



**T. C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, DR. SAMİ ULUS
KADIN DOĞUM VE ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
KARVEDİLOL'ÜN İNTESTİNAL MUKOZA ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ: RATLARDA DENEYSEL
ÇALIŞMA**

DR. FATMA TUĞBA GÜVENÇ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA-2017



**T. C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, DR. SAMİ ULUS
KADIN DOĞUM VE ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
KARVEDİLOL'ÜN İNTESTİNAL MUKOZA ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ: RATLARDA DENEYSEL
ÇALIŞMA**

DR. FATMA TUĞBA GÜVENÇ

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. İSMET FARUK ÖZGÜNER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA-2017

TEŞEKKÜR

Dr. Sami Ulus Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Cerrahisi Kliniğinde uzmanlık eğitimim süresince hekimliğin ve cerrahinin temel ilkelerini öğrendiğim değerli hocalarım ve uzmanlarım Prof. Dr. İ. F. ÖZGÜNER, Doç. Dr. A. KARAMAN, Doç. Dr. D. ERDOĞAN, Doç. Dr. İ. KARAMAN, Op. Dr. H. A. MADEN, Doç. Dr. E. YILMAZ, Op. Dr. B. YAĞIZ, Op. Dr. Ö. BALCI'ya

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi birikimini, desteğini ve anlayışını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. İ. F. ÖZGÜNER, Doç. Dr. A. KARAMAN'a, histoloji çalışmalarında katkılarından dolayı Prof. Dr. H. M. ÖZGÜNER ve Yrd. Doç. Dr. H. NAKKAŞ'a

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım tüm öğretim üyelerime, uzmanlarıma ve asistan arkadaşlarıma; cerrahi servis hemşirelerine, sekreterleri ve personeline, ameliyathane ekiplerine, diğer bölümlerde görev alan çalışma arkadaşlarıma,

Dostluğu ve içtenliğiyle her zaman yanımda olan ve hep olacak, zor günleri beraber atlattığımız arkadaşlarım Dr. M. Anayurt ve Dr. S. Akman'a

Tıp fakültesine girişimle başlayan bu zorlu süreçte ve hayatımın her aşamasında hep yanımda olup başımın hep dik durmasını sağlayan başta canım annem ve babam olmak üzere aileme,

Tüm bu zorlu süreç sırasında maddi ve manevi desteğiyle hep yanımda hissettiğim sevgili eşim Op. Dr. Yahya Güvenç ve biricik kızım İDİL GÜVENÇ'e

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. F. T. Güvenç

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar	iv
ŞEKİLLER.....	v
RESİMLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1-GİRİŞ ve AMAÇ	1
2- GENEL BİLGİLER.....	3
2. 1 Tarihçe.....	3
2. 2. Anatomi.....	3
2. 2. 1. Süperior Mezenterik Arter.....	3
2. 2. 2. Trunkus Çölyakus.....	5
2. 2. 3. İnferior Mezenterik Arter	6
2. 2. 4. İnce Barsaklar	9
2. 3. İSKEMİ	9
2. 4. Reperfüzyon	12
2. 5. İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarı	17
2. 6. Serbest Radikaller	20
2. 6. 1. Süperoksit Radikali	21
2. 6. 2. Hidrojen Peroksit.....	22
2. 6. 3. Hidroksil Radikali	22
2. 6. 4. Nitrik Oksit.....	22
2. 7. Antioksidanlar	23
2. 7. 1. Süperoksit Dismutaz.....	25
2. 7. 2. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	26

2. 7. 3. Glutasyon Redüktaz (GR).....	26
2. 7. 4. Katalaz (CAT)	27
2.7.5. Total ve serbest tiyol	27
2. 7. 6. Total oksidan seviye (TOS).....	28
2. 7. 7. Total antioksidan kapasite (TAK)	28
2. 8. Lipid Peroksidasyonu.....	29
2. 9. Karvedilol (CVD).....	29
3- GEREÇ VE YÖNTEMLER	32
3. 1 Deney Hayvanları.....	32
3. 2 Gruplar	32
3. 3 Deneysel İntestinal İskemi-Reperfüzyon Modeli.....	33
3. 4. Biyokimyasal İşlemler	37
3.4.1 Total ve serbest tiyol ölçümü	37
3. 4. 2 Total antioksidan kapasitesinin (TAK) belirlenmesi.....	38
3. 4. 3 Total oksidatif durumunun (TOS) belirlenmesi	38
3. 5. Histokimyasal İşlemler.....	39
3. 6. İstatistiksel Analiz	41
4- BULGULAR	42
4. 1. Biyokimyasal Bulgular.....	42
4. 2. Histokimyasal Bulgular.....	47
5- TARTIŞMA.....	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
7- ÖZET	60
8- ABSTRACT (ÖZET İNGİLİZCE).....	62
9. KAYNAKLAR	64

TABLÖLAR

Tablo 1. Non Enzimatik ve Enzimatik Antioksidanlar [74].	24
Tablo 2. Eksojen antioksidanlar [74].	25
Tablo 3. Deney grupları	33
Tablo 4. Chiu Skoruması	40
Tablo 5. Gruplara göre deneklerin histoloji skorları.....	40
Tablo 6. Gruplara göre deneklerin biyokimyasal ölçümleri	43
Tablo 7. Gruplara göre deneklerin biyokimyasal ölçümleri - devamı	46

ŞEKİLLER

Şekil 1: Süperior Mezenterik Arter [24]	5
Şekil 2: Trunkus Çölyakus [24].	6
Şekil 3: Arteria Mezenterika Inferior [27]	7
Şekil 4: SMA ve İMA arasındaki kollateraller [24]	8
Şekil 5: İskemi sonucu membran hasar mekanizmaları [31]	10
Şekil 6: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları [32]	11
Şekil 7: İskemide pürin metabolizmasının gelişimi ve ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyonda oksijen radikalının oluşumu [43].	15
Şekil 8. Disülfid aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	44
Şekil 9. Native Tiyol aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	44
Şekil 10. Total Tiyol aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	45
Şekil 11. Sham gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. H-E boyaması. Bar: 200 μ m. 1A: Sham grubu, 1B: Sham+Karvedilol grubu. Epitel bütünlüğünü korumakta, mukoza normal görünümde, villuslar düzgün.	47
Şekil 12. Sham gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. H-E boyaması. Bar: 100 μ m. 2A: Sham grubu, 2B: Sham+Karvedilol grubu. Tek katlı prizmatik epitel ve Goblet hücreleri izlenmekte. Epitel lamina propria ile bütünleşik. Epitel altı bağ doku doğal görünümde.	47
Şekil 13. Oklüzyon gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. Ok: Gruenhagen boşlukları, imleç: epitel bütünlüğü yitirilmiş mukoza alanları. H-E boyaması. Bar: 200 μ m. 3A: Oklüzyon grubu, 3B: Oklüzyon +Karvedilol grubu	48
Şekil 14. Oklüzyon grubuna ait mikroskopik fotoğraflar. Ok: Gruenhagen boşlukları, imleç: epitel bütünlüğü yitirilmiş mukoza alanları. H-E boyaması. 4A: Bar: 200 μ m. 4B: Bar: 100 μ m	49
Şekil 15. Oklüzyon gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. Ok: Gruenhagen boşlukları, imleç: epitel bütünlüğü yitirilmiş mukoza alanları. H-E boyaması. Bar: 100 μ m. 5A: Oklüzyon grubu, 5B: Oklüzyon +Karvedilol grubu	50

Şekil 16. Sham ve oklüzyon gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. H-E boyaması. Bar: 200 µm. **6A:** Sham+Karvedilol grubu, **6B:** Oklüzyon grubu. **6C:** Oklüzyon+Karvedilol grubu. Sham grupları ve oklüzyon uygulanan gruplar arasındaki hücre artışı farkı belirgin olarak izlenmektedir. 50



RESİMLER

Resim 1. Orta hat insizyonu ile laparotomi	35
Resim 2. SMA diseksiyonu	36
Resim 3. SMA'ya atravmatik mikrovasküler bir klemp konularak kan akımının 30 dk durdurulması	36
Resim 4. Oklüzyon, mezenterik damarlarda pulsasyon olmaması ve solukluk oluşması ile doğrulandı.	37



SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS Etil Benzatiozolin Sülfazid Asit
ADP Adenozin difosfat
AF Atrial Fibrilasyon
AMİ Akut Mezenterik İskemi
AMP Adenozin Mono Fosfat
Ark Arkadaşları
ATP Adenozin Tri Fosfat
BT Bilgisayarlı Tomografi
BUN Kan Üre Azotu
Ca Kalsiyum
cAMP Siklik Adenozin Mono Fosfat
cGMP Siklik Guanidin Mono Fosfat
CK Kreatin Kinaz
Cl Klor
CO₂ Karbondioksit
COX Siklooksijenaz
CPK Kreatin Fosfokinaz
Cr Kreatinin
CVD Karvedilol
ÇOY Çoklu Organ Yetersizliği
ÇT Çölyak Trunkus
DNA Deoksiribonükleik asit
Fe Demir
GİS Gastrointestinal Sistem
GSH Glutasyon
H₂CO₃ Karbonik Asit
H₂O₂ Hidrojen Peroksit
HE Hematoksilen Eosin
HEM Hemoprotein
HPETE Hidroperoksi Eikoza Tetraeroik Asid

ICAM İntrasellüler adezyon molekülü
IL İnterlökin
IMA İskemi Modifiye Albumin
I/R İskemi Reperfüzyon
I/RH İskemi Reperfüzyon Hasarı
i. p İnterperitoneal
İMA İnferior Mezenterik Arter
İMV İnferior Mezenterik Ven
İPDA İnferior Pankreatikoduodenal Arter
K Potasyum
KAR Karnozin
Kg Kilogram
KY Kalp Yetmezliği
LDH Laktat Dehidrojenaz
LOX Lipoksijenaz
LP Lipid Peroksidasyonu
LT Lökotrien
Mcg Microgram
MDA Malonyldialdehyde
mg Miligram
Mİ Myokard İnfarktüs
Ml Mililitre
MPO Miyeloperoksidaz
MR Manyetik Rezonans
MVT Mezenterik Ven Trombozu
Na Sodyum
NO Nitrik Oksit
NOMİ Non-Okklusif Mezenterik İskemi
NOS Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻ Superoksit
OH- Hidroksil
ONOO Peroksinitrit anyonu

P Fosfor
PAF Platelet Activating Factor
Perop Peroperatif
PG Prostaglandin
PGI Prostasiklin
PKA Protein Kinaz A
PMNL Polimorf Nüveli Lökositler
PV Portal Ven
ROS Reaktif Oksijen Türleri
SH Nativ Tiyol
SIRS Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SMA Superior Mezenterik Arter
SMV Superior Mezenterik Ven
SOD Süperoksit Dismutaz
SOR Serbest Oksijen Radikalleri
SPDA Superior Pankreatikoduodenal Arter
SS Disülfid
SV Splenik Ven
TAA Tioasetemid
TAS Total antioksidan kapasite
TBARS Tiobarbitürik asit reaktif madde
TOS Total oksidatif durum
TEF Trombosit Etkinleştirici Faktör
TNF Tümör Nekrozis Faktör
TT Total Tiyol
TXA2 Tromboksan A2

1-GİRİŞ ve AMAÇ

İskemi, bir organı veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olabilen hücre veya doku zedelenmesidir [1].

Bir organ veya sistemin iskemisi, arteriyel kan akımının tıkanıklığının boyut ve süresine bağlı olarak değişik derecelerde doku harabiyeti ile sonuçlanır [2]. Geri dönüşümsüz hücre hasarının önlenmesi için dokuya kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) gerekmektedir. Barsaklarda iske mi ve reperfüzyon periyodlarında oluşan patolojik değişiklikler, intestinal iske mi reperfüzyon (İ/R) hasarı olarak adlandırılmaktadır [3]. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iske mi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar [4]. Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücre sel yapılar, zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir [5].

Akut mezenter iskemisi (AMİ) nadir görülen, ancak geç tanı konulabilmesi nedeniyle yüksek mortaliteye (%60–80) sahip olan abdominal vasküler acil bir durumdur [6-8]. İnsidansı giderek artmaktadır. İntestinal iske mi reperfüzyon cerrahi pratiğinde abdominal aort anevrizması, kardiyopulmoner bypass, boğulmuş fıtık cerrahisi, midgut volvulus, internal herni, ince bağırsak transplantasyonu ve neonatal enterokoliti gibi durumlarda bağırsaklara gelen kan akımının devamlılığının kesintiye uğraması sonucu görülür. Ayrıca, septik ve hipovolemik şok sırasında da gelişir [9]. İntestinal I/R sonucu oluşan hasar sadece bu bölgede sınırlı kalmayıp, aktive olan birçok mekanizma ve ortaya çıkan toksik ürünler nedeniyle başta akciğer olmak üzere karaciğer, kalp, beyin, böbrekler gibi uzak organlarda hasar oluşturur ve çoklu organ yetersizliği (ÇOY)'ne neden olabilir [10]. İnce bağırsaklarda oluşan I/R hasarı yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan önemli bir problemdir. Reperfüzyon ile birlikte sitotoksik olaylar serisi başlar. Reperfüzyon hasarının oluşmasında temel iki mekanizma söz konusudur. Bunlardan ilki SOR'un açığa çıkması, diğ eri ise fosfolipaz A2'nin iskemik dönemde kalsiyum (Ca^{+2++}) etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ

asidlerini parçalamasıdır [3, 10, 11]. Reperfüzyon hasarındaki tablonun oluşmasındaki diğer faktörler arasında; iskemik dokuda biriken nötrofiller, trombositler, araşidonik asit metabolizmasının oluşturduğu tromboksan A2 ve lökotrienler, aktive olan kompleman sistemi, oluşan membran atak kompleksi, salınan akut faz reaktanları ve sitokinler sayılabilir [12, 13].

AMİ, superior mezenterik arter (SMA) embolisi (%45–50), SMA trombozu (%25), superior mezenterik ven (SMV) trombozu (%5-10) ve non-oklüziv mezenterik iskemi (NOMİ) (%20) olarak sınıflandırılır [14]. Görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler, cerrahi teknik ve yoğun bakım desteğindeki gelişmelere rağmen mortalite hala çok yüksektir. Bunun nedeni de barsak nekrozu gelişmeden AMİ tanısının konulmasındaki güçlüklerdir. Fizik muayenede karın ağrısıyla orantısız olarak karın muayene bulgularının hafif olması teşhisi güçleştirmektedir. Akut mezenter iskemisinin erken tanısında radyolojik yöntemlerin de rolü kısıtlıdır. Akut mezenter iskemisinin erken tanısında yararlı laboratuvar yöntemi yoktur.

Karvedilol 3. jenerasyon kronik arter hastalığı, hipertansiyon ve miyokard enfarktüsü tedavisinde kullanılan non selektif beta adrenoreseptör ve selektif alfa 1 adrenoreseptör blokör bir ilaçtır. Ayrıca antioksidatif etkisi olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Karvedilol ve bazı metabolitleri (SB 211475 ve SB 209995) güçlü antioksidandır ve bu aktivite ilacın karbazol parçasına atfedilmiştir. Serbest radikalleri demir iyonu kompleksi ile temizler. Ancak antioksidan mekanizması tam aydınlatılamamıştır [15-20].

Bu çalışmanın amacı, deneysel rat intestinal I/R modeli oluşturulan ratlarda karvedilolün intestinal I/R hasarı üzerindeki etkilerini, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin mevcut olup olmadığını araştırmaktır. Literatürde karvedilolün intestinal I/R hasarı üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, histolojik inceleme ve biyokimyasal parametreler kullanılmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Mezenterik vasküler oklüzyon ile intestinal iskemi arasındaki nedensel ilişki ilk kez onbeşinci yüzyılda ortaya atılmıştır. İnfarkt nedenli ilk başarılı intestinal rezeksiyon Eliot tarafından 1895'te yapılmıştır. 1901'de Schnitzler kronik arteriyel tıkanmanın yemek sonrası abdominal ağrıya yol açtığını bulmuştur. Dunphy 1936'da kilo kaybı ve karın ağrısı şikayeti olan bir hastanın otopsisinde çölyak trunkusu tıkayan yeni trombüslü kronik mezenter iskemiyi tanımlamıştır. Bundan 20 yıl sonra Shaw ve Maynard kronik mezenter iskemi için ilk başarılı cerrahi tedavi yayınlamışlardır [21, 22].

2.2. Anatomi

Gastrointestinal sistem abdominal aortanın üç viseral dalı tarafından beslenmektedir.

1. *Süperior Mezenterik Arter*
2. *Trunkus Çölyakus*
3. *İnferior Mezenterik Arter*

2.2.1. Süperior Mezenterik Arter

Süperior mezenterik arter embriyoda kökenini midguttan alan organları besler. Duodenumun distal bölümü, jejunum, ileum, çekum, apendiks vermiformis, asendan kolon ve transvers kolonun büyük bölümünü kanlandırır. SMA, trunkus çölyakusun yaklaşık 1 cm aşağısından ve aortanın ön yüzünden L1-2 düzeyinden çıkar [23]. Hemen başlangıcında ve ön tarafında splenik ven ile pankreas gövdesi bulunur. Arka tarafında sol renal ven, daha arkasında da aorta bulunur. SMA aşağı ve ön tarafa doğru uzanırken pankreasın unsinat prosesi ile duodenumun üçüncü bölümünün önünden geçer.

Mezenter kökünün iki yaprağı arasına girer ve sağ fossa iliakaya doğru dallarını vererek uzanır [24].

Dalları

1- A. Pankreatikoduodenalis inferior (SMA'nın ilk dalıdır)

a) R. anterior

b) R. posterior

2- Aa. Jejunaes ve aa. İleales

3- A. İleokolika

a) A. Çekalis anterior

b) A. Çekalis posteror

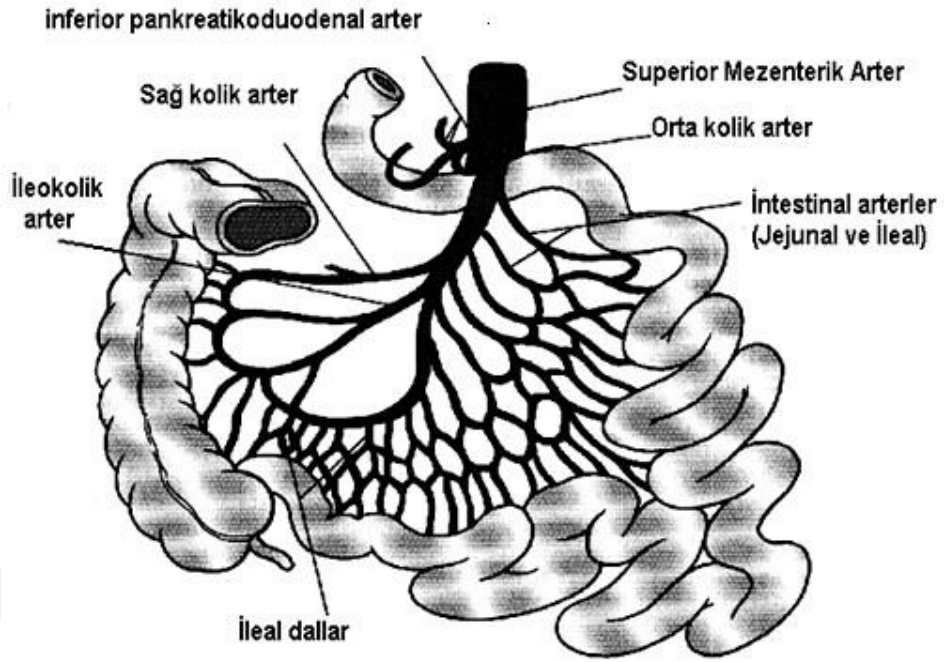
c) A. Appendikularis

d) R. ilealis

e) R. kolikus

4- A. Kolika dextra

5- A. Kolika media



Şekil 1: Süperior Mezenterik Arter [24]

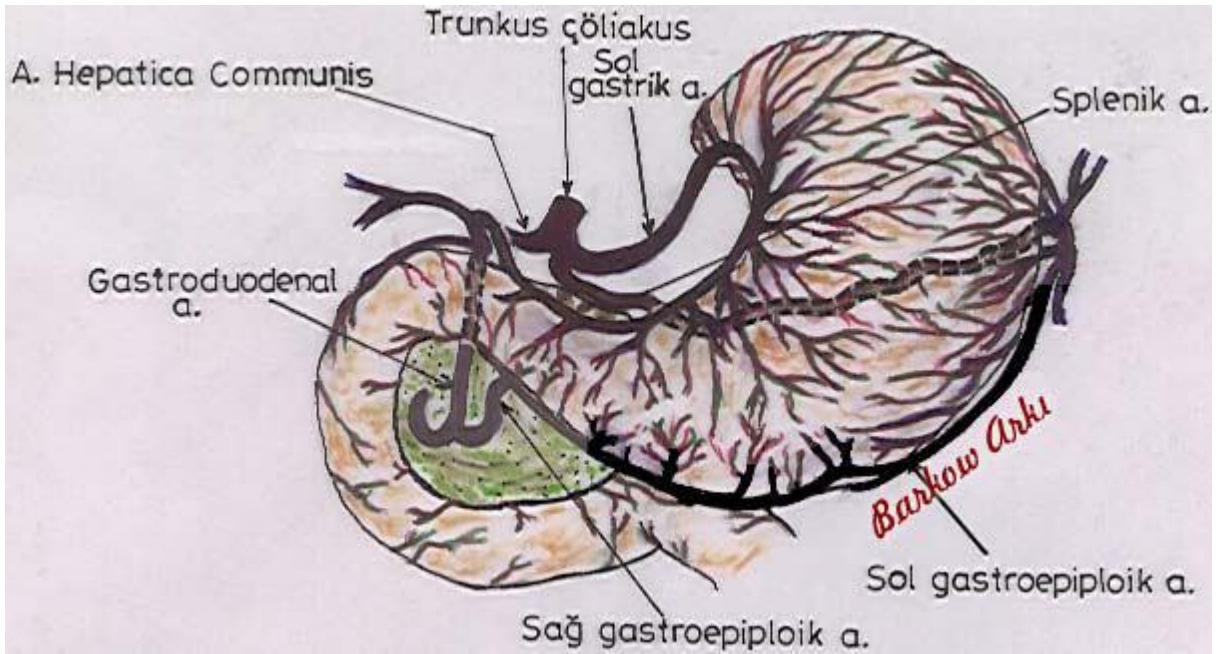
2. 2. 2. Trunkus Çölyakus

Çölyak trunkus embriyoda foreguttan oluşan organları besler. Bunlar mide, karaciğer, dalak, safra kesesi, pankreas ve duodenum ikinci parçasına kadar bağırsaklardır. Kısa ve kalın bir damardır. Hiatus aortikusun hemen aşağısında abdominal aortanın ön yüzünden T12 vertebra düzeyinden dik açıyla çıkar. Çölyak arterin çapının büyük olması, aortadan dik açıyla ayrılması ve dalları arasındaki anastomozlar nedeniyle bu bölgelerin iskemik hastalığı nadirdir [25].

Dalları

- 1-A. gastrika sinistra
- 2-A. hepatika komunis
- 3-A. gastroduodenalis
- 4-A. hepatika propria
- 5-A. gastrika dekstra
- 6-A. lienalistir

Ana hepatik arter karaciğere doğru gider. Gastroduodenal arteri verdikten sonra sağ ve sol (bazende orta) hepatik arterlere ayrılır. Gastroduodenal arter pankreas boynu ve duodenum arasında ilerler. Daha sonra ilk ana dalı olan pankreatikoduodenalis süperior posterior dalını vererek terminal dalları olan pankreatikoduodenalis süperior anterior ve sağ gastroepiploik arteri verir. Bunlar SMA'nın dalı olan pankreatikoduodenalis inferior ile yoğun anastomotik bağlantılar yapar [26].



Şekil 2: Trunkus Çölyakus [24].

2. 2. 3. *Inferior Mezenterik Arter*

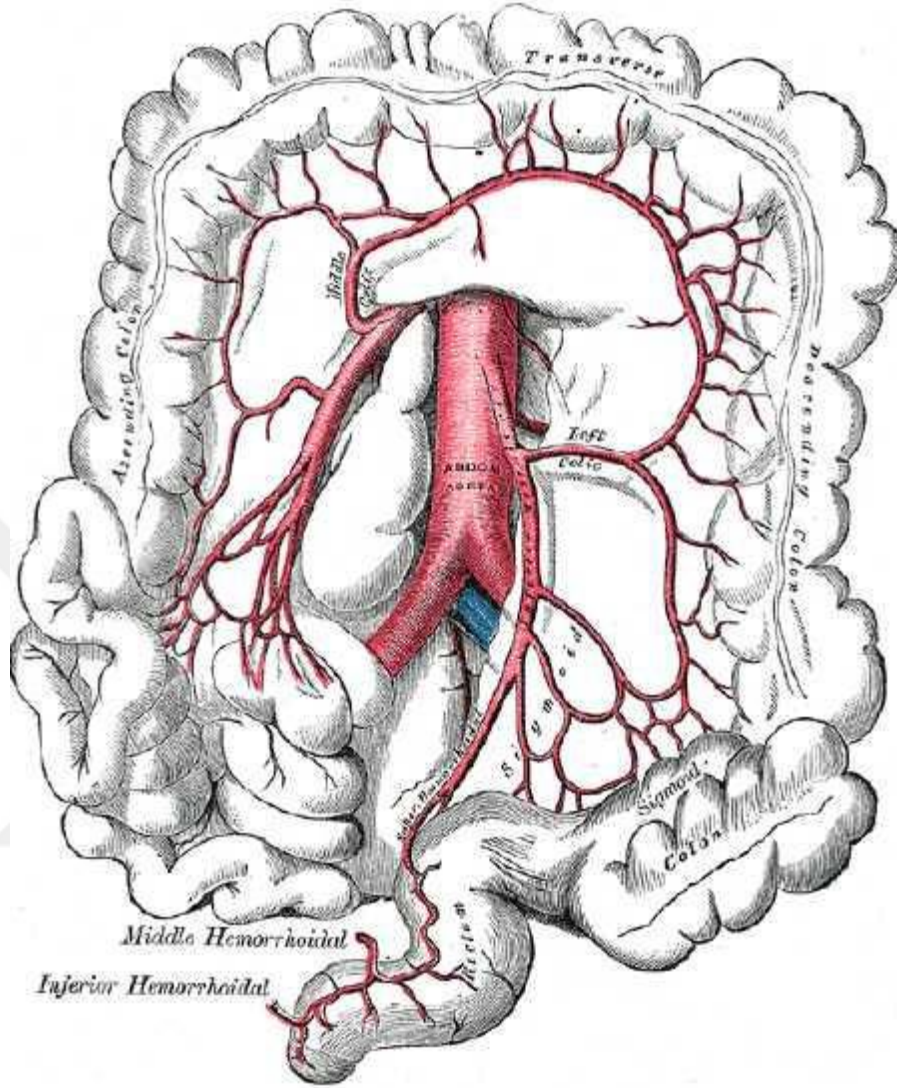
İnferior mezenterik arter (İMA) kökenini hindguttan alan organlar olan transvers kolonun 1/3 distalinden inen kolonun sonuna kadar olan kolon kesmi, sigmoid kolon ve rektumun ampulla rektiye kadar olan kısmı bu arter tarafından beslenir. İMA diğerlerine göre küçük çaplıdır ve aortanın sol anterolateralinden L3-4 düzeyinden çıkar.

İMA'nın dalları

1-A. kolika sinistra

2-A. Sigmoidalis

3-A. rektalis süperiordan oluşmaktadır [25].

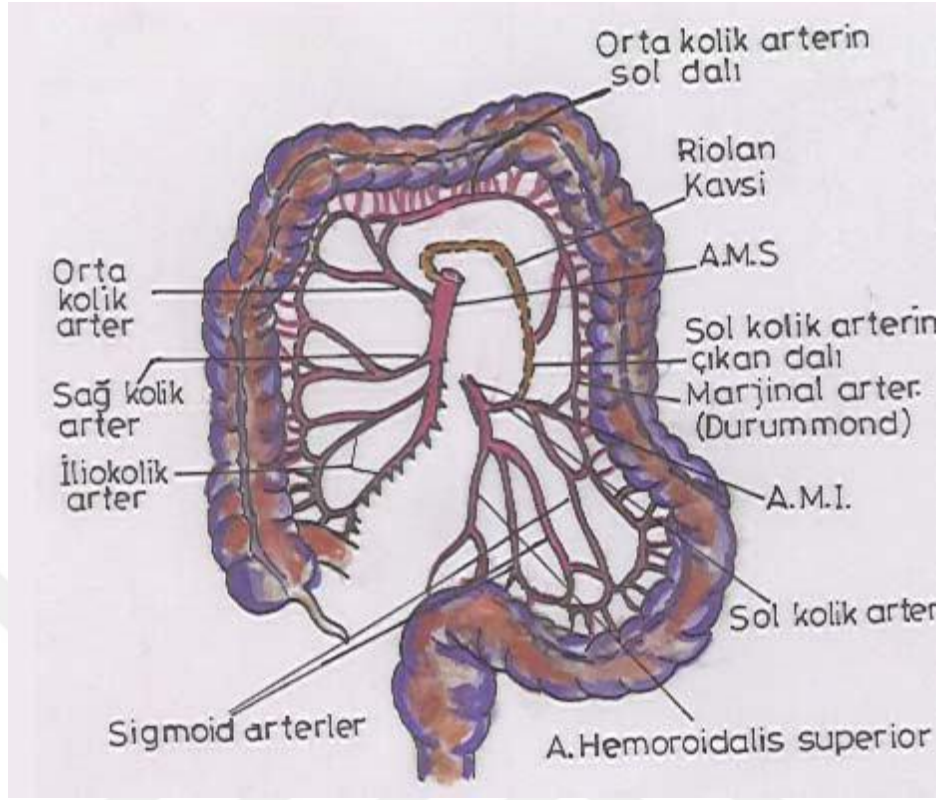


Şekil 3: Arteria Mezenterika İnferior [27]

Mezenterik arterler ile nonmezenterik sistemik arterler arasında ve mezenterik arterlerin kendi aralarında oldukça fazla miktarda kollateral akım vardır. Bu sayede iki veya üç ana arterde tıkanıklık olsa bile, yeterli visseral perfüzyon sağlanır [28].

Tıkanıklığın distalinde oluşan arteriyel hipotansiyona yanıt olarak mevcut kollateral damarlar açılır. Distaldeki basınç sistemik basınçtan düşük olduğu sürece bu kollaterallerdeki akım artarak devam eder [28].

İnce bağırsakların kanlanması sağlayan 3 temel arter ve bu arterler arasında önemli anastomozlar vardır [29].



Şekil 4: SMA ve İMA arasındaki kollateraller [24]

Temel mezenterik arteriyel kollateral yollar ;

-İnter çöliyak damarlar,

Gastrik ark (sol ve sağ gastrik arterler),

Gastroepiploik ark (sol ve sağ gastroepiploik arterler),

Barkow arkı (sol ve sağ epiploik arterler),

-Çöliyak ve süperior mezenterik arterler arasında,

Pankreatik ark (gastroduodenal ve inferior pankreatikoduodenal arter),

Buehler arkı (direk embriyolojik bir yoldur.)

-Süperior ve inferior mezenterik arterler arasında,

Drummondun marjinal arteri (sağ, orta ve sol kolik arterler

Riolan arkı (orta ve sol kolik arterler arasında santral anastomozdur).

- İnferiyor mezenterik ve iliak arterler arasında

Rektal=hemoroidal ark (süperior, orta ve inferiyor rektal arterler arasında izlenmektedir).

- İMA ile abdominal aortanın lomber dalları, sakral arter ve internal iliyak arter arasında anastomotik bağlantılar mevcuttur.

Süperior ve inferior mezenterik venler (İMV) aynı isimdeki arterlerine paralel seyrederek bağırsakları drene etmektedirler. İMV ile splenik ven birleştikten sonra SMV ile de birleşerek portal veni oluşturmaktadırlar [26].

2. 2. 4. *İnce Barsaklar*

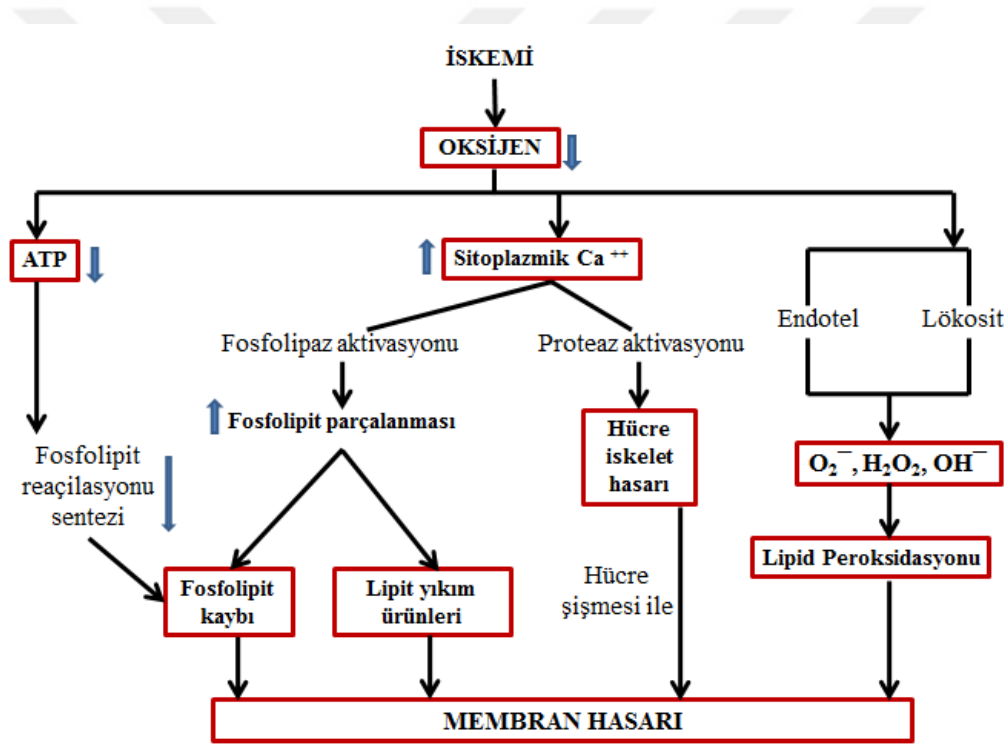
İnce barsaklar üç bölüme ayrılır: duodenum, jejunum ve ileum. Duodenum ince barsakların ilk kısmıdır ve büyük bölümü karın arka duvarında derin olarak yerleşir. Duodenum, 'C harfi' şeklinde olup, pankreas başını dolanarak jejunuma bağlanır. Bir boru şeklindedir [26]. Pilor sfinkterinden duodenojejunal kıvrıma kadar uzanan 12 parmak genişliğinde veya 25 cm uzunluğunda, ince barsakların en kısa bölümüdür. Pozisyon ve boyutları varyasyonel olmakla beraber, 'C' şeklindeki kavsin açıklığı sola dönüktür. Ligamentum hepatoduodenale ile desteklenen pars superior duodeni hariç duodenum sekonder retroperitoneal organdır. Pars superior, pars descendens, pars inferior (veya pars horizontalis) ve pars ascendens olarak dört bölüme ayrılır [26].

Jejunum, flexura duodenojejunalisten başlar, ileum ise valva ileocaecaliste sonlanır. Jejunum ve ileumun toplam uzunluğu altı-yedi metredir. Bu uzunluğun beşte ikisi jejunuma beşte üçü ileuma aittir. SMA, jejunum ve ileumu besler [26].

2. 3. İSKEMİ

Arterlerde herhangi bir nedene bağlı olarak ortaya çıkan tıkanma sonucu, dokuya giden kan akımının bozulması iskemi olarak tanımlanmaktadır. İskemik lezyonlar dokulara giden normal kan akımının azalmasının bir sonucudur [30]. Bir dokuya giden kan akımı kesildiğinde, o dokudaki hücrelerin işlevlerinin bozulması ile başlayan ve hücre ölümüne kadar ilerleyen bir dizi kimyasal olay gerçekleşmektedir. Oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalır. ATP sentezi durmasına karşın, ATP kullanımı ve ATP hidrolizi sonucu oluşan adenosin difosfat (ADP) düzeyi artmaktadır [30].

İskemi nedenli hipoksik zedelenmeye hücresel yanıtlar kalp kası üzerinde yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Myokarda kan sunumunun kesilmesinden bir dakika sonra kalp soluklaşır ve kasılabilirliği güçleşir. Üç-beş dakikalık kesintide ise mitokondriyal fosforilasyonda hızlı bir düşme ile yetersiz ATP üretimi nedeniyle myokardın iskemik bölümünde kasılma faaliyeti durur [31]. Hücresel ATP azlığı adenozin monofosfat (AMP) artımı ile birliktedir. Fosfofruktokinaz enzimini uyarır, anaerobik glikoz hızı artarak yetersiz oksijen varlığında ATP oluşumu glikojenden sağlanır ve böylece hücrenin enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimiyle sonuçlanır [31, 32].



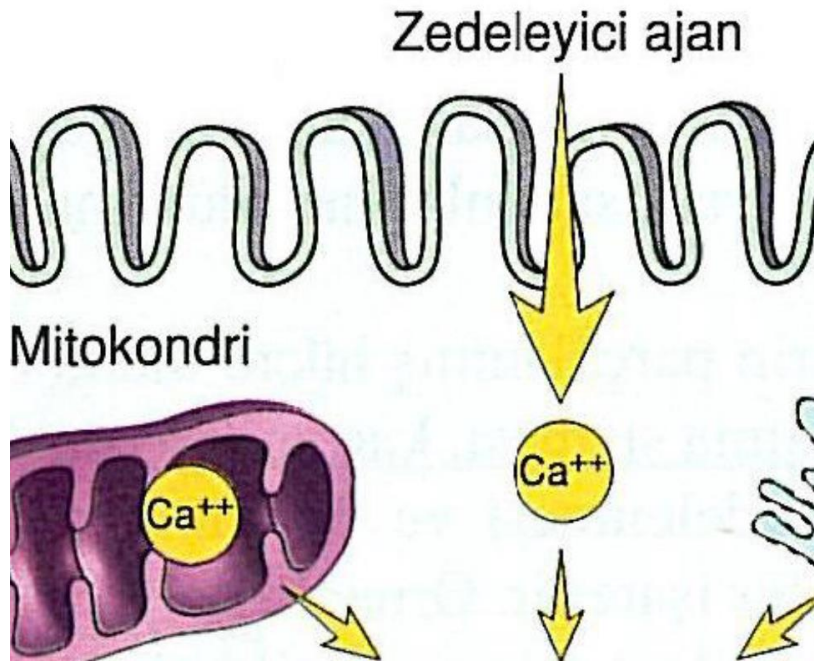
Şekil 5: İskemi sonucu membran hasar mekanizmaları [31]

İskemi nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan ATP bağımlı Na⁺/K⁺ pompasında işlev yetersizliğine yol açar. K⁺ hücre dışına çıkarken Na⁺ ve Cl⁻ iyonları hücre içine girerler. İyon dengesizliği hücre içerisinde izoozmotik su birikimine ve akut hücre şişmesine neden olur. Anaerobik glikoliz

sonucu oluşan asidoz, karbondioksit (CO_2) birikimiyle oluşan karbonik asit (H_2CO_3) ile daha da derinleşir [32].

Ortaya çıkan asidoz nedeni ile normal enzim kinetiği değişmekte ve yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımı azalmaktadır; bu durumda ise hücre kendi homeostazı için gerekli olan enerjiden yoksun kalmaktadır [25, 33].

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler Ca^{++} 'u dengelemektedir. İntrasellüler Ca^{++} artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu araşidonik asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik asit direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır [32]. Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Eğer oksijen sağlanamazsa sitoplazmada vakuol formasyonu oluşur, belirgin mitokondriyal şişme ile plazma membranı hasarlanır. Bu aşamadan sonra eğer oksijen sağlanamazsa geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar. Hasara, mitokondrilerde şiddetli vakualizasyon ve matrikste Ca^{++} 'dan zengin şekilsiz öğünluk birikimi eşlik eder [32].



Şekil 6: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları [32]

Membran hasarının potansiyel nedenleri [32]. (Şekil 6):

a) Membran fosfolipitlerinin ilerleyici kaybı: İskemiye bağlı Ca^{++} artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonu yıkımın artmasına yol açabilir.

b) Hücre iskelet anormallikleri: Hücre içi Ca^{++} 'un artması ile aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilirler.

c) Serbest oksijen radikalleri: İndirgenmiş O_2 türevleri hücre membranına ve elemanlarına zarar verirler. Serbest oksijen radikalleri iskemik dokularda, özellikle kan akımının düzelmesinden sonra artar ve büyük ölçüde reperfüzyon sırasında zedelenme alanına gelen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.

d) Lipid yıkım ürünleri: Fosfolipidlerin parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu ürünler membranlar üzerinde hasar oluşturur. Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuç, yukarıda tanımlanan olaylarla Ca^{++} 'un bol miktarda hücre içine girmesidir [32]. İskemi süresince ATP üretimi kısıtlıdır. Fakat yaşamsal faaliyetlerin devamı için tüketim sürmektedir. ATP enerji üretmek için ADP'ye daha sonra da adenozine indirgenir. Adenozin, intrasellüler alanda inozine, sonra da hipoksantine dönüşür. Hipoksantin O_2 'li ortamda ksantin oksidaza ardından ürik aside dönüştürülerek atılır. Fakat iskemik dokuda yeterli O_2 olmadığından hipoksantin dokuda birikir [34].

2. 4. Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden düzenlenmesidir. Reperfüzyonun, iskemik dokuda enerji gereksiniminin sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması gibi iki olumlu etkisi vardır. Böylece, reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Ancak iskeminin zaman ve şiddetine bağlı olarak, dokuların reoksijenizasyonu doku hasarını daha da kötüleştirebilir (oksijen paradoksu) [35].

Şok, yanık, sepsis, pankreatit gibi olgularda ortaya çıkan hipovolemi ile iskemi ve bu durumların resüsite edilmesi ile de reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. Serebrovasküler olaylarda, miyokart infarktüsünde, mezenteriyovasküler olaylarda uygulanan trombolitik tedavi veya revaskülarizasyon ameliyatları da yine reperfüzyon hasarına neden olmaktadır. Travmalarda ve travma cerrahilerinde hipovolemi ya da

kanama kontrolü nedeni ile yapılan klemp ve tampon uygulamaları iskemiye neden olurken, resüsitasyon sonrası mutlak bir reperfüzyon ile yine I/R hasarı ortaya çıkmaktadır. Kardiovasküler cerrahide aort ya da periferik arter klemp uygulaması sonrası ortaya çıkan tablo I/R hasarı ile belirgindir. Transplantasyon cerrahisinde kaçınılmaz olarak transplante edilecek organın iskemi ve reperfüzyonu söz konusu olup, oluşan hasar yama (graft) işlevlerini etkilemektedir. Sonuç olarak, bütün cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve sıklıkla bunu izleyen bir reperfüzyon periyodu bulunmaktadır [36, 37].

Parks ve Granger [38], yaptıkları deneysel çalışmada reperfüzyon ile oluşan hasarın iskemi ile ortaya çıkan hasardan daha fazla olduğunu göstermişlerdir [38]. Reperfüzyon hasarı, belirli bir süre iskemiye maruz kalan dokuların tekrar perfüze olması sonucu mikrosirkülasyonda görülen tıkanmalar ve tekrar perfüze olan dokunun nekrozu ile karakterize bir yaralanma olarak tanımlanmıştır [39]. I/R hasarında hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunum, yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon üzerinedir. Oksijen basıncının azalması sonucunda hücre içi ATP oluşumu belirgin olarak azalmaktadır. ATP oluşumunun azalması ise hücre içindeki birçok sistemi etkilemektedir. I/R hasarında hücre içindeki serbest kalsiyum düzeylerinin artmasına karşın, hücre membranındaki Na^+/K^+ -ATPaz pompasının etkinliğinin azalmasına bağlı olarak hücre içinde sodyum birikmekte, potasyum ise hücre dışına çıkmaktadır. Hücre içinde sodyum düzeylerinin artması ise, suyun izoozmotik artışı ile birlikte olup, hücrenin şişmesine neden olmaktadır. Hücresel şişme inorganik fosfatlar, laktik asit ve pürin nükleozitleri gibi metabolitlerin birikmesi ile artan ozmotik yük ile daha da artmaktadır. Hücresel ATP düzeyindeki azalma ile birlikte, siklik adenozin 5'-monofosfat (siklik AMP) oluşumundaki artma da fosfofruktokinaz enzimini uyararak glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini sağlamak amacı ile gelişen anaerobik glikoliz hızında artmaya ve glikojenin hızla tükenmesine neden olmaktadır. Artan glikoliz ise fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olarak hücre içi pH değerinin düşmesine yol açmaktadır. Bütün bu olayları ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinde azalma izlemektedir. Bu aşamadan sonra iskeminin sürmesi durumunda dönüşümsüz hasar gelişmektedir. Morfolojik olarak geri

dönüşümsüz hasara mitokondrilerin vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz, kalsiyumdan zengin yoğunlukların birikimi eşlik etmektedir.

İskemi sırasında ATP sentezi durmakta, ancak tüketimi sürmektedir. ATP önce AMP' ye, sonra da adenozine kadar parçalanmaktadır. Adenozin hızla hücre dışı ortama çıkarak burada inozin üzerinden hipoksantine çevrilmektedir. Normoksik durumlarda hipoksantin ksantin dehidrojenaz enzimi aracılığı ile ürik aside metabolize olmaktadır. Öte yandan, hipoksik durumlarda hipoksantin ürik aside metabolize olmadan iskemik dokuda birikmekte, ksantin dehidrojenaz enzimi ise ksantin oksidaza çevrilmektedir.

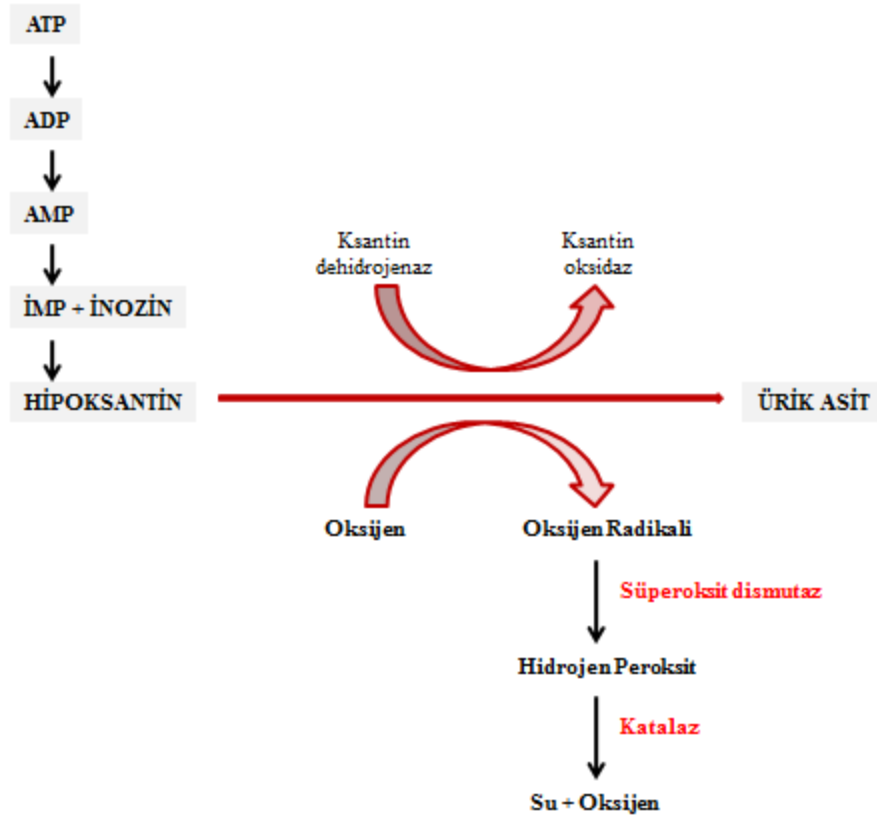
İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda, özellikle dokuya gelip yerleşen PMNL tarafından salınan serbest oksijen radikalleri dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Reperfüzyon döneminde dokuda nötrofil infiltrasyonu, kompleman sisteminin aktivasyonu, kalsiyum aracılı proteazların aktivasyonu, araşidonik asit metabolizması gibi pek çok sistem serbest radikal oluşumunu artırarak hasara neden olmaktadır [23].

Reperfüzyon hasarının oluşmasında iki mekanizma söz konusudur. Bunlardan ilki SOR'nin açığa çıkması, diğeri ise hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A2'nin iskemik dönemde Ca^{++} etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalamasıdır.

Birçok çalışma reperfüzyon hasarının başlamasından büyük ölçüde ksantin oksidaz bağımlı süperoksitin sorumlu olduğunu göstermiştir [40-42]. İskemi sırasında ksantin oksidaz enziminin, sentezi, etkinliği ve substratları artar ve enzim reperfüzyon sırasında dokuda konsantrasyonu birden artan oksijeni aşırı miktarda süperoksit anyonuna dönüştürür [43]. Dokuda iskemi süresince biriken hipoksantin atılmaya çalışılır. Oksijen varlığında ksantin oksidaz enzimi aktive olarak SOR'ni oluşturur. Serbest oksijen radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve O_2 'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise katalaz (KAT) enziminin etkisiyle su ve O_2 'ye çevrilir. Artan SOR'un başlattığı lipid peroksidasyonu (LP) ve protein hasarı sonucu hücre fonksiyonları bozularak doku nekrozu ortaya çıkar.

Serbest oksijen radikalleri hem dokuya doğrudan zarar vermekte hem de PMNL'lerin hasarlı dokuda birikmesine yol açar. Nötrofil ve monositler primer lizozomal granüllerinde bir hemoprotein (HEM) enzimi olan miyeloperoksidaz (MPO)

içerirler. Nötrofiller dolaşımında bulunan PMNL'lerin % 90'ından fazlasını oluştururlar. Dokuya gelen aktive PMNL'ler MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler dokudaki hasarı arttırırken daha fazla radikal oluşmasına neden olurlar.



Şekil 7: İskemide pürin metabolizmasının gelişimi ve ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyonda oksijen radikalının oluşumu [43].

Serbest oksijen radikalleri dokuda deoksiribonükleik asit (DNA), protein ve en çok da lipidlerle reaksiyona girerek yapılarını bozarlar. Lipid peroksidasyonu başladığında yeni serbest radikaller oluşturarak kısır döngüyü tetikler ve reperfüzyon hasarının diğer mediyatörü fosfolipaz A2'yi aktive eder [34].

Fosfolipaz A2, hücre membranındaki yağ asitlerini fosfolipidlerden ayıran, dokuda sitotoksik lisofosfolipidlerin artışına yol açan, hidrolitik bir enzimdir [44]. Poliansatüre bir yağ asidi olan araşidonik asit, hücre membranındaki fosfolipidlerde önemli bir miktarda bulunur. İnflamatuvar stimulus veya C5a gibi diğer kimyasal

mediyatörlerle sellüler fosfolipaz aktivasyonu ile membran fosfolipidlerinden açığa çıkar. Reaksiyonu başlatan enzimlerden sonra araşidonik asid metabolizması iki major yoldan biri şeklinde ilerler: siklooksijenaz yolu ve lipooksijenaz yolu [32]. Oksijen radikallerinin salınımı sonucunda intrasellüler kalsiyumda bir artış olur ve bu kalsiyum artışının plazma membran fosfolipaz aktivasyonunun artışında çok önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Fosfolipaz aktivasyonu ile de araşidonik asid metabolizma ürünleri oluşmaktadır [23]. Siklooksijenaz enzimi ile prostoglandinler ve tromboksan A₂ oluşturulur. 5-lipooksijenaz enzimi ile de dengeli olmayan 5- hidroperoksi eikosa tetraenoik asid (5-HPETE) oluşur. 5-HPETE ya nötrofiller için kemotaktik olan 5-HETE'ye ya da lökotrienlere dönüşür. Lökotrienlerden de özellikle lökotrien B₄ (LTB₄) nötrofiller için kemotaktiktir. Tromboksan A₂'ninde nötrofillerden hidrojen peroksid yapımını artırdığı bilinmektedir. Prostaglandin E₂ (PGE₂) ve prostaglandin F₂ (PGF₂) vazodilatasyona sebep olur. LTB₄ kuvvetli kemotaktik bir ajan olup nötrofillerin toplanmasına neden olur.

Özetle prostaglandinler ve lökotrienler akut inflamasyonun hemen hemen her basamağını etkiler. Platelet aktive edici faktör (PAF) endotel hücreleri vasıtasıyla membran fosfolipidlerinin fosfolipaz A₂ tarafından yıkılması sonucu meydana gelir. PAF, nötrofil adezyonunu artırır ve lökositlerin ekstrasvazasyonuna katkıda bulunur. Kompleman sistem elemanları da vazodilatasyon ve vasküler endotelde geçirgenlik artışına neden olur. Nötrofillerin kemotaksisini uyarırlar. Bunlardan başka, inflamasyonda önemli mediatörlerden olan sitokinlerden TNF-alfa, nötrofil aktivasyon ve toplanmasına, mezenşimal hücrelerden proteolitik enzimlerin serbestleşmesine ve böylece doku hasarının oluşmasına neden olur. Fosfolipaz A₂'nin artmış aktivasyonu aynı zamanda prostoglandin ve lökotrienlerin üretimini de uyarır.

eNOS aracılığı ile nitrik oksit (NO), ksantin oksidaz tarafından da süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumunun artması I/R ile sonuçlanmaktadır. Oluşumu artmış olan bu oksidan moleküller bir yandan NF-κB gibi özgül nükleer faktörlerin transkripsiyonuna neden olurlarken, diğer yandan kompleman sisteminin bileşenlerinden C5'in etkinleşmesine ve fosfolipaz A₂ enzimi aracılığı ile lökotrien B₄ (LTB₄) ve trombosit etkinleştirici faktör (TEF) oluşumunda artmaya neden olmakta ve endotel hücrelerinde P-selektin ekspresyonundaki artışa aracılık etmektedirler. LTB₄, TEF ve C5a ise lökositlerin membranında bulunan reseptörleri aracılığı ile β₂-

integrinlerin (CD11/CD18) salıverilmesine ve böylece endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan E-selektin ve intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon molekülleri aracılığı ile lökositlerin adezyonuna neden olurlar. I/R'ye yanıt olarak gelişen inflamatuvar yanıtlar mast hücreleri ve makrofajlardan salıverilen histamin, TNF- α , hidrojen peroksit, süperoksit radikali ve NO gibi moleküller ile daha da artırılmaktadır [36, 45-47].

2. 5. İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarı

Barsak kan akımının genellikle arteriyel kaynaklı parsiyel veya tam obstrüksiyonu sonrası intestinal iskemi ortaya çıkar. İnce bağırsakta oluşan iskemi ve reperfüzyon hasarı yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan önemli bir problemdir. Deneysel mezenter I/R modelinde, reperfüzyon sırasında oluşan doku lezyonlarının iskemi sırasında oluşana göre daha büyük olduğu gösterilmiştir [38]. I/R, endotel ve değişik hücre tipleri arasında kompleks etkileşimlere sebep olarak mikrovasküler hasar, hücrel nekroz ve/veya apopitoz oluşmasına öncülük edebilir [48].

Splanknik dolaşım; kardiyak outputun istirahatte %25'ini, postprandial dönemde %35'ini alır. Mezenterik kan akımının %70'i barsağın mukozal ve submukozal tabakaları arasında dağılırken; kalan kan akımı muskularis ve serozal tabakalar arasında paylaşılır [4]. Splanknik arterlerin oklüzyon ve reperfüzyonu, çoğunlukla vasküler permeabilitedeki artış sonucunda meydana gelen sirkülatuvar şoku hızlandırarak polimorfonükleer nötrofillerin adezyonuna, proinflamatuvar maddelerin salıverilmesine ve hem azota- hem de oksijene- bağımlı serbest radikallerin oluşmasına neden olur [49].

Barsak kan akımının otoregülasyonu, hipoperfüzyon esnasında gerekli oksijen ihtiyacının karşılanması ve mukozal devamlılığın korunması için gereklidir. Bu mekanizmalar ekstrensek ve intrensek olarak iki gruba ayrılır. İntrensek regülasyon mekanizmaları da, metabolik ve myojenik yollar olmak üzere ikiye ayrılır. Ekstresek kontrol ve regülasyon mekanizmalarını nöral ve humoral faktörler etkiler.

Metabolik teori; barsaklarda oksijen ihtiyacının barsak kan akımından daha fazla olduğu durumlarda, mezenterik dolaşımda adaptif değişiklikler gelişir. Dokunun oksijen ihtiyacı ve dokuya gelen oksijen arasında dengesizlik oluştuğunda lokal metabolitlerin (örneğin; hidrojen, potasyum, karbondioksit ve adenosin) konsantrasyonunun artışı; arteriyollerin düz kaslarının gevşemesine ve mukozal kan akımının arttırılmasına yol açar.

Miyojenik teori; arteriol duvarındaki basınç reseptörleri, perfüzyon basıncındaki düşüşleri algılar ve yanıt olarak duvar gerilimi azaltılır. Perfüzyon basıncının azalması ile vasküler düz kas hücreleri periodik olarak kasılıp gevşeyerek doku perfüzyonu düzelir [50, 51].

İntestinal kan akımı ayrıca ekstresek olarak da nöral ve hormonal yollarla kontrol edilir. İntestinal kan akımı, esasen otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Çölyak gangliondaki postganglionik adrenerjik lifler uyarıldığında mezenterik arter ve arteriyollerde vazokonstriksiyon oluşurken vagus sinirine bağlı parasempatik dalların splanknik dolaşım üzerindeki etkisi ise çok azdır [52].

İntestinal kan akımının hormonal düzenlenmesinde iki hormon sistemi önemlidir. Ekstrasellüler volümün azalması, renin-anjiyotensin mekanizmasını uyarır. Açığa çıkan anjiyotensin II, mezenterik vazokonstriksiyona neden olur. Ayrıca; azalan kan volümü ve hiperozmolarite, nörohipofizi uyararak antidiüretik hormon salınımına neden olur. Bu hormon, mezenterik arterlerde vazokonstriksiyona; mezenterik venlerde ise vazodilatasyona yol açar.

Splanknik I/R sonucunda oluşan hasar çoğunlukla mukoza ve submukozada görülen ve endotelial yıkıma neden olan yoğun inflamasyon ile karakterizedir [49]. İskemik lezyonlar etkilenen damarlara bağlı olarak ince barsak ya da kalın barsağa sınırlı kalabilir ya da her ikisinde de bulunabilir. Hasarın derecesi barsağın transmural infarktından, sadece en eğilimli mukozanın ve bazen submukozanın derin muskularis ve seroza tabakaları korunarak iskemi hasarına kadar değişir. Hemen hemen daima transmural infarkt ana arter ya da venin emboli ya da trombusünden kaynaklanırken, parsiyel kalınlıktaki bir hasar ise hipoperfüzyondan kaynaklanır [32].

İnce barsak mukozası, emilim amacı ile yüzey alanını artıran özel yapılar sergiler. Bunlar arasında sirküler plikalar, villuslar ve mikrovilluslar yer alır. Sirküler plikalar, submukozal içyapı ile birlikte mukozanın oluşturduğu, barsak lümenine dek uzanan ve süreklilik gösteren spiral şekilli katlantılar ya da yükseltilerdir. Bu yapılar, ince bağırsağın emilimin en çok olduğu proksimal kısmında daha belirgindir ve ileuma doğru belirginlikleri azalır [53]. İnce barsağın hücresel bariyerini basit kolumnar epitelyal hücreler (enterositler), özelleşmiş goblet hücreleri, enteroendokrin hücreler, paneth hücreleri ve M hücreleri oluşturur [53]. Paneth hücreleri, antibakteriyel bir

enzim olan ve ince barsağın mikrobiyal florasını kontrol etmek amacı ile bazı bakterilerin hücre duvarını sindirme görevi olan lizozimi salgırlar [53].

İntestinal iskemik hasar barsak mukozasının villus tabakasında başlar [54-56]. Kan akımında kısa süreli azalmalarda bile villus uçlarında ağır hipoksi oluşarak iskemik doku hasarı oluşabilir. Önce kapiller ardından mukozal permeabilite artar. Yüzeyel mukozada oluşan hasarı transmukozal ve transmural hasar takip eder. Kritik ve septik hastalarda görülen intestinal iskemi, yüzeysel mukozal hasara sebep olurken strangülasyon, mezenterik vasküler oklüzyon, non-oklüziv obstrüksiyon olarak bilinen durumlar ise daha derin doku hasarına neden olurlar [57]. Geçici iskemiden kaynaklanan değişiklikler yüzeyel ve lokalize olabileceği gibi transmural infarktüs veya gangren ile birlikte yaygın olabilir. Oluşan patolojik görünüm iskemisinin şiddeti, süresi, olayın hızı ve kollateral dolaşımın bulunup bulunmaması gibi etkenlere bağlıdır [58].

Reperfüzyon ile birlikte kalsiyumun intraselüler ortama geçişi artmakta ve bu durum fosfolipaz A2 aktivitesinde anlamlı bir yükselme meydana getirmektedir. Fosfolipaz A2 etkisi ile salıverilen araşidonik asitten siklooksijenaz (COX) enzimi ile prostaglandin (PG)'ler, tromboksan A2 (TXA2) ve prostasiklin (PGI2), lipoksijenaz (LOX) enzimi ile ise lökotrien (LT)'ler oluşmaktadır [59]. Bu oluşan ürünler vazokonstriksiyona (TXA2, LTC4, LTD4, 21 LTE4), vazodilatasyona (PGI2, PGE1, PGE2, PGD2), vasküler permeabilitede artışa (LTC4, LTD4, LTE4), trombosit kümelenmesine ve polimorfonükleer lökositlerde kemotaksiye neden olmaktadır (LTB4). Bütün bu olaylar sonucunda I/R, ileumun elektriksel aktivitesini ve kontraktıl cevaplarını etkileyebilmektedir [60]. Literatür bilgilerine göre serbest oksijen radikalleri, inflamatuvar mediyatörler ve ekstravaze lökositler ile birlikte NO metabolizmasında oluşan bozukluk da I/R sonrası görülen kas disfonksiyonunda rol oynamaktadır [61]. İntestinal dokudaki kas ve sinir hücreleri iskemiden ileri derecede etkilenebilmektedir. İskemiye maruz kalan intestinal dokuda hücrelerde enerji deplesyonu görölmektedir. Bununla birlikte reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri de iyonik homeostazisi bozarak hücre fonksiyonlarına zarar vermektedir [62, 63].

İntestinal mukoza villus kapillerlerinde I/R sonrası görülen diğeri bir olay mikrovasküler vazodilatasyona eşlik eden kapiller permeabilite artışıdır. İnterstisyel

alana, barsak lümenine sıvı ve eritrositler kaçarak kapiller tıkaçlar ortaya çıkar. Sonuç olarak reperfüzyon başladıktan kısa bir süre sonra, nötrofil ve eritrosit tıkaçları doku kanlanması tekrar azalmasına yol açar ki bu olaya “*no-reflow fenomeni*” denir [64].

Reperfüzyon sonrası barsak sıvı absorpsiyon yeteneğini eskisi gibi sağlayamaz ve bu da barsak lümeninden net sıvı kaybına neden olur [65]. Barsak iskemisinde önemli bir diğer problem bakteriyel translokasyondur. Mezenter iskemide bakteriyel translokasyon, intestinal morfoloji ve fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak mukoza harabiyetinin gelişmesi neticesinde oluşmaktadır. Bakteriyel translokasyonu başlatan sorumlu mekanizma değişken kan akımının yol açtığı iskemi ve reperfüzyon hasarıdır [66].

İntestinal I/R hasarı, barsak mukoza engelini bozarak bakteriyel translokasyona neden olur. Endotoksin, farklı dokularda monosit ve makrofajları uyarak inflamatuvar sitokinlerin sentez ve salınımını uyarak sistemik inflamatuvar yanıt sendromunu başlatan primer mediyatördür. Makrofajlar açısından zengin olan akciğer ve karaciğer transloke olan endotoksinin ilk geçtiği organlardır. İntestinal I/R hasarını takiben vena porta yoluyla karaciğere ve akciğere ulaşan endotoksinler, önce Kupffer hücrelerini ve sonra alveolar makrofajları aktive ederek tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinlerin üretimini artırırlar. TNF- α 17kDa molekül ağırlığında bir sitokindir. Aktive monosit, makrofaj, mast, endotel, T, B ve Kupffer hücrelerinde üretilir.

İntestinal I/R sonrası oluşan akut akciğer hasarından sorumlu tutulan en önemli sitokin olduğu öne sürülmektedir [67]. İntestinal I/R hasarının böbrekler üzerinde de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Aktive nötrofillerin akciğer ve diğer organlar tarafından tutulması, çoklu organ yetmezliği gelişmesindeki önemli bir basamaktır [68].

2. 6. Serbest Radikaller

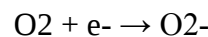
Serbest radikal, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik halde bulunurlar. Dış orbitalde iki ile bölünmeyen elektron varlığı, atom veya molekülü reaktif kılar. Serbest radikaller kısa ömürlü, kararsız ve ileri derecede reaktiftirler. Aerobik canlılarda temel serbest radikal kaynağının oksijen türevi radikaller olduğu kabul edilmektedir. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün,

süperoksit radikali açığa çıkar. Bu radikalden spontan ya da enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün, hidrojen peroksit oluşur. Yine süperoksit radikalının yer aldığı bir dizi reaksiyon sonucu, özellikle mitokondri içinde bir diğer radikal, hidroksil radikali meydana gelmektedir. Serbest radikaller, normal metabolizma sırasında sürekli olarak üretilmekte olup, bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, membran proteinlerinde, karbonhidrat ve DNA moleküllerinde çeşitli hasarlar meydana gelmektedir.

Deneyssel ve epidemiyolojik çalışmalarda ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, iR hasarı, dolaşımsal şok hasarında, romatoid artrit, karsinogenez, enfeksiyonlar, beyinde ve deride dejeneratif oluşumlarda ve yaşlanma ile ilgili bazı hastalıklarda oksidatif hasarla ilgili bulgular saptanmıştır [69]. İskemik dokunun reperfüzyonu bir taraftan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken, diğer taraftan oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumunu hızlandırarak daha ileri hasarlara yol açmaktadır [70]. Bu reaktif oksijen türevleri hücre zedelenmesinde dört şekilde rol oynar: membran lipid peroksidasyonu, nonperoksidatif mitokondriyal hasar, deoksiribonükleik asid lezyonları ve proteinlerin çapraz bağları üzerine etki. Bu reaktif oksijen türlerinin en başta gelenleri süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hidroksil radikalleridir. Reaktif oksijen türleri normalde antioksidan sistem tarafından yok edilirler [31, 71, 72].

2. 6. 1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir. En büyük kaynağı elektron transport zinciridir [2] Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu, reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit toksik ürünlere dönüşebilir ki NO'nun zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur.



2. 6. 2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır.

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) oluşturur [2].



H



2. 6. 3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS^{\cdot}$), karbon merkezli organik radikaller ($R^{\cdot}$), organik peroksitler ($RCOO^{\cdot}$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur [69].

2. 6. 4. Nitrik Oksit

Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. NO oldukça reaktif bir molekül olup, in vivo yarı ömrünün sadece birkaç saniye olduğu saptanmıştır. Normal fizyolojik koşullar altında, endojen NO oluşumu düşük olup, sağlıklı kişilerde plazma nitrit konsantrasyonları sıfıra yakındır $NO^{\cdot}$ sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir.

NO muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS, EC 1. 14. 13. 39) etkisiyle sentezlenir. NO sentezinin insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir. NO vasküler endotelial hücrelerde oluşturulan önemli bir vazodilatatördür.

NO• düz kas hücrelerine girer ve 3', 5'-siklik GMP (cGMP) oluşturmak üzere solubl guanilat siklazı stimüle eder. Böylece hücrede cGMP konsantrasyonu artar. Düz kas hücrelerinde cGMP, bir veya daha fazla protein kinazı cAMP gibi aktive eder. Aktive olan protein kinazlar düz kasın relaksasyonu ve ardından damarların dilatasyonundan sorumludurlar.

Nitrik oksit sentaz (NOS) sinir dokuda, vasküler endotelde, trombositlerde ve diğer dokularda bulunur. NOS'un, nöronal NOS (tip I, nNOS), endotelial NOS (tip III, eNOS) ve indüklenebilir NOS (tip II, iNOS) olmak üzere farklı lokalizasyon ve düzenlenmeye sahip üç izoenzimi vardır. iNOS hepatositler, makrofajlar, nötrofiller, düz kas hücreleri, kondrositler gibi birçok hücre tipinde indüklenebilir. iNOS vasıtasıyla oluşturulan NO•, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu nedenle nonspesifik konak savunma sisteminin önemli bir parçasıdır.

Nitrik oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Peroksinitrit, nitrik oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. NO• radikalının stabil son ürünlerin nitrit ve nitrattır. Nitrat böbrekler yolu ile atılmakta olup, kandaki yarı ömrü 5-8 saat arasındadır ve sağlıklı kişilerde plazma klerensi 20 ml/dak olarak bildirilmiştir [73].

2. 7. Antioksidanlar

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler [73].

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

- 1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon redoks siklusu enzimleri (glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz vb.). Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
 - 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme (scavengers) bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
 - 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
 - 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.
- Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler [69].
- Endojen antioksidanlar :Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Non-Enzimatik Antioksidanlar		Enzimatik Antioksidan
Melatonin	Glutatyon	Süperoksit dismutaz (SOD)
Seruloplazmin	Sistein	Glutatyon peroksidaz (GSH-Px).
Transferrin	Metiyonin	Glutatyon S-Transferazlar (GST)
Miyogloblin	Ürat	Katalaz (CAT)
Hemoglobin	Laktoferrin	Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
Ferritin	Albümin	Hidroperoksidaz.
Bilirubin		

Tablo 1. Non Enzimatik ve Enzimatik Antioksidanlar [74].

Eksojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin Antioksidan	İlaç Antioksidan	Gıda Antioksidan
α -tokoferol (vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten).	Butylated hydroxytoluene
β -karoten	Rekombinant süperoksit dismutaz	Butylated hydroxyanisole
Askorbik asit (vitamin C)	Trolox-C (vitamin E analogu)	Sodium benzoate
Folik asit (folat)	Barbitüratlar	Ethoxyquin

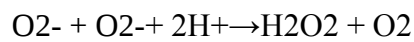
Tablo 2. Eksojen antioksidanlar [74].

Endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olan antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin ortaya konmasında I/R hasarı modelleri önemli katkı sağlamıştır. Antioksidan özelliği öne sürülmüş pek çok madde çeşitli I/R modellerinde test edilerek değerlendirilmiştir [12, 74].

2. 7. 1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutazın görevinin, aerobik organizmaları, süperoksitin zararlı etkisine karşı korumak olduğu sanılmaktadır. Enzim hücrede birkaç değişik kompartımanda bulunur. Sitozolik enzim, her birisi içinde bir ekivalan Cu^{+2} ve Zn^{+2} taşıyan birbirine benzer iki alt üniteden meydana gelir; mitokondriyal enzim, bakterilerde bulunana benzer şekilde sadece Mn^{+2} içerir [75].

SOD



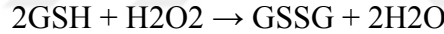
Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir. SOD, süperoksit radikalini metabolize eder ve daha zararlı olan hidroksil radikalinin oluşumunu engeller. Süperoksit radikalini H₂O₂'e ve moleküler O₂'e dönüştürür. Tepkime ürünü olan H₂O₂ tarafından inhibisyona uğrar [49].

Cu-Zn SOD'ın spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur.

2. 7. 2. *Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)*

Glutasyon sistemi, oksidatif hasarın azaltılmasında rol oynayan, SOR'nin hücre içinde detoksifikasyonuna neden olan ve LP'nu önleyen en önemli endojen mekanizmalardandır. İntrasellüler glutasyon olarak bulunan en güçlü *thiol* bileşiğidir. GPx enzimi, glutatyondan ayırarak H₂O₂'yi suya dönüştürür, selenyuma bağlı sitoplazmik bir enzimdir, H₂O₂'yi detoksifiye ederek su ve okside glutatyona dönüştürür [74].

GSH Px

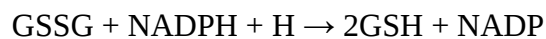


GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelerde düşük bulunmuştur. Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur

2. 7. 3. *Glutasyon Redüktaz (GR)*

Eritrositler içindeki pentoz fosfat yolu, okside olmuş glutasyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyona (2 GSH) indirgenmesi için gerekli olan NADPH'ı sağlar. Bu indirgenme olayı FAD içeren bir flavoprotein olan glutasyon redüktaz tarafından kataliz olunur [75].

GR



2. 7. 4. Katalaz (CAT)

Katalaz, konsantrasyonu değişmekle birlikte tüm hücrelerde bulunan yapısında bir hemoprotein içeren enzimdir. Sitoplazmada %20, peroksizomlarda %80 oranında bulunur. H₂O₂'nin oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyonla iki molekül H₂O₂'yi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır [76]. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H₂O₂) hidroksil serbest radikali (OH•) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.

2.7.5. Total ve serbest tiyol

Reaktif oksijen türleri (ROT); fizyolojik düzeylerin üzerine çıktığında oksidatif hasara neden olan primer moleküllerdir.

Tiyol; hücrelerde herhangi bir oksidatif stres durumunun oluşumunu önlemede kritik bir role sahip sülfidril(-SH) grubu içeren organik bir bileşiktir. Proteinlerdeki sülfür içeren aminoasitlerin (sistein, metyonin..) tiyol grupları ROT'un primer hedef noktasıdır. ROT ile ortamda bulunan tiyol grupları oksitlenerek reversible disülfid bağlarına dönüşür.

Bu dönüşüm radikal aracılı protein oksidasyonun en erken belirtisidir [77]

Tiyol ve Disülfidlerin Biyolojik Önemi;

- Proteinlerin yapılarının stabilizasyonu
- Proteinlerin fonksiyonlarının regülasyonu
- Enzim fonksiyonlarının regülasyonu
- Reseptörlerde, Taşıyıcılarda, Na-K kanalında, Transkripsiyonda rolleri vardır.

Dinamik tiyol/disülfid denge durumu antioksidan savunma, detoksifikasyon apoptozis, enzim aktivitelerinin düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücrel sinyal iletimi mekanizmalarında kritik rollere sahiptir. Sistein rezidüleri ve diğer tiyol grupları ortamda bulunan oksidan moleküller tarafından oksitlenerek tersinir Disülfid bağ yapılarına dönüşürler. Oluşan disülfid bağ yapıları tekrar tiyol gruplarına redüklenabilir ve böylece

tiyol disülfid dengesi sürdürülür.

Tiyol disülfid denge ölçümleri;

- Native Tiyol[-SH],
- Dinamik Disülfid[-SS],

- Toplam Tiyo[(-SH)+(-SS)] düzeylerinin,

- Dinamik “-SH/-SS”

homeostazisin değeriendirillmesinde kullanılır

Tiyo-disülfid dengesi yaşamsal bir öneme sahiptir. Bu çift taraflı dengenin 1979 yılından beri ancak tek tarafı ölçülebilenken, Erel& Neşelioğlu’nun geliştirdiği yeni yöntemle her iki değışken düzeyi de ayrı ayrı ve toplamsal olarak ölçülebilmekte ve hem bireysel hem de bütünsel olarak değeriendirilebilmektedir [78].

2. 7. 6. Total oksidan seviye (TOS)

Oksidan moleküller endojen üretilbildiği gibi çevresel faktörlerle de alınabilir. Elektron transport sistemi ve NOX, MPO, XO, glikolat ve MAO gibi oksidatif enzimler, major endojen ROS kaynaklarıdır. Ultraviyole ışınlar, sigara dumanı, zehirli gazlar, radyasyon, bazı ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler en önemli eksojen serbest oksijen radikali üretim kaynaklarıdır [12]

2. 7. 7. Total antioksidan kapasite (TAK)

Organizmada oluşan oksidan moleküller enzimatik ve nonenzimatik antioksidan molekülleri vasıtasıyla önlenir. Antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilen. Fakat bu ölçümleri yapmak zaman alıcı, pahalı ve komplike teknikleri gerektirir. Bu nedenle TAK ölçümü yapılması en çok kabul gören yöntemdir. Total antioksidan kapasiteyi ölçmek için genellikle bir tip radikal kullanılır ve radikale karşı oluşan antioksidan örnek ölçülür. En sık kullanılan kalorimetrik metotlar 2, 2’-azinobise (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit=ABTS) dayalı metotlardır. Ölçümün temel prensibinde indirgenmiş ABTS renksizdir, oksitlenince mavi-yeşil ABTS+ rengini alır. Renkli ABTS oksitleyici bir ajanla muamele edilince indirgenir ve renksiz ABTS formuna tekrar döner (56). Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar bulunmaktadır. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki TAK’ın %85’inden fazlasını oluşturmaktadır. Kanda bilirubin, glutatyon, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan molekülleri albumin, ürik asit ve askorbik asit seviyelerinden daha azdır. Yenidoğanda en önemli antioksidanlar bilirubin ve ürik asittir. C vitamini, E vitaminide TAK’a önemli katkılar sağlarlar [79].

2. 8. Lipid Peroksidasyonu

Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ($L\bullet$) ve lipid peroksit radikallerinin ($LOO\bullet$) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "nonenzimatik lipid peroksidasyonu" denir. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerinin ($LOOH$) yıkılımı geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Plazma membranı ve subsellüler organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak hidrojen peroksitten (H_2O_2) Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali ($OH\bullet$) oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir.

Lipid peroksitleri ($LOOH$) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir [80, 81]. Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur.

2. 9. Karvedilol (CVD)

Karvedilol M[1- [carbazyol]- (4) oksi] -3 - [(2-methoxyphenoxyethyl) Amino] -2- propanol] üçüncü kuşak, non selektif β -bloker vazodilatötör ajandır. Hipertansiyon, angina ve konjestif kalp yetmezliği gibi hastalıkların tedavisinde kullanılır. Selektif

olarak α_1 reseptörleri antagonize ederken, non selektif olarak β_1 'i ve β_2 -adrenoseptörleri antagonize eder.

Karvedilolün etkinliği, sadece konjestif kalp yetmezliğinde değil, aynı zamanda koroner arter hastalığı, inme, böbrek yetersizliği, diabetes mellitus ve atriyal fibrilasyon gibi kalp yetmezliği ile sıklıkla birlikte bulunan hastalıklarda da kanıtlanmıştır.

Propranolol ve timolol gibi birinci nesil beta-blokerler seçici olmayan β_1/β_2 antagonistleri olup, hipertansiyon ve KY'nin eşlik etmediği Mİ tedavisinde kullanılmışlardır. Atenolol, metoprolol, bisoprololün yer aldığı ikinci nesil beta-blokerler (β_1 seçici) birinci nesil beta-blokerler kullanıldığı zaman α -adrenerjik aktiviteye karşı konulamadığından gelişen sorunları gidermek için geliştirilmiştir. Karvedilol ise üçüncü nesil, vazodilatör özelliği de olan beta-blokerdir, üç önemli adrenerjik reseptörü de etkiler (β_1 , β_2 ve α_1) [82]. Karvedilol intrinsek semptomimetik aktivite göstermez.

Karvedilol artmış sempatik aktiviteyi diğer beta-antagonistlerden farklı olarak neredeyse tamamen bloke eder. Ayrıca, karvedilol presinaptik β_2 uyarımını da engeller ve β_1 selektif blokerlerin yaptığı gibi miyokardiyal β_1 reseptör yoğunluğunda artmaya neden olmaz. Son olarak karvedilolün vazodilatör etkinliği kronik kalp yetmezliğinde artan periferik vasküler direnci ve sol ventrikül ard yükünü en aza indirger [82].

Karvedilolün aynı zamanda antioksidan, antiaritmik, antiapoptotik ve antiproliferatif etkileri de mevcuttur [83]. Karbonhidrat ve lipid metabolizmasına diğer beta-blokerlerden farklı etkileri vardır; insülin duyarlılığını ve glikoz kullanımını azaltmaz, sonuç olarak insülin ve glikohemoglobin düzeylerini artırmaz. Aslında karvedilol tedavisi sırasında periferde insülin duyarlılığı artar. Karvedilol, β_1 selektif blokerler gibi aterosklerotik dislipidemiye tetiklemez, yani trigliserid düzeyini artırmaz, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL kolesterol) düzeyini azaltmaz [84].

Karvedilolün metabolik etkinliklerindeki farklılık muhtemelen iskelet kasında α_1 -bağımlı vazodilatasyon ile oluşan glikoz ve insülin sunumundaki artışa bağlıdır. Ek olarak, α_1 bloker etkisiyle lipid metabolizmasında görevli birkaç anahtar enzimde (lipoprotein lipaz ve lesitin-kolesterol-açıl-transferaz) β_1 blokerlerden farklı etki yapar.

Karvedilol vazodilatör özelliği nedeniyle diğer beta-blokerlerden farklı olarak kalp yetmezliğinde renal fonksiyonları olumlu yönde etkiler. Beta-blokerler genellikle renal kan akımı ve sodyum atılımını azaltır, ancak α_1 blokajı periferik direnci azaltarak

sodyum atılımındaki bu etkiyi antagonize eder. Kalp yetmezliği olan hastalarda karvedilol ile metoprolol karşılaştırıldığında, karvedilolün anlamlı derecede renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızını arttırdığı gösterilmiştir [20]. Karvedilol ağız yoluyla alındıktan sonra hızla emilir, bir-iki saat içinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşılır. Yemekler, karvedilolün emilme hızını biraz etkiler, ancak emilme miktarına etkisi yoktur. Karvedilol hızla ve büyük oranda metabolize edilir, idrarda ana ilacın < %2'si tespit edilebilir. Karvedilol hemen hemen sadece karaciğer tarafından metabolize edilir. Bu metabolitlerin yaklaşık %60'ı safraya salınır ve feçesle atılır. Karaciğer hastalığı olan bireylerde karvedilolün farmakokinetiği belirgin derecede değişir.

Karvedilol ve bazı metabolitleri (SB 211475 and SB 209995) antioksidan özellik gösterir. Antioksidan etkisi ilacın karbozal kısmına atfedilmiştir. Bu antioksidan özelliği renovasküler hastalıklı HT hastalarının tedavisinde ilaca ayrı bir özellik kazandırır. Bununla birlikte, CVD antioksidatif etki mekanizması hala belirsizdir. Demir iyonuyla kompleks oluşturarak serbest radikalleri temizlediği düşünülüyor. CVD koruyucu etkileri çeşitli in vitro ve in vivo sistemlerde gösterilmiştir [85].

Parlaktaş ve arkadaşlarının yaptığı testis I/R hasarı modelinde CVD verilmesinin testiste olusan iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını bulmuşlardır [16]. Sing ve arkadaşları da böbrek iskemisi oluşturulan deneklerde CVD'nin protektif etkisi olduğunu göstermişlerdir [17].

Bu bilgilerin ışığı altında literatürde CVD'nin SMA oklüzyonu oluşturulmuş ratlarda intestinal I/R hasarı üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Biz ise çalışmamızda antioksidan etkisi olan karvediolün, SMA oklüzyonu oluşturulmuş ratlardaki I/R hasarı üzerine koruyucu etkilerini araştırdık.

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3. 1 Deney Hayvanları

Çalışmamız, Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 250 ± 30 gr. arasında değişen 32 genç sağlıklı erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılarak, AEH Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, 0042/497 sayılı etik kurulu onayı ile yapılmıştır. Sıçanlar, deney öncesi tel kafeslerde, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde ve sıcaklığı $20-25^{\circ}\text{C}$, %50-60 oranında nemlendirilen kontrollü odada tutuldular. Deney gününe kadar sıçanların beslenmesinde standart pellet yem ile şehir içme suyu kullanıldı. Sıçanlar, standart sıçan yemiyle serbest olarak beslendi ve suluktan serbestçe su içmeleri sağlandı. Tüm hayvanlar deneyden 12 saat önce yemekten yoksun bırakıldılar, ancak serbestçe su içmelerine izin verildi. Deney öncesi Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak etik kurul onayı alındı. Çalışmada kullanılan 32 sıçan randomize olarak her grupta ve kafeste sekiz adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

Deney sonunda çıkartılan dokuların ileal doku hasarı hematoksil-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda Chiu Skorum ile Histopatolojik incelemesi Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı, TAS ve TOS düzeyleri Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından çalışıldı.

3. 2 Gruplar

Deney hayvanları randomize olarak 4 şekilde gruplara bölündü;

Grup I (sham grubu): Bu grupta yer alan sıçanlara anestezi altında batın orta hat laparotomisi uygulandı. SMA'ya ulaşıldı. SMA yalnızca diseke edildi. Herhangi bir işlem yapılmadan batın derisi geri dikildi. 48 saat sonra sıçanlar kurban edildi. Kan ve doku örnekleri alındı.

Grup II (sham +karvedilol): Bu grupta yer alan sıçanlara anestezi altında batın orta hat laparotomisi uygulandı. SMA'ya ulaşıldı. SMA yalnızca diseke edildi 2mg/kg'dan

karvedilol intraperitoneal uygulandı. Batın derisi geri dikildi. 48 saat sonra sıçanlar sakrifiye edildiler. Kan ve doku örnekleri alındı.

Grup III (İİ/R grubu İntestinal İskemi Reperfüzyon): Bu grupta yer alan sıçanlara anestezi altında batın orta hat laparotomisi uygulandı. SMA'ya ulaşıldı. SMA aortadan çıkış yerinden atravmatik mikrovasküler klemple sıkıştırılarak 30 dakika iskemi oluşturuldu. Sonrasında reperfüzyon sağlandı. Batın derisi geri dikildi. 48 saat sonra sıçanlar sakrifiye edildiler. Kan ve doku örnekleri alındı.

Grup IV (İİ/R+K grubu İntestinal İskemi Reperfüzyon+Karvedilol): Bu grupta yer alan sıçanlara anestezi altında batın orta hat laparotomisi uygulandı. SMA'ya ulaşıldı. SMA aortadan çıkış yerinden atravmatik mikrovasküler klemple sıkıştırılarak 30 dk klemlendi ve sonrasında reperfüzyon sağlandı. 2mg/kg'dan karvedilol intraperitoneal uygulandı. Batın derisi geri dikildi. 48 saat sonra sıçanlar sakrifiye edildiler. Kan ve doku örnekleri alındı.

Deney Grupları	Hayvan Sayısı/Grup
Grup I (sham grubu)	8
Grup I I (sham +karvedilol)	8
Grup III (İİ/R grubu İntestinal İskemi Reperfüzyon)	8
Grup IV (İİ/R+K grubu İntestinal İskemi Reperfüzyon+Karvedilol)	8

Tablo 3. Deney grupları

3. 3 Deneysel İntestinal İskemi-Reperfüzyon Modeli

Sıçanlar üzerindeki cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. Cerrahi sırasında hayvanların spontan olarak solumaları sağlandı. Sıçanların anestezisi, intraperitoneal (İP) 50 mg/kg *ketamin* (*Ketalar*®, *Pfizer, Germany*) ve 10 mg/kg

xylazine hydrochloride (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) uygulanarak sağlandı. Sıçanların karın derisi tıraşlandıktan sonra antiseptik bir solüsyonla temizlendi. Bu işlem için % 10'luk povidon iyot solüsyonu kullanıldı. Daha sonra orta hat insizyonu ile laparotomi uygulandı (Resim 1). Karın boşluğuna girilerek ince barsaklara ulaşıldı. İnce barsakların geçici olarak dışarıya çıkarılmasını takiben SMA'ya ulaşıldı ve Grup 1'de sadece arter diseke edildi. Grup 2'de SMA diseksiyonu sonrası 2 mg/kg Karvedilol (*sigma* ® 2, 5 mg/mL, USA) intraperitoneal verilerek barsaklar normal anatomik pozisyonlarına geri yerleştirildiler ve karın duvarı atravmatik 3/0 ipek ile dikilerek kapatıldı. Grup 3'de SMA diseksiyonu (Resim 2) sonrası SMA'ya atravmatik mikrovasküler bir klemp 30 dk konularak kan akımı durduruldu (Resim 3). Yeterli oklüzyon, mezenterik damarlarda pulsasyon olmaması ve solukluk oluşması ile doğrulandı (Resim 4). Bekleme süreleri boyunca batın ıslak steril tamponlar ile kapatıldı. 30 dk iskemi oluşturulmasını takiben reperfüzyonun başlamasından hemen sonra barsaklar normal anatomik pozisyonlarına geri yerleştirildiler ve karın duvarı atravmatik 3/0 ipek ile dikilerek kapatıldı. Grup 4'e Grup 3'ten farklı olarak 30 dk barsak iskemisi sonrası klemp açıldı. Reperfüzyonun başlamasından hemen sonra Karvedilol (*sigma* ® 2, 5 mg/mL, USA) 2 mg/kg dan intraperitoneal verilmesini takiben barsaklar normal anatomik pozisyonlarına geri yerleştirildiler ve karın duvarı atravmatik 3/0 ipek ile dikilerek kapatıldı.

48 saat sonra ratlara tekrar anestezi uygulandı ve ratların mideden sonraki 10 cm jejunum ve terminal ileumun proksimalinden 10 cm ileum çıkarıldı, çıkarılan barsaklar histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formaldehit içerisinde saklandı.

İskemi reperfüzyonun sistemik etkilerini göstermek için vena kava inferiordan 10 cc kan alınarak elde edilen kanın bir kısmı plazma hazırlanması için EDTA'lı (1500 devirde 10 dk santrifüj edildi) tüplere alındı, bir kısım kan ise heparinli tüplere alınarak elde edilen plazmada total antioksidan durum (TAS) plazma total oksidan durum (TOS) çalışılmak üzere Tıbbi Biyokimya AD'nda ölçüm yapılacağı güne kadar -80°C'de derin dondurucu içinde korundu. Örnekler alındıktan sonra ratlar İV 120 mg/kg tiyopental ile sakrifiye edildi.



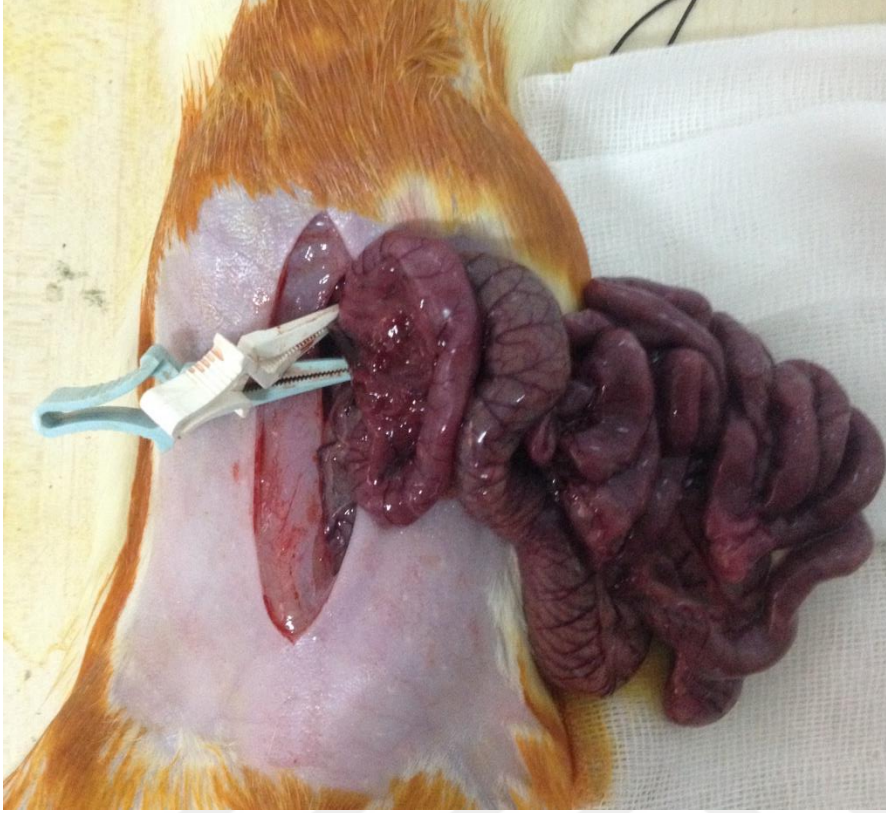
Resim 1. Orta hat insizyonu ile laparotomi



Resim 2. SMA diseksiyonu



Resim 3. SMA'ya atravmatik mikrovasküler bir klemp konularak kan akımının 30 dk durdurulması



Resim 4. Oklüzyon, mezenterik damarlarda pulsasyon olmaması ve solukluk oluşması ile doğrulandı.

3. 4. Biyokimyasal İşlemler

TOS, TAS, İMA, SH, TT, SS, SS/SH, SS/TT, GSH analizleri için EDTA (1500 devirde 10 dakika santrifüj edildi) ve heparinli tüplere alınan kan örnekleri analiz gününe kadar -80°C’de saklandı.

3.4.1 Total ve serbest tiyol ölçümü

Total ve serbest tiyol ölçümü için Erel ve arkadaşlarının “Modifiye Ellman Yöntemi” kullanıldı. Total ve serbest tiyol ölçümünde kullanılacak ilk reaktifler [(total tiyol ölçümü için reaktif 1 (R1), serbest tiyol ölçümü için reaktif 1’ (R1’)] farklı iken, diğer iki reaktif aynıydı. R1, çalışma gününde 378 mg sodyum borohidrat (NaBH_4) son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde, 1000 ml su-metanol solüsyonu (1/1 hacim oranında) içinde çözülerek taze olarak hazırlandı ve kullanıldı. R1’, son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde 585 mg sodyum klorür (NaCl), 1000 ml su-metanol solüsyonu (1/1 hacim oranında) içinde çözülerek hazırlandı. Reaktif 6 ay +4°C’de saklanabilir

özellikteydi. Reaktif 2 (R2), hem total tiyol hem de serbest tiyol ölçümünde kullanıldı. 0.5 ml formaldehit (son konsantrasyonu 6.715 mM) ve 3.8 gr EDTA (son konsantrasyonu 10 mM), 1000 ml Tris tamponda, 100 mM ve pH 8.2’de çözülerek hazırlandı. Bu reaktif +4°C’de 6 ay stabildi. Reaktif 3 (R3)’de hem total hem de serbest tiyol ölçümünde kullanıldı ve çalışma gününde 3.963 gr 5,5’-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB), 1000 ml metanol içinde çözülerek DTNB’nin son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde hazırlanarak taze olarak kullanıldı. Total ve serbest tiyol ölçüm prensibi: Total tiyol ölçümü için 10 µl R1 (serbest tiyol ölçümü için 10 µl R1’ kullanılır) ile 10 µl numune karıştırıldı. Sonrasında R2 ve R3 ilave edilerek ilk absorbans (A1) okuması 415 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapıldı (Schimadzu UV-1201 spektrofotometre, Kyoto, Japonya). İkinci absorbans (A2) okuması ise reaksiyonun plato yaptığı 10. dakikada aynı dalga boyunda gerçekleştirildi. A2-A1 absorbans farkı elde edilerek ölçüm tamamlandı [78]. Total ve serbest tiyol düzeylerinin hesaplanmasında 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)’in molar ekstinksiyon katsayısı olan 14.100 mol/L cm kullanıldı. Disülfid düzeyi, (total disülfid-serbest disülfid)/2 formülünden hesaplandı. Tüm sonuçlar litrede mikromol (µmol/L) olarak raporlandı [86].

3. 4. 2 Total antioksidan kapasitesinin (TAK) belirlenmesi

Total antioksidan kapasite düzeyleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik ölçüm yapıldı (Rel Assay Diagnostics, Ankara, Türkiye). Bu yöntem, daha kararlı bir durumda ve koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalinin ortamda bulunan antioksidanlarla orantılı olarak renginin kaybolması temeline dayanır. Ortamdaki antioksidanlar arttıkça renk kaybı da artmaktadır. Hesaplamalar hazır standart kite göre yapıldı ve sonuçlar mmol Trolox Eq/L şeklinde ifade edildi [86].

3. 4. 3 Total oksidatif durumunun (TOS) belirlenmesi

Total oksidan seviyesi düzeyleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik ölçüm yapıldı (Rel Assay Diagnostics, Ankara, Türkiye). Bu yeni yöntem örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesi ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanan Erel’in metodu ile yapıldı [78]. Oluşan rengin koyuluğuna göre spektrofotometrik

ölçüm yapılır. Bu ölçüm ortamda bulunan oksidan moleküllerin toplamını yansıtır. Sonuçlar mmol H₂O₂ Eq/L olarak ifade edildi.

3. 5. Histokimyasal İşlemler

Sham ve deney gruplarından alınan ince bağırsağa ait dokular ışık mikroskopunda yapılacak histolojik değerlendirme için %10'luk tamponlu formalin (pH: 7,35) çözeltisinde tespit edildi. Sırasıyla dereceli alkollerden (%75, %75, %96, %96 (1 gece bekletildi), %100, %100) geçirilerek dehidratasyona uğratılan dokular daha sonra şeffaflanmaları için ksilene alındı. Şeffaflanması tamamlanan dokular 60°C etüvde 1 saat %50 ksilen-%50 sıvı parafin, daha sonra da 4 saat sıvı parafin infiltrasyonuna maruz bırakıldı. Etüv dışına çıkarılıp parafine gömülerek sert bloklar elde edilen dokular +4 °C'de bekletildi. Kesim işlemine başlamadan önce -18°C 'ye alınan bloklardan Leica RM 2245 model mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen Eozin (H-E) boyası ile boyandı.

Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

- Ksilen ile parafini giderme
- Sırasıyla %100, % 96, %75 etanol serisi (2 dk)
- Suda yıkama
- Hematoksilen (2 dk)
- Suda yıkama
- Eozin (1 dk)
- Suda yıkama
- %75, %96, %100 etanol serisi ile dehidratasyon (%75 te 0, 5 dk, %96 ve %100 de 2 dk)
- Ksilen ile şeffaflandırma
- Entellanla kapatma

Örnekler Olympus BX43 (Tokyo, Japan) model ışık mikroskopuyla incelendi daha önceki çalışmalarda da belirtildiği [87] şekilde Chiu skorlamasına göre puanlandırıldı (Tablo 4). Kesit örnekleri Olympus DP26 (Tokyo, Japan) dijital görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı.

Puan	Görülen Lezyonlar
0	- Normal mukozal villus
1	- Subepitelyal Gruenhagen boşluklarının oluşmaya başlaması - Kapiller konjesyon (+)
2	- Epitel tabakasının lamina propriadan hafifçe ayrılması ile subepitelyal boşluk genişlemesi
3	- Villusların alt kısımlarında da masif epitel ayrışması - Az sayıda villus tepesinde epitel kaybı (denüdasyon)
4	- Villuslarda geniş alanlarda epitel kaybı - Epitel altı dokuların (lamina propria ve dilate kapillerlerin) açığa çıkması - Lamina propriada hücre sayısında artış (artmış selülarite)
5	- Lamina proprianın hasarlanması ve bütünlüğünün kaybı - Hemoraji ve ülserasyon

Tablo 4. Chiu Skorlaması

Chiu skorlaması yapılırken her deneğe ait 3 ayrı jejunum kesitinde 5'er alan olmak üzere toplamda 15 alan x20 ve x40 büyütmelemlerde değerlendirilerek ortalamaları alındı. Daha sonra da gruptaki hayvanlara ait genel ortalamalar hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo 5). Chiu puanlandırma kriterleri genel olarak mukozal tabakaları içermekle birlikte dokuları incelerken bütüncül bir yaklaşım ile tüm tabakalar ayrı ayrı değerlendirildi.

Tablo 5. Gruplara göre deneklerin histoloji skorları

	Karvedilol almayan	Karvedilol alan	p-değeri †
Sham	0,0 (0,0)	0,0 (0. 0)	-
Oklüzyon	3,0 (1,4)	1,5 (0,9)	<0,001
p-değeri ‡	<0,001	<0,001	

† Sham ve Oklüzyon yapılan gruplar içerisinde Karvedilol alan ve Karvedilol almayan gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni

Düzeltilmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Karvedilol alan ve Karvedilol almayan gruplar içerisinde Sham ve Oklüzyon grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Oklüzyonun jejunum haricinde ileum üzerine de etkisinin olup olmadığını değerlendirmek amacı ile deneklere ait ileum kesitleri de değerlendirildi. Genel olarak bir farklılık gözlenmediği için Chiu skorlaması ileum değerlendirilmesinde kullanılmadı.

3. 6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 17.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapılmıştır. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro-Wilk testiyle varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma ya da medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterilmiştir. Gruplar arasında ortalama değerler yönünden farkın önemliliği Student's t testiyle incelenirken normalden uzak dağılıma sahip değişkenler yönünden farkın önemliliği ise Mann Whitney U testiyle değerlendirilmiştir. Bu çalışmada çok fazla sayıda ikili karşılaştırma söz konusu olduğundan Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4- BULGULAR

4. 1. Biyokimyasal Bulgular

Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; TAS, TOS, IMA ve GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$).

Karvedilol verilen sham grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; TAS, TOS ve GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$). Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan IMA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,002$).

Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilen sham grubu arasında sırasıyla; TAS, IMA ve GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$). Karvedilol verilmeyen sham grubuna göre Karvedilol verilen sham grubunun medyan TOS düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,005$).

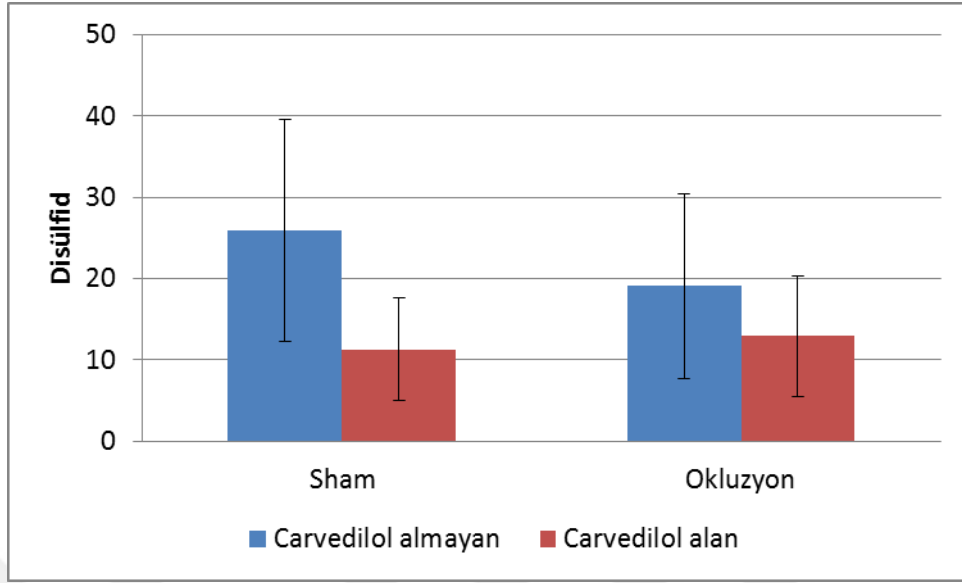
Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; TAS, TOS, IMA ve GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$).

Tablo 6. Gruplara göre deneklerin biyokimyasal ölçümleri

	Karvedilol almayan	Karvedilol alan	p-değeri †
TAS			
Sham	1,14 (0,12)	1,09 (0,23)	0,382¶
Oklüzyon	1,03 (0,09)	1,07 (0,36)	0,279¶
p-değeri ‡	0,083¶	0,878¶	
TOS			
Sham	1,88 (3,40)	6,51 (7,31)	0,005¶
Oklüzyon	1,58 (2,91)	3,88 (17,63)	0,065¶
p-değeri ‡	0,798¶	0,442¶	
IMA			
Sham	0,88 (0,15)	0,90 (0,05)	0,442¶
Oklüzyon	0,86 (0,07)	0,83 (0,11)	0,065¶
p-değeri ‡	0,574¶	0,002¶	
GSH			
Sham	1,22 (7,46)	7,57 (6,22)	0,161¶
Oklüzyon	0,24 (8,55)	0,00 (8,55)	0,645¶
p-değeri ‡	0,798¶	0,105¶	

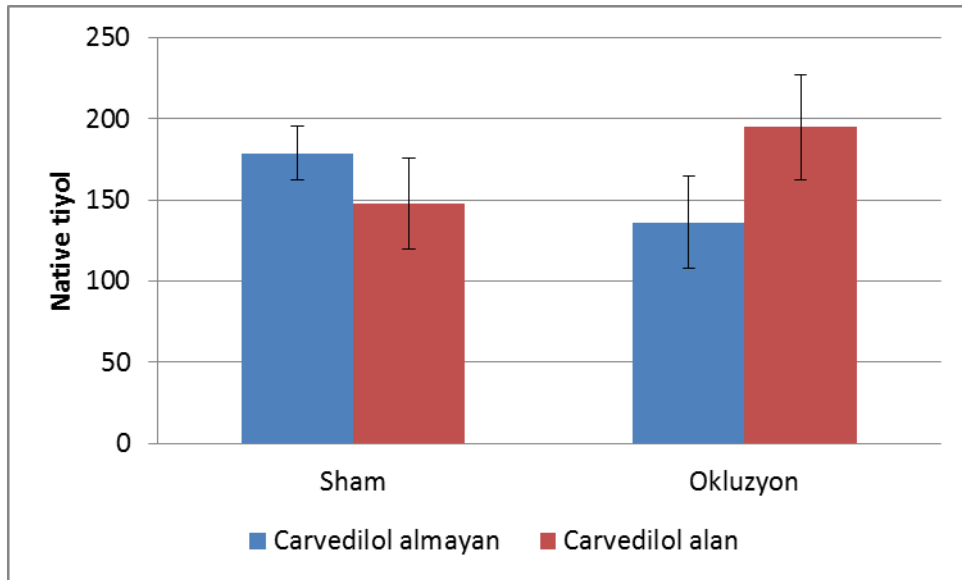
† Sham ve Oklüzyon yapılan gruplar içerisinde Karvedilol alan ve Karvedilol almayan gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Karvedilol alan ve Karvedilol almayan gruplar içerisinde Sham ve Oklüzyon grupları arasında yapılan karşılaştırmalar, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ¶ Mann Whitney U testi, \$ Student's t testi.

Karvedilol verilmeyen sham grubuna göre Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,003$ ve $p=0,006$). Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; SS, SS/SH, SS/TT ve SH/TT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0,025$).



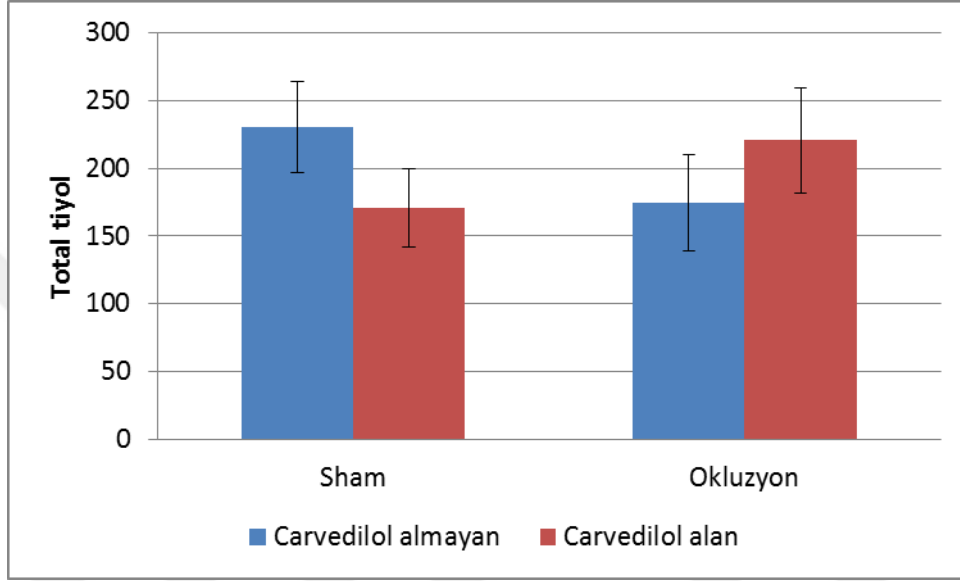
Şekil 8. Disülfid aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,008$ ve $p=0,011$). Karvedilol verilen sham grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; SS, SS/SH, SS/TT ve SH/TT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$).



Şekil 9. Native Tiyol aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

Karvedilol verilmeyen sham grubuna göre Karvedilol verilen sham grubunun ortalama SH, TT ve SS düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,018$, $p=0,002$ ve $p=0,015$). Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilen sham grubu arasında sırasıyla; SS/SH, SS/TT ve SH/TT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$).



Şekil 10. Total Tiyol aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun ortalama SH düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,002$). Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; TT, SS, SS/SH, SS/TT ve SH/TT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,025$).

Tablo 7. Gruplara göre deneklerin biyokimyasal ölçümleri - devamı

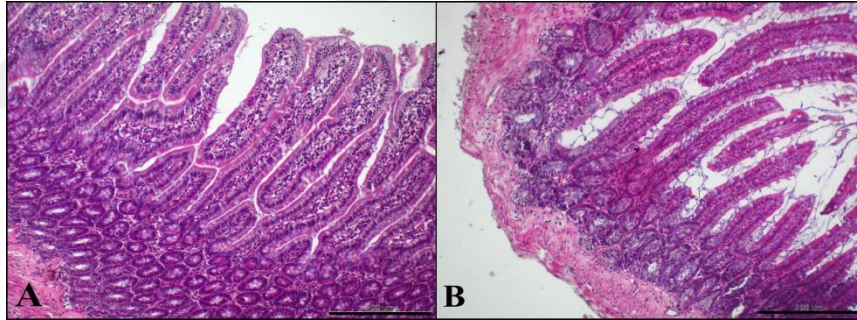
	Karvedilol almayan	Karvedilol alan	p-değeri †
SH			
Sham	178,7±16,45	147,7±28,30	0,018
Oklüzyon	136,2±28,50	194,8±32,32	0,002
p-değeri ‡	0,003	0,008	
TT			
Sham	230,6±33,65	170,4±28,91	0,002
Oklüzyon	174,4±35,88	220,7±38,96	0,027
p-değeri ‡	0,006	0,011	
SS			
Sham	25,9±13,60	11,3±6,30	0,015
Oklüzyon	19,1±11,38	12,9±7,40	0,222
p-değeri ‡	0,292	0,649	
SS/SH			
Sham	14,6±7,45	8,2±5,58	0,071
Oklüzyon	14,4±9,58	6,6±3,75	0,062
p-değeri ‡	0,965	0,534	
SS/TT			
Sham	10,8±4,95	6,7±3,76	0,083
Oklüzyon	10,4±5,88	5,7±2,92	0,068
p-değeri ‡	0,891	0,561	
SH/TT			
Sham	78,4±9,89	86,6±7,52	0,083
Oklüzyon	79,2±11,76	88,6±5,85	0,068
p-değeri ‡	0,891	0,561	

† Sham ve Oklüzyon yapılan gruplar içerisinde Karvedilol alan ve Karvedilol almayan gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Student's t testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Karvedilol alan ve Karvedilol almayan gruplar içerisinde Sham ve Oklüzyon grupları arasında yapılan

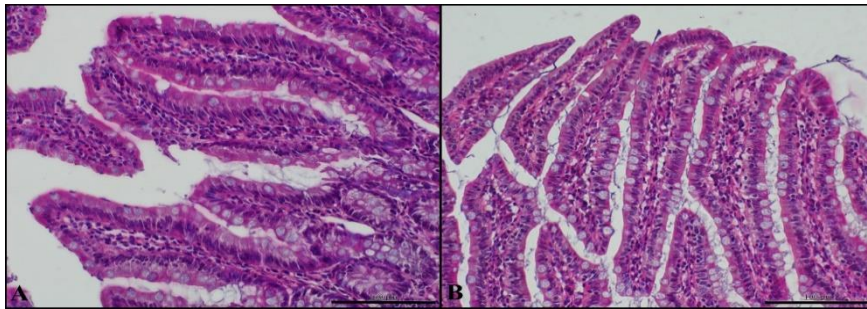
karşılaştırmalar, Student's t testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. 2. Histokimyasal Bulgular

Alınan doku örneklerinden sham gruplarına ait olanlar (Sham (S), Sham+Karvedilol (SC)) incelendiğinde mukoza tabakasının bütünlüğünü koruduğu gözlemlendi. Tek katlı çizgili kenarlı prizmatik epitel tüm alanlarda normal yapıda izlendi. İntraepitelyal tek hücreli bez olan Goblet hücreleri normal görünümde ve sayıdaydı. Epitel altı doku olan lamina propria doğal görünümdeydi, gevşek bağ dokusu özelliklerini gösteriyordu; bağ dokusu hücreleri ve kollajen lifleri normal yapıdaydı. Besinlerin absorpsiyonunda rol alan çok sayıda kapiller içermekteydi. Submukoza ve muskularis eksterna katları normal yapılarını korumaktaydı. Organı en dıştan saran seroza tabakası kesitlerde izlendi (Şekil 11-12).



Şekil 11. Sham gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. H-E boyaması. Bar: 200 μ m. **1A:** Sham grubu, **1B:** Sham+Karvedilol grubu. Epitel bütünlüğünü korumakta, mukoza normal görünümde, villuslar düzgün.



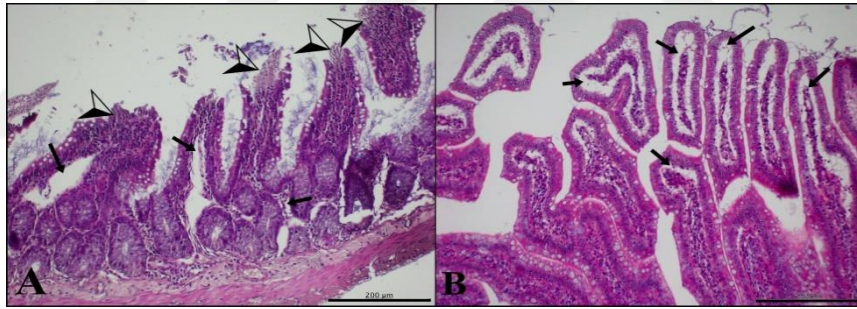
Şekil 12. Sham gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. H-E boyaması. Bar: 100 μ m. **2A:** Sham grubu, **2B:** Sham+Karvedilol grubu. Tek katlı prizmatik epitel ve Goblet hücreleri izlenmekte. Epitel lamina propria ile bütünleşik. Epitel altı bağ dokusu doğal görünümde.

Sham gruplarına ait ileum kesitleri incelendiğinde mukoza tabakalarının (epitel, lamina propria), submukoza ve muskularis eksterna katmanlarının normal görünümde olduğu saptandı.

Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilen sham grubu arasında medyan histoloji skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=1,000$).

Alınan doku örneklerinden oklüzyon gruplarına ait olanlar (Oklüzyon (O), Oklüzyon+Karvedilol (OC)) incelendiğinde jejunumda mukozal hasarın en çok yalnızca oklüzyon uygulanan grupta meydana geldiği saptandı (Şekil-13). Bu grubun Chiu skoru da diğer gruplara göre daha yüksekti. Aradaki skor farkı istatistiksel olarak anlamlıydı.

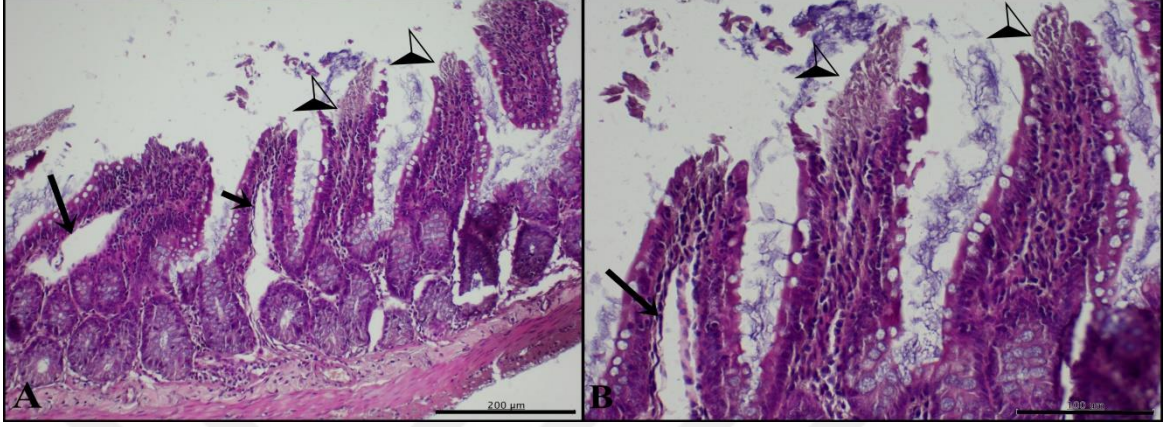
Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,001$).



Şekil 13. Oklüzyon gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. Ok: Gruenhagen boşlukları, imleç: epitel bütünlüğü yitirilmiş mukoza alanları. H-E boyaması. Bar: 200 µm. **3A:** Oklüzyon grubu, **3B:** Oklüzyon +Karvedilol grubu

Oklüzyon grubunda çoğu yerde tek katlı çizgili kenarlı prizmatik epitelin bütünlüğünü kaybettiği gözlemlendi (Şekil 3A, 5A). Literatürde tanımlanan [88] Gruenhagen boşlukları fazla sayıda ve geniş idi. Subepitelyal boşluğun ileri derecede artması yer yer lamina propriyanın açığa çıkmasına yol açmıştı. Birkaç alanda mukoza tabakasında da yapının tamamen bozulduğu ve ülserasyon meydana geldiği izlendi. Epitel altındaki gevşek bağ dokusu yapısında olan lamina propriyada bağ dokusu hücrelerinde sayıca artış gözlemlendi, bu artış hasara yanıt mekanizması olan enflamasyon lehine değerlendirildi. Villus içi kapillerlerde dilatasyon ve endotelial bütünlük kaybı

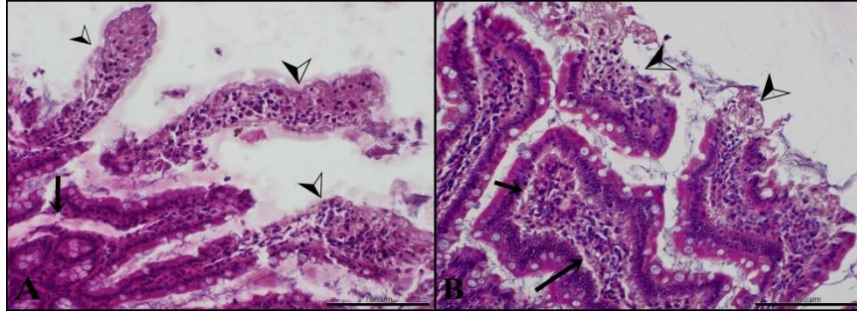
meydana gelmişti. Mukoza altı katmanlar olan submukoza ve muskularis eksterna tabakaları normal görünümdeydi (Şekil-3A, 14).



Şekil 14. Oklüzyon grubuna ait mikroskopik fotoğraflar. Ok: Gruenhagen boşlukları, imleç: epitel bütünlüğü yitirilmiş mukoza alanları. H-E boyaması. **4A:** Bar: 200 µm. **4B:** Bar: 100 µm

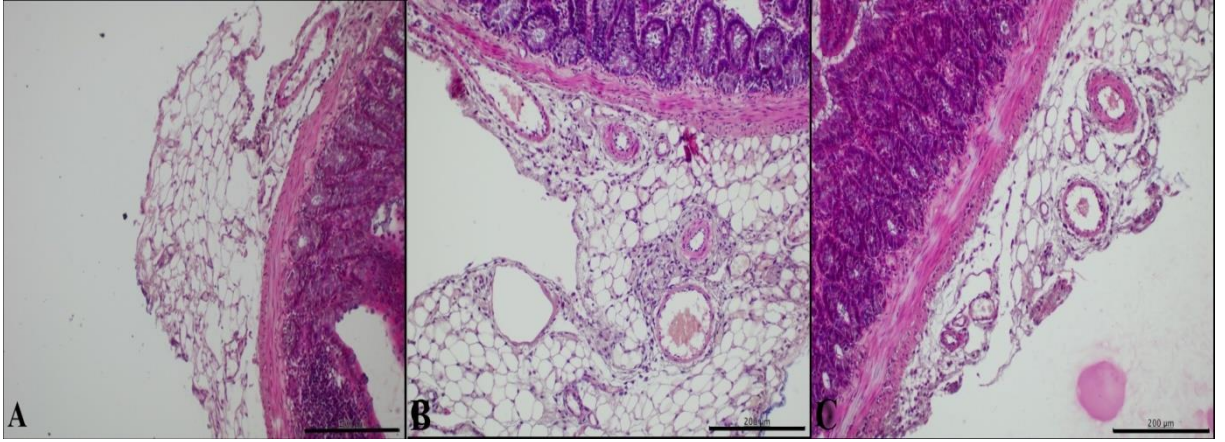
Oklüzyon+Karvedilol grubunda da mukozal hasar izlenmekle birlikte epitel ve subepitel dokudaki bozulmanın şiddeti daha hafifti. Villusların tepe kısımlarında epitel dokusu kaybı, Gruenhagen boşlukları yer yer gözlenirken hasarlı bölgelerin alanı yalnızca oklüzyon uygulanan gruba göre daha az saptandı (Şekil 3B, 5B). Lamina propriyada hücre artışı olmakla birlikte hücre artışı ve kapiller dilatasyon oklüzyon grubu kadar fazla değildi. İncelenen alanlarda mukoza tabakasının tamamen kaybına ve ülserasyona rastlanmadı. Mukoza altı katmanlar olan submukoza ve muskularis eksterna tabakaları normal görünümdeydi. Yalnızca oklüzyon uygulanan grup ve oklüzyon ile birlikte karvedilol uygulanan gruplar arasındaki skor farkı istatistiksel olarak anlamlıydı.

Karvedilol verilmeyen sham grubuna göre Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$). Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$).



Şekil 15. Oklüzyon gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. Ok: Gruenhagen boşlukları, imleç: epitel bütünlüğü yitirilmiş mukoza alanları. H-E boyaması. Bar: 100 µm. **5A:** Oklüzyon grubu, **5B:** Oklüzyon + Karvedilol grubu

Oklüzyon grubunun ileum kesitleri incelendiğinde ülserasyon ya da Gruenhagen boşluklarını içermedikleri görüldü, ancak mukozal hücre artışı bu bölgelerde dikkat çekiciydi. İleumun yanı sıra organı çevreleyen ve en dış katmanında yer alan yağ dokusunda da oklüzyon grubunda hücre artışı belirgindi (Şekil-16).



Şekil 16. Sham ve oklüzyon gruplarına ait mikroskopik fotoğraflar. H-E boyaması. Bar: 200 µm. **6A:** Sham + Karvedilol grubu, **6B:** Oklüzyon grubu. **6C:** Oklüzyon + Karvedilol grubu. Sham grupları ve oklüzyon uygulanan gruplar arasındaki hücre artışı farkı belirgin olarak izlenmektedir.

Sonuç olarak ışık mikroskopik düzeyde yaptığımız incelemeler neticesinde ince bağırsak besleyen arterlerin oklüzyonunun en çok bağırsaklarda emilim yüzeyi olan epitel ve epitel altı dokuyu içeren mukoza tabakasını etkilediği görülmüştür. Uygulanan prosedür submukoza ve muskularis eksterna tabakalarında belirgin bir değişiklik

meydana getirmemiştir. Mukoza tabakasında yarattığı enflamasyona bağlı hücre artışından epitel-subepitel ayrışmasına ve mukozada ülserasyona varana kadar değişik şiddette hasara yol açabilmektedir. Jejunumda gözlenen bu değişiklikler bağırsağın diğer bir kısmı olan ileumda belirgin olarak gözlenmemiştir, yalnızca Sham grubuna göre hücre sayısında yer yer belirgin artış izlenmiştir.

Çalışmamıza konu olan terapötik ajanın hasar şiddetini azaltıcı yönde etkisi olduğu saptanmıştır. Mikroskobik incelemede saptanan bu fark istatistiksel değerlendirmeler sonucunda anlamlı bulunmuştur.



5- TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, ratlarda deneysel intestinal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturarak, karvedilolün reperfüzyondan hemen sonra intraperitoneal olarak uygulanmasının intestinal I/R hasarı üzerine etkilerini araştırmaktır.

Akut mezenter iskemi, yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Mortalitesinin bu kadar yüksek olmasının nedenlerinin başında bağırsaklarda doku ölümü oluşmadan önce tanının konulmasındaki güçlük ve gecikmedir. Abdominal organlar arasında ince barsaklar, büyük oranda iskemi reperfüzyonuna bağlı zedelenmeye en duyarlı organlardan olup, aynı zamanda serbest oksijen radikallerinin majör kaynağı olan ksantin oksidazı da en fazla bulunduran dokulardan biridir [88]. Yaşam oranını belirleyen en önemli faktör, bağırsaklarda nekroz ve peritonit gelişmeden önce tanının konmasıdır. İlk 24 saat içinde tanı konan hastalarda yaşam olasılığı %60 iken, 24 saatten sonra tanı konanlarda bu oran % 30'a düşmektedir [25]. Geç tanı konulan hastalarda geniş ince bağırsak ve hatta kolon rezeksiyonları gerekir. Yaşayan hastaların çoğunda beslenme için yeterli bağırsak bölümünün kalmamasına bağlı kısa bağırsak sendromu ortaya çıkar. Hücre ölümü ve organ yetmezliği ile birlikte olan iskemik hasar genellikle dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan artık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması sonucu oluşur. Dokunun tekrar kanlanması sağlanamazsa hücre ölümü gerçekleşir. Reperfüzyon sağlanması iskemik dokunun iyileşebilmesi için şarttır. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu bir taraftan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken bir taraftan da hücre kaybı devam ederek daha ileri hasarlara neden olmaktadır. Bu durum I/R hasarı olarak adlandırılan önemli bir klinik olaydır [4, 68]. I/R hasarının mekanizması henüz tam aydınlatılamamıştır ancak arterlerin tıkanması ve reperfüzyonu sonucunda hasar mekanizmasında rol oynayan lokal ve sistemik kaynaklı serbest oksijen radikalleri, NO, transkripsiyon faktörleri, serotonin ve pankreatik proteazlar gibi sitotoksik metabolitler salınır ve nötrofil ile endotel hücreler arasındaki etkileşim artar [89].

I/R'a bağlı doku hasarını başlatan en önemli faktör serbest oksijen radikalleri (SOR)'dir. Oksijenli solunum yapan tüm canlılar metabolizmaları sırasında fizyolojik olarak oksidatif stresle karşılaşır. Oksijenden üretilen en önemli reaktif türler

arasında süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$) vardır. Bu radikaller membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümüne neden olmaktadır [90].

Hücrenin fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için oksijen kritik bir öneme sahiptir. Oksijen yokluğu, anaerobik metabolizma ve lokal laktik asit konsantrasyonunda artışa bu da asidoza neden olur. Asidoz daha az enerji üretimine neden olur ve sonuçta hücre homeostazını devam ettirebilmek için gerekli olan enerjiden yoksun kalır [51]. Dokular_hipoksiye farklı sürelerde dayanıklılık gösterirler. Nöronal hasar iskemi oluşumundan sadece dakikalar sonra meydana gelirken çizgili kaslar saatler süren iskemiden etkilenmezler [50].

Ratlarda iskemi reperfüzyon hasarını ve çeşitli ajanların bu hasarı önlemede etkinliklerini araştırmak amacıyla, in vivo olarak farklı deneysel modeller geliştirilmiştir. Bu modellerde, mezenterik iskemi oluşturmak için, SMA'nın transeksiyonu ve oklüzyonu uygulanmıştır. Bununla birlikte, uygulanan iskemi ve reperfüzyon süreleri konusunda, modeller arasında farklılıklar bulunmaktadır. Daha derin bir iskemi oluşturmak için, kollaterallerin akımının kesildiği modeller de çalışılmıştır.

Megison ve arkadaşları, sadece SMA oklüzyonunun yapıldığı durumlarda mezenterik akımın %83 oranında azaldığını, kollateral akımın da kesilmesiyle bu oranın %98'in üstüne çıktığını gösterdiler [91].

Enzimatik ve nonenzimatik mekanizmalarla SOR'ların etkilerini ortadan kaldıran maddelerin etkileri deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Bu amaçla Bryka-Owczarek ve ark. tavşanlarda deneysel ince bağırsak I/R hasarı oluşturarak C vitamini, mannitol, N-Asetil sisteinin antioksidan özelliklerini karşılaştırmışlardır [92]. Boyd ve ark. hamsterlerin ince barsaklarında 30 dk iskemi ve ardından 3 saat reperfüzyon yaptıkları deneysel çalışmada gama hidroksibütrat, allopürinol ve E vitamini uygulamışlardır [93].

Bağırsak I/R modeli sık kullanılan deneysel bir model olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tür çalışmalarda birbiriyle çelişen sonuçlar olduğu görülmektedir. Ancak her şeye karşın ince bağırsak I/R modelinin çalışılması kolay, klinik uygulamalarla örtüşen ve sonuçlarının objektif olarak değerlendirilebildiği bir model

olduğunu düşünmekteyiz. Biz de çalışmamızda deneysel I/R modelini kullandık ve başarılı sonuçlar aldık.

İnce bağırsak I/R hasarında etkinliklerini araştırmak amacıyla pentoksifilin, kafeik asit, melatonin, verapamil, nitrogliserin, allopürinol, trimetazidin, dopamin, dobutamin gibi

ajanlar kullanılmış ve oksidatif strese karşı etkili oldukları gösterilmiştir.

N-Asetilsisteinin hepatik I/R sonrası oluşan intestinal hasarı önlemedeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada [94] 30 dakika iskemiye takiben reperfüzyon uygulanmıştır. Mallick ve ark. deneysel modellerini 30 dk iskemi, 120 dk reperfüzyon yaparak oluşturmuşlardır [95].

Koltuksuz ve ark. [96], sıçanlarda kafeik asit fenetil esterinin, intestinal iskemi reperfüzyon üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 30 dakika intestinal iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulamışlar ve doku MDA seviyesini, serum fizyolojik verilen reperfüzyon grubunda, yine serum fizyolojik verilen iskemi grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır.

Ogure ve ark. [97], sıçan ince barsak iskemi reperfüzyon hasarında luteinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 30 dakika iskemi ve ardından bir saat reperfüzyon yapmışlar, I/R sonrası lipid peroksidasyonu artışının, lutein tedavisi ile anlamlı olarak azaldığını ortaya koymuşlardır.

Çalışmamızda reperfüzyon sonrası oluşan hücre hasarına yanıtı araştırmak amacıyla bilinen antioksidan etkinliği ile yeni nesil ilaçlar arasında gösterilen Karvedilölü kullandık.

Karvedilöl üçüncü kuşak, non selektif β -bloker vazodilatör ajandır. Hipertansiyon, angina ve konjestif kalp yetmezliği gibi hastalıkların tedavisinde kullanılır. Selektif olarak A1 reseptörleri antagonize ederken, non selektif olarak β_1 'i ve β_2 -adrenoseptörleri antagonize eder. Karvedilölün aynı zamanda antioksidan, antiaritmik, antiapopitotik ve antiproliferatif etkileri de mevcuttur. I/R sonrası oluşan serbest oksijen radikallerine antioksidan etkisi ile etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Biz de çalışmamızda, öncül deneylerde intestinal I/R hasarı oluşumunu histopatolojik olarak doğruladıktan sonra, 30 dakika iskemi ve ardından reperfüzyon uyguladık. Çalışmamızda histolojik olarak tüm oklüzyon gruplarının ileum kesitleri

incelendiğinde oklüzyonunun benzer çalışmalarda olduğu gibi en çok bağırsaklarda emilim yüzeyi olan epitel ve epitel altı dokuyu içeren mukoza tabakasını etkilediği, uygulanan prosedürün submukoza ve muskularis eksterna tabakalarında belirgin bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Biyokimyasal olarak Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; TAS, TOS, IMA, albümin ve GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemesi, iskemi süresinin arttırabileceği ya da kollateral dolaşımında kesilmesi intestinal I/R hasarını arttıracağını desteklese de, Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT düzeylerinde istatistiksel anlamlı olarak daha düşük tespit edilmesi serbest oksijen radikallerin proteinlerdeki sülfür içeren aminoasitlerin Tiyol gruplarının oksidasyonuna neden olarak disülfid bağları oluşturduğunu ve iskemi süresinin biyokimyasal ve histolojik istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

Sing ve arkadaşları, Karvedilolün intestinal iskemi reperfüzyonun tetiklediği böbrek hasarına olan etkisini incelemişler ve Karvedilolün böbrek hasarını azalttığını göstermişlerdir [17]. Parlaktaş ve arkadaşları da rat testis iskemi reperfüzyon modelinde hasara Karvedilolün etkilerini incelemişler ve hasarı azalttığını göstermişlerdir [16].

Hagashi ve ark çalışmasında [98] böbrek transplantasyonunda, I/R hasarının reaktif oksijen türlerinin üretimi ile ilgili olması nedeniyle non selektif β adrenoreseptör ve selektif α 1 adrenoreseptör blokör etkili, anti-hipertansif etkisine ek olarak antioksidan etkisi nedeniyle Karvedilolü kullanmıştır. Çalışma Karvedilolün sıçanlarda I/R hasarı üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Ameliyat sonrası 2. ve 4. günlerde, serum kreatinin düzeyleri, kontrol ve metoprolol tedavi grupları arasında Karvedilol tedavisi verilen gruba göre daha yüksek tespit edilmiş. Bununla birlikte, ameliyat sonrası 7. günde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş. Renal I/R'da Karvedilolün antioksidan etkinliğinin hasarı azalttığı sonucuna varılmıştır.

Etkin maddeyi belirleme aşamasında yaptığımız literatür taramasında bu maddenin daha önce intestinal I/R hasarına karşı etkinliğinin test edilmemiş olmasına dikkat ettik. Testis ve böbrek I/R hasarını önlemeye yönelik çalışmalar bulunmakla birlikte Karvedilolün intestinal I/R hasarının intestinal mukoza üzerine olan etkisi araştırılmamıştır.

Biz çalışmamızda Karvedilölü reperfüzyon sonrası tek doz 2mg/kg intraperitoneal olarak uyguladık. Karvedilöl verilen sham grubuna göre Karvedilöl verilen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak tespit edildi, SS, SS/SH, SS/TT ve SH/TT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi.

İntestinal I/R hasarının histopatolojik sınıflandırmasında değişik skorlar kullanılmaktadır. Chiu skoru [99], Park skoru [100], Hierholzer ve ark. [61] tarafından kullanılan skarlama sistemleri bu skarlara örnek olarak verilebilir. Chiu ve ark tarafından tanımlanan histopatolojik sınıflama basit, kullanılabilir olması, ince barsak doku hasarını iyi göstermesi ve literatürde deneysel intestinal I/R hasar modellerinde en çok kullanılan skor olması nedeniyle seçilmiştir.

Ateş ve ark. [30], intestinal I/R hasarında hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi verilen melatoninin koruyucu rolünü araştırdıkları çalışmalarında, SMA'yı klempe edip, 45 dakika iskemi ve ardından 120 dakika reperfüzyon uygulamışlar ve barsakta, başlıca antioksidan enzimler olan katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazın aktivitelerinin, I/R yapıp melatonin verilen sıçanlarda, sadece I/R yapılanlara kıyasla anlamlı bir artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda, I/R yapılan sıçanlarda, hem iskemi öncesi hem de reperfüzyon öncesi melatonin uygulamasının, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesini anlamlı oranda düşürdüğünü göstermişlerdir.

Biz de çalışmamızda rat SMA'sını klempe edip 30 dakika boyunca iskemi ve hemen ardından da reperfüzyon uyguladık ve reperfüzyon sonrası intraperitoneal Karvedilöl uygulamasının antioksidan total aktiviteleri ve inflamasyon üzerine olan etkilerini araştırdık. Karvedilöl verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilöl verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skorunun istatistiksel anlamlı düşük olduğu görüldü.

Parlaktaş ve ark. [16] çalışmasında Karvedilölün antioksidan özelliğine yönelik 21 erkek rat testisi üzerinde yaptıkları çalışmada SOD (Süperoksit dismutaz), MDA (Malondialdehid), GSH-Px (Glutatyon peroksidaz) değerlerinin I/R+CVD (iskemi reperfüzyon+Karvedilöl) grubunda anlamlı olarak azaldığını protein karbonil değerinin ise gruplarda anlamlı olarak değişmediğini bulmuşlardır.

Bizim çalışmamızda Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun ortalama SH düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,002$).

Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında ise sırasıyla; TAS, TOS, IMA ve GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Mikroskopik incelemede ise Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti.

Hayashi ve ark. çalışmasında [101] böbrek transplantasyonun sık görülen bir komplikasyonu olan ve greft fonksiyonu ile ilişkili olan akut böbrek hasarının patogeneğinde iskemi, vasküler konjesyon ve reaktif oksijen metabolitlerinin yer alması nedeniyle, akut böbrek hasarına yol açan böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında güçlü antioksidan özellikli antihipertansif etkisi olan Karvedilolün koruyucu etkilerini araştırmışlardır. 24 rat randomize olarak sham, Karvedilol verilen grup (cerrahiden 30 dakika önce ve reperfüzyondan 12 saat sonra) ve Karvedilol verilmeyen grup olarak ayrılmış, Karvedilol verilen grup 60 dakika sol renal iskemi, ardından 24, 48, 96 ve 168 saat reperfüzyon uygulamışlar. I/R sonrası Karvedilol uygulanan grupta plazma kreatinin düzeylerinin (168 saate kadar) kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin olarak düştüğü ($p<0,001$) ve böbrek fonksiyonlarında iyileşme olduğu tespit edilmiş. Histopatolojik analiz, Karvedilol ile tedavi edilen sıçanların böbreklerinde I/R kaynaklı hasarın azaldığını ortaya koymuş. Cu/Zn süperoksit dismutazın ekspresyon düzeylerinde ve 8-hidroksi deoksiguanozin ve apoptoz düzeylerinde azalmada anlamlı bir artış ($p<0,005$), Karvedilol tedavisinden sonra koruyucu bir etki olduğunu ortaya koymuştur.

Bizim çalışmamızda Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan IMA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,005$) ve mikroskopik incelemede ise Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek tespit edildi. Karvedilolün antioksidan özelliğini desteklemekle birlikte, Karvedilol verilen sham grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; TAS, TOS, albümin ve GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemesi ($p>0,025$), ilacı tek doz uygulamamızla alakalı olabilir.

Sing ve ark. [17] çalışmasında bilateral renal pedikül 45 dk oklüze edilip takip eden 24 saat reperfüze edilerek iskemiden 30 dk sonra ve reperfüzyonun 12 saatinde olacak şekilde Karvedilol 2 mg/kg iki kez intraperitoneal uygulamıştır. Renal dokuda Tiobarbitürik asit reaktif madde (TBARS), glutatyon (GSH) değeri, katalaz (CAT) ve superoksit dismutaz (SOD) aktivitesi değerlendirilmiştir. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için BUN (Kan üre azotu) ve kreatinin değerleri ölçülmüş. Renal oksidatif stres değerlendirilmek üzere renal morfoloji incelenmiştir. Karvedilol uygulanan grupta artmış TBARS düzeylerinin düştüğü ve azalan renal antioksidan enzimlerde artış olduğu tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti. Karvedilol verilen sham grubu ile Karvedilol verilen oklüzyon grubu arasında sırasıyla; SS, SS/SH, SS/TT ve SH/TT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İskemi reperfüzyon hasarı klinik uygulamalarda sıklıkla karşılaşılan mortalite ve morbiditesi yüksek bir olaydır. Miyokard infarktüsü, travma ve travma cerrahisi, ortopedik cerrahi, kardiyovasküler cerrahi, transplantasyon cerrahisi, şok, sepsis, yanık, pankreatit, serebrovasküler olaylar, I/R olayının görüldüğü durumlardan sadece bazılarıdır. Yapılan tüm cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve bunu takiben bir reperfüzyon periyodu vardır. Bu nedenle I/R patofizyolojisini tam olarak açıklayabilmek I/R hasarını önlemek ve I/R periyodunu artı yöne çevirecek tedavi yöntemi bulmak için birçok deney üzerinde çalışılmakta ve birçok ajan kullanılmaktadır. Fakat hala etkin bir medikal ajan bulunamamıştır.

İntestinal iskemide reperfüzyon hasarında Karvedilolün ilk defa kullanılması ve ortaya çıkan sonuçların biyokimyasal verilerle desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara yol göstereceği inancındayız.

Antioksidan bir ajan olan Karvedilol, değişik doz, süre ve deneklerle yapılacak yeni çalışmalarla, heparin, dopamin gibi etkinliği bilinen diğer ilaçlara alternatif bir tedavi olabilecektir.

Çalışmamızda arter oklüzyonu sabit bir süre uygulanmış, terapötik ajan tek dozda kullanılmıştır. Tiyol/disülfid düzeyleri bize hastalığın patogeneğinde ROT önemli bir faktör olabileceği ve bunun yapılacak yeni ve kapsamlı çalışmalar ile ayırtılabilirliği sonucuna varılmıştır. İlgili terapötik ajanın uygulama süre ve dozlarına göre farklı oklüzyon sürelerinde nasıl farklılık oluşturacağı ile ilgili daha geniş çaplı çalışmalar planlanmasının bu ajanın klinikte kullanılmasının önünü açması açısından faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Karvedilolün klinikte bu endikasyonda uygulanabilirliği açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunduğu da bir gerçektir.

7- ÖZET

İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA KARVEDİLOL'ÜN
İNTESTİNAL MUKOZA ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ: RATLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA

FATMA TUGBA GÜVENÇ

DR SAMİ ULUS KADIN DOĞUM, ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SUAM,
ÇOCUK CERAHİSİ KLİNİĞİ, ANKARA

Amaç: Barsak arteriyel kan akımının kısmen veya tamamen tıkanması sonrası intestinal iskemi ve kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon ortaya çıkmaktadır. İntestinal iskemi reperfüzyon (İİ/R) hasarı çoklu organ yetersizliğine ve ölüme neden olabilir. Bu çalışmanın amacı İİ/R hasarı üzerine reperfüzyon sonrası uygulanan Karvedilolün etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Ankara Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra ağırlıkları 250 ± 30 gr. arasında değişen 32 genç sağlıklı erkek Wistar-Albino rat her birinde 8'er denek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Tüm gruplara anestezi sonrası laparotomi uygulandı, süperior mezenter arter (SMA) diseke edildi, *Sham* grubuna başka bir işlem yapılmadı. *Sham*+Karvedilol grubuna SMA disseksiyonu sonrası Karvedilol 2 mg/kg intraperitoneal uygulandı. İİ/R grubunda SMA 30dk klemplenerek iskemi oluşturuldu ve klemp açılarak reperfüzyon için beklendi. İİ/R+Karvedilol grubunda, İİ/R grubundaki işlemler aynen tekrarlandı ve reperfüzyon sonrası Karvedilol 2mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. 48 saat sonra ratlar kurban edildi. Deney sonunda alınan kan ve doku örneklerindeki reperfüzyon hasarının derecesi, biyokimyasal olarak TAS ve TOS, histopatolojik olarak Chiu skoru ile değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0,025$ anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Karvedilol verilen *sham* grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan IMA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0,002$). Karvedilol verilmeyen *sham* grubuna göre Karvedilol verilen *sham* grubunun medyan TOS düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,005$). Karvedilol verilmeyen *sham* grubuna göre Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT

düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0,003$ ve $p=0,006$). Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun ortalama SH ve TT düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,008$ ve $p=0,011$). Karvedilol verilmeyen sham grubuna göre Karvedilol verilen sham grubunun ortalama SH, TT ve SS düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,018$, $p=0,002$ ve $p=0,015$). Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun ortalama SH düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,002$).

Karvedilol verilmeyen sham grubuna göre Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,001$). Karvedilol verilen sham grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$).

Karvedilol verilmeyen sham grubu ile Karvedilol verilen sham grubu arasında medyan histoloji skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=1,000$). Karvedilol verilmeyen oklüzyon grubuna göre Karvedilol verilen oklüzyon grubunun medyan histoloji skoru ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p<0,001$).

Sonuç: İntestinal I/R sonrası intraperitoneal 2 mg/kg uygulanan Karvedilol'ün histolojik incelemede ve biyokimyasal olarak hasar şiddetini azaltıcı yönde etkisi olduğu saptanmıştır. Mikroskopik incelemede saptanan bu fark istatistiksel değerlendirmeler sonucunda da anlamlı bulunmuştur. Klinik olarak yarar sağlayabilecek bu uygulamanın deneysel olarak ayrıntılandırılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İntestinal iskemi, reperfüzyon hasarı, Karvedilol

8- ABSTRACT (ÖZET İNGİLİZCE)

THE EFFECTS OF CARVEDİLOL ON ISCHEMIA REPERFUSION DAMAGE OF THE INTESTINAL MUCOSA : AN EXPERIMENTAL STUDY.

Fatma Tuğba Güvenç, Dr. Sami Ulus Maternity, Children's Health and Disease Training and Research Hospital, Department of Pediatric Surgery, ANKARA

Object

Partial or total occlusion of intestinal arterial blood flow leads to intestinal ischemia and with resumption of blood flow re-perfusion is maintained. Intestinal ischemia reperfusion (IIR) injury may cause multiple organ failure and death. The aim of this study is to investigate the effects of Carvedilol on IIR injury.

Material Method

After the approval of Local Ethics Committee for Animal Research of Ankara Hospital, 32 young, healthy male wistar Albino rats weighing 250-300 gr were divided into 4 groups each containing 8 subjects. After induction of general anesthesia, Laparotomy is performed and superior mesenteric artery (SMA) is isolated in all animals. No further procedure is performed in Sham Group (Group I). After isolation of the SMA, 2 mg/kg of carvedilol is applied intraperitoneally in Sham+Carvedilol group (Group II). In the Intestinal Ischemia Reperfusion Group (Group III), SMA is clamped for 30 minutes to ensure ischemia. In the Intestinal Ischemia Reperfusion+Carvedilol (IIR + cvd) Group (Group IV), ischemia is induced in the same manner. 2 mg/kg carvedilol is applied intraperitoneally after resumption of blood flow and induction of reperfusion. After 48 hours all rats are sacrificed. The grade of reperfusion injury of the intestinal mucosa is evaluated on blood and intestinal tissue samples by Total Anti-oxidant Score (TAS) and Total Oxidant Score (TOS) measurements biochemically and by Chiu score histopathologically. A p value of < 0.025 is regarded as statistically significant.

Results:

The median IMA value of the Group 4 is found significantly lower than the Group 2 ($p < 0,002$). The median TOS of the Group 2 is found significantly higher than the Group 1 ($p = 0,005$). The average SH and TT values of the Group 3 is found significantly lower than the Group 1 ($p = 0,003$ and $p = 0,006$, respectively). The average SH and TT values of the Group 1 is found significantly higher than the group 3 ($p = 0,008$ and $p = 0,011$). The average SH, TT and SS values of the Group 2 is found significantly lower than than the Group 1 ($p = 0,018$, $p = 0,002$ and $p = 0,015$, respectively). The average SH value of the Group 4 is found higher than the Group 3 ($p = 0,002$).

The median histopathological score of the Group 3 is found higher than the group 1 ($p < 0,001$). The median histopathological score of the Group 4 is found significantly higher than the Group 2 ($p < 0,001$).

The median histopathological score of the Group 2 was not significantly different than the Group 1 ($p = 1,000$). The median histopathological score of the Group 4 is found significantly lower than the Group 3 ($p < 0,001$).

Conclusion:

Biochemical and histopathological results of this study showed that intraperitoneal administration of 2 mg/kg Carvedilol just after reperfusion attenuates the effects of intestinal ischemia reperfusion injury in rats. This difference found in the microscopic examination is found statistically significant. Further detailed experimental studies are needed to confirm these findings which would be potentially provide clinical benefit.

Keywords: Intestinal ischemia, reperfusion injury, Carvedilol

9. KAYNAKLAR

1. Siemionow, M. and E. Arslan, *Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers*. Microsurgery, 2004. **24**(6): p. 468-75.
2. AKTAN, A.Ö., *Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the surgeon*. Cytokines, 1998. **3**: p. C5a.
3. Cerqueira, N.F., C.A. Hussni, and W.B. Yoshida, *Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review*. Acta Cir Bras, 2005. **20**(4): p. 336-43.
4. Zimmerman, B.J. and D.N. Granger, *Reperfusion injury*. Surg Clin North Am, 1992. **72**(1): p. 65-83.
5. Wilhelm, J., *Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation*. Acta Univ Carol Med Monogr, 1990. **137**: p. 1-53.
6. Menon, N.J., et al., *Acute mesenteric ischaemia*. Acta Chir Belg, 2005. **105**(4): p. 344-54.
7. Ujiki, M. and M.R. Kibbe, *Mesenteric ischemia*. Perspect Vasc Surg Endovasc Ther, 2005. **17**(4): p. 309-18.
8. Yasuhara, H., *Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology*. Surg Today, 2005. **35**(3): p. 185-95.
9. Vural, K.M. and M.C. Oz, *Endothelial adhesivity, pulmonary hemodynamics and nitric oxide synthesis in ischemia-reperfusion*. Eur J Cardiothorac Surg, 2000. **18**(3): p. 348-52.
10. Zhao, J., et al., *Oxymatrine attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats*. Surg Today, 2008. **38**(10): p. 931-7.
11. Collard, C.D. and S. Gelman, *Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury*. Anesthesiology, 2001. **94**(6): p. 1133-8.
12. Lucchesi, B.R., *Complement, neutrophils and free radicals: mediators of reperfusion injury*. Arzneimittelforschung, 1994. **44**(3a): p. 420-32.
13. Seyama, A., *The role of oxygen-derived free radicals and the effect of free radical scavengers on skeletal muscle ischemia/reperfusion injury*. Surg Today, 1993. **23**(12): p. 1060-7.
14. Badiola, C.M. and D.J. Scoppetta, *Rapid revascularization of an embolic superior mesenteric artery occlusion using pulse-spray pharmacomechanical thrombolysis with urokinase*. AJR Am J Roentgenol, 1997. **169**(1): p. 55-7.
15. Feuerstein, G.Z., et al., *Myocardial protection with carvedilol*. J Cardiovasc Pharmacol, 1992. **19 Suppl 1**: p. S138-41.
16. Parlaktas, B.S., et al., *The effects of carvedilol on ischemia-reperfusion injury in the rat testis*. Int Braz J Urol, 2014. **40**(1): p. 109-17.
17. Singh, D., V. Chander, and K. Chopra, *Carvedilol attenuates ischemia-reperfusion-induced oxidative renal injury in rats*. Fundam Clin Pharmacol, 2004. **18**(6): p. 627-34.
18. Yue, T.L., et al., *Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger*. J Pharmacol Exp Ther, 1992. **263**(1): p. 92-8.
19. Yue, T.L., et al., *Carvedilol, a new antihypertensive, prevents oxidation of human low density lipoprotein by macrophages and copper*. Atherosclerosis, 1992. **97**(2-3): p. 209-16.
20. Yue, T.L., et al., *Carvedilol, a new beta-adrenoceptor antagonist and vasodilator antihypertensive drug, inhibits superoxide release from human neutrophils*. Eur J Pharmacol, 1992. **214**(2-3): p. 277-80.

21. Yildirim, D., et al., *Prognostic factors in patients with acute mesenteric ischemia*. Turk J Surg, 2017. **33**(2): p. 104-109.
22. Yilmaz, E.M. and E.B. Carti, *Prognostic factors in acute mesenteric ischemia and evaluation with Mannheim Peritonitis Index and platelet-to-lymphocyte ratio*. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg, 2017. **23**(4): p. 301-305.
23. Cantürk NZ, S.İ., *Cerrahi Araştırma Kitabı* 2005.
24. Acosta, S., *Surgical management of peritonitis secondary to acute superior mesenteric artery occlusion*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(29): p. 9936-41.
25. Schwartz SI (ed), M.-H., *Principles of Surgery*. 1999. **Vol I: 13-32**.
26. Wiesner, W., et al., *CT of acute bowel ischemia*. Radiology, 2003. **226**(3): p. 635-50.
27. netters, *netters atlas of human anatomy*. 2011.
28. Rosenblum, J.D., C.M. Boyle, and L.B. Schwartz, *The mesenteric circulation. Anatomy and physiology*. Surg Clin North Am, 1997. **77**(2): p. 289-306.
29. k, v., *Vascular Interventional Radiology mesenteric arteries* 1999.
30. Ates, B., et al., *Protective role of melatonin given either before ischemia or prior to reperfusion on intestinal ischemia-reperfusion damage*. J Pineal Res, 2004. **37**(3): p. 149-52.
31. Huether SE, M.K., *Understanding Pathophysiology*. 2004.
32. Kumar V, C.R., Robbins SL, *Basic Pathology*. 5th edition ed. 1995.
33. Semenza, G.L., *Cellular and molecular dissection of reperfusion injury: ROS within and without*. Circ Res, 2000. **86**(2): p. 117-8.
34. Michalik, L. and W. Wahli, *Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair*. J Clin Invest, 2006. **116**(3): p. 598-606.
35. McCord, J.M., *Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury*. N Engl J Med, 1985. **312**(3): p. 159-63.
36. Carden, D.L. and D.N. Granger, *Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury*. J Pathol, 2000. **190**(3): p. 255-66.
37. Welbourn, C.R., et al., *Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil*. Br J Surg, 1991. **78**(6): p. 651-5.
38. Parks, D.A. and D.N. Granger, *Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation*. Am J Physiol, 1986. **250**(6 Pt 1): p. G749-53.
39. Tosa, Y., et al., *Monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects skin flaps against ischemia-reperfusion injury: an experimental study in rats*. Plast Reconstr Surg, 1998. **101**(6): p. 1586-94; discussion 1595-6.
40. Jaeschke, H., A. Farhood, and C.W. Smith, *Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo*. Faseb j, 1990. **4**(15): p. 3355-9.
41. Papezikova, I., et al., *Alterations in plasma antioxidants during reperfusion of the ischemic small intestine in rats*. Res Vet Sci, 2006. **81**(1): p. 140-7.
42. Yildiz, Y., et al., *Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on intestinal ischemia-reperfusion injury*. Dig Dis Sci, 2009. **54**(4): p. 738-44.
43. O, K., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 11 ed. 2005. 1331.
44. Schoenberg, M.H. and H.G. Beger, *Reperfusion injury after intestinal ischemia*. Crit Care Med, 1993. **21**(9): p. 1376-86.
45. Gourdin, M.J., B. Bree, and M. De Kock, *The impact of ischaemia-reperfusion on the blood vessel*. Eur J Anaesthesiol, 2009. **26**(7): p. 537-47.
46. Latanich, C.A. and L.H. Toledo-Pereyra, *Searching for NF-kappaB-based treatments of ischemia reperfusion injury*. J Invest Surg, 2009. **22**(4): p. 301-15.
47. Steffens, S., F. Montecucco, and F. Mach, *The inflammatory response as a target to reduce myocardial ischaemia and reperfusion injury*. Thromb Haemost, 2009. **102**(2): p. 240-7.

48. Massberg, S. and K. Messmer, *The nature of ischemia/reperfusion injury*. Transplant Proc, 1998. **30**(8): p. 4217-23.
49. Cuzzocrea, S., et al., *Role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after postischemic injury*. Shock, 2002. **18**(2): p. 169-76.
50. Chervu, A., et al., *Differential recovery of skeletal muscle and peripheral nerve function after ischemia and reperfusion*. J Surg Res, 1989. **47**(1): p. 12-9.
51. Rhodes, R.S. and R.G. DePalma, *Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock*. Surg Gynecol Obstet, 1980. **150**(3): p. 347-52.
52. Ogihara, S., et al., *Superior mesenteric arterial embolism: treatment by trans-catheter thrombo-aspiration*. J Gastroenterol, 2003. **38**(3): p. 272-7.
53. Fiore, E.V.D., *Histoloji Atlası-Fonksiyonel İlişkileriyle*. Palme Yayıncılık ed. 2001.
54. Islam, C.F., et al., *Ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney: the effect of preconditioning*. Br J Urol, 1997. **79**(6): p. 842-7.
55. Jefayri, M.K., P.A. Grace, and R.T. Mathie, *Attenuation of reperfusion injury by renal ischaemic preconditioning: the role of nitric oxide*. BJU Int, 2000. **85**(9): p. 1007-13.
56. Toosy, N., et al., *Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury*. BJU Int, 1999. **84**(4): p. 489-94.
57. Haglund, U., *Gut ischaemia*. Gut, 1994. **35**(1 Suppl): p. S73-6.
58. Mitsudo, S. and L.J. Brandt, *Pathology of intestinal ischemia*. Surg Clin North Am, 1992. **72**(1): p. 43-63.
59. Cuzzocrea, S., et al., *5-lipoxygenase knockout mice exhibit a resistance to splanchnic artery occlusion shock*. Shock, 2003. **20**(3): p. 230-6.
60. Hassoun, H.T., et al., *Inducible nitric oxide synthase mediates gut ischemia/reperfusion-induced ileus only after severe insults*. J Surg Res, 2001. **97**(2): p. 150-4.
61. Hierholzer, C., et al., *Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury*. Transplantation, 1999. **68**(9): p. 1244-54.
62. Okatani, Y., et al., *Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver*. Eur J Pharmacol, 2003. **469**(1-3): p. 145-52.
63. Takahashi, A., et al., *Intestinal motility in an in vivo rat model of intestinal ischemia-reperfusion with special reference to the effects of nitric oxide on the motility changes*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2001. **33**(3): p. 283-8.
64. Akgur, F.M., et al., *The effect of allopurinol pretreatment on intestinal hypoperfusion encountered after correction of intestinal volvulus*. J Pediatr Surg, 1996. **31**(9): p. 1205-7.
65. Granger, D.N., M.E. Hollwarth, and D.A. Parks, *Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals*. Acta Physiol Scand Suppl, 1986. **548**: p. 47-63.
66. Sizlan, A., et al., *Proanthocyanidin protects intestine and remote organs against mesenteric ischemia/reperfusion injury*. World J Surg, 2009. **33**(7): p. 1384-91.
67. Koksoy, C., et al., *Role of tumour necrosis factor in lung injury caused by intestinal ischaemia-reperfusion*. Br J Surg, 2001. **88**(3): p. 464-8.
68. Grace, P.A., *Ischaemia-reperfusion injury*. Br J Surg, 1994. **81**(5): p. 637-47.
69. Ozben, T., *Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy*. J Pharm Sci, 2007. **96**(9): p. 2181-96.
70. Liu, G., et al., *Bladder function in mice with inducible smooth muscle-specific deletion of the manganese superoxide dismutase gene*. Am J Physiol Cell Physiol, 2015. **309**(3): p. C169-78.
71. Fan, C., R.M. Zwacka, and J.F. Engelhardt, *Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver*. J Mol Med (Berl), 1999. **77**(8): p. 577-92.
72. Slavikova, H., et al., *Total antioxidant capacity of serum increased in early but not late period after intestinal ischemia in rats*. Free Radic Biol Med, 1998. **25**(1): p. 9-18.

73. Wennmalm, A., G. Benthin, and A.S. Petersson, *Dependence of the metabolism of nitric oxide (NO) in healthy human whole blood on the oxygenation of its red cell haemoglobin*. Br J Pharmacol, 1992. **106**(3): p. 507-8.
74. Kilic, E., et al., *The antioxidant effects of pomegranate extract on local and remote organs in a mesenteric ischemia and reperfusion model*. Redox Rep, 2015.
75. Murray R.K, G.D.K., Mayes P.A, Rodwell V.W. , *Harper"s Biochemistry*. Barış Kitabevi ed. 1993.
76. Shah, P.C., et al., *Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury*. Mech Ageing Dev, 1999. **107**(1): p. 37-50.
77. Hansen, R.E., D. Roth, and J.R. Winther, *Quantifying the global cellular thiol-disulfide status*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(2): p. 422-7.
78. Erel, O., *A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status*. Clin Biochem, 2005. **38**(12): p. 1103-11.
79. Wijnberger, L.D., et al., *Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function*. Early Hum Dev, 2003. **71**(2): p. 111-6.
80. Buchwalow, I., et al., *Oxidative stress and NO generation in the rat pancreatitis induced by pancreatic duct ligation*. Acta Histochem, 2017. **119**(3): p. 252-256.
81. Shimura, T., et al., *A comparison of radiation-induced mitochondrial damage between neural progenitor stem cells and differentiated cells*. Cell Cycle, 2017. **16**(6): p. 565-573.
82. Packer, M., *Beta-adrenergic blockade in chronic heart failure: principles, progress, and practice*. Prog Cardiovasc Dis, 1998. **41**(1 Suppl 1): p. 39-52.
83. Book, W.M., *Carvedilol: a nonselective beta blocking agent with antioxidant properties*. Congest Heart Fail, 2002. **8**(3): p. 173-7, 190.
84. Jacob, S., et al., *Differential effect of chronic treatment with two beta-blocking agents on insulin sensitivity: the carvedilol-metoprolol study*. J Hypertens, 1996. **14**(4): p. 489-94.
85. Feuerstein, R. and T.L. Yue, *A potent antioxidant, SB209995, inhibits oxygen-radical-mediated lipid peroxidation and cytotoxicity*. Pharmacology, 1994. **48**(6): p. 385-91.
86. Erel, O., *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*. Clin Biochem, 2004. **37**(4): p. 277-85.
87. Chiu, C.J., et al., *Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal*. Arch Surg, 1970. **101**(4): p. 478-83.
88. Guneli, E., et al., *Erythropoietin protects the intestine against ischemia/ reperfusion injury in rats*. Mol Med, 2007. **13**(9-10): p. 509-17.
89. Vinas, J.L., et al., *NO and NOS isoforms in the development of apoptosis in renal ischemia/reperfusion*. Free Radic Biol Med, 2006. **40**(6): p. 992-1003.
90. Zhou, H., et al., *Melatonin suppresses platelet activation and function against cardiac ischemia/reperfusion injury via PPARgamma/FUNDC1/mitophagy pathways*. J Pineal Res, 2017.
91. Kuzu, M.A., et al., *Reperfusion injury delays healing of intestinal anastomosis in a rat*. Am J Surg, 1998. **176**(4): p. 348-51.
92. Megison, S.M., et al., *A new model for intestinal ischemia in the rat*. J Surg Res, 1990. **49**(2): p. 168-73.
93. Schmeling, D.J., et al., *Cytoprotection by diclofenac sodium after intestinal ischemia/reperfusion injury*. J Pediatr Surg, 1994. **29**(8): p. 1044-8.
94. Kalimeris, K., et al., *N-acetylcysteine ameliorates liver injury in a rat model of intestinal ischemia reperfusion*. J Surg Res, 2016. **206**(2): p. 263-272.
95. Mallick, I.H., et al., *Pyrrolidine dithiocarbamate reduces ischemia-reperfusion injury of the small intestine*. World J Gastroenterol, 2005. **11**(46): p. 7308-13.

96. Koltuksuz, U., et al., *Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats*. J Pediatr Surg, 1999. **34**(10): p. 1458-62.
97. Ogura, W., et al., *Protective effect of lutein on ischemia-reperfusion injury in rat small intestine*. Biol Pharm Bull, 2006. **29**(8): p. 1764-6.
98. Hayashi, T., et al., *Efficacy of carvedilol for ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats*. Transplant Proc, 2008. **40**(7): p. 2139-41.
99. Topaloğlu Ü, G.M., Odabaşı M, Karadağ N ve ark. , *İnce barsaklarda mezenter arter iskemisine bağlı iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine PGE2' nin etkisi*. Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi, 1997(3): p. 258-64.
100. Stallion, A., et al., *Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation*. J Pediatr Surg, 2005. **40**(3): p. 470-7.
101. Hayashi, T., et al., *Carvedilol protects tubular epithelial cells from ischemia-reperfusion injury by inhibiting oxidative stress*. Int J Urol, 2010. **17**(12): p. 989-95.

