



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

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE
SULFORAFANIN ETKİLERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Tutkun TALİH

KAYSERİ – 2012



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

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE
SULFORAFANIN ETKİLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Tutkun TALİH

Danışman
Prof. Dr. Erdoğan SÖZÜER

KAYSERİ – 2012

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	ii
TABLO ve ŞEKİL LİSTESİ	v
RESİM ve GRAFİK LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇLAR.....	38
7. KAYNAKLAR.....	39

KISALTMALAR

ARE	: Antioksidan cevap elementi
ATP	: Adenozin trifosfat
°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
CYP	: Sitokrom P450
DNA	: Deoksinükleik asit
dk	: Dakika
Fe	: Demir
gr	: Gram
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
H&E	: Hemotoksilen eozin
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
İL	: İnterlökin
İMA	: İnförior mezenterik arter
ip	: İntraperitoneal
İ-R	: İskemi reperfüzyon
KAT	: Katalaz
KC	:Karaciğer
KD	: Ksantin dehidrogenaz
kg	: Kilogram
KO	: Ksantin oksidaz
L	: Litre

LOO ⁻	: Lipit peroksi radikali
LTB ₄	: Lökotrien B ₄
MDA	: Malondialdehid
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
μM	: Mikromolar
MPO	: Myeloperoksidaz
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid hidrofosfat
Nrf2	: Transkripsiyon faktor NF-E2-related faktör-2
nmol	: Nanomol
NO	: Nitrik oksit
O ₂	: Oksijen
OH ⁻	: Hidroksil kökü
OH [•]	: Hidroksil radikali
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit radikali
O ₂ [•]	: Oksijen radikali
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PLA ₂	: Fosfolipaz A ₂
PGI ₂	: Prostrasiklin
PGE ₂	: Prostoglandin E ₂
PMNL	: Polimorfonükleer lökositler
rpm	: Dakikada tur sayısı
SFN	: Sulforafan
SMA	: Süperior mezenterik arter

SOD	: Süperoksid dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör – α
TXA ₂	: Tromboksan A ₂
ü	: Ünite

TABLO ve ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1. Serbest radikaller ve diğer reaktif O ₂ bileşikleri	13
Tablo 2. Chiu histopatolojik hasar skorlaması	26
Tablo 3. Chiu skorunun karşılaştırılması.....	28
Tablo 4. GSH-Px değerlerinin karşılaştırılması.....	30
Tablo 5. SOD değerlerinin karşılaştırılması	31
Tablo 6. MDA değerlerinin karşılaştırılması.....	31
Şekil 1. SMA ve dalları.....	4
Şekil 2. İMA ve dalları	4
Şekil 3. Süperior ve inferior mezenterik arterler arasındaki ilişkiler	5
Şekil 4. Akut mezenterik iskemi kliniğinde lokal ve sistemik cevaplar	5
Şekil 5. İskemi ve reperfüzyon	8
Şekil 6. Sulforafan biyokimyası	17
Şekil 7. Sulforafan farmakokinetiği	18
Şekil 8. SFN'ın Tümör İnhibisyon Mekanizması	20

RESİM ve GRAFİK LİSTESİ

Resim 1. İleoçekal valv ve superior mezenterik arter eksplorasyonu	23
Resim 2. SMA oklüzyonu.....	23
Resim 3. Bağırsakların batın içine redüksiyonu ve batının kapatılması.....	24
Resim 4. SMA'nın Reperfüzyonu.....	24
Resim 5. Yaklaşık 3 cm.lik terminal ileal segmentin eksizyonu	25
Resim 6. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 1	29
Resim 7. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 2	29
Resim 8. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 3	30

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE SULFORAFANIN ETKİLERİ

ÖZET

Amaç: Beyin, böbrek, karaciğer, kalp gibi organları iskemi reperfüzyon (İ-R) hasarına karşı koruduğu gösterilmiş olan sulforafanın (SFN) deneysel intestinal İ-R modelinde reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırmak.

Materyal ve Metod: Çalışmada 30 adet Wistar–Albino sıçan kullanıldı. Kontrol grubu (n=10), İ-R grubu (n=10) ve SFN+İ-R grubu (n=10) olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Kontrol grubundaki sıçanlar laparotomiye takiben 3 saat gözlem sonrası sakrifiye edildiler. İskemi-reperfüzyon grubuna 1 saat iskemi ve takiben 2 saat reperfüzyon uygulandı. Sulforafan+iskemi-reperfüzyon grubuna 3 mg/kg dozunda SFN intraperitoneal verildi. Histopatolojik inceleme ve doku malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ölçümü için ileum rezeksiyonu yapıldıktan sonra sıçanlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Histopatolojik olarak İ-R ve SFN+İ-R grubunda benzer şekilde hücre hasarı tespit edildi. Sulforafan+iskemi-reperfüzyon grubunda GSH-Px aktivite artışı SOD aktivitesindeki artışa göre daha fazladır ve her iki artış da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Sulforafan uygulaması ile doku MDA seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık olmamıştır.

Sonuç: SFN kullanımının ince bağırsaktaki İ-R hasarına etkisi net gösterilememiştir.

Anahtar Kelimeler: İskemi, reperfüzyon, sulforafan, ince barsak

THE EFFECTS OF SULPHORAPHANE IN THE RAT MODEL OF EXPERIMENTAL INTESTINAL ISCHEMIA REPERFUSION

ABSTRACT

Aim: To investigate the effects of sulphoraphane (SFN), which was shown to protect such organs as the brain, kidneys, liver and the heart against the injury of ischemia reperfusion (I-R), on the injury of reperfusion in the experimental intestinal I-R model.

Material and Method: The study employed 30 Wistar-Albino rats and there were three main groups: control group (n=10), I-R group (n=10) and SFN + I-R group (n=10). The rats in the control group were sacrificed after a 3 hour-follow-up subsequent to the laparotomy. The Ischemia-Reperfusion group was given an hour of ischemia and a two-hour of reperfusion afterwards. The Sulphoraphane+Ischemia-Reperfusion group was administered a dose of 3mg/kg SFN intraperitoneal. The rats were sacrificed after the ileum resection for a measurement of tissue malondialdehit (MDA), superoksid dismutaz (SOD) and glutatyon peroksidaz (GSH-Px) activity and histopathological analysis.

Findings: The IR and SFN+I-R groups were histopatologically shown to have similar cell injuries. In the SFN+I-R group, the increase in the GSH-Px activity was higher than the SOD activity and both of the increases were statistically significant compared to the control group ($p<0,001$). The SFN application did not yield a significant difference in the tissue MDA level compared to the control group.

Result: The effect of the use of SFN on the I-R injury in the intestine did not show an apparent effect.

Key words: ischemia, reperfusion, sulphoraphane, intestine

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Hücrenin iskemik hasarı klinikte en çok karşılaşılan hücre hasarı tipidir ve bu yüzden çok sayıda klinik ve deneysel çalışmada araştırılmıştır. Doğrudan dokuya giden damarın tıkanması ile meydana geldiği gibi, sistemik kan dolaşımının kritik düzeylere düşmesi ile de oluşabilir. Eğer geri dönüşümsüz bir hasar meydana gelmeden tekrar kan dolaşımı sağlanırsa hücre kendini yeniler. Fakat iskeminin şiddeti ve süresi ile ilişkili olarak hücrede geri dönüşümsüz bir hasar meydana gelmiş ise, kan akımının tekrar sağlanması tamir etmek yerine meydana gelen hasarı arttırabilir. Böylece iskemi-reperfüzyon (İ-R) hasarı meydana gelir (1).

İskemi-reperfüzyon hasarı; tüm organ ve sistemleri ilgilendiren, dokulara yeterli oksijen (O_2) sağlanamamasının tetiklediği hücresel olaylar dizisi ve son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan biridir. Dokulara yeterli miktarda O_2 ve diğer metabolik gereksinimlerin ulaştırılamaması sonucunda oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres çoklu organ yetmezliğine kadar varan ciddi klinik sonuçlara neden olabilir. Klinik olarak İ-R hasarı; intestinal cerrahi, organ transplantasyonu, travma cerrahisi ve vasküler cerrahide önem kazanmaktadır (2).

İntestinal iskemi, çeşitli nedenlerle ortaya çıkan etiyolojisine göre mortalite ve morbiditesi değişen klinik bir durumdur. Strangülasyon ileusu ve akut mezenterik iskemi en sık karşılaşılan nedenlerdir (3). Akut mezenterik iskemiler; erken teşhis edilmeleri halinde sonuçları yüz güldürücü olmakla birlikte, tanı kriterlerinin kesin temellere dayanmaması tanıda gecikmelere yol açmaktadır. İskemi sonrası reperfüzyon, hasarlı dokuların iyileşmesi için bir önkoşul olmasına rağmen hasarı daha da arttırabilmektedir (4). Reperfüzyon ile iskemik dokuda oluşan Serbest Oksijen

Radikalleri (SOR)'nin, bu hasardan sorumlu olduğu ortaya konulmuş ve bazı farmakolojik ajanlar ile oluşan reperfüzyona bağılı hasarın azaltılabileceğı veya önlenebileceğı yine bir dizi deneysel araştırmayla kanıtlanmıştır (5). Kliniğimizde bu konuda yapılan araştırmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (6).

Literatürde SFN'ın antioksidan ajan olarak ince bağırsak İ-R modelinde etkisinin ve uygulama biçiminin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan deneysel ince bağırsak İ-R hasarında uygulanan SFN'ın etkisini incelemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. CERRAHİ ANATOMİ

Mezenterik dolaşım üç arteri içerir:

- 1) Çölyak trunkus; mide ve duodenumun proksimal yarısını besler.
- 2) Superior mezenterik arter (SMA); duodenumun distal yarısı, jejunum, ileum, çekum, apandiks, çıkan kolon ve proksimal 2/3 transvers kolonu besler (Şekil 1.1).
- 3) İnferior mezenterik arter (İMA); 1/3 distal transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon, rektum ve anal kanalın proksimal kısmını besler (Şekil 1.2).

Superior mezenterik arter, çölyak arterin yaklaşık 1cm altından, L1 düzeyinde abdominal aortadan çıkar. SMA'nın en önemli dalları, inferior pankreatikoduodenal arter, 4-6 jejunal dal, 9-13 ileal dal, ileokolik arter, sağ kolik arter ve orta kolik arterdir.

Mezenter damarlarının birbirleri arasında zengin kollateral dolaşım vardır. Bu yan dal ağının zengin olması nedeniyle en azından iki ya da üç ana damarın tıkanması ya da kritik darlığa sahip olması durumunda klinik bulgular ortaya çıkar.

Superior mezenterik arter ve çölyak trunkus arasındaki anatomik ilişki

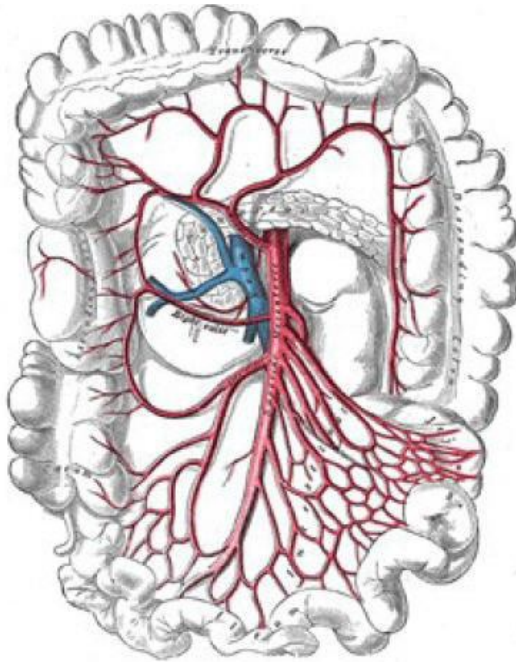
İnferior pankreatikoduodenal arter SMA'nın ilk dalıdır. Ön ve arka olarak ikiye ayrılır. Bu dallar çölyak trunkus ile, süperior pankreatikoduodenal arter aracılığı ile ilişkilidir. Bu iki arter arasındaki temel yan dal grubu, gastroduodenal veya pankreatikoduodenal arterler yolu ile sağlanır. Bu seviyede iki önemli yan dal vardır. Birincisi SMA'nın omental dalları ile çölyak trunkus dalları arasında gelişebilen Barkow arkı , diğeri de

SMA ve çölyak trunkus arasındaki embriyonik bir kalıntı olan ve sık gözükmeyen Bühler arkıdır.

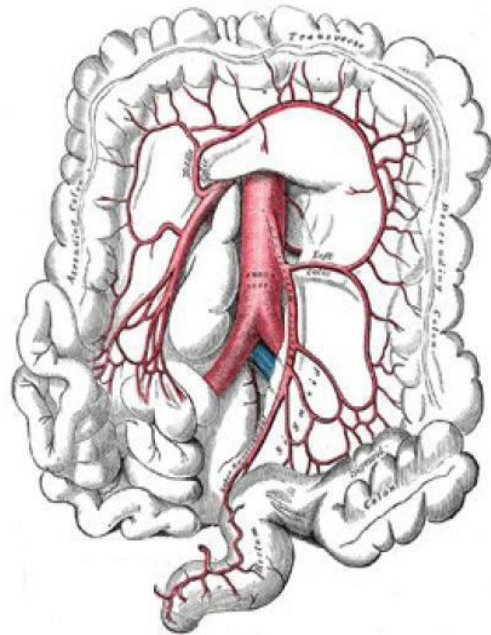
Superior mezenterik arter ve İnferior mezenterik arter arasındaki anatomik ilişki

Superior mezenterik arter ve İMA arasında üç önemli ilişki vardır (Şekil 1.3). En önemlisi Drummond'un marjinal arteridir. Normalde kolonun mezenter yüzeyine yakın ve küçük olan bu arter SMA ve İMA tıkanıldığında genişlemektedir. İkinci önemli ilişki Riolan arkıdır (Şekil1.3). Bu yapı mezenter içinde ve daha merkezde yer alır, sol ve orta kolik arterleri birleştirir. Kıvrıntılı gidişi nedeniyle “meandering mezenterik arter” de denir. Arteriografilerde görüntülendiğinde hemen daima viseral arteryel tıkanmayı gösterir.

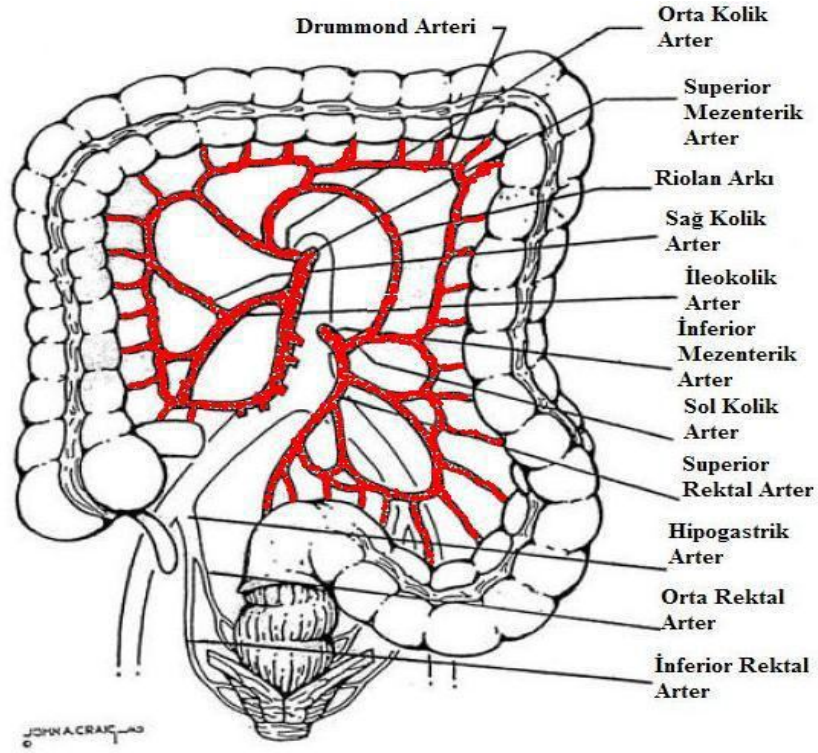
Mezenterik vasküler yatak özelliklidir. Vasküler yataktaki direnç çok düşüktür ve bu sayede ana kanallar daraldığında kollateral kan akımı gelişme potansiyeli gösterir. Kronik iskemide, üç ana arter de, diğer aortik dallardan önemli miktarda kan akımı alırlar. Bu dallar, lumbar, interkostal, renal, internal mamarial (derin epigastrik dallar aracılığı ile), orta sakral ve hipogastrik arterlerdir (inferior ve superior rektal arterler aracılığıyla).



Şekil 1. SMA ve dalları

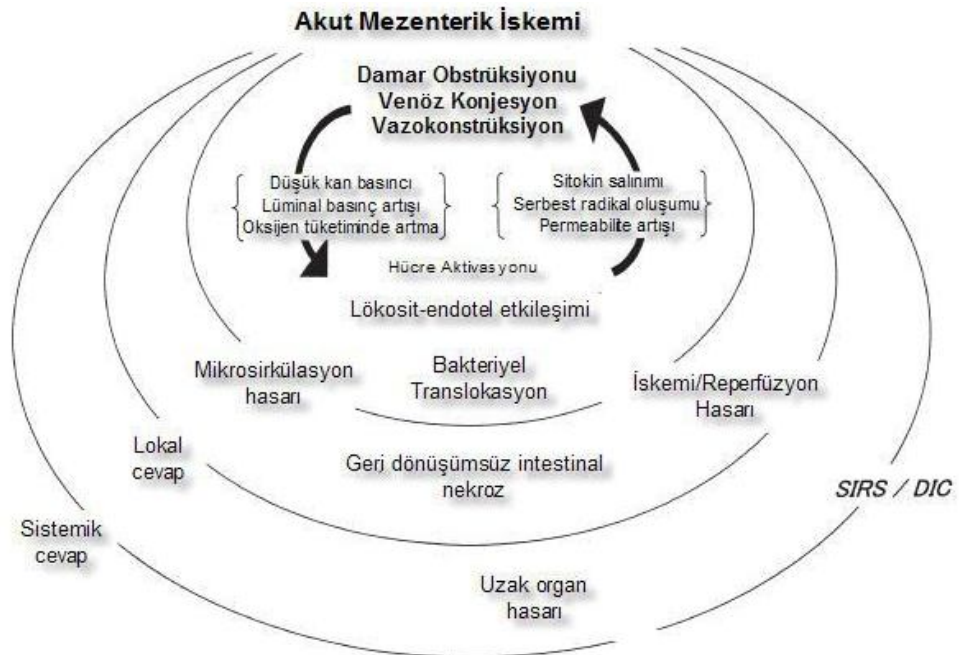


Şekil 2. İMA ve dalları



Şekil 3. Süperior ve inferior mezenterik arterler arasındaki ilişkiler

İskemi Reperfüzyon Hasarı



Şekil 4. Akut mezenterik iskemi kliniğinde lokal ve sistemik cevaplar (7).

Bir dokuya giden kan akımı kesildiğinde, o dokuya ait hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan ve hücre ölümüne kadar ilerleyen bir dizi kimyasal olay gerçekleşir. Hücresel fonksiyonların gerçekleşebilmesi için gerekli temel yakıt oksijendir. Normal hücre fonksiyonları için gerekli olan yüksek enerjili fosfat bağları aerobik metabolizma ile sağlanır. Oksijen yetersizliği durumunda anaerobik metabolizma devreye girer. Bu da laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi ile sonuçlanır. Ortaya çıkan asidoz nedeniyle normal enzim kinetiği değişir ve yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımı azalır. Bu durumda hücre kendi homeostazı için gerekli olan enerjiden yoksun kalır (8–10).

Dokuların iskemiye dayanıklılığı birbirinden farklıdır. İskelet kasları iskemiye uzun süre dayanabildiği halde nöronlarda dakikalar içinde geri dönüşümsüz yıkım ortaya çıkabilir. Hücresel homeostaz için gerekli olan enerji kaynaklarının, özellikle ATP'nin tüketimi, hücre membranında iyon dengesizliğine yol açar. Sodyum ve kalsiyum iyon dengesi bozulur. Bunu asidoz ve ozmotik şok gibi klinik bulgular ile kromatin kümelenmesi ve piknozis gibi histolojik bulgular takip eder (8–11).

İskeminin süresi ve yoğunluğuna bağlı olarak, oksijenin dokulara tekrar ulaşmasıyla birlikte doku hasarı daha da fazla artabilmektedir (oksijen paradoksu) (12). İskemi-reperfüzyon, endotel ve değişik hücre tipleri arasında kompleks etkileşimlere sebep olarak mikrovasküler hasar, hücresel nekroz ve/veya apoptoz oluşmasına öncülük edebilir (13).

Reperfüzyon hasarı SOR, endotelial faktörler ve nötrofillerin eşlik ettiği karmaşık bir mekanizmayla gerçekleşir. Hasarı asıl tetikleyen olayın endotel hücrelerindeki zedelenme olduğu düşünülmektedir (14, 15).

İskemi-reperfüzyon hasarında gerçek mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte değişik etyolojik faktörler suçlanmaktadır. Genel olarak bu faktörler; proteaz ve fosfolipaz aktivasyonu, kalsiyum konsantrasyonundaki değişiklikler, ATP tüketimi, serbest radikaller tarafından oluşturulan hücre hasarı, nitrik oksit sentezinin inhibisyonu, sitokinler ve bunlara ek olarak hücrenin immun sisteminde aktif rolü olan nötrofillerdir (16).

Reperfüzyon sonrası intestinal kapillerlerde osmotik yansıma katsayısı artar. Bu permeabilite artışı süperoksit radikallerinin spesifik gidericisi olan SOD'un uygulanımı ile büyük ölçüde önlenmiştir (17).

Bugün için intestinal İ-R hasarı oluşumunda temel 2 mekanizma ortaya atılmıştır.

Bunlar:

1. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu.
2. Fosfolipaz A2 aktivasyonu (18- 20).

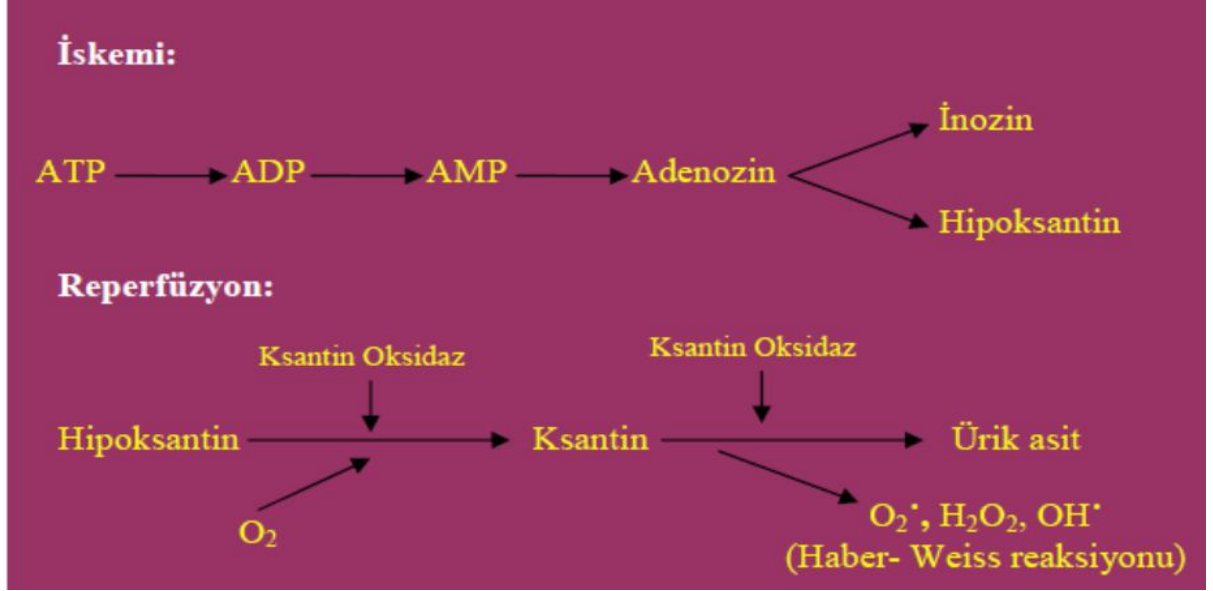
Bağırsakta İ-R hasarında rol oynayan SOR'un başlıca üç kaynaktan oluştuğu ileri sürülmektedir. Bunlar;

- 1) Ksantin Oksidaz (KO) reaksiyonuna bağlı serbest oksijen radikalleri oluşumu.
- 2) Nötrofillerden kaynaklanan serbest oksijen radikalleri.
- 3) Bilinmeyen sebeplerle oluşan serbest oksijen radikalleri.

1. Ksantin Oksidaz yolu

İskemi süresince hücrede ATP üretimi durur ancak tüketimi devam eder. ATP sırası ile enerjiden zengin fosfat bağları indirgenerek; adenosin difosfat, adenosin monofosfat, adenosin, inozin ve hipoksantine çevrilir. Adenosin hücre dışına çıkarak inozin ve hipoksantine ayrılır. Normal dokularda hipoksantin ürik aside dönüşür. Hipokside ise hipoksantin daha fazla metabolize edilemez ve birikir. Yapılan çalışmalarda hipoksantin düzeyi, iskemik bağırsakta normal bağırsak dokusundan 5 kat fazla bulunmuştur. Aynı zamanda iskemide ksantin dehidrogenaz (KD)'ın büyük bir kısmı KO'ya dönüşür. Bu dönüşümün büyük bir bölümü iskeminin başlaması ile birlikte ilk dakikada gerçekleşir. Reperfüzyon periyodunun başlaması ve oksijenin dokulara ulaşması ile KO; hipoksantini ksantine, sonra da ürik aside dönüştürür. Bu basamak önemlidir çünkü bu sırada SOR oluşur. Bu reaksiyonlarda ürünler olarak ortaya çıkan H_2O_2 ve $OH^\bullet$, hücre ve mitokondri membranlarında lipidlerin peroksidasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu başlatma özelliğine sahiptir (21). Serbest oksijen radikallerinin ilk oluşunu $O_2^\bullet$ dir. Oksijen radikali, genellikle instabildir ve H_2O_2 ve O_2 'e dönüşür ancak $O_2^\bullet$ daha ciddi hasara neden olan oksijen radikallerinin prekürsörü olması nedeni ile de önemlidir. Hidrojen peroksit zayıf ve yavaş bir oksidandır ve katalaz enzimi etkisi ile H_2O ve O_2 'e yıkılır. Ancak reperfüzyonda H_2O_2 süperoksit radikali ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss reaksiyonu) hidroksil kökü ($OH^\bullet$) ve hidroksil radikaline ($OH^\bullet$) dönüşür. Reperfüzyon hasarından sorumlu olan ana radikal de hidroksil radikalidir.

Ancak hidroksil radikalının olduğu Haber-Weiss reaksiyonunun gerçekleşmesi için ortamda metal şelatların olması gereklidir (8).

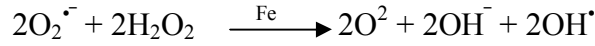


Şekil 5. İskemi ve reperfüzyon (22)

Hidroksil radikali çok reaktif ve kısa ömürlü bir radikaldir. Protein, polisakkarid, nükleik asit ve ansatüre yağ asitleri gibi bir çok biyolojik madde ile reaksiyona girer. Hidroksil radikallerinin karakteristik özelliği hidrojen atomlarını membrana bağlı poliansature yağ asitlerinden ayırmasıdır. Poliansature yağ asitleri hücre membranında yüksek konsantrasyonda bulunurlar ve radikaller tarafından kuşatılırlar (22). Lipit içerikli hücre membranları bu oksijen derivesi olan serbest radikallerin primer hedef noktasıdır. Hidroksil radikalının direkt olarak poliansature yağ asitleri ile reaksiyona girmesi ile hücre membranlarında çözülme ve buna bağlı hücre ölümü olur. Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri de malondialdehit (MDA)'dir (19- 22). Son çalışmalar moleküler oksijenden oluşan sitotoksik ve anstabil olan süperoksit radikalının iskemik bağırsakta kapiller permeabilite artışından sorumlu olduğunu göstermektedir (23).

Haber-Weiss Reaksiyonu

Reaktif O₂ metabolitlerinden en toksik ve en reaktif olan hidroksil radikali bu reaksiyonla oluşur. Haber- Weiss reaksiyonu demirin (Fe) katalizörlüğünde gerçekleşen ve süperoksit radikali ile H₂O₂'nin Fe eşliğinde reaksiyona girip sonuçta hidroksil radikali, hidroksil kökü ve oksijenin olduğu bir reaksiyondur (24).



İskemi sırasındaki ATP katabolizmasının net sonucu hipoksantin ve ksantin konsantrasyonlarının artmasıdır. Bu reaksiyonlarla aynı anda, iskemi, KD'nin KO'a dönüşmesine neden olur. Çoğu canlıda bağırsak KO ve KD'nin ana kaynağıdır. Ksantin dehidrogenaz normal sağlıklı bireylerde bulunan predominant enzimdir ve hipoksantinin ürik aside metabolizasyonunu katalizler (18). Bu reaksiyonda Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) elektron akseptörüdür. Doku iskemisi sırasında KD, KO'a çevrilir. Yapılan çalışmalarda bu dönüşümün iskemi sırasında bir dakika içinde gerçekleştiği gösterilmiştir (25).

Dehidrogenazın oksidaza dönüşme mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Bunun proteolizis veya enzime bağlı sülfidril gruplarının disülfidlere oksidasyonu sonucu olduğu düşünülmektedir (18).

Reperfüzyon sırasında aniden O₂ konsantrasyonunun artması ve reaksiyonlara eklenmesi ile O₂ kaynaklı serbest radikallerin zincirleme reaksiyonu başlar. Bu radikaller direkt olarak hasara neden olurlar veya nötrofillerin aktivasyonu ya da lipid peroksidasyonu yolu ile hasarın etkisini arttırırlar. Ksantin dehidrogenazı içeren endotelial hücreler serbest radikallerin neden olduğu doku hasarını başlatırlar. Radikallerin neden olduğu reperfüzyon hasarında mukozaya sınırlı hasarda serbest radikaller önemli iken; transmural infarktlerde herhangi bir rolleri yoktur (26).

Nötrofil Aktivasyonu

Serbest radikallerin artışı ve Fosfolipaz A₂ (PLA₂) aktivasyonu her ikisi birden intestinal dokuda nötrofillerin aktivasyonuna neden olurlar. Şiddetli mukozal lezyonların oluşumundan da bu hücreler büyük ölçüde sorumludur (22). Aktive olan nötrofiller fazla miktarlarda O₂ tüketimine neden olur ve hücre membranında Nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADP) katalizörlük yaptığı bir reaksiyonla aşırı miktarlarda süperoksit anyonlar oluşur. Daha sonraki reaksiyonlar SOD ve myeloperoksidaz (MPO) enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlardır. Bunların sonucunda H₂O₂, OH[•] ve hipoklorik asit (HOCL) oluşur. Hücre membranında bulunan poliansature yağ asidi zincirleri serbest radikallere karşı son derece duyarlıdır. Sepsiste lipid peroksidasyonunun artması ile birlikte serbest radikal üretiminin arttığı ve sonuçta

oksidan bir patlamanın oluştuğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (20). Nötrofillerde MPO enzimi kullanılarak H_2O_2 'ye klor eklenmesi ile HOCL oluşur.

Myeloperoksidaz enzimi, dokularda polimorfonükleer lökositlere (PMNL) spesifik bir enzimdir ve dokulardaki lökosit düzeyinin saptanmasında yardımcıdır (27). Myeloperoksidaz enzimi dokuda biriken polimorfonükleer lökositlerin marker enzimi olarak kullanılır ve reperfüzyon hasarının bir göstergesi olarak değerlendirilir (28). Ancak bazı çalışmalarda pyelonefritik lezyonlarda oldukça fazla miktarda nötrofil olmasına rağmen bu dokularda MPO varlığı gösterilememiştir. Bu nedenle reperfüzyon hasarında reperfüzyon yapılan organa göre bu enzimin değerleri değişebilir ve enzim değerlerindeki düşme dokudaki hasarın değerlendirilmesinde yanılgılara yol açabilir (27).

İnflamatuvar olaylara erken cevapta immün sistem; makrofaj ve nötrofil granülositleri aktive eder. Polimorfonükleer lökositler ile başlayan İ-R hasarında oluşan mukoza hasarı monoklonal antikorların kullanılması ile endotelial hücrelere lökosit tutunması engellenerek azaltılmıştır. Hidrojenperoksit, Fe ve süperoksitin reaksiyonları sonucu bağırsakta granülosit infiltrasyonu oluşur ve daha sonra bağırsakta reperfüzyona bağlı hücre hasarı ilerler (21). Hücre membran hasarı sonucu hücre içine akışı kolaylaşan kalsiyum; PLA₂ ve araşidonik asit salınımını aktive eder.

Fosfolipaz A₂; dokudaki sitotoksik lizofosfolipitleri arttırma yeteneği olan hidrolitik bir enzimdir ve membrandaki yağ asitlerini fosfolipitlerden ayırır. Artmış fosfolipaz aktivitesi prostoglandin ve lökotrienlerin oluşumunu stimüle eder. Platelet aktive edici faktör, histamin, lizozomal enzimler, endotoksin, prostoglandin E₂ (PGE₂), Lökotrien B₄ (LTB₄) gibi metabolitlerin üretimlerinin artması ile inflamatuvar olaylar ilerler (17, 18). Reperfüze olan bağırsakta ortaya çıkan serbest radikaller LTB₄ birikimi ve nötrofil aktivasyonuna neden olur. Böylece O₂ kaynaklı serbest radikallerin bozulmuş dağılımında ilk basamak oluşturulur ve PLA₂ aktivasyonu İ-R hasarını arttıran bir diğer faktör olarak patolojiye karışır (29).

İnce bağırsak İ-R hasarında lokal olarak üretilen serbest radikaller, araşidonik asit metabolitleri (platelet aktive edici faktör, lökotrien, prostoglandin) ve sitokinler hasarın olduğu bölgeye doğru dolaşımdaki nötrofillerin ulaşmasını kolaylaştırıp hasarı arttırmırlar. Reperfüze olan bağırsakta hasarda nötrofiller ana medyatörlerdir. Bu kompleks reaksiyon nötrofillerle hasarın olduğu bölgelerdeki mikrovasküler yapıların

endotelial hücreleri arasında gerçekleşir. Bu olaylardaki diğer medyatörler hasarlı bölgeye nötrofillerin adhezyon ve göçünü aktive eden adhezyon molekülleridir (30). Ksantin oksidaz sistemi ve PLA₂ aktivasyonu, şiddetli mukozal hasardan sorumlu olduğu düşünülen nötrofillerin hasarlı olan bölgeye ulaşmalarını ve aktivasyonunu arttırarak İ-R hasarının ilerlemesine neden olur (17).

2.2. SERBEST RADİKALLER

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

Süper Oksit Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller O₂'den oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikallerin biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler O₂, O₂[•], H₂O₂, OH[•] ve geçiş metallerinin iyonlarıdır. Oksijenin elektron dağılımında iki tanesi eşlenmemiştir. Bu nedenle O₂ bazen bir diradikal olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girmesine neden olur (32).

Tablo 1'de hücrede oluşan serbest radikaller gösterilmiştir.

1-Süperoksit radikali

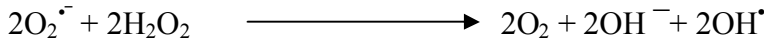
Hemen tüm aerobik hücrelerde O₂'nin bir elektron olarak indirgenmesi sonucu, süperoksit radikali meydana gelir. Süperoksit radikali direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi H₂O₂ kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Fagositoz görevi yapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilirler (8).

2-Hidrojen peroksit

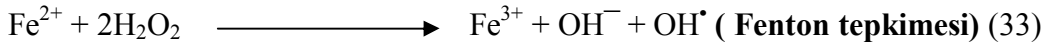
Moleküler O₂'nin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H₂O₂'yi meydana getirir. Hidrojen

peroksite membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Katalaz (KAT) enzimi ile H_2O_2 ve O_2 ’ye yıkılır (32).

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif O_2 türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest radikal olan $OH^\bullet$ oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Buna Haber-Weiss tepkimesi adı verilir. Haber-Weiss tepkimesi, ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz olarak gerçekleşir. Fakat katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Bu tepkime aşağıdaki gibi ilerler.



Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu tepkimede önce ferri demir (Fe^{3+}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{2+}) indirgenir. Sonra ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 ’den hidroksil radikalleri üretilir. Bu tepkime aşağıdaki gibi ilerler.



Görüldüğü gibi süperoksit, hem H_2O_2 kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. İndirgenmiş geçiş metalleri (demir ve bakır) okside şekillerine göre H_2O_2 birlikte daha reaktiftirler (32).

3-Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali H_2O_2 ’nin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda $OH^\bullet$ oluşur. Hidroksil radikali yarılanma ömrü çok kısa olan son derece reaktif bir O_2 radikali (34).

4-Nitrik Oksit

Nitrik oksit hemostatik olaylarda ve organizmanın savunma mekanizmalarında otokrin ve parakrin etkisi olan bir araçtır. Makrofajlar, nötrofiller, hepatositler ve endotel hücreler tarafından üretilir. En önemli fonksiyonu vücudun çeşitli dokularında interlökin-1 ve sitokinlerin etkilerine paralel bir işlev görmesidir (35). Tümör hücrelerini, parazitleri, bakteri ve mantar hücrelerini öldürmede görev alır. Ancak yüksek seviyelerde normal hücreler üzerinde toksik etkisi vardır. Süperoksit ile inaktifleşir ve SOD enzimi ile korunur. Bu bakımdan serbest radikal tutucu olarak kabul

edilse de uygun ortamlarda süperoksit ile güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Düşük pH'da durağan değildir. Spontan olarak parçalanarak hidroksil radikali ve nitrojen oksit oluşur (36).

Tablo 1. Serbest radikaller ve diğer reaktif O₂ bileşikleri (36).

Serbest radikaller	Radikal olmayan reaktif O ₂ bileşikleri	SOR etkisi sonucu oluşan radikaller
Süperoksit (O ₂ [•])	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Karbon merkezli radikaller (R [•])
Hidroksil (OH [•])	Singlet oksijen (¹ O ₂)	Peroksil/Karboksil (ROO [•])
Hidroperoksil (HO ₂ [•])	Hipokloröz asit (HOCl)	Alkoksil (RO [•])
Nitrik oksit (NO [•])	Peroksinitrit (ONOO [•])	Thiyl radikaller (RS [•])
Azot dioksit (NO ₂ [•])	Ozon (O ₃)	
	Lipid hidroperoksit (LOOH)	

Serbest Radikallerin Etkileri

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

1-Membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu)

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

Lipit peroksidasyonu üç basamakta meydana gelmektedir. Birinci basamakta; çoklu doymamış yağ asitlerinin metil grubuna serbest radikal saldırısı ile lipit molekülündeki alkilik hidrojen kopartılır ve eş zamanlı alkil radikali oluşur. Alkil radikali O₂ ile tepkimeye girerek lipit peroksidasyonunu başlatabilen OH[•] oluşturur. İkinci aşamada; radikal membran lipitlerinin moleküler O₂ ile reaksiyona girmesi ile lipit peroksit radikalleri oluşur. Lipit peroksit radikalleri de hücre membranının da bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerini sağlamakta ve kendileri de

açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit peroksitlerine dönüşmektedir. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu ürünlerden biri olan MDA proteinlerin amino grubuna, fosfolipitlere veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir. Sonuçta zincirler arası reaksiyon durmakta ve radikal olmayan ürün oluşmaktadır (37). Malondialdehit, yağ asidi oksidasyonunun özgün ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle benzerlik gösterir (38).

2-Proteinlere etkileri

Serbest radikallerin çift bağ ve tiyol içeren moleküllerle reaktivitesinin yüksek olmasından dolayı; triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein aminoasitleri serbest radikal hasarına duyarlıdır. Yapısında veya katalitik aktivitesinde bu aminoasitler yer alan enzimler radikal etkisi ile inhibe olurlar. Ayrıca radikal etkisi ile sitoplazmik ve membran proteinlerinde çapraz bağlanmalar ve agregat oluşumu görülür. Normalde modifikasyonlara dirençli olan prolin, lizin gibi aminoasitler, O_2 , H_2O_2 , $OH^\bullet$ etkisi ile nonenzimatik olarak hidroksilasyona uğrayabilirler (39).

3-Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler, DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanabilir ve çapraz bağ oluşturabilirler. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asitin serbest radikallerle etkileşerek bağ dokusunun durağanlığının bozulmasına ve sıvının akışkanlığının kaybına neden olur (39).

4-Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

İyonize edici serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksiste de hem nükleobaz modifikasyonuna hem de DNA'nın çift sarmal yapısının bozulmasına bağlıdır (40).

2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizmada devamlı olarak SOR oluşmasına rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dinamik dengeden dolayı zararlı etkiler ortaya çıkmaz. Fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu bu dengenin oksidasyon lehine değişmesi durumunda oksidatif hasar gelişebilmektedir.

İskemi reperfüzyon hasarlanmasını inhibe eden pek çok endojen mekanizma bulunmakla beraber, ekzojen olarak da hasarlanmayı engelleyebilen birçok ilaç tanımlanmıştır. Etki mekanizmaları farklı olan ekzojen ve endojen ajanlar şunlardır:

Antioksidan enzimler

Serbest radikalleri, biyolojik önemi olan moleküllerle etkileşmeden önce daha zararsız bileşiklere dönüştürerek veya başka moleküllerden radikal üretimini engelleyerek etkilerini gösterirler (40, 41).

a) Süperoksit dismutaz: Bu enzim süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder (42, 43).

b) Katalaz: Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir (38). Hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalar (44).

c) Glutasyon peroksidaz: Hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik dört selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir (43). Membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirger (43, 44).

d) Glutasyon-S-transferazlar (GST): Antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli biokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Tüm canlı hücrelerde bulunması hayati öneminin göstergesidir (43, 44).

Serbest radikal toplayıcılar: Vitamin E, vitamin C, p-karoten, ürik asit, bilirubin, albümin bu gruptandır ve sekonder antioksidanlar olarak bilinir. Bunlar serbest radikalleri yakalayarak oluşabilecek zincir reaksiyonlarını engeller (40-42).

Nötrofil inhibitörleri: PAF antagonistleri ve 5-lipooksijenaz inhibitörleri kemotaksisi inhibe ederken Transforming Growth Faktör β ise nötrofillerin endotele yapışmasını ve adenozin reseptör mekanizması yoluyla aktive nötrofillerden serbest radikal üretimini inhibe eder (45, 46).

Ekzojen antioksidanlar

a) Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopürinol, folik asit, tungsten, pterin aldehit.

b) NADPH oksidaz inhibitörleri: Kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvarlar, lokal anestezikler.

c) Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin, seruloplazmin.

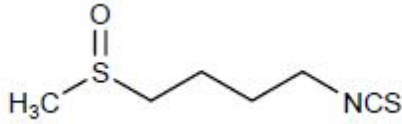
d) Sitokinler: Tümör nekroz faktör α (TNF- α), IL-1.

e) Barbitüratlar

2.4. SULFORAFAN (SFN)

D,L-Sulforafan

Sinonim: 1-izotiyosiyanat-4-(metilsülfinil)-bütan



Moleküler Formül: C₆H₁₁NOS₂

Moleküler Ağırlığı: 177.3

Görünüş: Sarı sıvı

Diğer Özellikleri: Suda çözünür, anyonik, uçucu olmayan, ısıya dayanıklı. Sulforafan (SFN) ilk 1948'de sentezlendi (47).

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalardan elde edilen veriler brokoli, karnıbahar, su teresi, Brüksel lahanası ve lahana gibi turpgillerden zengin beslenenlerin belirli tip kansere daha az yakalandığını göstermiştir. Söz konusu bitkilerin antikarsinogenez ve tümör büyümesi, tümör çeşitliliği ve nükslerin azaltılması gibi kemoterapötik bakımdan faydalı etkileri; bir fonksiyonel izotiosiyonat grubu içeren yüksek fitokimyasal içerikleri ile ilişkilendirilir.

Brokolinin sağlıkla ilgili faydalı etkilerinden içeriğindeki glukorafanın biyolojik aktif metaboliti olan ve bir izotiyosiyanat olan SFN sorumlu tutulmuştur. Glukorafanın, SFN glukozinolat (SGS) olarak da bilinir.

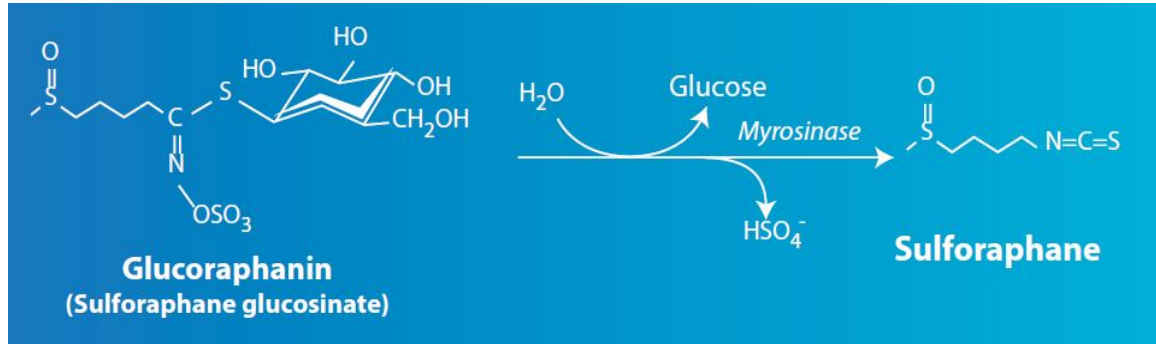
Bu organik izotiosiyanatlar bitkinin kendisi tarafından üretilmez, fakat glukofarin gibi doğal glukozinolat üzerindeki mirozinazın enzimatik hareketi tarafından üretilir.

Sulforafan izotiyosanattan elde edilen doğal bir üründür (48).

Biyokimyası

Glukorafanın bir glukozinolatıdır ve brokolinin özellikle Mariner türünde (*Brassica oleracea italica*) ve *Brassica* ailesinin diğer üyelerinde yüksek konsantrasyonda bulunur (49). Glukozinolatların, aktifleşmeleri için enzimatik hidrolize uğramaları gerekir (50).

Mirozinaz enzimi katalizörlüğünde, glukorafaninden bir glukoz molekülü uzaklaştırılmasıyla; aktif izotiyosiyonat olan SFN üretilir (51).



Şekil 6. Sulforafan biyokimyası (51).

Bu bileşik sitoprotektif etkisini; hem oksijenaz 1 (HO-1), NAD(P)H: quinon oksidoreduktaz 1, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan ve faz 2 enzimlerinin kodlandığı promotor bölgesindeki antioksidan cevap elementine (ARE) bağlanan transkripsiyon faktör NF-E2-related faktör-2 (Nrf2) aracılığı ile gösterir.

Faz 2 enzimleri, İ-R sırasında oluşan SOR'un detoksifikasyonunda önemli bir rol üstlenir. NF-E2-related faktör-2, sitoskeletal-bağılantılı bir spesifik inhibitör protein (Kelch-benzeri ECH associated protein 1, Keap 1) tarafından sitoplazmada tutulur. Oksidatif stres uyarısı ile : Keap 1 hinge bölgesindeki sistein kalıntıları modifiye olur. Bu modifikasyon sonucunda Keap 1'de oluşan değişimle, Nrf2 serbestleşir. Serbestleşen Nrf2'nin nukleusa translokasyonu gerçekleşir ve burada maf protein ailesi ile heterodimerize olur. Sonuçta sitoprotektif genlerin upregülasyonunu koordine eder.

Sulforafan, Nrf2-Keap1 kompleksini ve ARE-kontrollü genleri aktive etmek üzere Nrf2'nin nukleusa translokasyonuna izin verebilir (52).

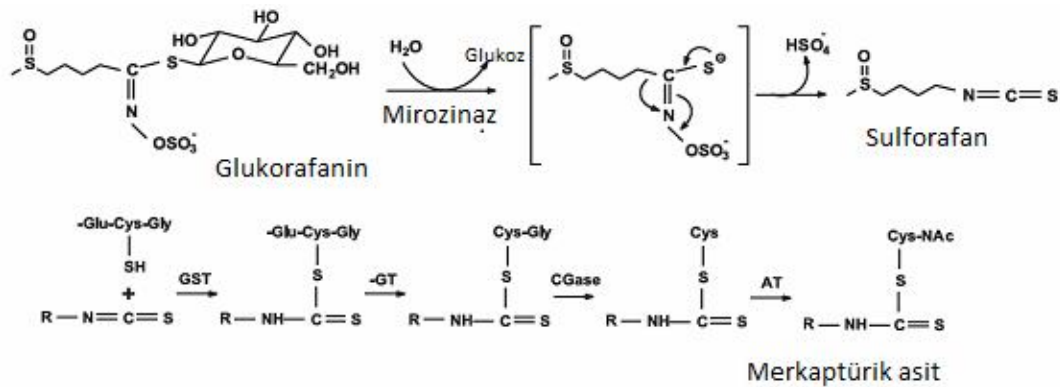
Farmakokinetiği

Bitki hücrelerindeki glukorafaninden bölümsel olarak ayrılan mirozinaz enzimi, brokolideki glukorafanini hidrolize eder. Bitki yemek için hazırlanırken veya çiğnendiğinde mirozinaz enzimi salınır (53). Hatta bu hidrolize memeli gastrointestinal sistem mikroflorası da aracılık eder (54).

Oral alımda brokolideki SFN'in ortalama %74'ü jejunumdan emilir (55). Emildikten sonra merkapturik asit yolağı ile metabolize edilir ve eliminasyon sürecinde böbrekte tübüler sekresyon primer rol oynar (56, 57). Bununla beraber bu yolak karaciğer, ince bağırsak ve böbrek arasında karmaşık bir etkileşim içerir ve karaciğer burada aktivitenin ve SFN'in glutatyona konjugasyonunda primer alanı olarak düşünülür. Sulforafan-glutasyon konjugatı böbrekte veya sindirim sisteminde sırasıyla sistinil-glisin, sistein ve N-asetilsistein'e dönüştürülür ve daha sonra karaciğere asetilasyon için tekrar döner. Bu konjugatlardan en yaygın olanı da sulforafan-N-asetilsistein'dir (58). Sulforafan dolaşıma katıldıktan sonra dokularda birikir ve antikarsinojenik etkiler gösterir.

İnsanlarla ilgili bir çalışmada, brokoli filizlerinden alınan 200 μM 'luk SFN dozunda, bir saatlik beslenme sonrasında, 0.943 ve 2.27 $\mu\text{mol/L}$ 'lik plazma konsantrasyonları görüldü. Sulforafanın yarılanma ömrü 1.77 ± 0.13 saat idi (59).

SFN metabolitleri 72 saat içerisinde vücuttan atılır (60).



Şekil 7. Sulforafan farmakokinetiği (61)

Yan Etki ve Toksikitesi

SFN'ın insanlarda kullanımının güvenilirliğini değerlendirmek için birçok çalışma yapılmıştır. Yirmibeş-100 µmol glukorafanın/gün 1 hafta ve 400 µmol glukorafanın/gün 2 hafta uygulanarak yapılan iki randomize, plasebo kontrollü ve çift kör çalışmada herhangi bir yan etki görülmemiştir (62).

Bir doz artırımı güvenliği çalışmasında, 340 nmol kadar yüksek SFN dozu içeren brokoli filiz özü lokal olarak 3 kez önkola uygulandı. Araştırmacılar biyopsi yapılan dokularda önemli derecede faz 2 enzim aktivite artışı gözlemledi ve hiçbir ters reaksiyon yoktu (63).

SFN'ın herhangi bir bilinen kontra endikasyonu ve ilaç reaksiyonu yoktur.

Sulforafanın Diğer Etkileri

Faz 2 enzimlerinin artırılması ile kirli hava ve polenlerin detoksifikasyonu, hücresel oksidatif stresin azalması, inflamatuvar sitokin üretiminin baskılanması ve doku inflamasyonunun azalması sonucu üst solunum yolu enfeksiyonu oluşumunun da engellenmesine yardımcı olur (64).

Son zamanlarda, *Helicobacter pylori* bağlantılı gastritli hastalarda *Helicobacter pylori* eradikasyonunun glutatyon S-transferaz aktivitesini ve antral mukozada glutatyon seviyelerini artırdığı ya da restore ettiğine dair bulgular aynı zamanda SFN'ın insanlarda benzer bir tümör-koruyucu etkisi olabileceği fikrini destekler. Sulforafanın *Helicobacter* enfeksiyonlarını doğrudan fakat bilinmeyen bir mekanizma ile eradike etmesi ve faz 2 enzim indüksiyonu ile mide tümör oluşumunu bloke etmesi (yani bu ikili etki) şunlara dair gelecek vaat eder; bu etkiler sinerjik olarak harekete geçebilir ve insanlarda mide kanserine karşı etkili bir koruma sağlayabilir (65).

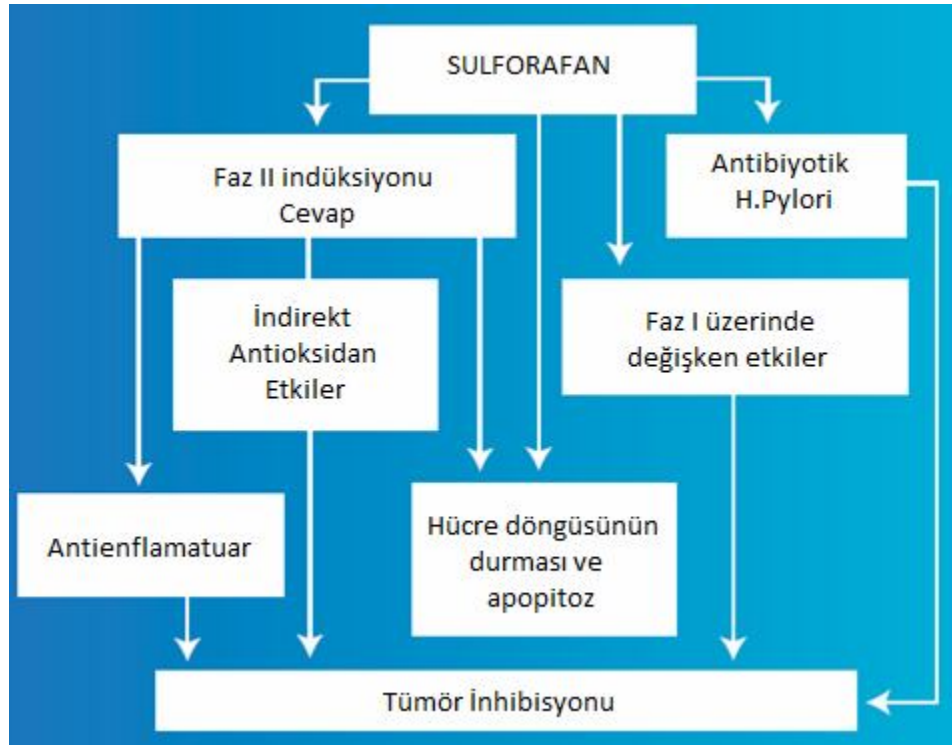
İn vitro çalışmalar romatoid T hücrelerinde SFN'ın TNF-α ve IL üretimini durdurduğunu göstermiştir(66). Sulforafan; mikropapiller formasyonu inhibe ederek ve hücre göçünü engelleyerek tümör metastazının ve anjiyogenezin güçlü bir engelleyicisidir (67). Sulforafan; CYP1A1, CYP2B1/2 ve CYP3A4 aktivitelerini azaltarak Faz 1 Sitokrom P450 (CYP) enzimlerini de modüle eder. Böylece kanser oluşum aşamasında prokarsinojenlerin aktivasyonunun inhibisyonu ve DNA eklentilerinin üretiminin önlenmesini sağlar. Faz 1 ve 2 enzimlerinin üzerindeki net

etkisi metabolizmada artış sağlanması ve kimyasal karsinogenlerin detoksifikasyonudur (68).

Birçok in vitro çalışmada kolon, pankreas, akciğer, deri, meme, böbrek ve prostat kanserlerinin oluşum ve gelişim sürecinde engelleyici olduğu gösterilmiştir(69-74). Bazı çalışmalarda SFN'nin Nrf2'yi aktive etmesinin renal İ-R hasarı ve kanserlerden korunmada etkili bir sonuç vereceği belirtilir.

Son çalışmalar Nrf2/ARE yolağının aktivasyonunun; karaciğer, kalp, beyin ve böbrekte İ-R hasarını azalttığını, daha da ötesi böbrek fonksiyonlarının yeniden kazanılmasında ve beyindeki iskemi alanının azaltılmasında da yardımcı olduğu bulunmuştur (63).

Klinik çalışmalarda taze brokoli tüketen sağlıklı bireylerde LDL ve total kolesterolün azaldığı, HDL'nin arttığı gösterilmiştir (65).



Şekil 8. SFN'in Tümör İnhibisyon Mekanizması (63)

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) Ocak 2012'de Etik Kurul onayı ile yapıldı (Etik Kurul Karar Tarihi: 18.05.2011, Karar No: 11/66). TSU-11-3797 proje kodu ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi.

DENEKLER

Çalışmada ağırlıkları 250–300 gram arasında değişen 30 adet erkek Wistar–Albino tipi sıçan kullanıldı. Hayvanlar pleksiglas kafeslerde muhafaza edildi ve her kafese en fazla 5 hayvan konacak şekilde bakımları yapıldı. Hayvanlar penceresiz odalarda otomatik sıcaklık ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) ve ışık (07.00-21.00 saatleri arasında 14 saat aydınlık ve 21.00 ile 07.00 arasında 10 saat karanlık periyodu) ortamında takibi yapılarak tutuldu. Tüm sıçanlar deney gününe kadar standart laboratuvar yemi ile beslendiler ve deney öncesi tartıldılar. Sıçanlar randomize olarak kontrol, İ-R ve SFN+İ-R gruplarına ayrıldı.

ANESTEZİ

Çalışma öncesinde su içmelerine izin verilmek koşulu ile 12 saat aç bırakılan sıçanların tümünde cerrahi girişim, enjeksiyonlar, kan örneklerinin alınması intraperitoneal 50mg/kg ketamin (Ketalar[®], Pfizer-İstanbul) ve 10mg/kg xylazin anestezisi (Rompun[®], Bayer-İstanbul) altında yapıldı.

CERRAHİ İŞLEM

Karın cildi traş edildikten sonra povidon iyot ile temizlendi. Ksifoidden itibaren yaklaşık 6 cm'lik vertikal insizyon ile laparotomi yapıldı. İntestinal İ-R modeli için

intestinal yapılar retrakte edildikten sonra SMA aortadan çıktığı yerden bulundu ve klempe edildi. Bu işlem için bulldog klemp kullanıldı .Bir saat iskemi sonrası klemp açılarak 2 saat reperfüzyon sağlandı .

DENEY GRUPLARI

Grup I. Kontrol grubu (n=10): Bu gruptaki deneklere yukarıda tariflendiği şekilde laparotomi yapıldıktan sonra SMA izolasyonu yapılarak 3 saat gözlem yapıldı.

Grup II. İ-R grubu (n=10): Bu gruptaki deneklere ise laparotomi sonrası SMA'nın klemplenmesi vasıtasıyla 1 saat iskemi ve klempin açılmasıyla birlikte 2 saat reperfüzyon yapılarak İ-R hasarı oluşturuldu (52).

Grup III. SFN+İ-R grubu (n=10):Deneklere operasyondan 1 saat önce SFN (Sigma S6317) mısır özü yağında çözdürüldü; 3mg/kg rat ağırlığı şeklinde hesaplanarak intraperitoneal (ip) yapıldı ve laparotomi yapıldıktan sonra SMA izolasyonu yapıp 1 saat iskemi sonrasında 2 saat reperfüzyon sağlandı (52).

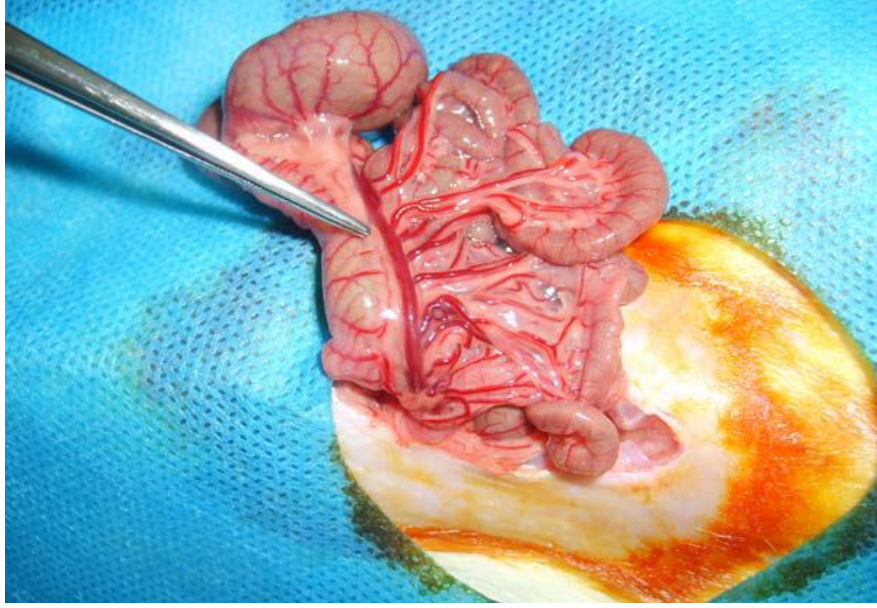
Çalışma esnasında mortalite olmadı.

Sakrifikasyon; çalışma için örnekler alındıktan sonra abdominal aort ve vena cavaya yapılan transvers kesi ile oluşan hemoraji ile sağlandı.

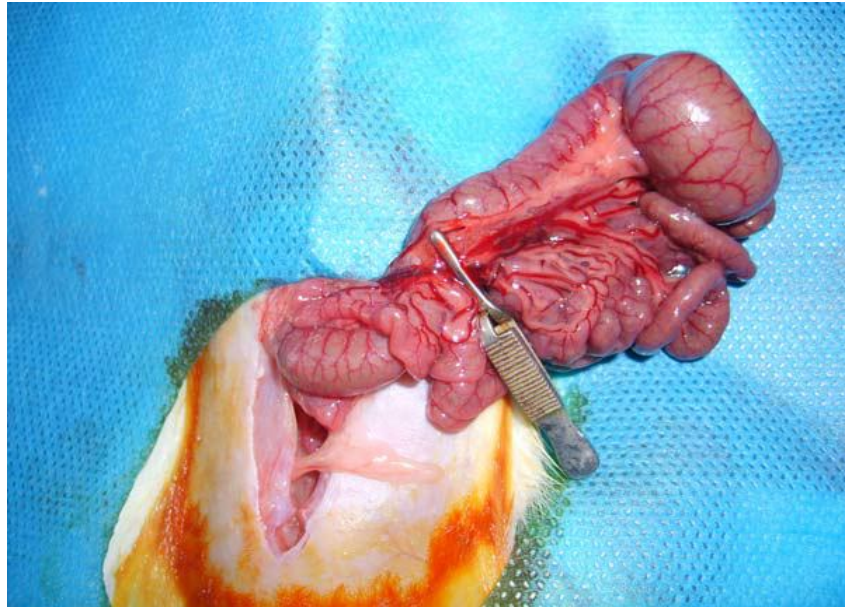
DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Doku örnekleme için ileoçekal valvin 10 cm proksimalindeki yaklaşık 3 cm'lik ileum segmenti rezeke edildi (75).

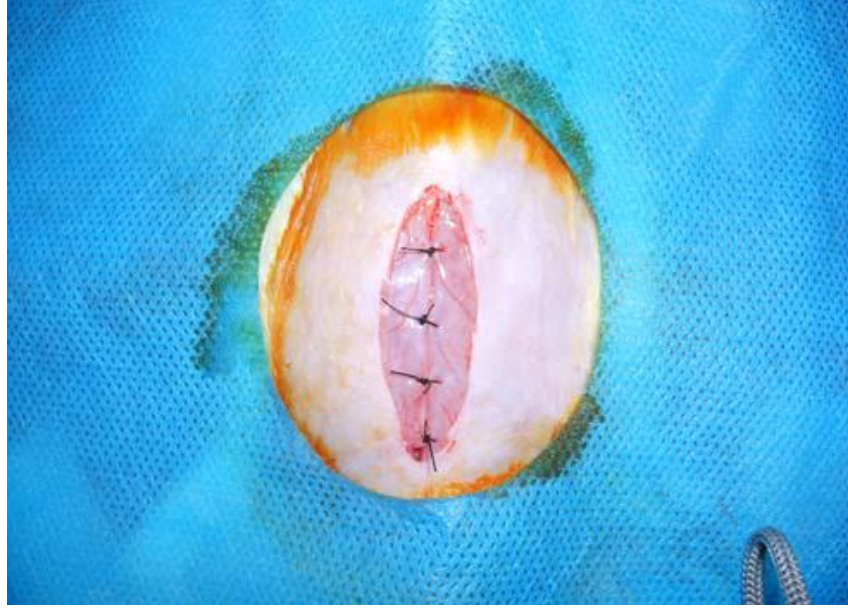
Alınan spesmenin 2 cm'i içerisindeki fekal içerik yıkandıktan sonra histopatolojik değerlendirme amacıyla %10'luk formaldehit içerisinde saklandı. Geri kalan 1 cm'lik kısmın içerisindeki fekal içerik de %0.9'luk salin ile yıkanıp kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra doku SOD ve GSH-Px aktivite tayini ve MDA düzeyi tespiti için ependorf tüpüne konarak çalışma gününe kadar -40 °C' de derin dondurucuda saklandı.



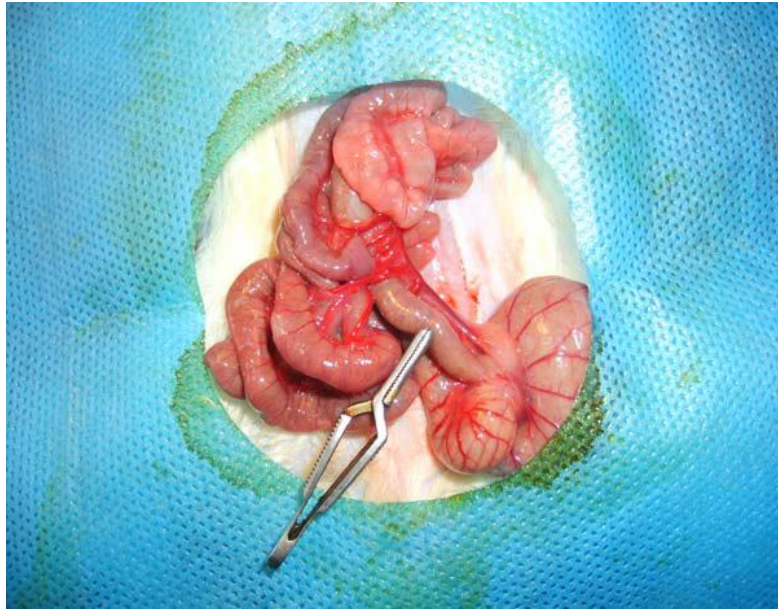
Resim 1. İleoçekal valv ve SMA eksplorasyonu.



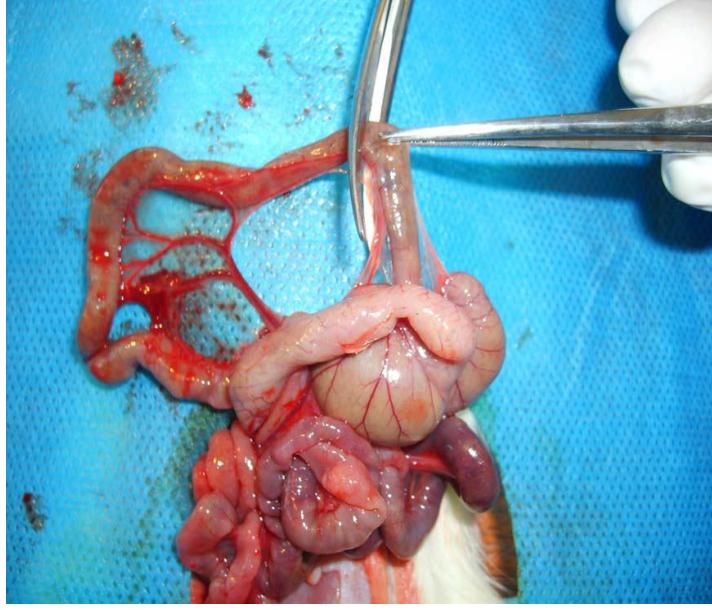
Resim 2. Süperior mezenterik arter oklüzyonu.



Resim 3. Bağırsakların batın içine redüksiyonu ve batının kapatılması.



Resim 4. Süperior mezenterik arter reperfüzyonu



Resim 5. Yaklaşık 3 cm'lik terminal ileum segmentinin eksizyonu.

DEĞERLENDİRİLECEK PARAMETRELER

Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

Yıkanmış ve dondurulmuş doku örneklerinin her biri hassas terazi (AND-6R) ile tartıldı ve yaş ağırlıkları gram cinsinden verildi.

Dokuların Homojenizasyonu

Yaş doku ağırlıkları tespit edilen dokular doku ağırlığının 1/5 oranında homojenizasyon tamponu ile (fosfat tamponlu salin-PBS) İKA ULTRA –TURRAX T.25 basic marka homojenizatör ile 6500 rpm'de buz içinde 2 dk homojenize edildi. Elde edilen homojenat 10000 g'de +4 °C' de 10 dk Sigma 3K30 soğutmalı santrifüjde çevrildi. Elde edilen berrak süpernatantlar her bir parametre için olmak üzere üç parçaya ayrılarak REVCO ULT 1740-5-V40 marka derin dondurucuda -40 °C' de çalışma gününe kadar saklandı.

Yapılan analizlerin daha doğru sonuç vermesi için; her bir örnek en az 2 kere çalışıldı. Sonuçların ortalaması alınarak hesaplamada kullanıldı.

Glutasyon Peroksidaz Ölçümü

Çalışma günü çözündürülen doku süpernatantları Cayman firmasına ait Glutasyon Peroksidaz ölçüm kiti (item No.703102) kullanılarak ve kit prospektüsüne uyularak çalışıldı. Sonuçlar nmol/dk/yaş doku ağırlığı olarak verildi.

Süperoksit Dismutaz Ölçümü

Çalışma günü çözdürülen doku süpernatantları Cayman firmasına ait Süperoksit Dismutaz ölçüm kiti (item no.706002) kullanılarak ve kit prospektüsüne uyularak çalışıldı. Sonuçlar ü/yaş doku ağırlığı olarak verildi.

Malondialdehid Ölçümü

Çalışma günü çözdürülen doku süpernatantları Cayman firmasına ait TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) ölçüm kiti (item No.10009055) kullanılarak ve kit prospektüsüne uyularak çalışıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol/yaş doku ağırlığı}$ olarak verildi.

Histopatolojik değerlendirme

%10'luk formol içinde saklanan jejenum örnekleri histopatolojik takibe alındı. Parafin bloklara gömülen örneklerden 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen&Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Boyanan preparatlar ısı mikroskopunda değerlendirildi. Tüm histopatolojik değerlendirmelerde bakılan preparatın hangi gruba ait olduğu patoloğ tarafından bilinmemekteydi. İskemi-reperfüzyon hasarına bağlı ileumda oluşan histopatolojik değişiklikler Chiu ve arkadaşlarının değerlendirmesine göre yapıldı.

Tablo 2. Chiu histopatolojik hasar skorlaması (75)

Evre 0	Normal mukoza
Evre 1	Genellikle kapiller konjesyonla birlikte ve vilusların apeksinde subepitelyal Guenhagen boşluklarının oluşturulması
Evre 2	Subepitelyal alanın genişlemesi ve epitelin Lamina Propria'dan hafif derece ayrılması
Evre 3	Villusların üst kısımlarında yaygın epitelyal ayrılma
Evre 4	Lamina Propria ve villuslarda dökülme, kapiller dilatasyon, Lamina Propria'da artmış selülarite
Evre 5	Lamina Propria'da sindirilme ve bütünlüğünde bozulma, kanama ve ülserasyon

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm ss$) ve/veya median (min.-max.) olarak gösterildi. Veriler Sigmastat 3.5 istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine Shapiro-Wilk Normallik testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler için gruplar arası farkın olup olmadığına Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile bakıldı. Fark çıkan gruplarda çoklu karşılaştırmalar için Tukey testi ile yapıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu deneysel çalışmadan elde edilen bulgular şu şekildedir.

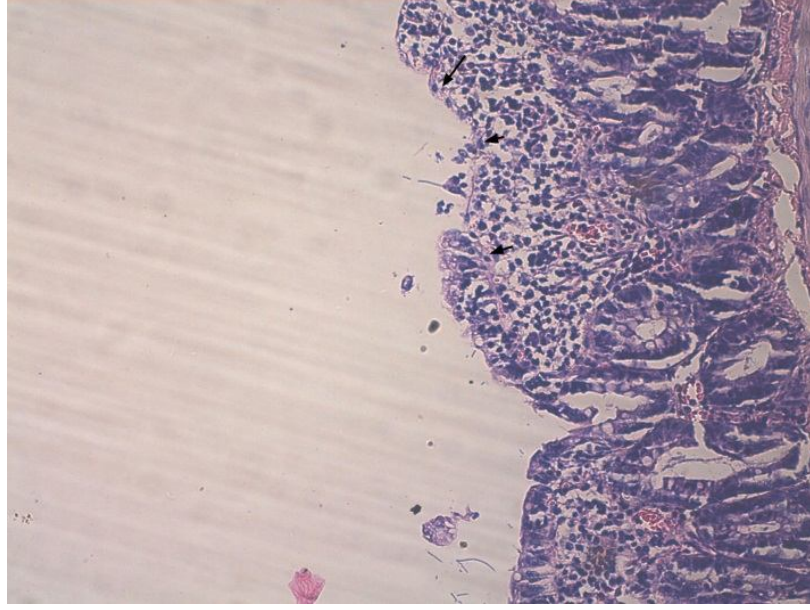
Histopatolojik değerlendirme ve bulgular

Sıçanlardan elde edilen ince bağırsak dokuları histopatolojik olarak Chiu skorlamasına göre skorlandı. Çoklu karşılaştırma testine göre kontrol grubu ile SFN+İ-R ve İ-R grupları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$).

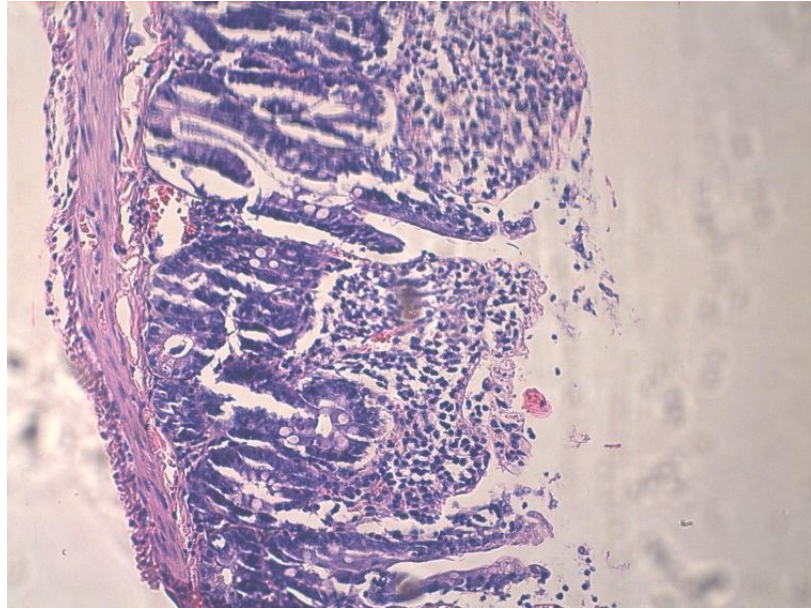
Tablo 3. Chiu skorunun karşılaştırılması

	Kontrol Median (min-max)	İ-R Median (min-max)	SFN+İ-R Median (min-max)
Chiu skoru	0,00 (0,00-0,00) ^a	2(1,00-3,00) ^b	1,50 (1,00-3,00) ^b

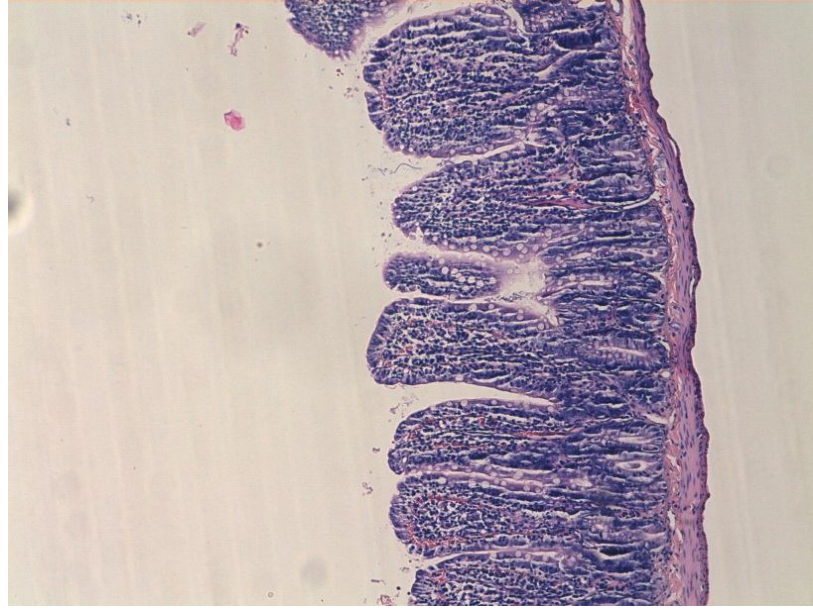
a,b: Gruplar arası farklılığı göstermektedir. Aynı harfin bulunduğu gruplar arasında fark yoktur.



Resim 6. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 1



Resim 7. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 2



Resim 8. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 3

Biyokimyasal Değerlendirme

Tablo 4 . GSH-Px değerlerinin karşılaştırılması

	Kontrol (mean±SD)	İ-R (mean±SD)	SFN+İ-R (mean±SD)	p
GSH-Px (nmol/dk/yaş doku ağırlığı)	244,35 ±95,53 ^a	107,76±43,49 ^b	900,14±417,23 ^c	<.0.001

a,b,c: Gruplar arası farklılığı göstermektedir. Aynı harfin bulunduğu gruplar arasında fark yoktur.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi bakımından gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grubuna göre İ-R grubu enzim aktivitesinin anlamlı derecede azaldığı; buna karşılık kontrol uygulaması öncesi 3 mg/kg sıçan ağırlığı dozunda uygulanan SFN ile anlamlı derecede azalan GSH-Px aktivitesinin anlamlı derecede artmış olduğu hatta İ-R uygulanmayan grubun değerlerinin de üstüne çıkardığı tespit edildi.

Tablo 5. SOD değerlerinin karşılaştırılması

	Kontrol (mean±SD)	İ-R (mean±SD)	SFN+İ-R (mean±SD)	p
SOD (Ü/yaş doku ağırlığı)	32,03±5,07 ^a	35,68±12,75 ^a	72,47±17,64 ^b	<0.001

a,b: Gruplar arası farklılığı göstermektedir. Aynı harfin bulunduğu gruplar arasında fark yoktur.

SOD aktivitesi bakımından gruplar karşılaştırıldığında; kontrol grubuna göre İ-R grubu enzim aktivitesinin değişmediği; buna karşılık İ-R öncesi uygulanan SFN ile SOD aktivitesinin anlamlı derecede artmış olduğu tespit edildi ($p<0.001$). Ayrıca SOD aktivitesi SFN+İ-R grubunda İ-R grubundaki değerlere göre de anlamlı şekilde yüksek bulundu.

Tablo 6. MDA değerlerinin karşılaştırılması

	Kontrol (mean±SD)	İ-R (mean±SD)	SFN+İ-R (mean±SD)	p
MDA (µmol/yaş doku ağırlığı)	21,29±7,55 ^a	13,43±4,38 ^b	21,17±7,10 ^a	0.016

a,b: Gruplar arası farklılığı göstermektedir. Aynı harfin bulunduğu gruplar arasında fark yoktur.

MDA düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılması yapıldığında; kontrol grubuna göre İ-R grubu MDA değerlerinin azaldığı tespit edildi. İ-R grubuna göre SFN +İ-R grubu MDA değerlerinin yükseldiği belirlendi ($p=0.016$).

5. TARTIŞMA

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (76).

Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan SOR türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (77).

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve ATP ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (78). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{++} iyon konsantrasyonları artar (79). Hücre içinde Ca^{++} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (80). Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenozin oluşur.

Adenozin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve KD'nin KO'a dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD^+ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu)' dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KD, KO'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (81).

İskemi ve reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisidir (82, 83).

Özellikle; SOR, PMNL, kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır.

Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron eklenmesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir (84).

Organizma sürekli olarak serbest radikal ataklarıyla karşı karşıyadır. Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşur ve içsel mekanizmalarla organizmaya olabilecek zararlı etkileri önlenir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, NO, uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir. Solunan oksijenin %95' ten fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5' i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir. Hidroksil radikali büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur. Makromoleküller hücrelerde kısıtlı miktarlarda bulunduklarından bu yapılarda oluşan hasar oldukça önemlidir. İn vivo herhangi bir $\text{OH}^\bullet$ süpürücüsünün etkili olabilmesi için mevcut hedef moleküllerin önemli bir bölümünü kapsayacak kadar yüksek

konsantrasyonda bulunması gerekir. Bu nedenle OH^{*} oluşumunun önlenmesi, bu radikalın süpürülmesinden daha etkilidir (85).

Deneysel ortamda başarılı gibi görünen çalışmaların çok azı klinikte uygulama şansı bulmuştur. Bunda İ-R hasarının tek bir basamak veya mediatörün bloke edilmesi ile önlenemeyecek kadar karmaşık olmasının rolü büyüktür. Bu türden bir yaklaşım karşısında organizma kendine kolaylıkla yan yollar yaratmakta ve reperfüzyonla gelen oksidatif yüklenmenin yanı sıra proinflatuar sitokinlerin ve kan hücrelerinin aktivasyonu ile giderek büyüyen İ-R dizinini durdurma çabaları başarısız kalmaktadır.

İnce bağırsakta İ-R hasarını önlemeye yönelik çalışmalar artarak devam etmektedir. Farklı hayvan çalışmalarında dokuların İ-R hasarından korunması için çeşitli tedavi yöntemleri başarıyla kullanılmıştır. Bunlar; iskemik ön koşullama, antioksidan ajanlarla tedavi, NO uygulamaları, perflorokarbonlarla tedavi, enteral beslenme, glisin ve glutamin uygulamalarıdır (86). İskemi reperfüzyon üzerine yapılan deneysel çalışmalarda bradikinin ve curcumin de kullanılmış ve bu maddelerin intestinal mukoza hasarını azalttığı biyokimyasal ve histopatolojik verilerle tespit edilmiştir (6, 87).

Sıçanlarda deneysel intestinal İ-R modelinde SMA'nın obliterasyonu vasıtasıyla iskemi ve obliterasyonun giderilmesiyle reperfüzyon oluşturma süreleri literatürde hala tartışmalı bir konudur. Mallick ve ark. deneysel modellerinde bu süreleri iskemi için 30 dk, reperfüzyon için ise 120 dk olarak uygulamışlardır (88). Bu çalışmada deneklere ise laparotomi sonrası SMA'nın klempenmsi vasıtasıyla 1 saat iskemi ve klempin açılmasıyla birlikte 2 saat reperfüzyon yapılarak İ-R hasarı oluşturuldu (52).

Sulforafan ilk kez 1948'de sentezlendi (47). Epidemiyolojik ve klinik çalışmalardan elde edilen veriler brokoli, karnıbahar, su teresi, Brüksel lahanası ve lahana gibi turpgillerden zengin beslenenlerin belirli tip kansere daha az yakalandığını göstermiştir. Söz konusu bitkilerin antikarsinogenez ve tümör büyümesi, tümör çeşitliliği ve nükslerin azaltılması gibi kemoterapötik bakımdan faydalı etkileri; bir fonksiyonel izotiosiyonat grubu içeren yüksek fitokimyasal içerikleri ile ilişkilendirilir.

Faz 2 enzimlerinin artırılması ile kirli hava ve polenlerin detoksifikasyonu, hücresel oksidatif stresin azalması, inflammatuar sitokin üretiminin baskılanması ve doku inflamasyonunun azalması sonucu üst solunum yolu enfeksiyonu oluşumunun da engellenmesine yardımcı olur (64).

Son zamanlarda, H.pylori bağlantılı gastritli hastalarda H. pylori eradikasyonunun glutatyon S-transferaz aktivitesini ve antral mukozada glutatyon seviyelerini artırdığı ya da restore ettiğine dair bulgular aynı zamanda SFN'in insanlarda benzer bir tümör-koruyucu etkisi olabileceği fikrini destekler.

Birçok in vitro çalışmada kolon, pankreas, akciğer, deri, meme, böbrek ve prostat kanserlerinin oluşum ve gelişim sürecinde engelleyici olduğu gösterilmiştir (69-74). Bazı çalışmalarda SFN'nin Nrf2'yi aktive etmesinin renal İ-R hasarı ve kanserlerden korunmada etkili bir sonuç vereceği belirtilir.

Son çalışmalar Nrf2/ARE yolağının aktivasyonunun, karaciğer, kalp, beyin ve böbrekte İ-R hasarını azalttığını daha da ötesi böbrek fonksiyonlarının yeniden kazanılmasında ve beyindeki iskemi alanının azaltılmasında da yardımcı olduğu bulunmuştur (63).

Sulforafanın insanlarda kullanımının güvenilirliğini değerlendirmek için birçok çalışma yapılmıştır. 25-100 µmol glukorafanın/gün 1 hafta ve 400 µmol glukorafanın/gün 2 hafta uygulanarak yapılan iki randomize, placebo kontrollü ve çift kör çalışmada herhangi bir yan etki görülmemiştir (62).

Serbest oksijen radikallerinin özellikle hücresel membran lipitlerinin peroksidasyonunu da içeren farklı mekanizmalarla hücre hasarına ve sonuçta nekroza neden olduğuna inanılmaktadır (87,89). Lipit radikalleri pek çok radikal reaksiyon ile oluşabilir. Lipit radikali, memeli hücre membranlarında bol miktarda doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna sebep olarak hücre hasarına neden olmaktadır. Lipit radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipit peroksid radikalini yapar. Tüm biyolojik membranlar lipit peroksidasyonuna duyarlıdır. Geçirgenlik değişkenliklerinden başlayarak membranda yapısal ve fonksiyonel bozukluklar oluşabilir. Membran bütünlüğü bozulabilir. Lipit peroksit radikali diğer lipit hidroperoksitlerini oluşturur. Hidroperoksitler yüksek derecede toksik ürünlere dönüşür. En toksik ürünler aldehidlerdir (87,90). Otamiri ve ark. intestinal İ-R çalışmalarında, İ-R grubunda MDA seviyelerinde anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir (91). Mevcut deneysel modelde, SFN uygulaması ile SOD, GSH-Px gibi antioksidan enzim aktivitelerinde gözlenen anlamlı artışlara rağmen; MDA düzeylerinde tespit edilen yükselme beklenen bir bulgu değildir. Bu farklılığın MDA ölçümünde kullanılan metoda bağlı olabileceği düşünülebilir. Şöyle ki, günümüzde MDA ölçümleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi analitik hassasiyeti yüksek metotların kullanımı önerilmektedir .Bu projede MDA ölçümünde kullanılan

Cayman marka MDA kitinin ölçüm prensibi, tiyobarbitürik asitin MDA ve benzeri karbonil grubu içeren bileşiklerle yaptığı pembe kompleksin değerlendirilmesi olduğundan; metot MDA dışında başka bileşikleri de ölçmektedir. Diğer bir ifadeyle pozitif interferansa açık bir metottur. Bu nedenle yalancı yüksek değerlerin elde edildiği düşünülebilir (92, 93).

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalının H_2O_2 ve O_2 dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda O_2 üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafında düşük tutulur. Ancak, H_2O_2 geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile son derece aktif $OH^\bullet$ 'ye dönüşmektedir (94). Reperfüzyon öncesi uygulanan SOD bağırsak lümenine olan net sıvı kaybını önler ve mukozal lezyonların ilerlemesini engeller (95).

Bizim çalışmamızda SFN uygulaması ile hem kontrol hem de İ-R grubuna göre anlamlı derecede SOD aktivitesi yükselmesi tespit edildiğinden; SFN'nin SOD'u da aktive ettiği öne sürülebilir. Ayrıca SFN'nin direkt antioksidan etki göstererek de İ-R şartlarında oluşan SOR'u söndürdüğü ve bu yolla SOR hasarına bizzat hedef olabilen antioksidan enzimleri koruduğu düşünülebilir.

Glutasyon peroksidazın fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal etkisi ile fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. Glutasyon peroksidaz eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (96).

Kanda ve homojenize edilmiş dokularda GSH-Px düzeyine bakılarak İ-R hasarından ne düzeyde etkilendiği belirlenebilir. Bu çalışmada bulgulardan da fark edileceği gibi İ-R uygulaması ile azalan enzim aktivitesi SFN uygulaması ile arttırılabildi. Glutasyon peroksidaz aktivitesindeki artışın muhtemel nedenleri arasında yeniden enzim sentezlenmiş olması veya var olan enzimin aktivitesinin arttırılmış olması öne sürülebilir.

İskemi reperfüzyon sonrası GSH-Px aktivitesinde gözlenen belirgin azalmanın SOD aktivitesinde tespit edilememesi İ-R ile oluşan oksidatif stresin SOD üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığını düşündürebilir.

İntestinal İ-R hasarının histopatolojik değerlendirilmesinde birçok skorlama sistemi geliştirilmiştir. Chiu ve ark. (75), Yoshida ve ark. (97), Hierholzer ve ark. (98)

sınıflamalar yapmışlardır. Chiu ve ark. tarafından tanımlanan histopatolojik sınıflama intestinal İ-R hasarı ve buna karşı kullanılan antioksidan ajanların etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilebildiği sık kullanılan, basit ve sade bir morfolojik skorlama sistemidir.

Histopatolojik hasar yönünden gruplar değerlendirildiğinde en fazla hasarın İ-R grubunda olduğu görüldü. Çoklu karşılaştırma testine göre kontrol grubu ile SFN+İ-R ve İ-R grupları arasındaki fark anlamlı bulundu. İskemi-reperfüzyon grubunda Chiu skorları yüksek denekler olmadığı için SFN+İ-R grubundaki hafif değişiklikler histopatolojiye tam olarak yansımadığı düşünüldü. Bu anlamda daha yüksek Chiu skorlu yani iskemi süresinin daha uzun tutulduğu bir çalışmada bu aradaki küçük farkın anlamlı olup olmadığı değerlendirilebilir.

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

Bizim çalışmamızda intestinal İ-R hasarında SFN etkinliği biyokimyasal olarak gösterilse bile histopatolojik olarak net gösterilememiştir. Reperfüzyon hasarının karmaşık mekanizmaları akla getirildiğinde SFN ile ince bağırsaklarda muhtemel farklı etki mekanizmalarını ortaya çıkarmaya yönelik ve özellikle diğer başka parametrelerin kullanılacağı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya DEKAM’da gerçekleştirilen “Sıçanlarda oluşturulan deneysel intestinal iskemi reperfüzyon modelinde sulforafanın etkileri” adlı çalışmanın sonuçları şu şekilde sıralanabilir:

1. Histopatolojik değerlendirmede; SFN’in iskemi sonrası reperfüzyona bağlı intestinal mukoza hasarına hafif fayda sağladığı görülse de aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.
2. Hernekadar MDA sonuçları SFN’ nin İ-R hasarı üzerine faydalı olduğunu göstermede yetersiz kalsa da ; SFN uygulanan İ-R oluşturulmuş ratlarda gözlenen SOD ve GSH-Px aktivitesindeki belirgin yükselmelerin ışığında SFN’ nin İ-R hasarında oksidatif stres aracılığı ile hasarın önlenmesinde faydalı olabileceği öne sürülebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Kumar V., Abbas A., Fausto N., Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Saunders Company, New York, USA, 2005; 7th Edition, pp. 11-26.
2. Cerqueira NF., Hussni CA., Yoshida WB., Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras*, 2005; 20: 336–343.
3. İlgi S., Konan A., Gastrointestinal sistem anatomisi. In: Sayek İ. (eds). *Temel Cerrahi* (3. baskı). Güneş Kitabevi, Ankara 2004; 1015- 1024.
4. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986; 250: 749–753.
5. Mallick IH., Yang W., Winslet MC., Seifalian AM., Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1359–1377.
6. Dal F., Küçük C., Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel İntestinal İskemi Reperfüzyon Modelinde Bradikinin Önkoşullandırılmasının Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, 2008.
7. Osborne, DL., Cepinskas, G., Kvietys, PR., Development of ischemia / reperfusion tolerance in the rat small intestine, *J Clin Invest.* 1994; 94: 1910–1918.
8. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British J of Surgery* 1994; 81: 637-647.
9. Lin E., Lowry SF., Calvano SE., The Systemic Response To Injury. Schwartz SI (ed), *Principles of Surgery*. Mc Graw–Hill 7th Edition 1999; Vol I: 13-32.
10. Semenza GL., Cellular and Molecular Dissection Of Reperfusion injury ROS within and without. *Circ Res.* 2000; 86: 117–118.
11. Girotti AW. Lipit Hydroperoxide Generation, Turnover, and Effector Action in Biological Systems. *J Lipit Res.* 2000; 39: 1529-1542.
12. McCord, JM., Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985; 312: 159-163.

13. Massberg, S., ve Messmer, K. The Nature of İschemia/Reperfusion İnjury. Transplantation Proceedings, 1998; 30: 4217–4223.
14. Terzi C., Kuzu A., Tanık A. ve ark., Sıçanlarda İntestinal İskemi Modelinde Proflaktik Kısa ve Uzun Süreli Yüksek Doz Allopurinol Kullanımının Mortaliteye Etkisi. Klinik ve Deneysel Cerrahi Derg 2000; 8: 10–16.
15. Bathe OF., Chow AWC., Phang PT., Splanchnic Origin of Cytokines in a Porcine Model Of Mesenteric İschemia-Reperfusion. Surgery 1998; 123: 79–88.
16. Bilbao G., Contreras JL., Eckhoff DE. et al., Reduction of İschemia–Reperfusion İnjury of the Liver By in vivo Adenovirus- Mediated Gene Transfer of the Antiapoptotic Bcl-2 gene. Ann Surg 1999; 230: 185–193.
17. Parks DA., Granger DN., Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. Am J Physiol 1983; 245: 285–289.
18. Schoenberg MH, Beger HG.Reperfusion injury after intestinal ischemia. Crit Care Med 1993; 21:1376-1386.
19. Savaş C., Aras T., Cakmak M., et al. Pentoxifylline inhibits overflow and reduces intestinal reperfusion injury . J Pediatr Surg 1997; 32: 905-910
20. Molnar Z., Shearer E., Lowe D., N-acetylcysteine treatment to prevent the progression of multisystem organ failure: a prospective, randomized, placebo controlled study. Crit Care Med 1999; 27: 1100-1104.
21. Mustafa NA., Yandi M., et al. Role of diltiazem in ischemia-reperfusion injury of the intestine. Eur Surg Res 1994; 26: 335–341.
22. Günel E., Caglayan F., Caglayan O. et al. Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. J Pediatr Surg 1998; 33:1536-1539.
23. Parks DA., Bulkley GB., Granger DN., et al. Ischemic injury in the cat small intestine: role of superoxide radicals. Gastroenterology 1982; 82: 9-15.
24. Reilly PM., Schiller HJ., Bulkley GB., Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg 1991; 161:488–503.

25. Parks DA., Granger DN., Bulkley GB., et al. Soybean trypsin inhibitor attenuates ischemic injury to the feline small intestine. *Gastroent* 1985; 89: 6–12.
26. Haglund U., Bergqvist D., Intestinal ischemia—the basics. *Langenbeck's Arch Surg* 1999; 384: 233–238.
27. Ormrod DJ., Harrison GL., Miller TE., Inhibition of Neutrophil Myeloperoxidase activity by selected tissues. *J Pharm Met* 1987; 18: 137–142
28. Zimmerman BJ., Granger DN., Mechanisms of reperfusion injury. 1994; 307: 284–292.
29. Stojadinovic A., Smallridge R. et al: Anti-inflammatory effects of U743S9F in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury. *Crit Care Med* 1999; 27: 764–770.
30. Conner CW., Gallagher CM., Neutrophil priming state predicts capillary leak after gut ischemia in rats. *J Surg Res* 1999; 84: 24-30.
31. Halliwell B., Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 344 (8924): 721-724.
32. Tamer L., Polat G., Eskandari G., Ercan B., Atik U., Serbest radikaller. *MEÜ Tıp Fak Derg* 2000; 1: 52-58.
33. Cuzzocrea S., Reiter RJ., Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2001;426 (1–2):1-10.
34. Gunel E., Caglayan F., Caglayan O., Dilsiz A., Duman S., Aktan M., Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *J Pediatr Surg* 1998;33(10): 1536-1539.
35. Aktan ÖA., Yalçın SA., Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites and the surgeon. *Turk J Med Sci* 1998; 1–5.
36. Aydın ÇY., Deneysel testis torsiyonunda doku hasarının önlenmesinde Nasetilsisteinin rolü (tez). Edirne:Trakya Üniversitesi Tıp Fak; 2005.

37. Cui K., Luo X., Xu K., Ven Murthy MR., Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28(5): 771–799.
38. 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.
39. Baykal Y., Kocabalkan F., Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000; 9: 31–39.
40. Girotti AW., Lipit hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipit Res* 2000; 39: 1529- 1542.
41. Ertan T., Soran A., Kılıç M. ve ark., Kan malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin (TAS) önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2001; 2: 154- 167.
42. Haga S., Remington SJ., Morita N., Terui K., Ozaki M., Hepatic ischemia induced immediate oxidative stress after reperfusion and determined the severity of the reperfusion-induced damage. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11: 2563–2572.
43. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994; 10: 721–724.
44. Akkuş İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları*, İstanbul, 2000; 1–124.
45. Chen HF, Kou YR. Vagal and mediator mechanisms underlying the tachypnea caused by pulmonary air embolism in dogs. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1247–1253.
46. Kutty RK., Kutty G., Wiggert B., et al. Induction of heme oxygenase 1 in the retine by intensive visible lighth: Suppresion by the antioxidant dimethylthiourea. *Biochemistry* 1995; 92: 1177–1181.
47. J. W. Fahey and P. Talalay., Antioxidant Functions of Sulforaphane:a Potent Inducer of Phase II Detoxication Enzymes. *Food and Chemical Toxicology* 1999; 37: 973–979.

48. Theresa A. Shapiro, Jed W. Fahey, Kristina L. Wade, Katherine K. Stephenson, and Paul Talalay. Chemoprotective Glucosinolates and Isothiocyanates of Broccoli Sprouts: Metabolism and Excretion in Humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 501-508.
49. Vermeulen M., Van Der Berg R., Freidig AP., et al. Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretions in urine of isothiocyanate mercaptic acids. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 5350–5358.
50. Rouzaud G., Rabot S., Ratcliffe B., Duncan AJ., Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. *Br J Nutr* 2003; 90: 395–404.
51. Mithen R., Glucosinolates – biochemistry, genetics, and biological activity. *Plant Growth Regul* 2001; 34: 91–103.
52. Hai-Dong Zhao, Feng Zhang, Gang Shen, et. al, Sulforaphane protects liver injury induced by intestinal ischemia reperfusion through Nrf2-ARE pathway *World J Gastroenterol* 2010 June 28; 16 (24): 3002-3010.
53. Fahey JW., Zalcmann AT., Talalay P., The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 2001; 56: 5–51.
54. Bheemreddy RM., Jeffery EH., The metabolic fate of purified glucoraphanin in F344 rats. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 2861–2866.
55. Petri N., Tannergren B., Holst FA., et al. Absorption/metabolism of sulforaphane and quercetin, and regulation of phase II enzymes, in human jejunum in vivo. *Drug Metab Dispos* 2003; 805–813.
56. Kassahun K., Davis M., Hu P., et al. Biotransformation of the naturally occurring isothiocyanate sulforaphane in the rat. Identification of phase I metabolites and glutathione conjugates. *Chem Res Toxicol* 1997; 10: 1228–1233.
57. Kolm RH., Danielson UH., Zhang Y., et al. Isothiocyanates as substrates for human glutathione transferases: structureactivity studies. *Biochem* 1995; 311: 453–459.

58. Conaway CC., Getahun SM., Liebes LL., et al. Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. *Nutr Cancer* 2000; 38:168–178.
59. Ye AT., Kinkova–Kostova KL., Wade Y., et al. Quantitative determination of dithiocarbamates in human plasma, serum, erythrocytes and urine: pharmacokinetics of broccoli sprout isothiocyanates in humans. *Clin Chim Acta* 2002; 316: 43–53.
60. Shapiro TA., Fahey JW., Wade KK., et al. Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 1091–1100.
61. Theresa A. Shapiro, Jed W. Fahey, Albena T. Dinkova–Kostova, et al. Safety, Tolerance, and Metabolism of Broccoli Sprout Glucosinolates and Isothiocyanates: A Clinical Phase I Study–*Nutrition and Cancer* 2006; 55 (1): 53–62.
62. Kensler TW., Chen JG., Egner PA., et al. Effects of glucosinolate–rich broccoli sprouts on urinary levels of aflatoxin–DNA adducts and phenanthrene tetraols in a randomized clinical trial in He Zuo Township, Qidong, People’s Republic of China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2605–2613.
63. Sulforaphane glucosinolate monograph. *Alternative medicine review*. Volume: 15, Number 4.
64. Reidl MA., Saxon A., Diaz–Sanchez D., Oral sulforaphane increases phase II antioxidant enzymes in the human upper airway. *Clin Immunol* 2009; 130: 244–251.
65. Jed W. Fahey, Xavier Haristoy, Patrick M. Dolan, et al. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002 May 28; 99(11): 7610–7615.
66. Kong JS., Yoo SA., Kim HS., et al. Inhibition of synovial hyperplasia, rheumatoid T cell activation, and experimental arthritis in mice by sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 159–170.

67. Bertl E, Bartsch H, Gerhauser C. Inhibition of angiogenesis and endothelial cell functions are novel sulforaphane-mediated mechanisms in chemoprevention. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 575–585.
68. Clarke JD., Dashwood RH., Ho E., Multi-targeted prevention of cancer by sulforaphane. *Cancer Lett* 2008; 269: 291–304.
69. Gamet-Payrastre L., Li P., Lumeau S., et al. Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in ht29 human colon cancer cells. *Cancer Res* 2000; 60: 1426–1433.
70. Singh AV., Xiao D., Lew KL., et al. Sulforaphane induces caspase-mediated apoptosis in cultured PC-3 human prostate cancer cells and retards growth of PC-3 xenografts in vivo. *Carcinogenesis* 2004; 25: 83–90.
71. Fimognari C., Nusse M., Cesari R., et al. Growth inhibition, cell-cycle arrest and apoptosis in human T-cell leukemia by the isothiocyanate sulforaphane. *Carcinogenesis* 2002; 23: 581–586.
72. Pham NA., Jacobberger JW., Schimmer AD., et al. The dietary isothiocyanate sulforaphane targets pathways of apoptosis, cell cycle arrest, and oxidative stress in human pancreatic cancer cells and inhibits tumor growth in severe combined immunodeficient mice. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 1239–1247.
73. Liang H., Lai B., Yuan Q., Sulforaphane induces cell-cycle arrest and apoptosis in cultured human lung adenocarcinoma LTP-A2 cells and retards growth of STEP-A2 xenografts in vivo. *J Nat Prod* 2008; 71: 1911–1914.
74. Tang L., Zhang Y., Jobson HE., et al. Potent activation of mitochondriamediated apoptosis and arrest in S and M phases of cancer cells by a broccoli sprout extract. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 935–944.
75. Chiu CJ., McArdle AH., Brown R., et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states a morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478–483.
76. Zimmerman BJ., Granger DN., Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65–83.

77. Wilhelm J., Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1–53.
78. Jennings RB., Reimer KA., The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225–246.
79. Green CJ., Gower JD., Healing G., et al. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun* 1989; 7: 255–264.
80. Orrenius S., Burkitt MJ., Kass GE., et al. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: S. 33–42.
81. Parks DA., Williams TK., Beckman JS., Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 1988; 254 (5 Pt 1): 768-774.
82. Homer–Vanniasinkam S., Crinnion JN., Gough MJ., Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14: 195–203.
83. Monsinjon T., Richard V., Fontaine M., Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 2001; 15: 293–306.
84. Acworth IN., Bailey B., Reactive Oxygen Species. In: *The handbook of oxidative metabolism*. Massachusetts: ESA Inc., 1997; 1–4.
85. Reiter RJ., Acuña-Castroviejo D., Tan DX., et al. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 939: 200–215.
86. Mallick IH., Yang W., Winslet MC., et al. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1359–1377.
87. Karabacak A., Sözüer E., Sıçanlarda oluşturulan deneysel intestinal iskemi reperfüzyon modelinde curcuminin hasar önleyici etkileri. *Tıpta uzmanlık tezi*, 2010.

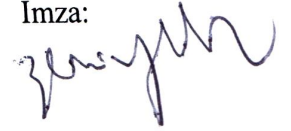
88. Mallick IH., Yang WX., Winslet MC., Seifalian AM., Pyrrolidine dithiocarbamate reduces ischemia-reperfusion injury of the small intestine. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7308–7313.
89. Kong SE., Blennerhassett LR., Heel KA., McCauley RD., Hall JC. Ischaemia reperfusion injury to the intestine. *Aust N Z J Surg* 1998; 68: 554–561.
90. Cini M., Moretti A., Studies on lipid peroxidation and protein oxidation in the aging brain. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 53–57.
91. Otamiri T: Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophil infiltration after small-intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989; 5: 593–597.
92. Marchant CT., Barron DM., Wilson SM., et al. No evidence of malonyldialdehyde formation during reoxygenation injury in vitamin E-deficient rat heart. *Basic Res Cardiol.* 1993; 88: 314–320.
93. TPA Devasagayam, Boloor KK and Ramasarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: An analysis of merits and demerits. *Indian Journal of Biochemistry&Biophysics* Vol.40, 2003; pp. 300-308.
94. Rodriguez C., Mayo JC., Sainz RM., Antolín I., Herrera F., Martín V., Reiter RJ., Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 2004; 36: 1–9.
95. Shoenberg MH., Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376–1386.
96. Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C., Giovannini C., Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 577–586.
97. Yoshida WB., Alasio T., Mazziotta R., et al. Effect of alpha-tocopherol, taurine and selenium on the attenuation of ischemia/reperfusion injury of splanchnic organs. *Cardiovasc Surg* 1998; 6: 178–187.
98. Hierholzer C., Kalff JC., Audolfsson G., et al. Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 1999; 15: 1244–1254.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Tutkun TALİH'e ait Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel İntestinal İskemi Reperfüzyon Modelinde Sulforafanın Etkileri adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 27/04/2012

İmza:

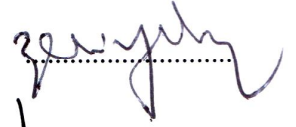


İmza

JÜRİ

Başkan

: Prof. Dr. A. Zeki Tilmaz



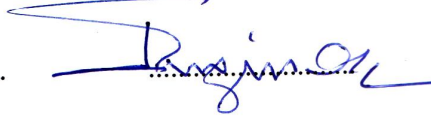
Üye

: Prof. Dr. Erdem U. Sözer



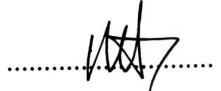
Üye

: Prof. Dr. Engin Ok



Üye

: Doç. Dr. Nuzi Hıncal



Üye

: Doç. Dr. Kemal Deniz

