



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL İNCE BARSAK İSKEMİ-
REPERFÜZYON MODELİNDE İLOPROST VE N-
ASETİLSİSTEİN'İN BERABER KULLANIMININ İSKEMİ-
REPERFÜZYON HASAR VE THIOL/DİSÜLFİT DENGESİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Yasin Alper YILDIZ

ŞUBAT-2020

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL İNCE BARSAK İSKEMİ-
REPERFÜZYON MODELİNDE İLOPROST VE N-
ASETİLSİSTEİN'İN BERABER KULLANIMININ İSKEMİ-
REPERFÜZYON HASARI VE THIOL/DİSÜLFİT DENGESİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Yasin Alper YILDIZ

DANIŞMAN

Doç.Dr. Fatih ALTINTOPRAK

ŞUBAT-2020

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan 05/09/2018 tarih ve 24 sayılı karar ile etik kurul uygunluk onayı olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:/..../.....

Yasin AlperYILDIZ

İmza

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| İÇİNDEKİLER | i |
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| KISALTMA VE İMGELER..... | v |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | viii |
| TABLolar LİSTESİ..... | ix |
| RESİMLER LİSTESİ | x |
| ÖZET..... | xi |
| SUMMARY | xii |
| | |
| 1-GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| | |
| 2- GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. ANATOMİ | 4 |
| 2.1.1 Rat İnce Barsak Anatomisi..... | 4 |
| 2.1.2. Rat Süperior Mesenterik Arter Anatomisi(Kranial Mesenterik Arter) .4 | |
| 2.2 İSKEMİ | 5 |
| 2.3.REPERFÜZYON | 7 |
| 2.4.İNCE BARSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI | 10 |
| 2.5 SERBEST RADİKALLER | 12 |
| 2.6 İR HASARINDA KORUYUCU MEKANİZMALAR- ANTİOKSİDANLAR | 14 |
| 2.7 İLOPROST | 15 |
| 2.8 N-ASETİLSİSTEİN(NAC)..... | 16 |
| 2.9.TİYOL/DİSÜLFİT DENGESİ..... | 17 |
| | |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 19 |
| 3.1 DENEK HAYVAN SEÇİMİ..... | 19 |
| 3.2 ANESTEZİ UYGULAMASI ve CERRAHİ İŞLEM..... | 19 |
| 3.3 DENEK HAYVAN GRUPLARI | 20 |
| 3.4 ÖRNEKLERİN ALINMASI..... | 23 |

| | |
|--|----|
| 3.5 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME..... | 24 |
| 3.6 BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME | 24 |
| 3.6.1. Tiyoldisülfıt Dengesi Ölçümleri..... | 24 |
| 3.7 İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME | 25 |
| | |
| 4.BULGULAR | 26 |
| 4.1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR..... | 26 |
| 4.2 TİYOL DİSULFİT HOMEOSTAZİSİ BULGULARI..... | 30 |
| | |
| 5.TARTIŞMA | 36 |
| 6.SONUÇ | 39 |
| KAYNAKLAR | 41 |
| EKLER..... | 49 |

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nde uzmanlık eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım cerrahlık sanatını öğrenmemde yüksek katkısı olan ve bu ilmi öğrenmemiz için ben ve diğer asistan arkadaşlarıma sonsuz sabır ve sevgiyle yaklaşan sadece bir eğitimci ve cerrah olarak değil aynı zamanda çevresindeki herkese örnek teşkil eden insanlığından ötürü idol olarak gördüğüm çok değerli abim ve aynı zamanda tez danışmanım Doç. Dr. Fatih ALTINTOPRAK'a, yine bu sanatı öğrenirken tecrübelerinden ve bilgisinden çokça faydalandığımız sabır, sevgi ve emeklerini her daim hissettiğimiz çok değerli hocalarım, büyüklerim Prof. Dr. Fehmi ÇELEBİ'ye ve Prof. Dr. H.Belma KOÇER'e, bilgi ve tecrübelerinden faydalanma imkanı bulduğum Prof. Dr. Metin Ercan'a ve Prof. Dr. Kerem KARAMAN'a, ve tabiki Doç. Dr. Zülfü BAYHAN'a ve eğitim sürecim boyunca desteklerini ve sabırlarını esirgemeyen her daim öğretmeye hevesli değerli abilerim Op. Dr. Barış MANTOĞLU, Op. Dr. Emrah AKIN, Op. Dr. Emre GÖNÜLLÜ, Op. Dr. Enis DİKİCİER, Op. Dr. Güner ÇAKMAK, Op. Dr. Hakan DEMİR, Op. Dr. Necattin FIRAT, Op. Dr. Recayi ÇAPOĞLU'na, asistanlığımın başlarında çalışma fırsatı bulduğum ve değerli katkıları olan sayın hocam Doç. Dr. Orhan Veli ÖZKAN'a ve değerli abilerim Op. Dr. Eyüp GEMİCİ ve Op. Dr. Orhan YAĞMURKAYA'ya

Bu yolda bana yol gösteren kıdemli abilerim Op. Dr. Ömer YALKIN, Op. Dr. Kemal GÜNDOĞDU, Op. Dr. M. Yener UZUNOĞLU, Op. Dr. İsmail ZENGİN ve Op. Dr. Ahmet ÇELİK'e ve asistanlık sürecim boyunca birçok zorluğu birlikte göğüslediğimiz çok değerli asistan arkadaşlarım, kardeşlerim Dr. Ali MUHTAROĞLU, Dr. Yeşim AKDENİZ, Dr. Mertcan AKÇAY, Dr. Kayhan ÖZDEMİR, Dr. M.Burak KAMBUROĞLU, Dr. Merve YİĞİT Dr. A.Tarık HARMANTEPE, Dr. Enes BAŞ, Dr. Uğur Can DÜLGER, Dr. İ.Furkan KÜÇÜK, Dr. Mehmet YILDIZ, Dr. Oğuzhan OKUMUŞ'a

Servis, ameliyathane, endoskopi ve poliklinikte beraber görev yaptığımız hemşire arkadaşlarıma, sekreterlerimize ve hastane personeline

Desteği ve sevgisiyle her zaman yanımda olan değerli hayat arkadaşım Hümeyra Aktaş YILDIZ'a , canım çocuklarım İkra ve Oğuz Kağan' a, beni birçok fedakarlıkla yetiştirip bu günlere getiren dualarını eksik etmeyen sevgili annem , babam ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Yasin Alper
YILDIZ**



KISALTMA VE İMGELER

| | | |
|---------------------------------------|---|---------------------------------------|
| AMP | : | Adenozin monofosfat |
| ATP | : | Adenozin trifosfat |
| Ca ²⁺ | : | Kalsiyum iyonu |
| cAMP | : | Siklik adenozin monofosfat |
| KAT | : | Katalaz |
| dk | : | Dakika |
| GR | : | Glutasyon redüktaz |
| GSH | : | Glutasyon |
| GSH-Px | : | Glutasyon peroksidaz |
| GSSG | : | Okside glutasyon |
| H ⁺ | : | Hidrojen iyonu |
| H ₂ O ₂ | : | Hidrojen peroksit |
| IL-1 β | : | İnterlökin bir beta |
| İP | : | İntraperitoneal |
| İR | : | İskemi reperfüzyon |
| K ⁺ | : | Potasyum iyonu |
| KDH | : | Ksantin dehidrogenaz |
| KO | : | Ksantin oksidaz |
| mg/dl | : | Miligram/desilitre |
| mg/ml | : | Miligram/mililitre |
| O ₂ | : | Oksijen molekülü |
| PMNL | : | Polimorf nüveli lökosit |
| ROS | : | Reaktif oksijen türleri |
| SOD | : | Süperoksit dismutaz |
| SOR | : | Serbest oksijen radikali |
| μ g | : | Mikrogram |
| Na ⁺ -K ⁺ ATPaz | : | Sodyum-potasyum ATPaz |
| NAD ⁺ | : | Nikotinamid adenin dinükleotid |
| NADPH | : | Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat |
| NO | : | Nitrik oksit |
| LDH | : | Laktat dehidrogenaz |
| CO ₂ | : | Karbondioksit |

| | | |
|------------------|---|--|
| H ₂ O | : | Su |
| NADH | : | NAD ⁺ nin indirgenmiş hali |
| TNF- α | : | Tümör nekrozis faktör- α |
| IL | : | İnterlökin |
| OH ⁻ | : | Hidroksil radikali |
| LTC ₄ | : | Lökotrien C ₄ |
| PAF | : | Platelet aktive edici faktör |
| PG | : | Prostaglandin |
| TxA ₂ | : | Tromboksan A ₂ |
| GAPDH | : | Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz |
| O ₂ • | : | Süperoksit serbest radikali |
| TDH | : | Tiyoldisulfit dengesi |
| DTNB | : | 5,5'-ditiyobis- (2-nitrobenzoik) asit |
| 4-DPS | : | 4,4'-dithiodipiridine |
| FDA | : | Food and Drug Administration |
| -SH | : | Sülfhidril |
| SPSS | : | Statistical Package For The Social Science |
| SÜDETAM | : | Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi |
| TT | : | Total Tiyol |
| NT | : | Nativ Tiyol |
| PGI ₂ | : | Prostaglandin I ₂ |
| EDCF | : | Endothelium-derived Constricting Factor |
| NAC | : | N-Asetilsistein |
| ÇA | : | Çölyak arter |
| SMA | : | Süperior Mezenterik Arter |
| İMA | : | İnferior Mezenterik Arter |
| KMA | : | Kraniyal Mezenterik Arter |
| LP | : | Lipit Peroksidasyonu |
| HEM | : | Hemoprotein |
| MPO | : | Miyeloperoksidaz |
| DNA | : | Deoksiribonükleik asit |
| TBARS | : | Thiobarbituric Acid Reactive Substance |
| MDA | : | Malonildialdehit |

| | | |
|---------|---|---|
| 5-HPETE | : | 5 – Hidroperoksi Eikoza Tetraenoik Asit |
| LTB4 | : | Lökotrien B4 |
| PGE2 | : | Prostaglandin E2 |
| PGF2 | : | Prostaglandin F2 |
| SIRS | : | Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu |
| İR | : | İntestinal İskemi Reperfüzyon |
| İL | : | İloprost |
| DS | : | Disülfid |
| TT | : | Total Tiyol |
| NT | : | Native Tiyol |



ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları (Kumar V ve ark 2000) | 6 |
| Şekil 2: İskemi sonucu hücre içi değişiklikler (Huether SE ve McCance KL. 2004).. | 7 |
| Şekil 3:İskemi geliştiğinde ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyon gerçekleştiğinde oksijen radikalinin oluşumu (Schoenberg MH ve Beger HG 1993). | 9 |
| Şekil 4:Serbest oksijen radikallerinin etkileri (Otamiri T. 1989)..... | 10 |
| Şekil 5:İloprost moleküler yapısı(40) | 16 |
| Şekil 6: N-Asetilsistein moleküler yapısı..... | 17 |
| Şekil 7: Tiyol ve Disülfidlerin Oksidasyon ve Redüksiyonları (Eryilmaz, O. ve ark 2016) | 18 |
| Şekil 8:İnce barsak dokusunun Chiu Skoru ile histopatolojik değerlendirilmesi | 27 |
| Resim 5: Sham grubu mikroskopik görüntüleri(Evre 0)..... | 27 |
| Şekil 9: Total Tiyol Değerleri | 32 |
| Şekil 10: Native Tiyol Değerleri..... | 33 |
| Şekil 11: Disülfid Değerleri | 33 |
| Şekil 12: Redükte Tiyol Oranları ve NT/TT oranları..... | 34 |
| Şekil 13: Okside Tiyol Oranları*, DS/NT Oranları**, DS/TT*** Oranları..... | 35 |

TABLolar LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1: Serbest radikaller ve diğer reaktif O ₂ bileşikleri (Halliwell B 1994) | 14 |
| Tablo 2: Chiu Skorlaması | 24 |
| Tablo 3: Rat gruplarındaki denek ince barsak patolojilerinin Chiu Skoru'na göre dağılımı | 26 |
| Tablo 4:Tiyol/Disülfid Hemostazı ölçümleri bakımından gruplar arasındaki farklılığın incelenmesi | 31 |



RESİMLER LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Resim 1:Ratların traşlanması ve kuyruktan işaretlenmesi | 20 |
| Resim2:Batın orta hat açılması | 22 |
| Resim 3:Kranial mesenter arterin klemlenmesi | 22 |
| Resim 4:KMA klemlendikten sonra ve reperfüzyon sırasında cerrahi alan stapler ile kapatılması..... | 23 |
| Resim 6: Chiu skoru Evre 2 mikroskopik görüntü. Subepitelyal ayrılmalar. Villus deformasyonu mevcut değil. H&E boyama. | 28 |
| Resim 7:Chiu skoru Evre 3 patoloji görüntüsü. Villuslarda deformasyonlar(←), submukoza(s). Subepitelyal ayrılmalar H&E boyama. | 28 |
| Resim 8:İİR+İL grubundaki Chiu skoru Evre 4 denekler. Lamina propriaya dek ulaşan villus deformasyonu(→ ile gösterilen alanlar). Derin subepitelyal ayrılmalar. Submukoza(yıldızla gösterilen alanlar)..... | 29 |
| Resim 9:İİR+NAC grubundaki Chiu skoru Evre 1 denek. Villus üst ucunda subepitelyal ayrılmalar mevcut. H&E boyama..... | 30 |

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Barsak arteriyel kan akımının kısmen veya tamamen tıkanması sonrası intestinal iskemi; kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. İntestinal İskemi Reperfüzyon (İİR) hasarı çoklu organ yetmezliğine ve ölüme neden olabilir. Bu çalışmanın amacı İİR hasarına İloprost (İL) ve N- asetilsistein'in (NAC) etkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Ağırlıkları 200-300 g arasında değişen 30 adet Sprague Dowley rat her birinde 6'şar denek olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Ketamin ksilazin verilerek supin pozisyonda batın traşı yapıp povidon iyodür ile boyanan ratlara median insizyon yapılarak ile batına girildi. Sham grubuna herhangi bir cerrahi işlem yapılmadan sadece barsak örnekleri ve kan alındı. İİR grubunda KMA diseke edilip klemp yardımıyla barsak iskemisi yapıldı. Cilt cilt stapleri ile kapatıldı. 45 dakikalık iskemi süresi tamamlanınca batın açıldı. KMA deklempe edilerek ince barsak 120 dakika reperfüzyona bırakmak üzere cilt cilt stapleri ile kapatıldı. 120 dakika tamamlandıktan sonra batın tekrar açılarak hayvanlar sakrifiye edilip barsak örnekleri ve kan alındı. İİR+ İL grubunda reperfüzyondan yarım saat önce 2mcg/kg İloprost İ.P verilerek aynı işlemler uygulandı. İİR+NAC grubunda N-Asetilsistein reperfüzyondan yarım saat önce 300 mg/kg İ.P olarak verilip aynı işlemler yapıldı. İİR+NAC+İL grubunda ise yine reperfüzyondan yarım saat önce 2mcg/kg İloprost İ.P ve N-Asetilsistein 300 mg/kg İ.P verilerek aynı işlemler uygulandı reperfüzyon tamamlandıktan sonra diğer gruplardaki gibi hayvanlar sakrifiye edilerek barsak ve kan örnekleri alındı.

BULGULAR: İİR+NAC grubunun Chiu Skoru ortalaması İİR grubuna ve İİR+İL grubuna göre daha düşük bulundu, ancak bu gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Sham grubu skorlarının İİR, İİR+İL, İİR+NAC, İİR+NAC+İL skorlarına göre belirgin düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. NAC, İL ve ikisinin birlikte verildiği gruplarda Redükte Tiyol, NT/TT oranlarının İİR grubuna göre artmış olarak ve Okside Tiyol, Disülfit/TT ve Disülfit/NT oranlarının İİR gruplarına göre azalmış olarak bulundu ($p<0,05$). İlaç verilen gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında NAC verilen grubun sonuçlarının İİR+İL ve İİR+İL+NAC gruplarına göre daha yüksek Redükte Tiyol, NT/TT oranları daha düşük Okside Tiyol, Disülfit/TT ve Disülfit/NT oranları bulundu ancak bu oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

SONUÇ: İİR hasarı modelinde İloprost ve N- Asetilsistein'in birlikte kullanımının tek başına N-Asetilsistein kullanımından üstün olmadığı bulunmuştur. Çalışmamızın İİR hasarında Tiyol-Disülfit hemostazı parametrelerinin antioksidan mekanizmayla ilgili belirteç olarak kullanılabileceğini ve sonuçlarımızın yeni çalışmalara katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: İskemi reperfüzyon hasarı, İnce barsak, Tiyoller, Disülfid

SUMMARY

INTRODUCTION AND PURPOSE: Intestinal ischemia occurs after partial or complete obstruction of the intestinal arterial blood flow and reperfusion injury occurs with the re-supply of blood flow. Intestinal Ischemia Reperfusion (IRR) damage can cause multiple organ failure and death. The aim of this study is to investigate the effect of Iloprost (IL) and N- acetylcysteine (NAC) on IRR damage.

MATERIALS AND METHODS: 30 Sprague Dowley rats weighing between 200-300 g were divided into 5 groups, each with 6 subjects. The rat was shaved in a supine position by giving ketamine xylazine, and the rats were stained with povidone iodide and entered into the abdomen by making a median incision. Only intestinal samples and blood were collected from the Sham group without any surgical procedures. In IIR group, KMA was dissected and intestinal ischemia was performed with a clamp. The skin was closed with skin staples. When the 45-minute ischemia time was completed, the abdomen was opened. KMA declamped and the skin was closed with skin staples to allow for 120 minutes of reperfusion. After reperfusion the abdomen was reopened and animals were sacrificed and intestinal samples and blood were collected. In IIR + IL group, 2mcg / kg Iloprost I.P was given half an hour before reperfusion and the same procedures were applied. In IIR + NAC group, N-Acetylcysteine was given as 300 mg / kg I.P half an hour before reperfusion and the same procedures were performed. In IIR + NAC + IL group, the same procedures were applied by giving 2mcg / kg Iloprost I.P and N-Acetylcysteine 300 mg / kg I.P, half an hour before reperfusion.

RESULTS: The average of Chiu Score of the IIR + NAC group was lower than the IIR group and the IIR + IL group, but there was no statistically significant difference between these groups($p>0,05$). Sham group scores were determined to be significantly lower and statistically significant compared to IIR, IIR + IL, IIR + NAC, IIR + NAC + IL scores($p<0,05$). Reduced Thiol, NT / TT ratios were increased in the groups where NAC, IL and the two were given together, compared to the IIR group, and Oxidized Thiol, Disulfide / TT and Disulfide / NT ratios were decreased compared to the IIR groups($p<0,05$). When the groups given the drug were compared with each other, the Reduced Thiol, NT / TT ratios of the group given NAC were higher than those of IIR + IL and IIR + NAC+IL groups, but there was no statistically significant difference between these rates($p>0,05$). Similarly the Oxidized Thiol, Disulfide / TT and Disulfide / NT results of the NAC group were found to be lower than the IIR + IL and IIR + IL + NAC groups, but there was no statistically significant difference between these rates($p>0,05$).

CONCLUSION: It was found that the use of Iloprost and N-Acetylcysteine in the IIR injury model was not superior to the use of N-Acetylcysteine alone. We think that

Thiol-Disulfide hemostasis parameters can be used as an indicator of antioxidant mechanism in IIR damage and our results will contribute to new studies.

KEYWORDS: Ischemia-Reperfusion Injury, Small Intestine, Thiols, Disulphide



1-GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi; doku ve organların arteriyel ve/veya venöz kan akımının azalmasına bağlı olarak gelişen yetersiz kanlanması sonucu hücre enerji depolarının boşalması ve toksik maddelerin birikimiyle geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku ölümüdür. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar (Ozan E ve ark 2004). Hücre hasarının engellenmesi için kan akımının tekrar sağlanması gerekir ve bu duruma reperfüzyon denir.

Ancak iskemi sonrası gerçekleşen reperfüzyonun iskemiden daha fazla hasara yol açtığı bildirilmiştir (Collard CD ve Gelman S 2001). Reperfüzyona sekonder oluşan doku hasarında hücrenin içine oksijen girmesiyle serbest oksijen radikal (SOR) türevleri meydana gelir. Reperfüzyon etkisine en hassas olan hücresel yapılar membranda bulunan lipitler ve protein, nükleik asit ve deoksiribonükleik asit gibi moleküllerdir (Wilhelm J 1990). Normalde SOR oluşumu ve koruyucu antioksidan mekanizmaların SOR'u temizlemesi denge halindedir. Koruyucu antioksidan sistemini; süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz, Glutatyon Peroksidaz gibi enzimatik veya enzimatik olmayan C vitamini, E vitamini ve Melatonin gibi moleküller oluşturmaktadır (Wilhelm J ve ark 2002). İnce barsaklar iskemi reperfüzyon (İR) nedenli zedelenmeye oldukça duyarlıdır (Güneli E ve ark 2007, Rock P, Yao Z 2002). Süperior Mezenterik Arter'in (SMA) tıkanması sonucu gelişen iskemi mezenter iskemi olarak adlandırılmaktadır ve iskemiden özellikle ince barsaklar etkilenmektedir. İskemi reperfüzyon hasarı'nın dokuya iskemiden daha çok hasar verdiği bilinmesi ve İİR hasarı ile ilgili tam bir tedavi protokolünün olmaması bu konuyla ilgili son yıllarda yeni çalışmalar yapılmasına gereksinim doğurmuştur.

İloprost stabil bir prostoglandin I2 (PGI2) analogudur ve PGI2'ye çok yakın farmakokinetik özellikler göstermektedir (Belch JJ 1987, Stürzebecher CS 1987). Daha önce yapılan çalışmalarda farklı organlarda iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Avcı T ve ark 2014). İloprostun bilinen farmakolojik özellikleri vazodilatasyon, lökosit aktivasyonu ve adhezyon inhibisyonudur (lökosit/damar duvarı etkileşimini inhibe eder) (Belch JJ 1987, Stürzebecher CS 1987). Trombosit agregasyonunu, aktivasyonunu ayrıca aktive olan

trombositlerden 5-HT ve Tromboksan salınımının inhibe eder (Stürzebecher CS 1987). Endotelial hücre geçirgenliğini azaltır, TNF- α yı inhibe eder Lökotrienlerin ve “Endothelium-derived Constricting Factor” ün (EDCF) vazospastik etkilerini inhibe eder(Dormandy J 1989). Bu etkilerinden dolayı İloprost’un tek başına veya diğer moleküllerle kombinasyonlar şeklinde kullanıldığında kemirgenler üzerindeki iskelet kası iskemi-reperfüzyonu modelinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (Avcı T ve ark 2014). Yapılan çalışmalarda genel olarak, İloprost iskemi-reperfüzyona bağlı kas ve uzak organ hasarını azalttığı gösterilmiştir (E. Schillinger ve ark 1987, D. D. Lance ve B. M. Brenner 1996).

N-Asetilsistein (NAC); intrasellüler Glutasyon (GSH) prekürsürüdür ve Karaciğerde Glutasyon S-Transferaz aktivitesini artırır. Bu aktivite ajanın anti-oksidan, antikarsinojenik ve anti-mutajenik etkilerinin temelidir (Slusser SO ve ark 1990). GSH non-enzimatik endojen antioksidanların önemlilerinden biridir (Avi A 2001). NAC’ın SOR tarafından oluşturulan doku hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu etkisini GSH düzeyini artırarak, direkt oksidan yok edici olarak etki göstererek veya stabil nitrozotil türevleri oluşturarak gerçekleştirdiği bildirilmektedir (Conesa LE ve ark 2001- Abbasoğlu SD ve ark 2004). Bu etkilerinden dolayı NAC’ın da tek başına veya kombinasyonlar şeklinde ratlar üzerinde kalp veya karaciğerde iskemi-reperfüzyon modeli ile faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (Abbasoğlu SD ve ark 2004, Bartekova M ve ark 2017).

Tiyoller(-SH) karbon atomuna bağlı sülfür ve hidrojen atomunda oluşan sülfidril grubu içeren merkaptanlar olarak bilinen organik bileşiklerdir (Sen CK ve Packer L 2000). Plazma Tiyolları’nin esas kısmını albümin ve proteinler ile sistein, sisteinglisin, glutasyon, homosistein ve γ -glutamilsistein tiyolları oluşturmaktadır (Turell L ve ark 2013). Bu tiyol içeren moleküller oksidanlar tarafından okside edilirken tiyol grupları oksitlenerek reversible disülfid bağlarına dönüşürler (Cremers CM ve Jakob U. 2013). Bu dönüşüm süperoksit radikalleri ile oluşan protein oksidasyonunun en erken belirtisidir. Disülfid bağı; *SS-bağı* ya da *disülfid köprüsü* diye adlandırılan kovalent bağlardır. Disülfid bağları tekrar tiyol gruplarına redükte olabilirler ve buna *Tiyol-Disülfid dengesi* denir (Jones DP ve Liang Y. 2009). Tiyol Disülfid dengesinin etkili olduğu ve anormal Tiyol/Disülfüt dengelerinin gösterildiği birçok hastalık mevcuttur.

Erel & Neşelioğlu'nun geliştirdiği yeni yöntemle her iki değişken düzeyi de ayrı ayrı ve toplamsal olarak ölçülebilmekte ve hem bireysel hem de bütünsel olarak değerlendirilebilmektedir.

Çalışmamızda İloprost ve N-asetilsistein'in beraber kullanımının ratlarda iskemi reperfüzyon hasarının nlenmesindeki etkisinin araştırılması planlanmıştır. İnsanlarda klinik olarak isteğe bağlı ince barsak iskemi-reperfüzyon oluşturulamayacağından bu araştırma konusunun hayvan modelinde çalışılması planlanmıştır.



2- GENEL BİLGİLER

2.1. ANATOMİ

2.1.1 Rat İnce Barsak Anatomisi

Ratlarda ince barsak midenin pilorik kısmından başlar. Pilorik kısım rat median batın kesisinin sağ kısmında kalır. İnce barsağın mideden çıkan ilk kısmı Duodenum'dur ve duodenum yaklaşık 95-100 mm uzunluğundadır. Duodenumun proksimal kısmı sağ batın duvarı ile karaciğerin visseral yüzeyi arasındadır. Desenden Duodenum sağ karın duvarından sağ böbreğe kadar devam eder. Cranial Duodenum'la Desenden Duodenum arasındaki alan Flexura Duodeni Cranialis'tir. Desenden Duodenum kranial yönde bir dönme yapar bu bölüme Asenden Duodenum denir. Desenden Duodenumla Ascenden Duodenum arasındaki alan Fleksura Duodeni Caudalis olarak tanımlanır. Asendan Duodenum Jejenum ile devam eder. Jejenum 890 ile 1300 mm arasında ölçülmüştür. Jejenum ile Duodenum arasındaki fleksuraya Duodenojejunal Fleksura denir. İnce barsağın bu kısmı abdominal kavitenin sağ kısmını doldurur. Jejenum İleum ile devam eder ve sonunda İleum'un çekuma girdiği yere Sacculus Rotundus denir. Bu bölge lenfatik doku ile şekillenmiştir. İleum ile Çekum arasında İleoçekal valve benzeyen bir yapı bulundurmaz İleumun uzunluğu 20-30 mm dir. İleumun çekuma açıldığı yerden kolon başlamaktadır. Çekum abdominal kavitenin sağ kaudal kısmını oluşturmaktadır. Çekumun Basis'i Korpusu ve Apexi mevcut. Apex Processus Vermiformis ile devam eder ve Çekum'un son kısmıdır. Çekumun farklı pozisyonel varyasyonlara izin veren uzun mezenteri mevcuttur (Katar'ına Vdoviakov'a ve ark. 2016) ve 6-9 cm kadar bu geniş çapta seyrettikten sonra daralarak tıpkı insandaki gibi çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon kısımlarını oluşturur. Makroskopik olarak ayırt edilebilen tenya yapısı içermez.

2.1.2. Rat Süperior Mesenterik Arter Anatomisi(Kranial Mesenterik Arter)

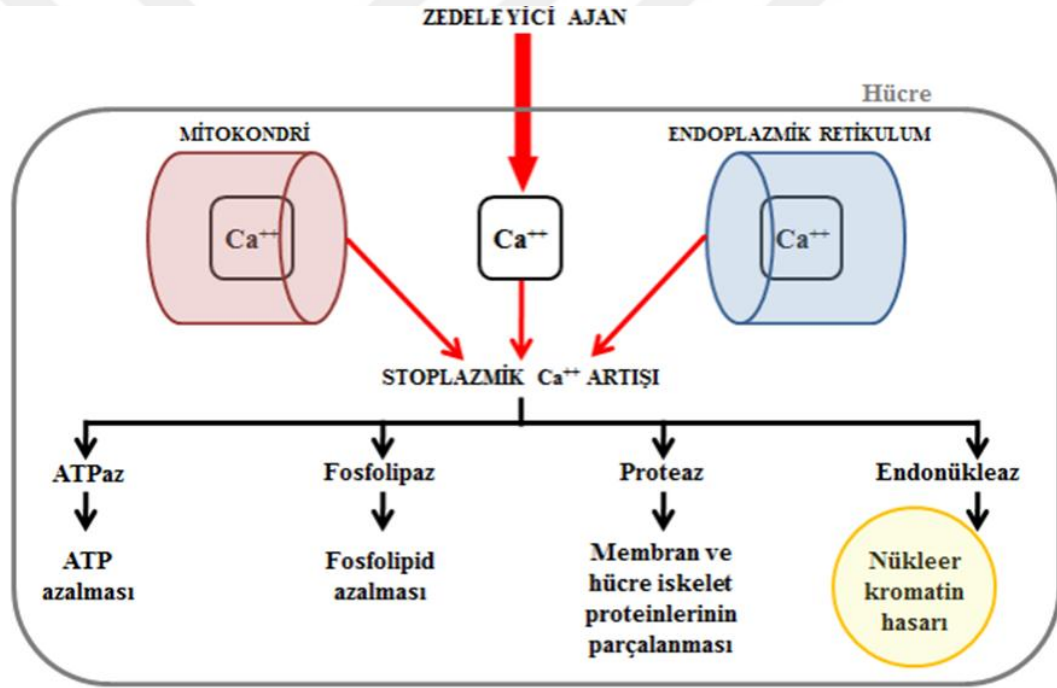
Kraniyal Mezenterik Arter(KMA), Abdominal Aorta'nın en kalın dalıdır. Abdominal aortadan ventralden çıkan çölyak arterden sonraki ikinci daldır. Embriyonik dönemde barsaklar bu arter etrafında döndüğü için bu damar çok önemlidir. KMA embriyolojik dönemde bu damara bağlı tüm sindirim sistemi elemanlarının kanlanması oluşturur. Bazı varyasyonları mevcuttur. %9 oranında Sağ Renal Arter'in cranialinden köken

alır, %37 oranında- Sağ Renal Arter ve KMA aynı kökten çıkarlar, %39 oranında da KMA Sağ Renal Arter'in kaudalinden köken alır. KMA *A. Colica Media*, *A. Pancreaticoduodenalis Caudalis*, *A. Colica Dextra*, *Aa. Jejunaes*, *A. İleocecocolica* olmak üzere dallara ayrılır(Katarina Vdovjakov'a ve ark. 2016). *A. colica Media* ilk daldır ve transvers kolon ve inen kolon kranial kısmını besler. %46 oranında KMA'dan kanlanır, %37 oranında da Sağ Renal Arter ile birlikte aynı kökten çıkar. İnférieur Pankreatikoduodenal arter KMA'den kraniale yönelerek dallanır ve Asendan Duodenum'u Kaudal Duodenal Fleksura'ya kadar olan kısmını besler. KMA'nın üçüncü dalı Sağ Kolik Arter'dir. %37 Orta Kolik Arter ile aynı kökten dallanır, %46 bağımsız olarak İnférieur Pankreatikoduodenal Arterden sonra dallanır. Jejunal arterler KMA'dan dallanırlar Jejenum ve İleum'un kranial kısmını beslerler. İleokolik Arter KMA'den köken alır, kaudoventral olarak çıkar ve Çekokolik Junction'a yönelir. İleokolik Arter asendan kolonu kanlandırmak için kolik dala (*R. colicus*) ileumu kanlandırmak için ileal artere (*A. ilealis*) ve çekumu kanlandırmak için çekal artere (*A. cecalis*) bölünür (Katar'ına Vdovjakov'a ve ark. 2016)

2.2 İSKEMİ

Barsakları besleyen arterlerin emboli, tromboz veya ateroskleroza bağlı intravasküler patolojiler nedenli tıkanıklıkları volvulus-intestinal strangülasyon-invajinasyon gibi mekanik vasküler nedenler veya barsağın venöz dönüşünde tıkanıklık gibi çok çeşitli nedenlerle barsaklarda iskemik hasar görülebilir (Talbot W 1996, Brand JL ve Boley JS 1993). İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar .(Ozan E ve ark 2004). İskemi esnasında hücrel enerji depolarının tükenmesi, iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini tetikler. Oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalır. ATP sentezi durmasına karşın, ATP kullanımı ve ATP hidrolizi sonucu oluşan Adenozin Difosfat (ADP) düzeyi artmaktadır (Ateş B ve ark 2004). Hücrel ATP azlığı Adenozin Monofosfat (AMP) artımı ile birlikte dir. ATP azlığı Fosfofruktokinaz enzimini uyarır, anaerobik glikoz hızı artarak yetersiz oksijen varlığında ATP oluşumu glikojenden sağlanır ve böylece hücrenin enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimiyle sonuçlanır (Kumar V ve ark 2000, Huether SE ve McCance KL 2004). İskemi

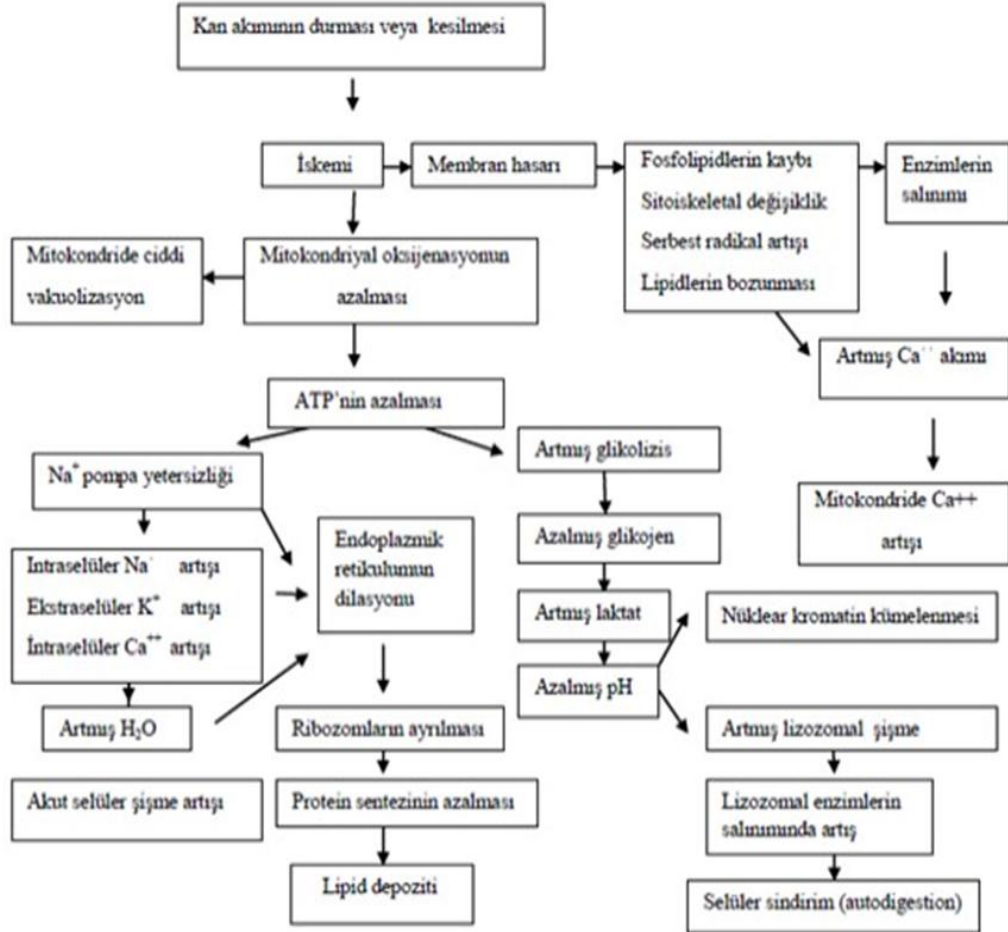
nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan ATP bağımlı Na⁺/K⁺ pompasında işlev yetersizliğine yol açar. K⁺ hücre dışına çıkarken Na⁺ ve Ca⁺⁺ iyonları hücre içine girerler. İyon dengesizliği hücre içerisinde izoozmotik su birikimine ve akut hücre şişmesine neden olur. Anaerobik glikoliz sonucu oluşan asidoz, Karbondioksit(CO₂) birikimiyle oluşan Karbonik Asit (H₂CO₃) ile daha da derinleşir (Kumar V ve ark 2000, Zimmerman BJ ve Granger DN 1992).ATP bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler Ca⁺²'u dengelemektedir. İtrasellüler Ca⁺² artışı ile proteolitik enzimler ve Fosfolipazlar aktive olurlar(Şekil 1). Fosfolipazlar'ın aktivasyonu Araşidonik Asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik Asit direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır.



Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları (Kumar V ve ark 2000)

Sonraki fenomen; granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılması ve polizomların monozomlara parçalanmasıdır. Eğer hipoksi devam ederse diğer değişiklikler oluşur ve zar geçirgenliği artar, mitokondri fonksiyonları azalır. Hücre yüzeyinde tomurcuklar oluşur. Bu bozuklukların tümü oksijen verilince geri dönüşümlüdür (Kumar V ve ark 2000). Eğer oksijen sağlanamazsa sitoplazmada vakuol formasyonu oluşur, belirgin mitokondriyal şişme ile plazma membranı

hasarlanır. Bu safha artık geri dönüşümsüz hücre hasarıdır (Şekil 2) (Huether SE ve McCance KL. 2004).



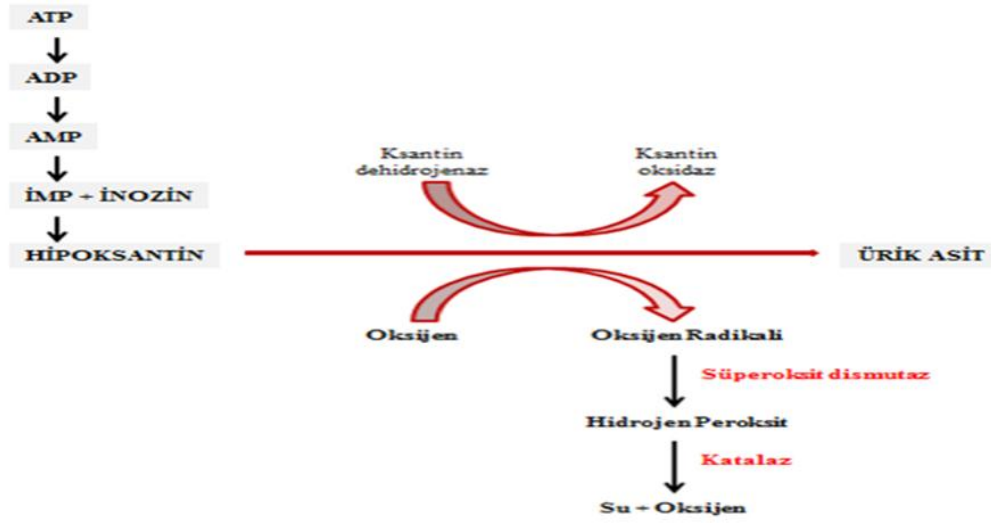
Şekil 2: İskemi sonucu hücre içi değişiklikler (Huether SE ve McCance KL. 2004)

Özetle; hipoksi, oksidatif fosforilasyonu etkiler ve hayati olan ATP yapımını engeller; kritik noktadan sonra öldürücü olan membran zedelenmesine neden olur. Kalsiyum hücre ölümünde yapısal değişikliklerin potansiyel mediyatörüdür (Kumar V ve ark 2000).

2.3.REPERFÜZYON

Reperfüzyon; iskemiye uğrayan dokunun yeniden kanlanmaya başlamasıdır. Fakat iskemik alanın yeniden kanlanması o alanda paradoksal bir şekilde çok daha önemli

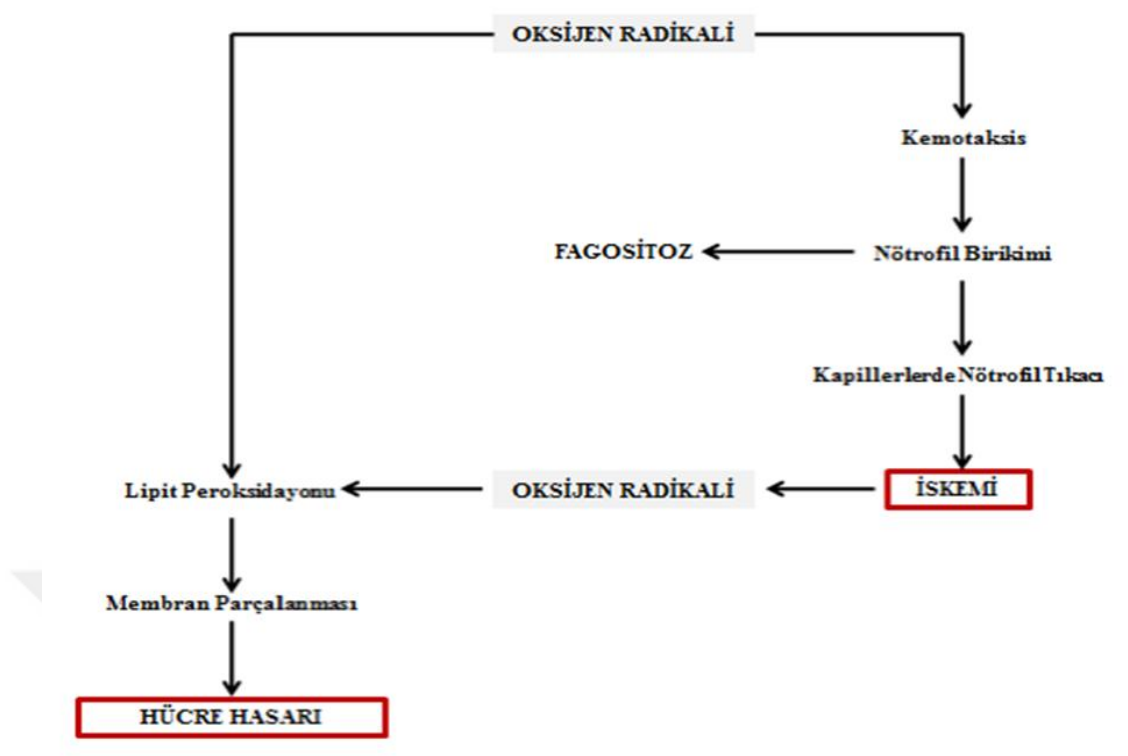
bir yıkıma neden olur(Zimmerman BJ ve Granger DN 1992). Reperfüzyona sekonder oluşan doku hasarında hücrenin içine oksijen girmesiyle meydana gelen serbest oksijen radikal (SOR) türevleriyle birlikte pekçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon etkisine en hassas olan hücresel yapılar; membranda bulunan lipitler, proteinler, nükleik asit ve Deoksiribonükleik Asit gibi moleküllerdir(Wilhelm J. 1990) Reperfüzyon döneminde dokuda nötrofil infiltrasyonu, kompleman sisteminin aktivasyonu, kalsiyum aracılı proteazların aktivasyonu, Araşidonik Asit metabolizması gibi pek çok sistem serbest radikal oluşumunu artırarak hasara neden olmaktadır (Cantürk NZ, Sayek İ 2005). Birçok çalışma reperfüzyon hasarının başlamasından büyük ölçüde Ksantin Oksidaz bağımlı süperoksitin sorumlu olduğunu göstermiştir (Schoenberg MH, Beger HG 1993, Yıldız Y ve ark 2008). İskemi sırasında Ksantin Oksidaz enziminin sentezi, etkinliği ve substratları artar ve enzim reperfüzyon sırasında dokuda konsantrasyonu birden artan oksijeni aşırı miktarda süperoksit anyonuna dönüştürür(Kayaalp O. 2005). Reperfüzyon sonrası sitotoksik etkiler kaskatı başlar. Bu silsileyi başlatan en önemli faktör SOR'dur. (Özçelik N ve ark 1993). Reperfüzyonla dokunun kanlanması ve oksijenlenmesi sağlanmaya çalışılır. İskemide biriken hipoksantin dokudan uzaklaştırılmaya çalışılır. Oksijen dokuya ulaşınca Ksantin Oksidaz enzimi SOR oluşturur. (Lewis MS ve ark 1988). SOR Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi sayesinde Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve O_2' ye çevrilir. Hidrojen Peroksit de Katalaz (KAT) enzimiyle su ve O_2' ye çevrilir (Schoenberg MH ve Beger HG 1993) (Şekil-3). SOR lipit peroksidasyonu (LP) ve protein hasarı oluşturarak hücrenin fonksiyonlarını bozar ve dokuda nekroz oluşturur (Özçelik N ve ark 1993). SOR dokuya zarar verdiği gibi polimorfonüveli lökositlerin (PMNL) bu dokularda birikmesine sebep olur. Nötrofil ve monositler primer lizozomal granüllerinde bir hemoprotein (HEM) enzimi olan Miyeloperoksidaz (MPO) içerirler. Nötrofiller dolaşımında bulunan PMNL'lerin % 90'dırlar.



Şekil 3: İskemi geliştiğinde ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyon gerçekleştiğinde oksijen radikalinin oluşumu (Schoenberg MH ve Beger HG 1993).

Dokuya gelen aktive PMNL'ler MPO, Elastaz, Proteaz, Kollajenaz, Laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler dokudaki hasarı arttırırken daha fazla radikal oluşmasına neden olurlar (Otamiri T. 1989)(Şekil4).

Süperoksit radikalleri deoksiribonükleik asit (DNA), protein ve özellikle de lipidlerle reaksiyona girerek yapılarını bozarlar. Lipid peroksidasyonu ile tekrar serbest radikaller oluşturup reperfüzyon hasarındaki önemli bir mediyatör Fosfolipaz A2'yi aktive hale getirir. (Schewe, T. 2002). Fosfolipaz A2 etkisiyle aktif hale gelen Lisofosfolipaz, Trombosit Aktive Edici Faktör ve Araşidonik Asit ile lipid peroksidasyonu devamlı hale gelir. Lipid peroksidasyonunun gerçekleşmesiyle pentan, hidrokarbonlar, Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) veya Malonildialdehit (MDA) oluşur (Schewe, T. 2002).



Şekil 4:Serbest oksijen radikallerinin etkileri (Otamiri T. 1989)

Fosfolipaz A2 Ca^{+2} etkisiyle aktive olarak hücre membranındaki yağ asitlerini parçalar (Cantürk NZ ve Sayek İ 2005). Bu etkiyle Lesitin'den Lizolesitin, Sefalin'den Lizosefalin, Fosfatidilkolin'den Lizofosfatidilkolin meydana gelir (Otamiri T. 1989). Fosfolipaz A2 etkisiyle Araşidonik Asit mekanizmasını aktifleştirir ve bu sayede Prostaglandinlerin ve Lökotrienlerin üretimi uyarılmış olur. Araşidonik Asit mekanizması iki ana yoldan ilerler; Lipooksijenaz ve Siklooksijenaz yolu. Siklooksijenaz yolu ile Prostaglandinler ve Tromboksan A2 oluşur. Lipooksijenaz yolundan ise 5 – Hidroperoksi Eikosa Tetraenoik Asit (5-HPETE) oluşur. 5-HPETE ya 5-HETE'ye ya da Lökotrienlere dönüşür. Lökotrienlerden Lökotrien B4 (LTB4) nötrofiller için kemotaktiktir (Kumar V ve ark 2000). Prostaglandin E2(PGE2) ve Prostaglandin F2 (PGF2) vazodilatasyona sebep olur.

2.4.İNCE BARSAK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

Barsakların kanlanmasını sağlayan arteriyel yapıların parsiyel veya tam obstrüksiyonu sonrası iskemi ortaya çıkar, bu duruma *mezenter iskemi* denmektedir. İskemik

lezyonlar etkilenen damara bağı olarak ince barsakta veya kalın barsakta lokalize kalabilir. Mezenter iskemilerde ana neden Aorta'daki aterom plaklardan kaynaklanan SMA embolisidir (Kuzu MA ve ark 2000). Bu etyolojinin dışında miyokard enfarktüsü, hiperkoagulabilite, septik şok, maligniteler, dehidratasyon, Aort cerrahisi, batın travmaları, dehidratasyon, volvulus, barsaklara uygulanan cerrahi işlemler gibi birçok etyolojik neden de mevcuttur (Kumar V ve ark 2000). Etiyolojik sebebe bağı olmadan akut barsak iskemisinin mortalite oranı %25-75 arasında değişmektedir.

İskemi barsağın özellikle villus tabakasında başlar (Grace PA 1994). Hafif iskemilerde bile villus uçlarında iskemik hasar oluşabilir. Yüzeysel mukoza hasarı sonrası iskemi devam ederse transmukozal ve transmural hasarlanma gelişir. Bu etkiler için iskeminin ne şiddette olduğu, süresi, ne hızla geliştiği ve kollateral oluşup oluşmadığı önemlidir (Mitsudo S ve Brandt LJ 1992). Kollateral dolaşım için birkaç hafta gereklidir. Kollateral dolaşım gelişmezse barsağın geri dönüşümsüz hasarı görülür. Histopatolojik değerlendirmede villuslarda yassılaşma, interstisyel kanama, nekroz ve mukozal parçalanma görülür.

İskemi gelişen mukozada nötrofillerin infiltrasyonunun uyarıldığı ve iskemik kaskat denen zincir aktivasyonunun başlayıp SOR'un açığa çıkarak doku hasarına sebep olduğu bilinmektedir. Bu durum mukoza hücre membranlarının lipid ve protein yapılarını hasara uğratar. Kan akımı tekrar sağlandığında, reperfüzyon hasarı denilen ve iskemik hasardan daha çok zarar veren bir hasar meydana gelmektedir (Güneli E ve ark 2007). Fazla miktardaki SOR daha ileri hasara yol açmaktadır. Schonberg ve ark.(1984) iki saatlik ince barsak iskemisinden sonra mukozal lezyonların aslında reperfüzyon sonrası geliştiğini gösterdiler. İskemi reperfüzyon hasarıyla SOR oluşturan en önemli yolak Hipoksantin-Ksantin yolağıdır. Hipoksantin doku oksijenlenmesiyle Ksantin Dehidrogenaz aracılığıyla ürik aside dönüşür. Hipoksi durumundaysa Ksantin Dehidrogenaz Ksantinoksidaza çevrilir ve reperfüzyon gerçekleştiğinde oksijen radikalleri oluşur.

SOR hücre membran yapı ve bütünlüğünü bozarak lipid peroksidlerinin de etkisiyle fosfolipaz A2 ve Araşidonik Asit mekanizmasını aktive eder. Aktivasyon sonrası Prostaglandinler, Tromboksanlar ve Lökotrienler permeabilitede değişikliğe sebep olarak mikro ve makro sirkülasyonu bozarlar. Uzamış hipoksiyle enerji depolarının

tükenmesi prostasiklin, nitrik oksit (NO) gibi bazı koruyucu ajanların üretiminde azalma ve endotelin, tromboksan A2 gibi ajanların üretiminde artmaya sebep olur(Schoenberg MH, Beger HG 1993).

Barsak iskemisinde dikkat edilmesi gereken önemli bir basamak da bakteriyel translokasyondur. Bakteriyel translokasyon intestinal yapıda ve fonksiyonunda bozukluklara bağlı olarak gelişmektedir. Bakteriyel translokasyonun başlamasına sebep olan şey değişen kan akımının yol açtığı iskemi ve reperfüzyon hasarıdır (Necefli A ve ark 1999, Sızlan A ve ark 2009). Bununla proteolitik enzimler, bakteriler ve endotoksinler barsak lümeninden sistemik dolaşıma geçerler (Ozturk C ve ark 2002).

İskemi reperfüzyon hasarı özellikle Akciğerler olmak üzere uzak organlarda yetmezliğe ve ölüme sebep olabilir(Schoenberg MH ve ark 1984). Akciğerlerde pulmoner hemoraji ve ödem görülebilir, bu durumda PMNL infiltrasyonu olur (Jun-Lin Z ve ark 2003). Farklı dokularda manosit ve makrofaj uyarımıyla inflamatuvar sitokinlerin sentez ve salınımı da uyarılıp Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) başlar bunu başlatan esas mediatör Endotoksin'dir(Jun-Lin Z ve ark 2003), Sızlan A ve ark 2009). İR hasarı sonrası endotoksinler Vena Porta ile Karaciğere ve Akciğere ulaşarak Kuppfer hücreleri ve alveolar makrofajları aktive edip Tümör Nekrozis Faktör-alfayı (TNF-a) ve IL-6 gibi sitokinlerin üretimini arttırırlar.(Kumar V ve ark 2000, Sızlan A ve ark 2009). İnce barsak İR hasarının böbreklere de olumsuz etkileri mevcuttur.

2.5 SERBEST RADİKALLER

Atomların bir çekirdeği vardır ve bu çekirdeğin etrafında orbital denilen yörüngelerde çiftler halinde gezen elektronlar mevcuttur. Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren molekül veya atomlar serbest radikaldir. Bu serbest radikaller pozitif, nötr veya negatif yüklü olabilirler. Yine bu radikaller organik veya inorganik halde bulunabilirler (Halliwell B. 1994). Oksijenin redüksiyonu ve hücrelerin enzimatik oksidasyonu ile *süperoksit radikali* oluşur. Süperoksit radikalinin de bazı reaksiyonları sonrasında hidrojen peroksit, bunun da bazı reaksiyonlar geçirmesi sonrasında hidroksil radikali oluşmaktadır(Erden M. 1992). İskemi sonrasında reperfüzyon

gelişince dokunun kaybolan fonksiyonlarının geri gelmesi ile birlikte serbest radikallerin oluşumunun hızlanması daha kötü doku hasarlarına sebep olur. Bu reaktif oksijen radikalleri normalde antioksidan sistem sayesinde ortadan kaldırılırlar (Slavikova H ve ark 1998 ,13).

Oksijen molekülü bir elektron alınca süperoksit radikali oluşur ve aslında direkt zararlı olan form bu değildir, esas önemi H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) oluşumunu sağlaması ve indirgeyici olmasıdır. Nitrik oksit(NO) ile birleşerek Peroksinitrit oluşturur bu da NO 'nun normal etkisini inhibe eder (Grace PA 1994). H₂O₂ membranlardan kolayca geçer, serbest radikal değildir ancak reaktif oksijen türleri arasındadır ve serbest radikal biyokimyasında önemlidir. O₂⁻ ile reaksiyona girip başka bir serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalinin oluşumuna olanak tanır (Erden M 1992, Akkuş İ 1995). Hidrojen peroksit de Fe⁺² iyonu ile (Fenton Reaksiyonu) na girerek bir hidroksil iyonu ve en güçlü oksitleyici olan hidroksil radikalini(OH⁻) oluşturur. Oksijenin oldukça reaktif bir şekli de singlet oksijendir ve enerji kullanılarak meydana gelir. Eşleşmemiş elektronu olmadığı için serbest radikal değildir ancak serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına sebep olur(Akkuş İ 1995, Grisham MB ve Mc Cord JM 1986). NO damar endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller ve hepatositler tarafından üretilir. Düz kasa geçip Guanilat Siklaz enziminin Hemdemirine bağlanıp cGMP sentezini tetikler ve damar dilatasyonunu uyarır. NO tiyol gruplarını S-nitrozilasyona sokarak protein ve reseptör fonksiyonlarını değiştirir. NO reaktif oksijen türleri ile reaksiyon vererek Peroksinitrit oluşturur bu güçlü bir oksidandır ve sonra bundan OH⁻ radikali oluşumuna olanak tanır(Aktan ÖA ve Yalçın SA 1998, Gilgun-Sherki Y ve ark 2002). Normalde endojen NO oluşumu çok düşüktür, sağlıklı insanlarda plazmadaki değeri sıfıra yakındır. NO hemostazda ve vücut savunma mekanizmalarında etkisi olan bir araçtır. Organizmanın farklı dokularında IL-1 ve sitokinlerin benzeri işlev görür(Aktan ÖA ve Yalçın SA 1998). Normalde tumoral hücrelerin, parazitlerin, bakterilerin, mantar hücrelerinin öldürülmesinde görevlidir fakat yüksek seviyelerde bulunduğu normal hücreler üzerinde toksiktir. O⁻ iyonları ile inaktif duruma gelir SOD enzimi ile korunur. Yani serbest radikal tutucusu olarak görülse de uygun ortamda Süperoksit ile Peroksinitrit oluşturur. Tablo 1 de serbest radikaller ve diğer reaktif O₂ bileşikleri gösterilmiştir.

Tablo 1: Serbest radikaller ve diğ er reaktif O₂ bileşik leri (Halliwell B 1994)

| SERBEST RADİKALLER | RADİKAL OLMAYAN REAKTİF O ₂ BİLEŞİKLERİ | SOR ETKİSİ SONUCU OLUŞAN RADİKALLER |
|--|--|-------------------------------------|
| SÜPEROKSİD(O ₂ ⁻) | HİDROJEN PEROKSİT(H ₂ O ₂) | KARBON MERKEZLİ RADİKALLER |
| HİDROKSİL(OH ⁻) | SİNGLET OKSİJEN(¹ O ₂) | PEROKSİL/KARBOKSİL |
| HİDROPEROKSİL(HO ₂ ⁺) | HİPOKLORÖZ ASİT(HOCl) | ALKOKSİL |
| NİTRİK OKSİD(NO ⁻) | PEROKSİNİTRİT(ONOO ⁻) | THİYL RADİKALLER |
| AZOT DİOKSİD(NO ₂ ⁺) | OZON(O ₃) | |
| | LİPİT HİDROPEROKSİT(LOOH) | |

2.6 İR HASARINDA KORUYUCU MEKANİZMALAR-ANTIOKSİDANLAR

Vücutta normal metabolik aktiviteler devam ederken serbest radikaller sürekli oluşur ve bunlar endojen antioksidanlar tarafından etkisizleştirilirler. Oksidan moleküller belirli bir seviyede bulunduğu sürece savunma mekanizması olarak görev yaparlar. Belirli düzeyin üzerine çıktıkları zaman ise veya antioksidan mekanizma yetersiz kaldığında serbest radikal molekülleri lipit, protein, karbonhidrat, nükleik asit ve enzimleri bozarak zarar vermeye başlarlar(Akgür FM ve ark 1996).

Serbest radikallerin ortadan kaldırılması özellikle enzimatik mekanizmalar ile olur. Oksijen radikalleri ve Hidrojen Peroksiti temizleyen özel enzimler antioksidan mekanizmaları oluşturur. Süperoksit Dismutaz(SOD), Katalaz(KAT) ve Glutatyon Peroksidaz(GPx) endojen antioksidan mekanizma enzimleridir(Gilgun-Sherki Y ve ark 2002)

SOD serbest radikallere karşı ilk savunmayı gerçekleştirir. O₂⁻ radikalini metabolize edip hidroksil radikalinin oluşumunu engeller. O₂⁻ radikalini hidrojen peroksite ve moleküler O₂ ye çevirir. Su olan ortamda hızlı bir şekilde dismutasyonla O₂ ve H₂O₂ oluşturur. Oksidatif stres artınca ve dokuda oksijen basıncı artınca SOD enzim aktivasyonu artar. H₂O₂ çok daha reaktif olan OH⁻ radikali oluşturabilir, buna karşı KAT ve GPx enzimleri koruma sağlar.

Katalaz tüm hücrelerde bulunur ve içerisinde bir hemoprotein vardır. H_2O_2 'nın hızla oluştuğu ortamlarda iki adet H_2O_2 'yi suya dönüştürerek ortamdan ayırır(Shah PC ve ark 1999).

Glutasyon Peroksidaz; serbest radikallerin detoksifiye edilmesini sağlayan ve lipit peroksidasyonunu önleyen en önemli mekanizmadır. Hücre içi Glutasyon olarak bulunan en güçlü tiyol bileşiği Glutasyon Peroksidaz'dır. GPx H_2O_2 yi Glutasyon ile ayırarak suya dönüştürür Glutasyon da okside Glutasyon'a dönüşür. Bu enzim aktivasyonu için sitoplazmik bir enzim olan Selenyum gereklidir. Okside Glutasyon'un indirgenmiş Glutasyon'a dönüşmesi için gerekli NADPH ı Glutasyon Redüktaz(GR) sağlar.

Mitokondrial Sitokrom Oksidaz ise süperoksidi detoksifiye eder ve sonuçta enerji üretimi olur süperoksit üretimi bu enzim kapasitesini aşıp detoksifiye edilemeyince diğer antioksidan mekanizmalar devreye girer(Gilgun-Sherki Y ve ark 2002).

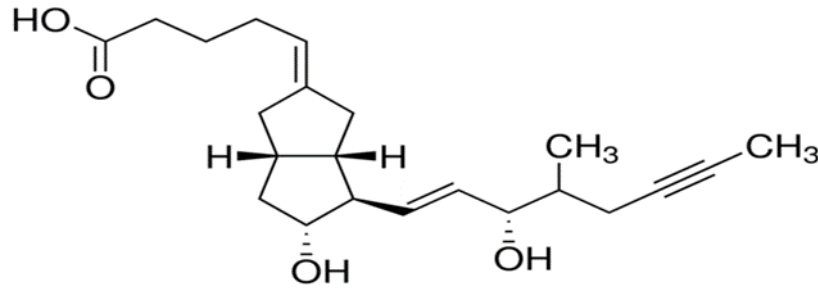
Bunların dışında enzim formunda olmayan antioksidanlar da mevcuttur ; α -Tokoferol ve β -karoten gibi lipit fazda bulunanlar ve Askorbik Asit, Sistein, Ürat, Seruloplazmin, Transferin, Myoglobin, Laktoferrin, Hemoglobin, Ferritin, Metionin, Bilirubin, Albümin, Glutasyon gibi sıvı fazda olanlar mevcuttur.

2.7 İLOPROST

İloprost stabil bir PGI₂ analogudur ve PGI₂'ye çok yakın farmakokinetik özellikler göstermektedir. İloprostun PGI₂'den farklı olan yapısal özelliği onaltıncı karbon atomunda metil grubunun olması, 18/19 pozisyonlarında üçlü bağ olması ve enol oksijenin yerinde methene grubunun bulunmasıdır (Grant SM ve ark 1992). İskemi-reperfüzyon hasarında önemli olduğu düşünülen vazoaaktif fonksiyonları mevcuttur. Daha önce yapılan demostratif çalışmalarda farklı organlarda iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (E. Schillinger ve ark 1987- Lance DD ve Brenner BM 1996). Yarılanma ömrü yaklaşık 20-30 dakikadır. Oda ısısında stabildir ve ışıktan etkilenmemektedir. İloprostun metabolitleri ile birlikte total klirensi 20-24 ml/dk/kg'dır, yani iloprost belirgin olarak ekstrahepatik bir biyoformasyonua sahiptir (Krause W ve Kraus T 1986). İloprost vazodilatasyon yapar, lökosit aktivasyonunu ve adhezyonunu inhibe eder (lökosit/damar duvarı etkileşimini inhibe

eder) bununla birlikte trombosit agregasyonunu ve aktivasyonunu sağlar ve ayrıca aktive olan trombositlerden Serotonin ve Tromboksan salınımını inhibe eder (Belch JJ. 1987, Stürzebecher CS 1987). Endotelyal hücre geçirgenliğini azaltır, TNF- α yı inhibe eder, Lökotrienlerin ve “Endothelium-derived Constricting Factor” ün (EDCF) vazospastik etkilerini inhibe eder(Dormandy J. 1989). İloprost periferik vasküler hastalıklarda, kronik göğüs iskemik ağrısında kullanılmaktadır. Vasküler dokularda NO Sentaz’ı arttırarak etki eder(Mısırlıoğlu G ve ark 2015).

İloprost tek başına veya kombinasyonlar şeklinde kemirgenler üzerinde iskelet kası iskemi-reperfüzyonu modelinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (Avcı T ve ark 2014). İloprost iskemi-reperfüzyona bağlı kas ve uzak organ hasarını azaltır(E. Schillinger ve ark 1987- Lance DD ve Brenner BM 1996).



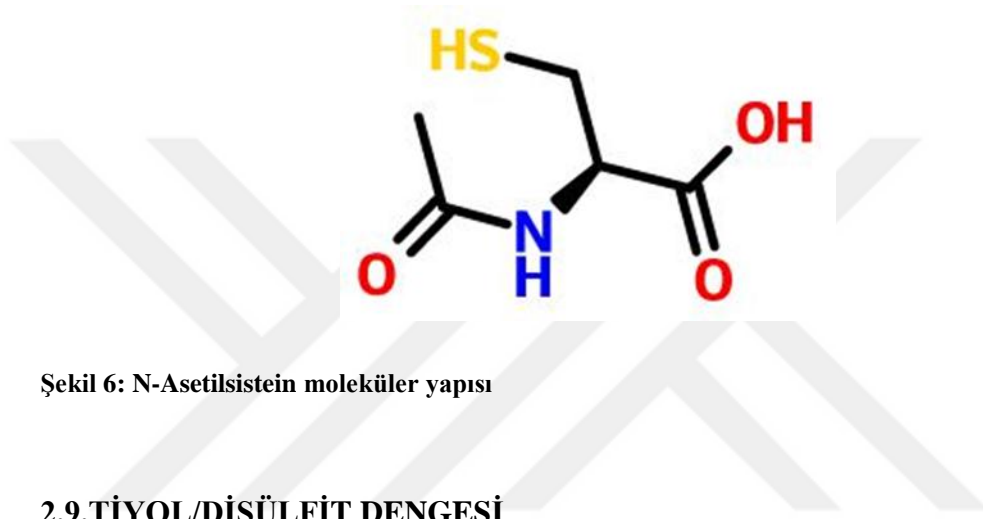
Şekil 5:İloprost moleküler yapısı(40)

2.8 N-ASETİLSİSTEİN(NAC)

N-Asetilsistein intrasellüler glutatyon (GSH) prekürsörüdür ve Karaciğerde Glutatyon S-Transferaz aktivitesini arttırır. Bu aktivite ajanın anti-oksidan, antikarsinojenik ve anti-mutajenik etkilerinin temelidir. NAC’ın bakteriyel test sistemleri üzerindeki antimutajenik etkisi gösterilmiştir (Slusser SO 1990). Bu ajanın mukolitik ve anti-oksidan etkileri uzun süredir bilinmektedir. Asetaminofen zehirlenmesi sonrası karaciğer hasarının ve radyografik kontrast maddelerinin üriner sistem üzerindeki zararlı etkisinin önlenmesi amacıyla uzun süredir kullanılmaktadır (Congreave IA 1997, Tepel M. ve ark 2006). Yapılmış olan klinik çalışmalarda son derece güvenilir bir ilaç olduğu gösterilmiştir (Bailey B ve McGuigan MA 1998). Non-enzimatik endojen antioksidanların önemlilerinden biri GSH’dır (Avi A, ve ark 2001). NAC’ın

SOR tarafından oluşturulan doku hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu etkisini GSH düzeyini arttırarak, direkt ortadan kaldıran etki göstererek veya stabil nitrozotil türevleri oluşturarak gerçekleştiği bildirilmektedir (Conesa LE ve ark 2001, Abbasoğlu SD ve ark 2004).

Bu etkilerinden dolayı NAC'ın da tek başına veya kombinasyonlar şeklinde ratlar üzerinde kalp veya karaciğerde iskemi-reperfüzyon modeli çalışmalarında faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (Abbasoğlu SD ve ark 2004- Bartekova M ve ark 2017).

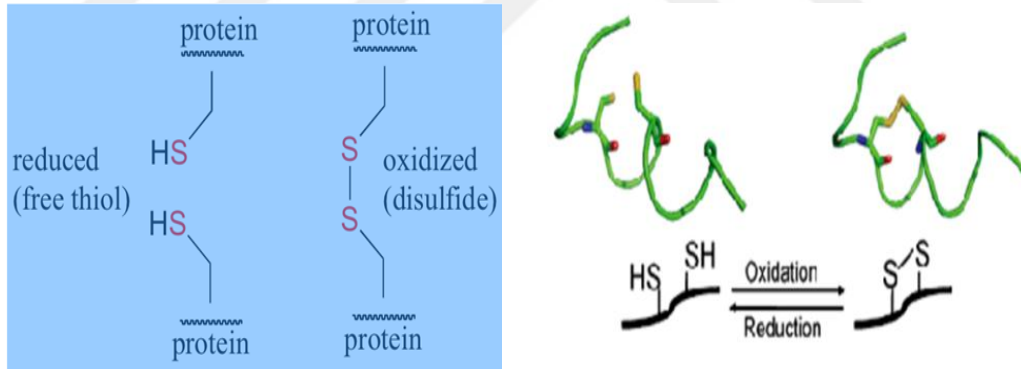


Şekil 6: N-Asetilsistein moleküler yapısı

2.9.TİYOL/DİSÜLFİT DENGESİ

Tiyoller(-SH) karbon atomuna bağlı sülfür ve hidrojen atomundan oluşan sülfidril grubu içeren merkaptanlar olarak bilinen organik bileşiklerdir(Sen CK ve Packer L 2000). Plazma tiyollerinin esas kısmını albümin ve proteinler oluşturur. Bununla birlikte Sistein, Sisteinglisin, Glutasyon, Homosistein ve γ -glutamilsistein tiyolleri de bulunmaktadır(Turell L ve ark 2013). Bunlar oksidanlar tarafından okside edilirken tiyol grupları oksitlenerek reversible disülfidit bağlarına dönüşürler (Cremers CM ve Jakob U 2013). Bu dönüşüm radikaller ile protein oksidasyonunun en erken belirtisidir. Disülfidit bağı SS-bağı ya da disülfidit köprüsü diye adlandırılan kovalent bağlardır. Disülfidit bağları tekrar tiyol gruplarına redükte olabilirler ve buna *tiyol-disülfidit dengesi* denir(Jones DP ve Liang Y 2009). Tiyol disülfidit dengesinin protein yapılarının stabilizasyonu ve fonksiyonlarının düzenlenmesi, enzim fonksiyonlarının regülasyonu, antioksidan mekanizma, detoksifikasyon, apoptozis, taşıyıcıların çalışması, Na-K kanalı çalışma mekanizması, transkripsiyon gibi birçok mekanizmada rolü vardır (Biswas S ve ark 2005, Circu ML ve AwTY 2010). Tiyol disülfidit

dengesinin etkili olduğu ve anormal tiyol/disulfid dengelerinin gösterildiği birçok hastalık mevcuttur. Bunlardan bazıları; Diyabet, Kardiovaskuler hastalıklar, kanser, Romatoid Artrit, kronik böbrek hastalığı, AIDS, Alzheimer, Multiple Sklerozis, Friedreich Ataksisi, ve bazı karaciğer hastalıklarıdır (Erel.O ve Neselioglu.S 2014). Günümüze kadar dinamik plazma tiyol/disulfid dengesini kolorimetrik olarak ölçen bir yöntem yoktur (Winther JR, 2014). Tiyol disulfid dengesinin değerlendirilmesi açısından 1979 da Ellman'ın -SH gruplarını DTNB (5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoik asit) kullanarak ölçen bir yöntem geliştirmesinin dışında bu alanda kayda değer bir kolorimetrik ölçüm yöntemi geliştirilememiştir. Erel & Neşelioğlu'nun geliştirdiği yeni yöntemle her iki değişken düzeyi de ayrı ayrı ve toplamsal olarak ölçülebilmekte ve hem bireysel hem de bütünsel olarak değerlendirilebilmektedir. Bu ölçüm yöntemi; Native Tiyol [-SH], Dinamik Disulfid [-S-S-], toplam Tiyol [(-SH)+(-S-S-)] düzeylerinin saptanmasına ve dinamik Tiyol/Disulfid “-SH/-S-S” homeostazisinin değerlendirilmesine imkan sağlar (Erel.O ve Neselioglu.S 2014).



Şekil 7: Tiyol ve Disulfidlerin Oksidasyon ve Redüksiyonları (Eryilmaz, O. ve ark 2016)

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 05/09/2018 tarih ve 24 sayılı karar ile etik kurul uygunluk onayı alınmıştır. Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2019-7-25-136 kod numarası ile desteklenmeye uygun bulunmuştur.

3.1 DENEK HAYVAN SEÇİMİ

Ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen 30 adet karışık cinsiyette Sprague Dowley rat her birinde 6'şar denek olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Ratlar araştırma başlangıcına kadar 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık ortamda, sirkadiyen ritimde barındırılarak ortama adaptasyonları sağlandı. Deneklere ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortamda bakıldı. Standart sıçan gıdası (pellet yemi) ve su alan hayvanlara su ve yem kısıtlaması uygulanmadı.

3.2 ANESTEZİ UYGULAMASI ve CERRAHİ İŞLEM

Anestezi verilmeden önce ağırlıkları ölçülen ratların batin ön yüzü cerrahi insizyondan önce makine ile tıraş edildi(Resim 1). Tüm ratlara 50 mg/kg Ketamin (Ketasol %10 enjeksiyonluk çözelti (Richterpharma ag, Wels, Austria) intraperitoneal, 10 mg/kg Ksilazin (Xylazinbio %2, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) intraperitoneal uygulanarak anestezileri sağlandı. Isı kaybının engellenmesi ve hipotermiden kaçınılması amacıyla ısıtıcı masa kullanıldı. Anestezi idamesi aralıklı olarak intraperitoneal Ketamin enjeksiyonu ile sağlandı.



Resim 1:Ratların traşlanması ve kuyruktan işaretlenmesi

3.3 DENEK HAYVAN GRUPLARI

Ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 30 adet karışık cinsiyette Sprague Dowley rat her birinde 6'şar denek olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Grup I (Sham grubu): Ketamin ksilazin verilerek batın traşı yapıldıktan sonra povidon iyodür ile boyanan ratlarda median kesi (Resim 2) laparotomi yapıldı ve iskemi reperfüzyon uygulanmadı. Sakrifiye edildiler barsak rezeksiyonu ve portal venden kan alındı.

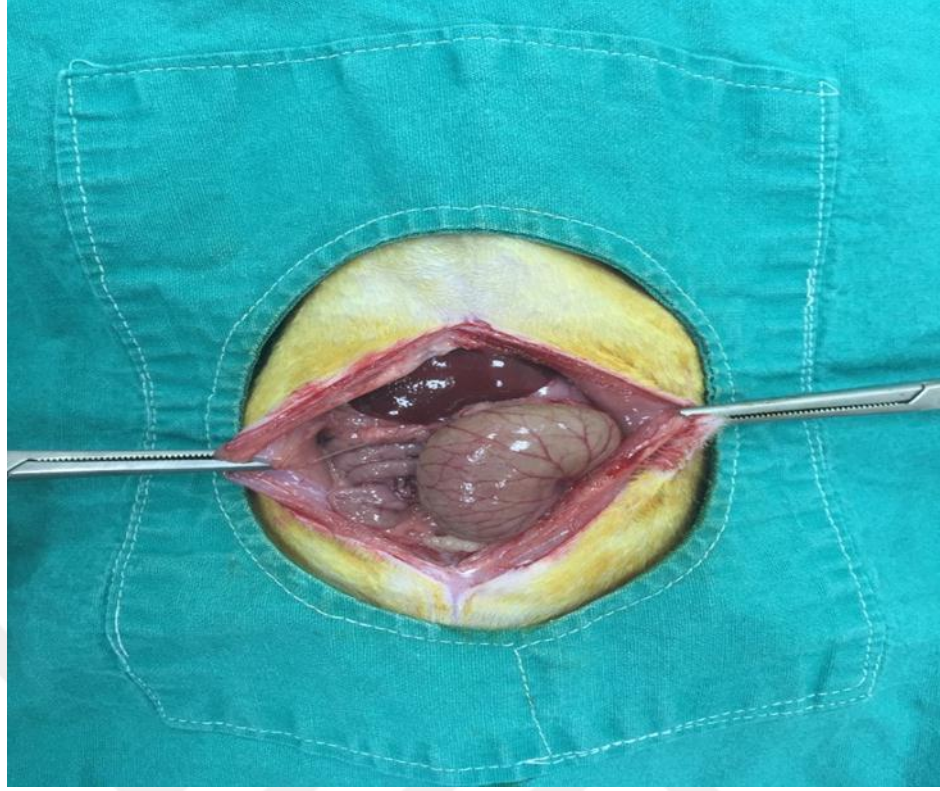
Grup II (kontrol grubu): Ketamin ksilazin verilerek supin pozisyonda batın traşı yapıp povidon iyodür ile boyanan ratlarda median insizyon ile batına girildi ve KMA diseke edilip klemp yardımıyla iskemi gerçekleştirildi (Resim 3). İnsizyon cilt stapleri ile kapatılıp 45 dakika iskemide bırakıldıktan sonra tekrar batına girilerek klemp açıldı ve cilt tekrar cilt stapleri ile kapatılarak(Resim 4)ince barsaklar 120 dakika reperfüzyona bırakıldı. 120 dakikanın sonunda batına tekrar girilerek denekler sakrifiye edildiler. İleum rezeksiyonu yapıldı ve portal venden kan alındı.

Grup III (İİR+İL grubu): Ketamin ksilazin verilerek supin pozisyonda batın traşı yapıp povidon iyodür ile boyanan ratlarda median insizyon ile batına girildi ve KMA diseke edilip klemp yardımıyla iskemi gerçekleştirildi. İnsizyon cilt stapleri ile kapatıldı. Reperfüzyondan yarım saat önce 2mcg/kg İloprost İP olarak verildi ve 45

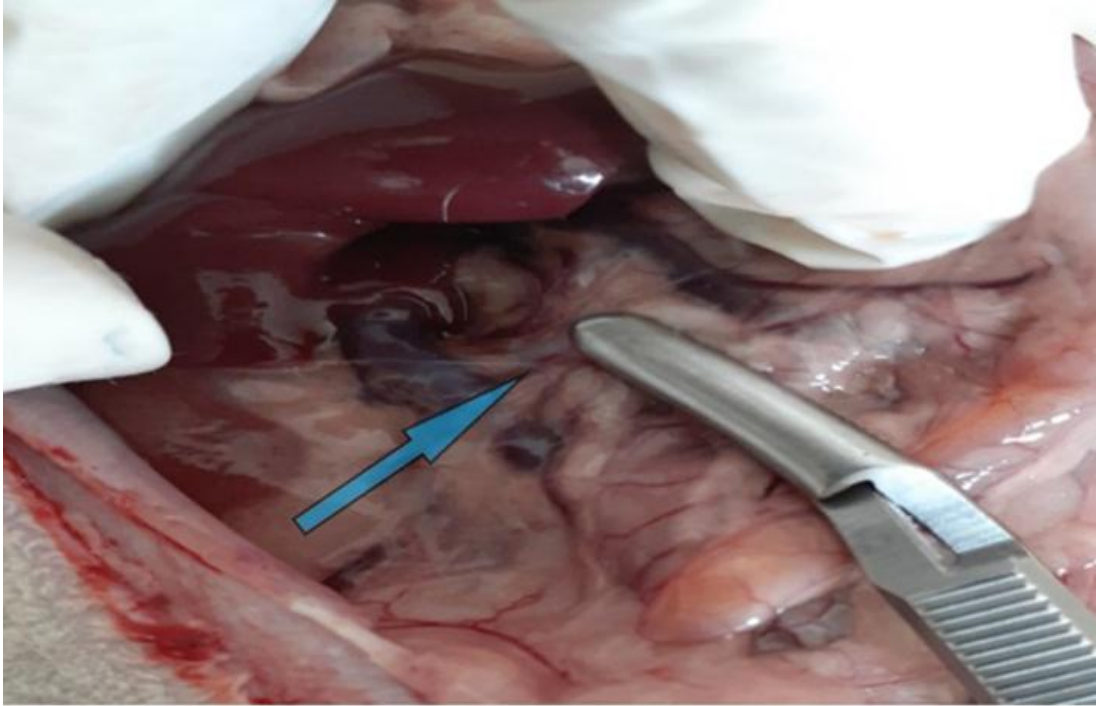
dakikalık iskemi süresi tamamlanınca batın açıldı ve klemp açılarak reperfüzyon sağlandı, insizyon cilt stapleri ile kapatılıp 120 dakika ince barsak reperfüzyonu yapıldı ve 120 dakika sonra batın tekrar açılarak denekler sakrifiye edilip ileum rezeksiyonu yapıldı ve portal venden kan alındı.

Grup IV (İİR+NAC grubu): Ketamin ksilazin verilerek supin pozisyonda batın traşı yapıp povidon iyodür ile boyanan ratlarda median insizyon ile batına girildi ve KMA diseke edilip klemp yardımıyla iskemi gerçekleştirildi. İnsizyon cilt stapleri ile kapatıldı. Reperfüzyondan yarım saat önce Asetilsistein 300 mg/kg İ.P. olarak verildi ve 45 dakikalık iskemi süresi tamamlanınca batın açıldı. Klemp açılarak reperfüzyon sağlandı, insizyon cilt stapleri ile kapatılıp 120 dakika ince barsak reperfüzyonu yapıldı ve 120 dakika sonra batın tekrar açılarak denekler sakrifiye edilip ileum rezeksiyonu yapıldı ve portal venden kan alındı.

Grup V (İİR+NAC+İL grubu): Ketamin ksilazin verilerek supin pozisyonda batın traşı yapıp povidon iyodür ile boyanan ratlarda median insizyon ile batına girildi ve KMA diseke edilip klemp yardımıyla iskemi gerçekleştirildi. İnsizyon cilt stapleri ile kapatıldı. Reperfüzyondan yarım saat önce 2mcg/kg İloprost İ.P ve Asetilsistein 300 mg/kg İ.P olarak verildi ve 45 dakikalık iskemi süresi tamamlanınca batın açıldı. Klemp açılarak reperfüzyon sağlandı, insizyon cilt stapleri ile kapatılıp 120 dakika ince barsak reperfüzyonu yapıldı ve 120 dakika sonra batın tekrar açılarak denekler sakrifiye edilip ileum rezeksiyonu yapıldı ve portal venden kan alındı.



Resim2:Batın orta hat açılması



Resim 3:Kranial mesenter arterin klemlenmesi



Resim 4:KMA kleplendikten sonra ve reperfüzyon sırasında cerrahi alan stapler ile kapatılması

3.4 ÖRNEKLERİN ALINMASI

Çalışma ilacı uygulaması bittikten sonra anestezi altındaki ratlardan terminal ileumun distalinden proksimale doğru 5 cm ileum çıkartıldı. Çıkartılan ileum dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formaldehit içerisinde saklandı. Alınan kan numuneleri sarı kapaklı jelli (biyokimya) tüplerine alındı. Pıhtılaşma süresi beklendikten sonra (30'), soğutmalı santrifüj işlemine tabi tutuldu (4000rpm 10 dakika). Elde edilen serumlar -80°C de kapaklı eppendorf (isolab centrifuge tubes 2.0 ml, flat cap-without skirt) tüplerde çalışma gününe kadar saklandı.

3.5 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Histopatolojik inceleme için ayrılan dokular %10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD (Anabilim Dalı)'ye gönderildi. Piyesler 24 saat %10'luk Formalin solüsyonunda tespit için bekletildi. Tespit yapıldıktan sonra her bir rezeksiyon materyalinden 1 cm kesit alınıp kurutma kağıdına yatırılarak doku takibine alındı. Rutin doku işlemlerinden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan beş mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen Eozin(H&E) ile boyandı. Tüm preparatlar çalışma gruplarının dizaynı kendisine bildirilmemiş olan aynı patoloji uzmanı tarafından, Chiu ve ark (1970) tarafından yapılan Chiu Skorlaması'na uygun olarak ışık mikroskopunda (Nicon Eclipse-Ni Y-THPL made in japan) incelendi. *Tablo 2'*de bu sınıflama gösterilmiştir. Görüntüler yüksek çözünürlüğe sahip kamera yardımıyla bilgisayara aktarıldı. Bütün incelenecek olan kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

Tablo 2: Chiu Skorlaması

| EVRE | BULGU |
|------|--|
| 0 | Normal mukozal villus |
| 1 | Kapiller konjesyonla birlikte villus üst ucunda subepiteliyal ayrılmalar |
| 2 | Subepiteliyal ayrılmaların mukoza epitelini yukarı doğru ittiği orta yoğunluktaki görünüm |
| 3 | Subepiteliyal ayrılmaların büyük oranda gözlenmesi, villus boyunca mukozal epitelin yoğun olarak yukarı doğru itildiği villus uçlarında deformasyonlar |
| 4 | Dilate kapillerlerle birlikte lamina propriaya dek ulaşan villus deformasyonu |
| 5 | Lamina proprianın ülserasyonu, bütünlüğünün bozulması ve hemoraji |

3.6 BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

3.6.1. Tiyoldisülfid Dengesi Ölçümleri

Serumlardaki Total Tiyol ($\mu\text{mol/L}$) ve Native Tiyol ($\mu\text{mol/L}$) ölçümleri yapılarak, tiyollerin bütüncül ölçümleri yapıldı ve buradan hareketle bir oksidatif marker olan

Tiyol/Disülfid (DS) dengesi tespit edildi. Sarı kapaklı jelli tüplere alınan numuneler soğuk zincire uyularak transfer edilip, 30 dakika bekletildikten sonra santrifüj işlemine tabi tutuldu (soğutmalı, 4000rpm 10 dakika). Rel Assay Diagnostics marka kitlerde araştırma test parametreleri çalışıldı. Total Tiyol(TT) ve Native Tiyol(NT) Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda, tam otomatik otoanalizörde (Beckman Coulter, chemistry analyser AU 680, serial number: 2016024580, MishIMA K.K, Made in Japan) çalışıldı. Buradan yola çıkılarak Total Tiyol, Native Tiyol, disulfit ($\mu\text{mol /L}$) seviyeleri; disülfid/native tiyol, disülfid/total tiyol, native tiyol/total tiyol oranlarına ve oksidasyon redüksiyon oranlarına ulaşıldı.

3.7 İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışma 30 deney hayvanı üzerinden gerçekleştirilmiştir. Veriler IBM SPSS (Statistical Package for the Social Science) Statistics 22 (2013) programına aktarılarak yapılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma) verilmiştir. İki'den fazla gruba sahip kategorik değişkenler arasındaki farkın incelenmesinde "tek yönlü varyans analizi" (ANOVA) ile test edilmiştir. Analiz sonucunda öncelikle varyans homojenliği için Levene testi yapıldı , ardından farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığı "çoklu karşılaştırma testi" (Tukey ya da Tamhane's T2) ile kontrol edildi. Varyans homojenliğini sağlayan değişkenlerde gruplar arasındaki fark incelemesi için Tukey, varyans homojenliğini sağlamayan değişkenlerde gruplar arasında fark incelemesi için Tamhane's T2 testine bakıldı. İki sayısal değişken arasındaki ilişkinin incelenmesinde ise pearson korelasyon analizinden yararlanıldı ve sonuçlar tablolar halinde verilmiştir.

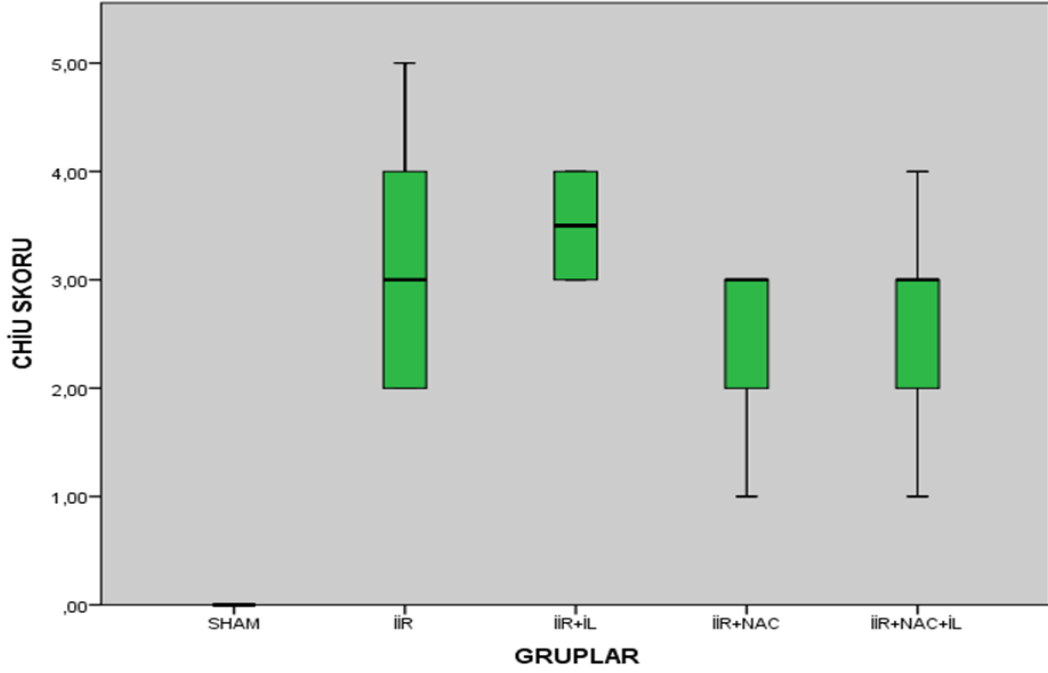
4.BULGULAR

4.1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Çalışmaya dahil edilmiş olan tüm denekler çalışmayı tamamladı. Grupların Chiu skorları karşılaştırıldığında; Sham grubu skorlarının İİR(3.16±1.16), İİR+İL(3.50±0.54), İİR+NAC(2.50±0.83), İİR+NAC+İL(2.66±1.03) skorlarına göre belirgin düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.012$ $p=0.000$, $p=0.007$, $p=0.014$) İİR skorlarının İİR+İL e göre düşük İİR+NAC ve İİR+NAC+İL gruplarına göre yüksek olduğu belirlenmiştir ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p>0.05$). Sonuçlar *Tablo 3* ve *şekil 8*'de gösterilmiştir.

Tablo 3: Rat gruplarındaki denek ince barsak patolojilerinin Chiu Skoru'na göre dağılımı

| GRUPLAR | EVRE 0 | EVRE 1 | EVRE 2 | EVRE 3 | EVRE 4 | EVRE 5 | TOPLAM | ORTALAMA | SS |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|---------|
| SHAM | 6 | | | | | | 6 | ,0000 | ,00000 |
| İİR | | | 2 | 2 | 1 | 1 | 6 | 3,1667 | 1,16905 |
| İİR+İL | | | | 3 | 3 | | 6 | 3,5000 | ,54772 |
| İİR+NAC | | 1 | 1 | 4 | | | 6 | 2,5000 | ,83666 |
| İİR+NAC+İL | | 1 | 1 | 3 | 1 | | 6 | 2,6667 | 1,03280 |

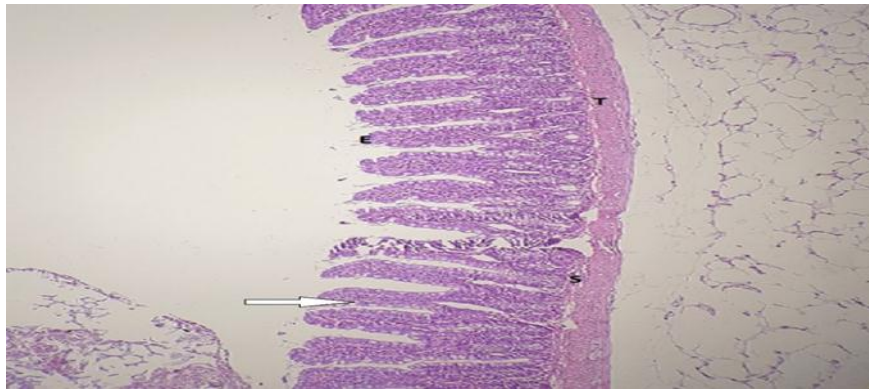


Şekil 8:İnce barsak dokusunun Chiu Skoru ile histopatolojik değerlendirilmesi

*Sham grubu ile İİR, İİR+İL, İİR+NAC ve İİR+NAC+İL grupları karşılaştırıldığında ($p<0.05$)

** Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır($p>0.05$)

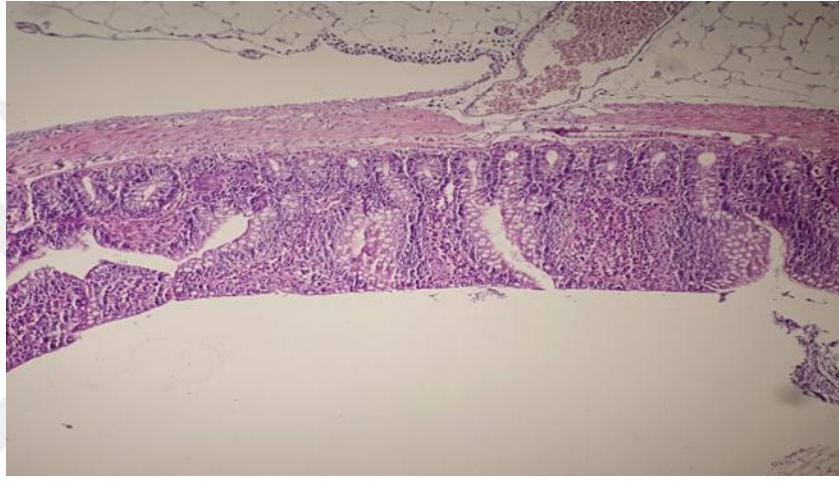
Sham grubundaki deneklerin ince barsak kesitlerinin mikroskopik incelenmesi sonucu, bütün deneklerde doku bütünlüğü normal bulundu, lamina propriyada morfolojik değişiklikler yoktu, ayrıca ülserasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, kapiller permeabilite artışı ve hemorajiye rastlanmadı(Resim 5).



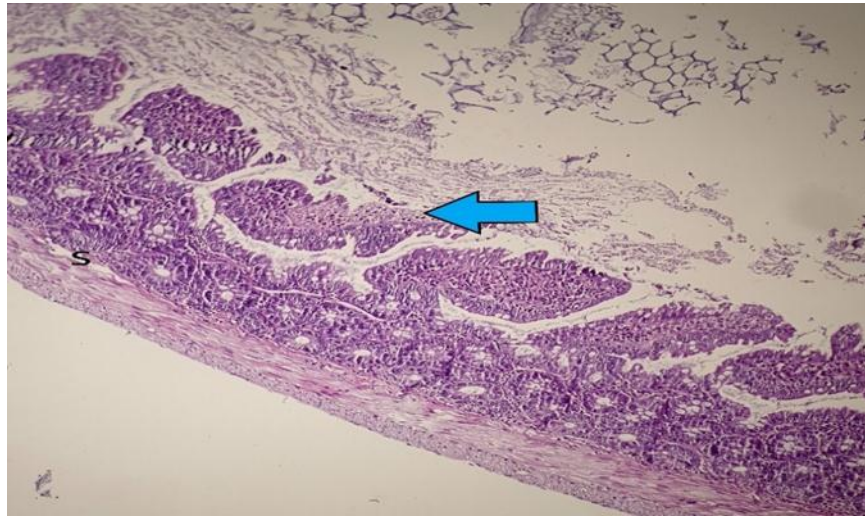
Resim 5: Sham grubu mikroskopik görüntüleri(Evre 0).

- ❖ Normal ince barsak mukozası.(E) epitel tabakasını, (→) goblet hücrelerini, (S) submukoza tabakasını, (T) tunika muskularisi göstermektedir. H&E boyama.

İİR grubunda iki denekte Evre 2 (Resim 6), iki denekte Evre 3, bir denekte Evre 4, bir denekte de Evre 5 patoloji sonucu olduğu görüldü. Subepitelyal ayrılmalar orta ve büyük oranda gözlemlendi (Evre 2,3), villus boyunca mukozal epitelin yoğun olarak yukarı doğru itildiği villus uçlarında deformasyonlar görüldü(Evre 3)(Resim 7). Dilate kapillerlerle birlikte lamina propriyaya dek ulaşan ve bir denekte lamina propriadabütünlüğün bozulması ile birlikte görülen villus deformasyonu görüldü(evre 4-5).

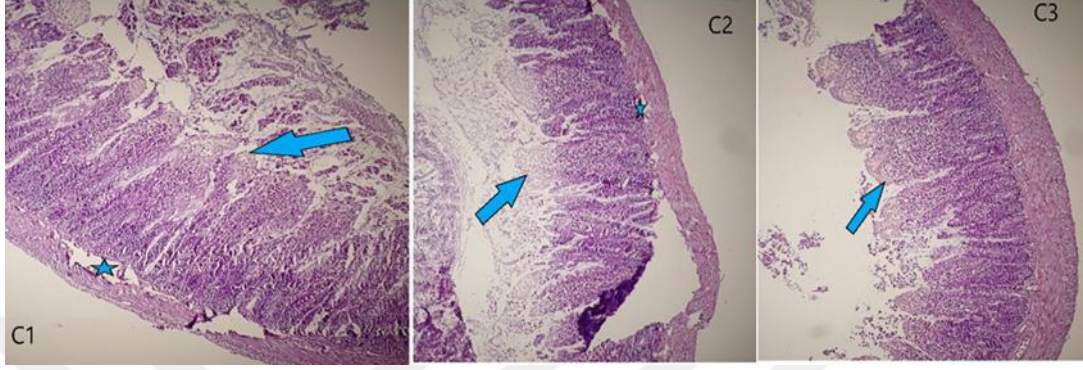


Resim 6: Chiu skorü Evre 2 mikroskopik görüntü. Subepitelyal ayrılmalar. Villus deformasyonu mevcut değil. H&E boyama.



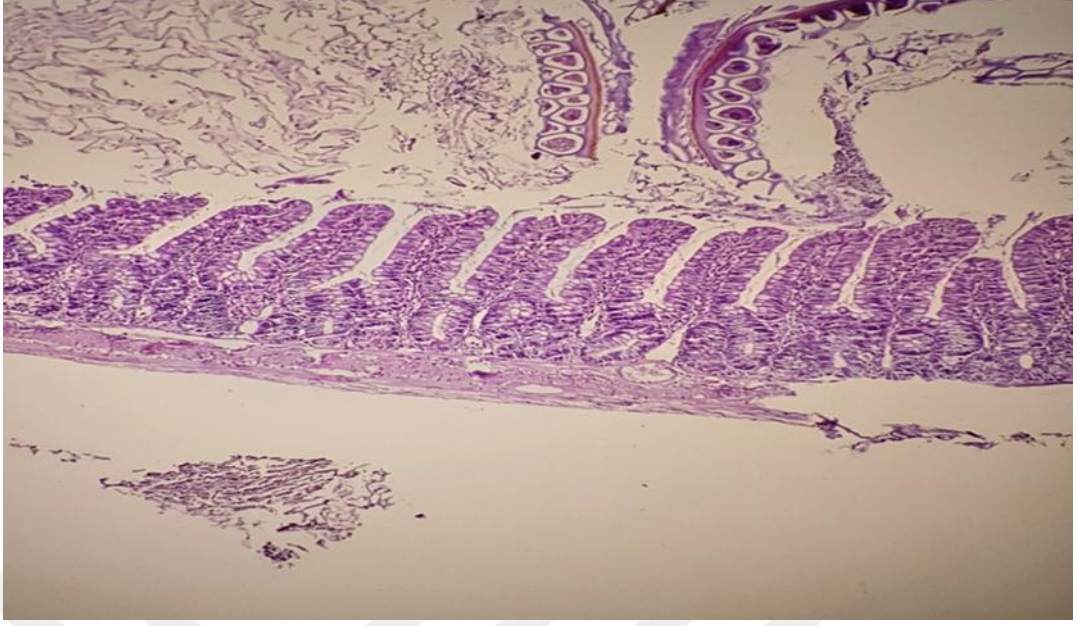
Resim 7:Chiu skorü Evre 3 patoloji görüntüsü. Villuslarda deformasyonlar(←), submukoza(s). Subepitelyal ayrılmalar H&E boyama.

İİR+İL grubunda ise sadece Evre 3 ve 4 (Resim 8) patolojilere rastlandı. İloprost verilen bu grupta Chiu skor ortalaması sadece İİR yapılan gruba göre daha yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).



Resim 8:İİR+İL grubundaki Chiu skoru Evre 4 denekler. Lamina propriaya dek ulaşan villus deformasyonu(→ ile gösterilen alanlar). Derin subepitelyal ayrılmalar. Submukoza(yıldızla gösterilen alanlar)

İİR+NAC grubundaki deneklerde Evre 1(Resim 9), 2 ve 3 şeklinde histopatolojik sonuçlar mevcut, İİR+NAC grubunun Chiu Skoru ortalaması sadece İİR grubuna ve İİR+İL grubuna göre daha düşük, ancak bu gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı($p>0.05$).



Resim 9:İİR+NAC grubundaki Chiu skoru Evre 1 denek. Villus üst ucunda subepitelyal ayrılmalar mevcut. H&E boyama.

İİR+NAC+İL grubunda,İİR+NAC grubundan farklı olarak bir ratın histopatolojik değerlendirmesinde Evre 4 idi. Bu sebeple grup ortalaması İİR ve İİR+İL gruplarına göre düşük, İİR+NAC grubuna göre yüksektir ve bu değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermemektedir ($p>0.05$). İİR+NAC+İL grubunun ortalaması Sham grubuna göre anlamlı olarak yüksektir($p<0.05$).

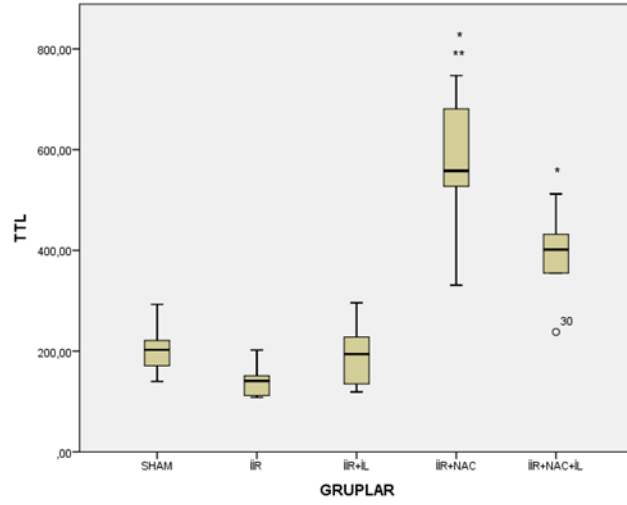
4.2 TİYOL DİSÜLFİT HOMEOSTAZİSİ BULGULARI

Deneyssel çalışmamızdan elde edilen Tiyol/Disülfid dengesi biyokimyasal sonuçları p değerleri ile birlikte *Tablo 4* 'te verilmiştir.

Tablo 4:Tiyol/Disülfid Hemostazı ölçümleri bakımından gruplar arasındaki farklılığın incelenmesi

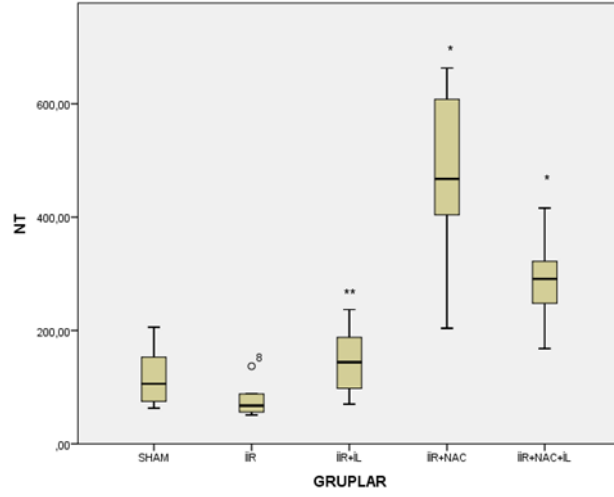
| GRUPLAR | Sham | | İİR | | İİR+İL | | İİR+NAC | | İİR+NAC+İL | | p |
|--|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|------|
| | Ort. | S.S. | Ort. | S.S. | Ort. | S.S. | Ort. | S.S. | Ort. | S.S. | |
| Total Tiyol(TT) | 205,000 | 52,35647 | 142,500 | 34,08665 | 194,333 | 67,21210 | 567,000 | 143,92776 | 390,0 | 91,34769 | ,000 |
| Native Tiyol(NT) | 118,1667 | 53,34573 | 77,8333 | 31,85854 | 146,8333 | 63,13293 | 469,000 | 164,12922 | 289,3333 | 83,08470 | ,000 |
| Disülfid(DS) | 43,4167 | 6,25633 | 32,3333 | 8,26841 | 23,7500 | 4,46934 | 49,0000 | 12,89186 | 50,3333 | 9,04802 | ,000 |
| DS/TT | 22,2449 | 5,80393 | 23,1603 | 5,42179 | 13,2255 | 4,36501 | 9,7009 | 5,35940 | 13,2451 | 2,35838 | ,000 |
| DS/NT | 43,2570 | 18,39852 | 47,1421 | 24,30145 | 18,8623 | 8,95626 | 13,0991 | 9,64806 | 18,2421 | 4,19056 | ,001 |
| NT/TT | 55,5102 | 11,60786 | 53,6795 | 10,84358 | 73,5489 | 8,73003 | 80,5983 | 10,71879 | 73,5097 | 4,71675 | ,000 |
| Redükte Tiyol Oranı | 55,5167 | 11,58886 | 53,7000 | 10,83753 | 73,5500 | 8,75506 | 80,6000 | 10,73182 | 73,5333 | 4,71876 | ,000 |
| Okside Tiyol Oranı | 22,2333 | 5,81435 | 23,1833 | 5,43338 | 13,2167 | 4,36917 | 9,7167 | 5,36150 | 13,2667 | 2,36107 | ,000 |
| Tiyol Oksidasyon Redüksiyon Oranı | 280,4500 | 143,20245 | 251,0167 | 102,30494 | 624,1167 | 258,82285 | 1076,2667 | 565,89430 | 579,0167 | 162,89733 | ,000 |

Yapılan ONE WAY ANOVA testi sonucunda gruplar arasında Total Tiyol, Native Tiyol, Disülfit(DS), NT/TT oranı Disülfit/TT oranı, Disülfit/NT oranı, Redükte Tiyol Oranı, Okside Tiyol Oranı ve Tiyol oksidasyon redüksiyon oranları anlamlı bulunmuştur($p<0,05$). Hangi gruplar arasında anlamlı farklılık oluştuğunu bulmak için öncelikle Levene testi yapıp homojen olan ve olmayan gruplar bulunarak homojen gruplara Tukey Testi, homojen olmayan gruplara ise Tamhane T2 testi yapılmış burdan elde edilen sonuçlar ayrı ayrı verilmiştir.



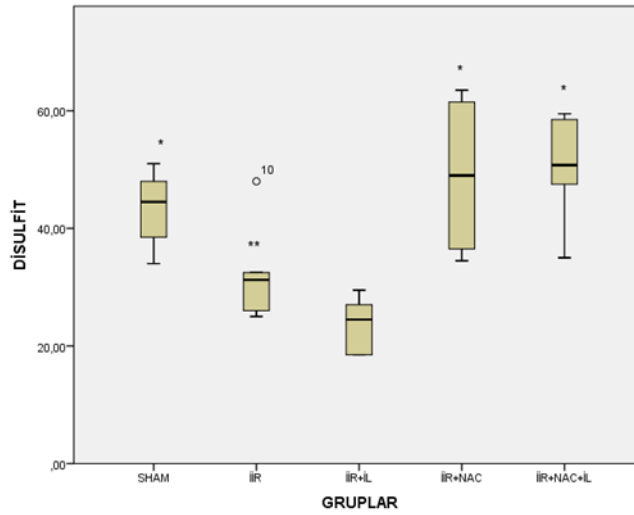
Şekil 9: Total Tiyol Değerleri

Total Tiyol değerleri; İİR($142,50\pm 34,08$) ve İİR+İL($194,33\pm 67,21$) gruplarında Sham($205,00\pm 52,35$) grubuna göre düşük bulunmuş ancak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). * İİR+NAC($567,00\pm 143,92$) ve İİR+NAC+İL($390,0\pm 91,34$) gruplarında diğer gruplara oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). **İİR+NAC grubunun değerleri İİR+İL ve İİR+NAC+İL grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur($p<0,05$).



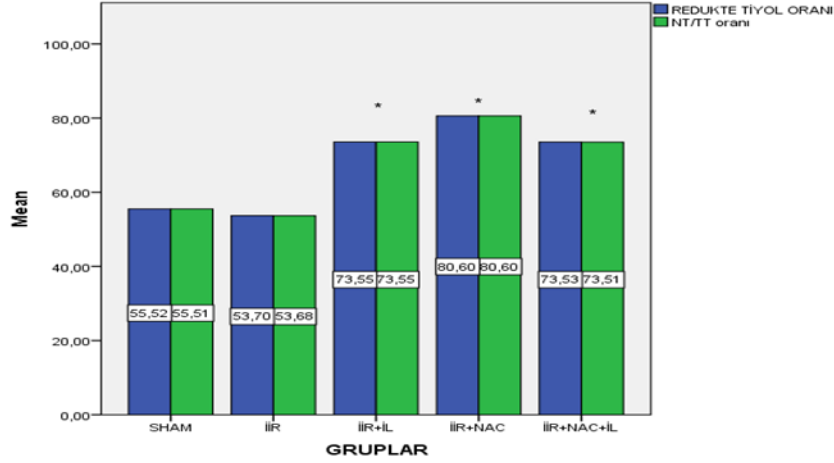
Şekil 10: Native Tiylol Değerleri

Native Tiylol oranları; TT ile benzer şekilde İİR(77,83±31,85) ve İİR+İL(146,83±63,13) gruplarında Sham(118,16±53,34) grubuna göre düşük bulunmuş ancak istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). *İİR+NAC (469,00±164,12) ve İİR+NAC+İL(289,33±83,08) gruplarında Sham(118,16±53,34) ve İİR(77,83±31,85) gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur($p<0,05$), ayrıca **İİR+İL grubu İİR+NAC grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur($p>0,05$).



Şekil 11: Disulfid Değerleri

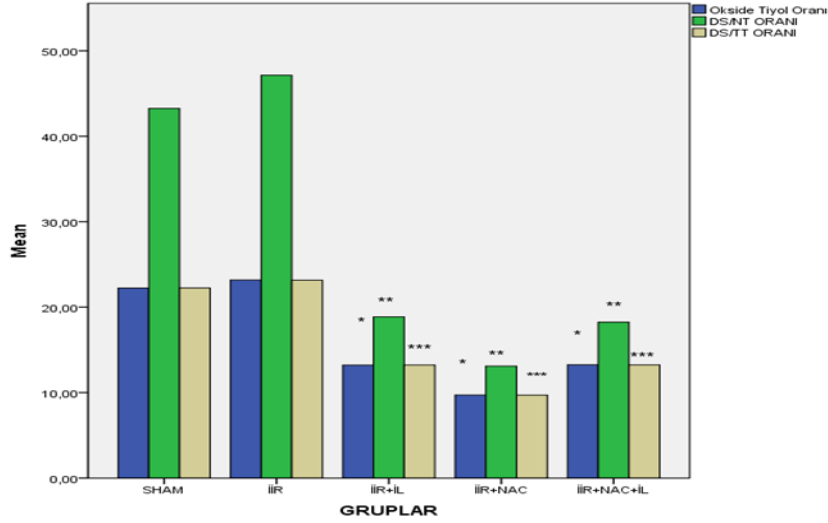
Disülfit değerleri; Sham ($43,41 \pm 6,25$), İİR+NAC($49,00 \pm 12,89$) ve İİR+NAC+İL ($50,33 \pm 9,04$) gruplarında İİR+İL($23,74 \pm 4,46$) grubuna göre anlamlı olarak yüksektir($p < 0,05$), İİR($32,33 \pm 8,26$) grubuna göre de yükseklik mevcut ancak bu yükseklik anlamlı farklılık içermemektedir. İİR+NAC+İL grubunun Disülfit değerleri İİR grubuna göre anlamlı olarak yüksektir.



Şekil 12: Redükte Tiyol Oranları ve NT/TT oranları

Redükte tiyol oranı; İİR+İL ($73,55 \pm 8,75$), İİR+NAC ($80,60 \pm 10,73$), İİR+NAC+İL ($73,53 \pm 4,71$) gruplarında Sham($55,51 \pm 11,58$) ve İİR($53,70 \pm 10,83$) gruplarına oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur($p < 0,05$). İİR+NAC grubunda İİR+NAC+İL ve İİR+İL gruplarına göre daha yüksek orana sahiptir ancak burada istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır($p > 0,05$).

NT/TT oranı İİR+İL ($73,54 \pm 8,73$), İİR+NAC ($80,59 \pm 10,71$), İİR+NAC+İL ($73,50 \pm 4,71$) gruplarında Sham($55,51 \pm 11,60$) ve İİR($53,67 \pm 10,84$) gruplarına oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur($p < 0,05$), İİR+NAC grubunda İİR+NAC+İL ve İİR+İL gruplarına göre daha yüksektir ancak burada istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır($p > 0,05$).



Şekil 13: Okside Tiyol Oranları*, DS/NT Oranları, DS/TT*** Oranları**

*Okside tiyol oranları, **DS/NT oranları, ***DS/TT oranları İİR+İL, İİR+AS ve İİR+AS+İL gruplarında sham ve İİR gruplarına göre düşüktür ve anlamlı farklılık vardır(p<0,05)

Okside Tiyol oranı; İİR+İL (13,21±4,36), İİR+NAC (9,70±5,36), İİR+NAC+İL (13,26±2,36) gruplarında Sham(22,23±5,81) ve İİR(23,18±5,43) gruplarına oranla anlamlı olarak düşük bulunmuştur(p<0,05), İİR+NAC grubunda +İİR+NAC+İL ve İİR+İL gruplarına göre daha düşük orana sahiptir ancak burada istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır(p>0,05).

DS/NT oranı; İİR+NAC (13,09±9,64), İİR+İL (18,86±8,95) ve İİR+NAC+İL (18,24±18,24±4,19) gruplarında İİR (47,14±24,3) grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur(p<0,05), İİR+NAC grubunun sonuçları Sham grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. İİR+NAC grubunda İİR+NAC+İL ve İİR+İL gruplarına göre düşük bulunmuştur ancak istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır(p>0,05)

DS/TT oranı; İİR+İL(13,22±4,36), İİR+NAC(9,70±5,35), İİR+NAC+İL(13,24±2,35) gruplarında Sham(22,24±5,80) ve İİR(23,16±5,42) gruplarına oranla anlamlı olarak düşük bulunmuştur(p<0,05), İİR+NAC grubunda İİR+NAC+İL ve İİR+İL gruplarına göre daha düşüktür ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır(p>0,05).

Tiyol oksidasyon redüksiyon oranı; İİR+NAC+İL(579,01±162,89) grubunda İİR (251,01±102,30) grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur(p<0,05), İİR grubuyla karşılaştırıldığında diğer gruplarda oran daha yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır(p>0,05).

5.TARTIŞMA

Hayvan çalışmalarında 3 saatlik iskemi sonrasında yeniden perfüzyonun sağlandığı durumlarda oluşan doku hasarının, sonrasında yeniden perfüzyonun olmadığı 4 saatlik sadece iskemik hasardan daha fazla olduğu gösterilmiştir (Czyrko C ve ark 1991). Bu bilgiler ışığında İİR hasarının etkilerini araştırmak amacıyla geliştirilen hayvan deney modellerinde farklı iskemi-reperfüzyon süreleri uygulanmış ve oluşan hasarın derecesi araştırılmıştır. Mallick ve ark (2005) ratlar üzerinde 30 dk iskemi sonrası 120 dk reperfüzyon modelini, Arruda ve ark. (2006) ise yine ratlar üzerinde 45 dk iskemi sonrası 120 dk reperfüzyon sürelerini kullanmışlardır. Çalışmamızda literatürde daha sık kullanıldığı belirtilmiş olan 45 dk iskemi sonrası 120 dk reperfüzyon modelini kullandık.

İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak ve organ yetmezliklerini engellemek amacıyla literatürde tarif edilmiş çeşitli yöntemler bulunmaktadır (Eriş O ve ark 2009). İloprost'un iskemik kas-iskelet sistemi hasarında, kalp hastalıklarında, akciğer hastalıklarında ve iskemi reperfüzyon ilişkili spinal kord hasarı varlığında koruyucu etkisi olduğu literatürde çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (A. Caliskan ve ark 2014, M. Sacar ve ark 2005, O. Koksel ve ark 2005, S. F. Katircioğlu ve ark 1996, İ. Tekin ve ark 2009, B. N. Aytacoglu ve ark 2006, N. Yakut ve ark 2008, A. V. Ozcan ve ark 1994) olmasına rağmen intestinal sistemde kullanımı ile ilgili çalışma sayısı oldukça azdır (Abakay U ve ark 2018, Yeğen C ve ark 1994) ve bu çalışmalarda da doğrudan İİR hasarı nadiren değerlendirilmiştir (Yılmaz Y VE Tumkaya L 2019, Çevirme D. ve ark 2018). Abakay U. ve ark.(2018) İİR'ye bağlı akciğer hasarını değerlendirmek için yaptıkları çalışmalarında İloprost dozunu 2 µg/kg olarak belirlemişlerdir. Yeğen C. ve ark.(1994) İloprost ve Verapamil'i İİR modelinde karşılaştırdıkları çalışmalarında İloprost dozunu 25 µg/kg İV olarak belirtmişlerdir. Çalışmamızda reperfüzyondan yarım saat önce İP olarak uygulanacak İloprost dozunu 2 µg/kg olarak belirledik.

Abakay U. ve Ark.(2018)'in İİR'de 2 µg/kg İP İloprost ile Pentoxyfilin uygulamasını karşılaştırdıkları çalışmalarında; Pentoxyfilin verilen grubun Chiu Skor değerlendirilmesi İloprost grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. İloprost verilen grubun Chiu skoru İİR grubunun Chiu skoru sonuçlarına göre daha düşük bulunmuş, ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Çalışmamızda; sadece İloprost grubu'nun Chiu skoru İİR grubuna göre de NAC verilen gruplara göre de yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

N-Asetilsistein; bronkopulmoner hastalıklarda ve bronşial sekresyon bozukluklarında uzun yıllardır klinik kullanımı olan bir bileşiktir (N. S. Dhalla ve ark 2000, U. M. Fischer ve ark 2003). Literatürde iskemi reperfüzyon hasarında NAC kullanımının etkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur (Ayvaz S ve ark 2009, Hazinedaroglu SM ve ark 2004) ve bu çalışmalarda NAC kullanımının intestinal sistemde iskemi reperfüzyon hasarının engellenmesinde olumlu sonuçları olduğu belirtilmiştir (Abbasoğlu SD ve ark 2004). Ayvaz S. ve Ark. (2009)'ın yaptığı İİR modeli çalışmalarında; NAC verilen grubun Chiu skoru sadece İİR grubununkine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca Tiryakioğlu O. ve Ark.(2015) yaptığı iskelet kası iskemi reperfüzyon modeli çalışmalarında; İloprost ve NAC karşılaştırılmış ve İİR' de kas dokusunun korunmasında İloprost ve N-asetilsisteinin her ikisinin de koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Literatürde bu iki ilacın birlikte kullanıldığı tavşanda spinal iskemi reperfüzyon modeli çalışma mevcuttur (Boga M ve ark 2006) ve bu çalışmada ilaç kombinasyonunun spinal kordu iskemik hasardan koruyucu etkisi olabileceği belirtilmiştir. Bu iki ilacın intestinal iskemi reperfüzyon üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır ev bu açıdan bakıldığında çalışmamız bu alandaki ilk literatür verilerini sağlamaktadır.

Çalışmamızda; N-Asetilsistein verilen gruplarda daha iyi, İloprost verilen gruplarda N-Asetilsistein verilen gruplara göre daha kötü histopatolojik sonuçlar ile karşılaşmamız literatürdeki NAC'ın İİR önlenmesinde etkili bir ilaç olabileceği görüşünü desteklemektedir. İloprostun İİR hasarından koruyucu etkisinin histopatolojik sonuçlarda görülmemesi ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa da birlikte kullanılmalarının NAC'ın İİR'den koruyucu etkisini azalttığı sonucunun yeni bir bilgi olduğunu ve başka çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz. Çalışmamızda ayrıca İİR'de etkilerini araştırdığımız maddelerin gruplardaki antioksidan koruyucu mekanizma üzerindeki etkisini gözlemlemek için Tiyol/Disülfid dengesini de araştırdık. Tiyol/Disülfid dengesi; özellikle son yıllarda yapılan pek çok araştırmada, yeni bir oksidatif stres belirteci olarak karşımıza çıkmaktadır (Sari M. ve Ark 2019, Kayacan Y. ve Ark. 2019). Literatürde anormal Tiyol/Disülfid dengesi ile

sonuçlanan birçok klinik durumdan bahsedilmekte, fakat İİR'deki değişimleri hakkında veri bulunmamaktadır (Erel ve Neşelioğlu 2014). Erel ve Neselioğlu (2014), plazma disülfid düzeylerinin diyabet, obezite, pnömoni gibi dejeneratif hastalıkları olan ve sigara içiciliği varlığında daha fazla olduğu, ancak multipl miyelom, mesane kanseri, kolon kanseri, böbrek kanseri gibi proliferatif hastalıklar tanısı alan hastalarda daha düşük olduğunu gösterdiler. Yuvacı HY. ve ark(2016) preklempsi olan gebelerde yaptıkları çalışmada; ileri preklemsili gebelerde orta derece preklemsili gebelere ve kontrol gruplarına göre native tiyol, total tiyol ve disülfid seviyeleri belirgin düşük bulundu. Kayacan Y ve ark.(2019) ratlarda oksidatif stres üzerinde egzersiz ve 5HT nin etkisini araştırdıkları çalışmada; 5HT ve 5HT+egzersiz grubunda düşük disülfid seviyesi, kontrol grubunda ise yüksek disülfid seviyesi bulmuşlar ve 5HT grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde Total Tiyol seviyesi yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda Tiyol Disülfid hemostazı için değerlendirilen parametrelerde tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar mevcuttur. Sadece NAC verilen gruplarda Total, Native Tiyol ve Disülfid değerleri en yüksek seviyede saptanırken, NAC ve İloprost'un birlikte kullanıldığı gruplarda daha düşük olması; aynı zamanda Okside Tiyol değerinin sadece NAC kullanılan grupta en düşük, Redükte Tiyol oranında yine bu grupta en yüksek seviyede olması sonuçlarının daha önceki çıkarımımız olan bu iki ilacın birlikte kullanıldıklarında İloprost'un NAC'in etkisini azalttığı sonucumuzu desteklemektedir. Ayrıca bu sonuçlar şunu da göstermektedir ki; Total-Native-Okside-Redükte Tiyol oranları İİR modelinde antioksidan etkinliğin derecesini göstermekte faydalı olabilecek parametrelerdir ve literatürde bu konuda çalışma olmadığı için bu yeni bir bilgidir ve başka çalışmalarla desteklenmelidir.

6.SONUÇ

Yaptığımız çalışmada; rat intestinal iskemi reperfüzyon modelinde; reperfüzyondan yarım saat önce uygulanan N-asetilsistein ve İloprost'un İİR hasarına etkisini histopatolojik ve biyokimyasal verileri ile değerlendirdik.

1. N-Asetilsistein uygulanan grupta İİR gruplarına oranla histopatolojik olarak (Chiu Skoru) daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. İloprost sonuçları İİR grubuna göre daha kötüdür. NAC, İL ve birlikte kullanım gruplarına göre daha koruyucu olarak bulunmuştur ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadığı için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.
2. İskemi reperfüzyon hasarıyla karşılaşan ratlarda antioksidan olarak verilen NAC ve İloprost bulunan gruplarda(İİR+İL,İİR+NAC ve İİR+NAC+İL) ilaçların ayrı ayrı ve birlikte verilmesi antioksidan Tiyol/Disülfid mekanizmasına yardımcı olmaktadır.
3. Bu iki ilaç ayrı ayrı veya birlikte kullanıldığı gruplarda; Okside Tiyol oranı ve Disülfid/TT ve Disülfid/NT oranlarının azalıp Redükte Tiyol oranlarının ve NT/TT oranlarının artmış olması İİR hasarından koruyucu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.
4. Birlikte kullanımlarının NAC'a belirgin üstünlüğü mevcut değildir, oransal olarak NAC verileri birlikte kullanım verilerinden daha iyidir ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.
5. NAC kullanılan grubun İloprost grubuna göre verileri daha koruyucu olarak görülmektedir, istatistiksel olarak sadece TT, NT ve Disülfid seviyeleri anlamlı olarak yüksektir.
6. İİR grubu Sham grubu ile karşılaştırıldığında İİR grubunda histopatolojik olarak daha kötü sonuçlar saptanmıştır. İİR grubunda Disülfid seviyesi Sham grubuna göre daha düşük bulunmuştur ve bu sonuç İİR'nin literatürde Disülfid düşmesi yönüne kayan hastalıklar arasına girmesine sebep olabilir, ancak oran istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermemektedir.

7. İntestinal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde İloprost ve N- Asetilsistein'in birlikte kullanımının tek başına NAC kullanımından üstün olmadığı bulunmuştur. Çalışmamızın İİR hasarında Tiyol-Disülfit hemostazı parametrelerinin antioksidan mekanizmayla ilgili belirteç olarak kullanılabilceğini ve sonuçlarımızın yeni çalışmalara katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- A. Caliskan, C. Yavuz, O. Karahan et al., "Iloprost reduces myocardial edema in a rat model of myocardial ischemia reperfusion," *Perfusion*, vol. 29, no. 3, pp. 260–264, 2014.
- A. V. Ozcan, M. Sacar, H. Aybek et al., "The effect of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia reperfusion of lower extremities," *Journal of Surgical Research*, vol. 140, no. 1, pp. 20–26, 2007.
- Abakay U, Soylu S, Göksel S, Saraç B, Şahin İnan ZD, Çakmak E, et al. Role of pentoxifylline and iloprost in the prevention of ischemia-reperfusion injury in an experimental model of intestine ischemia-reperfusion in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2018;24:398-404.
- Abbasoğlu SD, Balkan J, Kanbağlı E ve ark. Aminoguanidin ve N-asetilsisteinin endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer hasarı oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004.5:27-32
- Akgür FM, Olguner M, Yenici O, Gökden M, ve ark. The effect of allopurinol pretreatment on intestinal hypoperfusion encountered after correction of intestinal volvulus. *J Pediatr Surg* 1996;31:1205-7.
- Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 3-10
- Aktan ÖA, Yalçın SA. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites and the surgeon. *Turk J Med Sci* 1998;1-5.
- Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Cilt 2, 2. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevi LTD ŞTİ 1997:73
- Ateş B, Yılmaz HR, Selamoğlu Z, Iraz M, Yılmaz Ş. Melatonin'in intestinal iskemi reperfüzyonda 6-fosfoglukonat dehidrogenaz aktivitesi üzerine etkisi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 2004; 11(3): 8-11.
- Avcı T, Erer D, Kucuk A. The Effects Of Iloprost On Ischemia-Reperfusion Injury In Skeletal Muscles In A Rodent Model. *J Surg Res.* 2014 Mar;187(1):162-8.
- Avi A, Weinbraum AK, Edith Hochhauser AH. Liver glutathione lever influences myocardial reperfusion injury following liver ischemia-reperfusion. *Med Sci Monit.* 2001;7:1137-11
- Ayvaz S, Aksu B, Inan M, Uzun H, Aydın S, Bilgi S, Umit HC, Pul M. "The effects of N-acetylcysteine on intestinal ischemia/reperfusion injury in rats." *Saudi Med J.* 2009 Jan;30(1):24-9.
- B. N. Aytacoglu, N. Sucu, L. Tamer et al., "Iloprost for theattenuation of ischaemia/reperfusion injury in a distant organ," *Cell Biochemistry and Function*, vol. 24, no. 4, pp. 341–346, 2006.

- Bailey B,McGuigan MA.Management of anaphylactoid reactions to intravenous N-acetylcysteine.*Annals of Emergency Medicine*.1998;31:710-715
- Bartekova M, Barancik M, Ferenczyova K, Dhalla NS. Beneficial effects of N-acetylcysteine and N-mercaptpropionylglycine on ischemia reperfusion injury in the heart. *Curr Med Chem*. 2017 Jun 8. doi: 10.2174/0929867324666170608111917.
- Belch JJ. Effect of iloprost (ZK 36374) on white cell behaviour IN:Prostacyclin and its stable analogue iloprost, Gryglewski RJ and Stock G, Berlin- Heidelberg, Springer-Verlang 1987, 97-102.
- Biswas S, Chida AS, Rahman I. Redox modifications of protein–thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochem Pharmacol* 28 2006;71(5):551–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2005.10.044>.
- Boga M, Discigil B, Ozkisacik EA, Gureun U, Badak MI, Dikicioglu E, Yenisey C, Meteoglu I. The combined effect of iloprost and N-acetylcysteine in preventing spinal cord ischemia in rabbits. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2006 Apr;31(4):366-72. Epub 2005 Dec 15.
- Brand JL, Boley JS. Ischemic and vascular lesions of the bowel. *Gastrointestinal Diseases*; 1993. p. 1927-31.
- Cakar GC, Pala S. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Herz*. 2019 Dec 9. doi: 10.1007/s00059-019-04853-7. [Epub ahead of print]
- Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi Araştırma kitabı. 1. Baskı, İstanbul: Nobel tıp kitabevleri Ltd gti, 2005.
- Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB, Sequeira JL, Padovani CR “Effects of pentoxifylline and n-acetylcysteine on injuries caused by ischemia and reperfusion of splanchnic organs in rats.” *Int Angiol*. 2008 Dec;27(6):512-21.
- Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in lowflow states. A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970;101(4):478-83
- Circu ML, AwTY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2010 Mar 15;48(6):749-62. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022. Epub 2010 Jan 4.
- Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8.
- Conesa LE,Valero F, Nadal JC ve ark,N-acetyl-cysteine improves renal medullary hipoperfusion in acute renal failure.*Am J.Physiol*.2001;281:730-737
- Congreave IA. N-acetylcysteine;farmacological condirations and experimental and clinical applications.*Advances in Pharmacology*,1997;38:205-227

- Cremers CM, Jakob U. Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. *J Biol Chem* 2013;288(37):26489–96. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.R113.462929>.
- Czyrko C, Steigman C, Turley DL, Drott HR, Ziegler MM. The role of reperfusion injury in occlusive intestinal ischemia of the neonate: malonaldehyde-derived fluorescent products and correlation of histology. *J Surg Res* 1991;51(1):1-4.
- Çevirme D, Adademir T, Kafalı Başaran E, Şavluk ÖF, Elibol A, Erkanlı Şentürk G, Akkaya H, Yılmaz B. “Comparison between iloprost and alprostadil for protection against ischemia/reperfusion injury in a rat model” *Turk J Med Sci*. 2018 Jun 14;48(3):661-669. doi: 10.3906/sag-1710-74.
- D. D. Lance and B. M. Brenner, “The renal circulation,” in *The Kidney*, pp. 247–286, WB Saunders Company, Philadelphia, Pa, USA, 1996.
- de Arruda MJ, Poggetti RS, Fontes B, Younes RN ve ark. Intestinal ischemia/reperfusion induces bronchial hyperreactivity and increases serum TNF- α in
- Dormandy J. The mode of action of iloprost in critical limb ischemia IN: The pathophysiology of critical limb ischemia and pharmacological intervention with a stable prostacyclin analogue, Iloprost, Dormandy J, London, Royal Society of Medicine Services Ltd, 1989.
- E. Schillinger, T. Kraus, and S. G. Iloprost, *New Drugs Annual: Cardiovascular Drugs*, Raven Press, New York, NY, USA, 1987, edited by: A. Scriabine.
- Erden M. Serbest Radikaller. *T.Klin. Tıp Bilimleri Dergisi* 1992; 12: 201-207.
- Erel.O , Neselioglu.S , “A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis” *Clinical Biochemistry* 47 (2014) 326–332
- Eriş O, Çankayalı İ, Sezer E. Ratlarda oluşturulan hemorajik şok modelinde NAsetilistein’ in oksidatif stres üzerine olan etkisi. *J Turk Anaesth Int Care* 2009;37:208-1
- Eryilmaz, O. G., Kansu-Celik, H., Erel, O., & Erdogan, S. (2016). Thiol/disulfide parameters as a novel oxidative marker in medical labor induction with oxytocin. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 0(0). doi:10.1515/hmbci-2016-0032
- F. Charles Brunicaudi et all. *Schwartz’s Principles of Surgery* 10. Baskı McGaw-Hill 2016:860-.
- Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol Rev* 2002;54(2):271-84.
- Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81:637-47.

- Grant SM et al, 'Iloprost ' a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in peripheral vascular disease in myocardial ischemia and extracorporeal circulation procedures IN;Drugs 1992,2001,883-924. 2
- Grisham MB, Mc Cord JM.: Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In: Physiology of oxygen radicals. Ed: Taylor AE, Malton S, Ward PA. American Physiology Society, Bethesda, Maryland, USA, 1986: 1-18.
- Güneli E, Çavdar Z, ĞĖlekel H, Sarioğlu S, Erbayraktar S, Kiray M, Sökmen S, Yılmaz O, Gökmen N. Erythropoietin protects the intestine against ischemia/reperfusion injury in rats. Mol Med 2007; 13(9-10); 509-517.
- Güneli E, Çavdar Z, ĞĖlekel H, Sarioğlu S, Erbayraktar S, Kiray M, Sökmen S, Yılmaz O, Gökmen N. Erythropoietin protects the intestine against ischemia/reperfusion injury in rats. Mol Med 2007; 13(9-10); 509-517.
- Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet 1994;344(8924):721-4.
- Hazinedaroglu SM, Dulger F, Kayaoglu HA, Pehlivan M, Serinsoz E, Canbolat O, Erverdi N. "N-acetylcysteine in intestinal reperfusion injury: an experimental study in rats." ANZ J Surg. 2004 Aug;74(8):676-8.
- Huether SE, McCance KL. Understanding Pathophysiology. 3rd edition, St. Louis, Mo. Mosby, 2004: 71.
- I. Tekin, I. Kiris, N. Karahan, O. Aktürk, N. Delibas, and A. Öcal, "The effect of iloprost on skeleton muscle injury in an experimental model of aortic ischemia-reperfusion," *Türkiye Klinikleri Cardiovascular Sciences*, vol. 21, no. 2, pp. 135–146, 2009.
- Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. Free Radic Biol Med 15 2009;47(10):1329–38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.08.021>.
- Jun-Lin Z, Guo-Hua J, Yi-Ling Y, Jun-Lan Z ve ark. Role of nitric oxide and peroxynitrite anion in lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. World J Gastroenterol 2003;9:1318-22.
- Kalaycı G. Genel cerrahi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002:374-5,1299-3000.
- Katar'ına Vdoviyakov'a et al. Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat. Gastroenterology Research and Practice Volume 2016, Article ID 2632368.
- Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Onbirinci baskı, Ankara: Hacettepe-Taş, 2005: 617-618,1331.

- Kayacan Y, Çetinkaya A, Yazar H, Makaracı Y. Oxidative stress response to different exercise intensity with an automated assay: thiol/disulphide homeostasis. *Arch Physiol Biochem.* 2019 Aug 14;1-5. doi: 10.1080/13813455.2019.1651868. [Epub ahead of print]
- Krause W, Kraus T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the prostacyclin analogue iloprost in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1986;30:61-8.
- Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Basic Pathology*. 6th edition 2000:P:6-10,30-36.
- Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Temel Patoloji (Basic Pathology)*. Çeviri editörü: Çevikbaş U. 5th edition, İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 1995: 5-9, 36-38, 497.
- Kuran O. *Sistematik Anatomi*. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983: 301
- Kuzu MA, Tarık A, Kale T, Aşlar AK ve ark. Effects of ischemia reperfusion as a systemic phenomenon on anastomotic healing in the left colon. *World J Surg.* 2000;24:990-4.
- Lewis MS, Whatley RE, Cain P, McIntyre TM ve ark. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet activating factor by endothelium and induces endothelial celldependent neutrophil adhesion. *J. Clin. Invest.* 1988;82:2045-55.
- M. Sacar, V. Ozcan, H. Aybek et al., "Vitamin C and iloprost attenuate skeletal muscle injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities," *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, vol. 13, no. 4, pp. 374–378, 2005.
- Mallick IH, Yang WX, Winslet MC, Seifalian AM. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces ischemia-reperfusion injury of the small intestine. *World J Gastroenterol* 2005;11:7308-13.
- McCord JM, Roy RS. The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Can J Physiol Pharmacol* 1982;60:1346-52 Abstract.
- Mısırlıoğlu G, Hüseyin S, Yüksel V, Güçlü O, Karadağ H, Canbaz S, et al. In vitro effects of prostaglandin E1, prostaglandin I2 and papaverine on internal thoracic artery graft [Article in Turkish]. *Türk Gogus Kalp Damar* 2015;23:463–6.
- Mitsudo S, Brandt LJ. Pathology of intestinal ischemia. *Surg. Clin. North Am* 1992;72:43-63 Abstract.
- N. E. Farber, G. M. Pieper, J. P. Thomas, and G. J. Gross, "Beneficial effects of iloprost in the stunned canine myocardium," *Circulation Research*, vol. 62, no. 2, pp. 204–215, 1988.
- N. S. Dhalla, A. B. Elmoselhi, T. Hata, and N. Makino, "Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury," *Cardiovascular Research*, vol. 47, no. 3, pp. 446–456, 2000.

- N. Yakut, H. Yasa, B. B. Lafci et al., "The influence of levosimendan and iloprost on renal ischemia-reperfusion: an experimental study," *Interactive Cardiovascular and Thoracic*
- Necefli A, Dolay K, Arıkan Y, Güloğlu R, Karayay S, Halıcı E, Atagenç F. Deneysel mezenterik iskemide bakteriyel translokasyona seftriaksonun etkisi *Ulusal Travma Dergisi* 1999; 5:(1): 7-10.
- O. Koxsel, A. Ozdulger, B. Aytacoglu et al., "The influence of iloprost on acute lung injury induced by hind limb ischemiareperfusion in rats," *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, vol. 18, no. 4, pp. 235–241, 2005.
- Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidasyon, and neutrophil infiltration after smallintestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989;105:593-597 Abstract.
- Ozan E, Koyutürk L, Sapmaz T. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1 (PGE1) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma. *Fırat Tıp Dergisi* 2004; 9(3): 67-71.
- Ozturk C, Avlan D, Cinel I, Cinel L, Unlu A, Camdeviren H et al. Selenium pretreatment prevents bacterial translocation in rat intestinal ischemia/reperfusion model. *Pharmacol Res* 2002;46(2):171-5.
- Özçelik N, Dursun V, Pekmezci S. Mezenter iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde Allopurinol, Süperoksit Dismutaz ve Dimetil sülfoksitin etkisi. *Kolon rektum dergisi* 1993;3:10-2.
- rats. *Clinics* 2006;61:21-8.
- Rock P, Yao Z. Ischemia reperfusion injury, preconditioning and critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 2002; 15: 139-146.
- S. F. Katircioğlu, P. Gökce, E. Ozgencil et al., "Prostacyclin usage for spinal cord protection during experimental thoracic aortic cross-clamping," *Vascular and Endovascular Surgery*, vol. 30, no. 2, pp. 97–101, 1996.
- Sari M, Erkorkmaz U, Yazar H, Kocayigit I, Omar B, Alizade E, Aksoy MNM, Uslu A,
- Schewe, T. 2002. 15-lipoxygenase-I: a prooxidant enzyme. *Biol Chem* 383:365-374
- Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386
- Schoenberg MH, Muhl E, Sellin D et al. Posthypotensive generation of superoxide radicals: Possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosal damage. *Acta Chir Scand* 1984; 150:301-309.
- Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2 Suppl.):653S–69S.

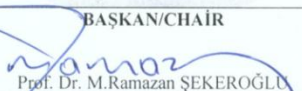

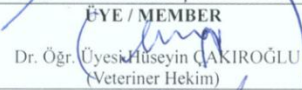










- Shah PC, Brolin RE, Amenta PS, Deshmukh DR. Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury. *Mech Ageing Dev* 1999;107(1):37-50.
- Sızlan A, Güven A, Uysal B, Yanarateğ O, Atım A, Öztağ E, Coğar A, Korkmaz A. Proanthocyanidin Protects Intestine and Remote Organs Against Mesenteric Ischemia/Reperfusion Injury. *World J Surg* 2009: 1384-91
- Slavikova H, Lojek A, Hamar J et al. Total antioxidant capacity of serum increased in early but not late period after intestinal ischemia in rats. *Free Rad Biol Med* 1998; 25: 9–18.
- Slusser SO, Grotyohann LW, Martin LF, Scaduta RC. Glutathion catabolism by the ischemic rat kidney. *Am J Physiol.* 1990;258:1546-1553.
- Snell RS, Klinik Anatomi. 6. Edisyon. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri LTD ŞTİ, 2004: 219.
- Stürzebecher CS. Effects of iloprost on platelet activation in vitro IN: Prostacyclin and its stable analogue iloprost, Gryglewski RJ and Stock G, Berlin- Heidelberg, Springer-Verlang 1987, 39-45.
- Surgery*, vol. 7, no. 2, pp. 235–239, 2008.
- Talbot W. Ischaemia and infarction. General pathology. 7th ed., Pearson Professional Limited; 1996. p. 709-22.
- Tepel M, Van Der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *New England Journal of Medicine.* 2006;343:180-184
- Tiryakioglu O, Erkoç K, Tunerir B, Uysal O, Altın HF, Gunes T, Aydın S “The effect of iloprost and N-acetylcysteine on skeletal muscle injury in an acute aortic ischemia-reperfusion model: an experimental study.” *Biomed Res Int.* 2015;2015:453748. doi: 10.1155/2015/453748. Epub 2015 Mar 5
- Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion. *J Surg Res* 1996; 66: 143-146.
- Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med* 2013;65:244–53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.050>.
- U. M. Fischer, C. S. Cox Jr., S. J. Allen, R. H. Stewart, U. Mehlhorn, and G. A. Laine, “The antioxidant N-acetylcysteine preserves myocardial function and diminishes oxidative stress after cardioplegic arrest,” *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 126, no. 5, pp. 1483–1488, 2003.
- Vejchapipat P, Williams SR, Spitz L, Pierro A. Intestinal metabolism after ischemiareperfusion. *J Pediatr Surg* 2000;35(5):759-64.

- Vinardi S, Pierro A, Parkinson EJ, Vejchapipat P, Stefanutti G, Spitz L, et al. Hypothermia throughout intestinal ischemia reperfusion injury attenuates lung neutrophil infiltration. *J Paediatr Surg* 2003; 38: 88–91.
- Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD, et al. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet*. 2008;372(9633): 139-144.
- Wilhelm J. Metabolica Aspects of Membrane Lipid Peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr*. 1990; 137:1-53.
- Yeğen C, Aktan AO, Büyükgebiz O, Haklar G, Yalçın AS, Yalin R, Ercan S “Effect of verapamil and iloprost (ZK 36374) on endothelin release after mesenteric ischemia-reperfusion injury.” *Eur Surg Res*. 1994;26(2):69-75.
- Yıldız Y, Serter M, Ek RO, Ergin K, Çeçen S, Demir EM, Yenisey Ç. Protective Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury. *Dig Dis Sci* 2008; 54(4):738-44.
- Yılmaz Y, Tunkaya L. “Effects of hyperbaric oxygen and iloprost on intestinal ischemia-reperfusion induced acute lung injury.” *Ann Surg Treat Res*. 2019 Jan;96(1):34-40. doi: 10.4174/astr.2019.96.1.34. Epub 2018 Dec 26.
- Zimmerman BJ and Granger DN. Reperfusion Injury. *Surg Clin North Am*, 1992; 72(1):65-83.

EKLER

SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA ONAY BELGESİ

SAKARYA UNIVERSITY
ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH APPROVAL CERTIFICATE

| | | |
|---|--|---|
| Araştırmanın Adı Title of the Research | Ratlarda Deneysel İnce Barsak İskemi-Reperfüzyon Modelinde İloprost ve Acetilsistein' In Beğaber Kullanımının İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesindeki Etkisi | |
| Yürütücü Chief investigator | Dr. Öğr. Üyesi Volkan ÖTER | |
| Yrd. Araştırmacı(lar) Co-investigator(s) | Dr. Yasin Alper YILDIZ, Dr. Gözde ÇAKIRSOY ÇAKAR, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ÇAKIROĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Hayrullah YAZAR, | |
| Araştırma Başlama Tarihi/Research Starting Date | | |
| Proje Süresi/Total Time of Project | 6 ay | |
| Kullanılan Hayvan Türü/Animal Species | Rat | |
| Kullanılan Hayvan Cinsiyeti ve Sayısı/Animal Sex and number | Karışık - 30 | |
| Araştırma Destekleyen Kuruluş (varsa) Funding institution(s) (if available) | - | |
| Destek Şekli ve Miktarı Type and amount of funding | | |
| Karar: Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 05/09/2018 tarih ve 24 sayılı kararı ile; yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin <input checked="" type="checkbox"/> gerçekleştirilmesinin Uygun Olduğuna Karar Verilmiştir. <input type="checkbox"/> Yeniden düzenlenmesine Karar Verilmiştir. <input type="checkbox"/> gerçekleştirilmesinin Uygun Olmadığına Karar Verilmiştir. | | |
| Decision: With the decision of the Local Ethics Committee of Animal Experiments of Sakarya University dated 05/09/2018 and numbered 24 ; it has been decided that above mentioned research project is <input checked="" type="checkbox"/> Appropriate to carry out. <input type="checkbox"/> Rearranged <input type="checkbox"/> Not Appropriate to carry out. | | |
| | BAŞKAN/CHAİR  Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU | |
| ÜYE / MEMBER  Prof. Dr. Ali Fuat ERDEM | ÜYE / MEMBER  Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ÇAKIROĞLU (Veteriner Hekim) | ÜYE / MEMBER  Doç. Dr. Pelin TANYERİ |
| ÜYE / MEMBER  Doç. Dr. Kerem KARAMAN | ÜYE / MEMBER  Doç. Dr. Hüseyin AKSOY | ÜYE / MEMBER  Dr. Öğr. Üyesi Songül DOĞANAY |
| ÜYE / MEMBER  Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARA | ÜYE / MEMBER  Dr. Öğr. Üyesi Murat ÇILLI | ÜYE / MEMBER  Dr. Öğr. Üyesi Havva SERT |
| ÜYE / MEMBER  Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Zahit YILDIZ | ÜYE / MEMBER  Murat YILDIRIM | ÜYE / MEMBER  İbrahim AKTEKİN |