



T. C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇAN İNCE BARSAK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA İLEUM VE  
AKCİĞER DOKUSUNDA GÖRÜLEN DAMAR DIŞINA PROTEİN KAÇIŞININ,  
KANABİNOİD 2 RESEPTÖR AGONİSTİ (AM-1241) İLE KONTROLÜ**

Mustafa HANCI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. S. Oktay ARSLAN

Düzce 2013

## **KABUL VE ONAY**

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Sıçan İnce Barsak İskemi/Reperfüzyon Hasarında İleum ve Akciğer Dokusunda Görülen Damar Dışına Protein Kaçışının, Kanabinoid 2 Reseptör Agonisti (AM-1241) İle Kontrolü ” adlı çalışma aşağıdaki jüri tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 05/07/2013

### **TEZ SINAV JÜRİSİ**

**Prof. Dr. S. Oktay ARSLAN**

**Düzce Üniversitesi**

**Başkan**

**Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KAYA**

**Düzce Üniversitesi**

**Üye**

**Yrd. Doç. Dr. Ali PARLAR**

**Düzce Üniversitesi**

**Üye**

Yukarıdaki tez, yönetim kurulunun ...../...../2013 tarih ve ..... sayılı kararı ile kabul edilmiştir

**Yrd. Doç. Dr. Talat BAHÇEBAŞI**

**Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü**

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

05/07/2013

Mustafa HANCI

## **TEŐEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimin süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım anabilim dalı başkanı, tez danışmanım Prof. Dr. Oktay ARSLAN'a ve çalışmamda büyük emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Ali PARLAR'a bana yardımını hiç eksik etmeyen Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KAYA'a ayrıca çalışmalarımnda yardımcı olan Dr. Sait BAYRAM'a ve ayrıca beni yetiştiren fedakâr anne babama minnettarlığımı arz ederim.

## İÇİNDEKİLER:

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
GEREÇ ve YÖNTEM.....	iii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Cannabis sativa.....	4
2.1.1. Endokanabinoidler.....	5
2.1.2. Kanabinoid reseptörleri.....	5
2.1.3. Kanabinoidlerin agonist ve antogonistleri.....	5
2.1.4. Kanabinoidlerin emilimi ve dağılımı.....	6
2.1.5. Kanabinoidlerin biyotransformasyonu ve eliminasyonu.....	6
2.2. İskemi ve reperfüzyon.....	7
2.2.1. İskemi reperfüzyon hasarı.....	8
2.2.2. İskemik önkoşullanma.....	9
2.3. İncebağırsakların yapısı.....	11
2.3.1. Duedonum.....	11
2.3.2. Jejenum.....	11
2.3.3. İnce bağırsak iskemi/reperfüzyonu.....	12
2.3.4. Kılcal damarlardan doku sıvısına protein kaçıışı.....	13

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
3.1. Gereç.....	14
3.1.1. Etik kurul izin yazısı.....	14
3.1.2. Laboratuvar koşulları.....	14
3.1.2.1. Cihazlar ve teknik malzemeler.....	15
3.1.2.2. Standartlar ve kitler.....	15
3.1.2.3. Kimyasallar.....	15
3.1.2.4. Analizler.....	15
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. Çalışmada kullanılan hayvanlar ve deney uygulamaları...	16
3.2.2. İskemi/Reperfüzyon modelinin oluşturulması.....	17
3.2.3. Numunelerin hazırlanması.....	17
3.2.4. Spektrofotometrede Evans mavisi ölçümü.....	19
4. BULGULAR....	25
4.1. Kalibrasyon eğrisi.....	25
4.2. İleum dokusunda protein kaçıışı miktarları.....	25
4.3. Akciğer dokusunda protein kaçıışı miktarları.....	27
5. TARTIŞMA.....	29
6. KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	37

## KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

AEA:	Araşidonikasit etanolamin
ACE:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ATP:	Adenozin trifosfat
2- AG:	Araşidonil gliserol
BK:	Bradykinin
CSS:	Santral sinir sistemi
dl:	desilitre (bir litrenin onda biri, 100 cm <sup>3</sup> )
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DMSO:	Dimetil sülfüdoisit
DÜ-HAYDEK:	Düzce Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu
FAAH:	Yağasidi amid hidrolaz
GİS:	Gastrointestinal sistem
ip:	intraperitoneal
KOH:	Potasyum hidroksit
CB:	Kanabinoid
mg:	miligram
ml:	mililitre (bir litrenin binde biri)
ng:	bir gramın bir milyarda biri
p:	olasılık
R <sup>2</sup> :	determinasyon katsayısı: İstatistik biliminde belirli bir fonksiyonun bir dizi deneysel veriye ne derece uygunluk gösterdiğini belirlemek için kullanılan bir değerdir.

ROS:	Reaktif oksijen türevleri
SH:	Standart hata
SMA:	Süperior mezentrik arter
$\mu\text{L}(\mu\text{l})$ :	mikrolitre (bir litrenin bir milyonda biri)
$\mu\text{m}$ :	mikrometre (bir metrenin bir milyonda biri)
NO:	Azot oksit
$\Delta^9$ -THC:	Tetrahidrokanabinol
THC:	Tetrahidrokanabinoid
UV:	Spektrofotometre
SSP:	Standart sapma programı
SE:	Standart eror
SEM:	Standart eror mean



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: AM1241 kanabinoid agonistinin molekül yapısı.....	4
Şekil 2: Akciğerde evans mavisi.....	25
Şekil 3: İleumda evans mavisi.....	27

## RESİM LİSTESİ

Resim 1: Abdominal venden Evans mavisinin verilmiş durumu .....	5
Resim 2: SMA'nın mikroklemple ile bağlanarak iskemi oluşturulması.....	8
Resim 3: Kanülle kalbin aortuna girilerek SF ile sıçanın dokularından Evans mavisi ve kanın temizlenmesi.....	9
Resim 4: Spektrofotometre (uv).....	19
Resim 5: Deneyde kullanılan inkübatör.....	23

## **TABLO LİSTESİ**

Tablo 1: Kanabinoidlerin özet görünümü.....12

Tablo 2: Deneyde kullanılan gruplar ve yapılan işlemler.....26

## ÖZET

### SIÇAN İNCE BARSAK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA İLEUM VE AKCİĞER DOKUSUNDA GÖRÜLEN DAMAR DIŞINA PROTEİN KAÇIŞININ, KANABİNOİD 2 RESEPTÖR AGONİSTİ (AM-1241) İLE KONTROLÜ

Mustafa HANCI

Yüksek Lisans Tezi, Farmakoloji Anabilim Dalı  
Tez danışmanı Prof. Dr. S. Oktay ARSLAN

İskemi/Reperfüzyon (İ/R) hasarı modelinde, kılcal damarlardan dokuya protein kaçışının inflamatuvar süreçlerin bir paydaşı olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Evans mavisini doku proteinlerine yüksek derecede bağlanma eğilimi gösterir. Kılcal damarlardan doku sıvısına proteinler geçerken evans mavisine bağlanarak dokularda protein birikmesine neden olur. Bu dokulardaki evans mavisini spektrofotometre ile ölçülerek ne kadar protein kaçışının olduğunu kanıtlamak mümkündür.

Araştırmamızda; sıçanlarda barsak iskemi ve reperfüzyon modeli oluşturuldu. Kanabinoid 2 reseptör agonisti (AM-1241), iskemi ve reperfüzyon oluşturmadan hemen önce abdominal venden verildi. Sonrasında evans mavisini iv infüzyon olarak uygulandı.

Barsak iskemi ve reperfüzyon modelinde akciğer ve ileum dokusunda evans mavisini ölçüldü. Gruplar kendi arasında karşılaştırıldı. Şam- kontrol ile İ/R arasında anlamlı fark oluştu ( $P<0.01$ ). İ/R ile İ/R+CB<sub>2</sub> Agonisti arasında da ( $P<0.05$ ) anlamlı fark oluşmuştur. Şam-kontrol ile İ/R+CB<sub>2</sub> Agonisti arasında ise önemli fark görülmedi ( $P>0.05$ ).

Sonuç olarak; kanabinoid 2 reseptör agonistinin, hem ileum dokusunda ve hem de uzak organda (akciğer) kılcal damarlardan dokuya protein kaçışını engellediği ve dolayısıyla ileum İ/R hasarında antiinflamatuvar etki gösterdiği görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Kanabinoid, İskemi ve reperfüzyon, Evans mavisini, Plazma protein kaçışı.

## ABSTRACT

### THE CONTROL OF MICROVASCULAR PROTEIN LEAKAGE IN ILEUM AND LUNG TISSUES OF RAT SUBJECTED TO INTESTINAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY BY CANNABINOID 2 RECEPTOR AGONIST (AM – 1241)

Mustafa HANCI

Master of Science Thesis, Department of Pharmacology  
Supervisor, Assistant Professor Prof. Dr. S. Oktay ARSLAN

Several studies reveal that protein leakage from microvascular to tissue is one of the inflammatory processes in I/R injury model. Evans blue dye highly tends to bind to tissue proteins. While proteins are passing from microvascular to tissue liquid, they bind to Evans blue dye and it leads to protein accumulation. It is possible to determine how much protein leakage is by measuring Evans blue dye in tissues by spectrophotometer.

In our study, intestinal I/R model was applied to rats. They were given cannabinoid 2 receptor agonist (AM-1241) through abdominal vein just before of I/R. Then, Evans blue dye was given to them through as iv infusion.

Evans blue dye in lung and ileum was measured by means of intestinal I/R model. Groups were compared with each other. A significant difference ( $P < 0.01$ ) happened between sham-control and I/R groups. Furthermore, a significant difference ( $P < 0.05$ ) between I/R and I/R+CB2 groups was determined. However, there was no significant difference ( $P > 0.05$ ) between sham-control and I/R+ CB2 groups.

In the conclusion, the study shows that cannabinoid 2 receptor agonist prevents protein leakage from microvascular to tissue of ileum and lung that is distant organ, and thus it plays the role of antiinflammatory in ileum I/R damage.

**Key words:** Cannabinoid, ischemia and reperfusion, Evans blue dye, plasma protein leakage.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde yapılan birçok çalışmalar neticesinde kılcal damarlarından doku sıvısına proteinlerin geçişi hakkında bilimsel kanıtlar vardır. Daha önceki yapılan çalışmalarda ise polimer yapıda olan proteinlerin hücre zarından dışarıya kaçışının normal şartlar altında mümkün olamayacağı kanısına varılmıştır. Fare ve sıçanlar üzerinde oluşturulan doku hasarı ve iskemi reperfüzyon uygulamaları sonucunda hücrelere, geçici olarak kan akışının yavaşlatılması durumunda gerekli enerji çok az sentezlenmiştir. Bu uygulama sonuçları değişik yöntemlerle ispatlanmak istenmiştir. Vücudumuzda dolaşan kanın ozmotik basıncını proteinler oluşturur. Kanın ozmotik basıncının sabit olduğu yapısındaki çeşitli protein miktarlarının sabit olmasından kaynaklandığı bilinmektedir. Eğer kılcal damarlarından doku sıvısına protein kaçışı varsa bunun ne oranda ve ne kadar olduğunu bulmak için evans mavisi denilen kimyasal boya kullanılmaktadır. Evans mavisi proteinlere yüksek derecede bağlanma özelliğine sahiptir. Her maddenin ultraviyole ışığında kırılma dalga boyları farklıdır. Evans mavisinin standartının ve dokulardaki kırılma dalga boyları arasında belirgin farkın oluşması beklenir.

İnflamatuar süreçlerin çeşitli şekillerinde, kılcal damarlarından protein kaçışını hızlandıran ya da yavaşlatan bir etkenin olup olmadığı konusunda da çalışmalar yapılmıştır. İskemi reperfüzyon inflamasyonunda, damarlarından protein kaçışının şekillendiği bilinmektedir. Evans mavisinden önce deney hayvanına verilen herhangi bir ilacın ya da ilaç adayının hangi yönde etki yapacağı araştırma konusu olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; kanabinoid-2 reseptör agonistinin (AM1241) sıçanlarda bağırsak iskemi reperfüzyon hasarında doku sıvısına geçen protein miktarına etkisini araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Cannabis sativa*

Bilinci değiştirici ve tahatlatici amaçla kullanılan bir bitki türüdür. Bu bitkinin iek, tohum ve yaprak gibi organlarında kanabinoid(CB) adı verilen bir reçine gizlidir. iek kısmında yapraklarına oranla daha fazla CB vardır. KB'lerin ortak ismi esrardır. Dünyada en çok ilaç olarak kullanılan maddedir.  $\Delta^9$  – tetrahidrokanabinol ( $\Delta^9$  – THC) ve ( $\Delta^8$  – THC) en çok bilinen eşitleri arasındadır<sup>1</sup>. Dünya çapında insanların en az bir kez esrar kullanma oranı %12 olarak bilinmektedir. Türkiye'de bu oran %4 seviyesinde olduğu bildirilmiştir. Bu bağımlık verici maddeler 20.yy'dan sonra terapotik olarak kullanılmaya başlanmıştır.  $\Delta^9$  – THC, yüksek oranda yağda çözünebilen bir moleküldür. Bu özelliğinden dolayı kan - beyin bariyerini rahatlıkla geçebilir ve santral sinir sisteminde (CSS) etkisini gösterir<sup>2</sup>.

#### 2.1.1. Endokanabinoidler

CB reseptörlerine seçici olarak yüksek dercede bağlanan, onların üzerinde biyolojik etkiler oluşturma özelliğine sahip endokanabinoidlerdir. En önemli endokanabinoidler anandamid ve 2-araşidonil gliserol (2-AG)'dür. Araşidonikasit etanol amin (AEA) ve 2-AG hücre zarının yapısında bulunan fosfolipitlerden özümlenir. Salınımı hemen gerçekleşir. Sinaptik keselerde depolanma özelliği yoktur. AEA su ile tepkimeye girince pasifleşme özelliğine sahiptir. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim; yağasidi primeramidleri, N- açilamino asitleri ve N- ailtaurinleri de kapsama özelliği vardır. Endokanabinoidlerin ağrıyı azalttığı, hafıza kaybına ve iştah artırıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir.

AEA, ilk kez domuz beyinde tanımlandı.  $Na^{+2}$  taşıyıcısı tarafından hücre içine alınır. Burada yağasidi amid hidrolaz (FAAH) tarafından sindirime uğrayarak araşidonik asit ve etanolamine dönüşür.

2-AG, endojen kanabinoid resptörüdür. Beyindeki miktarı cok fazladır. Endokanabinoidler postsinaptik nöronlardan salınır. Buradan harekete geçer ve kanabinoid reseptörlerini aktiveştirir.  $Ca^{+2}$  kanallarının baskılanmasına neden olur<sup>3</sup>.

### 2.1.2. Kanabinoid reseptörleri

Kanabinoidlerin günümüzde CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> olarak bilinen iki tip reseptörü vardır. Bu reseptörler inhibitör G proteinleri sınıfına aittir. CB<sub>1</sub> reseptörleri Ca<sup>+2</sup> kanallarını inhibe edip, K<sup>+</sup> kanallarını etkinleştirir. CB<sub>1</sub> reseptörü CSS'nde bulunur. Çevresel sinir sisteminde ise her iki reseptör birlikte bulunur. CB<sub>1</sub> reseptörü ratların beyin kabuğundan ayrıştırılmış ve nükleik asitlerden DNA'nın yapısındaki G proteinlerinde bulunmuştur<sup>4</sup>. İnsanda bu reseptörlerin altı kromozomun belli bölgelerindeki genlerden sentezlenmiştir. İnsanlardaki bu reseptörlerin bütün proteinlerin %44 aminoasit oranıdır. Memeliler, maymunlar, kemirgenler ve insanların sinir sistemi ve sinir hücrelerinde normal değerinin altında olduğu son yapılan çalışmalarda görülmüştür<sup>5</sup>. CB<sub>1</sub> reseptörleri insan ve hayvanlarda hareketin kontrolü, hafıza ve biliş bölgesinde çok yoğun bulur. Bunların dışında sindirim ve kas sisteminde de vardır. CB<sub>2</sub> reseptörleri ise sadece çevresel sinir sisteminde olduğu bulunmuştur. Kan hücreleri, bağışıklık sistemi, özellikle B hücreleri, mast hücreleri, T4-T8 ve makrofajlarda vardır<sup>6</sup>.

### 2.1.3. Kanabinoidlerin agonist ve antogonistleri

CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> reseptörlerinin farklı agonist ve antogonistleri vardır. Farklı sayıda ve yapıda ligandları bulunmaktadır. SR171416A, LY32035, AM251, AM281 CB<sub>1</sub> antogonistleridir. SR144528, AM630, WIN56098, WIN54461 CB<sub>2</sub> antogonistleridir. Δ<sup>9</sup>-THC, kanabidiol, HU210, CP55244, WIN55212 ise CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> agonistleridir<sup>7</sup>.

Çeşitli farmakop yasalarında kanabinoid reseptör ligandları, agonist, antogonist ve zıt agonist içerikli yasalar vardır. Bu ligandlar araşidonik asit türevleri, anandamid, tehlikeli atıklar ve aminalkollerle ilişkilidir<sup>8</sup>. Tedaviye uygun CB reseptör ligandları THC şeklinde yakından ilgili bileşikler bulunmaktadır. THC sistemi ile geliştirilmiş ve saflaştırılmış klinik alanda kullanılan kanabinoidler vardır. Dronabinol ve nabilone yapay olarak üretilmiştir. İn vitro ve in vivo model çalışmalarında kanabinoid reseptör agonistlerinin geliştirilmesi büyük önem kazanmıştır. CB<sub>2</sub> agonistlerinin tedavi edici gücünün olduğu henüz tesbit edilmiş değildir. Bu konudaki çalışmalar günümüzde hızlı bir şekilde yapılmaya devam ediyor<sup>9</sup>.



#### **2.1.4. Kanabinoidlerin emilimi ve dağılımı**

THC ve diğer kanabinoidler hava yolundan çok hızla emilme özelliğine sahiptir. Çok kısa zamanda etkisini gösterir. THC oral yolla da alınabilir. Emilimi sindirim sisteminde daha farklı bir yol izler. İnce bağırsaktan kan kılcallarına ve oradan da kapıtoplar damarından karaciğere geçer. Burada metaboliz edilmesine bağlı olarak etkisini daha geç gösterme özelliğine sahiptir<sup>10</sup>.

#### **2.1.5. Kanabinoidlerin biyotransformasyonu ve eliminasyonu**

Kanabinoidler solunum veya damardan alındıktan sonra en çok 15dk da beyinde belli bir derişime ulaşır. Bu zaman diliminde fizyolojik ve psikolojik etkileri başlar. Beyindeki bu yoğunluk dört saat içinde doruk noktaya ulaşır. Bu doz-konsantrasyon etki ilişkisine ulaştıktan sonra etkisini yavaş yavaş kaybetmeye başlar. Kanabinoidler plasentadan anne kanına da geçebilme özelliğine sahiptir. Eğer dozlar çok sık alınırsa beyindeki derişimi artar. Kan ve idarardan atılmaları uzun günler alabilir. Çünkü atılımı yavaş, beyindeki miktarı fazladır. Karaciğerde metabolizmaya uğradığı zaman ana metaboliti 11-hidroksi- $\Delta^9$ -THC'dir<sup>11</sup>.

CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> reseptör antagonistleri günümüzde zayıflama ilaçları, sigarabıraktırma, obezite, depresyon ve intihar etme gibi rahatsızlıklarda reçeteye yazılarak tedavi edici olarak güvenle kullanılmaktadır. Endokanabinoidlerin diğer bir fizyolojik etkisi de sinir hücrelerini korumasıdır. İskemi ve hipoksinin CSS'nde anormal glutamat artışı sinir hücrelerine zarar vermesidir. Parkinson, damartıkanıklığı ve alzaymır gibi hastalıklarda kronikleşen sinir hücresi hasarında rolü olduğu bilinmektedir. Kan basıncının azalması ve oksijen radikalleri ile hücredeki hasarı azaltıcı özellik gösterir<sup>12</sup>. Kanabinoidlerin hafif bir gücü de sinir hücreleri üzerinde toksik etki yapar.

İnsanlarda bağımlılık yapan maddelerin ödüllendirici etkileri üzerindeki araştırmalar hayvanlar ile yapılan çalışmalarda en uygun bulunan teknik kendine uygulama yöntemidir. Bu deney çalışmasında hayvanlar istemli koşullanma yolunu seçerek kendi kendilerine damariçi ilaç uygulaması yapılmıştır. Vücuda alınacak olan ilacın miktarını hayvanın kendisinin belirlemesi sağlanır. Sigara, alkol ve narkotik maddeler insanlarda olduğu gibi hayvanlar tarafından da sıklıkla alınma isteği oluşturmuştur. Hayvanlar bu maddeleri uygun şartlar sağlandığı zaman kullanma tercihinde bulunmuşlardır<sup>13</sup>.

**Tablo 1: Kanabinoidlerin özet görünümü**

No	Ajan	Etki	Yorum
1	$\Delta^9$ -THC	CB <sub>1</sub> -CB <sub>2</sub> agonist	Kanabisin psikoaktif bileşen
2	Kanabidiol	Bilinmeyen etki	Kanabisin nonpsikoaktif bileşen
3	anandamid	CB <sub>1</sub> persiyel agonist	TRPV1 bağlar
4	2-AG	CB <sub>1</sub> -CB <sub>2</sub> agonist	Reseptörleri aktifleştirir
5	CP55940	CB <sub>1</sub> -CB <sub>2</sub> agonist	Halüsinasyon
6	HU-210	CB <sub>1</sub> -CB <sub>2</sub> agonist	Yüksek potentli
7	HU-211	Etkisiz	Nöroprotektiftir
8	SR144528	CB <sub>2</sub> antogonist	Ters agonist
9	AM251	CB <sub>1</sub> antogonist	Hafıza

## 2.2. İskemi reperfüzyon

Doku hücrelerine kan taşıyan damarın herhangi bir nedenle tıkanarak besin ve oksijen iletiminin durmasına iskemi denir. İskemi olayı hücrelerde organik monomerlerin azalmasına sebep olur ve oksijenli solunumla üretilen ATP miktarı azalır. Kan akışının tekrar sağlanmasına da reperfüzyon denir. Bu durum hücre içi aktif taşıma olaylarını, hücre zarından madde alışverişini zorlaştırır ve hücreye daha çok kalsiyum, su girişi gerçekleşir. Sinir hücrelerinde sodyum potasyum pompası bozulması ile akson boyuca iletilen uyarılarda gecikme olur. Reaktif oksijen türevleri (ROS) hücre içindeki derişimi artmaya başlar. Doku hücrelerine yeniden oksijen verilmeye başlandığı zaman ROS çeşitleri sayısı artar. İskemi aynı zamanda hücre içindeki bazı enzimlerin sentezlenme hızını artırırken bazı enzim türevlerinin de üretilmesini yavaşlatır<sup>14,15</sup>.

### 2.2.1. iskemi reperfüzyon hasarı

Kısa zamanlı iskemilerde doku hücrelerinde fazla hasar oluşmaz. Köpekler üzerinde yapılan deney sonuçlarına göre koroner kalp damarlarında 15dk oluşturulan iskeminin geri dönüşümlü olduğu görülmüştür. Eğer iskeminin zamanı 15dk üzerine çıkarsa dönüşümsüz olarak doku hücrelerine zarar verir. Kısa iskemi kalp damarlarında zayıflamaya neden olduğu kadar da uzun zamanlı iskemilerde hücrelerin ölmesine sebep olur. Reperfüzyon sırasında doku veya hücrelere yoğun bir şekilde oksijen geldiği için geri dönüşümsüz hasara yol açabilir<sup>16</sup>.

Akciğerlerde meydana gelen İ/R hasarı kalp akciğer ve akciğer tıkalı damarının açılması sonrasında daha sık görülmektedir. Burada hasara neden olan başlıca etkenler makrofajlar, akyuvarlar ve endotel hücreleridir<sup>17</sup>. Akciğer atar damarında oluşan reperfüzyon sonrasında görülen akciğer ödem endotel hücrelerinde damarda denge bozulur. Bu bozulma zamanla NO miktarının azalmasına sebep olur. Kandaki akyurav sayısının artması durumu klinikte akciğerde iskeminin ardından reperfüzyon ile karşılaşılması en önemli sorun olarak bilinmektedir<sup>18</sup>. Akciğerlerde gerçekleştirilen iskemi doku hasarının patolojik sonucuna göre burada iltihaplanmaya rastlanmıştır. İskemiye bağlı oluşan akciğer iltihaplanma öncesi sitokin miktarı artmış ve akyuvarların aktifleşerek dokuya geçtiği görülmüştür. İ/R hasarı sırasında sitokin miktarının artışı makrofaj, nötrofil ve lenfosit miktarlarını da doğru orantılı bir şekilde artırmıştır. İskeminin gerçekleşmesi makrofajlardan sitokin salınımını artırdığı görülmüş ve daha kısa zamanda reperfüzyon hasarını meydana getirmiştir. T-lenfositlerin aktifleşmesi ise reperfüzyon hasarını uzattığı kanıtlanmıştır. Adezyon moleküllerinin de iskemi zamanında akciğer damarındaki endotel hücrelerinde sayısının arttığı görülmüştür. Bu moleküllerden biri olan p-selektin, intraselüler adezyon molekülü ve CD18 gibi moleküllerin reperfüzyon gerçekleşirken etkisiz duruma getirilmeleri akciğer reperfüzyon hasarını azaltıcı rol oynadığı sonucuna varılmıştır<sup>19</sup>. İ/R hasarı düşük sıcaklıkta normal oda sıcaklığına göre daha az oluştuğu bulunmuştur. Düşük sıcaklık, doku ve hücrelerdeki metabolizma hızını yavaşlatır ve enzimlerin pasifize olması sentezlenecek ATP miktarını azaltır. Deneylerde yapılan çalışmalarda akciğerler genellikle düşük sıcaklı bir sıvı içinde bekletilir. Akciğerlerin nakli yapılırken bu sıvı içinde bekletilmesi yapılacak işlem için faydalı ama reperfüzyon sırasında oluşan doku hasarını engelleme durumu yoktur. Bu olaylar gerçekleşirken hücre içinde kalsiyum miktarının birikimi artar ve ortama demir iyonlarının salgılanmasına yardımcı olur<sup>20</sup>.

Akciğer alveollerinde bulunan oksijen iskemi sırasında hücredeki oksijenli solunumun devam etmesine katkıda bulunur<sup>21</sup>. Akciğerde oluşan iskemi ve hipoksinin sonucu olarak oksidatif stresin birbirlerinden farklı olduğu kanısına varılmıştır. Hipoksi gerçekleşirken hızlı gerçekleşen ATP molekülü ATPaz enzimi tarafından yıkımı oluşur. Bu durumun sonucu olarak hipoksantin ürünü meydana gelmiştir. İskemi sonucu oluşan oksijenli solunumda ATP depolarının tükenmesinden bağımsız oksidan hasar oluştuğu bulunmuştur<sup>22,23</sup>.

Düşük sıcaklık hücredeki sodyum potasyum pompasının da çalışma mekanizmasını bozmaktadır<sup>24</sup>. Bunun sonucunda ise hücre içinde Na<sup>+</sup> iyonu birikerek hücrenin şişmesine neden olur. Hücre dışı çözeltilerde bekletildiği zaman reperfüzyonun etkisi sodyum-potasyum pompasının daha az zarar gördüğü bilinmektedir<sup>25</sup>. Hücre içinde Ca<sup>+2</sup> iyonun artması nedeniyle düşük sıcaklıkta önemli bir sorunu ortaya çıkarmış ve enzimlerin dönüşümü gerçekleştiği için mitokondride serbest radikallerin gücünün artmasına neden olmuştur. Düşük sıcaklıkta bekletilen akciğerin reperfüzyonundan sonra hücrelerin intiharı söz konusu olmuştur. İnsan akciğerleri üzerinde yapılan deneysel çalışma sonuçlarına göre iki saatlik reperfüzyondan sonra hücrelerin %30 oranında intihar ettikleri sonucuna varılmıştır<sup>26</sup>.

### **2.2.2. İskemik önkoşullanma**

İskemik önkoşullanma doku ve hücrelerde kısa zamanlı yapılan iskemi ve reperfüzyon sonucunda daha uzun zamalı iskemi oluşturularak dokular üzerinde oluşturulan hasarın daha az görülmesi durumudur. İskemik koşullanma konusunda yapılan ilk çalışma 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından köpek kalbinin miyokard tabakasında yapılmıştır<sup>27</sup>. Bu konudaki çalışmalar her geçen gün geliştirilerek beyin, karaciğer ve kas hücrelerinde de rahatlıkla uygulanacağı görülmüştür. İskemik önkoşullanma akciğerler üzerinde ise koruyucu etki yapabileceğini kanıtlayan çalışmalar vardır<sup>28</sup>. İskemik önkoşullanmayı uyarabilmek için yapılacak olan tekrarlı iskemik çalışmalar türe göre özel bi durumla kendisini belli eder. Memeliler sınıfında bulunan farklı tür canlıların kalpleri üzerinde yapılan birçok makaleler bulunmaktadır. Bu canlıların kalplerindeki koruyuculuk etkisi tavşanlarda 30dk yapılan reperfüzyondan sonra biterken, sıçanlarda 1 saat ve köpeklerde 2 saat olarak belirlenmiştir<sup>29</sup>.

İskemi sırasında kalpte NO miktarı artış göstermekle kalbi reperfüzyondan korur ve kalp krizini önlediği hakkında çalışmalar yapılmıştır. İskemik önkoşullanmada NO kalbin miyokard tabakasını koruduğu bilinmektedir<sup>30</sup>. Akciğerlerde yapılan ilk iskemik önkoşullanma çalışmalarını Neely ve arkadaşları tarafından kediler üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmada adenozin reseptör antagonistleri veya iskemik önkoşullanma 10dk iskemi ve 10dk reperfüzyon yapılarak alveollerde gerçekleşen hasarı %60 oranında azaltmıştır. Sıçanların akciğerlerinde ise +4 derecede fizyolojik sıvı içerisinde bekletilmiş ve iskemi sonucunda akciğer doku hasarını çok azaltmıştır fakat dokulardaki gaz alış veriş dengesini tekrar sağlamak mümkün olmamıştır<sup>31</sup>.

İn vivo yapılan çalışmada 5dk uygulanan iskemik ön koşullanmanın üç saatlik iskemiden sonra akciğerlerde oluşan bozukluğu tamir edebileceği çalışması yapılmıştır. Waldow ve arkadaşları İ/R'den önce solunum yolundan NO uygulaması yapılmış ve akciğer atar damarındaki yüksek tansiyonu ve oksijen derişimini, İ/R hasarını azaltmıştır<sup>32</sup>. Antiaritmetik etkisi olduğu bulunan lidokainin post iskemik sıçan akciğerinde yağ/kuru akciğer oranını, akciğer atar damar kan basıncını ve solunum yolu basıncını azaltıcı etkisi olduğu bilinmektedir<sup>33</sup>.

İskemik önkoşullanmada etkisi olduğu düşünülen ve doku hasarını önleyen  $K_{ATP}$  kanallarının büyük rolü olduğu bilinmektedir. Akciğer üzerinde yapılan bu çalışmalar ise henüz az sayıdadır. Fukuse ve arkadaşları tarafından  $K_{ATP}$  kanallarını açma konusunda pinasidilin akciğerleri koruyucu solüsyona eklenmesi ile İ/R hasarını azaltmış ve yağ peroksidi reperfüzyon sonrası engellediği görülmüştür. Bu çalışma aynı zamanda oksijenli solunum mekanizmasının devam ettiği hakkında da bilgi vermiştir. Akciğerlerde gaz alış verişinin normal düzeyde devam ettiği ve akciğer hücre şeklinin korunduğu doku bilimi olarak kanıtlanmıştır<sup>34</sup>. Kalbin iskemik hoş görü aralığı doğal ya sümilasyon yolu ile hipoksi değişimine bağlı olarak artmaya başlamıştır. Sonuç olarak hipoksi ile yapılan uyum mekanizmaları ve iskemik ön koşullanma arasında belirgin bir benzerlik olabileceği düşünölmüştür. Kalbin miyokardında ve miyositlerinde önkoşullanma işleminin hipoksi yöntemi ile de oluşabileceğinin farkına varılmıştır. Akciğerler üzerinde şimdiye kadar böyle bi çalışmanın yapıldığı henüz görölmemiştir<sup>35</sup>.

### **2.3. İnce bağırsakların yapısı**

İnce bağırsak mide ile birleştiği yerden (pilor) başlayarak karın boşluğunu dolduran ve hareket etme özelliğine sahip ksindirim sistemini oluşturan organlarımızdan biridir. Kalın bağırsak ile birleştiği bölüme çekum adı verilir. Sindirim sonucu oluşan monomerler ve vitamin grupları burada bulunun mikrovilluslar tarafından emilir ve kan kılcallarına ya da lenf kılcallarına geçerek dolaşım sistemine katılmış olurlar. 5-7m uzunluğu ile sindirim kanalının en uzun bölümünü meydana getirir. İnce bağırsak uzunluğu hayvanların beslenme çeşitlerine göre değişken olma özelliğine sahiptir. Otuç beslenen hayvanların, bitkilerdeki selüloz sindirimini gerçekleştirmek için daha uzun bir bağırsak anatomisine uyum sağlamışlardır. İnce bağırsak duedonum, jejenum ve ileum olmak üzere üç bölümde incelenmiştir<sup>36</sup>.

#### **2.3.1. Duodonum**

Pilordan başlayıp yaklaşık 30cm uzunluğunda, L<sub>2</sub> düzeyinde ve C şeklinde olan lümenli yapıda olan bir organdır. Önce L<sub>1</sub> seviyesinden başlar yukarı doğru çıkıp sonra göbek kısmına kadar inen bir yol izler<sup>37</sup>. Duodonum dört bölümden oluştuğu söylenmiştir.

Pars süperior, diğer adı bulbus olan bu bölgesi duedonumun ilk aralığıdır.

Papilla duodonet, bu bölüme karaciğer ve pankreastan gelen sindirim kanalları bağlanır. Bu kanalların içinde çeşitli besinlerin sindirimini gerçekleştiren sindirim enzimleri bulunur.

Pars horizontal, L<sub>3</sub> seviyesinde yerleşmiştir.

Pars ascendes, duedonumun son bölümüdür<sup>38</sup>.

#### **2.3.2. Jejenum ve ileum**

Jejunum ve ileumu birbirinden ayıran net bir çizgi yoktur. Jejunum karın sol alt tarafında yerleşirken ileum ise sağ alt tarafında yerleşir. Bunların mezenter arterleri periton denilen bir zarla koruyucu amaçla örtülmüştür. İnce bağırsak mezenteri sol üst kısımdan duedonuma, aşğıdan ise sağ alt taraftan çekuma bağlanan 15cm uzunluğunda olan kısımdır.

İnce bağırsağının tamamını karnın arka duvarına bağlar ve karın boşluğuna yelpaze şeklinde açılmıştır. Burada peritondan meydana gelen yaprak şeklindeki zarlar arasında atar, toplar, lenf, kılcak damarlar ve sinirler yerleşmiştir<sup>39</sup>. Deudonum dışında kalan tüm ince bağırsak damarları süperior mezentrik arterden (SMA) beslenir. SMA'dan çıkan besleyici damarlar jejunum ve ileum kısımlarına gelince ikiye ayrılır. Bağırsak duvarına mezentrik kenardan giren vasa rektalar kanlanmayı sağlar. Vasa rektalar da kendi aralarında dallara ayrılır. Bağırsak duvarından giren arterler içerde daha sık dallanma yaparak doku hücrelerini besin açısından zenginleştirir. Bu arada venler de arterlere eşlik ederek üst mezenter veni dolaşarak vena portaya döküldüğü bilinmektedir. İnce bağırsakların çalışma mekanizmasında parasempatik sinirler uyarıcı etki yaparken sempatik sinirler ise yavaşlatıcı etki gösterir<sup>40</sup>.

### **2.3.3. İnce bağırsak iskemi/reperfüzyonu**

Organik ve inorganik bileşiklerin yapısına en çok katılan elementlerinden biridir. Canlıların oksijenli ve oksijensiz solunum yapmasıyla metabolizma hızını düzenleyici görev yaparlar. Katalaz ve oksidaz enzimleri organik olan besinleri inorganik besinlere parçalar ve daha farklı bileşiklerin yapısına katılmalarına neden olur. Kendi yapısını oluşturan elementlerden yalnız oksijen molekülünü enzim gibi kullanarak canlı doku üzerinde yapmış olduğu belirti görülmüştür. Bu durumdan da anlaşılacağı üzere oksijenin hücreler üzerinde değişik etkileri vardır<sup>41</sup>. İskemi sırasında dokularda depolanmış olan enerjinin bitmesi ile oluşan kaskatlar oluşmaya başlar. Reperfüzyon olayının başlaması ile iskemi durumunda kaybedilen bazı durumların geri gelmesi ya da dokulara giden yüksek derişimdeki oksijenin vereceği hasar daha çoktur<sup>42</sup>. İnce bağırsak İ/R hasarı en çok görülen bir klinik vakasıdır. Bu kansızlığın temel nedeni ise SMA'nın tıkanması ile gerçekleşir. Bunun neticesinde dokular üzerinde oluşan hasarın çok daha şiddetli olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Tromboz, emboli, tümör, fibrötik bant gibi damar içi ve damar dışı yapılan uygulamalarla incebağırsaklarda iskemi oluşturmak mümkündür. Aynı zamanda damar içi tıkanıklığı oluşturmayan düşük tansiyon da dokulara giden kanın akış hızı azalacağından iskemiye sebep olma ihtimali yüksektir<sup>43</sup>. İnce bağırsağın bazı bölümleri kalın bağırsağa göre daha az etkilenir. Kalın bağırsakta görülen iskemi ise inen kolon ve rektumda oluşur. Buraya gelen arterlerin az olmasından kaynaklanan beslenme yetersizliğinin az olması neden olur<sup>44</sup>.

#### 2.3.4. Kılcal damarlardan doku sıvısına protein kaçışı

ACE (anjiyotensin dönüştürücü enzim) inhibitörlerinin tedavide yaygın olarak kullanılır, hafif öksürük ve sinir hücrelerinde oluşan ödemle yakından ilişkilidir. ACE inhibitörlerinin zıt etkisinin kininler üzerinde rol oynayıp oynamadığını günümüzde yapılan çalışmalar desteklemesine rağmen yapılan ayrıntılı incelemeler bu hipotezin sorgulanmasına yol açmıştır<sup>45</sup>. Özellikle ACE hava yolunda yavaşlatıcı hiçbir inflamator yanıt alınmamasının sebebi bilinmemektedir. Bu yüzden bu cevaplar her hangibir nedenle üretimiş olabilir. Şimdi yapılacak olan çalışmada farelerin sindirim ve solunum sistemlerinde kininlerin olup olmadığı ile ilgili ACE inhibitörlerinin plazma sızıntısını artırmasına etkisinin varlığı araştırılmıştır. ACE inhibitörlerinin farklı hacimleri farelerin trake borularında, mide, pankreas, duodenum ve farklı dokularda Evans mavisinin sıvıdaki değeri ölçülmüştür. Burada yüksek derecede bağlanan antagonist BK B<sub>2</sub> (bradykinin) ve NK<sub>1</sub> kullanılmıştır. BK B<sub>2</sub> reseptör geni kodlanmış ve fareler deneyinde kullanılmış, homolog bölgelerdeki genin bozulduğu görülmüştür. Monastral mavisi farelerin hücre sıvısında belli bir bölgede işaret verici olmuştur. Ratların plazma sıvısında kaptopril etkisi de öğrenilmiş oldu<sup>46</sup>.

Evans mavisini damardan enjekte edildiği zaman plazma proteinlerine bağlanır ve damar içinde bu şekilde olduğu gibi kalır. Eğer plazma sızıntısı olursa Evans mavisini dokudan dışarıya çıkar. Bu nedenle Evans mavisini doku içine sızarak plazma proteinlerini işaretleyici olarak kullanılır. Evans mavisini albumine ise çok güçlü bağlandığı için akciğer hasarında plazma proteinlerinin tanınması için kullanılmaya devam ediliyor. Evans mavisini hayvanlara (30mg/kg) olacak şekilde abdominal veya penil veneden verilir. Akciğer dokularında miligram olarak tartılır ve içindeki Evans mavi miktarı ölçülür ve gerekli olan değerler bulunmuş olur<sup>47</sup>.

Astım doku hasarında akciğer dokusunun içine kılcal damardan plazma proteinlerinin sızması önemli bir sonucu teşkil eder. Dokularda biriken Evans mavisinin ölçülmesi ve karşılaştırma yapılması plazma proteinleri sızıntısı ve proteinlere bağlanması hakkında bilgi vermektedir. Ratlarda ovalbumin ile duyarlılaştırılmış, kapsaisin ve ovalbuminin damar içi verilmesi deneylerde yer almıştır. Akciğer dokusundaki kılcal damardan sızıntı olmasının nedeni ovalbumin ya da kapsaisin olduğu sonucuna varılmıştır. Morfinin solunum yolundaki dokulardan plazma sızıntısını durdurduğu görülmüştür<sup>48</sup>.



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Etik kurul izin yazısı**

Bu çalışmaya ilişkin, Düzce Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan (DÜ-HADYEK) 2011/006 nolu etik kurul izni alınmıştır.

##### **3.1.2. Laboratuvar koşulları**

Çalışmaların tamamı Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ve Orman Fakültesi Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda Tıbbi Farmakoloji ve Biyoteknoloji laboratuvarında bulunan cihaz, teknik malzeme ve sarf malzemeleri kullanılmıştır.

###### **3.1.2.1. Cihazlar ve teknik malzemeler**

Hassas terazi (precisa)

İnkübatör (nüve)

Spektrofotometre (agilent 8453)

Spektrofotometre banyoları (101-QS)

Mikroklempe

Cerrahi aletler

İ.V kanül

Enjektörler

Buzdolabı (profilo)

Cam tüp

Yayvan cam kaplar

Mikropipetler

### **3.1.2.2. Standartlar ve kitleler**

AM1241 kanabinoid reseptör agonisti Sigma-Aldrich (ABD) firmasından elde edilmiştir.

Evans blue dye fluka

Formamide sigma aldrich (ABD)

### **3.1.2.3. Kimyasallar**

AM1241 (Sigma-Aldrich)

Anestezikler (ketamin ve ksilazin)

Heparin sodyum (Mustafa Nevzat İlaç)

Formamide (sigma-aldrich)

Evans blu dye fluke

### **3.1.2.4. Analizler**

Akciğer ve ileum dokularındaki kılcak damarlarda biriken evans mavisi konsantrasyonu grupların ortalama hatası (ng/mg ) olacak şekilde sonuçlar elde edilmiştir. Gruplar arasında oluşan farklılıkları karşılaştırma yaparken one-way analysis of variance (ANOVA), ileum karşılaştırmada student-newman-keuls multiple comparions test, akciğer karşılaştırmada bonferroni multiple comparisons test ve graphpad programı ise ( $P < 0,05$ ) değerinde kullanılmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Çalışmada kullanılan hayvanlar ve deney uygulamaları

Deneyde 18 adet ( $180 \pm 300$ g) vistar albino dişi sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele 3 gruba ayrılmıştır. Deney hayvanlarının tamamı, çalışma boyunca  $22 \pm 5$  °C oda ısısında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü bulunan ortamda takip edilmiştir. Hayvanların su ve besin ihtiyaçları günlük karşılanmıştır.

**Tablo 2: Deneyde kullanılan gruplar ve yapılan işlemler**

Grup Adı	n sayısı	Yapılan İşlem
Şam-Kontrol	6	İp. Anestezi yapıldı ve batin açılıp kapatıldı. 30dk iskemi yapıldı. Son 10dk abdominal venden (0.3ml) evans mavisi verildi. 180dk reperfüzyon yapıldı. SF ile dolaşım sistemi temizlendi. Akciğer ve ileum dokuları alınıp tartıldı.
İ/R	6	İp. Anestezi yapıldı ve batin açılıp kapandı. SMA mikro klemp ile bağlandı ve 30dk boyunca iskemi yapıldı. Sonra 180dk reperfüzyon yapıldı. Son 10dk (0.3ml) evans mavisi verildi. Kalbin sol aortuna kanülle girilip SF ile temizlendi(20ml). SF içine heparin katıldı(0.1ml). Akciğer ve ileumların tartılma işlemi yapıldı.
İ/R+CB <sub>2</sub> Agonisti	6	İp. Anestezi yapıldı ve batin açıldı. AM1241 agonisti DMSO'da çözüldü(5mg/kg) ve abdominal venden (0.3ml) hacimde verildi. 10dk beklenildi ve sonra mikroklemple 30dk iskemi yapıldı. Sonra 180dk reperfüzyon yapıldı. Son 10dk abdominal venden 0.3ml evans mavisi verildi. Kanülle aorta girildikten sonra sol atrium kesildi ve (20ml)'lik SF ile hayvanın kanı ve dokularındaki evans mavisi temizlendi. En son işlem olarak alınan dokular tartıldı yarısı (2ml) formamide diğer yarısı da inkübatöre konuldu. İki gün sonra tekrar dokular tartıldı.

### **3.2.2. İ/R modelinin oluşturulması**

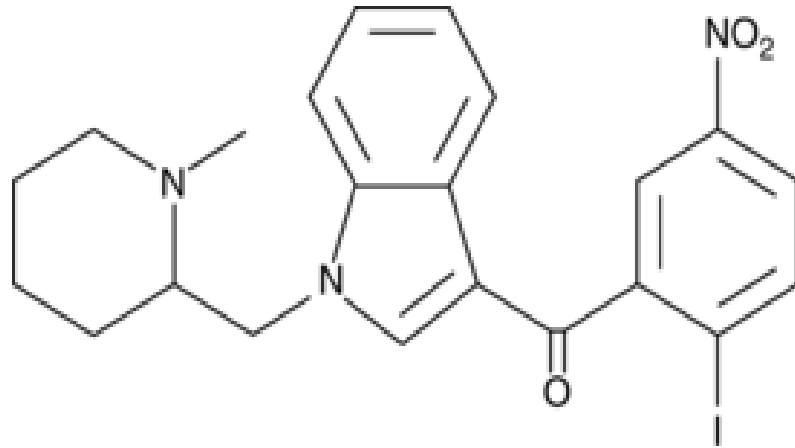
Daha önce kullanılan yöntemlerden faydalanılmıştır<sup>49</sup>. Bu yöntemde baktığımız zaman fareler üzerinde İ/R hasarı modeli oluşturulmuş. Ben de bu çalışmada daha önceki çalışmaları ölçü alıp, sıçanlar üzerinde plazma sızıntısının akciğer ve ileum dokularındaki miktarlarını spektrofotometre (UV) cihazında karşılaştırdım. Kontrol grubu üzerinde SMA mikroklemple bağlandıktan sonra 30dk dokulara giden oksijen miktarının azalması ile doku hasarı oluşumu sağlanmıştır. Burada oluşan doku hasarı 180dk reperfüzyon yapılması ile dokularda oluşan hasar boyutu ani oksijenlenme ile daha da artırılmıştır. Son 10dk'lık zaman diliminde ise Evans mavisi abdominal venden uygulama yapılarak sıçanın dolaşım sistemine girildikten sonra her tarafına yayılması ile gerekli renk değişimi gerçekleşmiştir. Dokulara yeteri kadar Evans mavisinin geçmesi için 10dk beklenmiştir. Bu aşamadan hemen sonra sıçanın göğüs kafesi açılarak kalbin üstündeki koruyucu olan zar kesildikten sonra kalp ve akciğer bulunmuştur. Hayvanın dolaşım sistemindeki Evans mavisini temizlemeye bilmek için kalbin çalışma durmu dikkate alınarak ince uçlu kanülle birlikte kalbin sol karıncık bölümünden aorta girilmiştir. Bu çalışma sırasında sıçanın kalbi hala atıyordu. Heparinli SF 20ml enjektör ile çok az miktarda verildikten sonra dolaşım sistemine verilen sıvının dışarı çıkabilmesi için kalbin sağ kulakçığı ince uçlu makas ile kesilmiştir. İstenilen kan akışı sağlandıktan sonra heparinli SF yavaş yavaş verilmeye başlandı. Bu standartta çalışma devam ederken sıçanın bütün dokuları Evans mavisinden temizlenmiş oldu. Sıçan yaşamaya devam ettiği için öncelikle kalbi kesilerek öldürülmüştür. Bu işlemlerden sonra hayvanın akciğer ve ileumu hassas bir şekilde alınmıştır. İleumun içi SF ile temizlenmiş ve dokuya zarar vermemek için gerekli önem verilmiştir. İleumun dış kısmını saran yağ dokuları da temizlendikten sonra yaklaşık olarak eşit olacak şekilde iki parçaya ayrılmıştır. Bu doku parçaları havlu ile kurutulmuş ve hassas terazide tartılıp, ağırlıkları mg olarak notdefterine yazılmış ve numarası verilmiştir.

### **3.2.3. Numunelerin hazırlanması**

Sıçanlardan hem akciğer dokusu hem de ileum alınmıştır. Sonra iki parçaya bölünmüştür. Bir parçası ağzı açık cam kaba konulmuş ve kuruması için 48 saat boyunca 60<sup>0</sup>C inkübatöre konulmuştur. Diğer parçası ise (2ml) formamide bulunan cam tüp içine konulmuş ve oda sıcaklığında 48 saat bekletilmiştir. Akciğer dokusu da yaklaşık olarak eşit olacak şekilde 2 parçaya ayrılmış ve havlu ile kurutulduktan sonra hassas terazide tartılmıştır. Sonuçlar notdefterine yazılarak numara verilmiştir.

Akciğer parçalarının bir tanesi üstü açık cam kaba konularak 48 saat boyunca kuruması için 60°C sabit sıcaklıkta bulunan inkübatöre konulmuştur. Diğer parça aynı ileumda olduğu gibi ( 2ml) formamide içeren cam tüpün içine konulmuş ve oda sıcaklığında 48 saat bekletilmiştir. 48 saat sonra bu doku parçaları buldukları ortamlardan alınarak hassas terazide tekrar tartılmış ve sonuçlar notdefterine yazılmıştır. Formamide içinde bulunan doku parçaları tartılmadan önce kurulanmış ve bu şekilde tartılma işlemi tamamlanmıştır.

Akciğer ve ileum doku parçaları tartıldıktan sonra atılmıştır. Formamidli sıvılar ise UV cihazında ölçülebilmesi için formamidli standartları hazırlanmıştır. Cam tüpler içindeki yaş dokuların sıvısı mikropipetle alındıktan sonra UV küvetlerine dolduruldu. Bu sıvılar ve standartlar ölçülmek üzere UV cihazına sıralarına göre yerleştirilmiştir. Öncelikle bilgisayara standart bilgileri girilerek tanımlanmıştır. Yapılan çalışmanın anlamlı olabilmesi için gerekli olan kalibrasyon grafiği elde edilmiş ve formamidli sıvılar sırasına göre okutulmuştur. Alınan UV değerleri yazılarak bilgisayar hesap tablosunda ilk ve son durumları hakkında sonuçlar elde edilmiştir. SSP'ye veriler girilerek gruplar arasında homojen dağılım kontrol edilmiştir. Bizim için geçerli olan SE ve SEM değerleri 0.05 ya da bu değerden büyük olması dikkate alınmıştır. 2 grup oluşturulmuş ve bunlar arasında akciğer ve ileum değerleri karşılaştırılmıştır.

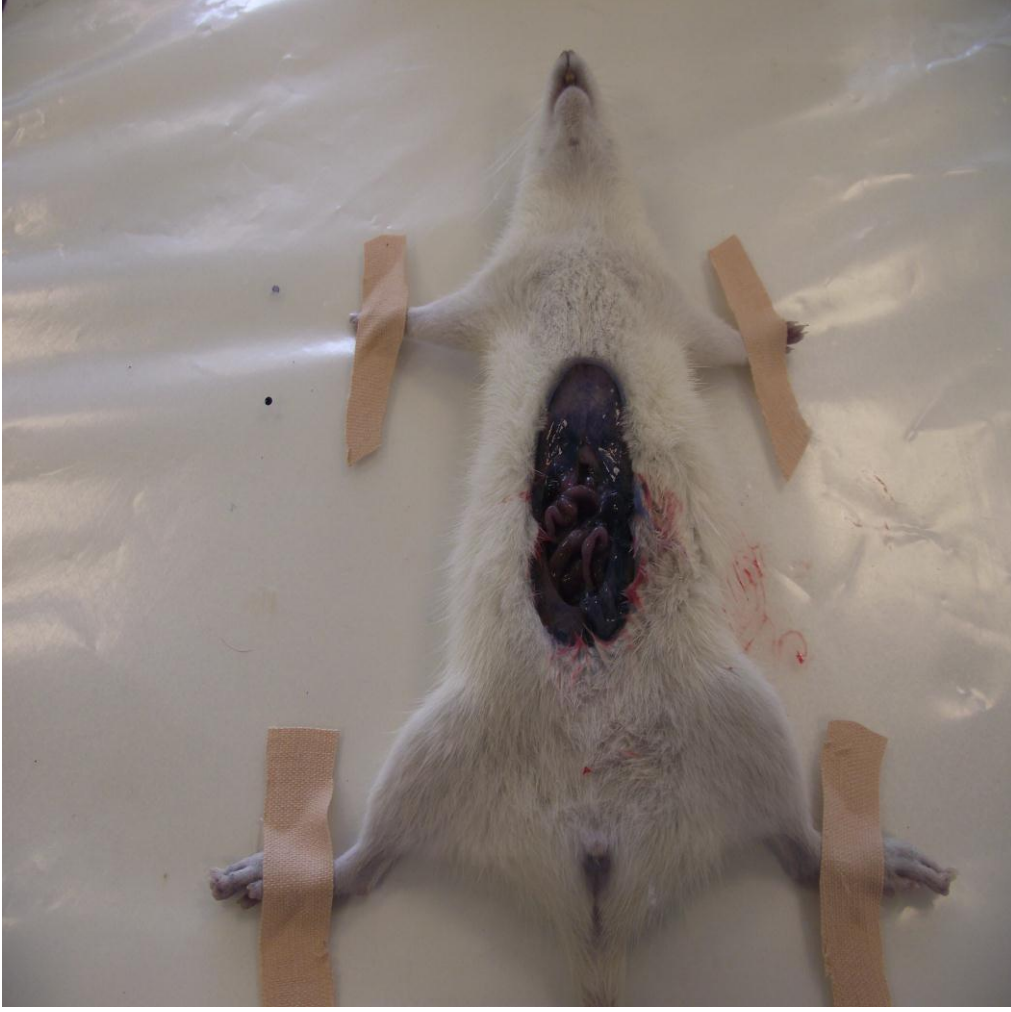


Şekil 1: AM1241 kanabinod agonistinin molekül yapısı.

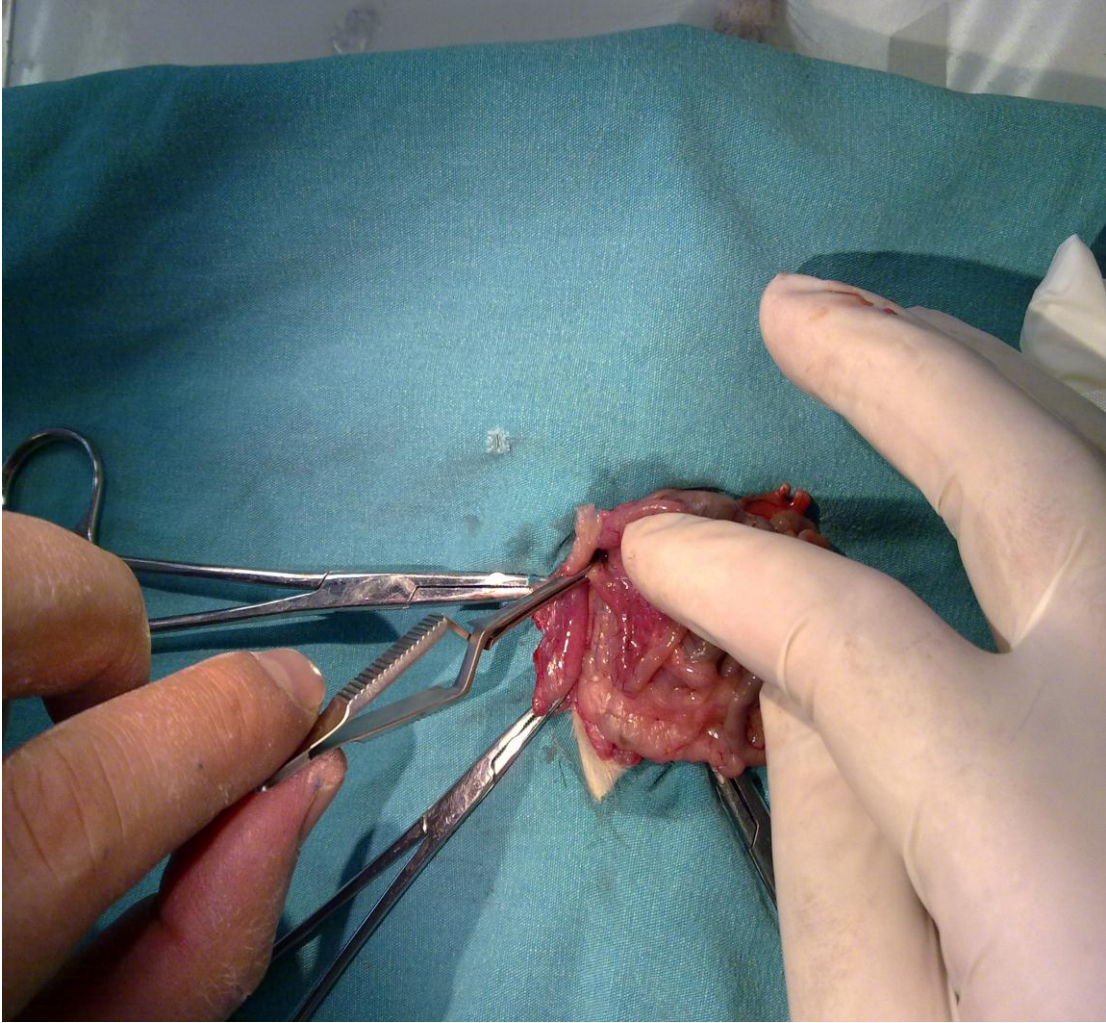
### 3.2.4. Spektrofotometrede Evans mavisi ölçümü

Işın demetinin içinde çeşitli dalga boyları vardır. Bu ışınlar saydam bir ortamdan geçirilirse bazılarının kaybolduğu görülür. Bu duruma bilim dilinde ışığın absorpsiyonu denir. Işınlar emildiği zaman enerjilerini madenin atom ya da iyonlarına aktarır. Enerjiyi emen atom veya moleküllerin enerji düzeyleri yükselir ve kısa zaman sonra tekrar geri bırakır. Eğer ışın bir çözülden geçiyorsa şiddetini azaltır<sup>50</sup>. Bu cihaz en çok moleküler biyolojide kullanılır. Çözelti içindeki madde miktarının ne kadar olduğunun belirlenmesinde tercih edilir. Temel mantığı ise çözülden geçen spektrumların ne kadar emildiğine bakılır. Çözelti içindeki madde miktarı ile emilen ışın doğru orantılıdır. Spektrofotometrenin başlıca iki tane yapısı vardır. Birincisi ışık kaynağı olan spektrometre, ikincisi ise ışık dedektörü görevini yerine getiren fotometredir. Bu çalışmamda 620nm dalga boyu ışını kullanılmıştır.

İnkübatör cihazının çalışma sistemi ise; soğutmalı (-10/60) 252lt, mikroprosesörlü, dijital göstergeli, tıp laboratuvarlarında bakteriyolojik çalışmalarda, ilaç ve gıda laboratuvarlarında ise kuluçka ve değişik amaçlı sıcaklıkların temin edilmesi için çok amaçlı kullanıma müsait bir cihazdır. Cihazın ısıtıcısı kullanılan hacmin dış yüzeyindedir ve sıcaklığın iç hacimde her tarafa homojen bir şekilde dağılmasını sağlar. Benim çalışmamda ise akciğer ve ileum doku parçaları 48 saat boyunca sabit 60°C sıcaklıkta kurutulmuştur. Eğer cihaz çalışır durumda iken kapısı açılırsa iç sıcaklık düştüğü için uyarı verme özelliğine sahiptir.

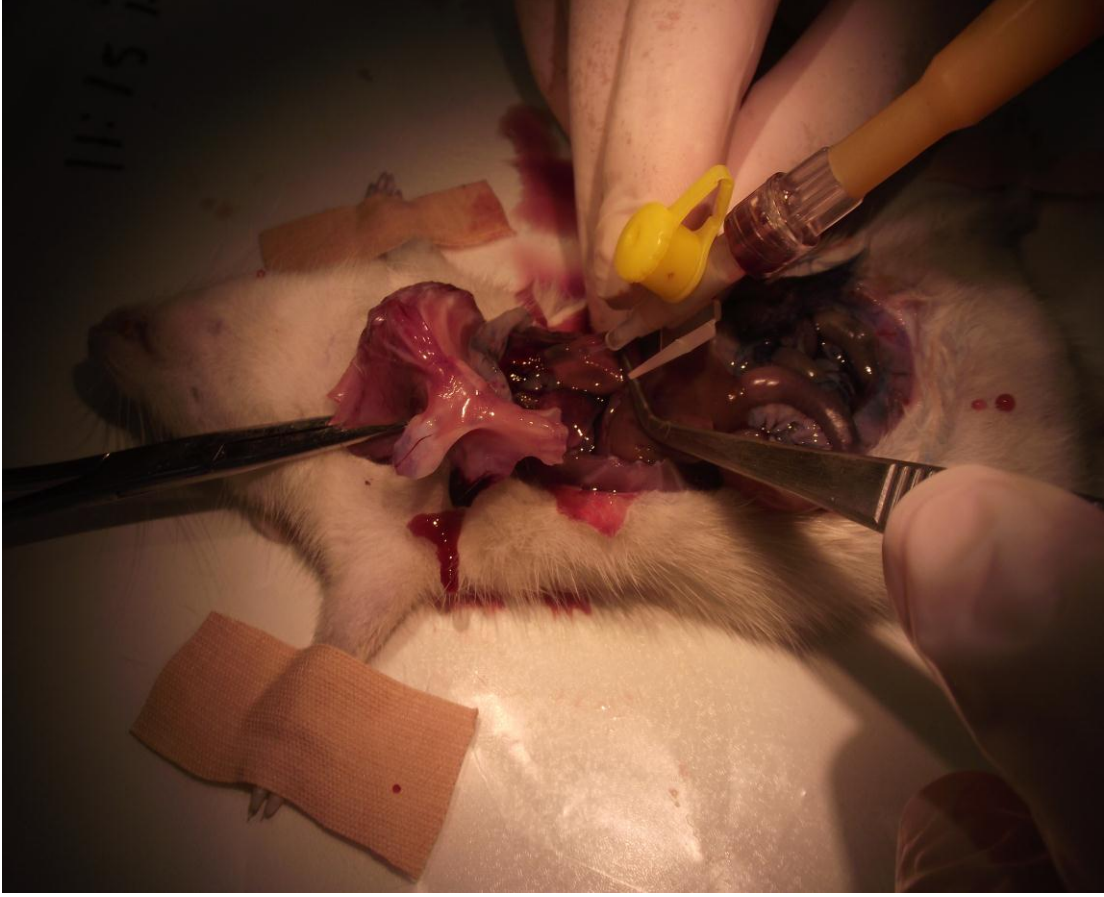


**Resim 1: Abdominal venden evans mavisinin sıçana verilmiş durumu.**



**Resim 2: SMA'nın mikroklemple ile bağlanarak iskemi oluşturulması.**





**Resim 3: Kanüle kalbin aortuna girilerek SF ile sıçanın dolaşım sisteminin, evans mavisi ve kanın temizlenmesi.**



**Resim 4: Spektrofotometre (uv).**

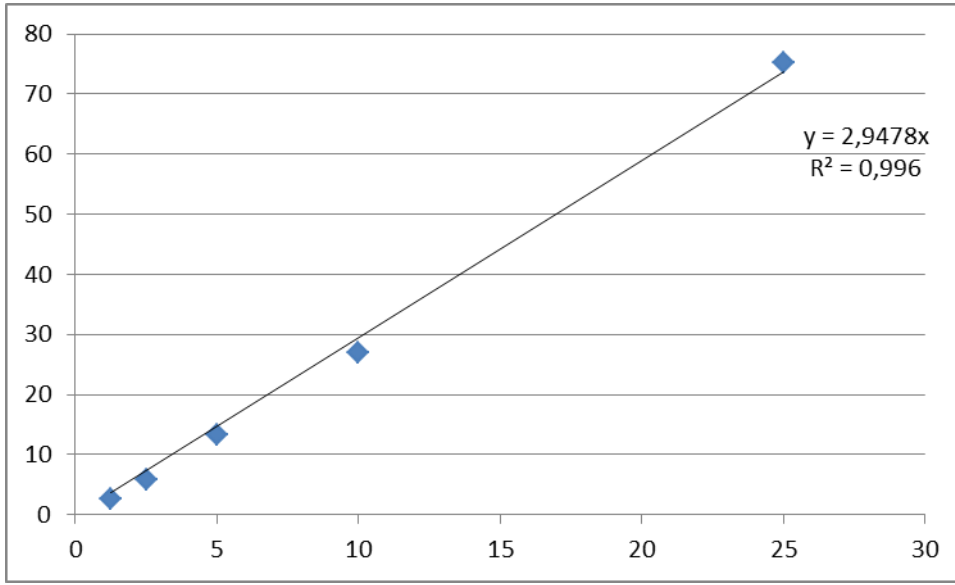


**Resim 5: Denedeyde kullanılan inkübatör**

## 4. BULGULAR

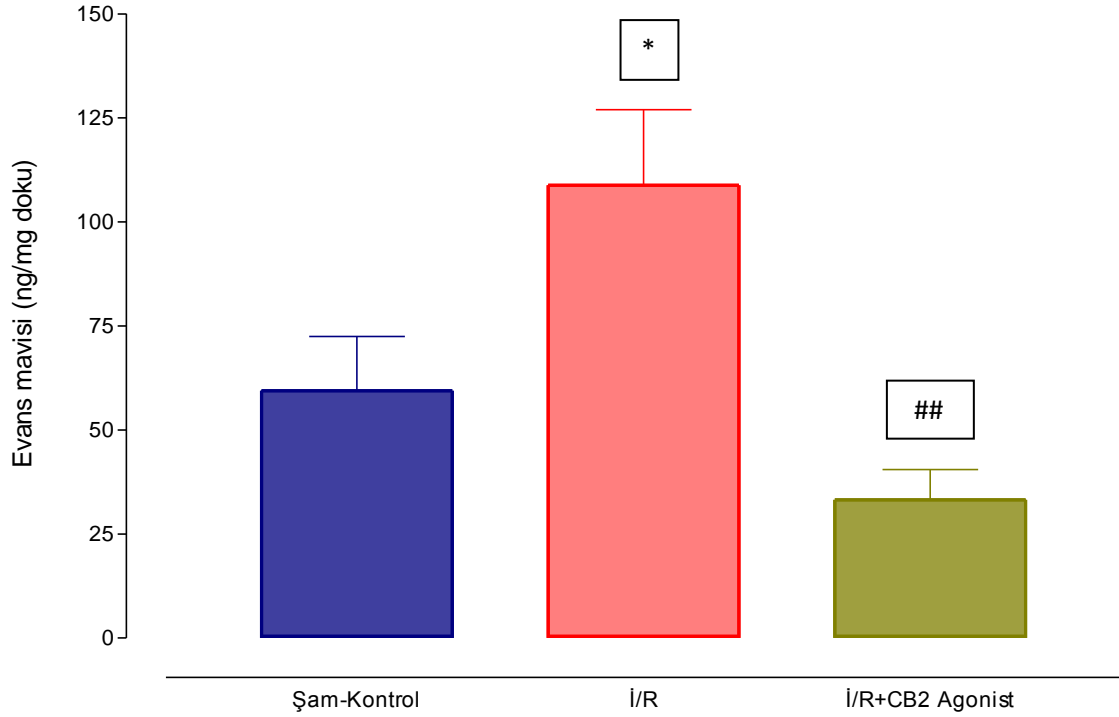
### 4.1. Kalibrasyon eğrisi

Akciğer-ileum dokularının formamide içindeki derişim miktarları standart verilerine göre spektrofotometre cihazında okutularak arasındaki kalibrasyon eğrisi geçerli aralıkta bulunmuştur. Güvenilir aralıkta kullanılan formamide sıvısındaki evans miktarları mg/ml olacak şekilde hesaplanmıştır. Evans mavisi için kalibrasyon eğrisinin denklemi  $y = 2,9478x$  değerinde bulunmuştur.  $R^2$  denklemin değeri 0,996 olarak bulunmuştur.



### 4.2. İleum dokusunda protein kaçışı miktarları

İleum dokusunda kılcal damardan doku sıvısına geçen protein ve evans mavisi değerleri şam-kontrol, İ/R ve İ/R + CB<sub>2</sub> Agonistinin gruplar arasında karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. SMA'nın mikroklemp ile bağlanması sonucu ileuma giden kan akışının yavaşlaması sonucunda dokularda oksijen ve besin miktarının da azalmasına neden olmuştur. şam-kontrol grubu ile İ/R gurubu arasındaki farkın yüksek olmasının sebebi doku hasarının artışına bağlı olarak kılcal damar geçirgenliğinin artmasıdır.

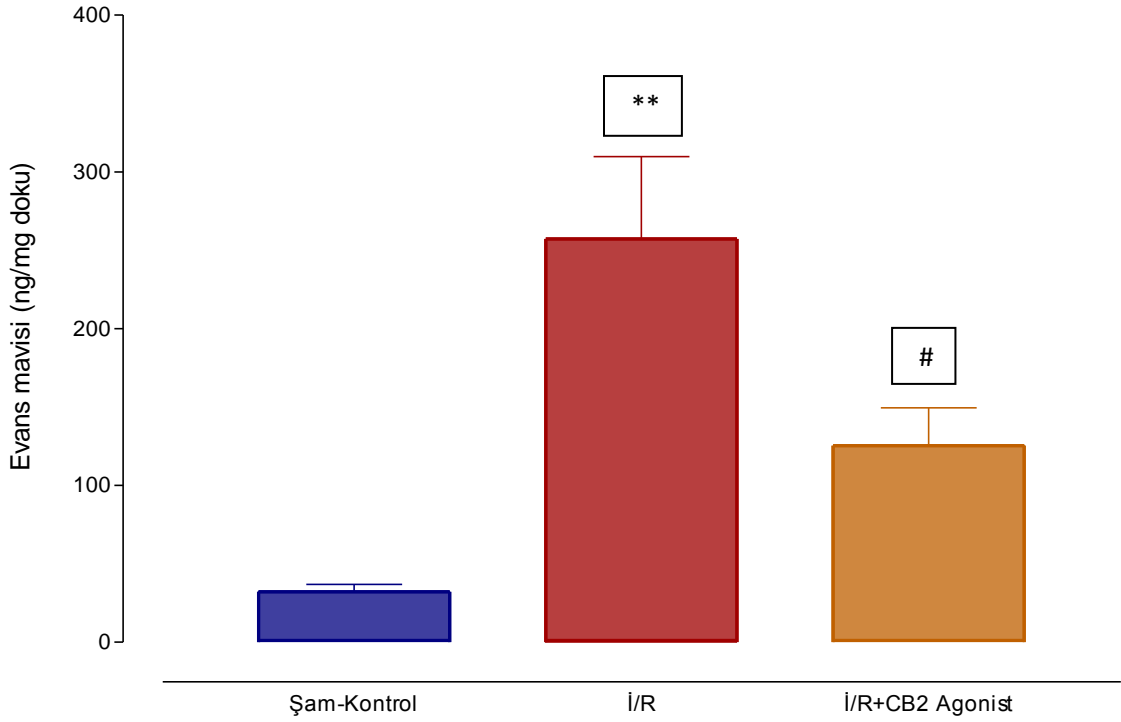


**Şekil 2: İleum dokusunda protein kaçıı.** \*İ/R grubu ile şam-kontrol grubu karşılaştırması(\*P <0,05), İ/R+CB2 Agonist grubu ile İ/R grubu karşılaştırması (\*\*P <0,01).

Deney hayvanlarına abdominal venden 0.3ml evans mavisı verılıp 10dk bekletilmiştir. Doku sıvısının içindeki evans mavisı spektrofotometre ile ng/mg olacak şekilde ölçülmüştür. Şam-kontrol grubunda standart grub ortalaması 59.40 ± 13.08 ( \*\*P < 0.05), İ/R grubunda 108.80 ± 18.18 ns(P > 0.05), İ/R + CB<sub>2</sub> Agonisti grubunda ise bu; 33.20 ± 7.26 (#P< 0.05) değerleri bulunmuştur. Agonist, akciğer dokusunda göstermiş olduğu etkiyi ileumda da evans mavisinin proteinlere bağlanması ile aynı sonuca varılmıştır. İ/R + CB<sub>2</sub> Agonisti ileum dokusunda hasar olmasına rağmen kılcal damardan doku sıvısına protein geçişini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Akciğer ve ileum dokularından protein sızıntı miktarları birbirinden farklı olduğu tesbit edilmiştir. Agonistin hasar verme durumuna göre bırakacağı etki doku çeşitlerine göre değiştığı sonucuna varmak mümkündür.

### 4.3. Akciğer dokusunda protein kaçıı miktarları

Akciğer dokusunda protein kaçıının miktarı karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Kontrol grubu ile İ/R grubu arasında evans mavisinin kılcal damarlarda proteinlere ne kadar bağlandığı ve doku sıvısına geçıı hakkında bilgi verir.



**Şekil 3: Akciğer dokusunda protein kaçıı.** \*İ/R grubu ile şam-kontrol grubu karşılaştırması (\*\*P <0,001). İ/R+CB2 Agonist grubu ile İ/R grubu karşılaştırması (\*#P <0,05).

Deney hayvanlarına abdominal venden (0.3ml) evans mavisini uygulaması yapılmıştır. Şam grubu ile İ/R grubu arasında görülen belirgin fark; iskemi zamanının artırılması ile akciğerde oluşan doku hasarı artırılarak evans mavisinin sızıntı içine daha çok geçıı görülmüştür. Şam grubunda ölçülen evans mavisini miktarına ortalamanın standart hatası eklenmiştir. Şam-kontrol  $32.20 \pm 4.78$  (s.e.m), İ/R  $257.20 \pm 52.57$ , İ/R+CB<sub>2</sub> Agonist  $125.40 \pm 24.03$  (\*\*P <0,05) sonuçları bulunmuştur. Şam grubuna yapılan işlemler aynı şartlarda İ/R grubuna da yapılmıştır. Dokularda kan ve oksijen miktarının 30dk azalması hücrelere ulaşacak olan besin ve oksijen miktarını azaltmıştır.

180dk reperfüzyon yapılması ve hücrelere ulaşan oksijen yoğunluğundaki artış dokulardaki hasar boyutunu artırmıştır. Buna bağlı olarak doku sıvısına geçen evans mavisinin artışı proteinlerin evans mavisine bağlanmaları sonucunda İ/R durumunda evans mavisi miktarı yüksek çıkmıştır.

İ/R ve İ/R + CB<sub>2</sub> Agonist arasındaki fark ise agonistin proteinleri tutup, protein ve evans mavisinin doku sıvısına geçişini azalttığı görülür. İlaç, DMSO'da çözülerek (5mg/kg) abdominal venden ( 0.3ml) uygulandı ve 10dk beklenmiştir. Agonist bu zaman diliminde kan dolaşımı ile bütün doku ve organlara yayılması sağlanmıştır. Normal şartlar altında şam gurubundan daha yüksek değerde olması beklenirdi. Agonist aynı zamanda doku hasarının artışı engellediği sonucuna varılmıştır. Bu karşılaştırmada ise ( #P < 0,05) değeriinde bulunmuştur.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı; sıçanlarda deneysel iskemi/reperfüzyon hasarı modelinde, kılcal damarlardan dokuya protein sızmasını ve CB<sub>2</sub> agonisti olan AM1241'in protein sızması üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bu amaç için evans mavisini kullanıldı ve İ/R ile hem barsak ileum dokusunda ve hem de uzak organda gerçekleşen hasarı değerlendirmek için akciğer dokusunda plazma proteinlerinin damar dışına çıkışı spektrofotometre ile ölçüldü.

Kenevir bitkisi uzun yıllardan beri hem bilinci değiştirdiği hem de rahatlatıcı olarak kullanılan bir bitki türüdür. Bu bitkinin yaprak, çiçek ve reçinesinin de kanabinoid çeşitleri vardır. Günümüzde bu bağımlılık yapıcı maddeler esrar olarak kullanılmaya devam etmektedir<sup>1</sup>. Kanabinoidlerin çok sayıda ve farklı yapılarda agonist ve antagonist reseptörlerinin olduğu günümüzde yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde varlıkları tesbit edilmektedir. Bazı kanabinoidlerin reseptörleri ise reaksiyonu yavaşlatıcı özellikte olduğu kanıtlanmıştır. Kanabinoid reseptörleri geniş kapsamlı olarak CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> adı altında toplanmıştır<sup>7</sup>. Yukarıda adı geçen bu reseptörlerin antagonistleri günümüzde bazı hastalıkların tedavisinde kullanıldığı görülmektedir. Zayıflama ilaçları, sigara bıraktırma, şişmanlık ve depresyon gibi hastalıklarda doktorlar gözetiminde reçete ile satılmaktadır. Kanabinoidlerin molekül yapıları tetrahidrokanabinole benzedikleri ve reseptörlerinin aktif aldığı biliniyor. Değişik sıcaklık kanabinoid reseptörlerini pasifleştirebilme özelliğine sahiptir. THC'nin rolü lenfositlerde ve biyolojik bağışıklık sistemindeki bozucu etkisinin sonuçları geniş yer kaplamıştır<sup>50</sup>. Çevresel sinir sistemi sayesinde CB<sub>2</sub> reseptörlerinin ağrı üzerindeki etkisi tam olarak anlaşılmamıştır. AM1241 agonistinin bölgesel ve kan dolaşım sistemine uygulanması sonucu WDR sinir hücrelerindeki C-lifinde meydana gelen hasarı engellemiştir<sup>51</sup>. AM1241 ayrıca deride keratinden opioid ve endorfinin çevresel sistemden serbest bırakılarak doğal uyarıcı gibi salgılanabilmektedir<sup>52</sup>. Kronik hasardan sonra AM1241 beta endorfini serbest bıraktırma konusunda aynı bölgesel uyarıcı etkiyi yapıp yapmadığı konusunda hasarı hafifletici eşik değerinin ne olduğu saptanmıştır.



Omurilik patoloji incelemelerin de ise CB<sub>2</sub> mRNA'nın üretmiş olduğu ağrıya rastlayan aktifleşmiş mikrogliaların yardımıyla olmuştur<sup>53</sup>. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda kanabinoid agonist ve antogonist yerel uygulamalarda hücrelerde oluşan hasar hakkında dokuların karşılaştırmalı olarak çalışmaları yapılmıştır<sup>54</sup>.

İ/R çalışmalarına bakıldığında akciğer dokusundaki miyeloperoksidaz aktivasyonu evans mavisinin bazal seviyesi spektrofotometre 460nm dalga boyunda ölçülmüş, şam kontrol grubu ile İ/R grubu arasında karşılaştırma yapılması sonucu akciğer dokusunda evans miktarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda CB<sub>2</sub> agonisti ile karaciğer dokusunda ve diğer dokularda İ/R hasarına karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu bilimsel çalışmalar sonucu bulunmuştur<sup>55</sup>. Astım sonucu hava yollarında meydana gelen bozulmanın önemli bir etkisi akciğer dokusunda plazma proteinlerinin kılcal damardan sızmasıdır. Dokularda birikmiş evans mavisi, proteinelere bağlanmış durumları plazma sızıntısı ölçülmüş ve değerlendirilmiştir. Sıçanlarda ovalbumin ve kapsasin modeli ile yapılan deneyler bize kılcaldar damarlardan akciğer dokusuna protein sızıntısı olduğunu göstermiştir. Ovalbumin ve kapsasin sıçanlarda damar içinden uygulanmıştır. Kılcal damar sızıntısı akciğer hava yollarında trake, bronş ve alveollerde yeterli miktarda rastlanmıştır. Akciğere verilen morfinin dozu artırıldığı zaman kılcal damardan sızıntınınin yavaşladığı görülmüştür<sup>56</sup>. Ovalbumin miktarı 10mg/kg'dan 30mg/kg seviyesine çıkarıldığı zaman kılcal damar yapısını bozduğu ve histamin geçişini artırmıştır. Opioid reseptörleri insan ve hayvanların hava yoluna bölgesel olarak uygulanmıştır. Barsak, böbrek, beyin ve karaciğerde yapılan İ/R deneyleri günümüzde klinikte çok sık rastlanan dolaşım sistemi bozulmalarını anlatan birçok İ/R modelleri vardır. Enalapril ve farklı dozlarda kaptoprilin damardan verilmesi ile farelerin trakesinde etkisi evans mavisi ölçülmüştür. Bu ilaçlar reperfüzyondan 15dk önce verilmiştir. İstatistik analiz sonucu her bir grubun karşılaştırılması ana değerler ile standart hata (P<0.05) çıkmıştır. Evans mavisi damardan uygulanmadan 5dk önce kaptopril (2.5mg/kg) verilmiştir. Evans mavisinden 25dk önce kaptopril uygulanmış ve plazma sızıntısında artış olmuştur. Kaptoprilin etkisini artırmak için reperfüzyondan 15dk önce (0.5mg/kg) dozunda verilmiş ve farenin trakesinde evans mavisi artışının olmadığı görülmüştür. Birçok bilim adamları İ/R hasarında kanabinoidlerin böbrekler üzerinde koruyucu etkisini araştırmışlar. İ/R serumdaki kreatinin böbrek malondialdehid ve nitrik oksit seviyelerinin artışına neden olduğu ispatlanmıştır.

Kanabinoidler İ/R hasarında gerçekleşen kötü olguların, biyokimyasal tepkimeleri olumlu yönde düzeltmiştir. Patoloji sonuçlarına bakıldığında kanabinoid agonistinin doku bozulmasını engellediği belirtilmiştir. Kanabidiol, bağışıklık sisteminde etkili olan TNF ve nitrik oksit derecesini önemli ölçüde azaltmıştır. Kanabinoidlerin yapısal özelliklerinden dolayı doku hasarına karşı koruyucu ilaç gibi kullanılabilir<sup>57</sup>.

Sıçan İnce barsak ve akciğer dokusunda İ/R hasarı modeli oluşturulmuştur. Bu çalışmada sıçanlar 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol, İ/R ve İ/R+CB<sub>2</sub> reseptör agonistidir. Akciğer ve ileum dokularında Evans mavisini miktarına bağlı olarak kılcal damarlardan doku sıvısına protein kaçıışı hakkında önemli derecede bulgular elde edilmiştir. Sıçanlardan alınan dokular hassas terazide tartılmış ve iki parçaya ayrılmıştır. Bu parçalardan biri oda sıcaklığında formamide (2ml) içine, diğeri ise 60<sup>0</sup> C'lik inkübatöre konulmuşlar ve 48 saat bekletildi. Sonra aradaki ağırlık kaybını bulmak için tekrar tartıldı. Formamide içindeki doku parçaları atıldıktan sonra, dokulardan formamide geçen Evans mavisini spektrofotometre cihazında ölçülerek miktarları bulundu. Her grupta 30dk iskemi, 180dk reperfüzyon ve 10dk Evans mavisini (0.3ml) uygulaması yapılmıştır. Son gruba diğerlerinden farklı olarak CB<sub>2</sub> agonisti olan AM1241 (0.3ml) abdominal venden verilmiştir. Bulgulara bakıldığı zaman, hem akciğer hem de ileumdaki doku hasarlarının ve protein kaçıışının farklı oldukları görüldü. İ/R işleminden önce verilen AM1241'in doku hasarını azaltmıştır (P<0.05). Buna bağlı olarak damar dışına çıkan proteine bağlı Evans mavisini miktarında dikkate değer azalma olmuştur. Gelecekte kanabinoidlerin doku hasarını azaltıcı etkisi dikkate alınarak birçok hastalıklarda ilaç olarak kullanılabilir. Damar dışına sızan protein miktarını azalttığı için kanın ozmotik basıncının daha dengeli olmasını sağlayan etken madde gibi görev alması söz konusudur. Sıçanların akciğer ve ileum dokusunda ölçülen Evans mavisini değerleri arasında anlamlı farklar görüldü. Şam- kontrol ve İ/R grupları arasında (32.20 ± 4.74, 59.40 ± 13.08) P<0.01, İ/R ve İ/R + CB<sub>2</sub> Agonisti grupları arasında (125.40 ± 24.03, 33.20 ± 7.26) P<0.05, Şam-kontrol ve İ/R + CB<sub>2</sub> Agonisti grupları arasında ise (257.20 ± 52.57, 108.80 ± 18.18) P>0.05 anlamlı fark oluşmadı.

## **6. KAYNAKLAR**

1. Ameri A, The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol* 1999; 58: 315-348.
2. Tjeerdema RS. The pyrolysis of cannabinoids. *Ren. Environ. Contam. Toxic.* 1987; 99, 61-81.
3. DiMarzo V, Petrosino S, Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 129-140.
4. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI, Structure of cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990; 346, 561-564.
5. Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC, Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol pharmacol* 1988; 34: 605-613.
6. Munro S, Thomas KL, Abu-shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993; 365: 61-65.
7. Pertwee RG, The pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands: an overview. 2006; 30: S13-8.
8. Childers SR, Deadwyler SA, Role of cyclic AMP in the actions of cannabinoid receptors. *Biochem pharmacol* 1996; 52: 819-27.
9. Graham ES, Ashton JC, Glass M, Cannabinoid receptors: a brief history and what's hot front *Biosci* 2009; 14: 944-57.
10. British Medical Association. *Therapeutic Uses of Cannabis*. London: Harwood Academic Publishers, 1997.
11. Leirer VO, Yesavage JA, Morrow DG, Marijuana carry over effects on aircraft pilot performance. *Aviation space and Environmental Medicine* 1991; 62: 221-227.
12. Maykut MO, Health consequences acute and chronic marijuana use. *Progress in neuro psychopharmacology and biological psychiatry* 1985; 9: 209-38.
13. DiMarzo V, De Petrocellis L. Plant, synthetic, and endogenous cannabinoids in medicine. *Annu Rev Med* 2006; 57: 553-574.

14. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM, Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1359-77.
15. Wilhelm J, Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Açta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1-53
16. Gutteridge JMC, Halliwell B, Reoxygenation injury and antioxidant protection: Tale of two paradoxes. *Arch Biochem Biophys* 1990; 283: 223.
17. Granger DN, Rutuli G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia *Gastroenterology* 1981; 81: 22.
18. Parks DA, Granger DN, Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986; 250: G749.
19. Latham F, The oxygen paradox. Experiments on the effects of oxygen in human anoxia. *Lancet* 1951; 1: 77.
20. Gilbert D. L, ED. Oxygen and living process. An interdisciplinary approach. Newyork: springer-verlag; 1981.
21. Hearse DJ, Humphrey RM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium arrested rat heart. A study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 1973; 5: 395.
22. Fridovich I. Hypoxia and oxygen toxicity. *Adv Neurol* 1979; 26: 255.
23. Haglund U, Bulkly GB, Granger DN, on the pathophysiology of intestinal ischemic injury. *Acta Chir Scand* 1987; 153: 321.
24. Lefer AM, Lefer DJ, Nitric oxide. II. Nitric oxide protects in intestinal inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276: G572.
25. Zimmerman BJ. Granger DN, Reperfusion injury. *Surg clin North Am* 1992; 72: 65-83.
26. Younes M, Schoenberg MH, Jung H, Fredholm BB, Haglund U, Schildberg FW: oxidative tissue damage following regional intestinal isghemia and reperfusion in the cat. *Res Exp Med* 1984; 184: 259-264.
27. McCord JM, Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*. 1985; 312: 159-63.

28. Yoshida WB, Radicais livres na síndrome da isquemia e reperfusão. *Cir Vasc Angiol.* 1996; 12: 82-95.
29. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Lesão e morte celular. In Robbins: patologia estrutural e funcional. 5ed. Rio. De Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.p.1-30.
30. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1988; 255: H1269-75.
31. Moltalto MC, Hart ML, Jordan JE, Wada K, Stahl GL, Role for complement in mediating intestinal nitric oxide synthase-2 and superoxide dismutase expression. *Am J Physiol.* 2003; 285: G197-206.
32. Sisley AC, Desai T, Harig GM, Gevertz BL: Neutropil depletion attenuates human intestinal reperfusion injury. *J Surg Res.* 1994; 57: 192-196.
33. Makoto Sasaki and Takashi Jhon: Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in Gastrointestinal Tract and antioxidant, protective agents. *J.Clin. Biochem. Nutr.* 2007; 40: 1-12.
34. Robinson J. W, Mirkovitch, V, Winistorfer, B, and Saegessers F: Response of the intestinal mucosa to ischemia. *Gut*, 22, 512-527, 1981.
35. Albrecht EW, Stegemen CA, Heringa P, Henning RH, van Goor H: Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J Pathol* 2003; 199: 8-17.
36. Sekhon B, Sekhon C, Khan M, Patel SJ, Singh I, Singh AK, N-Acetyl cysteine protects against injury in a rat model of focal cerebral ischemia. *Brain Res.* 2003; 971: 1-8.
37. Kubes P, and McCafferty DM: Nitric oxide and intestinal inflammation. *Am J Med.* 200; 1092: 150-158.
38. Salzman AL: Nitric oxide in the gut. *New Horiz* 3(2): 352-364, 1995.
39. Howlett AC. Cannabinoid receptor signaling. *Handjob Exp pharmacol* 1988; 34: 605-613.
40. Durst R, Danenberg H, Gallily R, Mechoulam R, Meir K, Grad E, Beerli R, pugatsch T, Tarsish E, Lotan C. Cannabidiol, a nonpsychoactive Cannabis constituents, protects against myocardial ischemic reperfusion injury: *Am J Physiol Heart Circ physiol.* 2007 Dec; 293(6): H3602-7.

41. Stoney RJ, Cunningham CG. Acute mesenteric ischemia. *Surgey*. 1993; 114: 489-90.
42. Bell SC, Reynel AC, Matheson MJ, Finnimore AJ, Berend N. Inhaled FMLP increase microvasculer leakage permeability in the rabbit trachea. *J Apply physiol* 1993; 74: 1337-1351.
43. Cabot PJ, Crammond T, Smith MT, Quantitative autoradiography of peripheral opioid binding sites in rat lung. *Eur J Pharmacol* 1996; 310: 47-53.
44. Kayaalp SO, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji.
45. Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Scholkens B, Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev*. 1995; 47: 25-49.
46. Brokaw JJ, White GW, Differential effects of phosphoramidon and captopril on NK1 receptor mediated plasma extravasation in the rat trachea. *Agents Actions*. 1994; 42: 34-39.
47. Farmer SG, Broom T, Desiato MA. Effects of bradykinin receptor agonists, and captopril and thiorphan in ferret isolated trachea: evidence for bradykinin generation in vitro. *Eur j pharmacol*. 1994; 259: 309-312.
48. Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience*. 1988; 24: 739-768.
49. Nolly II, Carretero OA, Sicicli AG. Kallikrein release by vascular tissue. *Am J Physiol*. 1993; 265: H1209-H1214.
50. T. W. Klein, and C. A. Newton. Therapeutic potential of cannabinoid-based drugs. *Adv. Exp. Med. Biol*. 601: 395-413 (2007).
51. Nackley AG, Zvonok AM, Makriyannis A, Hohmann AG (2004). Activation of cannabinoid CB<sub>2</sub> receptors suppresses C- fiber responses and windup in spinal wide dynamic range neurons in the absence and presence of inflammation. *J Neurophysiol* 92: 3562-3574.
52. İbrahim et al. 2005.

53. Zang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S, Donell D (2003). Induction of CB<sub>2</sub> reseptor expression in the rat spinal kord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. 17: 2750-2754.
54. Beltramo M, Bernardini N, Bertorelli R, Campanella M, Nicolussi E, Fredduzzi S (2006). 23: 1530-1538.
55. Julien B, Grenard P, Teixeira-Clerc F, Van Nhieu JT, Li L, Karsak M, Zimmer A, Lotersztajn S. Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB<sub>2</sub> in the liver. J Biol Chem 2006; 281: 10431-10438.
56. Baluk P, Thurston G, Murphy TJ, Bunnett NW, McDonald DM, Neurogenic plasma leakage in Mouse airways. Br J pharmacol 1999; 126: 522-528.
57. Amr A. Fouad, Abdulruhman S. Al-Mulhim, İyad Jresat. Cannabidiol treatment ameliorates İ/R renal injury in rats. Life Sci. 2012; 284-92.

## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Düzce ilinde doğdum. Lise eğitimini Düzce Lisesinde gördüm. 2003 yılında Karadeniz Teknik üniversitesi Meslek Yüksek Okulu Harita Kadastro Bölümünden mezun oldum. Daha sonra tekrar üniversite sınavına girdim. Azerbaycan Devlet Pedagoji üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünü kazandım. 2008 yılında bu bölümden mezun oldum ve ÖSYM' den denklik aldım. 2009 yılında kısa dönem olarak askerliğimi Mehmetçik dersanesinde yaptım. Sonra dersanelerde öğretmen olarak çalışmaya başladım ve devam ediyorum. Açık Öğretim Fakültesi sosyoloji bölümüne 2013 yılında 2. Üniversite olarak kayıt yaptırđım. Halen 2011 yılında girmiş olduğum Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında eğitimimi sürdürmekteyim.