



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSEL İNTESTİNAL
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
DEKSPANTENOLÜN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HAKAN ÖZKAYRAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU

AYDIN-2009

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DENEYSSEL İNTESTİNAL
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
DEKSPANTENOLÜN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HAKAN ÖZKAYRAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU

AYDIN-2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, bilimsel gelişmelere açık, akademik bir ortamda çalışmamız için bilgi, tecrübe ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli sayın hocalarım; başta Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU olmak üzere, Yrd.Doç.Dr. Turhan DOST, Yrd.Doç.Dr. İbrahim TUĞRUL, Yrd.Doç.Dr. Buket DEMİRCİ'ye ve çok değerli emekli hocamız Sayın Doç.Dr. Leman AKBAŞ'a teşekkürü borç bilirim.

Bu tez çalışmasının tamamlanmasında büyük katkıları olan; tez danışmanı hocam, Sayın Prof.Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU'na, Sayın Yrd.Doç.Dr. Turhan DOST'a, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Çiğdem YENİSEY'e, Arş.Gör.Dr. Naciye KILIÇARSLAN'a ve Arş.Gör.Dr. Ece Mine DEMİR'e teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım ve bilgi paylaşımında bulunduğum Arş.Gör.Dr. Filiz GÖKALP'e, Arş.Gör.Dr. Serpil ÇEÇEN'e, Arş.Gör. Harun BAŞOĞLU'na, tüm asistan arkadaşlarıma ve deney hayvanları bakıcısı Sevinç TOMBUL'a teşekkür ederim.

Ayrıca tüm eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, değerli aileme, sevgili eşim Dr. Hatice ÖZKAYRAN'a ve biricik kızıma sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr.Hakan ÖZKAYRAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
RESİMLER DİZİNİ	VI
1- GİRİŞ	1
2- GENEL BİLGİLER	3
2.1. Anatomi	3
2.1.1. <i>Arteria Mesenterica Superior</i>	3
2.1.2. <i>İnce Barsaklar</i>	4
2.2. İskemi	5
2-3. Reperfüzyon	7
2.4. İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarı	9
2.5. Serbest Radikaller	11
2.5.1. <i>Süperoksit Radikali</i>	12
2.5.2. <i>Hidrojen Peroksit</i>	12
2.5.3. <i>Hidroksil Radikali</i>	13
2.5.4. <i>Singlet Oksijen</i>	13
2.5.5. <i>Nitrik Oksit</i>	13
2.6. Antioksidanlar	14
2.6.1. <i>Süperoksit Dismutaz</i>	15
2.6.2. <i>Glutasyon</i>	15
2.6.3. <i>Glutasyon Peroksidaz</i>	15
2.6.4. <i>Glutasyon Redüktaz</i>	16
2.6.5. <i>Katalaz</i>	16
2.7. Lipid Peroksidasyonu	16
2.8. Dekspantenol	17
3- GEREÇ VE YÖNTEMLER	20
3.1 Deney Hayvanları	20
3.2 Gruplar	20
3.3 Deneysel İntestinal İskemi-Reperfüzyon Modeli	21

3.4. Biyokimyasal İşlemler	24
3.4.1. <i>Doku Örneklerinin Hazırlanması</i>	24
3.4.2. <i>Katalaz Ölçüm Yöntemi</i>	24
3.4.3. <i>Malonildialdehit Ölçüm Yöntemi</i>	24
3.4.4. <i>Redükte Glutasyon Ölçüm Yöntemi</i>	24
3.4.5. <i>Glutasyon Peroksidaz Ölçüm Yöntemi</i>	25
3.4.6. <i>Glutasyon Redüktaz Ölçüm Yöntemi</i>	25
3.4.7. <i>Süperoksit Dismutaz Ölçüm Yöntemi</i>	25
3.4.8. <i>Nitrik Oksit Ölçüm Yöntemi</i>	26
3.4.9. <i>Myeloperoksidaz Ölçüm Yöntemi</i>	26
3.5. İstatistiksel Analiz	27
3.6. Kullanılan Malzemeler Ve Aletler	27
4- BULGULAR	28
4.1. Biyokimyasal Bulgular	28
4.1.1. <i>Katalaz</i>	29
4.1.2. <i>Glutasyon Redüktaz</i>	30
4.1.3. <i>Redükte Glutasyon</i>	31
4.1.4. <i>Glutasyon Peroksidaz</i>	32
4.1.5. <i>Malonil Dialdehit</i>	33
4.1.6. <i>Myeloperoksidaz</i>	34
4.1.7. <i>Nitrik Oksit</i>	35
4.1.8. <i>Süperoksit Dismutaz</i>	36
5- TARTIŞMA	37
6- SONUÇ	43
7- ÖZET	44
8- SUMMARY	46
9- KAYNAKLAR	48

TABLULAR

Tablo I: Tüm gruplara ait doku enzim düzeyleri	28
--	----

ŞEKİLLER

Şekil 1: Arteria mesenterica superior' un dalları ve kanlandığı alanlar	4
Şekil 2: Hücrede iskeminin indüklediği hipoksik hasarın mekanizması	6
Şekil 3: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları	7
Şekil 4: Dokularda serbest oksijen radikallerinin direkt ve indirekt etkileri	8
Şekil 5: Pantotenik asidin kimyasal yapısı	17
Şekil 6: Dekspantenolün kimyasal yapısı	18
Şekil 7: Doku katalaz (U/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	29
Şekil 8: Doku GR (U/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	30
Şekil 9: Doku GSH (mg/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	31
Şekil 10: Doku GSH-Px (U/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	32
Şekil 11: Doku MDA (nmol/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	33
Şekil 12: Doku MPO (U/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	34
Şekil 13: Doku NO (nM/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	35
Şekil 14: Doku SOD (ng/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP:	Adenozin Difosfat
AMP:	Adenozin Monofosfat
ATP:	Adenozin Trifosfat
CAT :	Katalaz
DNA :	Deoksiribo Nükleik Asit
GSSG :	Okside Glutasyon
GSH :	Redükte Glutasyon
GSH-Px :	Glutasyon Peroksidaz
GR :	Glutasyon Redüktaz
HPETE :	Hidroperoksi Eikoza Tetraenoik Asid
H₂O₂ :	Hidrojen Peroksit Radikali
İR :	İskemi/Reperfüzyon
LTB₄ :	Lökotrien B ₄
MDA :	Malonil Dialdehit
MPO :	Myeloperoksidaz
NADP :	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO :	Nitrik Oksit
O₂⁻ :	Süperoksit Radikali
OH⁻ :	Hidroksil Radikali
PAF :	Trombosit Aktive Edici Faktör
PGE₂ :	Prostaglandin E ₂
PGF₂ :	Prostaglandin F ₂
PMNL :	Polimorfonükleer Lökosit
SMA :	Superior Mezenterik Arter
SOD :	Süperoksit Dismutaz
TNFα :	Tümör Nekroz Faktör Alfa

RESİMLER

Resim 1: Batın orta hat insizyonu	22
Resim 2: Superior mezenterik arterin klempe edilmesi	23
Resim 3: Kuyruk veni yoluyla injeksiyon uygulaması	23

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). İskemik bir alanda kan akımının yeniden sağlanması ise, reperfüzyon hasarı adı verilen ve orjinal iskemi hasarından daha büyük şiddette doku zedelenmesine yol açabilen bir olaya neden olur (3).

İnce barsaklar, iskemi reperfüzyon (İR) nedenli zedelenmeye oldukça duyarlıdır (3,4). İntestinal iskemi ve takiben reperfüzyon hasarı, hipovolemik şok, strangülyasyon tipi obstrüksiyon, kardiyovasküler cerrahi, abdominal aortik cerrahi ve ince barsak transplantasyonu gibi çeşitli klinik durumlarda karşımıza çıkar. İntestinal İR hasarı, bakteriyel translokasyon, endotoksemi, akut respiratuar distress sendromu, akut hepatik hasar ve sonuçta multipl organ disfonksiyonuna kadar gidebilen sistemik bir fenomendir (5,6). Çeşitli vasküler bozukluklar da iskemik barsak hastalığının önemli bir nedenidir (7). Örneğin akut mezenter arter iskemisi, akut batına yol açan, prognozu oldukça kötü olan bir patolojik durumdur. Son yıllarda tanı ve tedavideki gelişmelere rağmen akut mezenter iskemide mortalite oranları hala % 70-90 civarındadır. Prognozun kötü olması sadece tanının geç dönemde konabilmesine bağlı olmayıp, barsak iskemisinin lokal ve sistemik etkilerinin yanı sıra eşlik eden hastalıklardan da kaynaklanabilmektedir. Akut mezenter iskemi tüm gastrointestinal hastalıkların % 1-2'sini oluşturmakla birlikte insidansı son yıllarda belirgin olarak artmaktadır (8,9).

İR hasarı düşük doku oksijenizasyonunu takiben mikrovasküler perfüzyonun bozulması ile ilişkilendirilmektedir (5). Hipoksinin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Mitokondriyumdaki oksidatif fosforilasyonu engeller. Adenozin trifosfat oluşumu yavaşlar ve durur. ATP kaybı hücre içinde çeşitli sistemleri yaygın olarak etkiler. Özellikle hücre zarının ouabain duyarlı adenozin trifosfat aktivitesinin azalması zarda aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak hücre içi sodyum birikimi ve hücreden potasyumun dışarı atılımına yol açar (7,10). Bu durumda sodyum ve su hücreye serbestçe girebilir, endoplazmik retikulumun genişlemesi ile birlikte hücre şişer. Bu genişleme ribozomlar ile kabalaşmış endoplazmik retikulumun ilişkisini keser ve protein sentezinin azalmasıyla sonuçlanır. Devam eden hipoksi ile birlikte henüz bütünlüğü bozulmamış

hücre, artmış sodyum ve su konsantrasyonu ile azalmış potasyum konsantrasyonu nedeniyle önemli ölçüde şişer. Eğer oksijenlenme tekrar sağlanırsa bu bozulmalar geri dönebilir (7,10).

İR hasarı dokuların reperfüzyonu esnasında açığa çıkan reaktif oksijen türlerinin üretimi vasıtasıyla oluşur. Serbest oksijen radikallerinin hasarlayıcı etkisi esasen proteinler, lipidler ve DNA gibi çeşitli hücre komponentlerinde elektron transport sistemine bağlı olarak oluşur. 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 (11,12,13).

Reperfüzyon hücrenin yaşayabilmesi için zaruri olmasına karşın kendisi de hücrel zedelenmeyi artırır. İR hasarı, yalnız iskemiden daha büyük zedelenmeye neden olur (4,14). İR esnasında dokular inflamatuvar hasara ve hücre apoptozisine yol açan, inflamatuvar hücrelerden salınan harap edici proinflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen türlerine maruz kalırlar (6). Postiskemik intestinal doku hasarı oksijen radikallerinin oluşumu ve fosfolipaz A₂'nin aktivasyonu ile meydana çıkar. Oksijen radikalleri poliansatüre yağ asitleri ile doğrudan reaksiyona girerek hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna yol açar. Dolaylı olarak radikaller etkilenmiş dokuda nötrofil birikimine neden olarak ciddi mukozal lezyona yol açan inflamatuvar süreci başlatır. Aynı şekilde fosfolipaz A₂ de postiskemik mukozal lezyonları başlatır (13,15,16). Nötrofil, platelet ve endotelial faktörlerin aktivasyonunun da bu sürece karıştığı bilinmektedir. Yine TNF-alfa, interlökin-1 ve interlökin-6 gibi sitokinler ve oksijen türevi serbest radikaller intestinal İR esnasında önemli rol oynadığına inanılan patojenik mediyatörlerdir (3,17).

Dekspantenol, dekstro-pantotenik asidin alkol şeklidir. Karaciğerde D-pantotenik aside dönüşür. Pantotenik asit, birtakım hücrel olaylarda çok önemli rol oynayan, tüm organizmalar için gerekli bir kofaktör olan koenzim A'nın bileşimine girer (18,19,20). Pantotenik asit hücrelerde redükte glutatyon (GSH) içeriğini, koenzim A ve adenozin trifosfat (ATP) sentezini artırır (21,22,23).

Bu çalışmadaki amacımız, deneysel intestinal İR oluşturulan sıçanlarda dekspantenolün intestinal İR hasarı üzerindeki etkilerini, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin mevcut olup olmadığını araştırmaktır. Literatürde dekspantenolün intestinal İR hasarı üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada, İR hasarı belirlemede, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malonildialdehit (MDA); antioksidan mekanizmanın belirleyicisi olarak süperoksit dismutaz (SOD), redükte

glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), nitrik oksit (NO) ve glutasyon reduktaz (GR) seviyeleri; polimorfonükleer lökosit birikiminin göstergesi olarak myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi tayini kullanılmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

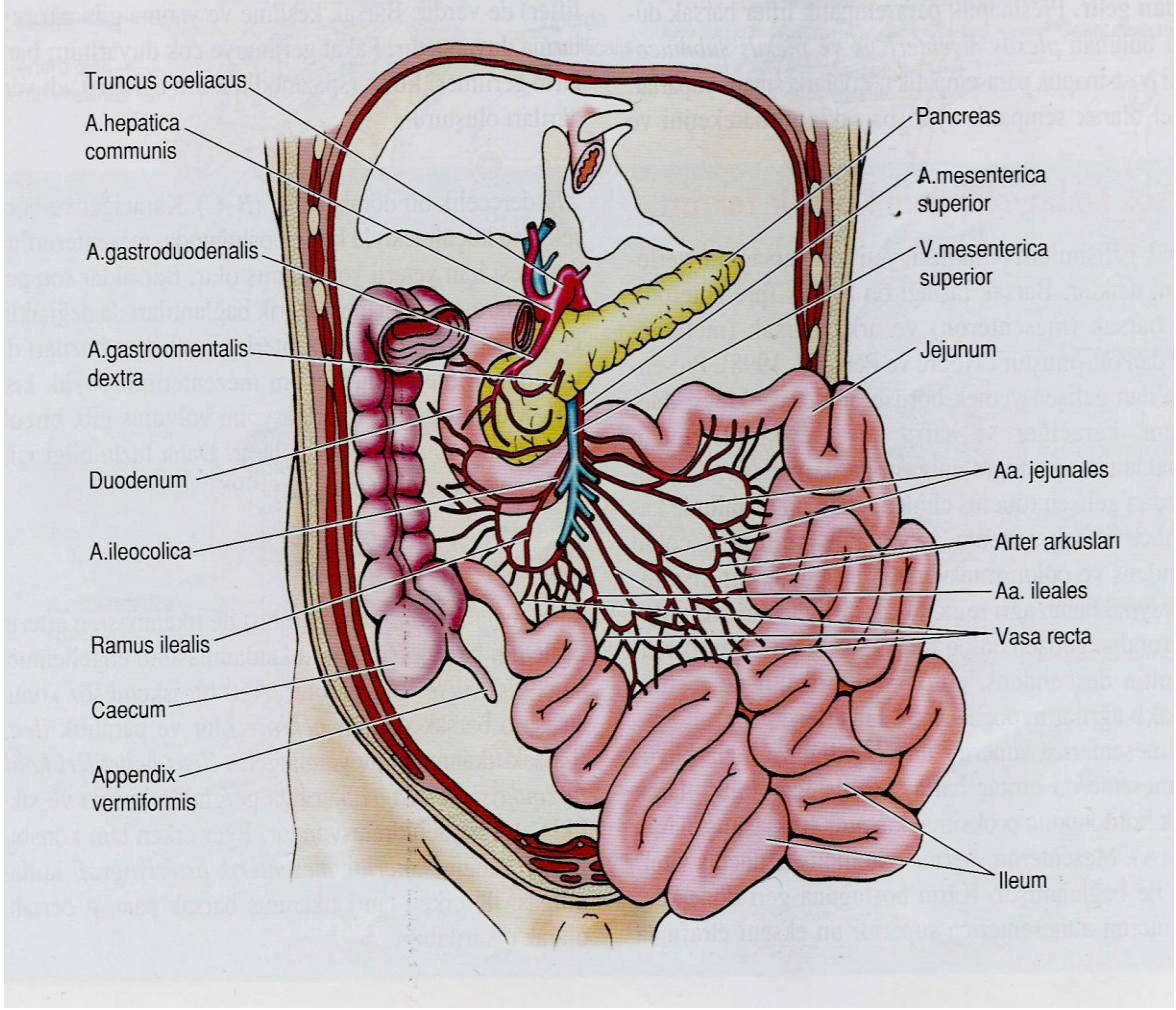
2.1. Anatomi

2.1.1. Arteria mesenterica superior

Superior mezenterik arter (SMA), duodenumun distal bölümü, jejunum, ileum, caecum, appendix vermiformis, colon ascendens ve colon transversumun büyük bölümünü kanlandırır. Truncus coeliacus'un hemen aşağısında aorta abdominalis'in ön yüzünden çıkar (24,25). Hemen başlangıcında ve ön tarafında vena splenica ile pankreas gövdesi bulunur. Arka tarafında vena renalis sinistra, daha arkasında da aorta bulunur. SMA aşağı ve ön tarafa doğru uzanırken pankreasın processus uncinatus'u ile duodenumun üçüncü bölümünün önünden geçer. Radix mesenterii'nin iki yaprağı arasına girer ve sağ fossa iliaca'ya doğru dallarını vererek uzanır (25,26).

Dalları

- 1- A. Pancreaticoduodenalis inferior
 - a) R. anterior
 - b) R. posterior
- 2- Aa. Jejunales ve aa. İleales
- 3- A. İleocolica
 - a) A. Caecalis anterior
 - b) A. Caecalis posterior
 - c) A. Appendicularis
 - d) R. ilealis
 - e) R. colicus
- 4- A. Colica dextra
- 5- A. Colica media (Şekil 1) (25)



Şekil 1: Arteria mesenterica superior'un dalları ve kanlandığı alanlar (27).

2.1.2. İnce Barsaklar

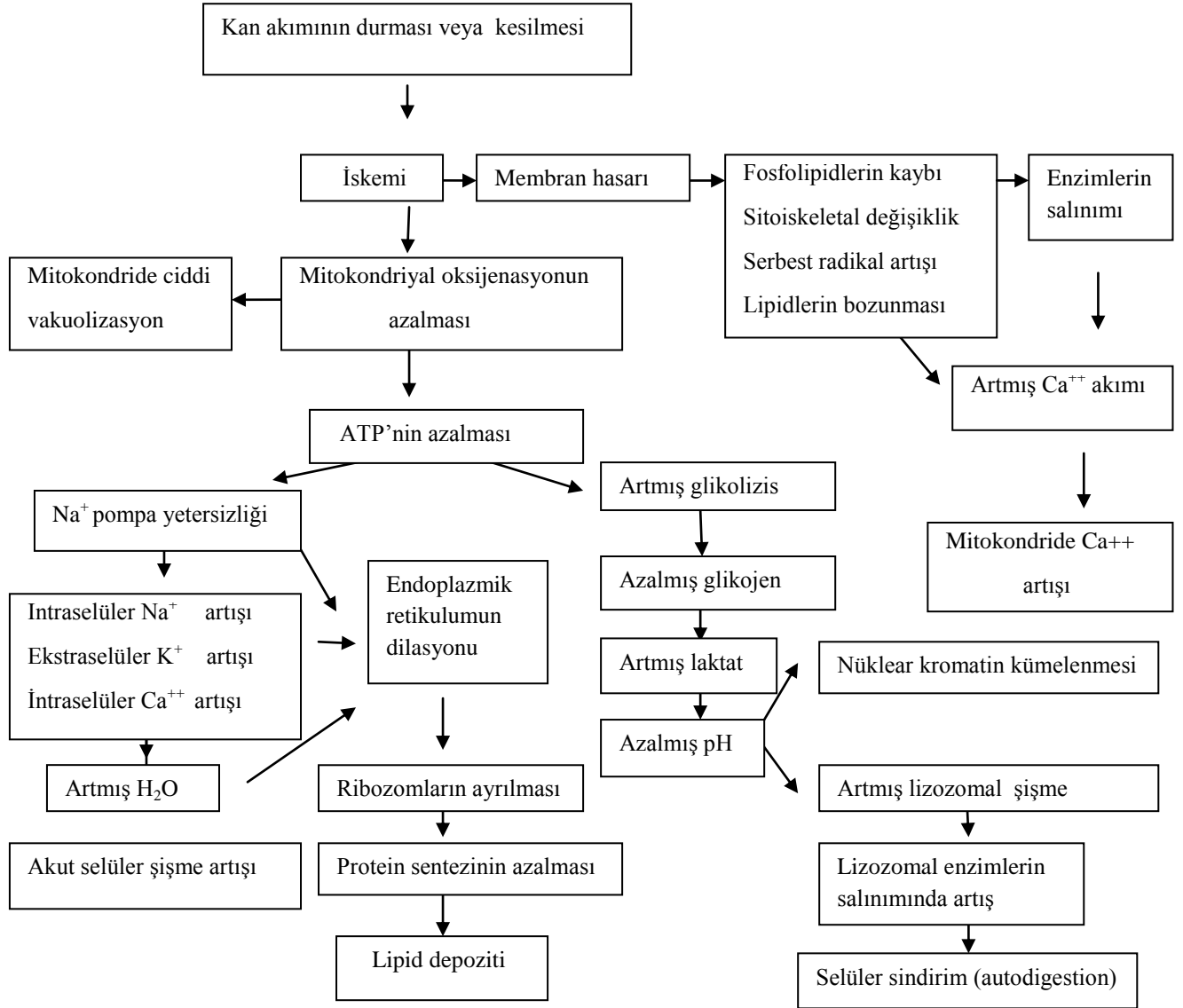
İnce barsaklar üç bölüme ayrılır: duodenum, jejunum ve ileum. Duodenum ince barsakların ilk kısmıdır ve büyük bölümü karın arka duvarında derin olarak yerleşir. Duodenum, "C harfi" şeklinde olup, pankreas başını dolanarak jejunum'a bağlanır. Bir boru şeklindedir (27). Pilor sfinkterinden duodenojejunal kıvrıma kadar uzanan 12 parmak genişliğinde veya 25 cm uzunluğunda, ince barsakların en kısa bölüdüdür. 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 (27,28).

Jejunum, flexura duodenojejunalis'ten başlar, ileum ise valva ileocaecalis'te sonlanır. Jejunum ve ileum' un toplam uzunluğu altı-yedi metredir. Bu uzunluğun beşte ikisi jejunum'a beşte üçü ileum'a aittir. SMA, jejunum ve ileum'u besler (27).

2.2. İskemi

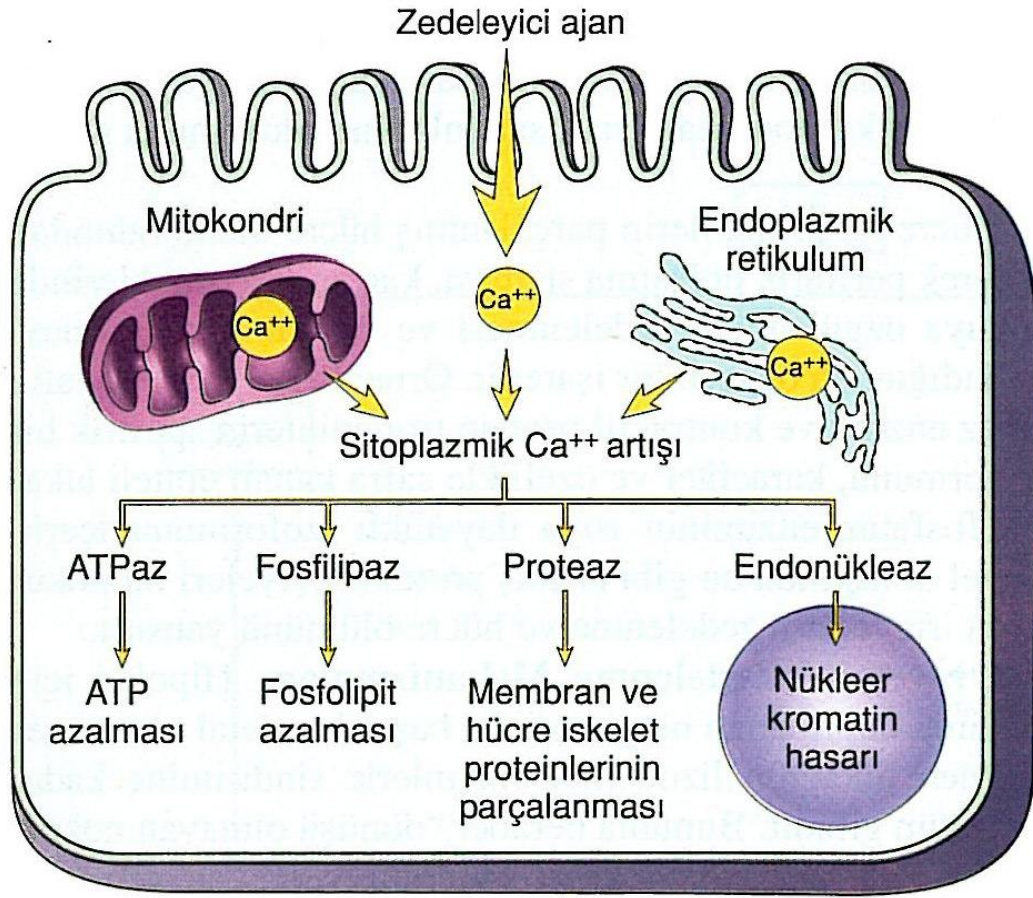
Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir. İskemi sonucunda doku hipoksida kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar (29). İskemik lezyonlar dokulara giden normal kan akımının azalmasının bir sonucudur (30). İskemi esnasında hücrel enerji depolarının tükenmesi, iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini tetikler. Oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalır. ATP sentezi durmasına karşın, ATP kullanımı ve ATP hidrolizi sonucu oluşan adenozin difosfat (ADP) düzeyi artmaktadır (31). İskemi nedeni hipoksik zedelenmeye hücrel 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 (10). Hücrel ATP azlığı adenozin monofosfat (AMP) artımı ile birliktedir. Fosfofruktokinaz enzimini uyarır, anaerobik glikoz hızı artarak yetersiz oksijen varlığında ATP oluşumu glikojenden sağlar ve böylece hücrenin enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimiyle sonuçlanır (7,10).

ATP seviyelerindeki azalma, plazma membranının sodyum-potasyum pompasını ve sodyum-kalsiyum değiş tokuşunu bozar ki bu da hücre içinde sodyum ve kalsiyum artışına, potasyumun hücre dışına difüzyonuna sebep olur (7,10). Sonraki fenomen, granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılması ve polizomların monozomlara parçalanmasıdır. Eğer hipoksi devam ederse diğer değişiklikler oluşur ve zar geçirgenliği artar, mitokondri fonksiyonları azalır. Hücre yüzeyinde tomurcuklar oluşur. Bu bozuklukların tümü oksijen verilince geri dönüşlüdür (7). Eğer oksijen sağlanamazsa sitoplazmada vakuol formasyonu oluşur, belirgin mitokondriyal şişme ile plazma membranı hasarlanır. Bu safha artık geri dönüşsüz hücre hasarıdır (Şekil 2) (10) .



Şekil 2: Hücrede iskeminin indüklediği hipoksik hasarın mekanizması (10).

Artan sitoplazmik kalsiyum birbiri ardına membran hasarını ilerleten fosfolipazları, yapısal ve membran proteinlerini katabolize eden proteazları, ATP kaybını hızlandıran ATPaz'ları ve genetik materyali parçalayan endonükleazları aktive eder (Şekil 3). Özetle, hipoksi, oksidatif fosforilasyonu etkiler ve hayati olan ATP yapımını engeller; kritik noktadan sonra öldürücü olan membran zedelenmesine neden olur. Kalsiyum hücre ölümünde yapısal değişikliklerin potansiyel mediyatörüdür (7).



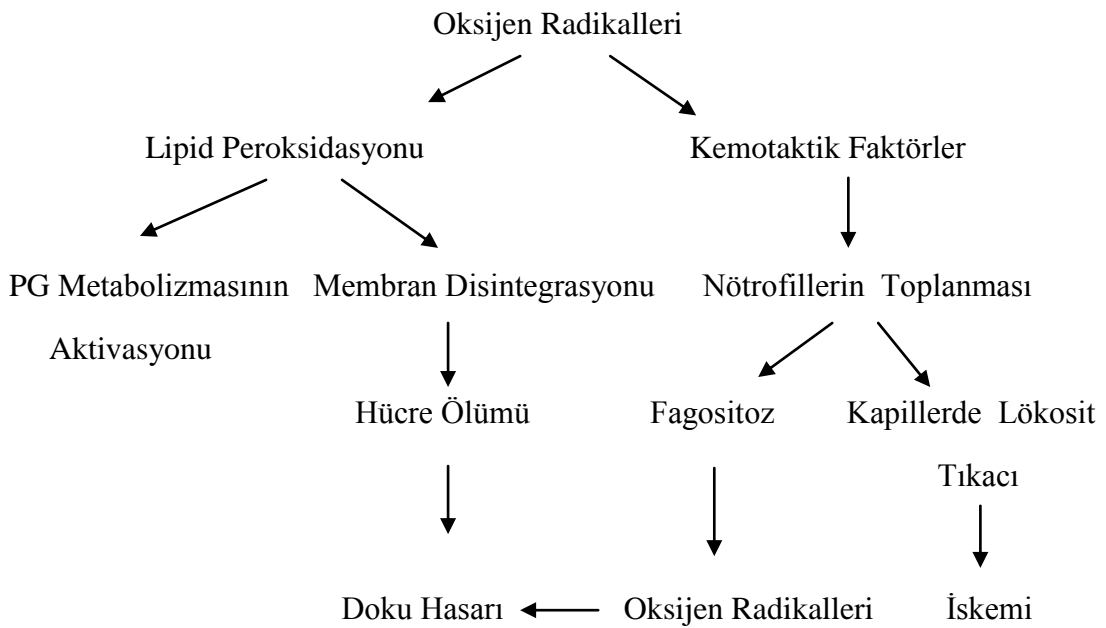
Şekil 3: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları (7)

2.3. Reperfüzyon

Reperfüzyon, dokunun kanlanması yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda, özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir (29). 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 (32). Birçok çalışma reperfüzyon hasarının başlamasından büyük ölçüde ksantin oksidaz bağımlı süperoksitin sorumlu olduğunu göstermiştir (13,17). İskemi sırasında ksantin oksidaz enziminin, sentezi, etkinliği ve substratları artar ve enzim reperfüzyon sırasında dokuda konsantrasyonu birden artan oksijeni aşırı miktarda süperoksit anyonuna dönüştürür (18). Deneysel olarak serbest

oksijen radikallerinin İR hasarındaki etkisini önlemede ksantin oksidaz inhibitörleri ve birçok serbest oksijen radikali temizleyicilerinin etkinliği gösterilmiştir (13,33).

Poliansatüre yağ asitleri hücre membranlarında yüksek konsantrasyonda bulunur ve radikallere çok duyarlıdır. Serbest oksijen radikalleri, özellikle de hidroksil radikali ile membran bileşenlerinin reaksiyonu, membran bütünlüğünün bozulmasını takiben hücre ölümüne neden olur. Oksijen radikalleri, poliansatüre yağ asitleri ile doğrudan reaksiyona girerek hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna yol açar. Dolaylı olarak radikaller etkilenmiş dokuda nötrofil birikimine neden olup ciddi mukozal lezyona yol açan inflamatuvar süreci başlatır (Şekil 4) (13).



Şekil 4: Dokularda serbest oksijen radikallerinin direkt ve indirekt etkileri (13).

Biriken nötrofiller, içerdikleri NADPH oksidaz ve miyeloperoksidaz (MPO) enzim sistemleri ile iskemik dokularda oksijen radikal artışına neden olur. NADPH oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP) enziminin katalizörlük yaptığı bir reaksiyonla moleküler oksijeni redükte edip süperoksit anyonunun oluşumuna neden olur. Oluşan süperoksit, süperoksit dismutaz ve MPO ile bir dizi reaksiyona girerek hidrojen peroksit, hidroksil radikali, hipoklorik asit ve N-kloramin gibi daha reaktif oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına ve böylece doku hasarının artmasına neden olur. MPO

enzimi dokuda polimorfonükleer lökositlere (PMNL) özgü bir enzim olup, nötrofil düzeyinin tayininde kullanılır (34).

Fosfolipaz A₂, hücre membranındaki yağ asitlerini fosfolipidlerden ayıran, dokuda sitotoksik lisofosfolipidlerin artışına yol açan, hidrolitik bir enzimdir (13). Poliansatüre bir yağ asidi olan araşidonik asid, 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 (7). 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 (32). Siklooksijenaz enzimi ile prostoglandinler ve tromboksan A₂ oluşturulur. 5-lipooksijenaz enzimi ile de dengeli olmayan 5- hidroperoksi eikoz 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 (7). Tromboksan A₂'ninde nötrofillerden hidrojen peroksid yapımını artırdığı bilinmektedir (35). 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 (7). Platelet aktive edici faktör (PAF) endotel hücreleri vasıtasıyla membran fosfolipidlerinin fosfolipaz A₂ tarafından yıkılması sonucu meydana gelir (36). 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 mediyatörlerden olan sitokinlerden TNF-alfa, nötrofil aktivasyon ve toplanmasına, mezenşimal hücrelerden proteolitik enzimlerin serbestleşmesine ve böylece doku hasarının oluşmasına neden olur (7). Fosfolipaz A₂'nin artmış aktivasyonu aynı zamanda prostoglandin ve lökotrienlerin üretimini de uyarır (13).

2.4. İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarı

Bir organ veya sistemin iskemisi tıkanan arterlerdeki kan akımının büyüklüğüne ve tıkanma süresine bağlı olarak değişik derecelerde doku yıkımı ile sonuçlanır. İskemiyle

oluşan hasar aynı zamanda doku özelliklerine de bağlıdır (37). İnce barsaklar, iskemi reperfüzyon nedenli zedelenmeye oldukça duyarlıdır (3,4).

İntestinal kan akımındaki azalma iskemik hasar ile sonuçlanır. Fakat kan akımı geri döndüğü zaman, reperfüzyon hasarı adı verilen ve iskemik hasardan daha şiddetli bir hasar meydana gelmektedir (3). Reperfüzyon hasarının oluşmasında iki mekanizma söz konusudur. Bunlardan ilki serbest oksijen radikallerinin açığa çıkması, diğeri ise hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A₂'nin iskemik dönemde kalsiyum etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalamasıdır (13,38). 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 (7).

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 (39). İnce barsağın hücresel bariyerini basit kolumnar epitelyal hücreler (enterositler), özelleşmiş goblet hücreleri, enteroendokrin hücreler, paneth hücreleri ve M hücreleri oluşturur (39,40). Paneth hücreleri, antibakteriyel bir enzim olan ve ince barsağın mikrobiyal florasını kontrol etmek amacı ile bazı bakterilerin hücre duvarını sindirme görevi olan lizozimi salgırlar (39).

İskemik intestinal mukozada nötrofil infiltrasyonun stimüle olduğu ve süperoksit radikali (O₂⁻), hidrojen peroksit radikali (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH⁻) gibi serbest oksijen türevlerinin açığa çıkarak doku hasarına sebep olduğu bilinmektedir. İntestinal mukoza hücre membranlarının lipid ve protein yapıları hasara uğramazsa hücrelerin normal fonksiyonları devam eder (41). İntestinal mukozada parsiyel oksijen basıncı azalması histolojik olarak mukozal iskemi ile sonuçlanır. İskemide oluşan histolojik değişiklikler ilk olarak villus yapılarında meydana gelir ve transmural nekroza kadar ilerleyebilir, iskeminin süresi ve hipotansif epizotun sıklığı transmural nekroz için belirleyicidir (13,42). Sepsis, septik şok, hemorajik şok veya mezenterik damarların

oklüzyonu gibi nedenlerle barsağa olan besleyici kan akımının azalması veya durması, eğer kollateral dolaşım tarafından kompanse edilemezse barsağın geri dönüşümsüz hasarına neden olur. İntestinal kan akımında kısa ve küçük azalmalar dahi iskemik doku lezyonlarını başlatabilir. Hatta intestinal sirkülasyon korunsa bile villusların ucu şiddetli hipoksiye maruz kalmış olabilir (13). Schoenberg ve arkadaşları iki saatlik intestinal iskemiye takiben, mukozal lezyonların esas olarak reperfüzyon sonrası geliştiğini gösterdiler (43). Bundan başka, üç saatlik intestinal iskemi esnasında net transmukozal sıvı akımı ölçülerek barsağın absorptif fonksiyonunun önemli derecede azaldığı tespit edildi. Reperfüzyon sonrası barsak sıvı absorpsiyon yeteneğini eskisi gibi sağlayamaz ve bu da barsak lümeninden net sıvı kaybına neden olur (44).

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 (45,46).

İntestinal iskemi ve reperfüzyon sonrası fosfolipaz A₂'nin aktivasyonu önemli ölçüde artar (15). Sonuçta reperfüzyon sürecinde oksijen radikalleri ve fosfolipaz A₂'nin aktivasyonunun intestinal iskemi sonrası hemorajik mukozal lezyonların gelişimi için aracı olabileceği görünmektedir (13).

2.5. Serbest Radikaller

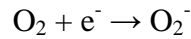
Serbest radikal, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik halde bulunabilirler. Dış orbitalde iki ile bölünmeyen elektron varlığı, atom veya molekülü reaktif kılar. Serbest radikaller kısa ömürlü, kararsız ve ileri derecede reaktifler. Aerobik canlılarda temel serbest radikal kaynağının oksijen türevi radikaller olduğu kabul edilmektedir (47,48). 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 (48). Serbest radikaller, normal metabolizma sırasında sürekli olarak üretilmekte olup, bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, membran proteinlerinde, karbonhidrat ve DNA moleküllerinde çeşitli hasarlar meydana gelmektedir.

Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, İR hasarı, dolaşımşal şok hasarında, romatoid artrit, karsinogenez, enfeksiyonlar, beyinde ve deride dejeneratif oluşumlarda ve yaşlanma ile ilgili bazı hastalıklarda oksidatif hasarla ilgili bulgular saptanmıştır (49).

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 (50). Bu reaktif oksijen türüleri hücre zedelenmesinde dört şekilde rol oynar: membran lipid peroksidasyonu, nonperoksidatif mitokondriyal hasar, deoksiribonükleik asid lezyonları ve proteinlerin çapraz bağları üzerine etki (7). 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 (11,12,13).

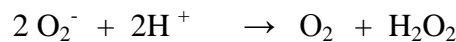
2.5.1. Süperoksit Radikali

Doğal oksijen molekülünün bir elektron alması ile oluşur. En büyük kaynağı elektron transport zinciridir (48). Süperoksit radikali direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi H₂O₂ kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu, reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece NO'nin normal etkisi inhibe edilir (51).



2.5.2. Hidrojen Peroksit

H₂O₂ membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki O₂⁻ molekülü iki proton alarak H₂O₂ ve moleküler oksijeni oluştururlar.

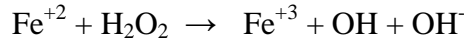


H₂O₂, bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü O₂⁻ ile reaksiyona girerek, en

reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (48,52).

2.5.3. Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksit, demirin ferro iyonu (Fe^{+2}) varlığında “fenton reaksiyonu” na girerek bir hidroksil iyonu (OH) ve stabil organik yapıların çoğuna hücum edebilecek, en güçlü oksitleyici madde olan hidroksil radikaline (OH^{\cdot}) dönüşür. Bu hidroksil radikalleri, çok hızlı olarak komşu moleküllerle reaksiyona girerler, yarı ömürleri çok kısadır. Bunun sonucunda stabil, yarı ömürleri daha uzun ve daha az reaktif radikaller oluşmaktadır (52,53).



2.5.4. Singlet Oksijen

Enerji verilmek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şeklidir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir (53).

2.5.5. Nitrik Oksit

Damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini indükler ve damar gevşemesini uyarır. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO oluşmuş olan reaktif oksijen türleri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOOH) oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonla HO^{\cdot} radikali oluşumuna yol açmaktadır (54,55). 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. Diğer yandan, NO' in metaboliti olan nitratın plazma konsantrasyonu çeşitli yayınlarda farklılık göstermesine rağmen, ölçülebilecek düzeylerde olup, örneğin septik şokta 100 $\mu M/L$ 'ye kadar yükselebilmektedir. Nitrat böbrekler yolu ile atılmakta olup,

kandaki yarı ömrü 5-8 saat arasındadır ve sağlıklı kişilerde plazma klerensi 20 ml/dak olarak bildirilmiştir (56).

2.6. Antioksidanlar

Hücrelerde ve ekstraselüler sıvıda toksik oksijen radikallerini zararsız duruma getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler. Ancak hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşturan ksenobiyotiklere (tütün dumanı, ozon, asbest vb. gibi) maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofiller ile diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlarda oksidan/antioksidan dengesi bozulursa antioksidan mekanizmalar tükenir (deplezyon); sonuçta sitotoksik radikal etkinliği artar ve hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar (18).

Etkilerini lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak, hidroksil radikallerini temizleyip lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyerek, geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek, peroksitlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak ve zincir reaksiyonlarına neden olan tüm radikallerle reaksiyona girip zinciri kırarak gösteren antioksidanlar intraselüler ve ekstraselüler olmak üzere iki grupta incelenir (57).

Antioksidan savunma mekanizmalarının başlıcaları şunlardır:

1) Reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri: katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon redoks siklusu enzimleri (glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz vb.).

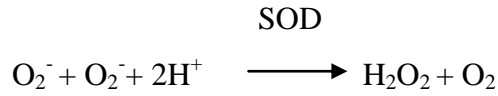
2) Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler (scavengers): İnsanda hücre membranında oksidanın yapacağı zedelenmeyi önleyen E vitamini (alfa-tokoferol), hem ekstraselüler sıvıda hem de hücrede antioksidan etkinlik gösteren ve antiproteazların oksidanlarla inaktivasyonunu önleyen, askorbik asid (C vitamini), indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asid, beta-karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümin.

3) Reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını önleyen ve oluşanın yayılmasını engelleyen sistemler: Bunlar hidrojen peroksid ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan Haber-Weiss reaksiyonunu katalize eden demir ve bakır iyonunu hücrede ve plazmada bağlayan ferritin, transferin, laktoferin ve seruloplazmin ile

mitokondrilerde doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidazdır (18).

2.6.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutazın görevinin, aerobik organizmaları, süperoksitin zararlı etkisine karşı korumak olduğu sanılmaktadır. Enzim hücrede birkaç değişik kompartımanda bulunur. Sitolitik 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 (58).



SOD, anti-oksidatif sistemde ilk harekete geçen enzim olup, çok toksik olan süperoksit anyonunun dismutasyonunu katalizlemektedir. Süperoksit anyonunun dismutasyonu yoluyla oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) ise, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) veya katalaz yoluyla inaktive olmaktadır (59).

2.6.2 Glutatyon

Glutatyon, N-terminal glutamatın α - peptidil olmayan bir bağ aracılığı ile sisteine bağlandığı bir atipik tripeptiddir. Glutatyon birçok enzim için gereklidir. Glutatyon ve glutatyon redüktaz enzimi, birçok proteinlerin ve polipeptid hormonların, doğru disülfid bağlarının oluşumuna iştirak ederler (58).

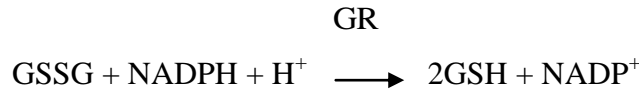
2.6.3. Glutatyon Peroksidaz

GSH-Px enzimi, dokuları H_2O_2 ve lipoperoksitlerin oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyan başlıca enzimdir. GSH-Px enzimi, aktivitesi için koenzim olarak selenyum (Se)'a ihtiyaç duymaktadır (49). Eritrositlerde ve diğer dokularda, prostetik grup olarak Se içeren glutatyon peroksidaz enzimi, indirgenmiş glutatyon tarafından H_2O_2 ve lipid peroksitlerinin parçalanmasını katalize eder; böylelikle membran lipidlerini ve hemoglobini, peroksitlerin oksidasyonuna karşı korur (58).



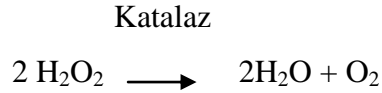
2.6.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Eritrositler içindeki pentoz fosfat yolu, okside olmuş glutasyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyon (2 GSH) indirgenmesi için gerekli olan NADPH'ı sağlar. Bu indirgenme olayı FAD içeren bir flavoprotein olan glutasyon redüktaz tarafından kataliz olunur (58).



2.6.5. Katalaz (CAT)

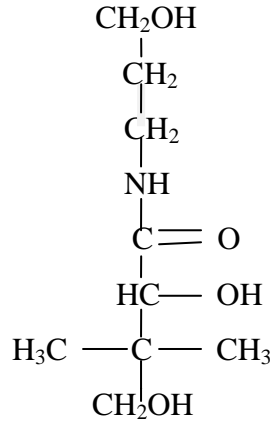
Katalaz, dört hem proteini içeren bir hemoproteindir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranlarda bol miktarda bulunmaktadır. CAT, iki hidrojen peroksit molekülünden birini elektron vericisi, diğerini de elektron alıcısı olarak kullanarak su ve oksijen meydana getirir (58,60).



2.7. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır. Hidroksil radikali DNA, protein ve karbonhidratlar dahil olmak üzere her canlı molekülü ile reaksiyona girerek hasar yapar, membran lipidlerinden H^+ çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatır. Hidroksil radikalının başlattığı peroksidasyon, zincirleme bir reaksiyondur ve lipid zinciri bitene ya da reaksiyon bir antioksidan tarafından durdurulana kadar devam eder (61,62). Lipid peroksidasyonu membran yapısını bozmaktan başka, oluşan lipid peroksidler, iltihap hücrelerine karşı kemotaktik oldukları için bu hücreleri dokuya çekerek inflamatuvar reaksiyon oluştururlar (18). Lipid peroksidasyonu, lipid hiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden

sentezinde rol oynar. Ayrıca Koenzim A'nın lipidlerin oksidasyonla yıkılmasında da önemli görevi vardır. Pantotenik asid içeren asil-taşıyıcı protein adlı bir koenzimin de yağ asidleri sentezine katkısı vardır (18).



Şekil 6: Dekspantenolün kimyasal yapısı (67).

Pantotenik asid, gastrointestinal traktustan kolayca emilir. Absorbe edilen miktarın % 70 kadar bir kısmı idrarla atılır (65).

Pantotenik asit gerekli bir madde olmasına rağmen, günlük gereksinimi tam olarak bilinmemektedir. Yetişkinler için günlük gereksinim miktarı 4 ile 7 mg arasındadır. Pantotenik asidin geniş dağılımı düşünüldüğünde, yetersizlik görülmesi olası görülmemektedir (64). Eksiklik belirtilerinin diğer B vitaminlerinin (tiamin ve niasin) eksikliği ile birlikte ve onların belirtileri tarafından maskelenmiş şekilde ortaya çıkabileceği bir varsayım olarak ileri sürülmüştür. Pantotenik asid antagonisti olan omega-metilpantotenik asidi insana vermek suretiyle halsizlik, yorgunluk, kasların koordinasyonunda yetersizlik, flatulans, karın ağrısı, bulantı, ruhsal durumda psikoza kadar giden bozukluklar ve uykusuzluk olduğu saptanmıştır. Gerekliliği kanıtlanmadığı halde, multivitamin preparatlarına gerek D-pantotenik asid rasemik şekli halinde, gerekse kalsiyum veya sodyum tuzu ya da dekstro-pantotenik asidin alkol şekli olan dekspantenol halinde 5-10 mg dozunda katılır (18).

Dekspantenol (butanamide, provitamin B5), $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}_4$ kimyasal formülasyonuna sahip olup (Şekil 6), IUPAC (international union of pure and applied chemistry) adı (2R)-2,4-dihydroxy-N-(3-hydroxypropyl)-3,3-dimethylbutanamide'dir.

Aynı zamanda pantotenil alkol olarak da adlandırılır (68). Dekspantenol, karaciğerde D-pantotenik aside dönüşür (18). Dekspantenol enzimatik olarak pantotenik aside oksitlenir ve koenzim A'nın yapısına girerek dokulara dağılır (69,70). Pantotenik asit optik olarak aktif olup sadece dekstrorotator izomeri biyolojik aktiviteye sahiptir. Dekspantenol suda ve alkolde çözünür, pratik olarak yağda çözünmez ve sıvılarda pantotenik asitin en stabil formudur. Natural pH'ı 9,5 civarındadır (64, 67).

Pantotenik asidin tersine dekspantenol, deriden iyi emilir ve hızlıca pantotenik aside dönüştürülür. Dekspantenolün deri yolu ile emilimi kesilmiş insan derisi ile in vivo olarak çalışılmıştır. Buna göre dekspantenol canlı epidermise penetre olur. İnsanlarda yapılan topikal uygulama çalışmalarında, saç, saç kökleri, tırnaklar, derinin dermis ve epidermis tabakasında pantotenik asidin artmış konsantrasyonları gösterilmiştir (64,69).

D'-pantenol, pantotenol ve pantotenil alkol, dekspantenolün sinonimleridir. Dekspantenolün kontrendike olduğu durumlar, hemofili, mekanik obstrüksiyon kaynaklı ileus ve paraben sensitivitesi (enjeksiyonluk formu paraben içerebilir)'dir (71).

Dekspantenol % 2-5'lik konsantrasyonlarda merhem, emülsiyon veya solüsyon şeklinde deride ve mukozal lezyonlarda tedavi amaçlı kullanılır. Avrupada satışa çıkarılan topikal formülasyonlar % 5 konsantrasyondadır. US Gıda ve İlaç Yönetimi % 2'lik dekspantenol preparatlarını, çeşitli dermatozlarda veya şiddetli kaşıntıyı gidermede kullanımını onaylamaktadır. Dekspantenol topikal formda kullanılmasına ilaveten sistemik olarak ta erişkinlerde 250-500 mg dozlarda uygulanabilir (64). Cilde uygulanan müstahzarlar seyrek de olsa temas dermatiti ve diğer lokal alerjik reaksiyonlara neden olabilir (18).

Epitelizan ve skatrizan bir ajan olan dekspantenolün, son yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar özelliği ve lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi olduğu da ortaya konmuştur (64,69,72,73).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamız, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen 56 genç sağlıklı dişi Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılarak, ADÜ Farmakoloji AD Laboratuvarı'nda, Ağustos 2008 tarihinde gerçekleştirildi. Sıçanlar, deney öncesi tel kafeslerde, 12 saat aydınlık 12

saat karanlık sirkadiyen ritimde ve sıcaklığı 20-25°C olacak şekilde kontrollü odada tutuldular. 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 Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak etik kurul onayı alındı. Çalışmada kullanılan 56 sıçan randomize olarak her grupta ve kafeste sekiz adet olacak şekilde yedi gruba ayrıldı.

3.2. Gruplar

Deney hayvanları randomize olarak şu şekilde gruplara bölündü;

Grup I (kontrol grubu): Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir cerrahi girişim uygulanmadı. Sıçanlar ürethan anestezi altında sakrifiye edildiler ve barsak doku örnekleri alındı.

Grup II (sham grubu): Bu grupta yer alan sıçanlara anestezi altında batın orta hat laparotomisi uygulandı. SMA'ye ulaşıldı ama İR yapılmadan batın derisi geri dikildi. 120 dakika beklendikten sonra sıçanlar sakrifiye edildiler ve barsak dokuları alındı.

Grup III (iskemi + reperfüzyon grubu, İ/R): Bu grupta yer alan sıçanların SMA'leri dikkatlice disseke edilip etraf dokudan izole edildikten sonra atravmatik mikrovasküler klips ile klempe edildi. 45 dakika intestinal iskemi uygulandıktan sonra klips çıkarılarak 120 dakika reperfüzyona maruz bırakılan sıçanlar daha sonra sakrifiye edilerek barsak dokuları alındı.

Grup IV (Pre 250): Bu gruptaki sıçanlara grup III' teki deney protokolü uygulandı. Farklı olarak iskeminin 30' uncu dakikasında düşük doz (250 mg/kg) dekspantenol kuyruk veni yoluyla verildi.

Grup V (Pre 500): Bu gruptaki sıçanlara yine iskeminin 30 uncu dakikasında bu kez yüksek doz (500 mg/kg) dekspantenol kuyruk veni yoluyla uygulandı. 120 dakika reperfüzyon uygulandıktan sonra barsak dokuları alındı.

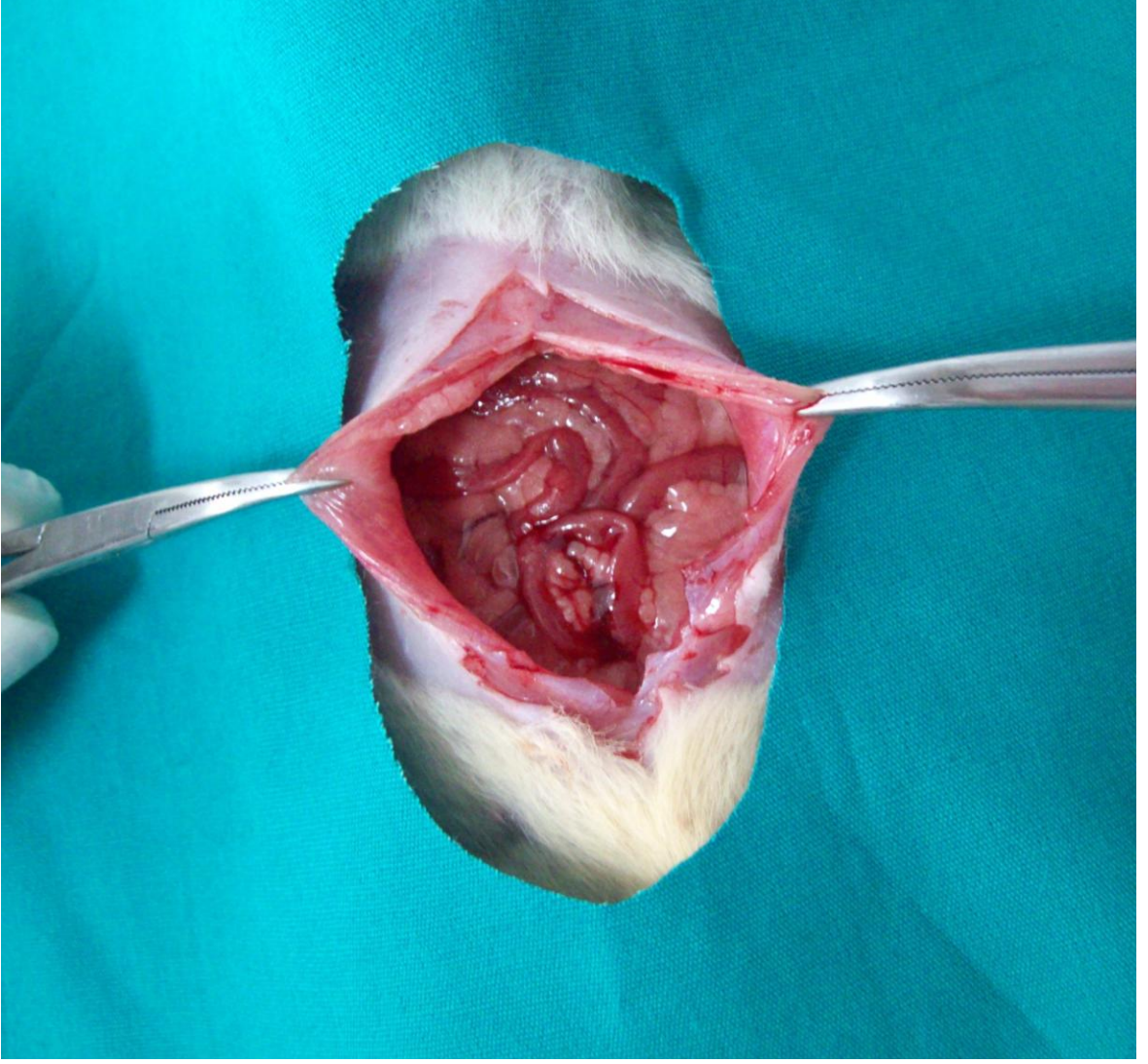
Grup VI (Post 250): Bu gruptaki sıçanlara klempin kaldırılmasının ardından, reperfüzyonun başlatılmasından hemen sonra düşük doz (250 mg/kg) dekspantenol uygulandı. 120 dakika reperfüzyon uygulanan sıçanların daha sonra barsak dokuları alındı.

Grup VII (Post 500): Bu gruptaki sıçanlara klempin kaldırılmasının ardından, reperfüzyonun başlatılmasından hemen sonra bu kez yüksek doz (500 mg/kg) dekspantenol uygulandı. 120 dakika reperfüzyon uygulanan sıçanların daha sonra barsak dokuları alındı.

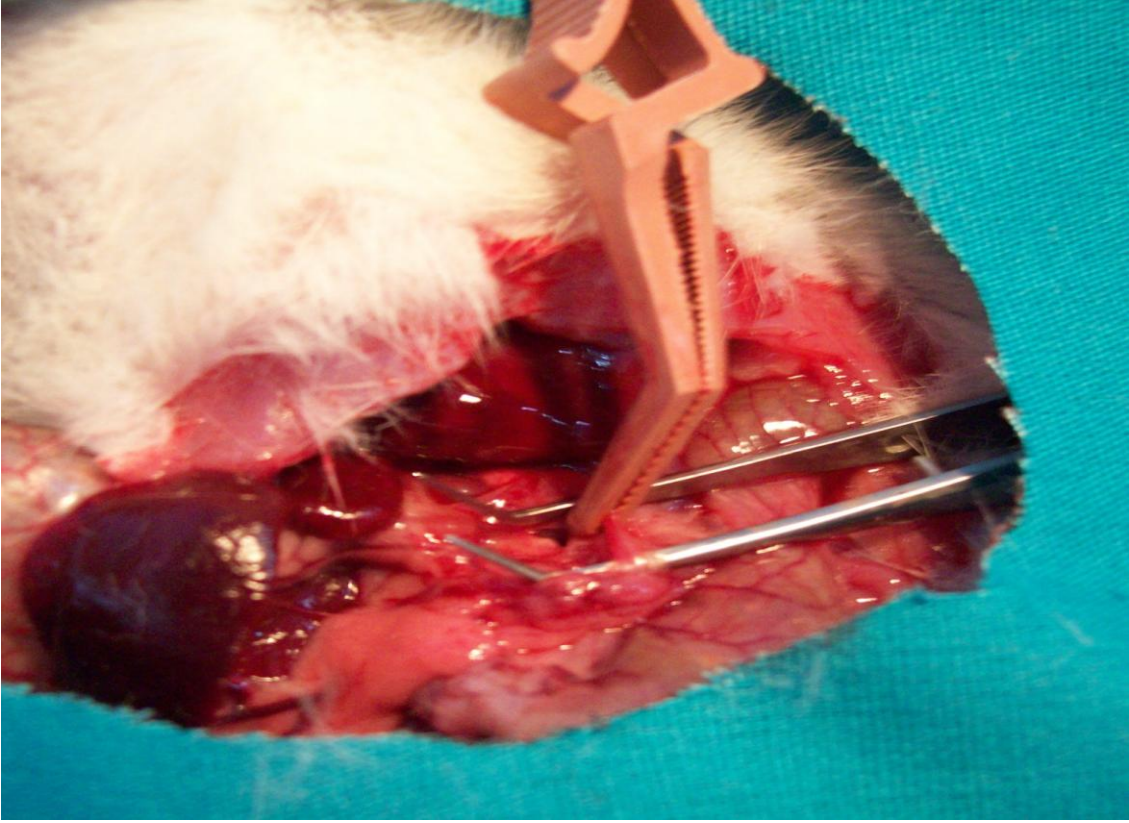
3.3. Deneysel İntestinal İskemi-Reperfüzyon Modeli

Sıçanlar üzerindeki cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. Sıçanların anestezisi, intraperitoneal yolla üretan (1,2 g/kg) uygulanarak yapıldı. 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'ye ulaşıldı ve arter dikkatlice disseke edilip etraf dokulardan soyutlandı. Daha sonra SMA'ye atravmatik mikrovasküler bir klemp konularak kan akımı durduruldu (Resim 2). İnce barsak arter pulsasyonlarının kaybolması ve ince barsak renginin giderek soluklaşması kontrol edilerek yapılan işlemin etkinliği teyit edildi. İskemi oluşturulmasını takiben barsaklar normal anatomik pozisyonlarına geri yerleştirildiler ve karın duvarı atravmatik 3/0 ipek ile dikilerek kapatıldı. Arter iskemisi 45 dakika boyunca sürdürüldü. Bu sürenin bitiminde tekrar laparotomi ile karın boşluğuna ulaşıldı ve atravmatik mikrovasküler klemp çıkarılarak reperfüzyon sağlandı. 120 dakikalık reperfüzyon sonrasında sıçanlara median sternotomi uygulandı. Sıçanlar göğüs boşluğuna ulaşıp aort kesisi uygulanarak sakrifiye edildiler.

Kontrol grubundaki sıçanlara yukarıda belirtilen cerrahi işlemler uygulanmadı. Sham grubundaki sıçanlara ise laparotomi uygulanarak SMA'ye ulaşıldı ancak arter iskemisi uygulanmadan karın duvarı geri dikildi. İskemi reperfüzyon grubundaki sıçanlara ise iskemi ve reperfüzyon uygulandı ancak ilaç verilmedi. Grup IV'teki sıçanlara iskeminin 30'uncu dakikasında düşük doz (250 mg/kg), grup V'teki sıçanlara ise yine iskeminin 30'uncu dakikasında yüksek doz (500 mg/kg) dekspantenol kuyruk veni enjeksiyonu yolu ile uygulandı. Grup VI'daki sıçanlara ise klempin kaldırılmasından hemen sonra düşük doz dekspantenol (250 mg/kg), grup VII'dekilere ise yine reperfüzyonun başlamasından hemen sonra yüksek doz (500 mg/kg) dekspantenol, kuyruk veni enjeksiyonu yoluyla ile uygulandı (Resim 3). 120 dakikalık reperfüzyon sonrası sakrifiye edilen sıçanların barsakları duodenum başlangıcından ileum bitimine kadar çıkarıldı. Barsaklar, % 0,9'luk NaCl solüsyonu ile yıkandıktan sonra iki parçaya bölündüler. İlk parça enzim aktivite ölçümleri için kullanılırken ikinci parça lipid peroksidasyon analizi için kullanıldı.



Resim 1: Batın orta hat insizyonu.



Resim 2: Superior mezenterik arterin klempe edilmesi.



Resim 3: Kuyruk veni yoluyla injeksiyon uygulaması.

3.4. Biyokimyasal İşlemler

3.4.1. Doku örneklerinin Hazırlanması

Doku örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0,2 µM phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve 1 mM Ethylenediamin tetra acetic acid (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7,4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4°C'de homojenize edildi. Homojenatlar, MPO için örnek ayrıldıktan sonra, 10.000 rpm 5 dakika santrifüje edildi ve üstteki supernatant eşit olarak ependorflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için -80° C'de donduruldu.

3.4.2. Katalaz Ölçüm Yöntemi

Doku örneklerinde CAT aktivitesi Aebi'nin (60) yöntemine göre saptandı. Fosfat tamponu (50 mM pH:7,4) olacak şekilde, potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄.2H₂O) ile hazırlandı. H₂O₂ (30 mM) olarak hazırlandı.

Tampon ile dilüe edilmiş örneğe, H₂O₂'li tamponun eklenmesi ile başlayan absorbands değişimi, spektrofotometrede 240 nm'de izlenerek, 15 saniyedeki absorbands değişimi ölçüldü ve aşağıdaki formüle göre hesaplama yapıldı. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi.

$$k = (2.3/\Delta t) \log (Abs_1/Abs_2) = 0.1175/\Delta t \text{ (sn}^{-1}\text{)}$$

3.4.3. MDA Ölçüm Yöntemi

Dokuda MDA saptanması Ohkawa'nın (74) yöntemine göre yapıldı. % 0,67'lik TBA (2-Thiobarbutiric acid) çözeltisi Tiyobarbitürik asid ile MDA'nın reaksiyona girmesinden sonra reaksiyon ürünü n-butanol ile ekstrakte edildi. MDA standardı olarak, malonaldehit bis-(dimetil asetal) kullanılarak, 1-40 nmol'lük standartlar hazırlandı.

Örneklerdeki absorbandslar spektrofotometrede, 540 nm'de mikroplate okuyucusunda okundu ve hesaplar otomatik olarak çizilen standart eğriden hesaplandı. Sonuçlar µmol/g yaş doku olarak verildi.

3.4.4. GSH Ölçüm Yöntemi

Dokuda GSH Beutler ve ark.'nın (75) yöntemine ölçüldü. Presipite edici solüsyon; metafosforik asit, disodyum EDTA ve sodyum klorür (NaCl) kullanılarak hazırlandı. Disodyum fosfat solüsyonu; di sodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) ile

hazırlandı. DTNB solüsyonu; [5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)] ve sodyum sitrat ile hazırlandı. GSH standardı; (reduced glutathione) kullanılarak 1-60 mg/dl'lik standartlar olarak hazırlandı. Standartlar ve örnekler spektrofotometrede 412 nm' de köre karşı okutuldu. Sonuçlar mg/g yaş doku olarak verildi.

3.4.5. GSH-Px Ölçüm Yöntemi

Dokuda GSH-Px aktivitesi, Kakkar ve ark.'nın (76) yöntemine göre minör modifikasyonla saptandı. GSH-Px reaksiyon karışımı; 75 mmol fosfat tamponu (pH 7,0), 60 mmol GSH, 30U/ml GR, 15 mmol Na₂EDTA içermektedir. Küvet 37 °C'ye ayarlanan spektrofotometreye kondu. Küvetin içine reaksiyon karışımı konarak gerektiği kadar, dilüe edilmiş hemolizat eklendi. Reaksiyon H₂O₂ (%30) ile başlatıldı ve NADPH' daki absorbanın azalması 340 nm'de 3 dakika izlendi. Non enzimatik reaksiyon hızı kör çalışılarak hesaplandı ve elde edilen sonuçlardan çıkartıldı. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi.

3.4.6. GR Ölçüm Yöntemi

Dokuda GR aktivitesi, Racker ve ark.'nın (77) yöntemine göre saptanmıştır. Reaksiyon karışımı; 50 mmol/L Tris tamponu, Ph 7,6, 100 µmol/L EDTA, 4 mmol/L GSSG (oksitlenmiş glutatyon), 120 µmol/L NADPH ile hazırlandı. Reaksiyon karışımı küvetlere kondu ve uygun oarnda eritrositlerden hazırlanmış hemolizat konarak reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 37°C'de NADPH'ın oksidasyonunun izlenmesi yoluyla GR düzeyleri saptandı. Örnek yerine su kullanılarak, aynı şekilde kör çalışılarak elde edilen sonuç, örneklerden elde edilen sonuçtan çıkartıldı. Reaksiyon üç dakika izlendi. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi.

3.4.7. Cu,Zn SOD Ölçüm Yöntemi

Dokuda SOD ölçümü, Sun ve ark.'nın (78) yöntemine göre saptandı. Doku süpernatantı kloroform, etanol ile iyice çalkalandı ve örnekler içindeki SOD 12.000 g'de 1 saat santrifüje edildikten sonra ekstrakte edildi. SOD deney çözeltisi; 0,3 mmol/L xantine, 0,6 mmol/L EDTA, 150 µmol//L nitroblue tetrazolium (NBT), amonyum sülfat (NH₄SO₄), 20167 U/L xantine oxidase (XOD) içermekteydi. Bu çalışma çözeltisine örnekler eklendikten sonra 25° C'de su banyosunda, XOD çözeltisi eklendi. Reaksiyon bakır klorür

(Cu₂Cl) eklenerek durduruldu. Ayrıca kör çözültisi hazırlandı. Deney sonunda oluşan renk 560 nm’de spektrofotometrede ölçüldü.

SOD standardı (Cu,ZnSOD porcine erythrocytes) ile, 0-270 ng/tüp ve % inhibisyon değerleri karşılıklı gelecek şekilde oluşturuldu. İnhibisyon değerleri aşağıdaki formülden hesaplandı. Her örnek için elde edilen inhibisyon değeri, grafik kullanılarak SOD değeri saptandı. SOD düzeyleri ng/g yaş doku olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans}_{\text{Kör}} - \text{Absorbans}_{\text{Örnek}})}{\text{Absorbans}_{\text{Kör}}}$$

3.4.8. NO (nitrit+nitrat) Ölçüm Yöntemi

Dokuda NO düzeyleri, Navarro-Gonzalves ve ark.’nın (79) yöntemine göre saptandı. Doku supernatantı önce proteinlerinden ayrıldı. Glisin-NaOH tamponu; glisin ve sodyum hidroksit kullanılarak hazırlandı. Glisin- NaOH tamponu içindeki CuSO₄ çözültisi glisin, NaOH ve bakır sülfat kullanılarak hazırlandı. Sülfanilamid çözültisi hidroklorid asid %37 ve sülfanilamid ile hazırlandı. NED çözültisi [N-(1-Naphtyl) Ethyl-Enediamine dihydrochloride] kullanılarak hazırlandı. Standartlar, sodyum nitrit (NaNO₂) kullanılarak, 2-80 µg konsantrasyonlarda hazırlandı.

Örneklerdeki NO konsantrasyonu, Griess reaksiyonu sonucunda ölçüldü. Örnekler ve standartlar, ELISA mikroplate okuyucuda 540 nm’de okutuldu. Konsantrasyon hesapları otomatik olarak cihaz tarafından hesaplanmış olup, sonuçlar µM/g yaş doku olarak verildi.

3.4.9. MPO ölçümü

Dokuda MPO aktivitesi Suzuki ve ark.’nın (80) yöntemine göre saptandı. Yöntem sentetik bir substrat olan 3,3’,5,5’-tetramethyl benzidine (TMB)’in MPO yoluyla yıkılımının ölçülmesine dayanmaktadır. Belli miktardaki doku homojenatı 7.000 rpm 5 dakika santrifüje edildi. Üstteki kısım atıldı ve alttaki kalan doku kısmı deterjanlı tampon ile çözüldü (160 mM potassium phosphate buffer, pH 5,4, 1% hexadecyltrimethylammonium bromide, HETAP). Reaksiyon H₂O₂’in 37 °C’de reaksiyon karışımına eklenmesi yolula başlatıldı. MPO’nun katalizlediği reaksiyonda TMB oksidasyona uğramakta olup, reaksiyon sırasında absorbans artışı 655 nm’de 15 saniye

ölçülmekte ve 1 dakikadaki MPO aktivitesi hesaplanmaktadır. MPO aktivitesi U/g yaş doku olarak verilmektedir.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak GraphPad Prism 5 kullanıldı. Sayısal değişkenler 'ortalama \pm standart hata' şeklinde sunuldu. Biyokimyasal bulguların istatistiksel değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki anlamlı farkların belirlenmesinde One-way ANOVA testi, iki grup arasındaki farkın belirlenmesinde ise Tukey testi kullanıldı. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6. Kullanılan Malzemeler Ve Aletler

- 1- Mikroplate Reader (Bio-TEK Instruments EL 800, U.S.A)
- 2- Santrifüj cihazı (Hettich, Rotina 38R, Almanya)
- 3- Vorteks (IKA[®] MS2 Minishaker, U.S.A)
- 4- Çalkalayıcı (Microtec, İsviçre)
- 5- Derin dondurucu (Nuair; -85⁰C Ultralow Freezer, U.S.A)
- 6- Ultra saf su cihazı (Krosclinic KRS 8000BT, Türkiye)
- 7- Hassas terazi (Mettler Toledo, AL 204, Çin)
- 8- Homojenizatör (B.Braun, Almanya)
- 9- Spektrofotometre (Shimatzu, Japonya)
- 10- Otomatik pipet (Eppendorf, Almanya)
- 11- Pipet uçları (mavi ve sarı renkli) : Sarf malzemesi
- 12-Eppendorf tüpleri (kapaklı): Sarf malzemesi

4- BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

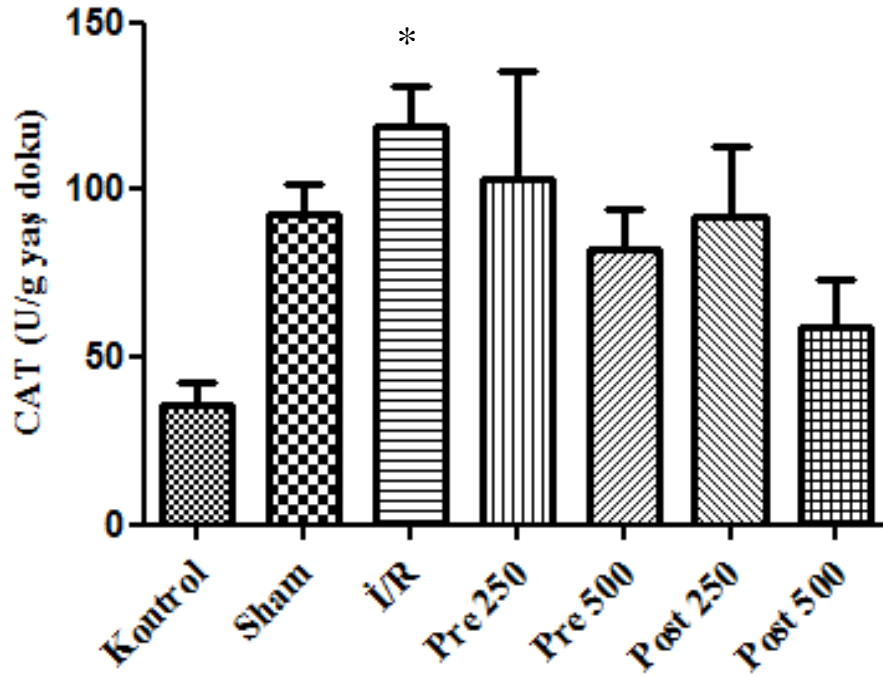
Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz tüm gruplara ait doku enzim düzeyleri ortalama değerler \pm standart hata şeklinde tablo I'de verilmiştir.

Tablo I: Tüm gruplara ait doku enzim düzeyleri (n= 8).

	Kontrol	Sham	İ/R	Pre250	Pre500	Post250	Post500
CAT (U/g)	35,51 \pm 7,22	92,99 \pm 8,70	118,85 \pm 12,23	103,19 \pm 32,60	82,07 \pm 12,36	92,29 \pm 20,64	58,73 \pm 14,76
GR (U/g)	6,31 \pm 0,88	7,21 \pm 1,00	5,49 \pm 0,84	4,95 \pm 0,56	5,34 \pm 0,84	5,97 \pm 0,80	4,78 \pm 0,43
GSH (mg/g)	0,90 \pm 0,13	0,94 \pm 0,29	0,60 \pm 0,10	0,75 \pm 0,04	1,20 \pm 0,11	1,32 \pm 0,04	1,14 \pm 0,19
GSHPx (U/g)	0,76 \pm 0,08	1,36 \pm 0,09	1,85 \pm 0,10	2,08 \pm 0,17	1,26 \pm 0,22	1,68 \pm 0,13	1,95 \pm 0,21
SOD (ng/g)	24,60 \pm 2,03	25,25 \pm 3,03	22,41 \pm 2,63	25,60 \pm 1,94	30,37 \pm 0,83	31,93 \pm 0,64	19,95 \pm 2,35
MDA (nmol/g)	22,33 \pm 1,62	55,17 \pm 28,60	58,51 \pm 13,16	47,12 \pm 6,42	33,47 \pm 4,95	34,06 \pm 3,09	27,99 \pm 1,82
MPO (U/g)	293,06 \pm 125,60	808,7 \pm 196,4	982,50 \pm 310,10	1054,42 \pm 297,10	294,58 \pm 87,63	263,80 \pm 120,20	134,60 \pm 55,32
NO (nM/g)	93,88 \pm 7,69	84,55 \pm 13,46	103,66 \pm 13,04	71,20 \pm 10,07	75,30 \pm 12,89	68,58 \pm 6,39	55,74 \pm 9,087

4.1.1. Katalaz (CAT)

Gruplara ait CAT aktivite düzeyleri şekil 7’de gösterilmektedir. Grupların CAT aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,05$). İ/R grubunda bu enzimin aktivitesi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). İlaç uygulanan gruplarda (pre 250, pre 500, post 250, post 500) ise enzim aktivite seviyesinde, İ/R grubuna göre rakamsal olarak azalma gözlemlendi ancak bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

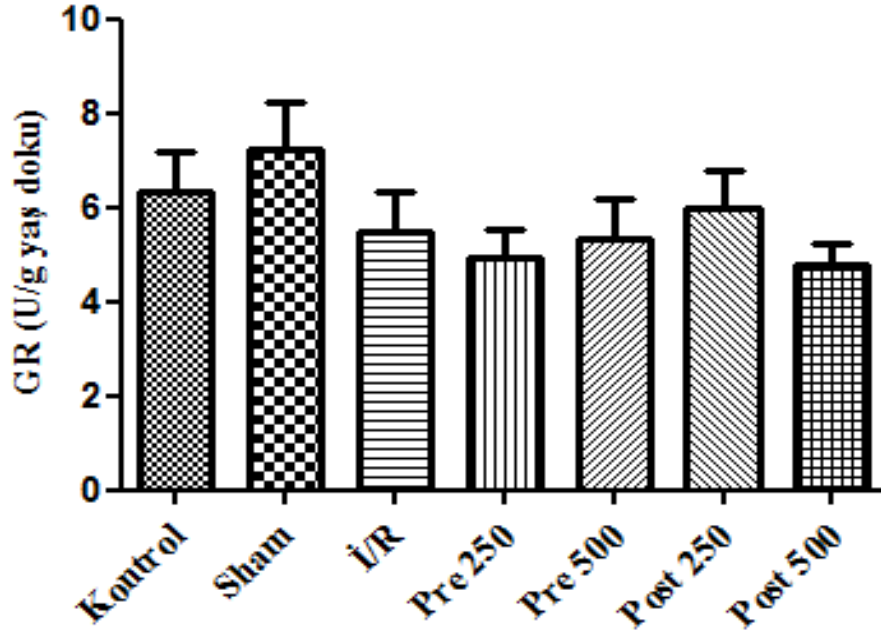


Şekil 7: Doku katalaz (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

* Kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$).

4.1.2. Glutasyon Redüktaz (GR)

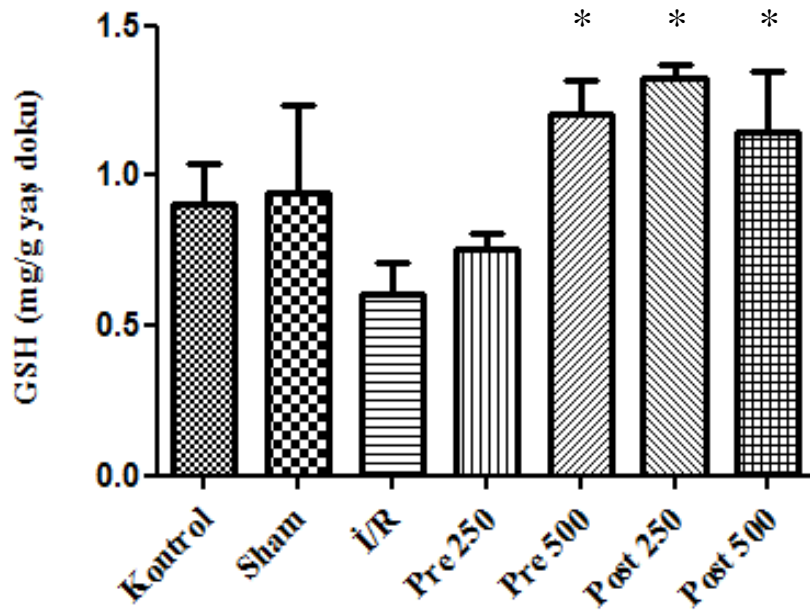
Doku GR aktivite düzeyleri şekil 8’de gösterilmektedir. Tüm grupların GR aktivite değerleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 8: Doku GR (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

4.1.3. Redükte Glutasyon (GSH)

Doku GSH düzeyleri şekil 9'da gösterilmektedir. Tüm grupların GSH düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$). İlaç verilen gruplarla, hasar oluşturulan grup arasında doku GSH düzeyleri açısından bir fark olup olmadığını belirlemek için, ilaç uygulanan gruplar (pre 250, pre 500, post 250, post 500) ile hasar oluşturulan İ/R grubu karşılaştırıldığında, doku GSH düzeyinin pre 500, post 250 ve post 500 gruplarında, İ/R grubuna göre anlamlı olarak artış gösterdiği bulunmuştur ($p < 0,05$). Doku GSH düzeyinin İ/R grubunda, kontrol grubuna göre rakamsal olarak düşük olduğu gözlenmiştir, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

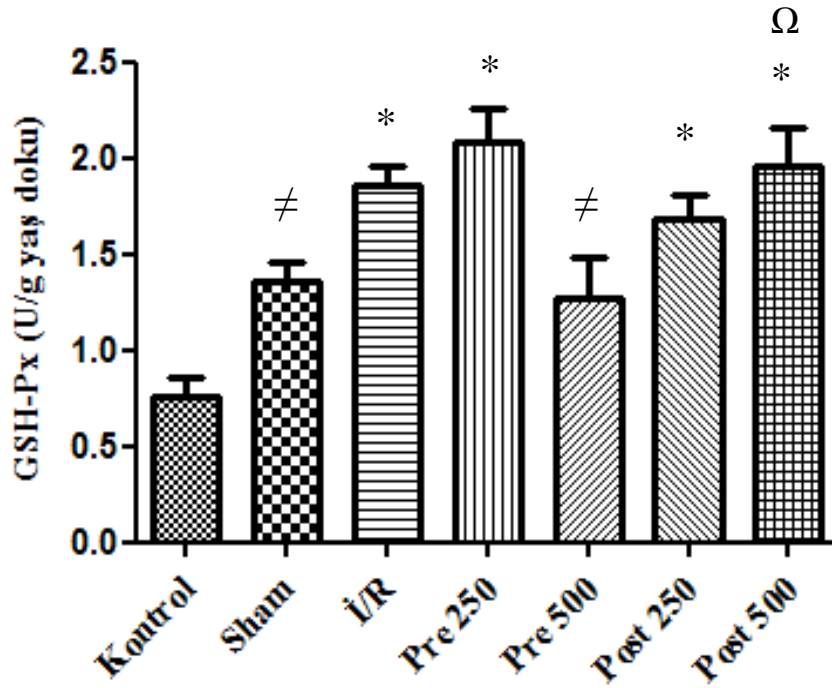


Şekil 9: Doku GSH (mg/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

* İ/R grubuna göre anlamlı olarak artmış bulunmuştur ($p < 0,05$).

4.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Doku GSH-Px aktivite düzeyleri şekil 10'da gösterilmektedir. Tüm grupların GSH-Px aktivite değerleri arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,0001$). GSH-Px aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla, İ/R, Pre 250, Post 250, Post 500 gruplarında anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). Pre 250 grubunda GSH-Px aktivitesi Pre 500 ve sham gruplarına kıyasla anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). Pre 500 ile Post 500 arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0,05$). İlaç verilen gruplarla hasar oluşturulan grup arasında doku GSH-Px aktivite değerleri açısından bir fark olup olmadığını belirlemek için, ilaç uygulanan gruplar (pre 250, pre 500, post 250, post 500) ile hasar oluşturulan İ/R grubu karşılaştırıldığında, doku GSH-Px aktivite değerleri açısından İ/R grubu ve ilaç grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 10: Doku GSH-Px (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

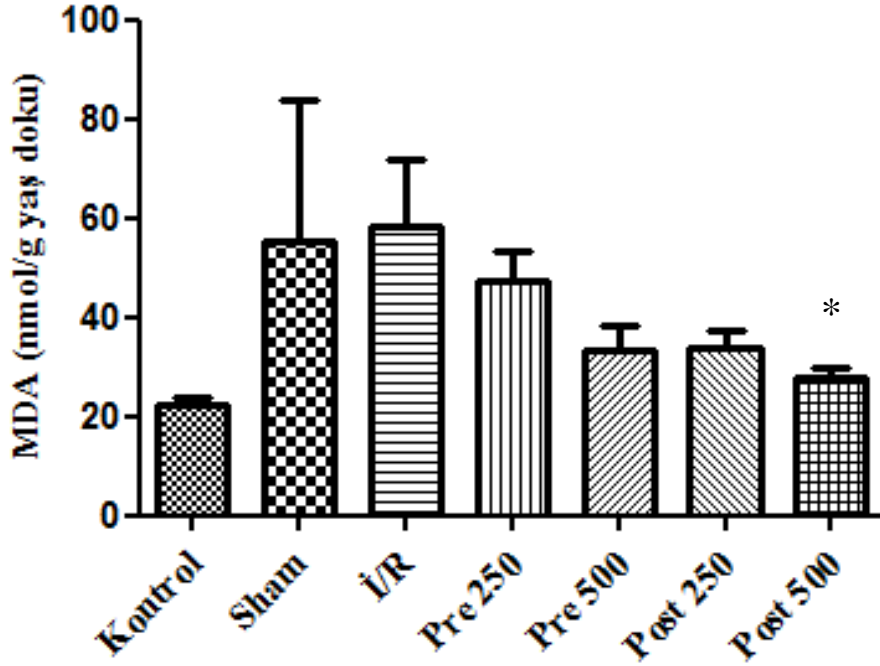
* Kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$),

≠ Pre 250 grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir ($p < 0,05$),

Ω Pre 500 grubuna göre anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$).

4.1.5. Malonil Dialdehit (MDA)

Doku MDA düzeyleri şekil 11’de gösterilmektedir. İ/R grubu ile ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında ise doku MDA düzeyinin post 500 grubunda, İ/R grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p<0,05$).

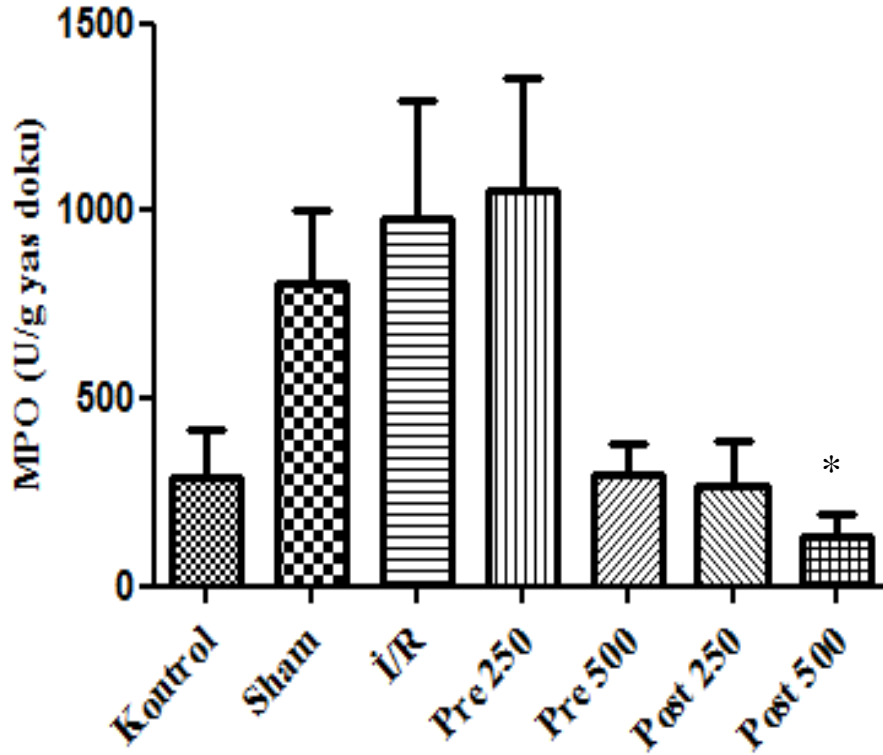


Şekil 11: Doku MDA (nmol/g yaş doku) düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

* İ/R grubuna göre anlamlı olarak azalma göstermiştir ($p< 0,05$).

4.1.6. Myeloperoksidaz (MPO)

Doku MPO aktivite düzeyleri şekil 12’de gösterilmektedir. Tüm grupların MPO aktivite değerleri arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,05$). Doku MPO aktivitesi, İ/R ve Post 500 grupları arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Yine, Pre 250 ve Post 500 grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

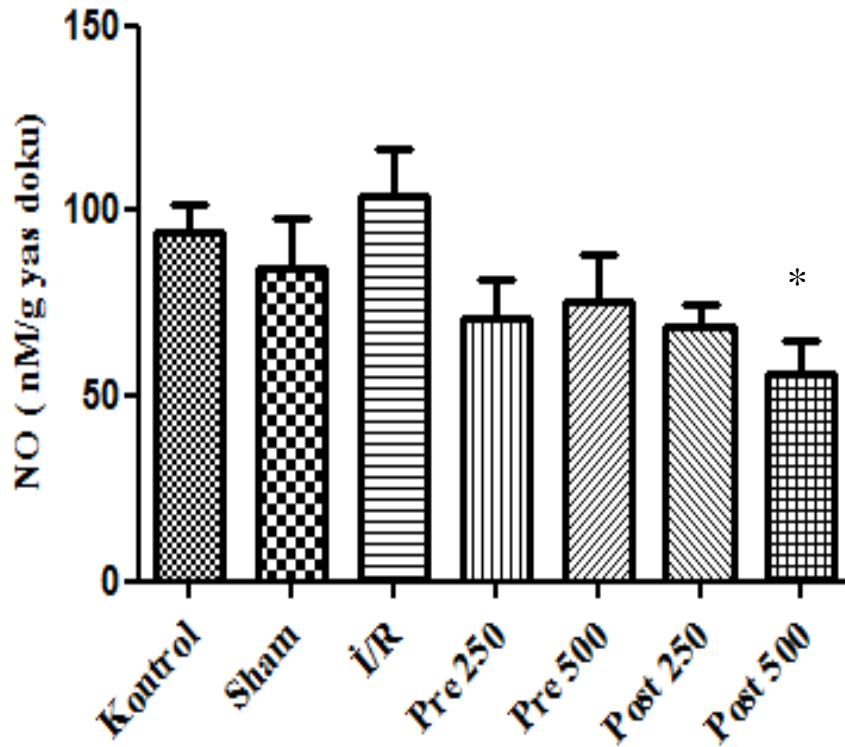


Şekil 12: Doku MPO (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

* İ/R grubu ve pre 250 grubuna göre anlamlı olarak azalma göstermiştir ($p<0,05$).

4.1.7. Nitrik Oksit (NO)

Doku NO aktivite düzeyleri şekil 13'te gösterilmektedir. İlaç verilen gruplarla hasar oluşturulan grup arasında doku NO aktivite düzeyleri açısından bir fark olup olmadığını belirlemek için, ilaç uygulanan gruplar (Pre 250, Pre 500, Post 250, Post 500) ile hasar oluşturulan İ/R grubu karşılaştırıldığında, doku NO aktivite düzeylerinin Post 500 grubunda, İ/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdiği saptanmıştır ($p < 0,05$).

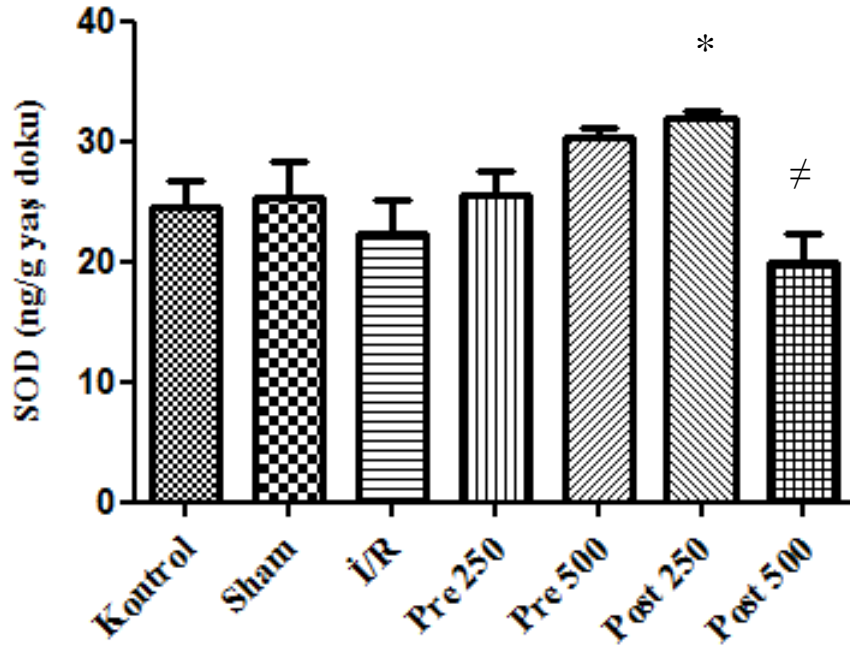


Şekil 13: Doku NO (nM/g yaş doku) aktivite değerlerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

*İ/R grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir ($p < 0,05$).

4.1.8. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Doku SOD aktivite düzeyleri şekil 14’de gösterilmektedir. Tüm grupların SOD aktivite değerleri arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,05$). Post 250 grubunda SOD aktivitesi İ/R grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$). Post 500 grubunda SOD düzeyi, pre 500 ve post 250 gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$).



Şekil 14: Doku SOD (ng/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama \pm standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

* İ/R grubuna göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$),

≠ Pre 500 ve post 250 gruplarına göre anlamlı azalma mevcuttur ($p<0,05$).

5- TARTIŞMA

Çalışmamızda, sıçanlarda deneysel intestinal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturarak, dekspantenolün reperfüzyon öncesi ve reperfüzyondan hemen sonra, iki farklı dozda (250 mg/kg ile 500 mg/kg) intravenöz olarak uygulanmasının intestinal İR hasarı üzerine etkilerini araştırdık.

İntestinal İR iskemik barsak hastalıkları, nekrotizan enterokolit, intestinal trasplantasyon, hemodinamik şok ve sepsis gibi hastalıklar nedeniyle yaygın olarak oluşan ve aynı zamanda da yüksek morbidite ve mortaliteye sahip ciddi bir klinik hadisedir (81,82). Abdominal organlar arasında ince barsaklar, büyük oranda iskemi reperfüzyon nedenli zedelenmeye en duyarlı organlardan olup, aynı zamanda serbest oksijen radikallerinin majör kaynağı olan ksantin oksidazı da en fazla bulunduran dokulardan biridir (3,83,84). İR sürecinde reaktif oksijen türlerinin fazla miktarda oluştuğu ve bunların da özellikle reperfüzyonda arttığı, yine fosfolipaz A₂'nin artmış aktivasyonu nedeniyle, intestinal doku hasarının da özellikle reperfüzyon sürecinde geliştiği ileri sürülmektedir (13).

Güncel çalışmalarda kafeik asit fenetil ester, oxymatine, eritropoietin, pyrrolidine dithiocarbamate ve melatonin gibi birçok maddenin deneysel intestinal iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı ortaya konulmuştur (3,5,6,30,41).

Ateş ve ark. (30), intestinal İR hasarında hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi verilen melatoninin koruyucu rolünü araştırdıkları çalışmalarında, SMA'ı klempe edip, 45 dakika iskemi ve ardından 120 dakika reperfüzyon uygulamışlar ve barsakta, başlıca antioksidan enzimler olan katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazın aktivitelerinin, İR yapıp melatonin verilen sıçanlarda, sadece İR yapılanlara kıyasla anlamlı bir artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda, iskemi reperfüzyon 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 sıçan SMA.'ini klempe edip 45 dakika boyunca iskemi ve hemen ardından da 120 dakikalık reperfüzyon uyguladık ve reperfüzyon öncesi ve sonrası kuyruk veni yolu ile dekspantenol uygulamasının antioksidan enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyonu ve inflamasyon üzerine olan etkilerini araştırdık.

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan, membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipit yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır (61). Sızlan A. ve ark. (46), sıçanlarda 60 dakika iskemi ve ardından altı saat reperfüzyon yaparak proantosiyanidin barsak ve uzak organ hasarı üzerindeki etkisini inceledikleri mezenterik İR çalışmalarında, İR grubunda MDA düzeyinin, barsak, karaciğer, böbrek ve akciğer dokusunda anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır. Yedi gün boyunca oral gavaj yoluyla 100 mg/kg/gün dozda proantosiyanidin verdikleri İR + Proantosiyanidin grubunda ise MDA düzeylerinin, İR grubuna göre anlamlı olarak düştüğünü ortaya koymuşlardır. Ogure ve ark. (33), sıçan ince barsak iskemi reperfüzyon hasarında lutein'in etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 30 dakika iskemi ve ardından bir saat reperfüzyon yapmışlar, İR sonrası lipid peroksidasyonu artışının, lutein tedavisi ile anlamlı olarak azaldığını ortaya koymuşlardır. Ateş ve ark. (30), intestinal İR oluşturdukları çalışmada İR yapılan sıçanlarda barsak dokusu MDA düzeylerin diğer tüm deney gruplarına (sham, iskemi öncesi 10 mg/kg melatonin ve reperfüzyon öncesi 10 mg/kg melatonin verilen gruplar) göre anlamlı olarak yükseldiğini, pre ve postiskemik melatonin tedavisi verilen sıçanlarda ise İR grubuna göre MDA seviyelerinin belirgin bir şekilde azaldığını ortaya koymuşlardır. Koltuksuz ve ark. (41), sıçanlarda kafeik asit fenetil esterinin (CAPE), 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. Bununla birlikte, 10 µmol/kg CAPE verilen reperfüzyon grubu ile yine CAPE verilen iskemi grubunda, doku MDA düzeylerin benzer olduğunu ortaya koymuşlardır. Etensel ve ark. (73), dekspantenolün deneysel testis iskemi reperfüzyon hasarında testiküler hasarı ve lipid peroksidasyonunu azalttığını ortaya koymuşlardır. Yaptıkları çalışmada, sıçanlarda detorsiyon öncesi serum MDA düzeylerinin 500 mg/kg dekspantenol uygulanan grupta, sham, torsiyon + detorsiyon, torsiyon + serum fizyolojik + detorsiyon ve 250 mg/kg dekspantenol uygulanan gruplara göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Doku MDA düzeyleri açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını saptamışlardır. Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak sıçan barsak dokusunda MDA seviyelerini ölçtük. İ/R grubunda, MDA seviyeleri, kontrol grubuna göre rakamsal olarak yüksek bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi. İlaç verilen gruplarla

(Pre 250, Pre 500, Prost 250, Post 500), hasar oluşturulan İ/R grubu karşılaştırıldığında ise, Post 500 (500 mg/kg dekspantenol) grubunda, İ/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttu. Dekspantenol verilen diğer ilaç gruplarında da kontrol grubuna göre rakamsal bir azalma varsa da, bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. İntestinal reperfüzyondan hemen sonra 500 mg/kg dekspantenol uygulamasının lipid peroksidasyonunu zayıflatması, bu çalışmalarla uyumludur.

İntestinal İR hasarının patogenezinin karışan mekanizmalar tam olarak açıklanamadıysa da, reaktif oksijen türleri, polimorfonükleer nötrofiller ve nitrik oksit gibi oksidatif stres mediyatörlerinin önemli rol oynadığı kabul görmektedir (85).

İR hasarı sürecinde, aktive edilmiş nötrofiller inflamasyonun olduğu bölgeye göç ederler ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumu, açığa çıkması ve myeloperoksidaz (MPO) gibi bazı toksik enzimlerin salınması vasıtasıyla doku hasarını artırır (85). Yıldız ve ark.'nın (17) sıçanlarda CAPE in deneysel intestinal İR hasarı üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, doku MPO aktivitelerini, İR yapılan grup ile İR yapıp çözücü madde etanol verilen grupta, sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermişlerdir. Leflunomidin intestinal iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı güncel bir çalışmada, intestinal İR'nun MDA düzeyini ve MPO aktivitesini anlamlı olarak artırdığı, bununla birlikte leflunomid tedavisinin bu bulguları anlamlı olarak geri çevirdiği ortaya konmuştur (86). Sıçanlarda intestinal iskemi reperfüzyon hasarında lamotriginin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, MDA seviyesi ile MPO aktivitesinin lamotriginin tedavisi alan grupta azaldığını bildirilmiştir (87). Augustin ve ark. (88) vitamin E'nin intestinal İR sonrası nötrofil birikiminin sebep olduğu serbest radikal oluşumunu önlediği ve lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermiş. Yine bu çalışmada intestinal İR sonrası yaklaşık 15 kat artan MPO aktivitesini vitamin E'nin normal düzeyine yaklaştırdığını bulmuşlardır. Çalışmamızda, inflamatuvar bir gösterge olan, lökosit ve mononükleer hücrelerden salgılanan MPO düzeyleri değerlendirildi. Doku MPO düzeylerinin, reperfüzyondan hemen sonra 500 mg/kg dekspantenol verilen Post 500 grubunda, İ/R grubuna ve reperfüzyondan önce 250 mg/kg dekspantenol uygulanan Pre 250 grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Pre 500 ve Post 250 gruplarında da İ/R grubuna göre rakamsal bir azalma mevcut ise de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Reperfüzyon başladıktan hemen sonra 500 mg/kg dekspantenol uyguladığımız Post 500 grubunda MPO' nun İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunması dekspantenolün, İR oluşturulmuş dokuya lökosit ve mononükleer hücre göçünü de engellemiş olabileceğini ve

bu sayede antiinflamatuvar bir etki yapmış olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu etki ilacın, İR hasarı sürecinde bu hücrelere bağlı oluşacak hasarın azaltılmasında da etkili olabileceği konusunda beklentileri artırmaktadır.

Lipofilik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO), damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini yol açar. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, oluşmuş olan reaktif oksijen türleri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonla hidroksil radikali oluşumuna yol açmaktadır (54,55). Buna karşın NO'nun İR sürecinde vazomodülatör bir molekül olarak, lökosit ve endotelial hücre adezyonunu inhibe etmek ve inflamatuvar mediyatörlerin salınımını önlemek gibi yararlı etkileri de vardır (11). Güncel bir intestinal İR çalışmasında, İR yapılan grupta NO düzeyinin anlamlı olarak arttığı, tedavi olarak proantosiyanidin verilen İR + proantosiyanidin grubunda, NO düzeyinin İR grubuna göre anlamlı olarak düştüğü ortaya konmuştur (46). Liu ML ve ark. (89) sıçanlarda intestinal İR hasarında üriner tripsin inhibitörünün etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 45 dakika iskemi ve ardından altı saat reperfüzyon uygulamışlar ve üriner tripsin inhibitörü verdikleri grupta, serum TNF-alfa, NO, MDA ve MPO seviyelerinin İR grubuna göre anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Üriner tripsin inhibitörünün, intestinal İR hasarı üzerine olumlu etkileri olduğunu ve bunun NO ve TNF-alfa salınımındaki azalma ile PMNL'lerin aktivasyon ve agregasyonundaki azalmaya bağlı olabileceği tezini ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda, ilaç verilen gruplarla hasar oluşturulan grup arasında doku NO aktivite değerleri açısından bir fark olup olmadığını belirlemek için, bu iki grup karşılaştırıldığında, doku NO aktivite değerlerinin Post 500 grubunda, İR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azalma gösterdiği saptanmıştır. Reperfüzyonun başlamasından hemen sonra 500 mg/kg verdiğimiz Post 500 grubundaki azalış, diğer çalışmalar ile uyumludur.

SOD, süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısında enzimdir. Memeli hücrelerinde Cu-Zn ve Mn içeren iki ayrı tipte enzim belirlenmiştir (48). Ateş ve ark. (30), intestinal İR yapıp melatonin verdikleri sıçanlarda, oksijen radikallerine karşı savunmada ilk basamakta yer alan SOD enzim seviyesinin barsak dokusunda İR grubuna göre üç kat arttığını tesbit etmişlerdir. Başka bir çalışmada Yıldız ve ark. (17), intestinal İR yapıp 10 mg/kg ve 30

mg/kg CAPE verdikleri tedavi gruplarında doku SOD aktivitesinin sham, İR ve İR yapıp çözücü etanolü verdikleri gruplara göre anlamlı olarak arttığını ortaya koymuşlardır. Dimakakos PB. ve ark. (90) çalışmalarında, abdominal aort oklüzyonu oluşturup, intestinal organlarda serbest oksijen radikallerince oluşturulan hasara karşı vitamin E'nin etkisini araştırmışlar. Aort oklüzyonu öncesi E vitamini verilen grupta, SOD aktivitesinde azalma saptamışlar ve vitamin E'nin postiskemik hasara karşı koruduğunu savunmuşlardır. Çalışmamızda, Post 250 grubunda, doku SOD aktivitelerinin İ/R grubuna göre anlamlı olarak arttığını saptadık. Post 500 grubunda ise SOD aktivitesi ise, Pre 500 ve Post 250 gruplarına göre anlamlı olarak azalmış bulundu. Post 500 grubunda enzim aktivitesinin azalması Dimakakos ve ark.'nın çalışması ile uyumludur. Bu grupta SOD aktivitesinin azalması dekspantenolün, oksijen radikallerinin üretimini engellemede başarılı olduğunun bir göstergesi olabilir.

SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksiti, peroksizomlarda su ve oksijene çeviren CAT enzim aktivitesinin, intestinal İR yapılan bazı çalışmalarda, tedavi gruplarında, İ/R grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (3,30). Yaptığımız çalışmada, İ/R grubunda CAT düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. İlaç uygulanan gruplardan Post 500 grubunda CAT aktiviteleri, İ/R grubuna göre rakamsal olarak azalmış bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi.

GSH-Px, hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun okside glutatyona yükseltgenmesini katalize eder (91). Yine SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksiti mitokondri ve sitoplazmada su ve oksijene indirger (92). Yıldız ve ark. (17), sıçanlarda yaptıkları intestinal İR çalışmalarında, İR yapıp 10 ve 30 mg/kg CAPE verdikleri gruplarda doku GSH-Px aktivitelerinin Sham, İR ve İR + etanol verdikleri gruplara göre anlamlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında her ki CAPE dozunun başarılı bir şekilde intestinal dokuda, endojen antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve lipid peroksidasyonunu önlediğini rapor etmişlerdir. Barut ve ark. (87) sıçanlarda intestinal İR çalışmasında lamotriginin tedavisi verdikleri grupta, SOD ve GSH-Px seviyelerinin, İR grubuna göre yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda GSH-Px düzeyi, kontrol grubuna göre İR, Pre 250, Post 250, Post 500 gruplarında anlamlı artış göstermiştir. Pre 250 grubunda GSH-Px düzeyi, Pre 500 ve Sham grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu. Post 500 grubunda ise Pre 500 grubuna göre anlamlı artış mevcuttu. İlaç verilen gruplarla hasar oluşturulan grup arasında doku GSH-Px düzeyleri açısından bir fark olup olmadığını belirlemek için, ilaç uygulanan gruplar ile hasar oluşturulan İR grubu

karşılaştırıldığında, doku GSH-Px düzeyleri açısından İR grubu ve ilaç grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Dekspantenol verdiğimiz Pre 250, Post 250 ve Post 500 gruplarında GSH-Px aktivite değerlerinin kontrol grubundaki değerlerden daha yüksek değerlerde olmasının hidrojen peroksit eliminasyonun bu gruplarda GSH-Px tarafından devam ettirilmesi ile ilgili olabileceği düşüncesindeyiz.

GSH, glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptid olup, aktif bir sülfidril grubuna sahiptir. Çeşitli proteinlerin örneğin hemoglobin, CAT ve hücre zarındaki lipoproteinlerin -SH gruplarını koruyucu olarak önemli rol oynar (48). Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan GSH'ın doku düzeylerini gruplar arasında karşılaştırdığımızda Pre 500, Post 250 ve Post 500 gruplarında, İ/R grubuna göre anlamlı olarak artış gösterdiğini saptadık. Doku GSH düzeyinin İ/R grubunda, kontrol grubuna göre rakamsal olarak düşük olduğunu gözledik, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Eritrositler içindeki pentoz fosfat yolu, okside olmuş glutatyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyona (2 GSH) indirgenmesi için gerekli olan NADPH'yi sağlar. Bu indirgenme olayı FAD içeren bir flavoprotein olan GR tarafından kataliz olunur (58). Çalışmamızda, gruplar arasında doku GR düzeyleri açısından bir fark saptanmamıştır.

Dekspantenol B kompleks vitaminlerin bir üyesi olan pantotenik asidin alkolik analogudur (64). Pantotenik asit ve onun türevlerinin reaktif oksijen türlerince oluşturulan hücre hasarına karşı koruyucu etkileri daha önceki çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur(21,22, 23,93). Pantotenik asit, hücre CoA içeriğinde ve yine hücrede ATP ve GSH sentezinde artış sağlar (21). Güncel çalışmalarda antiinflamatuvar özelliği ve lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi olduğu da gösterilmiştir (64,69,72,73). Çalışmamızda reperfüzyon sonrası 500 mg/kg dozda i.v yolla verilen dekspantenolün, intestinal iskemi reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak doku MDA düzeyi ile inflamatuvar bir gösterge olan, lökosit ve mononükleer hücrelerden salgılanan MPO aktivite düzeylerini azaltıcı etkileri olduğunu saptadık.

6- SONUÇ

Barsak iskemisi, gelişmiş tanı ve tedavi yöntemlerine rağmen hala yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Bu nedenle, patofizyolojisini tam olarak açıklayabilmek ve yeni tedavi metotları geliştirebilmek için yoğun çalışmalar devam etmektedir. Çalışmamızda, sıçanlarda deneysel intestinal iskemi reperfüzyonun hasar verici etkilerini engellemede, özellikle reperfüzyondan hemen sonra intravenöz yolla verdiğimiz 500 mg/kg dekspantenolün etkili olduğunu gözlemledik. Dekspantenol reperfüzyondan hemen sonra verilen bu dozda, intestinal iskemi reperfüzyonun neden olduğu lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin anlamlı olarak azaltmıştır. Yine aynı grupta, polimorfonükleer lökosit birikiminin göstergesi olarak miyeloperoksidaz aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını gözlemledik. Bütün bu biyokimyasal veriler, sıçanlarda deneysel intestinal İR hasarında reperfüzyondan hemen sonra intravenöz yolla verilen, 500 mg/kg dekspantenolün lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi olduğunu ve İR hasarı oluşturulmuş dokuya, lökosit ve mononükleer hücre göçünü de engellemiş olabileceğini ve bu sayede antiinflamatuvar bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.

İntestinal iskemi reperfüzyon hasarında dekspantenolün ilk defa kullanılması ve ortaya çıkan sonuçların biyokimyasal verilerle desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara yol göstereceği inancındayız. Dekspantenolün klinikte bu endikasyonda uygulanabilirliği açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunduğu da bir gerçektir.

7- ÖZET

Sıçanlarda Deneysel İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarında Dekspantenolün Etkileri

Amaç: Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda superior mezenterik arter iskemisi reperfüzyonu sonrası, barsakta oluşan iskemisi-reperfüzyon hasarı üzerine dekspantenolün etkilerini araştırmaktır.

Yöntem: 56 adet genç sağlıklı dişi Wistar-Albino cinsi sıçan (200-250 gr), randomize olarak (n=8) yedi gruba ayrıldı; kontrol (grup I), sham (Grup II), iskemisi-reperfüzyon (grup III, İ/R), iskemisinin 30. dakikasında 250 mg/kg dekspantenol verilen grup (grup IV, Pre 250), iskemisinin 30. dakikasında 500 mg/kg dekspantenol verilen grup (Grup V, Pre 500), reperfüzyonu hemen takiben 250 mg/kg dekspantenol verilen grup (Grup VI, Post 250) ve reperfüzyonu hemen takiben 500 mg/kg dekspantenol verilen grup (Grup VII, Post 500). Sıçanlara, intraperitoneal yolla üretan (1,2 g/kg) anestezisi uygulandı. Sıçanlara, karın derileri tıraş edilerek antiseptik solüsyonla temizlendikten sonra, orta hat laparotomisi uygulandı. İnce barsaklar geçici olarak dışarı alındı ve superior mezenterik arter dikkatlice disseke edildikten sonra atravmatik mikrovasküler klemp kullanılarak 45 dakikalığına kapatıldı. Daha sonra klemp kaldırıldı. 120 dakikalık reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyon sonrası tüm sıçanlar sakrifiye edildi, ince barsakları alındı. İnce barsak örneklerinde, doku malonildialdehit (MDA) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), nitrik oksit (NO), myeloperoksidaz (MPO), redükte glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) aktiviteleri ölçüldü.

Bulgular: İ/R grubunda katalaz aktivite değeri, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,05). GSH değerleri; pre 500, post 250 ve post 500 gruplarında, İ/R grubuna göre anlamlı olarak artış göstermiştir (p< 0,05). GSH-Px aktivite değeri, İ/R, Pre 250, Post 250, Post 500 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p<0,05). Pre 250 grubunda, sham grubu ve Pre 500 grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p< 0,05). Post 500 grubunda, Pre 500 grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p<0,05).

SOD aktivite değeri, Post 250 grubunda, İ/R grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$). Post 500 grubunda, pre 500 ve post 250 gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). MDA düzeyinin Post 500 grubunda, İ/R grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p<0,05$). Doku MPO aktivite değeri, Post 500 grubunda, İ/R grubu ve pre 250 grubuna göre anlamlı olarak azalma göstermiştir ($p< 0,05$). Doku NO aktivite düzeylerinin post 500 grubunda, İ/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdiği saptanmıştır ($p< 0,05$). Tüm grupların GR aktivite değerleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Sonuç: Dekspantenolün, reperfüzyondan hemen sonra intravenöz yolla verilen 500 mg/kg dozunda, deneysel modelimizde intestinal iskemi-reperfüzyon hasarının etkilerini engellemede etkili olduğu görülmüştür. İntestinal iskemi-reperfüzyon hasarında dekspantenolün ilk defa kullanılması ve ortaya çıkan sonuçların biyokimyasal parametrelerle desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara yol göstereceği inancındayız.

Anahtar Kelimeler: İntestinal iskemi-reperfüzyon, antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonu, dekspantenol

İletişim Adresi: drozkay@yahoo.com

8- SUMMARY

The effects of dexpanthenol on experimental intestinal ischemia reperfusion injury in rats

Purpose: The purpose of this study is to examine the effects of dexpanthenol on ischemia reperfusion injury in intestine occurring after occlusion – reperfusion of superior mesenteric artery in rats.

Method: Fiftysix young and healthy female Wistar-Albino rats (weighing 200–250 g) were randomly divided into seven groups (n=8); control (group I), sham (group II), ischemia-reperfusion (group III, I/R group), dexpanthenol 250 mg/kg at the 30-min ischemic period (group IV, Pre 250), dexpanthenol 500 mg/kg at the 30-min ischemic period (group V), dexpanthenol 250 mg/kg at 1-min reperfusion period (group VI, Post 250), dexpanthenol at 1-min reperfusion period (group VII). The rats were anaesthetized by intraperitoneally injection of urethane (1.2 g mg/kg b.w.). A midline laparotomy was performed after shaving and local cleansing with an antiseptic solution. Intestines were exteriorized, and the superior mesenteric artery was dissected carefully and occluded using an atraumatic microvascular clip for 45 minutes. Then, the clamp was removed and reperfusion occurred for 120 minutes. After reperfusion, all rats were sacrificed and their small intestines were removed. The tissue levels of malondialdehyde (MDA) and activity levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), nitric oxide (NO), myeloperoxidase (MPO), glutathione (GSH), glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GSHPx) were measured in small intestine specimens.

Findings: Activity levels of CAT in the I/R group were significantly increased compared to the control group ($p < 0,05$). The GSH levels of the Pre 500, Post 250 and Post 500 groups were significantly higher than the I/R group ($p < 0,05$). The GSH-Px activity levels of the I/R, Pre 250, Post 250 and Post 500 groups were significantly higher than the control group ($p < 0,05$). The GSH-Px activity levels of the Pre 250 group were significantly

increased compared to the sham and Pre 500 groups ($p < 0,05$). The GSH-Px activity levels of the Post 500 group were significantly higher than the Pre 500 group ($p < 0,05$).). The SOD activity levels of the Post 250 group were significantly higher than the I/R group ($p < 0,05$). The SOD activity levels of the Post 500 group were significantly lower than the Pre 500 ve Post 250 groups ($p < 0,05$). Tissue levels of MDA were significantly lower in the group Post 500 compared to the I/R group ($p < 0,05$). The MPO activity levels of the Post 500 group were significantly lower than the I/R and Pre 250 groups ($p < 0,05$). The NO activity levels of Post 500 group were significantly lower than the I/R group ($p < 0,05$). There were no significant differences between GR levels of all study groups.

Conclusion: The results of this study showed that intraperitoneally administration of 500 mg/kg dexpanthenol just after reperfusion attenuates the effects of intestinal ischemia reperfusion injury in rats. Since this is a first demonstration for the use of dexpanthenol in intestinal ischemia-reperfusion injury, the results of the present study may be pioneer for the future studies.

Key Words: Intestinal ischemia-reperfusion, antioxidative enzymes, lipid peroxidation, dexpanthenol

e-mail: drozkay@yahoo.com

9. KAYNAKLAR

1. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004; 24: 468-475.
2. Aktan ÖA, Yalçın SA. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites and the surgeon. *Turk J Med Sci* 1998; 1-5.
3. Güneli E, Çavdar Z, İşlekel H, Sarıoğlu S, Erbayraktar S, Kiray M, Sökmen S, Yılmaz O, Gökmen N. Erythropoietin protects the intestine against ischemia/reperfusion injury in rats. *Mol Med* 2007; 13(9-10); 509-517.
4. Rock P, Yao Z. Ischemia reperfusion injury, preconditioning and critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 2002; 15: 139-146.
5. Mallick IH, Yang WX, Winslet MC, Seifalian AM. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces ischemia-reperfusion injury of the small intestine. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7308-7313.
6. Zhao J, Yu S, Tong L, Zhang F, Jiang X, Pan S, Jiang H. Oxymatrine Attenuates Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Surg Today* 2008; 38: 931–937.
7. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Temel Patoloji (Basic Pathology)*. Çeviri editörü: Çevikbaş U. 5th edition, İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 1995: 5-9, 36-38, 497.
8. Scheider TA, Longo WE, Ure T, Vernava AM. Mesenteric ischemia: acute arterial syndromes. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 1163-1174.
9. Yasuhara H. Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology. *Surgery Today* 2005; 35: 185- 195.
10. Huether SE, McCance KL. *Understanding Pathophysiology*. 3rd edition, St. Louis, Mo. Mosby, 2004: 71.
11. Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med* 1999; 77: 577–596.
12. Slavikova H, Lojek A, Hamar J et al. Total antioxidant capacity of serum increased in early but not late period after intestinal ischemia in rats. *Free Rad Biol Med* 1998; 25: 9–18.
13. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386.

14. Papezikova I, Lojek A, Cizova H, Ciz M. Alterations in plasma antioxidants during reperfusion of the ischemic small intestine in rats. *Research in Veterinary Science* 2006; 81: 140–147.
15. Otamiri T, Franzen L, Lindmark D, et al. Increased phospholipase A2 and decreased lysophospholipase activity in the small intestinal mucosa after ischemia and revascularization. *Gut* 1987; 28: 1445-1453.
16. Jaeschke H, Farhood A, Wayne Smith C. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *The FASEB Journal* 1990; 4: 3355-3359.
17. Yıldız Y, Serter M, Ek RO, Ergin K, Çeçen S, Demir EM, Yenisey Ç. Protective Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury. *Dig Dis Sci* 2008; 54(4):738-44.
18. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Onbirinci baskı, Ankara: Hacettepe-Taş, 2005: 617-618,1331.
19. Sweetman SC. Martindale The Complete Drug Reference. Thirty-fourth edition, Pharmaceutical Press, UK, 2005: 1727.
20. Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Nelson RA, Shoemaker JD, Sandborn WJ, Phillips SF, Hasan Y. Dexpantenol enemas in ulcerative colitis: A pilot study. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 616–620.
21. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett*, 2004; 569: 169–172.
22. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina RV, Wojtczak L. Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 894–899.
23. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, Wojtczak L. Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 1303–1310.
24. Snell RS, Klinik Anatomi. 6. Edisyon. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri LTD ŞTİ, 2004: 219.
25. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Cilt 2, 2. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevi LTD ŞTİ 1997: 73
26. Kuran O. Sistematik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983: 301

27. Moore KL, Dalley AF. Kliniğe Yönelik Anatomi, Çeviri Editörü Şahinoğlu. Dördüncü baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 194-244,245.
28. April EW. NMS Klinik Anatomi, Çeviri Editörü: Yıldırım M. 3. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1998: 350.
29. Ozan E, Koyutürk L, Sapmaz T. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostoglandin E1 (PGE1) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma. Fırat Tıp Dergisi 2004; 9(3): 67-71.
30. Ateş B, Yılmaz İ, Geçkil H, Iraz M, Birincioğlu M, Fiskin K. Protective role of melatonin given either before ischemia or prior to reperfusion on intestinal ischemia-reperfusion damage. J. Pineal Res 2004; 37: 149–152.
31. Ateş B, Yılmaz HR, Selamoğlu Z, Iraz M, Yılmaz İ. Melatonin'in intestinal iskemi reperfüzyonda 6-fosfoglukonat dehidrogenaz aktivitesi üzerine etkisi. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2004; 11(3): 8-11.
32. Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi araştırma kitabı. 1. Baskı, İstanbul: Nobel tıp kitabevleri Ltd Şti, 2005
33. Ogura W, Itagaki S, Kurokawa T, Noda T, Hirano T, Mizuno S, Iseki K. Protective Effect of Lutein on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Small Intestine. Biol Pharm Bull 2006; 29(8): 1764-1766.
34. Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, Jung H, et al. Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. Acta Physiol Scand 1985; 124: 581-9.
35. Paterson IS, Klausner JM, Goldman G, et al. Thromboxane mediates the ischemia-induced neutrophil oxidative burst. Surgery 1989; 106: 224-229.
36. Synder F. Platelet activating factor and related acetylated lipids as potent biologically active cellular mediators. Am J Physiol 1990; 259: 697-708.
37. Chervura A, Homsher E, Moore WS, Quinones-Baldrich WJ. Differential recovery of skeletal muscle and peripheral nerve function after ischemia and perfusion. J Surg Res 1989; 47: 12-9.
38. Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. J Surg Res 1994; 56: 221-225.
39. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası-Fonksiyonel İlişkileriyle. Çeviri Editörü: Demir R. Dokuzuncu Baskıdan Çeviri, Ankara: Palme Yayıncılık 2001: 199.

40. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. USA: W.B Saunders Company, 1997: 325-327.
41. Koltuksuz U, Özen S, Uz E, Aydınç M, Karaman A, Gültek A, Akyol O, Gürsoy MH, Aydın E, CAPE prevents intestinal reperfusion injury in rats. J Ped Surg 1999; 34: 10: 1458-1462.
42. Bounous G: Acute necrosis of the intestinal mucosa. Gasrtoenterology 1982; 82: 1457.
43. Schoenberg MH, Muhl E, Sellin D et al. Posthypotensive generation of superoxide radicals: Possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosal damage. Acta Chir Scand 1984; 150:301-309.
44. Granger DN, Hollwarth MA, Parks DA. İschemic reperfusion injury: Role of oxygen derived free radicals. Acta Physiol Scand 1986; 548: 47- 63.
45. Necefli A, Dolay K, Arıkan Y, Gülođlu R, Karayay S, Halıcı E, Atagenç F. Deneysel mezenterik iskemide bakteriyel translokasyona seftriaksonun etkisi Ulusal Travma Dergisi 1999; 5:(1): 7-10.
46. Sızlan A, Güven A, Uysal B, Yanarateş O, Atım A, Öztaş E, Coşar A, Korkmaz A. Proanthocyanidin Protects Intestine and Remote Organs Against Mesenteric Ischemia/Reperfusion Injury. World J Surg 2009: 1384-91.
47. 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: 1060-7.
48. Erden M. Serbest Radikaller. T.Klin. Tıp Bilimleri Dergisi 1992; 12: 201-207.
49. Özben T. (editör), Free Radicals, Oxidative Stres and Antioxidants. Pathological and Physiological Significance. NATO ASI Series, Series A:Life Sciences Vol.296 New York, Plenium Press 1998: 31.
50. Liu TZ, Stern A. Assessment of the role oxidative stress in human disease. J Biomed Lab Sci 1998; 10: 12-28.
51. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. Br J Surg 1994; 81(5): 637-47.
52. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 3-10.
53. Grisham MB, Mc Cord JM.: Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In: Physiology of oxygen radicals. Ed: Taylor AE, Malton S, Ward PA. American Phsiology Society, Bethesda, Maryland, USA, 1986: 1-18.
54. Cochrane CG: Cellular injury by oxidants. Am J Med 1991; 30: 91 (3C): 23-30.

55. Southorn PA, Powis G: Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63(4): 381-9.
56. Vennalm A, Bentin G, Petterson AS. Dependence of the metabolism of nitric oxide (NO) in healthy whole blood on the oxygenation of its red cell haemoglobin. *Br J Pharmacol* 1992; 106: 507-508.
57. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280(1):1-8
58. Murray R.K, Granner D.K, Mayes P.A, Rodwell V.W. Harper' ın Biyokimyası (Harper's Biochemistry' nin 22. Uluslar arası baskından çeviri). Çevirenler: Menteş G, Ersöz B. İstanbul: Barış Kitabevi, 1993: 42,142-144,241.
59. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, Second Edition, Kluwer Company, USA, Lippincott Williams& Wilkins: 2004.
60. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105:121-6.
61. Halliwell B, Gutteridge JMC: Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, 2001.
62. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-41.
63. Ambrosio G, Weisfeldt ML, Jacobus WE, Flaherty JT. Evidence for a reversible oxygen radical-mediated component of reperfusion injury: reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the time of reflow. *Circulation* 1987 75: 282-91.
64. Ebner F, Heller A, Rippke F. et al. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am J Clin Dermatol* 2002; 3(6): 427-33.
65. Goodman Gilman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. Eighth edition. U.s.a: Pergamon pres, 1990: 1540-1541.
66. Kumar P, Chhibber M, Surolia A. How pantothenol intervenes in Coenzyme-A biosynthesis of Mycobacterium tuberculosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007; 361: 903-909.
67. Budavari S (editor). The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. Twelfth edition, NJ-U.S.A, Merck& CO Inc. 1996: 2990
68. Kulikov AU, Zinchenko AA. Development and validation of reversed phase high performance liquid chromatography method for determination of dexpanthenol in

- pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007; 43: 983-988.
69. Biro K, Thaçı D, Ochsendorf FR. et al. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 80-4.
70. Sachs M, Asskali F, Lanaras C. et al. The metabolism of panthenol in patients with postoperative intestinal atony. *Z Ernährungswiss* 1990; 29: 270-83.
71. Micromedex® Healthcare Series, Thomson Reuters, Greenwood Village, Colorado, 2009; Vol: 139.
72. Romitti P, Romitti N. Dexpanthenol cream significantly improves mucocutaneous side effects associated with isotretinoin therapy. *Pediatr Dermatol* 2002; 19: 368-9.
73. Etensel B, Ozkısacık S, Özkara E, Karul A, Öztan O, Yazıcı M, Gürsoy H. Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. *Pediatr Surg Int* 2007; 23: 177-181.
74. Ohkawa, H, Ohishi N, and Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95, 351-358.
75. Beutler E, Durgun O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 51: 882-888.
76. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 1998; 94: 623-632.
77. Racker E. Glutathione reductase (liver and yeast). In : *Methods in Enzymology*, vol 2, Colowick SP, Kaplan NO (Editors), Academic Press, New York, 1955: 722-729.
78. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
79. Navarro-Gonzalves, JA, Garcia-Benayas C, and Arenas J. Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin Chem* 1998; 44, 679-681.
80. Suzuki K, Ota H, Sasagawa S, Sakatani T, Fujikura T. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem* 1983; 15;132(2):345-52.
81. Vinardi S, Pierro A, Parkinson EJ, Vejchapipat P, Stefanutti G, Spitz L, et al. Hypothermia throughout intestinal ischemia reperfusion injury attenuates lung neutrophil infiltration. *J Paediatr Surg* 2003; 38: 88-91.

82. Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion. *J Surg Res* 1996; 66: 143-146.
83. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 311-32.
84. Chiue CJ, Mc Ardle AH, Brown R: Intestinal mucosal lesions in low-flow states. *Arc Surg* 1970; 101:478.
85. Mallick IH, Yang W, Winslet WC, Seifalian AM. Ischemia-Reperfusion Injury of the Intestine and Protective Strategies Against Injury. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1359-77.
86. Yıldız Y, Köse H, Çeçen S, Ergin K, Demir EM, Serter M. Protective Effects of Leflunomide on Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury: Leflunomide against intestinal ischemia-reperfusion. *Dig Dis Sci*.2009 DOI: 10. 1007/s10620-009-0737-0.
87. Barut İ, Tarhan OR, Kapucuoğlu N, Sütçü R, Akdeniz Y. Lamotrigine reduces intestinal I/R injury in the rat. *Shock* 2007; 28(2): 202-6.
88. Augustin AJ, Goldstein RK, Milz JL, Lutz J. Influence of antiinflammatory drugs and free radical scavengers on intestinal ischemia induced oxidative tissue damage. *Advances In Experiment Med Biol* 1992; 316: 239-251.
89. Liu ML, Zhang J, Wu W, Liu RL. Protective effect of urinary trypsin inhibitor on injury after intestinal ischemia-reperfusion: experiment with rats. *ZhonyhuaYi Xue Za Zhi*. 2008 ; 88(4):225-9.
90. Dimakakos PB, Kotsis T, Kondi-Pafiti A, Katsenis K, Doufas A, Chondros K, Kouskouni E. Oxygen free radicals in abdominal aortic surgery. An experimental study. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2002; 43(1):77-82.
91. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz HR, Türkoglu AÖ, Pekmez H, Sarsılmaz M. Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi erciyes üniversitesi sağlık bilimleri dergisi (e.ü. journal of health sciences) 2004; 13(2): 1-7.
92. Jaeschke H. Mechanism oxidant stress induced acute tissue injury. *PSEBM* 1995; 209:104- 111.
93. Wojtczak L, Slyshenkov VS. Protection by pantothenic acid against apoptosis and cell damage by oxygen free radicals-the role of glutathione. *Biofactors* 2003; 17: 61-73.

