	STRx (7) (Ortalama ± SD)	P
MDA (nmol/ml)	2,99±1,57	2,66±1,32	4,92±0,92	3,86±1,48	P<0,05
SOD (U/mg protein)	4,84±2,55	2,67±1,61	8,72±3,48	7,9±3,95	P<0,01
Katalaz (U/mg protein)	3,79±2,36	2,64±1,26	7,15±1,64	4,28±1,54	P<0,01



Şekil 4.5. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının intestinal dokudaki MDA ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

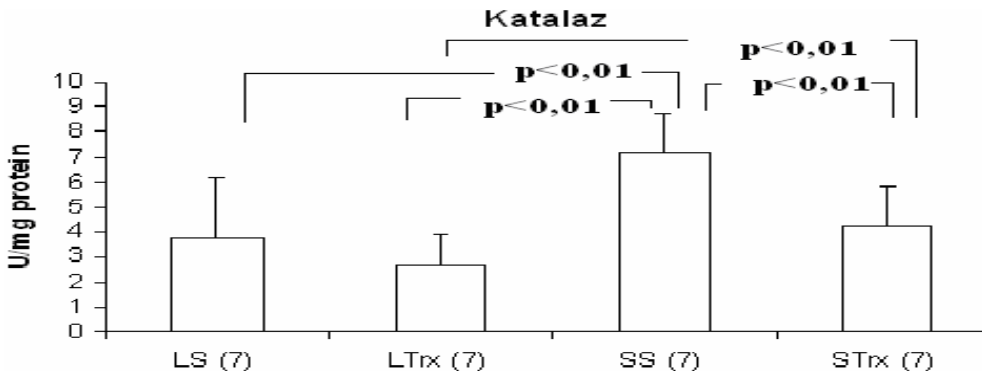
Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi MDA değerleri Grup LTrx'de Grup SS'e göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulundu ($p < 0,05$). Grup LS ile Grup LTrx, Grup SS ve Grup STRx arasında MDA değerlerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde

fark saptanmadı ($p>0,05$). Gruplar arasında MDA değerlerinin Grup LTrx'de Grup LS'e, Grup LS'de Grup STRx'e ve Grup STRx'te Grup SS'e göre azaldığı gözlemlense de bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0,05$).



Şekil 4.6. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının intestinal dokudaki SOD ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi SOD değerleri Grup LTrx'de Grup SS ve Grup STRx'e göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulundu ($p<0,01$). Gruplar arasında SOD değerlerinin Grup LTrx'de Grup LS'e, Grup LS'de Grup STRx'e ve Grup STRx'te Grup SS'e göre azaldığı gözlemlense de bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0,05$).



Şekil 4.7. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının intestinal dokudaki katalaz ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

Şekil 4.7.'de görüldüğü gibi katalaz değerleri Grup SS'de Grup STRx, Grup LS ve Grup LTrx'e göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulundu ($p<0,01$).

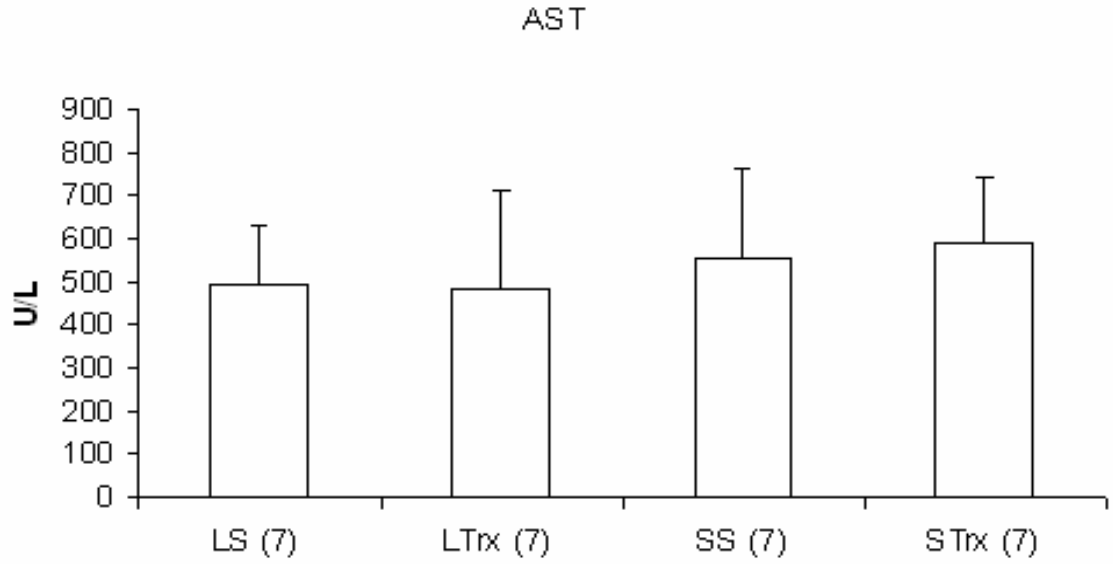
4.3. Serumdaki biyokimyasal bulgular

Bu deneysel çalışmada intestinal iskemi reperfüzyon oluşturulduktan 24 saat sonraki serum AST, ALT, ALP, LDH, CK, amilaz, BUN ve kreatinin değerleri karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.

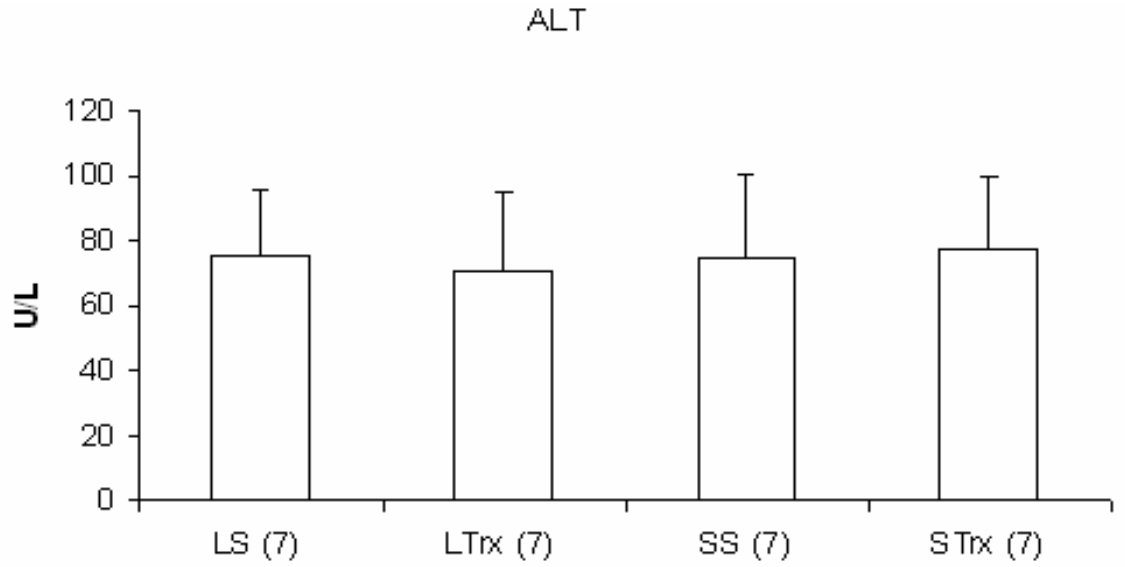
Tablo 4.3.'de görüldüğü gibi LS, LTrx, SS, STRx grupları arasında serum AST, ALT, ALP, CK, amilaz ve kreatinin değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Serum LDH değerleri Grup LTrx'de Grup SS ve Grup STRx'e göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulundu ($p<0,05$) ($p<0,01$). Serum BUN değerleri Grup SS'de Grup LS ve Grup LTrx'e göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulundu ($p<0,01$).

Tablo 4.3. LS, LTrx, SS, STRx gruplarının serum biyokimyasının değerlendirilmesi.

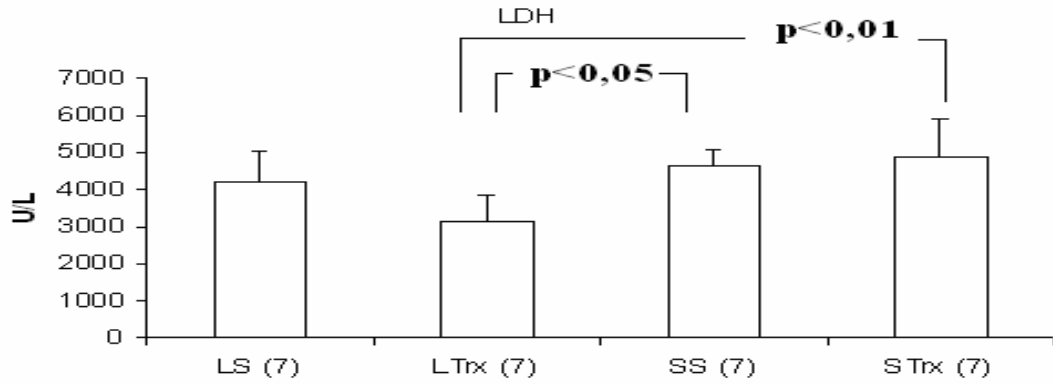
	LS (7) (Ortalama± SD)	LTrx (7) (Ortalama± SD)	SS (7) (Ortalama± SD)	STRx (7) (Ortalama± SD)	p
AST U/L	490,8±143	485,5±227	558,8±205	588±156	$p>0,05$
ALT U/L	75,8±20	70,7±24	75±26	78,2±22	$p>0,05$
LDH U/L	4206,5±853	3111,4±723	4609,2±475	4866,8±1061	$p<0,05$ $p<0,01$
ALP U/L	230±79	245,4±42	250,5±161	251,5±56	$p>0,05$
CK U/L	3748,5±2240	2046,5±753	3209,8±850	3726,2±1361	$p>0,05$
Amilaz U/L	1643,1±261	2472,5±1469	2195,2±924	2008,5±940	$p>0,05$
BUN mg/dl	15,1±2	12,1±2	29,7±12	26,2±6	$p<0,01$
Kreatinin mg/dl	0,501±0,06	0,487±0,06	0,568±0,06	0,51±0,07	$p>0,05$



Şekil 4.8. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum AST ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

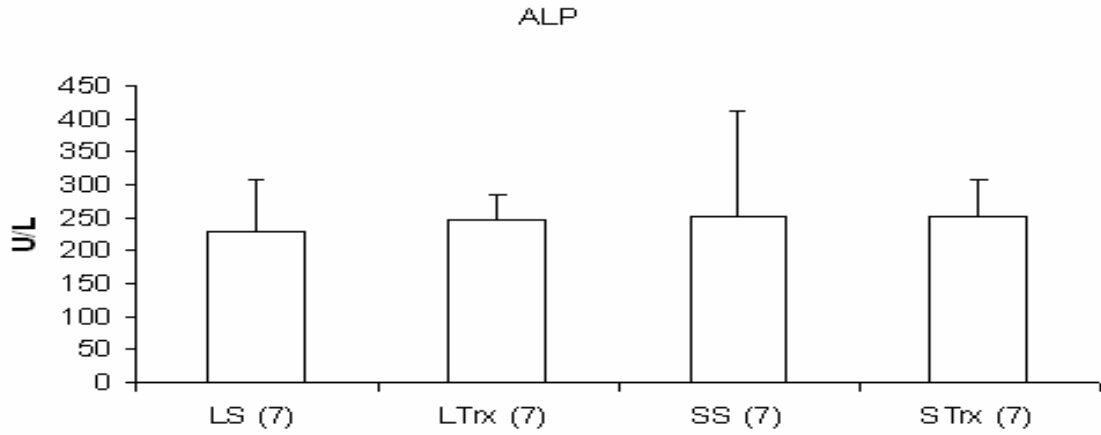


Şekil 4.9. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum ALT ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

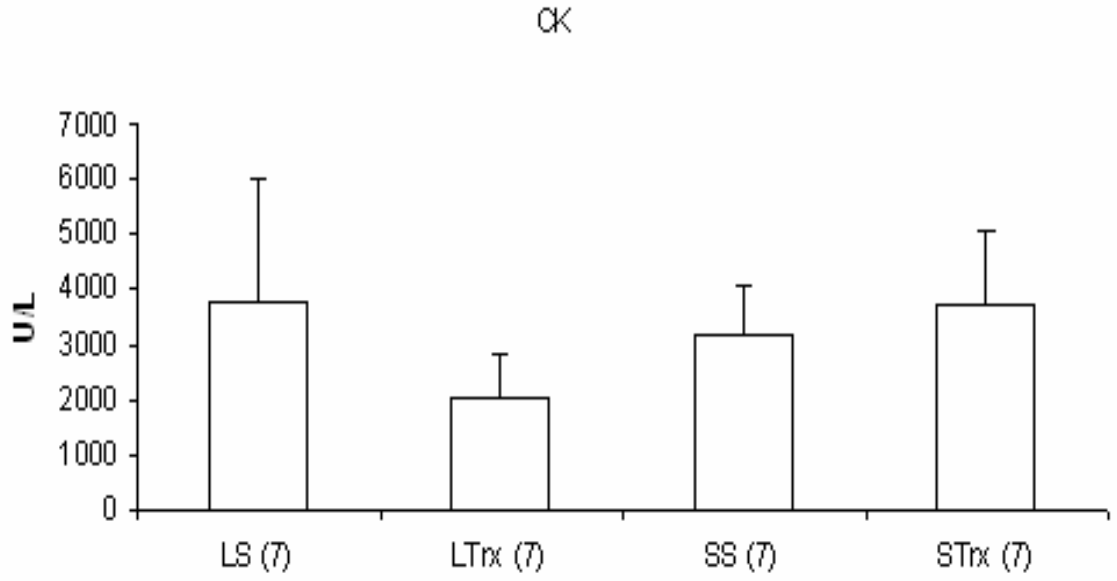


Şekil 4.10. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum LDH ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

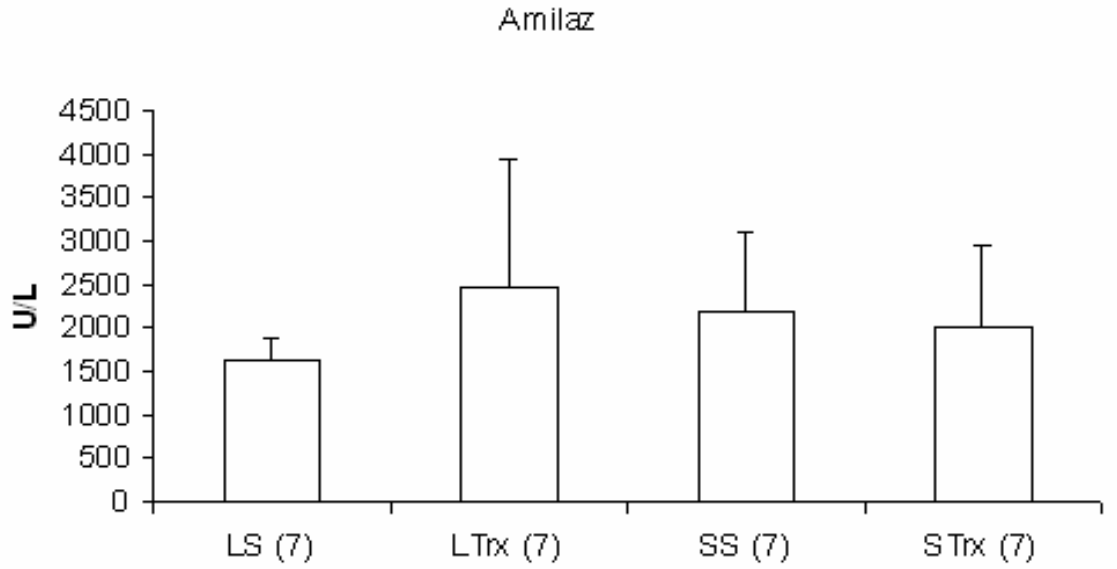
Şekil 4.10'da görüldüğü gibi serum LDH değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında Grup LTrx ile Grup SS ve Grup STrx arasında önemli bir fark bulundu ($p < 0,05$) ($p < 0,01$). Bu fark ise Tukey HSD testine göre, LDH değerleri Grup LTrx'de Grup SS ve Grup STrx'e göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulundu ($p < 0,05$) ($p < 0,01$).



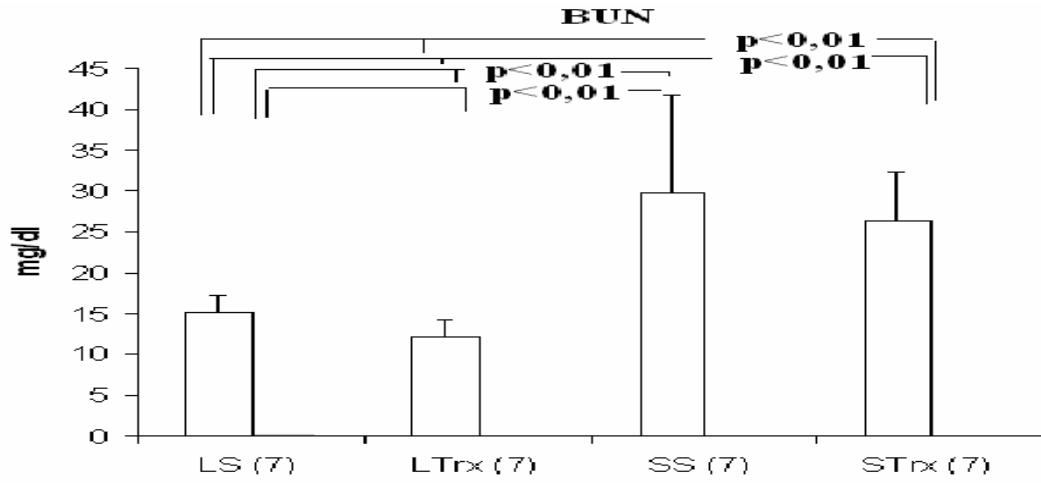
Şekil 4.11. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum ALP ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.



Şekil 4.12. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum CK ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

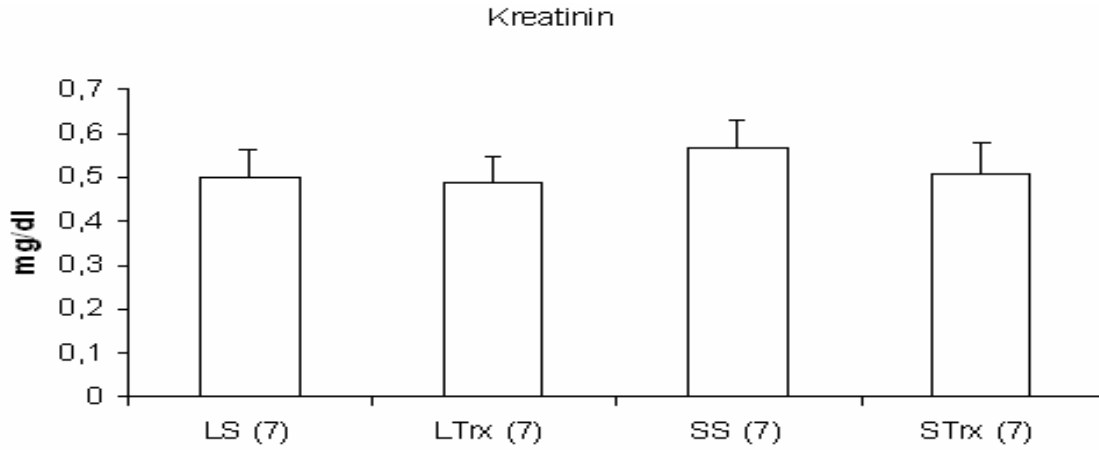


Şekil 4.13. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum amilaz ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.



Şekil 4.14. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum BUN ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

Şekil 4.14.'de görüldüğü gibi BUN değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında BUN değerleri Grup SS'de Grup LS ve Grup LTrx'e göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulundu ($p < 0,01$).



Şekil 4.15. LS, LTrx, SS, STrx gruplarının serum kreatinin ortalama değerlerinin grafiksel görünümü.

5. TARTIŞMA

Bu deneysel çalışmada ratlarda 60 dakikalık strangülasyon ileusunu takiben reperfüzyondan 5 dakika önce intraperitoneal olarak verilen Troloks'un etkileri araştırılmıştır.

İnce barsak mukozası iskemiye çok duyarlıdır. İskemi periyodu sırasında mukoza anoksik ve asidotiktir. İskemik dönem morfolojik olarak hücre hasarına neden olur. Bu hasar önce villus uçlarında görülür. Mikroskobik olarak mukozal hasar 20 dakikalık iskemik dönemden sonra gösterilebilir (46). İntestinal iskeminin en karakteristik özelliği mukozal membran hasarıdır. Mukozal lezyonlar bölgesel intestinal iskemide 3 saatlik iskemiden sonra meydana gelir. Villustan masif epitelyal ayrılma, epitelyal nekroz, lamina propria bütünlüğünün bozulması, hemoraji ve ülserasyon ile karakterizedir. Bu hasar mukozal bariyerde permeabilite artışıyla ve fonksiyonel bozulma ile ilişkilidir (47-50).

İskemiyle ilişkili hasar en çok reperfüzyon sırasında görülür. Hipoksiden çok reperfüzyonda mukozal lezyonların görülmesi SOR'nin ince bağırsak iskemi reperfüzyon hasarındaki rolünü açıklar. Kedi bağırsağında kısmi iskemiden 3 saat sonra, yeni doğan rat mezenter oklüzyonundan 1 dakika sonra tedavi için verilen SOD'ın önemli ölçüde villus ve kript epitelyal nekrozunu azalttığı, etkin bir şekilde villus yüksekliğinin azalmasını ve transmural nekrozu da büyük ölçüde engellediği gösterilmiştir (51,52). Her ne kadar mukozal iskemide 3 saatlik kısmi intestinal iskemiyeye bağlı oluşan mukozal hasarda primer mediyatör olarak SOR görülse de, arteriyel oklüzyon gibi tam iskemide SOR'nin daha az rol oynadığı gösterilmiştir. Tam iskemide 1- 4 saat sonra SOD tedavisinin yapısal değişiklikleri düzeltmediği ve mukozal permeabilite artısını engellemediği rapor edilmiştir. Tahminen tam iskemide, anoksi gibi diğer faktörler daha önemli rol oynamaktadır (49,52).

Bu nedenle tedavi etkinliği araştırılacak ilacın kullanılması için makroskopik olarak bağırsakta iskemi meydana getirilmesi, reperfüzyondan önce nekrozun izlenmemesi gerekmektedir (53).

Park ve Haglung (53) ratlarda oluşturdukları 45 ve 90 dakikalık intestinal iskemi gruplarında, iskemiden hemen sonra alınan ilk biyopside mukozal hasar evrelerinin birbirine benzer olduklarını göstermişlerdir. Daha sonra reperfüzyonun farklı zaman aralıklarında (3., 6., 18., 24., 48. saatte) biyopsi almışlardır. Reperfüzyonun 6. saatinde 45 dakikalık grupta ve 18. saatinde hem 45 hem de 90 dakikalık gruplarda ilk biyopsiye göre anlamlı bir düzelme gözlemişlerdir. Reperfüzyonun 24. saatinden sonra ise mukozal hasar evrelerinin kontrol grubuyla benzer olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmalarında, strangülasyon oluşturulan tüm ratlarda strangülasyon çözülmenden önce makroskopik olarak iskemi gözlemişler ancak nekroz izlememişlerdir. Sonuç olarak, makroskopik olarak nekroz gelişmeden reperfüzyon oluşturulduğunda iskeminin geriye dönebildiğini göstermişlerdir (53). Bizim çalışmamızda da makroskopik olarak nekroz gelişmeden reperfüzyon oluşturuldu ve 60 dakikalık iskemiye takiben reperfüzyonun 24. saatinde alınan biyopside strangülasyon grupları ile laparotomi gruplarının histopatolojik evreleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Bu çalışmamız Park ve Haglung (53)'ın çalışmasına paralellik göstermektedir.

Lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen ürünleri tarafından başlatılan hücre membranındaki poliansature yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir süreç olarak tanımlanır. Bu radikaller membran yapısındaki poliansature doymamış yağ asitlerini etkileyerek onlardan hidrojen çıkaracak re-aktiviteye sahiptirler. Böylece lipid radikali moleküler oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksit radikalini oluşturur. Lipid peroksit radikalleri geçiş elementlerinin katkısıyla zincir reaksiyonlarının devamını sağlayarak aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşebilir. Oluşan aldehitlerin en önemlisi malonil dialdehid (MDA)'dir. MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sık kullanılan bir yöntemdir. Doku MDA düzeyinin araştırılması hücre membranında oksidatif hasarın tanımlayıcı bir göstergesini sağlar. Artması SOR'nin başlattığı lipid peroksidasyonunun artışı gösterir. Lipid peroksidasyonu membran yapısında ve fonksiyonunda bir hasar göstergesi olarak kabul edilir. Hücrede anti oksidan savunma mekanizmasının ilk basamağı SOD'ken ikinci basamakta katalaz yer almaktadır. Genel olarak bilinen SOR düzeylerinin artmasını takiben antioksidan

enzim aktivitesinde artış görülür. Artmış antioksidan enzim aktivitesi SOR'nin baskılanma durumunu gösterir (54,55).

Bizim çalışmamızda MDA değerleri laparotomi gruplarında strangüstasyon gruplarına göre, strangüstasyon gruplarında da STRx grubunda daha düşük izlenmiştir. Ancak MDA değerleri sadece SS grubuyla LTrx grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark göstermiştir ($p<0,05$). SOD değerleri laparotomi gruplarında strangüstasyon gruplarına göre, strangüstasyon gruplarında da STRx grubunda daha düşük izlenmiştir. Ancak SOD değerleri sadece strangüstasyon grupları ile LTrx grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark göstermiştir ($p<0,01$). Katalaz değerleri, laparotomi gruplarında SS grubuna göre, STRx grubunda SS grubuna göre ve LTrx grubunda STRx grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,01$). Bu sonuçlar daha önceki benzer çalışmalarla paralellik göstermemektedir (56,57).

Bağırsak iskemilerinde meydana gelen patolojinin şiddetini göstermek için daha önce birçok farklı biyokimyasal çalışmalar (serum AST, ALT, ALP, LDH, CK, amilaz, BUN ve kreatinin) yapılmıştır. Bu çalışmalarda, özellikle CK olmak üzere serum enzim düzeylerinin yükseldiği gösterilse de kesin olarak biyokimyasal bir belirteç tespit edilememiştir (58-65). Bizim çalışmamızda AST, ALT ve LDH değerlerinin Grup STRx'de Grup SS'e göre yüksek olması, CK değerlerin Grup LS'de Grup SS'e göre yüksek olması mantıklı değildir. Bu paradoks sonuçlar, çalışma sırasında alınan kan örneklerinin hemolize uğramasından kaynaklanabilecek bir laboratuvar hatası olarak değerlendirilebilir.

Cerrahi stres mikrovasküler dolaşımdaki yetmezlikle ilişkili olarak intestinal fonksiyonlarda değişiklik oluşturabilir. Cerrahi sonrası bağırsakta biyokimyasal, fonksiyonel ve histolojik değişiklikler izlenebilir. Travmaya bağlı hemoraji, sepsis ve cerrahi stresi içeren muhtemel faktörler oksidatif strese neden olabilir. Cerrahi streste SOR'nin neden olduğu hasar gösterilmiştir. Cerrahi sonrası lipid peroksit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalar cerrahi stresten 30 dakika sonra intersellüler alanda genişlemeye bağlı olarak intestinal permeabilite artışının başladığını gösterilmiştir. Cerrahi strese bağlı hasar cerrahiden 1 saat sonra maksimum düzeydedir.

Uygulanan cerrahi prosedür için geçen sürenin minimal tutulması sonucunda bu hasarın geriye dönme yeteneği olabilir. Uzun süren majör cerrahilerde bağırsakta çok fazla yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşabilir ve bazen geriye dönüş mümkün olmayabilir (66,67,68).

Bizim çalışmamızda, LS ve LTrx grupları arasında histopatolojik evrelemede, intestinal dokuda MDA, SOD ve katalaz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması nedeni ile Troloks'un hedef organ olan bağırsağa yan etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Ayrıca, Grup LS'de Grup LTrx'e göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da belirtilen düzeylerin daha düşük bulunması, Troloks'un bağırsakta cerrahi stres ile ilişkili olarak laparotomi esnasında oluşan iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürmüştür.

SS ile STRx grubu arasında histopatolojik evrelemede, intestinal dokuda katalaz haric MDA ve SOD düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bu nedenle Troloks'un strangüle bağırsak segmentinde iskemi reperfüzyon hasarını etkin bir şekilde engelleyemediği görülmüştür. Ancak Grup STRx'te Grup LSS'e göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da belirtilen düzeylerin daha düşük bulunması yine Troloks'un iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda LTrx'de LS'e, LS'de STRx'e ve STRx'de SS'e göre histopatolojik evrelemenin ve intestinal dokuda MDA, SOD, katalaz (daha önce belirtilen gruplar arasındaki hariç) düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da azaldığı görülmüştür. Bu nedenle güçlü antioksidan olarak bilinen Troloks'un bağırsaktaki iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkisini göstermek için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİ

Sonuç olarak çalışmamızdaki ratlarda deneysel olarak oluşturulan strangülasyon ileus modelinde, reperfüzyondan 5 dakika önce verilen Troloks'un strangüle bağırsak segmentini iskemi reperfüzyon hasarından etkin bir şekilde engelleyemediği saptanmıştır.

Yine bir sonuç olarak, intraperitoneal verilen Troloks'un hedef organ olan bağırsağa yan etkisinin olmadığı görülmüştür.

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da Troloks tedavisinin strangüle bağırsak segmentinin iskemi reperfüzyon hasarını bir miktar azalttığı görülmüştür. Etkin bir azalmanın sağlanamaması, intraperitoneal olarak verilen dozun yetersiz olması veya strangüle bağırsak segmentine difüzyon süresinin az olması nedeni ile olabilir.

Bu nedenle güçlü antioksidan olarak bilinen Troloks'un bağırsaktaki iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkisini göstermek için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Jamieson WG., Pliagus G., Marchuk S., DeRose G., Moffat D., Stafford L., Finley RJ., Sibbald W., Taylor BM., Duff J. Effect of antibiotic and fluid resuscitation upon survival time in experimental intestinal ischemia. *Surg Gynecol Obstet.* 1988;167:103.
2. Schoenberg MH., Beger HG. Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Critical Care Medicine.* 1988;10:947-953.
3. Parks DA., Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986;250:749.
4. 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.
5. Kong SE., Blennerhassett LR., Heel KA., Mccauley RD., Hall JC. Ischaemia-reperfusion injury to the intestine. *American Journal of the Medical Sciences.* 1994;4:284-292.
6. Ihedioha U., Alani A., Modak P., Chong P. Hernias are the most common cause of strangulation in patients presenting with small bowel obstruction. *Hernia.* 2006;10:338-340.
7. Mourad B., Philippe S., Jean PP., Emmanelle M., Roland R. CT evaluation of small bowel obstruction. *J Radiogr.* 2001;21:613.

8. Schoenberg MH., Beger HG.Reperfusion injury after intestinal ischemia.Crit Care Med.1993;21:1376-1386.
9. Floyd RA., Carney JM.Free radical damage to protein and DNA: mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress.Ann Neurol.1992;32:22-27.
10. Parks DA., Bulkley GB., Granger DN.Role of oxygen derived free radicals in digestive tract diseases.Surgery.1983;94:415-422.
11. McCord JM.Oxygen derived radicals in postischemic tissue injury.New Engl J Med.1985;312:159-163.
12. Nilsson UA., Schoenberg MH., Aneman A., Poch B., Magadum S., Beger HG., Lundgren O.Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine.Gastroenterology.1994;106:629-636.
13. Davies MJ., Forni LG., Wilson RL. Vitamin E analogue Trolox C E.s.r and pulse-radiolysis of free-radical reactions. Biochem. J. 1988;255:513-522.
14. Parlak, M. İnce barsak hastalıkları. İç: Kalaycı G, editör.Genel cerrahi:Nobel Tıp Kitapevleri;2002.s.1299-1319.
15. Freeman L.Spastic ileus (spasmodic intestinal obstruction).Ann Surg. 1918;68:196–202.
16. Miller G., Boman J., Shrier I., Gordon PH.Etiology of small bowel obstruction.Am J Surg.2000;180:33-36.

17. Takayuki M., Takeshi K., Masanori N., Takuya H., Tetuji K., Shinji K., Seigo Y., Masaaki F. Clinical study of strangulation of small bowel. *J Med Invest.* 2001;48:66-72.
18. Raspor P., Plesnicar S., Gazdag Z., Pesti M., Miklavcic M., Lah B., Logar-Marinsek R., Poljsak B. Prevention of intracellular oxidation in yeast: the role of vitamin E analogue, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid). *Cell Biology International.* 2005;29:57-63.
19. Wu TW., Hashimoto N., Au JX., Wu J., Mickle DA., Carey D. Trolox protects rat hepatocytes against oxyradical damage and the ischemic rat liver from reperfusion injury. *Hepatology.* 1991;13:575-580.
20. Mcanulty FJ., Huang XU. The Effect of simple hypothermic preservation with Trolox and ascorbate on lipid peroxidation in dog. *Cryobiology.* 1996;33:217-225.
21. Sagach VF., Scrosati M., Fielding J., Rossoni G., Galli C., Visioli F. The water-soluble vitamin E analogue trolox protects against ischemia/reperfusion damage in vitro and in vivo. A comparison with vitamin E. *Pharmacological research.* 2002;45:435-439.
22. Eum HA., Lee SM. Effects of Trolox on the activity and gene expression of cytochrome P450 in hepatic ischemia/reperfusion. *British Journal of Pharmacology.* 2004;142:35-42.
23. Sharma SS., Gupta S. Neuroprotective effects of trolox in global cerebral ischemia in gerbils. *Biol Pharm Bull.* 2006;29:957-961.

24. Salehi P., Walker J., Madsen K., Churchill TA. Control of oxidative stress in small bowel: relevance to organ preservation. *Surgery*. 2006;139:317-323.
25. Nordberg J., Arner JS. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;31:1287-1312.
26. Thomas EL., Lehrer RI., Rest RF. Human neutrophil antimicrobial activity. *Rev Infect Dis*. 1988;10:450-456.
27. Babior BM. NADPH oxidase: an update. *Blood*. 1999;93:1464-1476.
28. Nauseef WM. The NADPH-dependent oxidase of phagocytes. *Proc Assoc Am Physicians*. 1999;111:373-382.
29. Rossi F., Bellavite P., Berton G., Grzeskowiak M., Papini E. Mechanism of production of toxic oxygen radicals by granulocytes and macrophages and their function in the inflammatory process. *Pathol Res Pract*. 1985;180:136-142.
30. Rosen H., Orman J., Rakita RM., Michel BR., VanDevanter DR. Loss of DNA-membrane interactions and cessation of DNA synthesis in myeloperoxidase-treated *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87:10048-10052.
31. Dalton TP., Shertzer HG., Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1999;39:67-101.
32. Marnett, L. J. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2000;21:361-370.

33. Mates JM., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999;32:595-603.
34. Kroemer G., Dallaporta B., Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:619-642.
35. Steinberg, D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem.* 1997;272:20963-20966.
36. Halliwell, B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis.* 1993;23:118-126.
37. Frei, B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222:196-204.
38. Butterfield DA., Koppal T., Howard B., Subramaniam R., Hall N., Hensley K., Yatin S., Allen K., Aksenov M., Aksenova M., Carney J. Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitron and vitamin E. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;854:448-462.
39. Carden DL., Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000;190:255-66.
40. Zimmerman BJ., Grisham MB., Granger DN. Mechanisms of oxidant-mediated microvascular injury following reperfusion of the ischemic intestine. *Basic Life Sci.* 1988;49:881-6.

41. Arndt H., Kubes P., Granger DN. Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury in the small intestine. *Klin Wochenschr.* 1991;69:1056-1060.
42. Granger DN., Parks DA. Role of oxygen radicals in the pathogenesis of intestinal ischemia. *The Physiologist.* 1983;26:159-164.
43. Mangino MJ., Anderson CB., Murphy MK., Brunt E., Turk J. Mucosal arachidonate metabolism and intestinal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1989;257:299-307.
44. Zimmerman BJ., Guillory DJ., Grisham MB., Gaginella TS., Granger DN. Role of leukotriene B₄ in granulocyte infiltration into the post-ischemic feline intestine. *Gastroenterology.* 1990;99:1358-1363.
45. 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;82:2045-2055.
46. Lundgren O., Haglund U. Intestinal ischemia and shock factors. *Fed Proc.* 1978;37:2729-33.
47. Chiu CJ., McArdle AH., Brown R., Scott HJ., Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg.* 1970;101:478-83.
48. Cook BH., Wilson ER Jr., Taylor AE. Intestinal fluid loss in hemorrhagic shock. *Am J Physiol.* 1971;5:1494-1498.

49. Groggaard B., Parks DA., Granger DN., McCord JM., Forsberg JO. Effects of ischemia and oxygen radicals on mucosal albumin clearance in intestine. *Am J Physiol.*1982;242:448-454.
50. Lundgren O., Haglund U. The pathophysiology of the intestinal countercurrent exchanger. *Life Sci.*1978;14:1411-22.
51. Parks DA., Bulkley GB., Granger DN., Hamilton SR., McCord JM. Ischemic injury in the cat small intestine: role of superoxide radicals. *Gastroenterology.*1982;82:9-15.
52. Dalsing MC., Grosfeld JL., Shiffler MA., Vane DW., Hull M., Baehner RL., Weber TR. Superoxide dismutase: a cellular protective enzyme in bowel ischemia. *J Surg Res.*1983;34:589-96.
53. Park PO., Haglund U. Regeneration of small bowel mucosa after intestinal ischaemia. *Crit Care Med.*1992;20:135-139.
54. Granger, N. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia reperfusion injury. *Am J Physio.*1988;1255:1269-1275.
55. Van Ye TM., Roza AM., Pieper GM., Henderson J., Johnson CP., Adams MB. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage. *J Surg Res.*1993;55:553-558.
56. Akcakaya A., Alimoglu O., Sahin M., Abbasoglu SD. Ischemia–reperfusion injury following superior mesenteric artery occlusion and strangulation obstruction. *J Surg Res.*2002;108:39-43.

57. Paiva LAF., Gurgel LA., Campos AR., Silveira ER., Rao VSN. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Life Sci.* 2004;75:1979-1987.
58. Miyauchi T., Kuroda T., Nisioka M., Hashimoto T., Kasamatu T., Kuratate S., Yada S., Fujimine M. Clinical study of strangulation obstruction of the small bowel. *J Med Invest.* 2001;48:66-72.
59. Thompson JS., Bragg LE., West WW. Serum enzyme levels during intestinal ischemia. *Ann Surg.* 1990;211:369-73.
60. Sarr MG., Bulkley GB., Zuidema GD. Preoperative recognition of intestinal strangulation obstruction. Prospective evaluation of diagnostic capability. *Am J Surg.* 1983;145:176-82.
61. Çağlayan F., Çağlayan O., Gunel E., Elcuman Y., Cakmak M. Intestinal ischemia-reperfusion and plasma enzyme levels. *Pediatr Surg Int.* 2002;18:255-7.
62. Graeber GM., O'Neill JF., Wolf RE., Wukich DK., Cafferty PJ, Harmon JW. Elevated levels of peripheral serum creatine phosphokinase with strangulated small bowel obstruction. *Arch Surg.* 1983;118:837-40.
63. Graeber GM., Cafferty PJ., Reardon MJ., Curley CP., Ackerman NB., Harmon JW. Changes in serum total creatine phosphokinase (CPK) and its isoenzymes caused by experimental ligation of the superior mesenteric artery. *Ann Surg.* 1981;193:499-505.

64. De Toma G., Marzano D., Salvatore P., Cerza F., De Cesare E., Giacobuzzo M., Martelletti P., Antonucci M. Enzymatic and metabolic changes in peripheral serum after superior mesenteric artery ligation in dogs. *Ital J Surg Sci.* 1983;13:269-73.
65. Roth M., Jaquet PY., Rohner A. Increase of creatine kinase and lactate dehydrogenase in the serum of rats submitted to experimental intestinal infarction. *Clin Chim Acta.* 1989;183:65-9.
66. Anup R., Aparna V., Pulimood A., Balasubramanian KA. Surgical stress and the small intestine: Role of oxygen free radicals. *Surger.* 1999;125:560-569.
67. Yukioka T., Tanaka H., Ikegami K., Shimazaki S. Free radicals and surgical stress. *Nippon Geka Gakkai Zasshi.* 1996;97:716-20.
68. Sane AS., Chokshi SA., Mishra VV., Barad DP., Shah VC., Nagpal S. Serum lipoperoxide levels in surgical stress of abdominal hysterectomy. *Panminerva Med.* 1993;35:131-3.

