

**T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GÖĞÜS KALP DAMAR CERRAHİSİ-PERFÜZYONİSTLİK
ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**CURCUMİN'İN VASKÜLER ENDOTEL
HÜCRELERİNDE İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARININ ÖNLENMESİNDE ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SAKİNE GEÇİCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN**

**ŞANLIURFA
2014**

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ' NE

Sakine GEÇİCİ'nin hazırladığı "Curcuminin vasküler endotel hücrelerinde iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde etkinliğinin araştırılması" konulu çalışma 10.06/2014 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek.

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalında Perfüzyonist Yetiştirme Programı **YÜKSEKLİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa GÖZ
Harran Üniversitesi
BAŞKAN

Doç. Dr. Abdussamed HAZAR
Harran Üniversitesi
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. M. Salih AKDİN (Danışman)
Harran Üniversitesi
ÜYE

ONAY
22/06/2014
Prof. Dr. Nürten AKSOY
Enstitü Müdürü

**T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GÖĞÜS KALP DAMAR CERRAHİSİ-PERFÜZYONİSTLİK
ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**CURCUMİNİN VASKÜLER ENDOTEL
HÜCRELERİNDE İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARININ ÖNLENMESİNDE ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAKİNE GEÇİCİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 13163 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2014

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana emeği geçen ve her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında desteklerini eksik etmeyen başta değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. M. Salih AYDIN'a ayrıca hocalarım Doç. Dr. Mustafa GÖZ'e, Doç. Dr. Abdulsamet HAZAR'a,

Yine bu çalışma sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Nurten AKSOY'a,

Çalışmalarım ve yüksek lisans eğitimim süresi boyunca beraber çalıştığım. Arş. Gör. Perfüzyonist Sayın Eshar KORKMAZ' a, Perfüzyonist Sayın Yasemin BAKAR' a,

Kalp damar cerrahi servisi, Ameliyathane, Yoğun bakım, Harran Üniversitesi merkez Biyokimya Laboratuvarı, hemşire ve personeli ile bölüm sekreterlerine ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen aileme ve bugünlere kadar gelmemde emeği geçen, burada adını anmadığım herkese,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Sakine GEÇİCİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	I
GRAFİK LİSTESİ	IV
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
RESİM LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	XI
ABSTRACT	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Vasküler Endotel hücreleri	3
2.2. İskemi.....	5
2.3.Reperfüzyon.....	6
2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları.....	7
2.5. Serbest Oksijen Radikalleri.....	8
2.5.a.Serbest Radikal Kaynakları.....	8
2.5.b. Kompleman sistemi.....	11
2.5.c.Endotel Hücreler	11
2.5.d. Polimorf nüveli lökositler (PMNL).....	12
2.6. İskemi- Reperfüzyon Hasarının Kalp Üzerindeki Etkileri.....	15
2.7.Aort Cerrahisinde İskemi Reperfüzyon Hasarı.....	16
2.8. Antioksidanlar.....	17
2.9. Curcumin.....	20
3.MATERYAL VE METOD	29
3.1 Çalışma gruplarının oluşturulması.....	29
3.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli.....	29
3.3. Tedavi edici ajanların hazırlanması.....	30
3.4. Deney Grupları ve Protokol.....	30
3.5. Vasküler Endotel Yapının Histopatolojik İncelenmesi.....	31

3.6. TAS Ölçümü.....	31
3.7. TOS Ölçümü.....	31
3.8. OSİ Hesaplanması.....	31
3.9. İstatistiksel Analiz.....	32
4.BULGULAR.....	33
4.1. Grupların TAS Değerlerinin Karşılaştırılması.....	33
4.2. Grupların TOS Değerlerinin Karşılaştırılması.....	34
4.3. Grupların OSİ Değerlerinin Karşılaştırılması.....	35
4.4. Grupların Histopatolojik Hasar Skorlarının Karşılaştırılması.....	36
5.TARTIŞMA.....	38
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
7.KAYNAKLAR.....	46

GRAFİK LİSTESİ

Grafik	Sayfa No
1. Gruplar arası TAS değerlerinin karşılaştırılması.....	34
2. Gruplar arası TOS değerlerinin karşılaştırılması.....	35
3. Gruplar arası OSİ değerlerinin karşılaştırılması.....	36



TABLO LİSTESİ

Tablo

Sayfa No

Tablo 1. Gruplar Arası TAS, TOS, OSİ ve Histopatolojik Hasar Skorları Karşılaştırılması...33



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil

Sayfa No

- Şekil 1.** Lökosit-endotel etileşiminde lökosit adhezyon molekülleri ve lökosit göçünün şematize edilmesi.....13
- Şekil 2.** Curcunonoidlerin kimyasal yapısı.....22
- Şekil 3.** Circumininaraşidonikkaskadı üzerine inhibitör etkisini gösteren şema.....24
- Şekil 4.** Curcuminininflamatormedyatorler üzerine etkileri.....25
- Şekil 5.** Curcumininkarsinogenesizin hücrel medyatorleri üzerine etkisi.....27



RESİM LİSTESİ

Resim	Sayfa no
Resim 1. Endotel hücrelerin histopatolojil incelenmesi.....	3
Resim 2. A. Curcuma longa bitki hali; B. Taze köksapı ve C. Kurutulmuş toz hali.....	21
Resim 3. Mikrovasküler klemp ile sıçan aortu oklüzyonunun vasküler endotel hasarı oluşturma etkisinin incelenmesi.....	37



KISALTMALAR

AAA	: Abdominal Aortik Anevrizma
ALI	: Akut Akciğer Yaralanmasında
ARDS	: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
ATP	: Adenzoin Tri Fosfat
CAT	: Katalaz
CUR	: Curcumin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOX	: Doksorubisin
EM	: Elektron Mikroskopu
GSH	: Glutasyon
GSHP	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HH ₂	: Histopatolojik Hasar Skorlaması
HO-	: Hidroksil
IAA	: İnfrarenal Abdominal Aorta
ICAM	: İnterselüler Adhezyon Molekülü
IL	: İnterlökin
İ.P	: Periton içi (intra peritonal)
İRH	: İskemi Reperfüzyon Hasarı
KDH	: Ksantin Dehidrojenazın
KO	: Ksantin Oksidaza
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LO	: Lipooksijenaz
LOO-	: Lipid Peroksi Radikali

LPS	: Lipopolisakkarit
LT	: Lökotrienler
MCP	: Monosit Kemoatraktan Protein
MDA	: Malondialdehit
MOF	: Çoklu Organ Yetmezliği
MTX	: Metotreksat
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotidin Okside
NO ₃	: Nitratt
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PECAM	: Adhezyon Molekülü
PG	: Prostaglandin
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökositler
PSGL	: P- Selektin Glikoprotein
RAAA	: Rüptüre Abdominal Aortik Anevrizmaları
ROOH	: Hidroperoksit
SH	: Sülfhidril
SIRS	: Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikal
STZ	: Streptozotosin
TAAA	: Torakoabdominal Aortik Anevrizma
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TBHQ	: Tertbutilhidroquinon
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TOS	: Total Oksidatif Stres

OSİ : Oksidatif Stres İndeksi

VCAM : Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü



ÖZET

CURCUMİN'İN VASKÜLER ENDOTEL HÜCRELERİNDE İSKEMİ- REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİNDE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Sakine GEÇİCİ

Göğüs Kalp Damar Cerrahisi-Perfüzyonistlik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Amaç: Önceki çalışmalar, Curcuminin çeşitli organlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. Bizim bu çalışmada Curcumin (CUR) abdominal aort iskemi-reperfüzyon hasarında vasküler endotel üzerinde olumlu etkilere sahip olup olmadığını belirlemek amaçlanmıştır.

Metod: Onbeş sıçan sham, kontrol ve tedavi (CUR) grubu olarak üç gruba ayrıldı. Kontrol ve CUR grupları 60 dakika boyunca abdominal aort iskemi sonrası 120 dakikalık bir süre reperfüzyon uygulandı. CUR grubunda Curcumin intraperitoneal yoldan 200 mg / kg bir dozda reperfüzyondan önce 5 dakika verilmiştir. Toplam antioksidan kapasite (TAS), total oksidatif durum (TOS) ve kan serumunda oksidatif stres indeksi (OSI) ölçüldü ve damar endotel dokusu histopatolojik ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Bulgular: Kan örneklerinde TAS, TOS ve OSI aktivitesi kontrol grubuna ($p < TAS$, TOS ve OSI 0.001) göre sham ve CUR gruplarında istatistiksel olarak azalmıştır. Sham, CUR ve kontrol gruplarının damar endotel hasarı skorları ölçüldü. Histopatolojik incelemede CUR ve kontrol grubunda hiçbir lezyon saptanmadı.

Sonuç: Curcuminin intraperitoneal olarak uygulanması oksidatif stresin azaltılmasında da etkili olmuştur fakat iskemi reperfüzyon yaralanması, akut abdominal aorta I/R sıçan modelinde vasküler endoteli etkilememiştir.

Anahtar Kelimeler: İskemi, Reperfüzyon, Oksidatif Stres, Curcuminin, Vasküler endotel.

ABSTRACT

CURCUMIN'S EFFICIENCY IN THE PREVENTION OF VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS OF ISCHEMIA – REPERFUSION INJURY

Sakine GEÇICI

Department of Thoracic Cardiovascular Surgery, Perfusionist Master's Thesis

Background: Previous studies have demonstrated that curcumin has protective effects against ischemia reperfusion (I/R) injury to various organs. We aimed to determine whether Curcumin has favorable effects on vascular endothelium in abdominal aorta ischemia-reperfusion injury.

Materials and methods: Fifteen rats were divided into three groups as sham, control and treatment (CUR) group. Control and CUR groups underwent abdominal aorta ischemia for 60 min followed by a 120 min period of reperfusion. In the CUR group, CUR was given 5 min before reperfusion at a dose of 200 mg/kg via an intraperitoneal route. Total antioxidant capacity (TAC), total oxidative status (TOS), and oxidative stress index (OSI) in blood serum were measured and vascular endothelium tissue histopathology were evaluated with light microscopy.

Results: TAS, TOS and OSI activity in blood samples were statistically decreased in sham and CUR groups compared to the control group ($p < 0.001$ for TAS, TOS and OSI). Vascular endothelium injury scores of sham, CUR and control groups were measured. Histopathological examination revealed no lesions in CUR and control group.

Conclusion: CUR administered intraperitoneally was effective in reducing oxidative stress, but ischemia reperfusion injury was not affected vascular endothelium in an acute abdominal aorta I/R rat model.

Key words: Ischemia, Reperfusion, Oxidative Stress, Curcumin, Vascular endothelium.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. İskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir (1). Enerji ihtiyacının karşılanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için dokuya yada organlara tekrar kan akımının ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir (2,3). Reperfüzyon hasarı ise, iskemi periyodunu izleyen yeniden kanlanma döneminde doku ya da organlarda meydana gelen hasar olarak tanımlanır. Hücre içine moleküler oksijenin sunumuyla hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri en çok sebep olan faktör olmakla birlikte, reperfüzyon hasarından birçok mekanizma rol oynamaktadır (4).

Dokularda iskemi-reperfüzyon (İR) hasarına klinik olarak transplantasyon cerrahisi, turnike uygulaması, serbest doku transferleri, akut kompartman sendromu ve ampute ekstemitenin replantasyonu gibi durumlar neden olabilir (5). Hasarın şiddeti iskeminin süresine, dokunun ısısına ve dokunun yapısına özgün faktörlere bağlı olarak değişir (6). İskemi sırasında iskemik dokuda toksik oksijen radikalleri üretilir. Reperfüzyondan sonra serbest oksijen radikalleri ve süperoksit radikalleri endotel hasarına ve vasküler geçirgenliğin artmasına neden olur. Ayrıca aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler de sistemik inflamatuvar yanıtı başlatırlar (6).

Curcumin, yemeklerde sarı renk veren baharat olarak kullanılan Zerdeçal (hind safranı)'ın içerisinde bulunmaktadır. Zerdeçal (*Curcuma longa*, Turmerik, Hint safranı), Çin ve Hindistan'da yaygın olarak yetiştirilen zencefil ailesine ait sarıçiçekli, büyük yapraklı ve yumrulu çok yıllık otsu bir bitkidir. Tropikal bir bitki olan *Curcuma longa* (*Zingiberaceae*) nın sarı tozundan üretilir. Zerdeçal baharatının en aktif bileşeni, %2-5'ini oluşturan curcumindir (7,8).

Curcumin, doğu toplumlarında özellikle Hint ve Çin geleneksel tıbbında lokal/topikal ve genel kullanım görmüş cilt, mide-barsak hastalıklarıyla yara iyileşmesinde

kullanılmıştır. Bununla birlikte yapılmış olan epidemiyolojik, klinik ve hayvan çalışmaları ile Curcumin'in birçok biyolojik etkisi moleküler mekanizmaları açıklanmaya çalışılmıştır. Antimikrobiale, antioksidan, antiinflamatuar, yara iyileştirici, antimutajenik, antikarsinojenik, antimetazatik, nöro koruyucu, angiogenezi düzenleyici birçok özelliği ispatlanılmış olup dozaşımında toksik özellik göstermeyen doğal bir maddedir (68,69).

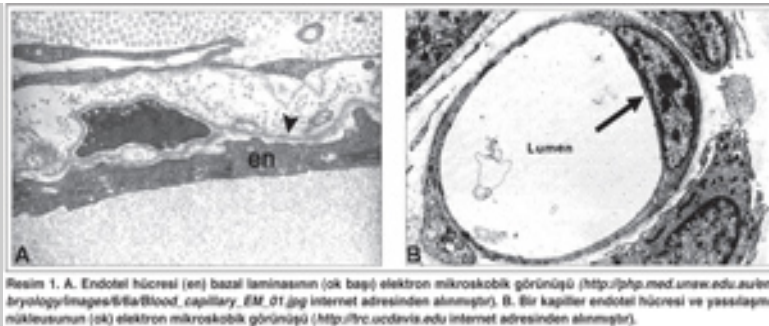
Literatür taramalarında benzer bir çalışmaya rastlamadığımızdan, curcumin'in antieflamatuar, antioksidan, nöro koruyucu ve yara iğleştirmesini hızlandırıcı özelliklerinden dolayı vasküler endotel hücrelerinde iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde de etkinliği olabileceği düşünöldü. Bu amaçla deneysel olarak ratlarda iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturularak curcumin'in endotel hücrelerinde iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde olumlu etkilerinin olup olmadığı klinik gözlem ve histopatolojik olarak değerlendirdik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vasküler Endotel hücreleri

Kan dolaşımı ilk kez 1628 yılında William Harvey tarafından keşfedildi. Kısa bir süre sonra da Malpighi, damar ağının varlığını ve kanla dolaşım arasındaki fiziksel ayırımı tanımladı. 1800'lü yıllarda von Reckingausen damarların sadece boş tünellerden ibaret olmadığını, onların içlerinin hücreler tarafından sarıldığını keşfetti. 1953 yılında Palade'nin elektron mikroskopik ve 1959 yılında Gowan'ın fizyolojik çalışmaları sonrasında, endotel hücreleriyle kan damarlarının immünolojik, metabolik ve sekretuar fonksiyonları keşfedilmeye başlandı (9).

Tüm damarları içten örten endotel hücreleri, tunika intimanın lümene en yakın bölümünde tek sıra olarak bulunur ve altlarında bulunan kendi sentezledikleri bazal laminaya tutunur ([Resim 1A](#)) (10). Endotel hücreleri besin maddelerinin, biyolojik olarak farklı birçok aktif molekülün ve kan hücrelerinin akışını düzenler. Endotel hücreleri bu fonksiyonlarını haricinde gelen sinyalleri değerlendirerek uyarılar yapar. Bu uyarılar endotel hücrelerine membranlar, yada sitoplazmalarında bulunan reseptör proteinler aracılığıyla ulaşır (9). Endotel hücreleri, ilk kez üçüncü haftanın başında vitellus kesesi duvarındaki visseral mezoderm içinde ilk kanı ve damarları oluşturacak boşlukların çevresinde bulunan mezenşimal hücrelerin dış tabakasından farklılaşan anjiyoblastlardan gelişir (11,12).



[Resim 1](#) Endotel hücrelerin histopatolojik incelenmesi.

Damar lümenini içten saran endotel hücrelerinin bilinen birçok önemli fonksiyonu vardır. Endotel hücrelerinin en önemli fonksiyonu trombosit yapışmasını ve pıhtılaşmayı önleyen antitrombotik bir yüzey sağlayarak kan akımını kolaylaştırmaktır (13). Yaralanmada ise sitoplazmasın da bulunan Weibel-Palade granülleri içindeki von Willebrand faktör ve plazminojen aktivatör inhibitörü salgılayarak trombin oluşumuna yardımcı olur. Endotel hücreleri seçici bir bariyerdir. Küçük moleküllerin, sıvıların ve çözülmüş maddelerin kontrollü olarak pinositotik veziküller içinde dokulara geçmesinde seçici geçirgen bir bariyer olarak görev alır (14). Endotel hücreleri, sadece dolaşım ve çevre dokular arasında yapısal bir bariyer değildir. Aynı zamanda kan akımı değişikliklerine, gerilmeye ve enflamasyon mediyatörlerine yanıt olarak çeşitli maddeler salgılayarak kan akımını düzenler. Vazodilatör etkili prostosiklin (prostaglandin- I_2) ve nitrik oksit, vazokonstrüktör etkili endotelin-1, trombosit aktive edici faktör (platelet activating factor; PAF) salgılar (15). Endotelin-1 şu ana kadar bilinen en kuvvetli endojen vazokonstrüktör maddedir (15,16). Aynı zamanda dolaşımdaki kan hücrelerinin trafiğini düzenleyen hücre yüzey moleküllerini de sentezler. Bu moleküller normalde az miktarlarda sentezlenirken, enflamasyon gibi anormal durumlarda daha fazla sentezlenerek, bazı kan hücrelerinin damar dışına çıkmasına yardım eder (17). Endotel hücreleri kendi bazal laminalarını oluşturmak için tip II, tip IV ve tip V kollajen; fibronektin ve laminin sentezler (14,18). Yine granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF), makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi büyüme faktörleri ve heparin sentezler. Endotel hücreleri, uzayan ve filizlenen damarlarda (anjyogenez) benzer hücrelerle kontakt kurar. Bu kontakt endotel hücreleri arasındaki hücre-hücre adezyonlarıyla olur. Adezyonda rol alan moleküller de immünglobulin süper ailesinden PECAM-1 ve vasküler endotelial kaderin (VE-kadherin)'dir. Her ikisi de endotel hücrelerince sentezlenir. Endotel hücreleri, vasküler gelişimde ekstraselüler matrikste ilerleyebilen hücrelerdir. Bu ilerleme, integrinin aracılık ettiği hücre-matriks adezyon kompleksleriyle gerçekleşmektedir (9).

Çeşitli fonksiyonları nedeniyle gün geçtikçe önemi daha çok artan bir hücre tipi olan endotel hücrelerinin 1970'li yıllara kadar in vitro olarak incelenmesi mümkün değildi. 1973 yılında Jaffe'nin Maruyama ve Fryer'in çalışmalarını geliştirip, modifiye etmesiyle ilk defa bu hücreler uygun bir şekilde incelenebilir hale gelmiştir (19,20).

2.2. İskemi

Arteril ya da venöz kan akımının pıhtı veya mekanik etken gibi herhangi bir nedenle azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması ve beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Oksijen hücrel olayların gerçekleşmesi için gerekli olan en önemli maddedir. Oksijen yetersizliği durumunda anaerobik metabolizma devreye girer. Anaerobik metabolizma sonucu olarak laktik asit ve toksik maddeler birikir. Bu durumdan dolayı ortaya çıkan asidoz nedeni ile normal enzim kinetiği değişir ve yüksek enerjili fosfor bağlarının yapımı azalır. Bu durum hücrenin kendi homeostazi için gerekli olan oksijenden yoksun kalmasına yol açar. Hipoksik durumun şiddetine bağlı olarak hücreler üç şekilde tepki gösterir bunlar hücreler adapte olabilir, zedelenebilir ya da ölürlür. Hücre zedelenmesinin en sık görülen tipi iskemidir. Dokuya yetersiz oksijen sunumu ise hipoksi olarak tanımlanır. Hipoksinin en önemli nedeni iskemidir. Bu her iki olayın sonucu olarak iskemi-reperfüzyon hasarının ilk kısmını oluşturmakta ve metabolizmanın anaerobik tarafa kaymasına yol açmaktadır (1, 21).

Dokuların ihtiyacı olan oksijenin yeterince sağlanamaması durumunda hücrelerde anaerobik metabolik yolların kullanımı zorunlu hale gelir. Dokularda meydana gelen iskemi ile azalan oksijen düzeyi laktat birikimine, doku pH'ında düşüşe ve sonunda membran transport sisteminde hasara neden olur. Ayrıca transport sisteminin bozulması ile hücre içi kalsiyum yoğunluğunda artış meydana gelir. Artan kalsiyum çeşitli enzimlere ve ikinci mesajcılara etki eder. Bu durum öncü inflamatuvarların birikmesine, membranların bütünlüğünün ve işlevlerinin olumsuz etkilenmesine ve ayrıca hücre iskeletinin organizasyonunun bozulmasına neden olur. Tüm bu değişiklikler sırasında dokuların enerji depoları tükenirken, biyolojik olarak aktif ajanların (prostakslin, nitrik oksit gibi) üretimi azalır, doku için toksik yeni bileşenlerin oluşum hızında artış olur. Diğer taraftan, süreç boyunca adezyon molekülleri, sitokinlere ilişkin bazı genlerin sentez hızı azalırken, bazı genlerin (cNOS, trombomodulin) iskemik hücrelerde sentez hızı artar (22,23).

İskemiye bağlı hasarın şiddeti, hipoperfüzyonun miktarı ve süresi ile orantılıdır. Hücrenin tipi, yaralanmaya karşı hassasiyeti, diferansiyasyonu, kan ihtiyacı ve metabolizmasına göre farklılık gösterir. İskemiye bazı dokular dirençli iken (kemik, deri), bazı dokular hassastır (iskelet kası, böbrek) (24).

Uzun süreli iskemilerde; hücrel şişme, asidoz, hücre içi kalsiyum/sodyum oranında artış, ATP/fosfokreatin seviyesi azalması, hipoksantin seviye artması, membran potansiyel değişiklikleri, iskelet bütünlüğü kaybı, nükleotid hidrolizi gibi hücre metabolizması ve iskelet yapısını ilgilendiren birçok değişim meydana gelir. İskeminin süresine ve şiddetine bağlı olarak geri dönüşümlü zedelenme ve geri dönüşümsüz zedelenme olarak iki türlü hücrel zedelenme ortaya çıkar (25).

2.3. Reperfüzyon

Reperfüzyon iskemide kalan doku ya da organların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesidir, yani kan akımının tekrar sağlanmasıdır. Reperfüzyon hasarı ise, iskemi periyodunu izleyen yeniden kanlanma döneminde doku ya da organlarda meydana gelen hasar olarak tanımlanır. Reperfüzyonun iskemik dokuda iki olumlu etkisi vardır. Bunlar enerji ihtiyacının sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılmasıdır. Bu açıdan reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilmesi için gerekli bir süreçtir. Oluşan hasarın büyüklüğü iskemi süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Kısa süreli iskemilerde reperfüzyon hasarının şiddeti hafif olurken, iskeminin süresinin uzun ve irreversible hasarın olduğu durumlarda reperfüzyonla birlikte hücrelerin kurtarılması mümkün olmayabilir. Eğer hücrede geridönüşümsüz hasar oluşmamış ise enerji depolar ve hücrel homeostaz geri kazanılır. Reperfüzyon sağlanırken iskemik hücreler geri dönüşümsüz hasara uğrayabilirler. Hatta reperfüzyon sonucunda ortaya çıkan hasar iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan daha aşırı olabilir. İskemi sırasında bazı hücrelerin hasara karşı duyarlı hale gelebileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenler karşısında bütünlüklerini kaybedebilecekleri açıklanmıştır. Duyarlı hale gelmiş bu hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkenin serbest oksijen radikalleri olduğu ileri sürülmüştür. Bunlar endotel ve parankimal hücrelerden ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verebildikleri gibi, protein, DNA ve mitokondrilere de zarar verebilirler. Bunun dışında reperfüzyon esnasında hücre içine kalsiyum akümülyasyonunun masif bir hal aldığı ve ardından kalsiyumun özellikle mitokondrilere alınmasının reperfüzyon hasarının belkemiğini oluşturduğu yönünde kanıtlar mevcuttur. İskemi sırasında dokuda oluşan metabolitler sirkülyasyon olmadığından dokuda birikir. Kan akımının normale dönmesiyle (reperfüzyon) oluşan metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan yolu ile tüm vücuda yayılarak uzak organ hasarından sorumlu olurlar. Reperfüzyon, iskemi sonrası iskeminin bıraktığı hasarı artıran bir potansiyelle sahiptir. Reperfüzyon hasarı

endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon, apoptozisle nekroz ve sellüler karakterizedir. Reperfüzyon hasarına yol açan mekanizmalar, bir düzen içindedirler (26).

2.4. İskemi-Reperfüzyon Mekanizması ve hasarı

İskemi-reperfüzyondan (I/R) en çok etkilenen hücreler mikrovasküler damar endotel hücreleridir. Bu süreç boyunca oluşan serbest oksijen radikalleri endotel hücrelerinin şişmesine ve kapiller geçirgenliğin artmasına neden olur. Arteriyollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Kapillerlerde lokosit tıkaçarı oluşur, sıvı filtrasyonu artar. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve lokositlerin hareketliliği başlar. Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla serbest oksijen radikalleri (SOR) ve daha az nitrik oksit (NO) üretir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikali ve nitrik oksit arasındaki dengesizlik inflamatuvar mediyatörlerin üretim ve salınımına öncülük ederken adhezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır. Reperfüzyon oluşurken normale dönmeye çalışan kan akımı ile birlikte, hali hazırda bol miktarda salınmış bulunan inflamatuvar substratların iskemik alana ulaşımı da sağlanır. Aktifleşen nötrofiller ve inflamatuvar hücrelerle birlikte bölgesel hasarın çok daha genişlemesine yol açar. Reperfüzyon hasarının boyutu dokudan dokuya değişmektedir. Deri ve kemik dokuları, iskelet kası ve intestinal mukozaya göre I/R'ye daha dayanıklıdır. İskemi-reperfüzyon periyodunun uzunluğu ve derinliği, doku mikrosirkülasyonunun geri dönüşümünü, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarını değişik derecelerde etkileyerek hasarın büyümesine neden olmaktadır (21, 27, 28).

İskeminin uzaması hücrede metabolik ve yapısal değişikliklere yol açar. İskemi nedeniyle hücresel oksidatif fosforilasyon azalır. Hücre membranında adenosin trifosfat (ATP) bağımlı iyon pompası fonksiyonunun bozulması sonucu hücre içine kalsiyum (Ca⁺⁺), sodyum (Na⁺) ve su girişi artar. İskemi sırasında adenin nükleotid katabolizması sonucu hücre içine hipoksantin birikir. Bu arada endotelde bazı proinflamatuvar ürünlerin (lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A₂) yapımı artarken, diğer bazı koruyucu ürünlerin (yapısal nitrikoksit sentaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, NO) yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durum başlatır (29).

İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak, bir kısım hücre nekroz veya apoptozis ile üremeye devam eder. Etkilenen dokularda genellikle nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Parenkimal hücreler, endotel hücreleri ve lökositlerce SOR yapımı artar. Bu arada hasarlı mitokondrilerde oksijen yetersizliği veya alternatif yollardan oksijenin indirgenmesi ile de SOR oluşabilir. Hücrel antioksidan savunma sistemleri de iskemi nedeniyle zayıflar (29).

İskemi reperfüzyon hasarında fizyopatolojik değişikliklere sebep olan faktörler:

- a) Serbest oksijen radikalleri
- b) Kompleman sistemi
- c) Endotel hücreleri
- d) Polimorf nüveli lökositler (PMNL),

2.5. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren kimyasal bileşiklerdir. Paylaşılmamış elektrona sahip moleküller kararsız bir halde bulunurlar. Başka bir moleküle etkileşime girerek, dış yörüngesindeki elektronu eşleme ve kararlı duruma gelme eğilimindedirler. Böylece bu moleküller herhangi bir molekül ile etkileşime girerek, elektron alırlar veya verirler (30,31).

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı söz konusudur. Hücrel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir.

2.5.a Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksid (NO), aktive nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranıdır.

Oksijen

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar, dönüşleri aynı yönde ve farklı yörüngelerde iken en düşük enerji seviyesindedirler. Radikal tanımına göre oksijen diradikal yapıya sahip bir moleküldür. Diradikal yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekülle tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de benzer yapıda olması gerekmektedir. Oysa başta organik moleküller olmak üzere, atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama spin kısıtlaması olarak adlandırılır (30).

Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar geçiş elementleri sınıfından bazı metal iyonlarından yararlanırlar. Geçiş elementlerinden demir, bakır, manganez, çinko, kobalt ve molibden vücudun gereksinim duyduğu başlıca eser elementler olup, bu elementler dış orbitallerinde bir veya daha fazla sayıda paylaşılmamış elektron içerirler. Canlılarda oksijeni kullanan enzimler ya da oksijenle etkileşime giren proteinler, bu elementlerden en az bir tanesini içermek zorundadırlar (30). Endojen SOR, enzimatik tepkimeler, enzimatik olmayan tepkimeler ve mitokondriyal elektron transportu sürecinde oluşabilir.

Aktive Nötrofiller

Reperfüzyon hasarının en önemli hücresel elemanı polimorfonükleer lökositlerden olan nötrofillerdir. Aktive olmuş nötrofiller, hücre zarlarındaki NADPH-oksidadaz enzimi aracılığı ile moleküler oksijeni süperoksit iyonuna indirgerler. Süperoksit, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit, klorür iyonlarının mevcudiyetinde, nötrofillerin azurofilik granüllerinde bulunan myeloperoksidadaz enzimi aracılığı ile hipoklorik asite indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir (32).

Nitrik Oksit

Aynı anda farklı hücre türlerinde sentezlenen, otokrin veya parakrin mediatör fonksiyonu gören NO, yağda çözünür ve biyolojik membranlardan kolaylıkla geçer.

Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girer. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'e antioksidan bir etki kazandırır. Süperoksit ile NO arasındaki tepkime ile oluşan peroksinitrit, hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahip olup radikalik tepkimeleri başlatmaya ilave olarak biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda NO stabil değildir, derişiminin artması ile oksidasyonu hızlanır. Bu nedenle ortamdaki derişimi ile kendi ömrü arasında ters bir orantı vardır. Özellikler indüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'in dolaylı etkilerinden sorumlu olup; hücresel moleküllerin nitrozilasyonuna nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna neden olabilirler (30).

Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulum, sitokrom p450 ve sitokrom b5 enzim sistemleri aracılığı ile yağ asitleri ve ksenobiyotiklerin oksidasyonunu gerçekleştirirken serbest radikalleri oluşturabilir.

Peroksizomlar

Peroksizomlar, D-aminoasid oksidaz, urat oksidaz, Açıl Koenzim A oksidaz gibi enzimleri içerdiğinden önemli bir hidrojen peroksit kaynağıdır.

Plazma Membranları

Hücre mebranında siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri ile prostaglandin ve lökotrienlerin oluşumu sırasında hidrosi ve peroksi radikalleri açığa çıkabilmektedir (33).

Serbest Radikallere Bağlı Hücresel Hasar

Reperfüzyon döneminde oluşan serbest radikallere bağlı olarak, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarında değişik derecelerde hasar oluşmaktadır. Bu hasara en fazla duyarlı olan yapılar membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve DNA molekülleridir (31).

2.5.b.Kompleman sistemi

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sistemi tam olarak bilinmemektedir. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır: (34)

- Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1)
- İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)
- E-selektin
- P-selektin

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (35, 36).

2.5.c. Endotel hücreleri

İskemi reperfüzyon hasarının oluşmasında endotel hücrelerinin büyük sebebi vardır. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İskemi reperfüzyon hasarında endotelin/ NO oranı

endotelin lehine bozular. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon oluşur (37).

Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive olur; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artışı olur. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak İL-1, PAF, prostaglandinler (PG I₂, PG E₂), GM-CSF, büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A₂ (TxA₂) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama potansiyeline sahiptirler (38).

Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipit radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobinin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'in dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler (39).

2.5.d. Polimorf nüveli lökositler (PMNL)

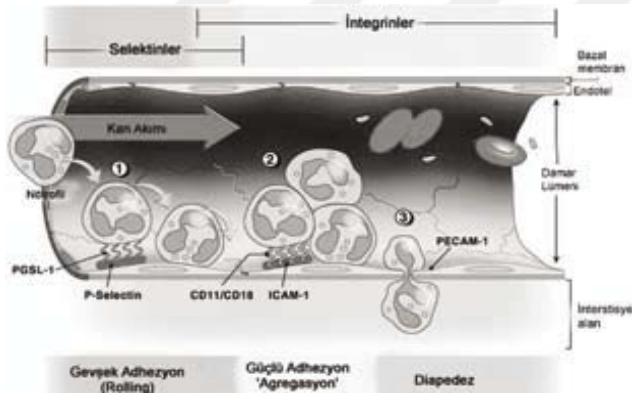
Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adhezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabiledaki artıştan bazı nötrofillerin sebep olduğunu göstermiştir.(40) İskemi reperfüzyon ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir(41). Öte yandan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (42). Bunlar:

- 1) Mikrovasküler oklüzyon;
- 2) SOR salınması;
- 3) Sitotoksik enzim salınması;
- 4) Vasküler permeabilite artışı;

5) Sitokin salınmasında artırır.

PMN'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyeden oluşmaktadır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile, trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaştınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis) (43) (Şekil 1).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökatrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve



Şekil 1: Lökosit-endotel etkileşiminde lökosit adhezyon molekülleri ve lökosit göçünün şemate edilmesi.

prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-a) sentezine yol açar.(41) Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarırlar. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde

oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar. Yapılan son çalışmalarda; nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozisin gelişmesi, normalde immün sistemin ve vücut homeostazının vazgeçilmez bir bileşenidir (44). Hücre ölüm yolağındaki düzensizlikler, iskemi-reperfüzyon hasarının yanı sıra, kanser, otoimmün hastalıklar, immün sistem bozuklukları ve nörodejeneratif hastalıklara da yol açabilmektedir.

Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıt şu mekanizmalar ile gerçekleştirilir: (45,46)

- Fosfolipaz A2 aktivasyonu araşidonik asit metabolitleri (prostoglandinler ve lökotrienler) sonucu üretilir.
- Degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınır.
- SOR üretimi gerçekleşir.

Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü araçlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirirler. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya yoğunluğunu azaltmaya yönelik bu inflamatuvar yanıt sonucu, mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve makrofajlar aracılığıyla lenfatik dolaşım yoluyla ortamdan uzaklaştırılırlar (45).

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF, TNF-a gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur (46,47).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ/R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz ezimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde ksantin-oksidad'ın artması ile SOR'un salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksida dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır (48).

2.6. İskemi- Reperfüzyon Hasarının Kalp Üzerindeki Etkileri

Kalpte, İskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak miyokardiyal sersemleme, reperfüzyon aritmileri, miyositlerde nekroz, koroner endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon görülebilir.

Miyokardiyal sersemleme, iskemi-reperfüzyona bağlı olarak geri dönüşsüz hasar olmamasına ve reperfüzyonun tam veya tama yakın bir şekilde sürmesine rağmen kalpte oluşan uzamış mekanik fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanır (49).

Miyokardiyal sersemleme genellikle global iskemik ataklardan sonra görülür (49). Fakat kısa süreli iskemiye takip eden dönemlerde bile miyokardiyal sersemleme beklenmedik derecede uzun sürebilir. Örneğin köpek kalbinde oluşturulan 15 dk'lık iskeminin, 24 saatlik miyokardiyal sersemleme oluşturduğu gözlenmiştir (50). İskemik periyodu takip eden reperfüzyon dönemi ölümcül aritmilere zemin hazırlayabilir. Oluşan aritmiler genellikle idioventrikülerdir ve en fazla ventriküler taşikardi ve fibrilasyon gözlenir (51).

Kalp hücrelerinde nekroz gelişimi iskemi-reperfüzyon döneminde harekete geçen mekanizmaların ortak sonucudur. Bununla birlikte reperfüzyon döneminin ilk dakikalarında gelişen nekrozun başlıca sebebi kalp hücrelerinde gelişen kontraktürdür (52).

Reperfüzyonun erken dönemlerinde ortaya çıkan koroner endotelial disfonksiyonun, köpek ve kedi kalplerinde yapılan çalışmalarda 4- 12 haftaya kadar sürebildiği gösterilmiştir. Reperfüzyonun ilk 2 ila 5 dakikalık bölümünde endotelial disfonksiyonla beraber NO formasyonunda azalma ve 20 dakikadan sonraki bölümde ise lökosit varlığı gözlenebilir (51). Sadece iskemi uygulanan kalplerde koroner endotelial disfonksiyon 2 ila 3 saat sürer ve 4- 6 saat sonra herhangi bir histolojik bulgu gelişmez (53).

Koroner endotelial disfonksiyon sonucu vazodilatör cevap azalır. Güçlü vazokonstriktör etkileri bulunan endotelin- 1 ve SOR oluşumu, koroner vazokonstriksiyona yol açarak kan akımında azalma meydana getirir (54).

İskemi- reperfüzyon sonrası oluşan endotelial disfonksiyon, trombositlerin yol açtığı mikrovasküler tıkanıklık, ödem ve oksidatif hasar mikrovasküler disfonksiyona sebep olur. Mikrovasküler disfonksiyonun olduğu kalp bölgelerinde reperfüzyon döneminde kan akımı kısıtlanır ve hipoperfüze alanlar görülür (55,56). Ayrıca kalbin yeniden damarlanması ve sol ventikül serbest duvarında oluşabilen rüptür mikrovasküler disfonksiyonun sebep olduğu olaylardır (57,58).

2.7. Aort Cerrahisinde İskemi Reperfüzyon Hasarı

Organ korunumuna ilişkin modern yaklaşımlara rağmen abdominal aortik anevrizmaların(AAA) tamirinde yapılan girişimler ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkilidir (86, 87). İskemi hasarına bağlı olarak gelişen sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (SIRS; systemic inflammatory response syndrome) ve çoklu organ yetmezliği (MOF; multiorgan failure) lokal veya uzak doku hasarına yol açarak rüptüre abdominal aortik anevrizmalarında (RAAA; ruptured abdominal aortic aneurysm) mortalite riskini artırmaktadır. Öyle ki anevrizmaya cerrahi müdahale yapılmazdan önce MOF sıklığı % 3.8 iken cerrahi girişim sonrasında %64'e yükselmiştir (88). Torakoabdominal aortik anevrizmalarına (TAAA; thoracoabdominal aortic aneurysm) yapılan cerrahi girişimler de oldukça kompleks ve zorlu müdahalelerdir. Bu girişimlerin neticesinde solunum yetmezliği, böbrek yetmezliği, nörolojik

hasar ve hatta ölüm bile beklenebilir. Tüm bu sonuçlar İR-hasarına bağlı olarak gelişen sistemik enflamatuvar yanıtın sonuçları olarak ortaya çıkmaktadır. Yetersiz veya sonlanmış heparin uygulaması sonucu oluşan mikrotrombuslar, aortik klemping ile gelişen iskemi ile ilişkilidir. Mikrotrombus oluşumu MOF gibi histopatolojik ve fonksiyonel değişiklikleri de beraberinde getirir. Bu girişimlerde tek sorumlu aort klempisi değildir. Antikoagülasyon için kullanılan heparin doğrudan antienflamatuvar etkiye sahiptir. Heparinin antienflamatuvar ve antikoagülasyondaki rolü çeşitli enzimler, hormonlar, biyojenik aminler ve plazma proteinleriyle ilişkilidir (86).

2.8. Antioksidanlar

Organizmanın antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok gereklidir. İskemi-reperfüzyon hasarlanmasını inhibe eden pek çok endojen mekanizma bulunmakla beraber, ekzojen olarak da hasarlanmayı engelleyebilen bir çok ilaç tanımlanmıştır. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan "antioksidan savunma sistemi" dört yolla etki göstermektedir (59).

1. Süpürücü etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler (60,61).
2. İnaktif şekle dönüştürücü etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler (62).
3. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller gösterirler (63).
4. Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde gösterirler (64).

Endojen kaynaklı veya ekzojen kaynaklı olan antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin ortaya konmasında İR hasarı modelleri önemli katkı sağlamıştır. Antioksidan özelliği öne sürülmüş pek çok madde çeşitli İR modellerinde test edilerek değerlendirilmiştir.

A. Endojen antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

1. Enzim olan endojen antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSHPx), Glutasyon S-Transferaz (GST), Katalaz, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz (65).

2. Enzim olmayan endojen antioksidanlar:

Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Miyogloblin, Hemogloblin, Ferritin, Bilirubin, Glutasyon, Sistein, Metiyonin, Ürat, Laktoferrin, Albümin (66).

B. Eksojen antioksidanlar

1. Vitamin eksojen antioksidanlar:

a-tokoferol (vitamin E),

b-karoten, Askorbik asit (vitamin)

c-Folik asit (folat).

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır.

Aynı zamanda SOD, lipit peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (67).

Katalaz (CAT)

Katalaz peroksisomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek oranlarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (67).

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonun da çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır (67).

Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar.

Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (67).

Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksidlere karşı glutasyon-S-transferazlar "Selenyum" bağımsız aktivite göstermektedirler (67).

Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (67).

Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (67).

2.9. Curcumin

Çin ve hindistanda yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Curcuma longa tropik iklimlerde ve Hint yarımadası boyunca doğal olarak yetişir. Kısa saplı uzun ömürlü bir bitki olup boyları 100 cm e kadar büyüyebilir. Eğri, oval veya dikdörtgen şeklinde yapraklar ile güzel canlı beyaz çiçekler ve silindirik rizomlara sahiptirler. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Turmeriğin aktif maddesi olan curcumin [(CUR) (difuruloylmetan)] gıda endüstrisinde katkı maddesi, tatlandırıcı, koruyucu ve renklendirici ajan olarak hardal, margarin, meşrubat veya içeceklerde ayrıca portakal sarısı rengi ile gıda boyası olarak da kullanılmaktadır. Çok iyi bilinen ve sıklıkla kullanılan köri baharatının da ana komponentidir Curcumin genellikle zerdeçalın içerisinde ortalama olarak %3 düzeyinde mevcuttur. Asyalılar zerdeçalı ülkelerinde yaraların ve ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadırlar (68).



Resim 2 A. *Curcuma longa* bitki hali; B. Taze köksapı ve C. Kurutulmuş toz hali (Kaynak: Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment Basnet P,Skalko-Basnet N. Molecules 2011, 16, 4567- 4598; doi:10.3390/ molecules16064567)

Curcuminin (Turmeric) tarihi 5000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Günümüzde, geleneksel tedavi amacıyla kullanılan, bitkisel kökenli bileşiklerden biri olan ve geçmişte sonsuz hayat kaynağı olarak adlandırılan İlk olarak Marco Polo'nun 1280 yılında Hindistan ve Çin'e yaptığı seyahatler sırasında yazdığı notlarda adı geçen Turmeric, Avrupa'ya 13. yy. da Arap seyyahlar tarafından getirilen ve curcumin içeren bir baharattır (69). *Curcuma longa* bitkisinin, kök ve sap kısımlarının kurutulup toz haline dönüştürülmesiyle elde edilen, Hindistan'da Haldi olarak adlandırılan bu bitki, curcumin bileşiğinin temel kaynaklarından (68).

Curcumin ile ilgili ilk kaydedilen bilimsel makale 1748 yılında yayınlanmış olup tumeric ile ilgili ilk farmakolojik inceleme ise 67 yıl sonra ortaya çıkmıştır. Yüzyıllardır romatizma, vücut ağrıları, cilt hastalıkları, yaralar, bağırsak solucanları, ishal, aralıklı ateş, karaciğer bozuklukları, huysuzluk, üriner deşarjı, dispepsi, kabızlık, leukoderma, amenore ve kolik iltihabı gibi hastalıkların bir çeşitlilik tedavisi için geleneksel bir ilaç olarak, yaygın olarak kullanılmaktadır (68).

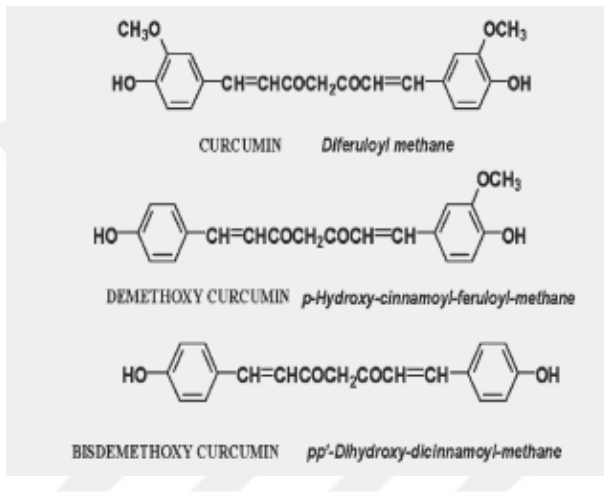
Curcumin Kimyasal Yapısı

Metabolizması

CUR suda çözünmez, hücre membranının hidrofobik yapılarında lokalize olur. CUR yapısı nedeniyle hücrelere hızlıca penetre olur, plazma membranından hızlıca geçip sitozole girer. Lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı, endoplazmik retikulum ve çekirdek

kılıfı gibi membranöz yapıların içinde toplanmaktadır. CUR sistemik dolaşımında çok düşük düzeyde bulunur ya da hiç bulunmaz.

Tetrahydrocurcumin, CUR'un barsaklardan emilimi sırasında renksiz ve daha az polar olan metabolitidir. Tetrahydrocurcumin barsaklardan emilerek tüm dokulara dağılmaktadır. Tetrahydrocurcumin karaciğerde glukuronik asitle islenerek safra yolu ile atılmaktadır. Ağızdan alınan CUR'un yaklaşık % 75'i gaitayla, geri kalan kısmı idrarla atılmaktadır. İntraperitoneal uygulamalarda da vücuttan atılımı benzerdir (70).



Şekil 2: Curcumunoidlerin kimyasal yapısı

Moleküler Özellikleri

CUR genel olarak doğal ve yapay CUR şeklinde sınıflandırılmaktadır. CUR, demetoksicurcumin, bisdimetoksicurcumin doğal olarak bulunan bileşiklerdir (71).

Suda çözünmeyen CUR, etanol, keton, asetik asit ve kloroformda çözünür. Ticari CUR aseton içinde eritildikten sonra kromatografik yöntemle subfraksiyonlara ayrılarak %77 CUR, %17 dimetoksicurcumin ve %3 bisdemetoksicurcumin izole edilir (71).

Curcuminin Antioksidan ve Anti-inflamatur Etkileri

Oksidatif stresler miyokard iskemisi, serebral iskemi – reperfüzyon hasarı, hemoraji ve şok, nöronal hücre hasarı, hipoksi ve kanserde en büyük etkiye sahiptir. Curcuminin, Vitamin

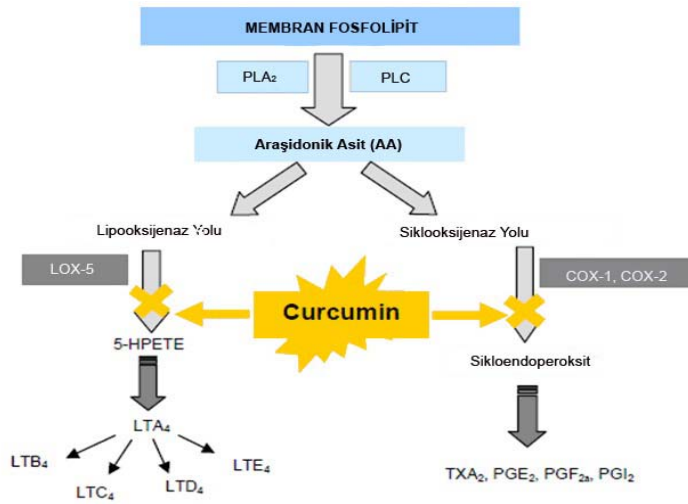
C ve E ile karşılaştırılabilir antioksidan aktivitesi mevcuttur (72) Birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de süperoksid anyon radikallarının, nitrojen dioksit radikallerinin ve hidroksil radikallerinin atımını kolaylaştırır (73). Vasküler endotelial hücrelerde oksidanların aracı olduğu zararı azaltır. Ayrıca lipid peroksidasyonunu da birçok hayvan modelinde inhibe etmektedir. İskemiye bağlı hasarı fare, kedi ve tavşan modellerinde myokard üzerinde azaltır. Karaciğer iskemik hasarında artan Serum Aspartat Transaminaz düzeyleri Curcumin ile tedavi edilmiş hayvan modellerinde azalır. Curcuminin diete eklenmesi ile nörodegeneratif hastalıklardan olan Alzheimer hastalığından korunulmuş olunur. Fare fokal serebral iskemik modellerinde Curcumin belirgin nörokoruyucu etkinliği; lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi, endogen antioksidan savunma enzimlerini artırması ve peroksinitrit (OONO⁻) oluşumunu azaltması ile oluşmaktadır (74).

Yüksek glikoz konsantrasyonu oksidatif stres ile birlikte lipid peroksidasyonu ve proteinlerin glikozilasyonu artmaktadır. Bu, glikozun otooksidasyonu ile ortaya çıkan aşırı oksijen radikal oluşumu, glikozile olmuş proteinler veya sitokrom P-450'e benzer aktivite ile glikoz metabolizmasında NADPH'in aşırı üretimi ile olmaktadır. Curcumin kırmızı kan hücrelerinde proteinlerin glikozilasyonu ile lipid peroksidasyonunu yüksek glikoz maruz kalımda azaltmaktadır. Curcumin, farelerde Streptozotocin ile oluşturulmuş diabetes mellitusta serbest oksijen radikali oluşumu azaltılmıştır (75). Curcuminin hücrel oksidatif stres baskılamasının temeli halen net olarak bilinmemektedir. Fakat Glutasyon redüktaz veya diğer bazı antioksidatif enzimler ile oksijen radikallerini etkisizleştirme işini yüksek glikoz değerlerinde yaptığı söylenebilmektedir. Vasküler inflamasyon ve kardiovasküler hastalıklar, Diabetik popülasyonlarda morbidite ve mortalite için önemli bir etkidir.

Kolesterol ile beslenmiş tavşanlarda koruyucu etkisinin yanında (76), H₂O₂ ile uygulanmış insan renal epitelyal (LLC-PK1) hücrelerinde de hücre koruyucu etkisi gösterilmiştir (77).

Oksidatif stres ve oksidatif hasara neden olan reaktif oksijen türleri birçok kronik inflamasyonun ve dejeneratif hastalığın patofizyolojisinde yer almaktadır. Serbest radikallerin sorumluluğu esasen reaktif oksijen türleri üzerinedir. COX; Araşidonik Asit, Tromboksan ve Prostoglandin metabolizmasının anahtar enzimidir. 2 farklı isoforma sahiptir. COX-1 dokuların büyük kısmında varolup evin hanımı da denilebilir. Baskılanması halinde peptik

ülser veya renal kan akımında yetersizlikler oluşabilir. Farklı olarak beyin ve spinal kord dokusunda eksprese olmakta, geniş çeşitlilikteki normal dokuları ovulasyon ve hamilelikte hormonlar yolu ile, sitokinler, büyüme faktörleri, onkogenler ve tümör uyarıcılar üzerinden etkili olmaktadır. COX-2 aşırı ekspresyonunda kolon, rektum, meme, baş-boyun, akciğer, pankreas, mide ve prostat tümörlerinde karsinogenezis gözlenebilmektedir. Curcuminin COX-2 uyarımını baskılması in vitro şartlarda ağız ve kolon epitel hücrelerinde gösterilmiştir. Böylelikle inflamatuvar prostaglandinlerin sentezini baskılar (77). (Şekil3)



COX: siklooksijenaz HPETE: Hidroperoksikostetronat LOX: Lipooksijenaz LT: Lökotrien
PL: fosfolipaz PG: Prostaglandin TX: Tromboksan

Şekil 3. Curcuminin araşidonic kaskadı üzerine inhibitör etkisini gösteren şema. (Kaynak: Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment Basnet P,Skalko-Basnet N. Molecules 2011, 16, 4567- 4598; doi:10.3390/ molecules16064567)

Curcumin yara iyileşmesinin erken dönemlerinde Nitrik Oksit üretimini artırmaktadır. Ex-vivo çalışmalarda makrofajların uyarılabilir NO Sentetaz aktivitesi curcuminin 1– 20 IM konsantrasyonlarında artmaktadır. NO üzerinden cGMP aracılığıyla trombositlerin hem aggregasyonunu hem de adezyonunu inhibe ederek trombus oluşumunu engeller (78). (Şekil 4)



Şekil 4. Curcumininin flamatör medyatörler üzerine etkileri.(Kaynak: Glen et all. Curcumin: The potential for efficacy in gastrointestinal diseases. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 25 (2011) 519–534)

Curcumin'in Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi

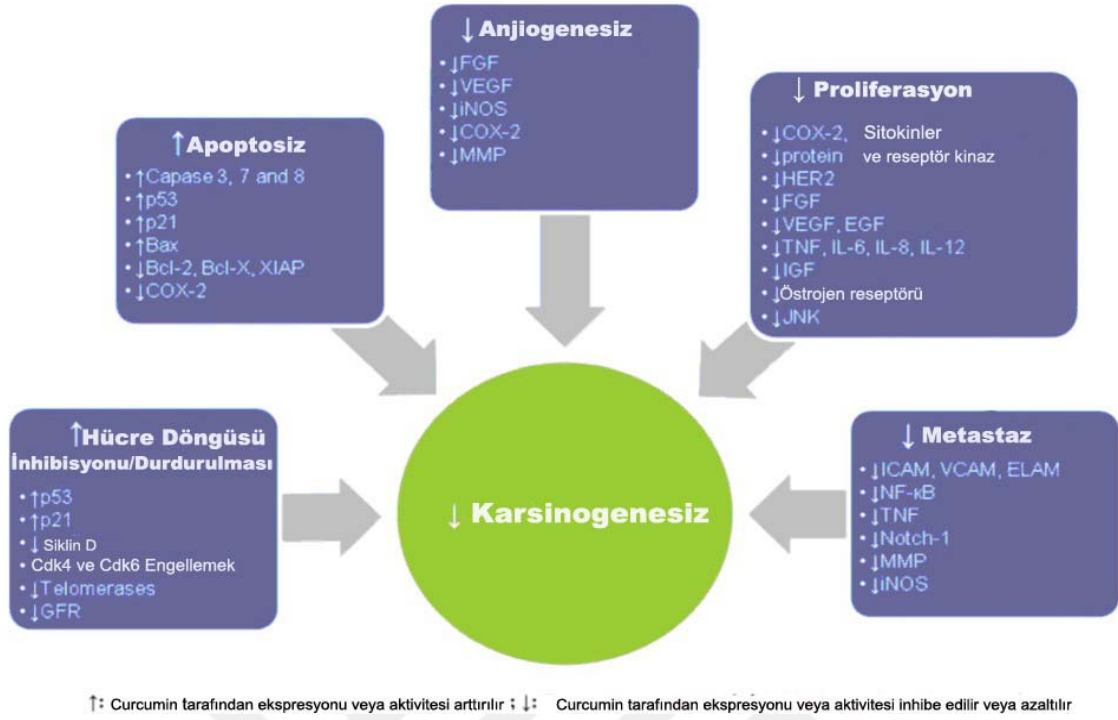
Zerdeçalın lokal uygulaması Hindistan'da cilt hastalıklarında, böcek ısırıklarında ve su çiçeğinde kullanım görmektedir. Uzun yıllardır yara iyileşmesinde alternatif tıbbi destek olarak kullanılmaktadır. Curcumin ile tedavi edilmiş yaradaki miyofibroblastlarda yara kontraksiyonu daha hızlı olmaktadır. Curcumin tedavisi sonucunda fibronektin (FN) ve kollagen ekspresyonu artmaktadır. Ayrıca granülasyon dokusunun oluşumu ile neovaskularizasyon, reepitelizasyonu diabetik ve hidrokortizon ile oluşturulmuş fare yara modellerinde artırmaktadır. Curcuminin insan keratinositlerinde ve fibroblastlarında hidrojen peroksitide bağlı hasarı azalttığı gösterilmiştir (79). Jagetia, vücut yarımını multiple fraksiyone dozlarda iradiye ederek İsveç albino farelerinde yara iyileşmesine bakmış; radyasyon maruziyeti sonrası 4, 8, 12.inci günlerde incelenen hayvanlarda doza bağımlı yara kontraksiyonları ve yara iyileşmeleri değerlendirmiştir. Tedavi öncesi uygulanan curcuminin yara kontraksiyonunda belirgin artış ile ortalama yara iyileşme zamanını kısalttığını göstermiştir. Curcumin tedavisi ile radyasyon öncesi kollagen, heksozamin, DNA, nitrat, nitrit sentezi artmış yara biopsilerinde ise kollagen birikimleri, fibroblast ve vasküler yoğunluklarda da artış saptamıştır (80).

Curcumin'in Angiogenezi Düzenleyici Etkisi

Angiogenez, yeni vasküler kapiller kanalların oluşumu ile karakterize fizyolojik bir süreçtir. Bu basamaklar embriyonik gelişimden, üretim süreçlerine, yara iyileşmesinden kemik iyileşmesine dek uzamaktadır. Diğer taraftan da kontrol edilmemiş angiogeneze bağlı olan birçok patolojik durum da mevcuttur. Tümör büyümesi, Romatoid Artrit, Diabetik Retinopati ve hemanjiomlar sayılabilir. Son 30 yılda primer tümörün büyümesinde ve onun uzak organ metastazlarında angiogenezin etkin bir rolü olmasıyla ilgili yoğun çalışmalar yapılmıştır (81). Kontrolsüz anjiogenezin düzenleyicisi olarak birçok modelde Curcumin kullanımı faydalı olmuştur. Laboratuvar şartlarında İnsan Umbilikal Ven Endotelyal hücrelerinde, fare oral mukoza hücrelerinde ve tavuk korioallantoik membran hücrelerinde Curcumin ile angiogenik farklılaşma inhibe edilmiştir (82). Farklı bir çalışmada temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) uyarısı ile korneal neovaskularizasyon fare korneasında inhibe edilmiştir. Bu etki, Curcumin analoglarının angiogenez ile ilişkili genlerin aşırı ekspresyonunu azaltması ile açıklanabilir. Curcumin ve analogları metalloproteinazları inhibe ederek tümörel dokularda angiogenezi azaltırlar (83).

Curcumin'in Anti-kanser Etkisi

In vivo ve in vitro çalışmalarla inhibitör etkisini karsinogenezin üç basamağında da; tümör artışı, angiogenez ve tümör büyümesinde etkilidir. Curcumin mitogen uyarımlı kan mononükleer hücrelerinin çoğalmasını baskılamakta; nötrofil aktivasyonunu inhibe etmekte, lenfositik reaksiyonlarda ve serumla uyarılmış veya trombosit kaynaklı büyüme faktörlerine bağlı düz kas hücrelerindeki mitogenezi baskılamaktadır. Son çalışmalarla Curcuminin doza bağımlı birçok hayvanda tümöre karşı kimyasal koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bu koruyuculuk kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat ve oral kanserlerde gösterilmiştir. Curcuminin antikarsinojenik ve kimyasal koruyucu etkisinin moleküler temeli transkripsiyon faktörleri, büyüme düzenleyicileri adhezyon molekülleri, apoptotik genler, angiogenez düzenleyicileri ve hücrel sinyal molekülleri üzerinden olduğu kabul edilmektedir. Curcumin Siklooksijenaz enzimlerini, protein kinaz C'yi ve protein tirozin kinazları son olarak da araşidonik asit metabolizmasında sitozolik fosfolipaz A2 fosforilasyonunu bloke etmesi antiinflamatuvar ve antikarsinojenik etkilerine katkıda bulunur. Melanom, baş-boyun Epidermoid kanseri hücrelerinin apoptozunu da uyararak koruyucu etki göstermektedir (84).



Şekil 5. Curcuminin karsinogenesisin hüresel medyatörleri üzerine etkisi.(Kaynak: Glen et all.Curcumin: The potential for efficacy in gastrointestinal diseases. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 25 (2011) 519–534)

1.9.6. Curcumin'in Antimikrobiale Etkinliği

Yiyeceklerde ve giyim ürünlerinde renk verme amacının dışında E.Coli ve S.Aureus'a karşı bakterisidal etkinlik göstermesi nedeniyle önerilmiş ve bu etkinliği mikrobiyolojik olarak da ispatlanılmıştır. İnsan immun yetersizliği (HİV) tip 1 ve tip 2'de de Antiviral, Antimalaryal, Antifungal, Anti-protozoal(Leishmania major) etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Antimikrobiyal ajan olarak da halen Hindistan'da kullanılmaktadır (68).

Güvenlik: İntraperitoneal Curcumin (0.1g/kg)'in farelerde ilk olarak dihidro ve tetrahydrocurcumine biotransforme olduğu sonraki aşamada ise dakikalar içerisinde monoglukuronit ürünlerine dönüştüğu gösterilmiştir. Serum curcumin konsantrasyonları en yüksek oral alımın ardından 1–2 saat sonra saptanılmış ve daha sonra 12 saat içinde de kademeli olarak azaldığı gösterilmiştir.

Curcuminle yapılmış hayvan çalışmalarında 5 g/kg'ın üzerindeki dozlarda bile toksisite bulgularına Sprague-Dawley ratlarında rastlanılmamıştır. Sistemik prelinik çalışmalarda Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü Korunma Bölümünde ratlarda, köpeklerde maymunlarda 3.5 g/kg üzerindeki dozlarda 3 aydan uzun kullanımda yan etki saptanmamıştır. Tayvan'da yapılmış diğer yüksek doz Curcumin çalışmasında 8 g/gün 3 ay boyunca pre-invaziv malign veya yüksek riskli premalign durumlarda kullanılmış toksisiteye rastlanılmamıştır. Diare ve karın ağrısı, Curcumine bağlı 2 gastrointestinal yan etki olup; bunlar ilaç toksisitesinden çok hastalık ilerleyişine bağlanılmıştır (85).



3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Dollvet 24.09.2013 tarihli hayvan etik kurul onayı (Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.04.2012 tarih B.30.2.HRÜ.0.05.07.00/270) sayılı onay kararı alındıktan sonra, Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından Resmi Gazete'nin 6 Temmuz 2006 tarih ve 2622 sayılı nüshasında yayımlanan Hayvan Deneyleleri Etik kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına dair Yönetmelik ile Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1 Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Ortalama ağırlıkları 250- 300- 240 gr. olan 15 adet Wistar-albino cinsi rat randomize olarak eşit sayıda (n = 5) 3 gruba ayrıldı. Ratlar çalışma öncesinde oda sıcaklığında ve 12 saat ışık 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Tüm ratlar standart koşullar altında şebeke suyu ve standart rat yemi ile beslendi. Girişimden 8 saat önce tüm ratların beslenmesi kesildi.

3.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli

Deneyde kullanılan tüm ratlara 8 saat açlık sonrasında Ketamin 87 mg/kg intraperitoneal olarak (Ketalar; Parke Davis, Eczacıbası, İstanbul, Türkiye) ve Xylazine 13 mg/kg (Rompun; Bayer AG, Leverkusen, Germany) dozlarında yapıldı. Gerekli olduğunda deney süresince bir kez olmak üzere ek doz yapılması planlandı. Ciltleri aseptik olarak hazırlanan ratlara orta hat laparotomi yapıldı. Barsakların ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılması ardından, infrarenal abdominal aorta (IAA), dikkatli bir şekilde explore edildi. İAA'ya, travmatik olmayan bir mikrovasküler klemp konuldu. 60 dakika sonra İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırıldı ve 60 dakika süreyle reperfüzyon sağlandı. Aortik iskemi; klempleme işlemi sırasında distal aortada pulsasyonun kaybolmasıyla, aortik reperfüzyon ise; klempin kaldırılması sonrası distal aortada pulsasyonun geri gelmesiyle onaylandı. Kontrol grubunu oluşturacak ratlarda laparotomi ve abdominal aort diseksiyonu eşit sürede (120 dakika) uygulandı ancak bu grupta İ-R oluşturulmadı. İ-R dönemlerinde peritoneal boşluktan ısı ve sıvı kaybını en az miktara indirmek için; İAA'ya klemp konulması ve kaldırılması sonrası dönemlerinde, peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp, batın

insizyonu geçici olarak ıslak gazlı bez ile sarılarak kapatıldı. Reperfüzyon süresi sonunda; tüm ratlarda, median laparotomi kesisi yukarıya doğru ilerletilerek mediasten açıldı, kalbe ulaşıldı ve 5 cc'lik enjektör yardımıyla sağventriküler boşluktan kan alındı. Sonrasında sağgastroknemius abdominal aort örneği alındı. Abdominal aort örnekleri; immunohistokimyasal ve hematoksilen-eosin değerlendirme yapılıncaya kadar %10'luk formaldehid solüsyonu içinde saklandı. Ratlardan alınan kanlar, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve rat plazma örnekleri biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar -20 derecede saklandı.

3.3. Tedavi Edici Ajanların Hazırlanması

Amerika'da faaliyet gösteren SIGMA-ALDRICH isimli curcumine içerikli materyal satın alma yöntemiyle aracı ithalatçı firma aracılığıyla temin edildi. Curcumin %1 lik dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak eritilip intraperitonel enjeksiyon için hazırlandı.

3.4. Deney Grupları ve Protokol

Üç grup oluşturuldu.

Grup 1 (Sham, n=5): Çalışma boyunca anestezisi uygulaması dışında hiç bir işlem gerçekleştirilmedi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

Grup 2 (Kontrol, İR, n=5): Anestezi sonrası infrarenal abdominal aortaya 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı, ilaç verilmedi. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı.

Grup 3 (İR + Curcumin n=5): Anestezi sonrası infrarenal abdominal aortaya 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Turnike açılmadan 5 dakika önce 200 mg/kg curcumin ip olarak uygulandı. Reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku ve kan örneği alındı

3.5. Vasküler Endotel Yapının Histopatolojik İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için aort dokuları ayrı ayrı %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Örnekler parafin bloklara gömüldü. 5 mikronmetrelik kesitler alındı. Hematoksilen eozin boyası ile boyandı. 20 objektiflik büyütme kullanıldı. (Olympus BX51 TF, USA) Histopatolojik parametre olarak interstisyel ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekroz değerlendirildi. Yok:0 var:1 belirgin:2 olarak kabul edildi. Her örnek için tüm parametre skorları toplanarak histolojik skor belirlendi.

3.6. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Örneklerin TAS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilir (90). Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/gram protein olarak ifade edildi.

3.7. Total Oksidant Seviye (TOS)

Örneklerin TOS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edilir (81). Dokulardaki TOS sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/gram protein olarak ifade edildi.

3.8. OSI Hesaplanması

Örneklerin OSI hesaplanırken TAS değerleri 10 ile çarpılarak TOS ile birimler eşitlenir. Örneklerin içerdiği TOS düzeylerinin, örneklerin içerdiği TAS oranı OSI olarak belirtildi (82). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSI} = \frac{(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS}, \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}) \times 10}$$

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS paket programı kullanıldı. Gruplar arası niceliksel verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi kullanıldı. Grup parametreleri ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Anlamlı bulunan gruplara tekrardan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Her iki test için de $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Bu çalışma 5'er rattan oluşan 3 gruptaki toplam 15 ratta gerçekleştirildi. Deneklerin tümü, protokolü tamamladı. Ratlardan alınan kan örneklerinde TAS, TOS ve OSI parametreleri ölçülüp Gruplar arası istatistiksel olarak kıyaslandı (Tablo 1).

Uzman patolog tarafından yapılan histopatolojik değerlendirmeler sonucunda elde edilen skorlar istatistiksel olarak kıyaslandı. Tüm gruplara ait örnekleri Resim 2–6 'da sunulmuştur. Gruplara ait histopatolojik skorlama istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır.

	TAS	TOS	OSI
SHAM	1.16±0.32 ^a	77.11±22.08 ^a	5.22±0.36 ^a
KONTROL	1.39±0.17 ^a	150.16±33.96 ^b	10.63±0.90 ^b
CURCUMİ NE	1.10±0.09 ^{ab}	80.12±13.09 ^b	6.91±1.10 ^c

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ = Aritmetik ortalama±Standart hata. a, b, c ve d harfleri gruplar arasındaki ayrımı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ($N=5$).

Tablo 1. Gruplar Arası TAS, TOS, OSI ve Histopatolojik Hasar Skorları Karşılaştırılması.

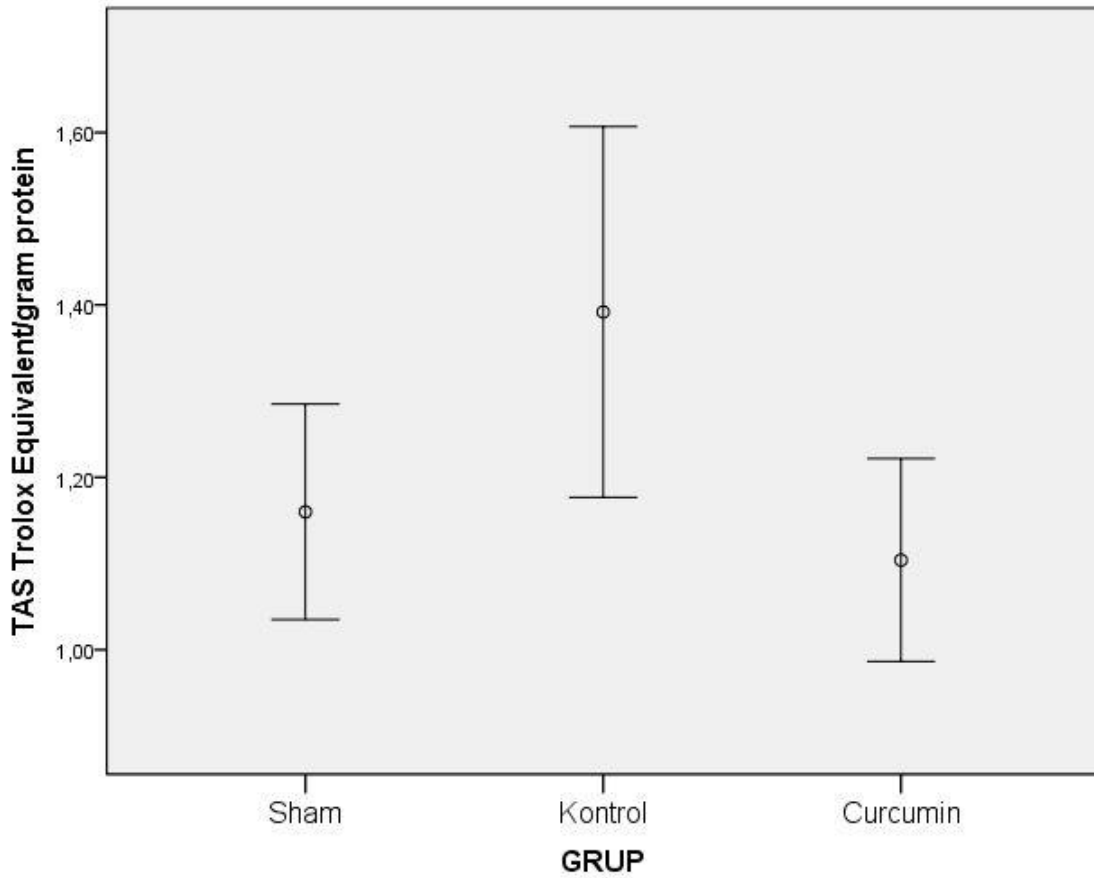
4.1. Grupların TAS Değerlerinin Karşılaştırılması

Alınan kan örneklerinde ortalama TAS değerleri hesaplandığında en düşük değerinin curcumin grubunda (1.10 ± 0.09^{ab}) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda (1.39 ± 0.17^{ab}) olduğu saptandı (Tablo 1).

TAS gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham ve kontrol gruplarının TAS değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.05$).

2- Kontrol grubu TAS değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$).



Grafik 1: Gruplar arası TAS değerlerinin karşılaştırılması

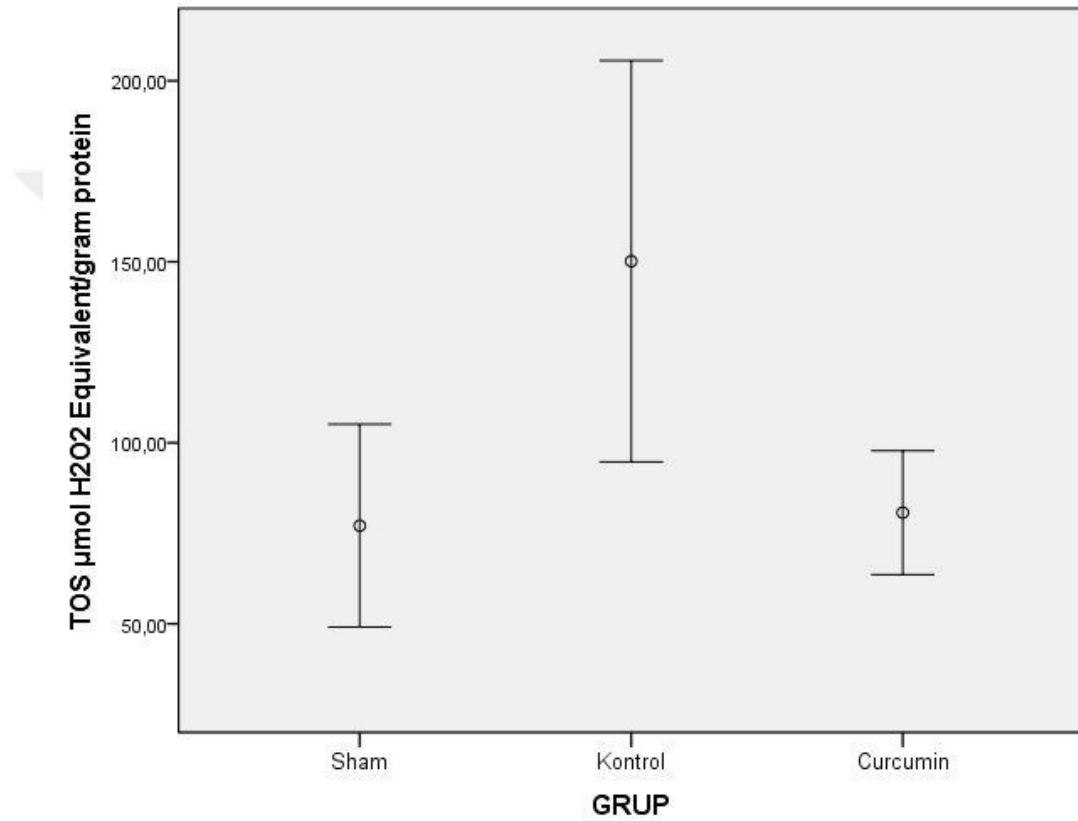
4.2. Grupların TOS Değerlerinin Karşılaştırılması

Alınan kan örneklerinde ortalama TOS değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda (77.11 ± 10.08^a $\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$) olduğu en yüksek değer ise kontrol grubunda (150.16 ± 33.96^b $\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eqv./L}$) olduğu saptandı (Tablo1).

TOS gruplar arasında kıyaslandığında;

1-Sham ve Curcumin gruplarının TOS değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.05$)

2-Sham grubu TOS değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ($p<0.05$).



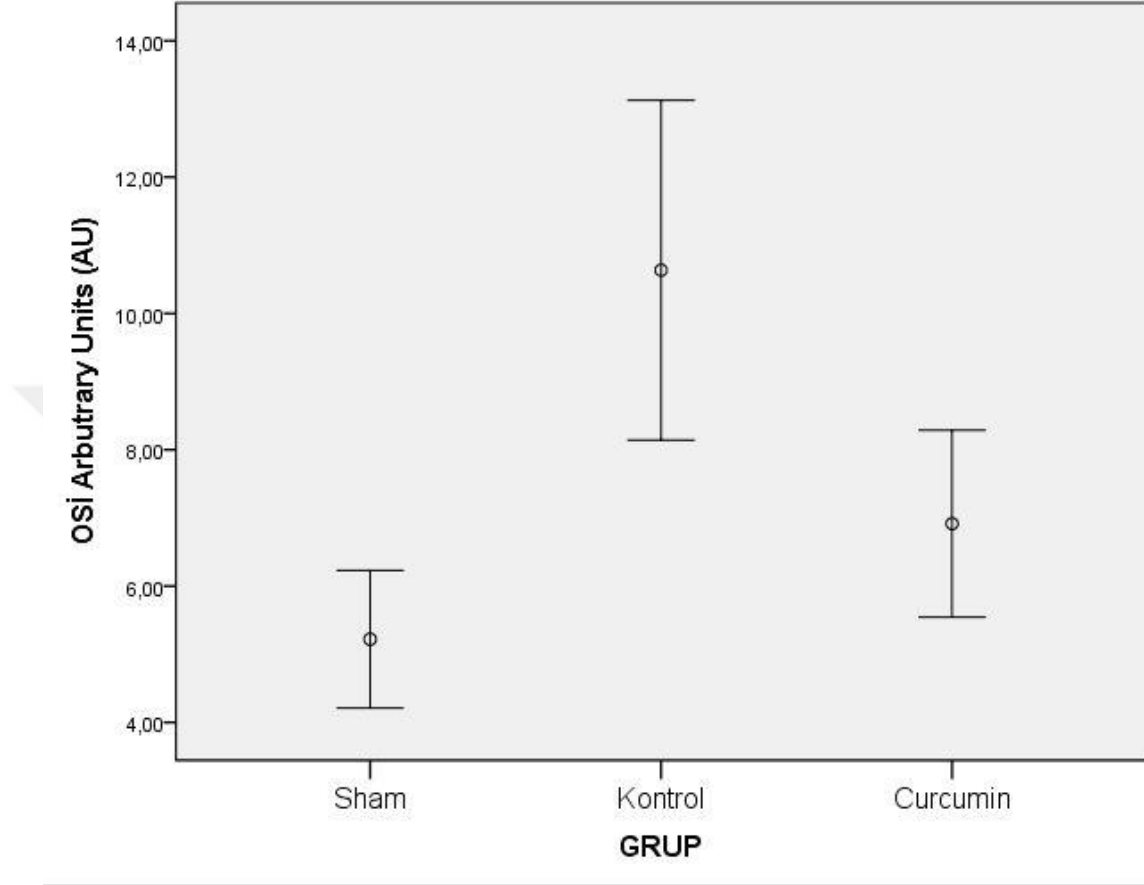
Grafik 2: Gruplar arası TOS değerlerinin karşılaştırılması.

4.3. Grupların OSI Değerlerinin Karşılaştırılması

Alınan kan örneklerinde ortalama OSI değerleri hesaplandığında en düşük değerinin Sham grubunda (5.22 ± 0.36^a AU) olduğu en yüksek değer ise Kontrol grubunda (10.63 ± 0.90^b AU) olduğu saptandı (Tablo1).

1-Sham ve Curcumin gruplarının OSI değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.05$).

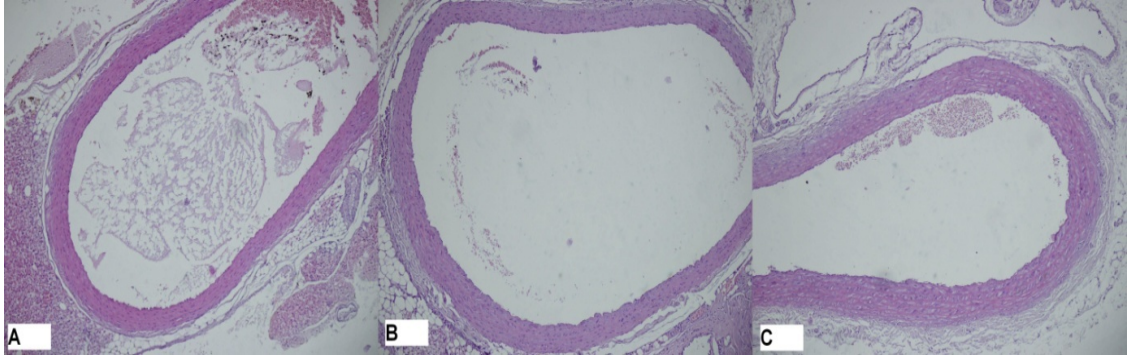
2-Sham grubu OSI değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$).



Grafik 3: Gruplar arası OSI değerlerinin karşılaştırılması.

4.4. Grupların Histopatolojik Hasar Skorlarının Karşılaştırılması

Sham, Kontrol ve Curcumine gruplarından alınan aort dokuları histolojik değerlendirme için ele alındı. Her örnek için tüm parametre skorları toplanarak histolojik skor belirlendi. Elde histopatolojik görüntülerden edilen verilere göre Sham, kontrol ve Curcumine grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. İskemi ve ardından yapılan reperfüzyon sonucu kanda oksidan ve antioksidan parametrelerde değişiklik olmasına rağmen aort dokusunda herhangi bir patoloji tespit edilememiştir.



Resim 3. Mikrovasküler klemp ile sıçan aortu oklüzyonunun vasküler endotel hasarı oluşturma etkisinin incelenmesi.



5.TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, ratlarda oluşturulan iskemi ve reperfüzyon sonrası, vasküler endotel hücrelerde oluşan iskemi-reperfüzyon hasarında curcuminin etkilerini araştırmaktır.

İskemi reperfüzyon hasarının temelinde reperfüzyon esnasında dokunun oksijenizasyonu sonucu ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri bulunmaktadır. Reperfüze olan dokuda serbest oksijen radikalleri oluşumuna bağlı nekrotik değişiklikler görülebilir. Reaktif oksijen radikalleri birçok kaynaktan salınabilir. En önemlisi ise aktive nötrofillerdir. Ayrıca plazmada bulunan proenflamatuar ajanlardan kompleman faktörleri, sitokinler (IL-6;IL-8;TNF), trombosit aktive edici faktör ve lökotrienler de endotel hücresinde hasara neden olur (98). Pulmoner vazokonstriksiyon, hipertansiyon ve artmış pulmoner vasküler geçirgenlik endotel hücre fonksiyonunun bozulmasının en sık görülen sonuçlarıdır (98,99).

Günümüzde kalp damar cerrahisi operasyonları ve diğer cerrahi operasyonların hemen hepsinde alternatifi olmayan bir uygulama olan klemp işlemi yapılmaktadır. Klemp cerrahi sahada cerrahlara birçok çalışma avantajları sağlarsa da diğer taraftan yaptığı iskemi ile bulunduğu alandaki doku, organlara ve yine yaptığı iskemi reperfüzyon hasarı ile uzak doku, organlara hasar verdiği yapılan bilimsel çalışmalarda kanıtlanmıştır. Oluşan bu iskemiyle beraber hücrede enerji düzeyi düşer, toksik metabolitler dokuda birikip, hücre disfonksiyonu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen biyokimyasal reaksiyonlar başlar. İskemiye bağlı hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır.

Endotel hücreleri, damarsal hemostazın (akım, seçici geçirgenlik ve hücre trafiği) sağlanmasında hayati ve dinamik bir görev üstlenir. Bu hücreler hem iskemi hem de reperfüzyona çok hassastırlar. Uzun süreli hipoksi; hücre zarı potansiyel değişiklikleri, iyon dağılımı bozuklukları ve akışkanlıkta azalma ile hücre içi hacim artışı ve hücre iskeleti organizasyon bozuklukları oluşturur (23). Doku reperfüzyonu ile birlikte, iskemik endotel değişiklikleri belirginleşerek, İskemik-reperfüzyon alanına lokalize endotel disfonksiyonu gelişir. Uzun süren iskemi ve sonrasındaki reperfüzyonu takiben oluşan morfolojik değişimler; hücresel şişme, membran depolarizasyonu, pinositotik vezikül kaybı,

endotel hücre bazal membran ayrılması ve aktive olmuş lökositlerin (özellikle nötrofiller) endotel hücre yüzeyine yapışmalarıdır (91).

İskemi-reperfüzyon hasarının arteriollerdeki primer göstergesi endotel bağımlı vazodilatasyonda bozulma ve hiperreaktivitedir. İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası endotel bağımlı arteriolar vazodilatasyonun erken dönemde, düz kas fonksiyonunun ise geç dönemde kaybolduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla uzamış iskemide dokuların reperfüzyonu zordur (92). Aynı zamanda arteriol boyutunun İ-R'a olan cevabı etkilediği, çap arttıkça etkilenme miktarının arttığı gözlenmiştir (93). İ-R'a olan arteriol cevabı aynı zamanda dokudan dokuya da değişiklik gösterir, örneğin; sinir sistemi çok hassas iken böbrek dokusu arteriollerini oldukça dirençlidir (94). Sonuç olarak, İ-R'a bağlı arteriol disfonksiyonundan tek bir mekanizma sorumlu olmayıp, bazılarında göre pH bağımlı denaturasyon ve proteolize ikincil gelişen eNOS inhibisyonu, bazılarında göre ise azalmış yırtıcı kuvvetler arteriol disfonksiyonundan sorumlu temel mekanizma olarak kabul edilmektedir (95).

Arteriyel kılcal endotelinde İ-R hasarının klinik yansıması; interstisyel dokuya artmış sıvı filtrasyonu ve doku perfüzyonunu sağlayan kılcal damar sayısında azalma şeklinde olur (94). Artmış interstisyel sıvı filtrasyonu, intrakapiller basınç artışından çok endotel bariyer hidrolik geçirgenlik artışına bağlıdır. Doku reperfüzyonu sonrası, tıkanmaya bağlı, arteriyel kılcallardaki azalma, doku perfüzyonunu daha da bozarak İ-R hasarı artışına neden olur. Bu arteriyel kılcal tıkanıklıklar; karaciğer İ-R hasarında olduğu gibi, lökosit-endotel etkileşimi sonrası gelişen hücresel şişme, iskelet değişiklikleri (elastikiyet azalması), bazal membran ayrılması ve lökosit rijiditesi ile karakterize intraluminal konjesyon sonucu oluşur. Diğer dokulardaki arteriyel kılcal tıkanıklıklarından ise; venöz kılcallardaki geçirgenlik artışına ikincil gelişmiş interstisyel ödem ve hidrostatik basınç artışı ile oluşmuş arteriyel kılcal mekanik basısı (interstisyel ödem ve vasküler kompresyon) sorumludur. Dolayısıyla reperfüzyon sonrası arteriyel kılcal tıkanıklıklardan intraluminal konjesyon ve interstisyel ödeme bağlı vasküler kompresyon sorumludur. Her iki mikrovasküler disfonksiyon mekanizması lökosit-endotel adezyonu temelinde gerçekleşir. Aynı zamanda lökosit kaynaklı ROT da bu disfonksiyona katkıda bulunur. Dolayısıyla lökosit-endotel adezyonunun engellenmesi ve antioksidan tedaviyle mikrovasküler disfonksiyonda azalma sağlanabilir (96).

İp ve ark. (107) koroner endoteldeki hasarlanmayı üç tip olarak sınıflandırmış ve özellikle tip 3 hasarın koroner arterlerde darlığa ve tıkanmaya neden olabileceğini

bildirmişlerdir. Ip ve ark.'nın. (107) sınıflamasında endotel hasarlanma; tip 1: endotel tabakada fonksiyonel değişikliğe rağmen normal morfoloji, tip 2: endotel tabakada hücrel ayrılma lokal soyulma ve intimal hasar oluşmasına rağmen internal elastik lamina ve media tabakasının sağlam kalması, tip 3: endotel tabakada soyulmayla beraber subendotelyal dokunun ortaya çıkması; intimal ve medial hasar olarak tanımlanmıştır.

Okazaki ve ark.'nın (108) çalışmasında ise endotel hasarı beş evre olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamada; evre 1: normal morfoloji, evre 2 ve 3: kan hücrelerinin az veya yaygın adezyonu (tip 1 hasarın karşılığı), evre 4: endotel hücrelerinde seyrek izole ayrılma (tip 2 hasar karşılığı), evre 5: yaygın endotel hücresi yokluğu (tip 3 hasar karşılığı) olarak tanımlanmıştır. Özellikle tip 3 (evre 5) hasar gelişimi ile subendotel tabakanın yaygın olarak ortaya çıkması, kan elemanlarının bu tabaka ile teması sonucu trombosit agregasyonuna ve trombüs oluşmasına neden olacak, PDGF gibi mitojen faktörlerle düz kas proliferasyonu ve göçünü tetikleyecek, bunların sonucu olarak da koroner cerrahi sonrası erken ya da geç dönemde anastomoz alanında darlık veya tıkanmaya yol açabilecektir (107,109,112). Vurgulanması gereken önemli bir diğer konu da, koroner cerrahisi uygulanan insanların kalplerindeki damarların aterosklerotik olması nedeni ile endotel fonksiyon bozukluğunun zaten var olmasıdır (110).

Kullanılan ek yöntemler de zaten var olan endotel fonksiyon bozukluğunu daha da artıracaktır. Deneysel hayvan modeli çalışmalarında aterosklerotik damar endotelinden farklı olan normal damar endoteli kullanılmaktadır ve doğal olarak normal endotelin hücrel yanıtı aterosklerotik endotelin yanıtından farklı olacaktır.

Gertz ve ark. (111) çalışmalarında, tavşan karotis arterlerine geçici cerrahi klip ile oklüzyon uygulamasının endotel hücre hasarı oluşturma potansiyelini tarama ve kesit elektron mikroskopisi incelemesi ile araştırmışlardır.

Cerrahi klip uygulanan bölgenin elektron mikroskopisinde, endotel hücrelerinde krater oluşması ve hücre şişmesi, endotel hücrelerinde yassılaşma, hücreler arası konneksiyonun kaybolması ve endotel hücre soyulması gözlemlenmiştir. Bu bulgulara daha çok klemp uygulanan bölgenin distalinde rastlanmıştır ve ilerleyen süreçte tromboza ve restenoza neden olabileceği bildirilmiştir (111).

Hayvan modelleri, insanlarda iskemik kalp hastalıklarının patogenezinin ve iyileşme sürecinin daha iyi anlaşılabilmesi için ön araçlar olacak şekilde tasarlanmıştır. Ayrıca hayvan modelleri, hem etik hem de pratik nedenlerden dolayı yeni tanı ve tedavi edici yöntemleri geliştirmek ve test etmek için tek yoldur. Araştırmacı hayvan modellerinde; türleri, tedavi süresi ve yöntemini, serum örneklerini, doku örneklerini ve en uygun koşullarda ölçüm için gerekli diğer malzemeleri seçme şansı vardır. Bu olanakları sağlamak insan deneklerle yapılan çalışmalarda imkânsız olmasa da çok zordur.

İskemi reperfüzyon hasarına vasküler andotellerinin yanıt sıçanlarda çok iyi belirlenmiş ve çalışmaların çoğunda sıçanlar tercih edilmiştir (97). Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada Wistar albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır.

Curcumin etkilerini araştıran çalışmalarda farklı dozlar kullanılmıştır. Güzel ve arkadaşları intestinal iskemik reperfüzyon sonrası akut akciğer hasarını incelemişler curcumin dozu olarak 100mg/kg kullanmışlardır (101). Önder ve Arkadaşları aynı tür çalışmada doz olarak 200 mg/kg curcumin kullanılmıştır (104). Sun ve arkadaşlarının akciğer iskemik reperfüzyon modelinde curcumin 50mg/kg ile 200 mg/kg olacak şekilde iki farklı dozunu kullanmışlardır. 200 mg/kg curcumin dozunun histopatolojik değerlendirmede akciğer üzerinde daha koruyucu rol aldığını tespit etmişler. Genel olarak curcuminin oksidatif stresi iyileştirdiği ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiğini doz olarak da 200mg/kg in daha etkin olduğunu göstermişlerdir (105). Önceden yapılan iskemik reperfüzyon modellerinde kullanılan curcumin dozlarını karşıladıktan sonra çalışmamızda curcuminin dozunu 200mg/kg olacak şekilde kullandık.

İskemik reperfüzyon modellerinde Curcumin kullanımı ile ilgili çalışmaların sayısı az sayıdadır. Nurullahoglu-Atalık ve arkadaşları ile Önder ve arkadaşları ratlarda mesenterik, Lin ve arkadaşları ise karaciğerde iskemik reperfüzyon modelinde curcumin etkilerini, Güzel ve arkadaşları ise intestinal iskemik reperfüzyon modelinde uzak hasar olarak akut akciğer hasarında curcuminin etkisini araştırmışlardır (100- 101). Alt ekstremiteler ile ilgili ratlarda yapılan iskemik reperfüzyon modelinde curcuminin etkisini araştıran tek bir çalışma mevcut olup Avcı ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (102). Çalışmada ratların femoral arter ve veni klemplenip 4 saatlik iskemik ve 2 saatlik reperfüzyon sonrası 100mg/kg curcumin, α -tokopherol ve normal salin superoksit dizmutaz (SOD), katalaz (CAT) aktivitesi ile glutatyon, malondialdehit ve protein oksidasyonu seviyeleri üzerine etkilerini karşılaştırmışlar.

Diğer iskemi reperfüzyon çalışmalarında yukarıdaki enzimler dışında doku nitrik oksit, protein karbonil değerleri de incelenmiştir. Curcuminin iskelet kası üzerinde antioksidan özelliğinin daha güçlü olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise ratlarda vasküler endotel hücrelerinde iskemi reperfüzyon modelini cros clamp kullanılarak gerçekleştirdik. Curcumine 200 mg/kg olarak kullanıldı. TAS, TOS ve OSI değerlerini inceledik. Curcumine grubu Kontrol grubuna göre TAS seviyesi anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.05$).

Curcuminin iskemi reperfüzyon modeli çalışmalarında etkilenen organların histopatolojik incelemeleri genelde yapılmıştır. Nurullahoglu-Atalik ve arkadaşları ratların özafagus örneklerinde ödem, konjesyon ve inflamatuvar hücrelerinden oluşan parametreleri incelemişler (100). Önder ve arkadaşları incebağırsaklar üzerinde aynı histopatolojik sonuçlar elde etmişlerdir. Bayrak ve arkadaşları da bu sonuçlara paralel verilere ulaşmışlardır (103). Yaptığımız çalışmada Sham, Kontrol ve curcumine gruplarından alınan aort dokuları histolojik değerlendirme için ele alındı. Her örnek için tüm parametre skorları toplanarak histolojik skor belirlendi. Elde histopatolojik görüntülerden edilen verilere göre Sham, kontrol ve curcuminin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. İskemi ve ardından yapılan reperfüzyon sonucu kanda oksidan ve antioksidan parametrelerde değişiklik olmasına rağmen aort dokusunda herhangi bir patoloji tespit edilememiştir.

Curcuminin iskemi-reperfüzyon modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda çeşitli biyokimyasal parametreler incelenmiştir. Önder ve arkadaşları mezenterik arter oklüzyonu sonucu oluşturdukları iskemi sonrası malonaldehit, total antioksidan kapasite, total oksidan statü ile oksidatif stress indeksine ölçmüşler (104). İskemi reperfüzyon dışında curcuminin antioksidan özelliği için biyokimyasal parametreler olarak TAS, TOS, OSI ve hispatoloji bakan az sayıda çalışma mevcuttur (106).

Bu çalışmadaki amacımız, kalp damar cerrahisinde sıkça görülen postoperatif komplikasyonlardan biri olan iskemi reperfüzyon hasarını (İRH) ratlarda abdominal aort damarına travmatik olmayan bir mikrovasküler klemp koyarak oluşturmak ve meydana gelen İRH'ında Curcuminenin antioksidan özelliğini alınan kan örneklerinde TAS, TOS, OSI parametreleri ve vasküler endotel hücrelerdeki histopatolojik hasar üzerindeki etkilerini araştırmaktı.

Ratlarda abdominal aorttaya travmatik olmayan bir mikrovasküler klemp konularak oluşturduğumuz bu İ/R deney modelinde, pek çok çalışmada antioksidan özelliği kanıtlanan curcuminin deneyimizde de bu özelliğini gösterdiğini düşünmekteyiz. Curcunine verdiğimiz gruptaki TAS TOS ve OSI değerleri kontrole göre daha düşük izlenmiştir. Bu durum kontrol grubunda oksidatif stresin yüksek olması ve antioksidanların buna bağlı yükseldiği olarak değerlendirilmiştir. Oksidatif stresin curcumin grubunda kontrol grubuna göre düşük çıkması curcuminin yararlı bir etkisi olduğu tahmin edilmektedir.

Aort dokusunda histopatolojik değişiklik bulunamaması aort dokusunun iskemi reperfüzyona dirençli olduğundan kaynaklandığı düşünüldü. Litaratür taramasında aort iskemi reperfüzyon ile çalışmalar kısıtlı olduğundan iskemiye duyarlılığı açısından bizim yayınınımızın bir örnek teşkil edeceği kanaatindeyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlarda abdominal aorttaya travmatik olmayan bir mikrovasküler klemplere konularak oluşturduğumuz İR deney modelinde elde ettiğimiz veriler değerlendirildiğinde;

Ratlarda klemplere ile abdominal aortta oluşturduğumuz deneysel İ-R sonucu oksidatif stres oluşmakta ve buda lokal hasar oluşturmaktadır. Bunun üzerine curcumine verildiğinde biyokimyasal olarak anti-oksidan özelliği ile İRH'nda koruyucu özellik gösterdiği düşüncesindeyiz.

Kalp Damar cerrahisi operasyonlarda pratikte kullanılan klemplere uygulaması iskemi altındaki doku ve reperfüzyondan sonra meydana gelen İR nedeniyle uzak doku ve organlarda oksidatif stresten dolayı etkilenmektedir. Curcumine yapılan diğer bilimsel çalışmalarda ve yaptığımız hayvan deneyi laboratuvar çalışmamızda da antioksidan özelliği ile bu etkiyi azalttığı görülmektedir.

Ayrıca çalışmamıza ekleyeceğimiz birkaç değişik kategori curcumine antioksidan özelliği ve histopatolojik hasarı önleyici özelliği hakkında bize daha detaylı ve faydalı bilgiler vereceğini düşünmekteyiz.

Düşündüğümüz bu yöntemlerden ilki, intraperitoneal uygulama yanı sıra curcumineyi oral formda da denemek. Oral yolla curcumine ile beslenen ratların intraperitoneal curcumine uygulanan ratlar arasındaki istatistiksel değer farkları bizlere curcuminenin faydalı verilmiş yolu hakkında önemli bilimsel veriler göstereceği kanatındeyiz.

Yine çalışmamıza kalpte iskemi hasarını gösteren kreatinin fosfokinaz, kreatinin kinaz MB gibi ekleyeceğimiz birkaç biyokimyasal parametre ile curcuminin histopatolojik hasarı engellemedeki etkinliği hakkında önemli bilimsel veriler vereceği düşüncesindeyiz.

Sonuç olarak; Yaptığımız çalışmada curcuminin diğer bilimsel çalışmalarda da görülen antioksidan özelliği ile iskemi reperfüzyona bağlı gelişen İRH'nı anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür.

Klinikte meydana gelen oksidatif stres endekslerini ve hücre hasarlarını curcuminin klinik alanlarda kullanılmasıyla tedavi edilebileceği kanaatindeyiz. Ancak curcuminin klinik tedavide kullanılabilmesi için gelecekte yapılacak daha kapsamlı bilimsel prelinik ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



7. KAYNAKLAR

1. Şener G, Yeğen B.Ç. İskemi Reperfüzyon Hasarı, Klinik Gelişim, (2009); 22(3), 5-13
2. Birincioğlu M. İskemi-Reperfüzyon Tekniklerine Genel Giriş, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, (2013-11-06)
3. Karahan M.A. Alt Ekstremitede İskemi-Reperfüzyon Oluşturan Ratlarda Deksmemetomidin ve Curcumin'in böbrek Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi (Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon anabilim dalı) (2013).
4. Damjanov İ, Linder J. Cell injury and cellular adaptations. Anderson's Pathology. Tenth Edition. Volum 2001;1: 357-365.
5. Herbert KJ, Hickey MJ, Lepore DA, Knight KR, Morrison VA, Stewart AG. Effects of the endotelin receptor antagonist Bosentan on inshaemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. Eur J Pharmacol 2001;424:59-67.
6. Petrsek PF, Walker PM. A clinically relevant small-animal model of skeletal muscle ischemia- reperfusion injury J Invest Surg 1994;7:27-38.
7. Üzer N. Sıçanlarda Deri Fleblerinin Yaşayabilirliğinde Curcuminin Kullanımının Etkinliğinin Araştırılması, uzmanlık tezi (Şişli Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, rekonstruktif ve Estetik Cerrahi Kliniği) (2007).
8. Akpolat M, Tarladaçalışır TY. Kanser Tedavisinde Curcuminin Yeri, Yeni Tıp Dergisi 2010;27: 142-147
9. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood 1998;91:3527-61.
10. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology. 10th ed. International Edition. Mc Graw-Hill, 2003:215-31.
11. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol 1995;11:73-91.
12. Sadler TW. Medikal Embriyoloji. Başaklar C (editör). 7. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık, 1996:65-87, 175-220.
13. Meredith IT, Yeung AC, Weidinger FF, et al. Role of impaired endothelium-dependent vasodilation in ischemic manifestations of coronary artery disease. Circulation 1993;87(Suppl V):V56-66.
14. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology. 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 2003:96-111, 326-55.
15. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Çevirisi. 19. Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi,1999;12:627- 42.
16. Epstein HF, Levin ER. Endothelins. New Engl J Med 1995;333:356-63.

17. Forstermann U, Mugge A, Alheid U, Haverich U, Frolich JC. Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res* 1988;62:185-90.
18. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. 2nd ed. International Editional. WB Saunders Company, 2001:251-71.
19. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG. Culture of human endothelial cells derived from umbilical cord veins: identification by morphologic criteria. *J Clin Invest* 1973;52:2745-56.
20. Jaffe EA. Culture and identification of large vessel endothelial cells. *Biology of Endothelial Cells*. Jaffe EA (ed). Martinus Nijhoff. Boston. 1984:1-13.
21. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004; 24(6): 468-75.
22. Kerrigan CL, Sitotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993;14:165-175.
23. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000;190:255-266.
24. Semenza GL. Perspective on oxygen sensing. *Cell*. 1999;Aug 6; 98(3):281-4
25. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischemia and reperfusion injury. *Br Med Bull*. 2004; Oct 19;70:71-86 Print 2004. Review. Erratum in: *BrMed Bull*. 2005;73-74:139.
26. Zhao ZQ, Vinten-Johansen. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. *J Cardiovasc Res* 2006;70: 200-11
27. Chamoun F., Burne M., O' Donnell M., Rabb H.: Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front. Biosci*. 2000;5: E103-E109.
28. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion Part II: Tissue Injury. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*. *Norol Bil D* 2000;17: 2.
29. Özel Y. *Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin'in Koruyucu Etkinliğinin İncelenmesi*, Uzmanlık tezi (T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi kliniği) (2006).
30. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2002; 33(2): 110-8.
31. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive Cilt: 35, Sayı: 3, (211-215) oxygen metabolites. *The Am J Off Surgery*, 1991;161: 488-503.
32. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *AmJ Physiol*, 1988; 255: H1269-H1275
33. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm*, 1994; 9: 26-35.

34. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 2007; 68: 1363-1370.
35. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 1991; 42: 125-138.
36. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999; 101:148-160.
37. Endothelin-1 potentiation of coronary artercontraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol.* 2008; 48:109-114.
38. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* Garcia-Villalon AL, Amezcua YM, Monge L, Fernandez N, Salcedo A, Dieguez G. 1996; 83: 162-170.
39. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo- Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009; 22: 46-55.
40. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J SurgRes* 1996; 61: 469-472.
41. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007; 97: 738-747.
42. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 2004; 70: 71-86.
43. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2514-2523.
44. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 481-497.
45. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386.
46. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.
47. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007; 376): 1-43.
48. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardio.* 1993; 16(4 Suppl 1): I19-26.
49. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, et al. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron Artery Dis*, 2001; 12: 349-356.

- 50.** Bolli R. Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction (“stunned myocardium”). *J Am Coll Cardiol*, 1988; 12: 239–249.
- 51.** Kaeffer N, Richard V, Francois A, et al. Preconditioning prevents chronic reperfusion-induced coronary endothelial dysfunction in rats. *Am J Physiol*, 1996; 271 (3 Pt 2): H842–H849.
- 52.** Piper HM, Meuter K, MD, Schafer C. Cellular Mechanisms of Ischemia-Reperfusion Injury. *Ann Thorac Surg*, 2003; 75: 644-648.
- 53.** Viehman GE, Ma XL, Lefter DJ, Lefter AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during coronary arterial occlusion. *Am J Physiol*, 1991; 261 (3Pt 2): H874–H881.
- 54.** Lefter AM, Lefter DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia–reperfusion. *Cardiovasc Res*, 1996; 32: 743-751.
- 55.** Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The “no-reflow” phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest*, 1974; 54: 1496-1508.
- 56.** Kloner RA, Rude RE, Carlson N, et al. Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? *Circulation*, 1980; 62: 945-952.
- 57.** Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*, 2000; 101: 2981–2988.
- 58.** Mann JM, Roberts WC. Rupture of the left ventricular free wall during acute myocardial infarction: analysis of 138 necropsy patients and comparison with 50 necropsy patients with acute myocardial infarction without rupture. *Am J Cardiol*, 1988; 62: 847–859.
- 59.** Basım S. Alt Esktemitede İskemi-Reperfüzyon Oluşturan Ratlarda Ginkgo Biloba Egb 761’in Barsak Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi, T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi (2005).
- 60.** Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 1995; 9: 526-533.
- 61.** Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007;115:81-103.
- 62.** Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell’aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem*. 2008; 15: 1236-1248.
- 63.** Mickle DA, Weisel RD. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol* 1993; 9: 89-93.
- 64.** Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 375-429.
- 65.** Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.

66. Şehirli AO. Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarında Melatonin'in Koruyucu Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. T.C. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001.
67. Wijnberger LD, Krediet TG, Visser GH et al: Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev*, 2003; 71:111-6.
68. Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett*, 2000;1,195-204.
69. Aggarwal B.B., Kumar A. and Bharti A.C. Anticancer potential of curcumin: Preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, 2003;23, 363.
70. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci* 2006; 78: 2081- 7. 40
71. Jayaprakasha GK, Rao LJM, Sakariah K. Chemistry and biological activities of *Curcuma longa*. *Trends Food Sci Tech* 2005; 16: 533- 48
72. Thiyagarajan, M., Sharma, S.S., Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sciences* 2004;74 (8), 969–985.
73. Reddy, A.C., Lokesh, B.R., Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1994;137 (1), 1–8.
74. Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J.H., Chen, X., Sang, S., Lee, M.J., Yang, C.S., Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis* 2004;25 (9), 1671–1679
75. Majithiya, J. B.; Balaraman, R. Time-dependent changes in antioxidant enzymes and vascular reactivity of aorta in streptozotocin-induced diabetic rats treated with curcumin. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*2005; 46:697–705.
76. Naito, M.;Wu, X.; Nomura, H.; Kodama, M.; Kato, Y.; Kato, Y.; Osawa, T. The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits. *J. Atheroscler. Thromb.*2002; 9:243–250.
77. Zhang F, Altorki NK, Mestre JR, et al. Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol estertreated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis* 1999, 20, 445–451.
78. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, 206, 533–540
79. Phan, T.T., See, P., Lee, S.T., Chan, S.Y., Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *Journal of Trauma* 2001; 51 (5), 927–931
80. Ganesh Chandra Jagetia Curcumin Treatment Enhances the Repair and Regeneration of Wounds in Mice Exposed to Hemibody _Irradiation” *Plast. Reconstr. Surg.*2005; 115: 515.

- 81.** Toda S. , Miyase T., Arichi H. , Tanizawa H., Takino Y. Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rhizome of curcuma longa L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1985; 33(4), 1725-8
- 82.** Folkman, J., Shing, Y., Angiogenesis. *Journal of Biological Chemistry* 1992;267 (16), 10931–10934.
- 83.** Robinson, T.P., Ehlers, T., Hubbard, I.R., Bai, X., Arbiser, J.L., Goldsmith, D.J., Bowen, J.P. Design, synthesis, and biological evaluation of angiogenesis inhibitors: aromatic enone and dienone analogues of curcumin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2003;13 (1), 115–117
- 84.** MariaMLoTempio Curcumin Suppresses Growth of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, *Otolaryngology–Head and Neck Surgery Volume* 2009; 131 Number 2
- 85.** Garcea G, Berry DP, Jones DJL, et al. Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences. *Cancer Epidem Biomar Prevent* 2005, 14, 120–125
- 86.** Yener A.M., Çiçek M.C., Genç S.B., Özkan T., Doğan E., Bilgin B.Ç., Akın T., Erdem H., Ankarali H. " Protective role of heparin in the injury of the liver and kidney on the experimental model of ischemia/reperfusion". *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 2014, 9:35
- 87.** Xiong J., Zhang M., Guo W., Liu X., Yin T., Jia X., Zhang H., Xu Y., Wang L. "Early malperfusion, ischemia reperfusion injury and respiratory failure in acute complicated type B aortic dissection after thoracic endovascular repair". *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 2013, 8:17.
- 88.** Pulathan Z., Altun, Hemsinli D., Menteşe A., Yuluğ E., Civelek A. "Role of Ethyl Pyruvate in Systemic Inflammatory Response and Lung Injury in an Experimental Model of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm". *BioMed Research International*, Volume 2014, Article ID: 857109.
- 89.** Solez K, Racusen LC. Role of the renal biopsy in acute renal failure. *Contrib Nephrol.* 2001;(132):68-75.
- 90.** Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004; 37: 112-119
- 91.** Parvums DV. The pathology of ischemia-reperfusion. In: Grace PA, and Mathie RT, editors. *Ischemia-reperfusion injury*. London: Blackwell Science,1999; 3–19.
- 92.** Kelsall CJ, Brown MD, Hudlicka O. Alterations in reactivity of small arterioles in rat skeletal muscle as a result of chronic ischaemia. *J. Vasc. Res.* 2001;38:212-218.
- 93.** Fruchterman TM, Spain DA, Wilson MA, Harris PD. Garrison RN. Complement inhibition prevents gut ischemia and endothelial cell dysfunction after hemorrhage/resuscitation. *Surgery* 1998;124:782-791; discussion 791–792.
- 94.** Seal JB, Gewertz BL. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann Vasc Surg.* 2005 jul;19(4):572-84.
- 95.** Rosenblum WI. Selective impairment of response to acetylcholine after ischemia/reperfusion in mice. *Stroke* 1997;28:448-451 discussion 451–452.

96. Iraculis E, Cequier A, Gomez-Hospital JA, et al. Early dysfunction and long-term improvement in endotheliumdependent vasodilation in the infarct-related artery after thrombolysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002;40:257-265.
97. V.Ozcan et al. The effect of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia reperfusion of lower extremities. *Journal of Surgical Research* 2007;140:20-26
98. Tekeli A, Akgün S, Civelek A ve ark. Alt ekstremitte iskemi reperfüzyonu sonucunda gelişen akciğer hasarının önlenmesinde farklı bir ajan: FK 506 (takrolimus). *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg.*2001;9:242-246.
99. Bengisun U, Koksoy C, Bengisun JS, et al. Ischemia and reperfusion injury: prevention of pulmonary hypertensionand leukosequestration following lower limb ischemia. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids* 1997;56:117-120.
100. Nurullahoglu-Atalik KE, Okudan N, Belviranlı M, Gokbel H, Oz M, Esen H. Role of curcumin in mesenteric ischemia-reperfusion injury in rats. *Bratisl Lek Listy.* 2012;113(8):465-70.
101. Guzel A, Kanter M, Guzel A, Yucel AF, Erboga M. Protective effect of curcumin on acute lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion. *Toxicol Ind Health.* 2012 Jan 17.
102. Avcı G, Kadioglu H, Sehirli AO, Bozkurt S, Gudu O, Arslan E, Muratli SK. Curcumin Protects Against Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Skeletal Muscle. *J Surg Res* 2012 :172(1);39-46.
103. Bayrak O, Uz E, Bayrak R, Turgut F, Atmaca AF, Sahin S, Yildirim ME, Kaya A, Cimentepe E, Akcay A. Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *World J Urol.* 2008 Jun;26(3):285-91
104. Onder A, Kapan M, Gümüş M, Yüksel H, Büyük A, Alp H, Başarılı MK, Firat U. The protective effects of curcumin on intestine and remote organs against mesenteric ischemia/reperfusion injury. *Turk J Gastroenterol.* 2012 Apr;23(2):141-7.
105. Sun J, Guo W, Ben Y, Jiang J, Tan C, Xu Z, Wang X, Bai C. Preventive effects of curcumin and dexamethasone on lung transplantation-associated lung injury in rats. *Crit Care Med.* 2008 Apr;36(4):1205- 13
106. Acar A, Akil E, Alp H, Evliyaoglu O, Kibrisli E, Inal A, Unan F, Tasdemir N. Oxidative damage is ameliorated by curcumin treatment in brain and sciatic nerve of diabetic rats. *Int J Neurosci.* 2012 Jul;122(7):367-72
107. JH, Fuster V, Badimon L, Badimon J, Taubman MB, Chesebro JH. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J Am Coll Cardiol* 1990;15,1667-87.
108. Okazaki Y, Takarabe K, Murayama J, Suenaga E, Furukawa K, Rikitake K, et al. Coronary endothelial damage duringoff-pump CABG related to coronary-clamping and gasinsufflation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19.834- 9.
109. Hangler HB, Pfaller K, Antretter H, Dapunt OE, Bonatt JO. Coronary endothelial injury after local occlusion on the human beating heart. *Ann Thorac Surg* 2001;71:122-7.

- 110.** Chavanon O, Perrault LP, Menasché P, Carrier M, Vanhoutte PM. As originally published in 1996: Endothelial effects of hemostatic devices for continuous cardioplegia or minimally invasive operations. Updated in 1999. *Ann Thorac Surg* 1999;68:1118- 20.
- 111.** Gertz SD, Rennels ML, Forbes MS, Kawamura J, Sunaga T, Nelson E. Endothelial cell damage by temporary arterial occlusion with surgical clips. Study of the clip site by scanning and transmission electron microscopy. *J. Neurosurg* 1976;45;514- 9.
- 112.** Vanhoutte PM. The endothelium-modulator of vascular smooth-muscle tone. *N Engl J Med* 1988;319:512- 3.

