



GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

BARSAK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ

**TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sevgi BÜYÜKBEŞE SARSU

Mart– 2006

BARSAK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

**Tıp Fakóltesi
Gaziantep Üniversitesi**

Dr. Sevgi BÜYÜKBEŞE SARSU

Mart 2006

ÖZET

BARSAK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ

Dr. Sevgi BÜYÜKBEŞE SARSU
Uzmanlık Tezi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Bülent Hayri ÖZOKUTAN
Mart 2006, 68 sayfa

Şok, sepsis, mezenter trombüsü, barsak transplantasyonu ve nekrotizan enterokolit gibi çeşitli klinik durumlarda barsak iskemisi meydana gelebilir. Kan akımının yeniden sağlanması sonrasında ise iske-mi-reperfüzyon (İR) hasarı oluşur. Barsak iskemisi ile oluşan hücre ve doku hasarı reperfüzyonla daha da artmaktadır. Reperfüzyon sırasında iskemik dokunun hızla tekrar oksijenlenmesi sonucunda serbest oksijen radikali (SOR) meydana gelir. Bu radikaller, doku hasarına ve uzak organlarda işlev bozuklukları neden olabilir.

Leptin, yağ dokusundan salgılanan obezite geninin ürünü olan bir hormondur. Yağ dokusu dışında, gastrointestinal sistemi de dahil olmak üzere diğer dokularda leptin varlığı saptanmıştır. Birçok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynar. Leptinin, nitrik oksit (NO) üretimini uyarıcı ve antiinflamatuvar etkileri vardır.

Bu çalışmada, barsakta oluşturulan İR hasarı üzerine leptinin etkisi araştırıldı.

Çalışmamız, her birinde 10 adet rat bulunan 3 grupta gerçekleştirildi. Grup A (İR grubu), grup B (İR+leptin grubu) ve grup C (sham grubu) olarak üç grup oluşturuldu. Ratlara intraperitoneal ketamin (50 mg/kg) anestezisi altında laparotomi yapıldı. Grup A ve Grup B'de ince barsaklar sola alınıp süperior mezenterik artere atravmatik klemp konarak 1 saatlik iske-mi uygulandı. Barsaklar iske-mi süresince batin içine yerleştirildi. Sonrasında klemp çıkarılarak reperfüzyon sağlandı. Sham grubuna,

sadece laparotomi yapıldı. Grup B'ye reperfüzyondan 30 dk öncesinde 100 µg/kg dozunda leptin subkütan olarak verildi. Grup A ve sham grubuna subkütan olarak 0.1 ml % 0.9 NaCl enjekte edildi. 4 saatlik reperfüzyondan sonra serum malondialdehid (MDA) ve NO düzeylerine bakılmak üzere 3 ml kan alındı. Terminal ileumun bir kısmında MDA ve NO bakılırken, bir kısmı histopatolojik inceleme için ayrıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Sham grubu, grup A ile karşılaştırıldığında serum ve doku MDA düzeyleri daha düşükken, NO düzeyleri daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Sham grubunda histopatolojik hasarın da daha az olduğu görüldü. Grup B, grup A ile karşılaştırıldığında serum ve dokuda bakılan MDA düzeyleri daha düşük ($p<0.05$); NO düzeyleri daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu grupta histopatolojik hasarın da Grup A'ya göre daha az olduğu görüldü.

Sonuç olarak; leptin, NO salınımını artırarak barsaktaki İR hasarını azaltır.

Anahtar kelimeler: Leptin, İskemi-reperfüzyon hasarı, Barsak, Nitrik oksit.

ABSTRACT

EFFECTS OF LEPTIN ON INTESTINAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

Dr. Sevgi BÜYÜKBEŞE SARSU
Residency Thesis, Department of Pediatric Surgery
Supervisor: Bülent Hayri OZOKUTAN, MD. Assoc. Prof.
March 2006, 68 pages

Many clinical conditions such as shock, sepsis, mesenteric thrombus, necrotising enterocolitis and bowel transplantation can cause intestinal ischemia reperfusion (IR) injury. Reperfusion of ischemic tissue leads to a sequence of events that, paradoxically, injure tissues. The injury produced by reperfusion can be more severe than the injury induced by ischemia . A possible cause of IR injury is attributed to oxygen free radicals. These radicals which are generated during reperfusion period are responsible for tissue injury and distant organ disfunction.

Leptin is the product of obese gene and secreted mainly by adipose tissue. Besides fat tissue, the presence of leptin was detected in the other tissues including gastrointestinal system. Leptin plays important roles in many physiologic and pathologic conditions. It has antiinflammatory effects and stimulate nitric oxide (NO) production.

This study was designed to determine effects of leptin on intestinal IR injury.

Thirty rats were divided into 3 groups each containing ten rats: Group A (IR group), group B (IR+leptin group) and group C (sham group). Rats were anesthetised using intraperitoneal ketamine (50 mg/kg). A midline laparotomy was made, the small intestine was reflected to the left, and the superior mesenteric artery was occluded with an atraumatic clip. The rats were subjected to superior mesenteric artery

occlusion for 1 hour. The intestine was replaced into the peritoneal cavity for the duration of the ischemic period. After 1 hour of intestinal ischemia, the clip was removed, allowing reperfusion. The sham operation involved the same technique and exposure, without the clipping of the superior mesenteric artery. In group B, 100 $\mu\text{g/kg}$ leptin was given subcutaneously 30 minutes before reperfusion. In group A and C, 0.1 ml saline was injected. 4 hours after reperfusion, 3 ml of blood was drawn for detection of serum NO and malondialdehyde (MDA) levels. A part of terminal ileum were also harvested for histopathological examination and tissue NO and MDA measurements. The results were compared statistically. In group A, serum and tissue MDA levels were significantly decreased; and NO levels were significantly increased compared with sham group ($p<0.05$). In sham group, histopathologic injury decreased compared with group A. In group B (IR+leptin group), serum and tissue MDA levels were significantly decreased ($p<0.05$); but serum and tissue NO levels were significantly increased compared with group A ($p<0.05$). Histopathologic injury is significantly decreased in leptin treated group compared with group A ($p<0.05$).

The results of the present study demonstrated that leptin decreases intestinal IR injury by stimulating NO release.

Key Words: Leptin, Ischemia-reperfusion injury, Intestine, Nitric oxide.

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocalarım Doç.Dr. Bülent Hayri ÖZOKUTAN ve Doç.Dr. Haluk CEYLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca rotasyon dönemlerimde eğitimime katkıda bulunan Genel Cerrahi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon, Üroloji, Ortopedi ve Travmatoloji ile Patoloji Anabilim Dalları'nın kıymetli öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine, denek hayvanlarının temini ve bakımında büyük desteğini gördüğüm Prof.Dr. Cahit BAĞCI ve tez çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU ile Prof. Dr. İbrahim SARI'ya teşekkür ederim.

Dr. Sevgi BÜYÜKBEŞE SARSU

KISALTMALAR

ADP: Adenozin difosfat
AMP: Adenozin monofosfat
AOE: Antioksidan enzimler
ARDS: Akut respiratuar distres sendromu
ATP: Adenozin trifosfat
CAT: Katalaz
H&E: Hemotoksilen-Eosin
Hx: Hipoksantin
ICAM: İntersellüler adezyon molekülü
İR: İskemi-reperfüzyon
MDA: Malondialdehit
NADP: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
PMNL: Polimorfo-nükleer lökosit
SOD: Süperoksid dismutaz
SOR: Serbest oksijen radikali
TNF- α : Tümör nekroz faktör-alfa
XD: Ksantin dehidrogenaz
XO: Ksantin oksidaz

TABLO VE ŞEKİL- RESİM LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Leptin eksikliği veya leptin direnci ile ilişkili durumlar.....	29
Tablo 2. Nitrik oksit kadmiyum metodu uygulaması.....	36
Tablo 3. Grupların serum ve doku MDA ile NO düzeyleri.....	39
Tablo 4. Biyokimya değerleri.....	40
Tablo 5. Grupların histopatolojik skorları.....	40

Şekil 1. Hipoksantinden ürik asit oluşumu.....	11
Şekil 2. Serbest oksijen radikallerinin etkisi.....	17
Şekil 3. Yağ dokusundan salgılanan hormonlar ve diğer faktörler.....	27

Resim 1. Süperior mezenterik arterin klemplenmesi.....	33
Resim 2. Histopatolojik sınıflama Evre 0	41
Resim 3. Histopatolojik sınıflama Evre 1	41
Resim 4. Histopatolojik sınıflama Evre 2	42
Resim 5. Histopatolojik sınıflama Evre 3	42
Resim 6. Histopatolojik sınıflama Evre 4	43

TABLO VE ŞEKİL- RESİM LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Leptin eksikliği veya leptin direnci ile ilişkili durumlar.....	29
Tablo 2. Nitrik oksit kadmiyum metodu uygulaması.....	36
Tablo 3. Grupların serum ve doku MDA ile NO düzeyleri.....	39
Tablo 4. Biyokimya değerleri.....	40
Tablo 5. Grupların histopatolojik skorları.....	40

Şekil 1. Hipoksantinden ürik asit oluşumu.....	11
Şekil 2. Serbest oksijen radikallerinin etkisi.....	17
Şekil 3. Yağ dokusundan salgılanan hormonlar ve diğer faktörler.....	27

Resim 1. Süperior mezenterik arterin klemplenmesi.....	33
Resim 2. Histopatolojik sınıflama Evre 0	41
Resim 3. Histopatolojik sınıflama Evre 1	41
Resim 4. Histopatolojik sınıflama Evre 2	42
Resim 5. Histopatolojik sınıflama Evre 3	42
Resim 6. Histopatolojik sınıflama Evre 4	43

2.5.5.1. Nekrotizan enterokolit.....	21
2.5.5.2. Midgut volvulusu.....	22
2.5.5.3. Sepsis.....	22
2.5.5.4. Şok.....	23
2.5.5.5. Barsak transplantasyonu.....	23
2.5.6. Barsak iskemi-reperfüzyon hasarının sonuçları.....	23
2.5.6.1. Bakteri translokasyonu.....	23
2.5.6.2. Barsağın emilim fonksiyonunda değişiklik.....	23
2.5.6.3. Akut respiratuar distres sendromu.....	24
2.6. Nitrik oksit.....	24
2.7. Leptin.....	25
2.7.1. Leptinin yapısı.....	26
2.7.2. Leptinin sentezi ve yıkımı.....	26
2.7.3. Leptinin biyolojik fonksiyonları	28
2.7.4. Leptin ve iskemi-reperfüzyon hasarı.....	30
3. MATERİYAL VE METOD.....	32
3.1. Deney hayvanları.....	32
3.2. Leptinin kullanıma hazırlanış şekli.....	32
3.3. Cerrahi girişim.....	33
3.4. Kan örneklerinin alınması ve saklanması.....	34
3.5. Doku örneklerinin biyokimyasal incelenmesi.....	35
3.5.1. Homojenizasyon.....	34
3.5.2. NO kadmiyum metodu.....	35
3.6. Histopatolojik değerlendirme.....	37
3.7. İstatistiksel değerlendirme.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Biyokimyasal değerlendirme.....	38
4.2. Histopatolojik değerlendirme	39
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇLAR.....	50
7. KAYNAKLAR	51

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Şok, sepsis, ciddi yanıklar, mezenter trombüsü, nekrotizan enterokolit (NEK), malrotasyon, midgut volvulusu ve barsak transplantasyonu gibi çeşitli klinik durumlarda barsak iskemisi meydana gelebilir. Yapılan girişimlerle kan akımının yeniden sağlanması sonrasında iskemi-reperfüzyon (IR) hasarı ortaya çıkar.

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenlerle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Doku kanlanmasının ilaçlarla veya cerrahi girişimlerle yeniden sağlanması ise reperfüzyona yol açar. Barsak iskemisi ile oluşan hücre ve doku hasarı reperfüzyonla daha da artmaktadır. Parks ve Granger ilk kez 1986 yılında reperfüzyon sonucu oluşan hasarın, iskeminin yol açtığı hasardan daha fazla olduğunu göstermiştir (1). Çünkü, reperfüzyon sırasında iskemik dokunun hızla tekrar oksijenlenmesi sonucunda fazla miktarda serbest oksijen radikali (SOR) oluşur. SOR'un lokal üretimi, epitel hasarında önemli rol oynar (2). IR süreci yalnızca yer aldığı organda değil, bir dizi mediatörler aracılığı ile ikincil organlarda da işlev bozuklukları ve hasara neden olabilir (3-6). Sonuçta multipl organ yetmezliği ve akut respiratuar distres sendromu (ARDS) gelişebilir (7-9).

SOR, hem dokuya zarar vermekte hem de lökositlerin dokuda birikmesine neden olmaktadır. Aktive olup dokuya gelen lökositler; myeloperoksidaz, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarmaktadır. Bu enzimler hem dokudaki hasarı artırmakta, hem de daha fazla yeni SOR oluşmasına neden olmaktadır (1).

Leptin yağ dokusundan salgılanan peptid yapılı bir hormondur. Temel fonksiyonu, hipotalamus yoluyla gıda alımını ve enerji tüketimini düzenlemektir. Enerji alımı ve büyüme-gelişmedeki değişiklikler serum leptin konsantrasyonlarını

etkiler (10). Leptinin glukoz metabolizması ve insülin etkilerinde de düzenleyici fonksiyonları olduğu kabul edilmektedir (11-14). Leptin, spesifik reseptörleri aracılığıyla hipotalamus, hipofiz, otonom sinir sistemi, adrenal bez, plasenta, pankreas, akciğer, karaciğer, kalp, böbrek, dalak, timus, prostat, ince barsak, kolon, over, testis ve lenf bezi gibi çok sayıda doku ve organ üzerindeki etki gösterir (15). İnce barsak için büyüme faktörü olduğu bildirilen (16) leptinin ayrıca ısı, üreme, hematopoez, anjiogenez ve immün sistem fonksiyonlarının düzenlenmesinde de rolü vardır (17-19).

Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), adiponektin ve interlökin-6 (IL-6) gibi çoğu sitokin yağ dokusundan salgılanıp patofizyolojik olaylarda rol oynar. Leptin de yağ dokusundan salgılanan aktif bir mediatör olup İR hasarındaki gibi akut inflamasyonda dalgalanmalar gösterebilir. Leptin, immün ve endokrin sistemde TNF- α toksisitesine karşı koruyucudur. Sitokin sistemine yapısal olarak benzeyen leptin; inflamatuvar koşullarda dengeyi korumasıyla yönüyle de fonksiyonel olarak glukokortikoidlere benzer. Fizyolojik ve patolojik durumların her ikisinde de homeostazisi düzenleyicidir (20). Leptinin glukokortikoid salınımına bağlı nötrofil aracılı mekanizmayla antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. Leptin, nitrik oksit (NO) üretimini stimüle eder (21). Ayrıca TNF- α ve IL-6 salınımını artırarak akut inflamatuvar stimulusa zamana bağlı olarak antiinflamatuvar bir sitokin gibi cevap verdiği gösterilmiştir (22). Leptin; monositleri (13), T lenfositleri (23), IL-1 β , TNF- α ve C-reaktif protein (CRP) gibi inflamatuvar mediatörleri uyarır (24).

Bu çalışmada, leptinin barsak İR hasarı üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BARSAGIN EMBRİYOLOJİSİ

Karın ön duvarı, intrauterin hayatın 4. haftasında gelişmeye başlar. Bu dönemde, embriyonun öne doğru kıvrılmasıyla birlikte arkadaki amnion zarı embriyoyu sarar ve embriyonun önündeki yolk kesesini sıkıştırır. Sonuçta yolk kesesi üst ve alt olarak iki bölüme ayrılır. Üst bölümün öndeki kese kısmı vitellin arter ve venini, arkadaki sap kısmı midgut'ı meydana getirir. Alt bölümünde ise, öndeki vücut sapı kısmı umbilikal ven ve arteri, daha gerideki kısmı hindgut ve allantoisi oluşturur. Yolk kesesinin midgutla ilişkide olan vitellin kanal (omfalomezenterik kanal) ile alttaki vücut sapından gelişen umbilikal damarlar, sonradan birbirlerine yaklaşıp yapışarak göbeği meydana getirir. Embriyonik gelişmenin 6. haftasında, hızlı büyümeye bağlı barsak anslarının ekstraembriyonik çölom boşluğuna girmesine neden olur. İzleyen haftalarda barsak ansları saat hareketinin tersi yönünde 270 derece rotasyon yaparken daha da uzamaya devam eder. Herniye olan barsak ansları 3. ayın sonunda karın boşluğuna geri döner.

Duodenum, hepatobiliyer ağaç ve pankreasın farklılaşması 3. gestasyonel haftada başlar. Bu sırada duodenum, içi epitel ile dolu katı bir yapıdır. 3-4 hafta içinde vakuolizasyona uğrar ve lümeni oluşur (Tandler'in rekanalizasyon teorisi). Endodermin germ tabakasının ileri derecede farklılaşması ile gastrointestinal sistem epitelleri gelişir (25).

2.2. BARSAGIN ANATOMİK YAPISI

2.2.1. Duodenum

İnce barsağın toplam uzunluğu yetişkinde 6-7 m kadardır. İlk 25 cm'lik bölümü duodenuma aittir. Mezenteri yoktur ve kısmen peritonla örtülüdür. Duodenum üç dirsek yapmaktadır. Bunlardan birincisine üst fleksura, ikincisine alt fleksura, üçüncüsüne de duodenojejunal fleksura denir. Duodenum başlıca dört bölüme ayrılır. İlk bölüm, pilor kanalı ile üst fleksura arasında uzanmaktadır. Üst bölümün ön yüzü peritonla örtülüken, arka yüzü peritonsuzdur. Üst fleksura bölgesinde, safra kesesi boynu ile duodenum birbiriyle komşudurlar. Duodenumun üst bölümünün ön yüzü karaciğer ve safra kesesiyle komşuluk yapmaktadır. Üst bölümün arka yüzü de vena porta, ana safra kanalı/koledok ve pankreas ile komşudur. Duodenumun ikinci bölümüne inen bölüm denir. Önde karaciğer ve transvers kolonla komşudur. Arka yüzü de sağ böbrek ve vena kava inferiorla komşudur. Ana safra kanalıyla pankreas kanalı, duodenumun inen bölümünün iç yan tarafındaki duvarına ayrı ayrı girdikten sonra, bir süre duvarın içinde yol alırlar. Daha sonra birleşerek tek bir kanal oluştururlar. Hepatopankreatik ampulla denen bu yeni kanal, duodenumun inen bölümünün iç yan duvarına açılır. Buna Vater papillası denir. Bazen buna ek olarak aksesuar pankreatik kanal denen küçük bir pankreas kanalı da duodenuma açılmaktadır. Bu kanal büyük duodenal papillanın 2 cm üstünde küçük duodenal papillayı oluşturur. Duodenumun üçüncü bölümü horizontal bölüm adını alır ve abdominal aortanın önünde sona erer. Ön yüzü peritonla kaplıdır. Duodenumun son bölümü olan çıkan bölüm, duodenojejunal fleksurayı oluşturduktan sonra jejunumla birleşir. Duodenumun jejunuma birleştiği noktaya diyafragmadan uzanan bağı Treitz ligamenti denir (26).

2.2.2. Jejunum ve İleum

İnce barsağın duodenumdan sonraki bölümü jejunum ve ileum tarafından oluşturulmaktadır. İnce barsağın ilk 2/5'lik bölümü jejunum, son 3/5'lik bölümü de ileum adını alır. İleumu jejunumdan ayıran kesin bir çizgi yoktur. İnce barsak histolojik özellikleri bakımından incelendiğinde, jejunumun yavaş yavaş ileuma

dönüştüğü görülür. İnce barsağın jejunum-ileum bölümü, jejunumun duodenuma birleştiği bölgeden ve ileumun kalın barsağın başlangıcı olan çekum ile birleştiği noktada biter. İleumun çekuma açıldığı noktada bulunana ileoçekal valv, ileumdaki sindirilmiş besinlerin tek yönlü olarak geçişlerini sağlamaktadır. Jejunum duvarı ileuma oranla daha kalın, daha kırmızı ve daha damarlıdır. Jejunum ve ileum hemen hemen tümüyle peritonla örtülüdür (26).

2.2.3. Kalın Barsak

Kalın barsak, anüse kadar uzanmakta olup yetişkinlerde boyu yaklaşık olarak 1.5 m kadardır. Kalın barsağın yapısında bulunan düz kas lifleri, kalın barsağın uzunluğu boyunca seyretmekte olan üç bant oluştururlar. Bu bantlara tenia coli denir. Kalın barsağın peritonla örtülü serbest bölümlerinde, periton yaprakları arasında yağ kümeciklerinin oluşturduğu şişliklere apendiks epiploika denir. Kalın barsağı oluşturan bölümler şunlardır: Apendiks vermiformis, çekum ve ileoçekal valv, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid, rektum ve anüs (26).

2.2.3.1. Apendiks Vermiformis

Apendiks vermiformis, çekumun arka yüzüne açılmaktadır. Mezoapendiks denilen bir periton yaprağı aracılığıyla ileumun mezenterine asılmıştır. Apendiks vermiformisi besleyen arter, mezoapendiksin içinde yol alarak organa ulaşmaktadır. Kalın barsağın dış yüzünde bulunan tenia coli denilen üç bant, apendiks vermiformisin çekumla birleştiği noktadan başlamaktadırlar (26).

2.2.3.2. Çekum ve İleoçekal Valv

Çekum, kalın barsağın başlangıç bölümünü oluşturmaktadır. Çekumun arka bölümüne ince barsağın ileum bölümü ve apendiks vermiformis açılmaktadır. Çekum, hemen hemen tümüyle peritonla örtülüdür ve az da olsa hareketlidir. İnce barsağın son bölümü olan ileum, kalın barsağın çekum bölümüne açılmaktadır. Çekumun arka duvarında ileoçekal delik yapan ileum, burada iki dudaklı bir kapakçık oluşturmaktadır. Bu kapakçığa ileoçekal valv denir. Yapısındaki düz

kaslar sfinkter görevi yapmaktadır. İleoçekal valv, ince barsaktan kalın barsağa olan akışın daima tek yönlü olmasına katkıda bulunan önemli bir oluşumdur.

2.2.3.3. Çıkan Kolon

Çekumla başlar ve yetişkinde yaklaşık 15 cm uzunluğundadır. Karın ön duvarındaki izdüşümü sırasıyla şu bölgelerden geçmektedir: En altta başlangıç bölümü olan sağ iliak bölge daha sonra sağ lumbal bölge. Sağ lumbal bölgede, karaciğerin alt yüzünün hemen altında bulunan bir yerden çıkan kolon sola doğru bir dirsek yapmaktadır. Bu dirseğe hepatik fleksura denir (26).

2.2.3.4. Transvers Kolon

Yetişkinde yaklaşık olarak 50 cm uzunluğundadır. Sağ lumbal bölgede hepatik fleksuradan başlar ve sol hipokondriak bölgeye ulaşır. Transvers kolon, sol hipokondriak bölgede aşağıya yönelik bir dirsek yapmaktadır. Bu dirseğe splenik fleksura denir. Transvers kolonun sağ ucunun arka yüzü peritonla örtülü değildir. Bu bölge, pankreas başı ve duodenumun inen parçasıyla komşudur (27).

2.2.3.5. İnen Kolon

Yetişkinde yaklaşık 25 cm uzunluğundadır. İnen kolon splenik fleksuradan başlar ve kolonun son bölümü olan sigmoid kolonla birleşir. Splenik fleksura, frenikokolik bağ aracılığıyla diyafragmaya asılmıştır.

2.2.3.6. Sigmoid Kolon

Yetişkinde yaklaşık olarak 40 cm uzunluğundadır. Üst ucu inen kolonla, alt ucu da rektumla birleşmektedir. Sigmoid kolonun tümü peritonla örtülmüştür.

2.2.3.7. Rektum

Uzunluğu yetişkinde yaklaşık olarak 12 cm kadardır. Orta dikey hat üzerinde, yukarıda sigmoid kolonla aşağıda ise anüsle birleşir. Anüsle rektumun birleştikleri düzey koksiks kemiğinin ucunun 3 cm kadar önüne rastlamaktadır. Yetişkinde

başlangıç bölgesindeki genişliği 4 cm kadardır. Ancak anüse yaklaştığında genişlemektedir. Genişlemiş olan bu rektum bölümüne ampulla rekti denir. Rektum boşluğuna doğru başlıca dört çıkıntının uzandığı görülür. Huston valvülleri denilen bu çıkıntıların ilki rektumun başlangıç bölümüne yakındır. Genellikle yarım ay biçiminde, sağda ve solda bulunabilir. İkincisi ampulla rekti'nin hemen üzerinde bulunmaktadır ve rektumun ön ve sağ yüzlerinden kaynaklanır. Üçüncüsü bir öncekinin 2.5 cm altında bulunmaktadır ve rektumun sol yan tarafındadır. Rektumda tenia coli ve periton bulunmaz. Rektumun ön yüzü erkeklerde mesane, prostat, vezika seminalis, üreterlerin son bölümü ve duktus deferensle komşudur. Kadınlarda ise uterus ve vajinayla komşudur.

2.3. BARSAGIN DAMAR VE SINIRLERİ

2.3.1. Duodenum

Arterleri: Gastroduodenal arter ve mezenterik arterin dalları olan süperior ve inferior pankreatikoduodenal arterdir.

Venleri: Süperior, anterior ve sağ gastrik ven, pankreatikoduodenal ven ve süperior mezenterik vene drene olur.

Lenfatikleri: Ön yüz, pankreatikoduodenal ve pilorik lenf noduna; arka yüz ise süperior mezenterik lenf noduna drene olur.

Sinirleri: Çöliak pleksustur.

2.3.2. Jejunum ve İleum

Arterleri: Süperior mezenterik arterin dalları olan jejunal ve ileal arterdir.

Venleri: Süperior mezenterik ven ve portal vene drene olur.

Lenfatikleri: Süperior mezenterik arterin aortadan ayrıldığı yerdeki mezenterik lenf noduna drene olur.

Sinirleri: Splanchnik ve vagal sinirlerdir (mezenterik ve submukozal pleksus).

2.3.3. Kalın Barsak

Arterleri: Sağ kolon, ileoçekal valvden itibaren transvers kolonun yarısına kadar süperior mezenterik arterin ileokolik, sağ kolik, orta kolik dalları ile beslenir.

Sol kolon ve sigmoid, inferior mezenterik arterin sol kolik ve sigmoid dalları ile beslenir. Kolik arterler, bifürkasyonlara ayrılır ve barsağın mezokolik kenarından 2.5 cm uzaklıkta arkus oluştururlar. Drummond'un marjinal arterleri denilen bu arter ile süperior ve inferior mezenterik arter arasında anastomozlar oluşur.

Venleri: Hipogastrik ven ya da portal sisteme drene olurlar.

Lenfatikleri: Süperior ve inferior mezenterik arter ile venin etrafındaki lenf nodlarına dökülür.

Sinirleri: Sağ kolona, T10-12'den köken alan sempatik sinirler, splanknik sinirler ile çöliak plexus ve süperior mezenterik plexustan gelir. Parasempatik sinirleri ise sağ vagustur. Sol kolona L1-3'ten köken alan sempatik sinirler gelir. Parasempatik sinirlerini, S 2-4'den alırlar.

2.4. SİNDİRİM KANALININ HİSTOLOJİK YAPISI

Sindirim kanalının duvarı bütün uzunluğu boyunca başlıca dört tabakadan yapılmıştır. Bu tabakalar içten dışa doğru mukoza, submukoza, muskularis ve adventisya tabakalarıdır. Mukoza tabakası üç tabakadan oluşur. Bunlar içten dışa doğru epitel, lamina propria ve muskularis mukozadır.

2.4.1. Duodenum

Duodenumun mukoza tabakası barsağın boşluğuna doğru villus denilen çıkıntılar yapmaktadır. Villuslar arasındaki aralığa ise kript denilmektedir. Mukoza tabakasının ilk katını oluşturan epitel katı tek katlı kolumnar epitel hücrelerinden ve bunların arasında bulunan goblet hücrelerinden kurulmuştur. Kolumnar hücreler, mikrovillus denilen eldiven parmağı biçimindeki uzantıları bağırsak boşluğuna doğru gönderirler. Goblet hücreleri ise mukus salgırlar. Epitel katının altında bulunan lamina propria tabakasında Liberkühn kriptaları denilen bezler

bulunmaktadır. Duodenumun submukoza tabakasında bulunan Brunner bezleri, Liberkühn kriptalarına açılırlar.

2.4.2. Jejunum ve İleum

Jejunum ve ileum yapısı genel hatlarıyla duodenumun yapısına benzemektedir. Lamina propriaya yerleşmiş olan Liberkühn bezlerindeki basit salgı hücrelerine, iki yeni tip hücrede eklenmiştir. Bunlar Paneth hücreleri ve Argentaffin hücreleridir. Lamina propria özellikle lenf yapısı bakımından çok zengindir. Buradaki 10 ya da daha fazla lenf nodülü bir araya gelip Peyer plaklarını oluştururlar. Duodenumun dışında barsağın hiçbir bölgesinde Brunner bezlerine rastlanmaz.

2.4.3. Kalın Barsak

İnce barsaklardan bazı farklılıklar göstermektedir. Kalın barsağın mukoza yüzeyinde villuslar kaybolur ve mukoza yüzeyi düzleşir. Epitel hücreleri arasındaki Goblet hücrelerinin sıklığı da artar. Muskularis tabakasının dışında tenia coli denilen şerit biçiminde uzanan yapılar bulunur. Kalın barsağın rektum bölümü, temelde kolona benzemektedir. Tenia coli yoktur. İç yüzünde ise mukoza ve submukozanın birlikte oluşturdukları uzunlamasına seyreden kıvrımlar bulunur.

2.5. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenlerle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Doku kanlanmasının ilaçlarla veya çeşitli girişimlerle yeniden sağlanması ise reperfüzyona neden olur.

2.5.1. İskemi ile İskemi-Reperfüzyon Hasarı Arasındaki Fark

Dokuya gelen kan akımı kesildiğinde; dokunun oksijenlenmesi ve aerobik metabolizma ile sağlanan enerji üretimi bozulur. ATP'nin kullanımı devam ettiği halde, üretimi düşer (28). İskemi sırasında dokuda aşırı miktarda hipoksantin (Hx) birikir. Hücresel enerji bozulur. Hücrenin Ca^{+2} dağılımını dengeleme yeteneği

bozulur. Hücre içi Ca^{+2} birikimi olur. İskemiye oluşturan bu olaylar dizisinde hasar, reperfüzyondaki kadar ciddi değildir .

Arteriyel ya da venöz dolaşımın kesildiği dönemleri izleyen reperfüzyonun mikrovasküler alanda hasara yol açması ve hücre ölümüne neden olması İR hasarı olarak isimlendirilir. Bu hasarda reperfüzyon sırasında açığa çıkan SOR sorumludur (2). İskemi sırasında küçük oranda SOR oluşmaktaysa da, reperfüzyonda yeniden oksijen verilmesinin ardından çok daha büyük miktarda SOR açığa çıkmaktadır. Bu durum hasarın ağırlaşmasına neden olmaktadır. Böylece akut inflamasyon ve iskeminin yol açtığı doku hasarı reperfüzyonla artış göstermektedir. Değişik dokuların iskemiye gösterdiği yanıtlar farklı olsa da İR hasarının ortak yol olarak sonlandığı düşünülmektedir (29).

2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşum Mekanizması

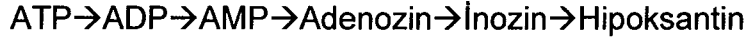
Reperfüzyon hasarı ile ilgili çalışmaların çoğunda amaç, SOR'un ve etkilerinin açığa çıkmasını engellemek ve dolayısıyla hasarın en az olmasını sağlamaktır (30,31). SOR, dış halkalarında eşlenmemiş bir elektron içeren ileri derecede kararsız moleküllerdir. Süperoksit radikali (O^{-2}) ve türevleri olan hidroksil radikali ($\text{OH}^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) bu başlık altında toplanan SOR'dur. Bu moleküller bütün biyolojik yapılara toksik etkilidir. Hücre membranları ile reaksiyona girip, lipid peroksidasyonu ile hücre ölümüne sebep olurlar. Ayrıca bu sırada bol miktarda yeni SOR açığa çıkar ve hasar artarak devam eder.

SOR'un açığa çıkışından 5 ana mekanizma sorumlu tutulmaktadır (32).

1. Ksantin oksidaz yolu
2. NADPH oksidaz yolu
3. Mitokondrial sitokromlardan sızıntılar
4. Araşidonik asit metabolizması
5. Katekolaminlerin otooksidasyonu

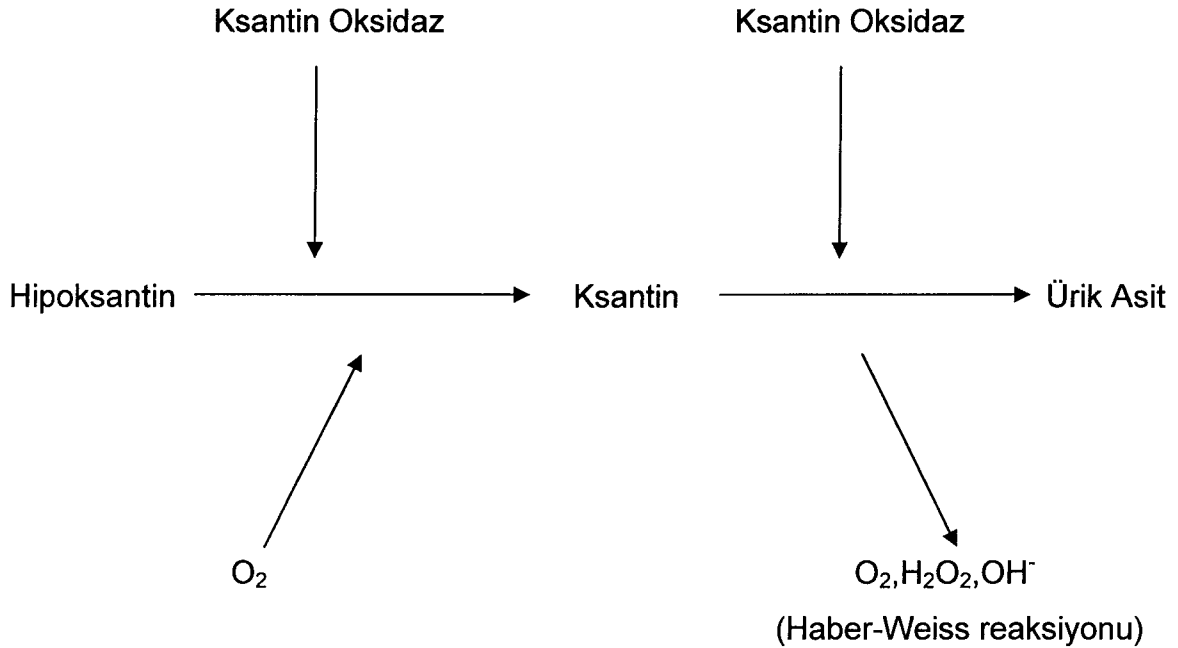
Bunlardan en ayrıntılı olarak ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz mekanizmaları incelenmiştir (33-36).

1.Ksantin oksidaz: İskemi uzadıkça, anaerobik metabolizma baskınlaşır, artan sitozolik Ca^{+2} etkisiyle ATP, Hx'e metabolize olur (1).



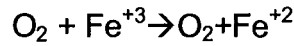
Ksantin dehidrogenaz (XD), mikrovasküler endotelial hücrelerde bol bulunan bir enzimdir. İskemi ile bozulan membran pompası nedeniyle artan hücre içi Ca^{+2} intrasellüler proteazları aktive ederek XD'den ksantin oksidaz (XO) oluşumuna sebep olur (37). XO, ortamdaki Hx'den ksantin ve O^{-2} sentezler.

Reperfüzyon sırasında aniden ve çok miktarda oksijen sisteme katılır. Hx, XO katalizörlüğü altında ürik aside dönüşür (38). Elektronlar moleküler oksijene transfer olur, böylece oksijen; O^{-2} ve H_2O_2 'ye dönüşür (39) Ayrıca O^{-2} , endotel hücrelerinde H_2O_2 ve OH, HOCl (hipoklorik asit) gibi diğer oksijen metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur (40).



Şekil1. Hipoksantinden ürik asit oluşumu

$O_2^{\cdot-}$, Fe ile reaksiyona girerek en güçlü sitotoksik oksijen radikali olan $OH^{\cdot}$ oluşturur.



2.NADPH oksidaz: İR hasarında nötrofillerin ön planda rol oynadığı görüşü son yıllarda ağırlık kazanmaktadır (41). Nötrofiller hücre membranında bulunan NADPH oksidaz enzimi ile ekstrasellüler $O_2^{\cdot-}$ oluşumuna neden olurlar. $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve ferritin ile reaksiyona girerek $OH^{\cdot}$ radikali oluşturur. Ayrıca nötrofilik H_2O_2 myeloperoksid enzimi ile reaksiyona girerek HOCl oluşumuna neden olur. HOCl, güçlü oksidan etkili olmasının yanı sıra elastaz, kollajenaz ve jelatinaz gibi proteazları da aktifleyerek hücre hasarında rol oynar (42).

3.Mitokondriyal sitokromlardan sızıntılar: Hücresel oksidatif reaksiyonların tüme yakını mitokondrilerde gerçekleşir. Mitokondriye giren $O_2^{\cdot-}$ 'nin % 95'i çeşitli basamaklardan sonra H_2O 'a dönüşürken, % 1-5'i elektron transport zincirinde yerleşik NADH dehidrojenazca $O_2^{\cdot-}$ molekülüne dönüştürülür.

4.Araşidonik asit: Siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarından yan ürünler olarak $O_2^{\cdot-}$ molekülleri oluşur (43).

5.Katekolaminlerin otooksidasyonu: Katekolaminler, pirogallol ve methemoglobin otooksidasyonu sırasında $O_2^{\cdot-}$ molekülleri açığa çıkar (35). Reperfüzyonu izleyen dönemde ortaya çıkan SOR mikrovasküler alanda endotelial hücre hasarı ve kapiller geçirgenliği artırır. Ayrıca ortamdaki artmış Ca^{+2} molekülü de önemli bir mediatör olarak nonspesifik proteazları ve fosfolipazı aktiflerler. Bu olaylar proinflamatuvar mediatör sentezini tetikler. İlk mediatörler, membran fosfolipidlerinin ya da serbest yağ asitlerinin transformasyonundan oluşan, lipid yapıda olan Trombosit aktive edici faktör "platelet activating factor" (PAF) ve eikosanoidlerdir (lökotrien, tromboksan ve prostaglandinler). Daha sonra

peptid yapıda olan sekonder mediatörler, sitokinler ile TNF- α sentezlenir ve aktif inflamasyon başlar (44).

Nötrofil ile endotel hücreleri arasında etkileşen adezyon molekülleri, hem nötrofil hem de endotel hücresinden sentezlenerek, nötrofil aktif sekestrasyonuna yol açarlar. Endoteldeki CD18 ve nötrofildeki CD11/18 reseptörleri, kemotaktik maddelerle etkileşerek adezyonu başlatır. Ayrıca selektin ailesinden granül membran proteini 140 (GMP 140) ve sitokinlerce stimüle edilen, endotelyal lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM-1) ve intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) de nötrofil sekestrasyonunda önemli rol oynar (45). Bu etkileşimler sonucu reperfüzyon bölgesinde aktif nötrofil sekestrasyonu meydana gelerek inflamatuvar olay hem akut hem de kronik fazda artar. Dokularda koruyucu enzimler olarak nitelendirilmiş iki ana enzim bulunmuştur: Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) (46,47). Değişik dokularda, farklı aktivitede SOD ve CAT bulunduğu, dokuların İR'ye olan farklı hassasiyetleri de bu yolla açıklanmaya çalışılmış, İR hasarı modellerinde SOD ve CAT kullanılarak hasarın azaldığını gösteren birçok çalışma (48-49) bu fikri desteklemiştir.

2.5.3. Serbest Oksijen Radikalinin Etkileri

Dokularda hasara yol açan ajanlardan birçoğu zararlı etkilerini SOR diye adlandırılan reaktif türler aracılığıyla gerçekleştirir. Bu moleküller; organizmadaki enerji üretimi, lipidlerin ve proteinlerin parçalanması ve inflamatuvar süreçler gibi birçok olağan hücresel tepkimenin yan ürünü olarak sürekli oluşmaktadır (50).

SOR, dış yörüngesinde bir veya birkaç tane çiftlenmemiş elektron bulunduran atom veya organik ya da inorganik moleküllere verilen addır. Bu elektron yapılanmaları onları yüksek derecede kararsız ve kimyasal olarak fazla reaktif hale getirir. Bulabildikleri herhangi bir molekül ile etkileşime girer ve bu molekülden ya bir elektron alır ya da ona bir elektron vererek yapısını bozarlar (51).

Organizmada oksidatif mekanizmalar sonucu oluşan SOR aşırı üretim veya vücuttaki oksidan/antioksidan dengenin bozulması durumunda, protein, lipid, karbonhidrat ve nükleotid gibi biyomolekülleri etkileyerek zararlı etki göstermeye

başlar (51). Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri, SOR'un zararlı etkisinden daha kolay etkilenir ve zincirleme olarak devam eden, lipid yapısında bozukluk ve parçalanmaya yol açan lipid peroksidasyonuna neden olurlar (52).

SOR'un en çok rastlanan kaynağı, iki tane çiftlenmemiş dış elektrona sahip olan oksijendir. Olağan hücre metabolizması sırasında, hücreler enerji üreticisi oksijeni işleyerek suya dönüştürürler (39). Bu sırada meydana gelen tepkimelerin bazılarında O^2 oluşur. Lipid oksidasyonu, SOR oluşumunun bir başka kaynağıdır. Bu durumda SOR serbest yağ asitleri ile birleşerek su ve karbon merkezli serbest radikal oluştururlar. Karbon merkezli serbest radikaller; kolesterolü oksitleyen, proteinleri değiştiren ve kritik hücre enzimleri ile reseptörlerin işlevlerini bozan bir dizi reaksiyona neden olur. Apoptosisin tetikleyicisi olarak görev yaparlar (3). SOR'un en zararlı etkisi lipid peroksidasyonudur. Hücre membranı poliansatüre yağ asidi ve fosfolipidlerden oluşur. SOR, lipid peroksidasyonunu başlatarak yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur (52). Peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunda bir belirteç olarak kullanılabilir. MDA, membran bileşiklerinin polimerizasyonu ve peroksidasyonu sonucu oluşan kısa zincirli bir aldehittir (53). İR ile ilgili yapılan çalışmalar, MDA düzeylerinin iskemiden fazla etkilenmediğini, ancak reperfüzyondan 10 dakika sonra enzim düzeylerinin iki katına kadar çıktığını göstermiştir (54). Bu da hücre hasarının, iskemiden daha çok reperfüzyon döneminde olduğunu göstermektedir.

Antioksidan mekanizmalar, hücrenin oksijensiz kalması ve bazı kimyasal ajanlara, radyasyona ya da zarar verici başka ajanlara maruz bırakılması durumunda hasara uğramaktadır (55). SOR'u denetleyen intrasellüler mekanizmalar, kan akışının engellendiği sürece etkinliklerini yitirirler. Kan akışı yeniden başladığında ise hücre, denetleyemeyeceği kadar çok miktarda SOR ile karşı karşıya kalmaktadır. İskemi sırasında küçük oranda SOR oluşmaktaysa da, reperfüzyonda yeniden oksijen verilmesinin ardından daha fazla miktarda SOR meydana gelmektedir (56). Giderek artan SOR, sistemik inflamatuvar cevaba ve ardından multipl organ yetmezliğine neden olabilir (7-9).

İR sürecinde serbest radikal üretimi XO etkinliğinden başka nitrik oksit sentaz (NOS), mitokondrial elektron transportu, araşidonik asit metabolizmasındaki pek çok basamak sırasında gerçekleşir. Buna ek olarak iskemi nedeniyle oluşan hücre içi pH'nın düşüşü de Fe^{+2} gibi geçiş metallerinin bağlanmasını değiştirerek bunların Haber-Weiss tepkimesine katılmalarını artırır ve daha çok radikal oluşumuna neden olur (56). Mikrozoal ve nükleer membranlardaki sitokrom P450 enzimleri ve NADPH oksidazda iki potansiyel SOR kaynağıdır (57). Reperfüzyonda kan akımının yeniden başlaması O_2 ve ATP sentezi için gerekli substratların sağlanması ve metabolik artıkların uzaklaştırılması yönünden yararlı olmakla beraber doku hasarı reperfüzyonda ortaya çıkmaktadır (58). Ayrıca iskeminin süresi uzadıkça reperfüzyon hasarının ciddiyeti de artmaktadır (59).

Reperfüzyon hasarındaki tablonun oluşmasında katkıda bulunan birçok faktör vardır. Bunlar arasında iskemik dokuda biriken serbest radikaller, polimorfonükleer lökosit (PMNL), trombositler, araşidonik asit metabolizmasının oluşturduğu tromboksan A_2 , lökotrienler, aktive olan kompleman sistemi ve oluşan membran atak kompleksi, salınan akut faz reaktanları ve sitokinler sayılabilir (60). XO inhibitörleri ile SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin reperfüzyon hasarını azaltabileceğini gösteren çalışmalar vardır (61-62).

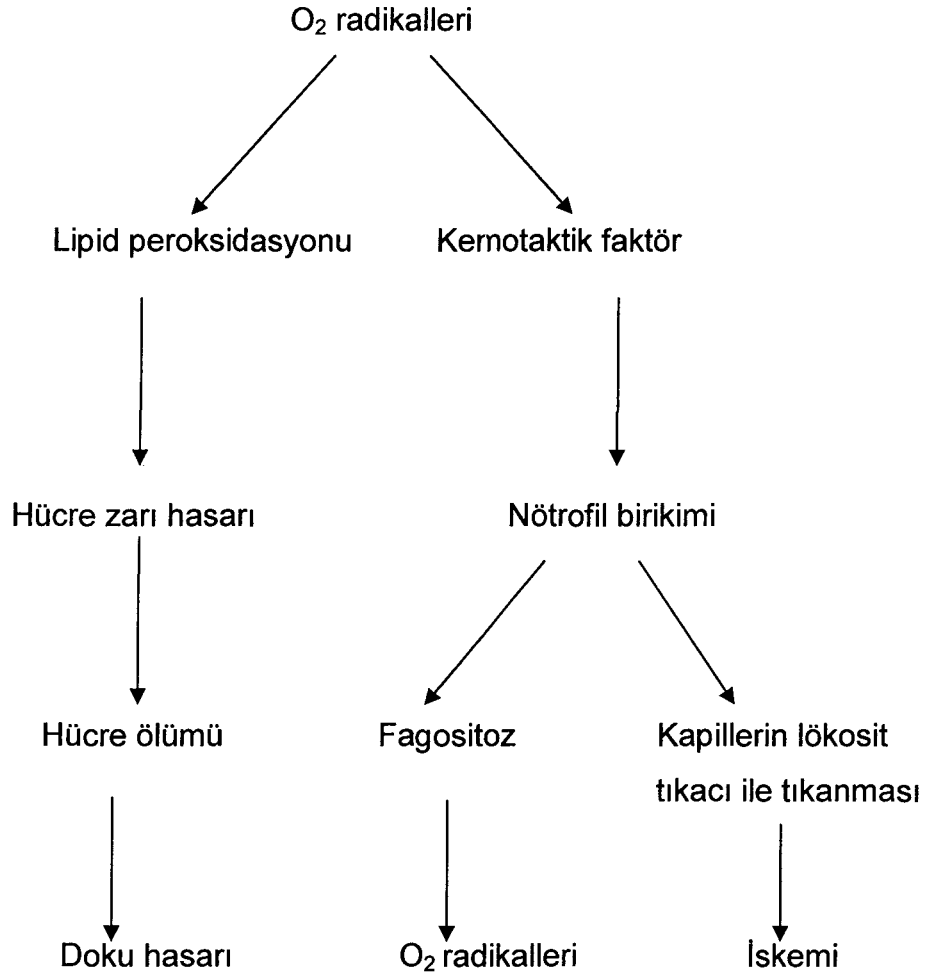
Reperfüzyon sırasında başlayan lokal doku hasarı bu bölgede kompleman sisteminin aktivasyonuna ve $C3a$, $C4a$, $C5a$ 'nın lokal olarak yoğunluklarının artmasına neden olur. Vazoaktif nitelikleri de olan bu maddeler lokal vazodilatasyonun yanı sıra mast hücreleri ve bazofillerden histamin salınımına yol açarlar. $C5a$, güçlü bir kemoatraktan olduğu için bölgede PMNL infiltrasyonu başlar (63). Kompleman sistemi aktivasyonunun en önemli sonucu ise $C5b67$ kompleksinin oluşmasıdır. Bu kompleks $C8$ ve $C9$ ile birlikte membran atak kompleksini oluşturur ve hücre membranında büyük porlar oluşturarak sitotoksik ve sitolitik etki gösterir (64). İR sırasında meydana gelen SOR'ların doğrudan etkilerine ek olarak bu radikaller NMDA (N-Metil, D-Aspartat) reseptörlerinden geçen akımın down regülasyonu ile intrasellüler antioksidan savunmayı bozarak iskemik sitotoksiteyi daha da artırır (32).

Vasküler yataktaki iskemik hasarın ardından, kan akımının yeniden başlamasıyla ciddi komplikasyonlara yol açan organ hasarları oluşabilir (65). Aktive olmuş PMNL, İR hasarında önemli rol oynamaktadır. Yeniden oksijenlenme sonrası endotelde üretilen SOR; ICAM-1 ve E-Selektin gibi adezyon moleküllerinin transkripsiyon ve ekspresyonunu başlatmakla birlikte IL-8 gibi proinflamatuvar kimokinlerin salınımını da artırır ve bunlar PMNL adezyonunu ve migrasyonunu gerçekleştirirler (66). Sitokinle aktive edilen endotelin ürettiği IL-8, PMNL aktivasyonuna ve doku hasarına yol açan haberleşmede kritik önem taşır (67). Endotelin aktivasyonunu ve PMNL adezyonuna yol açan bu biyolojik olaylar, kapiller geçirgenliğini değiştirerek ödeme ve PMNL göçüne yol açarak organda işlev bozukluğuna neden olur (68). SOR'un etkisiyle hasar gören ilk doku, damar endotelidir (69). Buna ek olarak postkapiller venüllere lökositlerin adezyonu ve sonrasında migrasyonları, İR hasarında etkilidir (70). PMNL, reperfüze dokularda postkapiller venül endotelinde birikip endotel hasarı ile kapiller permeabilitede artışa yol açar (71). Kapillerde biriken PMNL aynı zamanda lümeni tıkayarak "no reflow" fenomeninin gelişmesine neden olurlar (72).

Vasküler endotelin aktivasyonu; adezyon proteinlerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin genetik upregulasyonuna PMNL'lerin infiltrasyonuna neden olmaktadır. PMNL'nin endotelyal ICAM-1'e bağlanmasıyla nötrofil-endotel adezyonu gerçekleşir (73). CD11/18 ve ICAM-1'e karşı oluşmuş antikolar kullanılarak barsak, mezenter, iskelet kası, akciğer, kalp ve beyin dokularında İR'deki endotel PMNL adezyonuna bağlı hasar engellenebilmiştir (74).

Çevresel uyarılara hücre savunma mekanizmaları oluşturma yeteneği, ökaryotik ve prokaryotik hücrelerin temel özelliğidir. Oksidatif stresin etkilerini en aza indirmek için de antioksidan savunma mekanizmaları ve antioksidan enzimler (AOE) geliştirmiştir. Sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonlar gibi çok sayıda uyarıcı, AOE'lerin ekspresyonunu tetikler. TNF- α , IL-1, limfotoksin, östrojen, deksametazon gibi leptinin de pek çok dokuda AOE üretimi için gen ekspresyonunu indüklediği bildirilmiştir (75). Bu stimulusların bazıları hücrelerde

oksidatif strese sebep olurlar. Çalışmalar AOE'lerin oksidatif stresin ardından transkripsiyonel olarak aktive olduğunu göstermiştir (76).



Şekil 2. Serbest Oksijen Radikallerinin etkisi

İR hasarının tedavisinde sitokin reseptör antagonistleri ve antiinterlökin antiserumları üzerinde çalışılmaktadır (77,78). Hücrelerin ve dokuların tahrip edici ajanlara karşı savunma mekanizması olan inflamasyon, kontrol edilemediği durumlarda normal dokuda da aşırı hücre ve doku hasarına neden olur. Bu süreçte fagositlerden salınan SOR, apoptozis de dahil olmak üzere pek çok kronik

hastalıkla ilişkili olan hücre ve doku hasarına sebep olur (79,80). Serbest radikallerin AIDS, aterosklerozis, kanser ve diabet gibi hastalıkların oluşmasında rol oynadığı (81-84); bu patolojilerin tedavisinde antioksidan desteğin yararlı olacağı ortaya konmuştur (85-87).

Membranlar çoklu doymamış yağ asidinden zengin oldukları için SOR etkisine açıktırlar ve membranda yapı ve fonksiyon bozuklukları oluşmaktadır (50). SOR'lar, yağ asitlerindeki doymamış bağlarla kolayca reaksiyona girerek lipidlerin peroksidasyonuna neden olurlar (52). SOR'un yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri; MDA ve Hidroksinonenal (4-HNE).

2.5.4. Barsak İskemisi

Barsak iskemisinin en çok bilinen sınıflandırması akut ve kronik iskemidir. İstirahat halindeki aç bir insanda splanknik alan, kardiyak outputun %25'i ile dolar. Barsak vasküler yatağının yüksek kapiller yoğunluğu ile karaciğer hariç daha yüksek geçirgenliği vardır. Barsak venöz akımı karaciğeri perfüze etmektedir. Barsak vasküler yatağında venöz kan akımı ve ortalama kapiller basınç diğer alanlara göre daha yüksektir. Bu nedenle kapiller basınç yükseldiğinde, barsak vasküler yatağı, yüksek miktarda sıvı kaybı açısından potansiyel bir risk taşır. Barsak oksijen tüketiminin değişebilmesi için, normal açlık halindeki kan akımının %50 oranında azalması gereklidir. Bu basıncı normal düzeyde tutabilmek amacı ile birçok fizyolojik reaksiyon oluşur. Tüm kompensasyon mekanizmalarının temel amacı, barsağın oksijen ihtiyacının karşılanmasıdır. Tüm bu koruma mekanizmalarına rağmen, barsaklarda arteriyel obstrüksiyon, venöz obstrüksiyonlar veya venöz-arteriyel kombine obstrüksiyon (strangülasyon), bazı durumlarda da nonoklüzif barsak iskemisi gelişebilir. Hipoksi, mikroskopik olarak mukozanın yüzeyel kısmı olan villuslarda, 20 dakika içinde farkedilir ve hasara neden olur (88).

Villusların apeksinden başlayan hasar ilerleyerek barsak lümeninde biriken proteolitik enzimler, bakteriler ve endotoksinler periferik dolaşıma salınır. Bu hasar, kalp ve solunum fonksiyonlarını da bozarak barsak perfüzyonunun azalmasına

neden olur. Şiddeti devam eden ve uzamış iskemide mukozanın villöz katmanı hasara uğrar. Tam ya da tama yakın uzamış iskemilerde, 8-10 saatte transmural infarktüs görülür ve total barsak iskemisine doğru patoloji ilerler (89).

Bölgesel hipotansyon ya da parsiyel iskemi yapılan hayvan deneylerinde, barsak mukozasında hasar olan segmentlerde, kontrol gruplarına göre, vasküler dirençte belirgin yükselme, eritrositlerin villus bölgesine akımında belirgin bozukluklar ve buna bağlı olarak O₂ taşınması kapasitesinde belirgin değişiklikler gözlenmiştir (90,91). Ayrıca hasarlı mukozada, net sıvı-elektrolit absorpsiyonu belirgin ölçüde azalmıştır. 1982'de Parks'ın posthipotansif hemoraji sırasında oluşan SOR'un, mukozal lezyonların gelişiminde önemini vurgulamaları ile reperfüzyon hasarı üzerindeki çalışmalar yoğunlaşmıştır (92). Bu hipotezler hipotansif dönem sonrası mukozal hasarda olan artışı desteklemektedir. Reperfüzyon komponenti olan barsak doku hasarında ise parsiyel iskemi görülür. Bu doku hasarı, oksijenli kanla reperfüze olan alanlarda oluşan SOR'ların artmasından kaynaklanır (89).

Tüm laparotomiler içinde barsak iskemisi % 1'den daha az bir bölümü oluşturur. Ancak hastalığın tanısının zor konulması nedeniyle, sıklıkla tedavide gecikmeler olur. Geniş barsak kısımlarının nekrozla sonuçlanabileceği ve yüksek mortalitelerin oluşacağı tablolar görülebilir.

Akut barsak iskemisinde etyolojiden bağımsız gelişen barsağın cevabı dört aşama ile gösterilebilir:

1. Hiperaktif Evre: Oklüzyondan hemen sonra aralıklı olarak şiddetli ağrı gelişir. Bazen kanla karışık defekasyon, kusma ve hiperperistaltizm görülebilir.
2. Paralitik Evre: Ağrı, azalmasına rağmen sürekli ve yaygın bir hal almıştır. Aynı zamanda karın yaygın olarak daha hassas ve distandüdüdür. Barsak sesi alınamaz.
3. Sıvı Dengesinin Bozulduğu Evre: Barsakta nekroz olduğunda sıvı, protein ve elektrolit sekestrasyonu olur ve peritonit gelişir. Bu faz jeneralize peritonitin diğer formlarından çok farklılık göstermez. Sıvı kaçağı fazladır.
4. Şok Evresi: Sıvı elektrolit dengesindeki bozukluk sonucu, hastanın genel durumu bozulur ve şokun geri dönüşümsüz evresine girilir.

Akut barsak iskemisinin mortalitesi yüksektir. Hastaların barsak gangrenine kadar ilerlemiş bir tablo ile başvurmaları, tanı koymada ya da ameliyat zamanlamasındaki gecikme gibi birçok faktör mortalite oranlarını etkiler. Erken tanı ve tedavi ile ilgili çalışmalar devam etmekle birlikte, barsak iskemisi düşünülen olgularda geleneksel yaklaşımlar tercih edilmektedir. Açıklanamayan karın ağrısı olan ve lökosit değerleri yüksek hastaların tanısında şüphenin devam etmesi halinde, barsak nekrozu gelişmeden önce reperfüzyonun sağlanması, halen tercih edilen bir yöntemdir (93).

Barsak iskemisi nedeni ile yapılan girişimlerde cerrahlar, genellikle tamamen nekroze olan barsak ansları ile karşılaşırken bazen de rezeksiyon yapılmayan anslardaki canlılık konusunda kararsız kalırlar. Tüm iskemik barsağa total rezeksiyon yapılabilir ya da bırakılan segmentlerdeki canlılığın kontrolü için "second-look" laparotomiye bırakılır. Aradaki iskemi olgularında, bu bölgelerinde meydana gelen metabolik fenomenler hakkında bilinen, antioksidan ve sitoprotektif ajanların kullanımı tedavide önemli bir yer oluşturur. Tanının konmasından itibaren uygulanacak bu tedavi ile ara gruptaki iskemik ansların boyutları azalacak, major bir barsak rezeksiyonu yapılmayıp hatta ikinci bir laparotomiye gerek duyulmayacaktır. Barsak iskemisinde genellikle ya da lokal vazodilatatör tedavi de uygulanmaktadır (94). Ariceta ve ark., (95) İR oluşturdukları ratlarda sitoprotektif ajan olarak somatostatin kullanmışlar ve ilacın verildiği ratlarda barsak İR hasarında, ilacın PMNL infiltrasyonunu azaltıp, doku myeloperoksidaz düzeyini düşürerek, orta derecede iskemisi olan olgularda, rezeksiyon ve anastomoz yapmadan sitoprotektif bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Son yıllarda organ transplantasyonlarında, enerji metabolizması ile organ canlılığı arasında bir ilişkinin varlığı ortaya konmuştur. İmplantasyon sonrası greft canlılığını değerlendirmede, hücrese ATP, total adenindinükleotid düzeylerinin dokularda, potansiyel enerji metabolizmasını ve mitokondrideki ATP sentez kapasitesini yansıttığı düşüncesi ile klinikte değerli bir parametre olabileceği düşünülmektedir (96,97).

İR ile ilgili bir takım parametreler mevcuttur. Bunlardan bazıları; hyaluronik asit, pürin, serotonin, nükleozid fosforilaz, intestinal yağ asidi bağlayıcı protein, adenin nükleotid metabolizması, düz kaslardaki elektriksel aktivite ve mukozal glutamin düzeyidir (98,99). Bu konudaki klinik çalışmalar devam etmektedir.

Akut barsak iskemisinde reperfüzyona sekonder olarak gelişen ARDS kökeninde oluşan oksidatif strese, okside glutatyon düzeyinin azalmasının yanı sıra MDA ve myeloperoksidaz artışı da rol oynar. Ayrıca karaciğerde GSH ve ATP'nin azalması; myeloperoksidazın artması, oksidatif strese karaciğerin de rol oynadığını göstermiştir (100).

2.5.5. Barsak İR Hasarına Örnekler

2.5.5.1. Nekrotizan Enterokolit (NEK)

NEK, yenidoğan yoğun bakım ünitelerine yatan hastalar arasında mortalite ve morbiditeye yol açan önemli bir sorundur. 1500 gramdan düşük ağırlıktaki bebeklerde görülme insidansı %10 (101), mortalitesi %26'dır (102). NEK, immatür gastrointestinal sistemin bakteri ve substrat varlığında barsak mukoza hasarına verdiği son yanıttır. Gastrik rezidü artışı, gaitada gizli kan bulunması ve hafif karın distansiyonu gibi erken bulgularla derhal tedavi başlatılarak prognoz iyileştirebilir. Hipotermi, mekonyum aspirasyonu, asfiksi öyküsü olan ve solunum desteği görmüş bebeklerde sık görülür. Doğum sonrası hafif bir enfeksiyon ya da doğum esnasındaki hipoksi mukozal hasarı başlatabilmektedir. NEK'li hastalar arasında doğumda hipoksi kliniği olmayanlar da vardır (103). Konjenital kalp hastalığı, kardiyojenik şok ve hemodinamik bozukluk NEK'e sebep olabilir. Barsaktaki SOR'un esas oluşum kaynaklarından biri XD'nin XO'ya dönüşmesidir (104). Barsak İR hasarında XD'nin XO'ya dönüşmesi esas rol oynar (71). XD'nin XO'ya dönüşümü en fazla ileumda görülür (105).

NEK'te en önemli etiyolojik faktör barsak iskemisidir. Bunun sonucunda PMNL aktivasyonu ve barsak venüllerinde adezyon olmaktadır. TNF- α , komplemanlar, prostoglandinler, lökotrien C4 lokal inflamatuvar reaksiyonu başlatmaktadır. Takiben salınan norepinefrin vazokonstrüksiyona yol açar. Aktive olan

lökositlerden SOR üretimi başlar. Koruyucu mekanizmalar devreye girer. Başta NOS artar. Sonuç, hasar mekanizmaları ile koruyucu sistem arasındaki dengeye bağlıdır. Bu dengenin bozulması, mukozal bariyerin kırılması ve bakteriyel translokasyonla sonuçlanır (106).

2.5.5.2. Midgut Volvulusu

Normal rotasyonunu yapamayan barsakta mezenter fiksasyonu olmaz ve midgut karın içerisinde süperior mezenterik arterin etrafında serbest hareket edebilir durumda bulunur ve herhangi bir etken ile barsaklar süperior mezenterik arterin etrafında dönüp volvulus oluşabilir.

Klinik, safralı kusma, abdominal distansiyon ve rektal kanama ile kendini gösterir. Zamanla hipovolemi ve şok gelişir. Gerekli girişim yapılmazsa süperior mezenterik arterin beslediği duodenumun 2. kısmından transvers kolonun ortasına kadar olan barsaklarda nekroz gelişir. Tedavisi, volvulusa uğramış barsağın acilen detorsiyonudur. Cerrahin detorsiyonu başlatması ile reperfüzyon gelişir. Böylece İR hasarı oluşur. Gecikilen olgularda midgut nekrozu olur ve rezeksiyon gerekir. Bu da yaşayabilen hastalarda kısa barsak sendromuna yol açar.

2.5.5.3. Sepsis

Fonksiyonel kapiller sayısında azalma ve endotelial şişme sepsisteki dolaşım bozukluğuna yol açmaktadır. Endotelial hücreler ile PMNL'ler arasındaki etkileşim, kontrol edilemeyen inflamatuvar yanıtın sorumlu tutulmaktadır. Reseptörler ile düzenlenen nötrofil-endotel hücresi adezyonundaki artış; ekstrasellüler ortama SOR, litik enzimler, NO, Endotelin-1 ve PAF gibi maddelerin salınımı ile sonuçlanır. Bunu izleyen kapiller zedelenme ile doku oksijen alışverişi için gerekli olan yüzeyde ve dolayısıyla hücresel oksijen diffüzyonunda azalma olur.

Sepsis tedavisinde en önemli nokta hipovoleminin düzeltilmesidir. Septik şokta sıvı tedavisi ve semptomimetiklerin kullanılması ile yeterli doku perfüzyonu sağlanırsa da bu durum iskemik dokunun yeniden reperfüze olması nedeniyle İR hasarı ile sonuçlanır.

2.5.5.4. Şok

Hipovolemik şoktaki hastanın doku perfüzyonu yeniden sağlandığında İR hasarı gelişir (107). Proinflamatuvar mediatörlerin çoğu hemorajik şokun hipoperfüzyon fazında değil resüsitasyon fazında artış gösterir. İR hasarı gelişen organda inflamatuvar sitokin, kompleman ve PMNL infiltrasyonu başlar (108).

2.5.5.5. Barsak Transplantasyonu

Transplante edilen barsak, iskemi peryodundan sonra reperfüzyona girer. Deneysel ve klinik İR hasarının en iyi örneği organ transplantasyonudur. Organ donörün vücudundan alındığında iskemi başlar. Vasküler anastomoz tamamlanır ve organ yeniden kanlanır. Böylece İR hasarı başlar. Reperfüzyona SOR (109), sitokinler (110) ve adezyon molekülleri (111) neden olur.

2.5.6. Barsak İR Hasarının Sonuçları

2.5.6.1. Bakteri Translokasyonu

Bakteri translokasyonu, canlı bakterilerin gastrointestinal sistemden mezenter lenf bezi, karaciğer ve dalak gibi barsak dışındaki epitelyal mukozaya geçmesidir (112). Bakterilerin tüm vücuda yayılması sepsis, şok veya multipl organ yetmezliğine neden olabilir. Barsak İR hasarında meydana gelen barsak hiperpermeabilitesindeki artış, bakteri translokasyonuna neden olan faktörlerden biridir (113). İnce barsak transplantasyonu geçiren çocukların % 44'ünde bakteri translokasyonu bildirilmiştir (114).

2.5.6.2. Barsağın Emilim Fonksiyonunda Değişiklik

Barsağın İR hasarını takiben barsaktaki emilim fonksiyon değişikliğini gösteren çalışmalar mevcuttur (115). Barsak infarktı gibi ciddi vakalar kısa barsak sendromuna neden olabilir (116). Sileri ve ark., (117) barsak İR hasarı oluşturdukları rat modelinde yüksek mortalite ile seyreden barsak emilim fonksiyonunun akut ve kronik değişikliklerini göstermişlerdir.

2.5.6.3. Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS)

Barsak İR hasarı sitokin, H_2O_2 ve O^{2-} gibi moleküllerin üretimi sonucu uzak organlarda hasara yol açabilen bir tablodur. Bu durum multipl organ yetmezliğine neden olabilir (7). Barsak İR hasarı PMNL'lerin solunum sistemine infiltrasyonuna yol açarak ARDS gelişmesinde rol oynar (8,9). Erken dönemde PMNL ve geç dönemde mononükleer hücre infiltrasyonu sonucunda bu hücrelerden açığa çıkan SOR, ARDS gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (118).

2.6. NİTRİK OKSİT

Bir serbest radikal olan NO, NOS'un L-arjinin ile etkileşimi sonucu pek çok hücrede üretilmektedir (119). Fizyolojik ve birçok patolojik durumda kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Ayrıca vasküler dengeyi sağlar (120). Endotelial hücrelerden NO üretimindeki yetmezlik İR'de mikrovasküler yetmezliğin primer nedeni olarak gösterilmiştir (121). İskemi, damar endotelinde hem inflamatuvar hücre infiltrasyonu hem de indüklenabilir NOS aktivitesini artırır. Böylece iskemi sırasında NO seviyeleri artarken, reperfüzyon süresince kan akımının yeniden başlamasıyla çok miktarda SOR ve O^{2-} açığa çıkar (35). İskemi sırasında ortaya çıkan NO, ya bu radikalın stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrate dönüşür ya da O^{2-} ile reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturur. Peroksinitrit, proteinlerdeki tirozin rezidülerinin 3-pozisyonundaki hidroksil grubuna bir nitro grubu ekleyerek, stabil bir son ürün olan 3-nitrotirozini oluşturur (127). Ayrıca NO, nötrofil aktivasyonunun bir göstergesi olan myeloperoksidaz enzimi ile reaksiyona girerek proteinlerdeki tirozin nitrasyonuna yol açabilir. İR hasarındaki NO artışı hem NOS enziminin hemde nötrofillerin aktivasyonuna bağlıdır. Yapılan pek çok çalışma, NO uygulamasının İR hasarına karşı dokuları koruyucu olduğunu ortaya koymuştur (122,123). Bazı araştırmalarda ise NOS blokajının İR hasarını önlediği bildirilmiştir (124).

Sonuç olarak NO'un organizmada çift yönlü etki gösterdiği bildirilmektedir (125). Hem birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olduğu ve

antioksidan savunmaya katkıda bulunduğu, hem de aşırı üretim durumunda radikal etki gösterdiği ve peroksinitrit gibi daha güçlü radikal bileşiklerin oluşmasına yol açtığı vurgulanmaktadır (126). Son yıllarda NO'nun endotel kaynaklı gevşeme yapıcı özelliği de vurgulanmaktadır. NO, hücrel ATP konsantrasyon değişikliği yaparak solunum zincirinde mitokondriyal etki ile koruyucu özellikte göstermektedir (128).

2.7. LEPTİN

Leptin, 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından obezite geninin bir ürünü olarak keşfedildi (129). Leptinin biyolojik aktivitesinin yokluğunun hayvanlarda obezite ile sonuçlandığının gösterilmesiyle insan obezitesinin tedavisinde leptinin potansiyel kullanımı üzerine geniş araştırmalar yapıldı. Ayrıca obezite ile ilgili hastalıkların araştırılmasında leptin, yeni bir patofizyolojik belirteç olarak dikkati çekmiştir (11). Leptin kelimesi Yunanca "leptos" kelimesinden türetilmiştir ve zayıf anlamındadır (12). Leptin, özellikle adipozit hücreleri tarafından sentezlenen peptid yapılı bir hormondur (13). Yağ dokusundaki leptin sentezi, başta insülin ve östrojen gibi hormonlar olmak üzere daha birçok faktörden etkilenmektedir. Leptinin temel fonksiyonu, hipotalamus yoluyla gıda alımını ve enerji tüketimini düzenlemektir. Merkezi sinir sistemi ve periferik organlar arasında beslenme durumunun bir sinyali olarak görev alır. Ayrıca immün sistem, damar gelişimi, otonom sinir sistemi, adrenal bez, over, pankreas adacık hücreleri, hipofiz ve kemik iliği üzerinde de santral ve periferik etkileri vardır. Leptinin glukoz metabolizması ve insülin etkilerinde de düzenleyici fonksiyonları olduğu kabul edilmektedir (11-14).

Rat ince barsağında çok sayıda leptin reseptörlerinin varlığını göstermiştir (130). Yapılmış bazı çalışmalar leptinin ratlarda ince barsak boyunu uzattığını, mukozal kütleyi artırdığını ve ince barsaklarda emilim fonksiyonlarını geliştirdiğini göstermiştir (16,131). Leptin bu özellikleri nedeniyle ince barsak için yeni bir büyüme faktörü olarak kabul edilmiştir. Deneysel bir çalışmada leptinin kolesistokininin varlığında barsak kontraksiyonlarını artırdığı gösterilmiştir (132). Leptin yine kısa barsak sendromunda kalan barsak segmentinde emilim

fonksiyonlarını artırarak yeni bir kullanım alanı daha bulmuştur (133). Bunlarla birlikte leptin büyüme hormon düzeylerini artırmakta ve ince barsaklarda büyüme hormonunun mukoza üzerindeki koruyucu etkisini sağlamaktadır (134).

2.7.1. Leptinin Yapısı

Leptin, 167 amino asitten oluşan bir peptid olup, amino terminal ucundaki 21 aminoasitlik kısım sinyal peptid olarak tanımlanır. Leptinin mikrozomlar içine translokasyonunu takiben sinyal peptid molekülden ayrılır ve leptin kan dolaşımına salgılanır. Dolaşımdaki leptin 146 amino asitlik bir peptittir ve 14.000-16.000 kDa molekül ağırlığına sahiptir. İnsan leptini, fare ve rat leptini ile %83-84 homoloji göstermektedir. Leptinin kristal yapısı dörtlü heliks yapısı ile uzun zincirli helikal yapıli sitokin ailesine (IL-6, IL-12) benzemektedir (14).

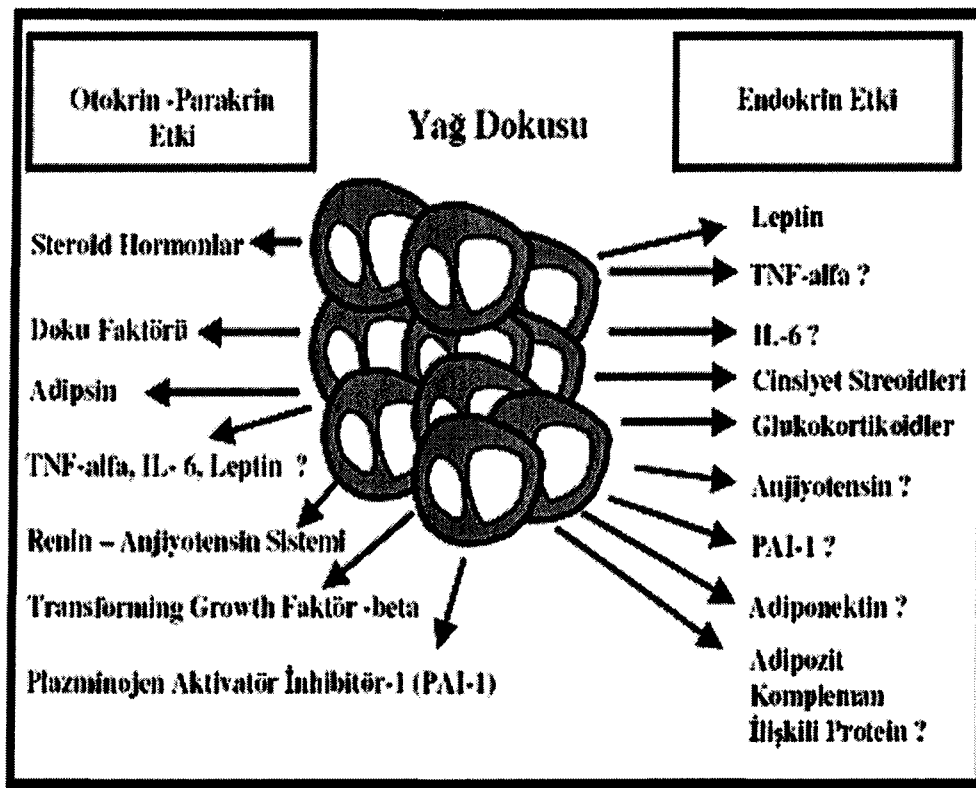
2.7.2. Leptinin Sentezi ve Yıkımı

Leptin obezite geninin bir ürünüdür. Leptin geni (ob gen) 3 ekzon ve 2 intron içerir ve insanlarda 7. kromozom (7q 31.3) üzerinde bulunmaktadır. Bu gen 3.5 kb'lık bir mRNA içinde kopyalanmış olup 167 amino asitlik pro-hormon olan leptini kodlamaktadır. Leptin geni transkripsiyonu ve translasyonu; yağ dokusunda, plasentada ve sindirim sisteminde görülmektedir. Leptin, normal vücut ağırlığında, vücut kütle indeksi ve vücut yağ yüzdesinden çok, yağ kütlesi ile daha iyi bir korelasyon gösterir.

Dolaşımdaki leptin konsantrasyonu, yağ dokusundaki leptin mRNA'sının miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Plazma leptin konsantrasyonu vücut yağ miktarı ile korelasyon göstermekle beraber, cinsiyetin de leptin düzeylerine önemli bir etkisi vardır. Aynı yağ miktarına sahip kadınlar, erkeklere göre 2 kat daha yüksek leptin düzeylerine sahiptirler. Cinsiyetler arasında leptin düzeylerindeki farklılığın cinsiyet hormonları, insülin, büyüme hormonu, katekolaminler, vücut yağ dağılımı ve primer genetik etkilerden kaynaklandığı kabul edilmektedir (135).

Enerji alımında ve büyüme-gelişmedeki değişiklikler serum leptin konsantrasyonlarını etkileyebilir (10). İnsan ve hayvan çalışmalarında, kilo

kaybının leptin düzeylerini azalttığı, kilo alımının ise plazma leptin konsantrasyonunu önemli derecede artırdığı tespit edilmiştir. Yağ dokusundaki yağ miktarı artışı da leptin üretimini artırır (136). Yağ dokusunda leptin sentezini artıran ve baskılayan faktörler şekil 3'de özetlenmiştir (10,11).



Şekil 3. Yağ dokusundan salgılanan hormonlar ve diğer faktörler

İnsan leptini, beyaz yağ dokusu hücrelerinden sirkadiyen ve pulsatil bir tarzda salgılanmaktadır. Leptin salgısı noktürnal bir artış gösterir (10). Plasentada da en az yağ dokusundaki kadar leptin sentezi gerçekleşir. Leptinin, fetüs için bir büyüme faktörü olabileceği gibi, anneden fetüse beslenme durumunda bir sinyal görevi yapabileceği belirtilmiştir (137). İnsan leptininin plazma yarılanma ömrü, yaklaşık 25 dakikadır. Dolaşımda leptinin bu kısa yarı ömrü başlıca glomerüler filtrasyon aracılı renal klirensle bağlıdır (138).

2.7.3. Leptinin Biyolojik Fonksiyonları

Leptin, yağ hücresinden beyne metabolik durumu aktaran bir sinyaldir. Leptinin hipotalamus, damar, otonom sinir sistemi, adrenal bez, over, pankreas adacık hücreleri, hipofiz ve kemik iliği üzerinde santral ve periferik etkileri vardır (11). Bu etkiler, ilgili organlardaki spesifik reseptörlere bağlanarak ortaya çıkar (11).

Leptinin temel fonksiyonu, vücut ağırlığını düzenlemektir. Leptin obezite karşıtı bir hormondur. Leptin hipotalamustaki reseptörleri üzerinden nöropeptid Y gibi iştah artırıcı peptitlerin sentezini baskılayarak gıda alımını kısıtlamakta ve enerji tüketimini artırmaktadır (139). Leptinin beyinde etki gösterebilmesi için kan beyin engelini geçmesi ve hipotalamustaki hedeflerine ulaşması gerekmektedir. Leptinin beyine geçişi, doyurulabilir özel taşıyıcı bir sistem ile sağlanmaktadır (140).

Periferik leptin konsantrasyonlarındaki dakikalık dalgalanmalar, hipotalamus-hipofiz-over ve hipotalamus-hipofiz-adrenal bez akslarını etkilemektedir (141). Bu da leptinin davranış ve stres ile ilişkili endokrin fonksiyon ve üreme üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir (142). Plazma leptin konsantrasyonları ile adrenokortikotropik hormon düzeyleri arasında ters bir ilişki vardır (137). Nöroendokrin fonksiyonun düzenlenmesinde leptin önemli bir rol oynar. Hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın fonksiyonlarının düzenlenmesine katkıda bulunur. Ayrıca böbreklerde ve adrenal bezde sempatik sinir sistemi aktivitesini artırır (141).

Leptin üremede de anahtar bir role sahiptir. Leptin geni eksikliği olan hipogonadizmli yetişkinlerde üreme sisteminin olgunlaşması leptin tedavisi ile uyarılabilir (143). Hipotalamus-hipofiz-over aksının hormonları ve leptin arasında dinamik bir ilişki vardır. Menstrüel siklusun orta ve geç foliküler fazı sırasında plazma leptin konsantrasyonları luteinize hormon ile uyumlu bir artış göstermektedir. Geceleri serum leptin ve östradiol düzeylerinde uyumlu bir artış izlenir (144). Böylece leptin ve hipotalamus-hipofiz-over aksının hormonları arasındaki bu kapalı ilişki, beslenme durumu ve üreme fonksiyonu arasındaki bağlantıyı sağlar (145). Leptinin damar gelişimini ve hematopoezisi uyarıcı fonksiyonlarının da olduğu bilinmektedir.

Leptinin gastrointestinal sistem üzerinde de etkileri vardır. Rat mide epitelinde leptin bulunmaktadır (146). Leptin, kolon epitel hücreleri için bir büyüme faktörüdür (147). Rat ince barsağında da büyüme faktörü olarak etki gösterir. Bunu kript oluşumunu artırarak yapar (148). Gastrointestinal sisteminde de leptin reseptörleri vardır (14). Leptin reseptör izoformları (Ob-Rb), rat ve insanda duodenumdan kolona kadar tüm barsağa yayılmıştır (149). Leptin reseptörlerinin tüm barsak boyunca varlığı, barsak lümenindeki leptinin emilim gibi düzenleyici fonksiyonlarda görev aldığını düşündürür (150). Leptin, kolon epitel hücrelerindeki bütirat transportunu artırır (151). Bütirat, kolonositler için enerji kaynağıdır ve hücre differansasyonu, proliferasyonu ve apoptosisinde görev alır. Leptin, kolonun epitel hücrelerinde proinflamatuvar bir sitokin gibi etki gösterir (152).

Tablo 1. Leptin eksikliği veya leptin direnci ile ilişkili durumlar

-
- Hiperfaji
 - Obezite
 - Diyabet ve insülin direncine duyarlılık
 - Büyümenin gecikmesi
 - Hipotiroidizm
 - Vücut ısısında azalma
 - Enerji tüketiminde azalma
 - İmmün fonksiyonlarda azalma
 - İnfertilite
 - Plazma glukokortikoid düzeylerinde artış
 - Kemik gelişiminin bozulması
-

İnsan ve ratlarda leptin reseptör izoformları; kalp, plasenta, akciğer, karaciğer, kas, böbrek, pankreas, dalak, timus, prostat, testis, over, ince barsak ve kalın barsakta gösterilmiştir (153). Leptin, gıda alımını sınırlayan ve enerji tüketimini arttıran obezite karşıtı bir hormon olmasına rağmen, obezlerde leptin düzeyleri daha yüksektir (154). Ancak leptin, diyabetli obez kadınlarda daha düşüktür (155).

Leptin mutasyonu veya leptin eksikliği olan kişiler, biyosentetik insan leptini ile tedaviden fayda görürken, leptin reseptör mutasyonu olanlarda bu tedavinin faydası görülmemiştir (156). Vücuttaki leptin üretimi ise visceral yağ dokuya oranla cilt altı yağ dokuda daha fazladır (157).

2.7.4. Leptin ve İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Leptin, adrenal bez, plesanta, pankreas, akciğer, karaciğer, kalp, böbrek, dalak, timus, prostat, ince barsak, kolon, over, testis ve lenf bezi üzerindeki spesifik reseptörleri aracılığıyla etki gösterir (158). Leptinin nöron içermeyen dokularda reseptörlerini bulundurması bu hormonun hipotalamus dışında da etkili olabileceğini düşündürmektedir (159).

Yağ dokusu seks steroidleri metabolizması için esas yer olarak bilinmekteyken leptin keşfedilmiştir. İnflamasyon ve immün cevapta rol oynayan IL-6, TNF- α ve diğer sitokinlerin çoğu gibi leptin de yağ hücresinde üretilip birçok patofizyolojik olayda rol oynar. Nitekim İR hasarı gibi akut inflamasyonda serum leptin düzeyi dalgalanmalar gösterir (160). Leptin düzeyinin sitokinler gibi akut inflamasyonda artması, onun akut faz yanıtının bir parçası olduğunu düşündürmektedir. Leptin, akut enfeksiyona cevap olarak ve sepsiste IL-1 ve TNF- α inflamatuvar mediatörleri gibi sentezlenir (161). Enfeksiyon esnasında leptin seviyesini; TNF- α , IL-1 and IL-6 gibi çoğu akut faz reaktanları artırır (162). Plazma leptin seviyesinin inflamasyonun akut fazında geçici olarak arttığı görülmüştür (163)

İskemik dokunun reperfüzyonunun, SOR salınımı aracılığı ile akut iskemik hasarı daha da kötüleştirdiği gösterilmiştir (107). Önceki çalışmalar, barsak İR hasarının barsak ve akciğerdeki MDA seviyesini anlamlı olarak artırdığını göstermiştir (164). Leptin, endotel kaynaklı NO aracılığı ile rat mezenterik arterinde dilatasyona neden olur (165). Mezenter endotelinden NOS-III tarafından NO salınımı mukoza kan akımının düzenlenmesi ve damar tonusunda önemli rol oynar (166). Leptin düzeyi sitokinler gibi akut inflamasyonda artış gösterir. Bu da leptinin akut faz yanıtının bir parçası olduğunu düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada

eksojen leptinin glukokortikoid salınımını artırarak akut koliti iyileştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca, kolon anastomozlarının iyileşmesini hızlandırır (171).

İnflamasyonun en güçlü endojen inhibitörünün leptin olduğu bildirilmiştir (167). Leptinin NO üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir (19). Leptin, TNF- α ve IL-6 salınımını artırarak akut inflamatuvar stimulusa zamana bağlı olarak antiinflamatuvar bir sitokin gibi cevap verebilir (21). Bu konuyla ilgili yapılan diğer çalışmalarda da leptinin glukokortikoid salınımına bağlı nötrofil aracılı mekanizmayla antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. İnflamasyonda leptin sekresyonunun arttığı, glukokortikoid ve leptinin immün cevaba katkıda bulunduğu gösterilmiştir (19). Leptinin inflamatuvar barsak hastalığı gibi barsak inflamasyonu durumlarında intralüminal biyolojik bir belirteç olduğu bildirilmiştir (152). Bir akut faz reaktanı olan leptin, inflamasyona karşı vücudu savunmada önemli bir rol üstlenir (168). Leptinin asetik asite bağlı kolit oluşturulan hastalarda kolonda nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. (169). Bunun yanında inflamatuvar bir sitokin olduğunu destekleyen yayınlar da bulunmaktadır (170). Leptin, immün ve endokrin sistemde TNF- α toksisitesine karşı koruyucudur. Sitokinelere yapısal olarak benzeyen leptin, ise inflamasyonda dengeyi koruma özelliği ile yani fonksiyonel açıdan da glukokortikoidlere benzer. Fizyolojik ve patolojik durumların her ikisinde de homeostazisi düzenleyicidir (19). Yapılan çalışmalarda NO'nun SOR'u bağlayarak oksidatif stresin zararının sınırlandırılmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. SOR'un yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri; MDA ve Hidroksinonenal (4-HNE). Leptin, PMNL aktivasyonunda rol alan IL1-b salınımını sınırlar (172). Leptinin pankreastaki reseptörleri aracılığı ile NO salınımını artırarak ve SOR'unu toplayarak inflamasyona karşı pankreası koruduğu bildirilmiştir (173).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi. (Etik Kurul Karar No: 2005-07-8)

Çalışmada ortalama ağırlıkları 140 ± 14.5 gram olan sekiz haftalık 30 adet Albino-wistar cinsi dişi rat kullanıldı. Ratlar, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı deney hayvanları araştırma laboratuvarından sağlandı. Ratlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık, %50-70 nemli ortamda, 21°C sıcaklıkta, sıçan yemi ve su ile beslenerek metal kafeslerde saklandı.

Ratlar, her birinde 10 rat bulunacak şekilde 3 gruba ayrıldı.

Grup A (İR grubu): İR yapılan grup.

Grup B (İR+Leptin grubu): İR uygulandıktan sonra leptin verilen grup.

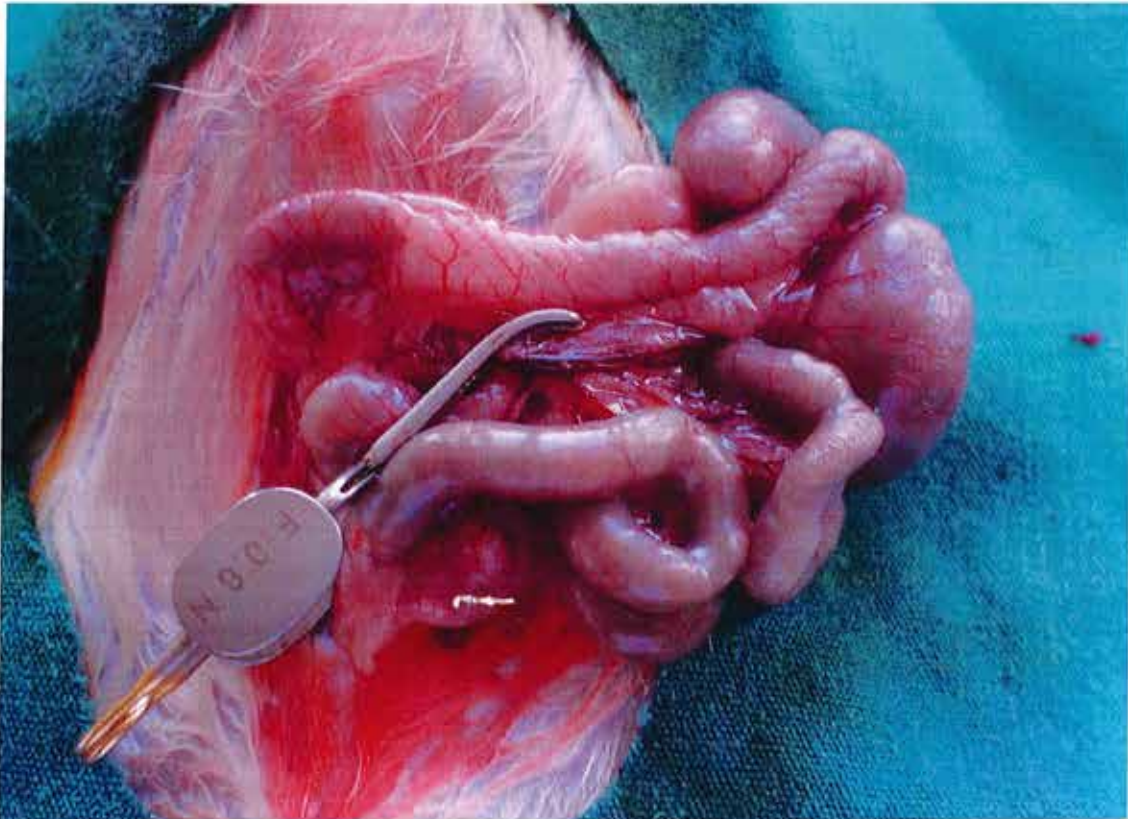
Grup C (Sham grubu): Sadece laparotomi yapılan grup.

3.2. Leptinin Kullanıma Hazırlanış Şekli

Çalışmamızda kullanılan leptinin 1 mg'lık liyofilize formu (Sigma, St. Louis, MO) -80°C 'de saklandı ve çalışmaya yapılacağı zaman kullanıma hazır hale getirildi. Bunun için 15 mM HCl'nin 0.5 ml'si ile 7.5 mM NaOH'in 0.3 ml'si, 0.2 μm filtreden geçirilerek liyofilize form leptine eklendi. Böylece pH 5.2'ye getirildi. 1 mg liyofilize leptin 0.66 ml'de olacak şekilde hazırlandı. Tamamı 10 ayrı eppendorf içine yerleştirilerek kullanılacak doz kadarı $+4^{\circ}\text{C}$ 'ye alındı. Kalan leptin -80°C 'de saklandı.

3.3. Cerrahi Girişim

Denekler bir gece önceden aç bırakılarak, ketamin hidroklorür (Ketalar %5'lik solusyon, Eczacıbaşı-İstanbul) 50 mg/kg intraperitoneal olarak verildi. Anestezi altındaki ratlar prone pozisyonunda dört ekstremitelerinden tesbit edildi. Polyvinylpyrrolidon iyod (polyod %10'luk solüsyon) ile saha temizliği yapıldı. Steril olarak örtüldü. Karına orta hattında 3 cm'lik longitudinal insizyon yapıldı. Linea alba ve periton açıldıktan sonra karına girildi. Barsaklar dışarı alınarak süperior mezenterik artere atravmatik geçici damar klemp (Aesculap, bulldog FE 022 K) konuldu. Bulldog klemp 1 saat süreyle tutularak iskemi oluşturuldu.



Resim 1. Süperior mezenterik arterin klemplenmesi

İskemi esnasında barsaklar ve bulldog klemp karın içine alınarak linea alba ve karın cildi tek kat halinde 5/0 ipek suture (Ethicon, UK, Edinburgh) ile kontinü olarak kapatıldı. Grup A'da reperfüzyondan 30 dk önce 0.1 ml % 0.9 NaCl subkütan

uygulandı. Grup B'de ise reperfüzyondan 30 dk önce subkütan olarak leptin (100 µgr/kg) verildi. Leptin, % 0.9 NaCl ile sulandırılarak 0.1 ml'e tamamlandıktan sonra uygulandı. 1 saatlik iskemiye takiben karın tekrar açılarak barsaklar ve bulldog klempsi insizyondan dışarı alındı. Bulldog klempsi 4 saatlik reperfüzyon oluşturmak üzere çıkarıldı. Bu esnada damardaki pulsasyon dönüşü ve renk değişimi gözlemlendi. Linea alba ve karın cildi tek kat halinde 5/0 ipek sütur ile kontinü olarak kapatıldı. Reperfüzyon sonrası karın, eski insizyon yerinden açıldı. Çekum ve terminal ileum ortaya konuldu. Grup C'de laparotomi yapıldıktan sonra terminal ileum ve mezenter maniple edilip karın aynı şekilde kapatıldı (sham operasyonu). 30 dakika sonra 0.1 ml % 0.9 NaCl subkütan olarak verildi. 4 saat sonra karın aynı insizyondan açıldı.

Grup A ve B' de 4 saatlik reperfüzyon sonrası; Grup C'de ise manuplasyondan 4 saat sonra doku ve serum örnekleri alındı. İleoçekal valvin yaklaşık 4 cm proksimalinden başlayarak 5 cm'lik terminal ileum, biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler incelenmek üzere çıkarıldı.

Her üç grupta terminal ileumdan alınan doku iki eşit parçaya ayrılarak, distaldeki parça histopatolojik incelemeye, proksimaldeki parça ise alüminyum folyo içine yerleştirilerek doku NO ve MDA'sına bakılmak üzere biyokimya laboratuvarına gönderildi. Bu işlemlerden sonra ketamin (50 mg/kg) anestezisi altında torakotomi yapılarak kalbe ulaşıldı. İntrakardiyak olarak alınan 3 ml' lik kan, serum MDA ve NO düzeyleri bakılmak üzere hazırlandı. Doku ve kan örneklerinin alınmasının ardından ratlar dekapitalize edilerek yaşamları sonlandırıldı.

3.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Grup A ve B' de 4 saatlik reperfüzyon sonrası; Grup C'de ise manuplasyondan 4 saat sonra intrakardiyak olarak alınan 3 ml kan, düz tüpe konarak 4000 RPM'de 4 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan serum kısmı - 80°C'de saklandı.

MDA ölçümü, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından tiobarbitürik asit reaksiyonu ile 532 nm'de spektrofotometrik yöntemle yapıldı. Değerler µm/L olarak belirlendi.

3.5. Doku Örneklerinin Biyokimyasal İncelenmesi

3.5.1. Homojenizasyon

Alınan doku barsak içeriğini temizlemek için iki defa % 0.9 NaCl solüsyonundan geçirildikten sonra -80°C 'de saklandı. Çalışılacağı zaman çıkartılarak tartıldı. Bu doku 10 ml'lik deiyonize sudan geçirilmiş cam bir tüpe kondularak üzerine 4 ml % 0.9 NaCl eklendi. Ardından bir bardağın içine buz rendesi konarak ve bu tüpte buzun içine yerleştirilerek küçük bıçaklı homojenatör bıçağıyla 10000 RPM hızıyla 2 dk homojenize edildi. Ardından NO çalışması için kalan homojenat santrifüj cihazına konarak 4000 g' de 5 dk santrifüj edildi. Üstteki süpernatant tıpkı serum gibi çalışıldı.

3.5.2. Nitrik Oksit Kadmiyum Metodu

Çözeltiler

Kadmiyum granül (Merck A371701 248): Granüller (her örnek için yaklaşık 2 gr hesabıyla) 0.1-0.2 M H_2SO_4 içinde saklandı. Glisin-NaOH çözeltisi: 15 gr glisin 1 lt deiyonize suda çözüldü. Daha sonra 2 M NaOH ile çözeltinin pH'ı 9.7 yapıldı.

Sülfanilamid (Sigma, S-9251) çözeltisi: 3 M, 500 ml HCl çözeltisi içerisinde 5 gr sülfanilamid çözüldü. N-Naphthyl etilen diamine (Sigma, N-9125) çözeltisi: 500 ml deiyonize su içerisinde 100 mg N-naphthyl etilen diamine çözüldü. NaOH çözeltisi: 100 ml 550 mM NaOH çözeltisi hazırlandı. ZnSO_4 çözeltisi: 100 ml 750 mM ZnSO_4 çözeltisi hazırlandı (deiyonize suyla). CuSO_4 çözeltisi: 100 mM CuSO_4 hazırlandı. 1,2,5,10,20,50,100 mm/L NaNO_2 ve yine aynı konsantrasyonlarda NaNO_3 standartları hazırlandı. NaNO_2 kadmiyumsuz ortamda redüklendi. NaNO_3 çözeltileri ise önce kadmiyumla redüklendi ve sonra absorbans-konsantrasyon grafiği hazırlandı. Griesse reaktifi: Eşit hacimlerde Sülfanilamid ve N-Naphthyl etilen daimine çözeltileri karıştırıldı. Hacim hesaplandı.

Metod

A- Deproteinizasyon: Örneklerin 0.3 ml'sine, 0.6 ml 55 mM NaOH çözeltisi eklendi ve mikserle karıştırıldı. Bunun üzerine 0.6 ml 75 mM ZnSO_4 çözeltisi ilave edildi ve tekrar mikserle karıştırıldı. Ardından tüm numuneler soğutmalı santrifüj

cihazına konarak 5000 g'de 10°C'de 5 dakika santrifüj edildi. Sonra tüplerin üst kısmındaki süpernatant kısmından alınarak bundan sonraki kademelerde kullanıldı.

B- Kadmiyum aktivasyonu: Cam kavanozda bulunan ve 12 saat H_2SO_4 içinde bekletilmiş kadmiyum granülleri üzerindeki H_2SO_4 boşaltıldı. Saf su ile yıkandı ve saf su boşaltıldı. Her 100 gr kadmiyum için 15 ml $CuSO_4$ çözeltisi kadmiyum üzerine eklendi. Kavanozdaki kadmiyum glisin-NaOH çözeltisi ile yıkandı.

C- Deney: Her bir tüpe yaklaşık 2 gr kadar aktive edilmiş kadmiyum ve glisin-NaOH' den bir miktar kondu. Ardından tüm tüpler üzerindeki glisin-NaOH çözeltisi döküldü. Hemen bu tüpe, kadmiyumlar 1 ml glisin-NaOH eklendikten sonra diğer tüplere aynı işlem uygulandı. Daha sonra bu tüplere aşağıdaki ilaveler yapıldı.

Tablo 2. Nitrik oksit kadmiyum metodu uygulaması

	Standart tüpleri	Test tüpleri	Kör tüpü
Numune	-	0.5 ml	-
dH ₂ O	0.5 ml	0.5 ml	1 ml
Standartlar	0.5 ml	-	-

Ardından tüm tüpler 3000 g'de 3 dakika santrifüj edildi. Daha sonra tüplerin üst kısmındaki süpernatant 1 ml alındı ve başka temiz saf sudan geçirilmiş yeni tüplere konuldu. Tüm tüplere süpernatantın üzerine 1 ml gresse reaktifi konularak tüpler karanlık bir odada ışık görmeyecek şekilde 30 dk renklendirmeye bırakıldı. Son olarak renklenmiş örnekler (kör, standart örnekler) 545 nm dalga boyunda okutularak absorbanlar kaydedildi. Standart grafiği hazırlandı. Bu grafikten faydalanılarak örnek konsantrasyonları saptandı.

Tüm örnekler deproteinizasyonda 5 kez, nitrite redüksiyon sırasında (kadmiyum safhası) 4 kez olmak üzere toplam 20 kez seyreltilti. Standart olarak sodyum nitrit ($NaNO_2$) kullanıldı ve katsayı olarak 20 seçildi. Sonuçlar mm/L cinsinden belirtildi.

3.6. Preparatın Hazırlanması ve Histopatolojik Değerlendirme

Terminal ileum, % 10'luk formol solüsyonu ile fiske edildi. Histopatolojik incelemede, 4 µm' lik kesitler alınarak Hemotoksilen-Eosin ile boyandıktan sonra ışık mikroskopu altında histopatolojik hasar derecelendirmesi yapıldı. İnce barsaklar kesitlerde en az 50 villus sayılarak değişiklikler kaydedildi. Doku hasarı, Chiu sınıflamasına (91) uygun olarak 0-5 arasında değerlendirildi.

Chiu Sınıflaması:

Evre 0: Mukoza villusları normal.

Evre 1: Genellikle kapiller konjesyonla birlikte ve villusların apeksinde subepitelyal aralık oluşması.

Evre 2: Subepitelyal aralığın genişlemesi ve epitelin lamina propriadan hafif derecede ayrılması.

Evre 3: Villusların yan tarafında da yaygın epitelyal ayrılma.

Evre 4: Villus üzerindeki epitelin tamamen harabiyeti, lamina proprianın ortaya çıkması, lamina propriada belirgin PMNL infiltrasyonu ve kapiller konjesyon.

Evre 5: Lamina proprianın bütünlüğünün bozulması, kanama ve ülserasyon

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmede SPSS® for Windows (SPSS 10.0, SPSS Inc., Chicago, USA) bilgisayar programı kullanıldı. Histopatolojik skor değerleri ve serum MDA ve NO düzeyleri ile doku MDA ve NO düzeyleri yönünden gruplar arası karşılaştırma yapıldı. Bu karşılaştırmada tüm veriler ortalama ve artı-eksi ortalamanın standart sapması ($\text{ortalama} \pm \text{SD}$) olarak gösterildi. Grupların karşılaştırmasında histopatolojik değerlendirme ki-kare, biyokimyasal değerlendirmede varyans analizi kullanıldı. P değeri <0.05 olduğu zaman gruplar arasında fark anlamlı kabul edildi.

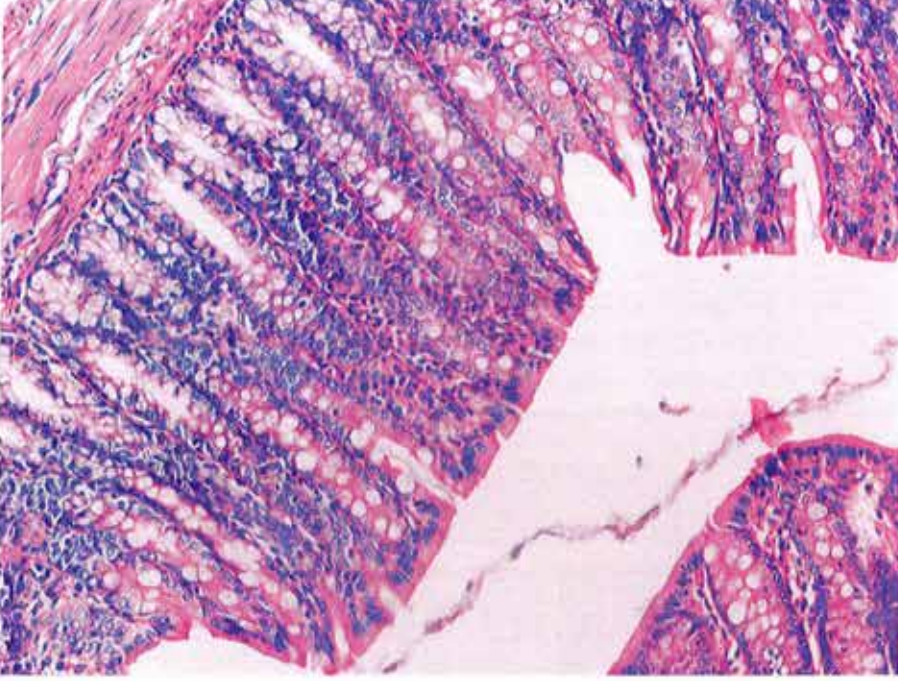
4. BULGULAR

Gruplardaki ratların hepsi (aynı yaşta) sekiz haftalık olup ağırlıkları 140 ± 14.5 arasında fark saptanmadı ($p > 0.05$). Operasyon süresi her rat için 4 ± 1 dakika olup benzer bulundu.

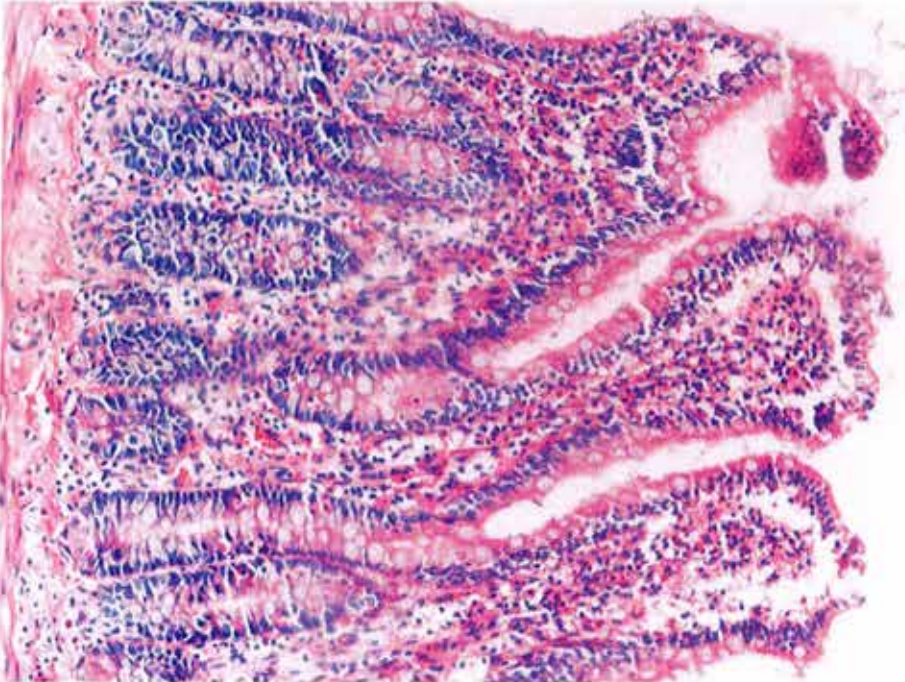
4.1. Biyokimyasal Değerlendirme

İR grubu (grup A) ile karşılaştırıldığı zaman sham grubunda doku ve serum NO düzeyleri yüksek iken; doku ve serum MDA düzeyleri, anlamlı olarak düşük bulundu ($p > 0.05$).

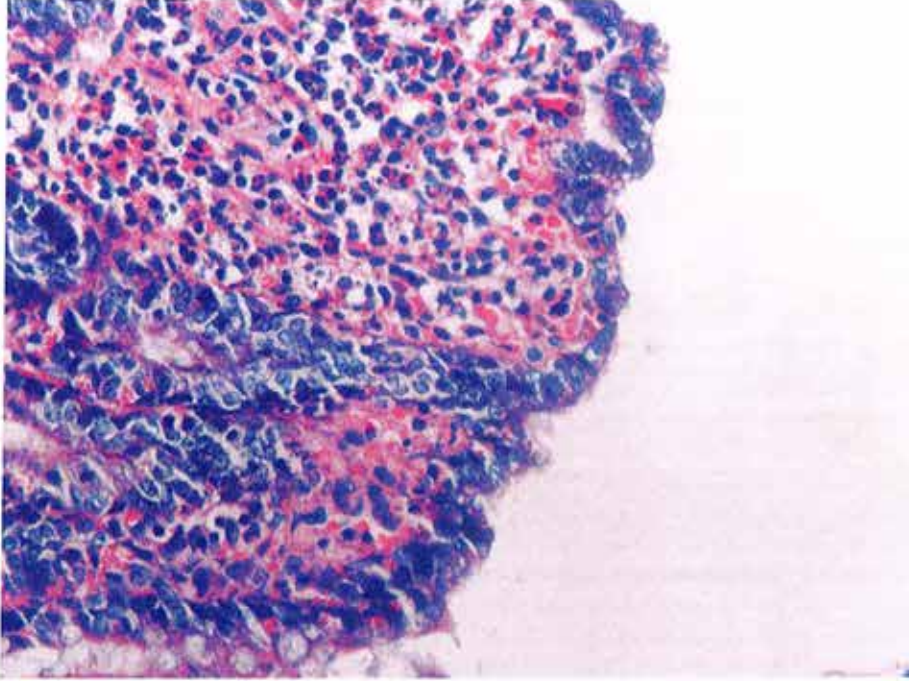
İR grubu (grup A) ile karşılaştırıldığı zaman, leptin verilen grupta (grup B), doku ve serum NO düzeyleri anlamlı derecede yüksek iken doku ve serum MDA düzeyleri ise anlamlı olarak düşük bulundu ($p > 0.05$). Tüm grupların serum ve dokuda ölçülen MDA ve NO değerleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Ortalama değerler ve gruplar arası karşılaştırmalar ise Tablo 4'de görülmektedir.



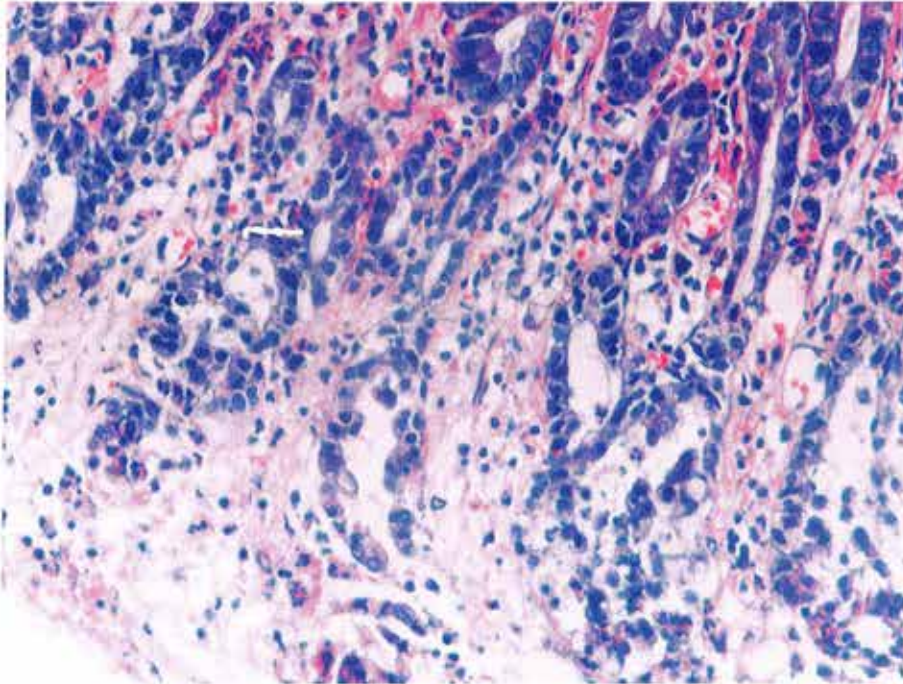
Resim 2. Evre 0- Normal mukoza



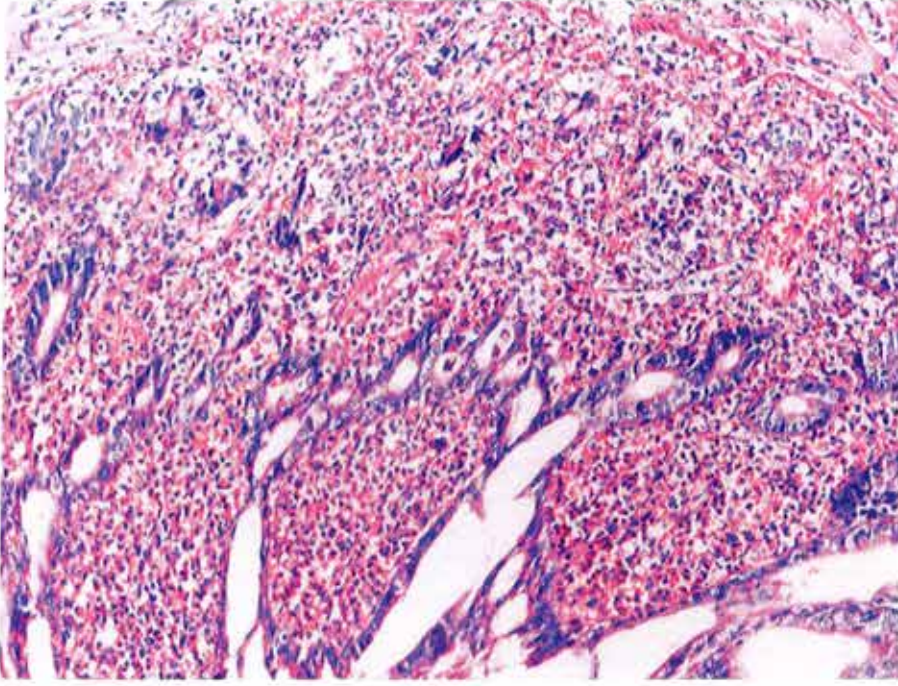
Resim 3. Evre 1- Kapiller konjesyon



Resim 4. Evre 2- Subepitelyal aralığın genişlemesi ve PMNL infiltrasyonu



Resim 5. Evre 3- Yaygın epitelyal ayrılma ve PMNL infiltrasyonu



Resim 6. Evre 4- Villus nekrozu

5. TARTIŞMA

Barsağın İR hasarı, cerrahi müdahale gerektiren hastalarda yüksek mortalite ve morbiditeye neden olan önemli bir patolojidir (174). Kan akımının kesilmesi iskemi hasarıyla sonuçlanırken, iskemik dokuya kan akımının tekrar sağlanması reperfüzyon hasarı olarak bilinen ek hücre hasarına yol açar. Bu reperfüzyon hasarı sıklıkla orijinal iskemi hasarından daha fazladır (175). Barsağın İR hasarı; kardiopulmoner bypass, strangüle herni, NEK ve barsak transplantasyonu gibi patolojilerde meydana gelebileceği gibi septik ve hipovolemik şokta da görülebilir (176,177). Bu durum, bakteriyel translokasyon (113), barsak emilim fonksiyon değişikliği (159) ve ARDS (8,9) ile sonuçlanabilir.

Barsak, karın içi organlar arasında, İR hasarına en duyarlı olanıdır (1). Labil hücrelerden oluşan barsak, iskemi esnasında kolayca hasar görür. Bölgesel hipotansyon ya da parsiyel iskemi yapılan hayvan deneylerinde, barsak mukozasında hasar olan segmentlerde, kontrol gruplarına göre, vasküler dirençte belirgin yükselme, eritrositlerin villus bölgesine akımında belirgin bozukluklar gözlenmiştir (90,91). Şiddeti devam eden ve uzamış iskemide mukozanın villöz katmanı hasara uğrar. Barsağın reperfüzyonunu takiben mukoza hasarı daha da fazlalaşır (178). İskemi sırasında küçük oranda SOR oluşmaktaysa da, reperfüzyonda yeniden oksijen verilmesinin ardından çok daha büyük miktarda SOR açığa çıkmaktadır. Bu durum hasarın ağırlaşmasına neden olmaktadır. SOR'un oluşumundan sorumlu mekanizmalardan biri XO aracılığıyla gerçekleşir (32). XD, mikrovasküler endotelial hücrelerde bol bulunan bir enzimdir. İskemi ile bozulan membran pompası nedeniyle artan hücre içi Ca^{+2} intrasellüler proteazları aktive ederek XD'den XO oluşumuna sebep olur (37). XO ise ortamdaki Hx'den

ksantin ve O^2 sentezler. Barsakta da SOR'un esas oluşum kaynaklarından biri XD'nin XO'ya dönüşmesidir (69,70). Bu dönüşüm, en fazla ileumda görülür (103). Bu nedenle çalışmamızda da süperior mezenterik arter klemplenerek oluşturulan barsak İR hasarının biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlarını incelemek için doku örnekleri terminal ileumdan alındı. Önceleri reperfüzyon sonrası bozulmuş barsak fonksiyonları ve mukozal lezyonların patogeneğinde hipoksinin anahtar rol oynadığı düşünüldü. Günümüzde, postiskemik mukozal lezyonların gelişiminde iki mekanizma üzerinde durulmaktadır. Bunlar SOR'un dengesiz artışı ve iskemi sırasında fosfolipaz A2 aktivasyonudur. Hücre membranının SOR ile reaksiyonu sonucu, lipid peroksidasyonu ve hücre ölümü başlar. SOR, pek çok kronik hastalıkla ilişkili olan hücre ve doku hasarına sebep olur (79,80). Serbest radikallerin solunum sistemi hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, aterogenezis, kanser, artrit, pankreatit gibi hastalıkların oluşmasında rol oynadığı bilinmektedir (81-84). İskemi süresince, reperfüzyon öncesi veya İR sonrası dönemde antioksidan ajan kullanımının barsak hasarını azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (179-182).

Barsakta meydana gelen İR hasarı; uzak organları etkileyebilen bir tablodur. Yol açtığı komplikasyonlar arasında en sık görülenleri, ARDS ve multipl organ yetmezliğidir. İR sırasında ortaya çıkan SOR, antioksidan maddelerle engellense bile uzak organlardaki PMNL sekestrasyonu ve doku hasarı yeterli düzeyde azaltılamamaktadır. Bu durum uzak organ hasarlarından, sitokinler gibi başka mediatörlerin sorumlu olduğunu göstermektedir. İR hasarının tedavisinde sitokin reseptör antagonistleri ve antiinterlökin antiserumları üzerinde çalışılmaktadır (77,78). Hücrelerin ve dokuların tahrip edici ajanlara karşı savunma mekanizması olan inflamasyon, kontrol edilemediği durumlarda normal dokuda da aşırı hücre ve doku hasarına neden olur.

İnflamasyon ve immün cevapta rol oynayan IL-6, TNF- α ve diğer sitokinlerin çoğu gibi leptin de yağ hücresinde üretilip birçok patofizyolojik olayda rol oynar. Nitekim İR hasarı gibi akut inflamasyonda serum leptin düzeyinin dalgalanmalar gösterdiği bildirilmiştir (160).

Leptin, akut enfeksiyona cevap olarak ve sepsiste IL-1 ve TNF- α gibi inflamatuvar mediatörlere benzer şekilde sentezlenir (161,162). Bu nedenle leptinin inflamatuvar bir sitokin gibi etki gösterdiğini bildiren çalışmalar da yapılmıştır (170). Enfeksiyon esnasında; TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi çoğu akut faz reaktanları leptin seviyesini artırır (162). Plazma leptin konsantrasyonu, inflamasyonun akut fazında geçici olarak artar (163). Leptin, immün ve endokrin sistemde TNF- α toksisitesine karşı koruyucudur. Sitokinlere yapısal olarak benzeyen leptin, ise inflamasyonda dengeyi koruma özelliği ile yani fonksiyonel açıdan da glukokortikoidlere benzer.

Fizyolojik ve patolojik durumların her ikisinde de homeostazisi düzenleyicidir (19). Leptin, PMNL aktivasyonunda rol alan IL-1 β salınımını sınırlar (172). İR hasarında PMNL, hem adezyon ve permeabilite artışına hem de yeni SOR oluşumuna neden olur. Bu nedenle PMNL aktivasyonunun sınırlandırılması, oluşan inflamatuvar reaksiyonu hafifletip İR hasarını azaltabilir. Leptin reseptörünün mide, kolon, ince barsak, lenf nodu, gonad, karaciğer, böbrek, akciğer gibi nöron içermeyen dokularda olması bu hormonun hipotalamus dışındaki dokularda da etkili olabileceğini düşündürmüştür (158). İn vitro çalışmalarda leptinin mitojenik etkileri, endotel hücrelerde (183,184), monositlerde (185), solunum sistemi epitel hücrelerinde (186), glomerular endotel hücrelerinde (187), adrenal hücrelerde (188) ve kolon epitel hücrelerinde gösterilmiştir (189). Leptin, çeşitli dokularda NO üretimini stimüle eder (165, 173). Leptin enjeksiyonundan 1-2-4 saat sonra, % 27, 31 ve 58 oranında NO konsantrasyonunu artırır (20). Yapılan bir çalışmada leptinin NO seviyesini yükselterek ve TNF- α seviyesini düşürerek İR'ye bağlı böbrek hasarına karşı koruyucu etkili olduğu gösterilmiştir (190).

Çalışmamızda, leptinin barsak İR hasarı üzerine etkileri incelenmiştir. Reperfüzyon hasarındaki temel mekanizma iskemi sonrası reperfüzyon olduğunda dokulara oksijenin ulaşması ile SOR oluşmasıdır. Oluşan SOR, hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonunu oluşturur ve MDA seviyeleri artar (191). Bu nedenle MDA ölçümü, lipid peroksidasyon hasarını göstermede geleneksel olarak kullanılmaktadır. İnce barsaklarında İR hasarı oluşturulmuş hayvanlarda; akciğer, karaciğer ve ince

barsaktaki artmış lipid peroksidasyonu her üç organda da MDA seviyesini anlamlı olarak artırır (164).

SOR bileşiklerinden biri olan NO'nun ise NOS aktivitesi ile arjininden üretilerek organizmada çift yönlü etki gösterdiği bildirilmektedir (125). Hem birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olduğu ve antioksidan savunmaya katkıda bulunduğu, hem de aşırı üretim durumunda radikal etki gösterdiği ve peroksinitrik gibi daha güçlü radikal bileşiklerin oluşmasına yol açtığı vurgulanmaktadır (126). NO'nun, oksidatif stresin zararının sınırlanmasına katkıda bulunduğu da saptanmıştır (122,123). Bu nedenle çalışmamızda NO ve MDA ölçümü yapılmıştır.

Bu çalışmada, İR hasarı oluşturulan grupta (grup A), sham grubuna (grup C) göre serum ve doku MDA'sının daha yüksek; histopatolojik hasarın da daha fazla olduğu görüldü. Bu durum literatürle uyumlu olup grup A'da, İR hasarı oluştuğunu göstermektedir.

Barsakta İR hasarı oluşturulan hayvanlarda NO verilmesinin, eşlik eden yapısal ve fonksiyonel hasarı iyileştirdiği bildirilmiştir (192). Çalışmamız da leptin verilen grupta serum ve barsak NO düzeyinin yüksek olması ve bu grupta Histopatolojik hasarın daha az olması, leptinin NO düzeyini artırarak etki gösterdiğini düşündürmektedir. NO, akciğerdeki PMNL birikimini önler ve pulmoner mikrovasküler permeabiliteyi azaltır. Bu etkileriyle akciğeri ve myokardı İR hasarına karşı korur (193). Çalışmamız da serum ve doku NO düzeyinin leptin verilen grupta yüksek olması, akciğer ve kalpteki bu etki mekanizmasının ince barsakta da geçerli olabileceğini düşündürmektedir. Başka bir ifadeyle; leptin, NO aracılığı ile PMNL birikimini inhibe ederek İR hasarını önleyebilir.

Leptin, gastrointestinal sistemdeki etkilerini buradaki reseptörleri aracılığı ile göstermektedir (14). Leptin reseptör izoformları (Ob-Rb), rat ve insanda duodenumdan kolona kadar tüm barsağa yayılmıştır (149). Leptin reseptörlerinin tüm barsak boyunca varlığı, barsak lümenindeki leptinin emilim gibi düzenleyici fonksiyonlarda görev aldığını düşündürmektedir (150). Leptin, kolon epitel hücrelerindeki bütirat transportunu artırmaktadır (151).

Leptin, ince barsak (147) ve kolon (148) epitel hücreleri için bir büyüme faktörüdür. Leptin, barsak boyunu büyütüp, barsak mukozal yüzey kütlesini artıran bir hormon olarak tariflenmiştir (131,132). Ayrıca leptin, kolon anastomozunu iyileştirir (171). Leptin, barsaklarda lokal etki göstererek karbonhidrat emilimini artırmaktadır (133). Bütirat, kolonositler için enerji kaynağıdır ve hücre differansasyonu, proliferasyonu ve apoptosisinde görev almaktadır. Bir başka çalışmaya göre ise leptin, kolonun epitel hücrelerinde proinflamatuvar bir sitokin gibi etki göstermektedir (152).

Dolaşımdaki leptinin önemli bir kısmı, rat mide epitelinde üretilmektedir (146). Leptin, rat mide dokusunda histamin içeriğini azaltır. Leptinle tedavi edilen İR grubunda anlamlı olarak ülser ve PMNL infiltrasyonunda düşme saptanmıştır. Leptinin reperfüzyondan önce verilmesinin İR'ye bağlı gastrik mukozal hasarı önlediği bildirilmiştir (194). Leptin, mide epitelinde SOR üretimini inhibe ederken, serum lipid peroksidasyonunu azaltmaktadır (195). Bu özelliği ile İR hasarına karşı koruyucu etki gösterir. Konturek ve ark., (196) leptinin TGF- α ve NO'nun lokal üretimini uyararak peptik ülser iyileşmesine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Leptinin mide mukozasını İR hasarına karşı koruyucu etkisi; endotelde PMNL inhibisyonu oluşturması, vazodilatasyon yaparak doku perfüzyonunu artırması, SOR'larını toplaması gibi birden çok mekanizma ile açıklanabilir (194). Çalışmamızda da barsak İR hasarı oluşturulan ve leptin verilen grupta İR hasarının daha az olması, endotelde PMNL inhibisyonu yapması ve NO düzeyini artırarak SOR'ları toplamasına bağlı olabilir.

Leptinin pankreastaki reseptörleri aracılığı ile inflamasyona karşı pankreası koruduğu, bu etkisini NO salınımını artırarak yaptığı bildirilmiştir. Ayrıca pankreas dokusundaki SOR'u topladığı gösterilmiştir (173). Rat pankreasındaki İR hasarında NO'nun koruyucu rolü olduğu düşünülmüştür (197).

Bozkurt ve ark., (169) yaptıkları bir çalışmada, asetik asite bağlı kolit oluşturulan olgularda leptinin kolonda PMNL infiltrasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar özelliğini göstermişlerdir. Son yıllarda, fonksiyonel leptin reseptörü OB-Rb'in endotelial hücrelerde bulunduğu ve fonksiyonel komponent olduğu

bildirilmiştir (198). Tüm bunlar, endotelyumun leptin aktivasyonunda hedef olduğunun kanıtıdır. Mezenter endotelyumundaki, NOS-III tarafından NO'nun devamlı düşük seviyelerde salınımı, mukozadaki kan akımı düzenlenmesi ve damar tonusunu belirleyen major faktördür (166). NOS'un bilinen 3 izoformu: NOS-I (nöronal), NOS-II (indüklenebilir) ve NOS-III (endotelial), NO oluşumunda sorumlu tutulur (199). NOS-III, gastrointestinal sistemdeki dominant izoformdur (200). NO'nun endotel hücrelerindeki NOS tarafından üretildiği bilinmektedir (201). Bu konuda yapılan diğer yayınlar, leptinin in vivo (202) ve izole endotelial hücrelerde (203) NO üretimini stimüle ederek ve NO'ya bağımlı hem in vivo hem de invitro vazorelaksasyon yaptığını göstermiştir. Leptinin NO'dan bağımsız olarak vazorelaksasyon da yapabildiği (204) ve in vitro endotel kaynaklı hiperpolarize faktörün (EDHF) uyarması ile rat mezenter arterini dilate ettiği saptanmıştır (205). Çalışmamızda da leptin verilen grupta, hem serum hem de doku NO düzeyinin yüksek olması; leptinin NO üretimini stimüle ettiğini destekler. Bu da leptinin NO'ya bağımlı mekanizma ile serum ve doku MDA düzeyinin ve histopatolojik hasarlanma derecesinin daha düşük seviyede olmasını açıklayabilir. Kimura ve ark. (165) yaptıkları çalışmada; leptinin, İR hasarını, rat mezenter arterini dilate ederek önlediğini açıklamışlardır. Leptine bağlı NO salınımında Cl, önemli rol oynamaktadır (165).

Yapılan çalışmalarda artan NO düzeyleri; mukozadaki kan akımını düzenlenleyerek, SOR'u toplayarak, TNF- α 'yı düşürerek, PMNL infiltrasyonunu inhibe ederek, PMNL aktivasyonunda rol alan IL1- β salınımını sınırlandırarak ya da henüz bilmediğimiz başka bir mekanizmayla İR hasarında olumlu yönde etki göstermektedir. Bu sonuçları destekleyecek daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

Çalışmamızda, leptin verilerek İR hasarı oluşturulan grupta, serum ve doku NO düzeyi anlamlı olarak daha yüksek; MDA düzeyi anlamlı olarak daha düşük bulundu. Bu grupta histopatolojik hasar da anlamlı olarak daha düşüktü.

Leptin, serum ve dokuda NO düzeyini artırarak barsak İR hasarına karşı koruyucu etki göstermektedir

6. SONUÇLAR

1. İR hasarı oluşturulan grubun serum MDA'sı sham grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir.
2. İR hasarı oluşturulan grubun doku MDA'sı sham grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir.
3. İR hasarı oluşturulan grubun serum NO'su sham grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür.
4. İR hasarı oluşturulan grubun doku NO'su sham grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür.
5. İR hasarı oluşturulan grupta barsak dokusundaki histopatolojik hasar; sham grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir.
6. İR hasarı oluşturulan ve leptin verilen grupta, verilmeyen gruba göre serum MDA düzeyi anlamlı olarak daha düşüktür.
7. İR hasarı oluşturulan ve leptin verilen grupta, verilmeyen gruba göre doku MDA düzeyi anlamlı olarak daha düşüktür.
8. İR hasarı oluşturulan ve leptin verilen grupta, verilmeyen gruba göre serum NO düzeyi anlamlı daha yüksektir.
9. İR hasarı oluşturulan ve leptin verilen grupta, verilmeyen gruba göre doku NO düzeyi anlamlı olarak daha yüksektir.
10. İR hasarı oluşturulan ve leptin verilen grupta, verilmeyen gruba göre histopatolojik incelemede barsak dokusundaki hasar anlamlı olarak daha düşüktür.

Sonuç olarak leptinin, rat ince barsak İR hasarına biyokimyasal ve histopatolojik olumlu etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

7. KAYNAKLAR

1. Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986; 548:47-63
2. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Falt K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 1990; 107:574-580
3. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81:637-647
4. Aktan S, Aykut C, Yegen BC Ozkutlu, Okar I, Ercan S. Prostaglandin E2 and leukotriene C4 levels following different reperfusion periods in rat brain correlated with morphological changes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1992; 46:287-290
5. Deitch EA. Multiple organ failure. *Ann Surg* 1992; 216:117-134
6. Bengisun U, Köksoy C, Bengisun JS, Bayraktaroglu G, Çamur A, Aras N. Ischemia and reperfusion injury: prevention of pulmonary hypertension and leukosequestration following lower limb ischemia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 56:117-120
7. Ceppa EP, Fuh KC, Bulkley GB: Mesenteric hemodynamic response to circulatory shock. *Curr Opin Crit Care* 2003; 9:127–132
8. Koksoy C, Kuzu MA, Kuzu I, Ergun H, Gurhan I. Role of tumour necrosis factor in lung injury caused by intestinal ischaemia-reperfusion. *Br J Surg* 2001; 88:464-468
9. Xiao F, Eppihimer MJ, Young JA, Nguyen K, Carden DL. Lung neutrophil retention and injury after intestinal ischemia/reperfusion. *Microcirculation* 1997; 4:359–367
10. Auwerz J. Leptin. *The Lancet* 1998; 351:737-742
11. Sweeney G. Leptin signalling. *Cell Signal* 2002; 14:655-663

12. Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS, Saper CP. Leptin activates neuron in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinol* 1997; 138:839-842
13. Santos-Alvarez J, Goberna R, Sanchez Margalet V. Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol* 1999; 194:6-11
14. Prolo P, Wong ML, Licinio J. Leptin. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30:1285-1290
15. Lin J, Barb CR, Matteri RL, Kraeling RR, Chen X, Meinersmann RJ, Rampacek GB. Long form leptin receptor mRNA expression in the brain, pituitary, and other tissues in the pig. *Domest Anim Endocrinol* 2000;19:53-61
16. Alavi K, Schwartz MZ, Prasad R, O'connor D, Funanage V. Leptin: a new growth factor for the small intestine. *J Pediatr Surg* 2002; 37:327-330
17. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol* 2000; 68:437-446
18. Hausberg M, Morgan DA, Mitchell JL, Sivitz WI, Mark AL, Haynes WG. Leptin potentiates thermogenic sympathetic responses to hypothermia: a receptor-mediated effect. *Diabetes* 2002; 51:2434-2440
19. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J* 1998; 12:57-65
20. Takahashi N, Waelput W, Guisez Y. Leptin is an endogenous protective protein against the toxicity exerted by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1999; 189:207-212
21. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Stimulatory effect of leptin on nitric oxide production is impaired in dietary-induced obesity. *Obes Res* 2003; 12:1571-1580
22. Lin J, Yan GT, Wang LH, Hao XH, Zhang K, Xue H. Leptin fluctuates in intestinal ischemia-reperfusion injury as inflammatory cytokine. *Peptides* 2004; 25:2187-2193
23. Martin-Romero C, Santos-Alvarez J, Goberna R, Sanchez-Margalet V. Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes. *Cell Immunol* 2000; 199:15-24

24. Francis J, MohanKumar PS, MohanKumar SM, Quadri SK. Systemic administration of lipopolysaccharide increases plasma leptin levels: blockade by soluble interleukin-1 receptor. *Endocrine* 1999; 10:291-295
25. Gray H. Separation of the Embryo. In: Lewis, WH (ed) *Embryology Anatomy of the Human Body*. (20th ed). Philadelphia, Lea & Febiger, 2000: 38-79.
26. Gray H. The Digestive Apparatus. In: Lewis, WH (ed) *Splanchnology Anatomy of the Human Body* (20th ed). Philadelphia, Lea & Febiger, 2000: 1071-1180.
27. Hollinshead WH, Cornelius RP. The gut and its derivatives. In: Burgower W (ed) *Abdomen. Textbook of Anatomy* (4th ed). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 634-661.
28. Sochman J, Kolc J, Vrana M, Fabian J. Cardioprotective effects of N-acetylcysteine: the reduction in the extent of infarction and occurrence of reperfusion arrhythmias in the dog. *Int J Cardiol* 1990; 28:191-196
29. Friedl HP, Smith DJ, Till GO, Thomson PD, Louis DS, Ward PA. Ischemia-reperfusion in humans. Appearance of xanthine oxidase activity. *Am J Pathol* 1990; 136:491-495
30. Kucukcelebi A, Ozcan M. The beneficial effect of cyclosporin-A on the no-reflow phenomenon in rat skin island flaps. *Br J Plast Surg* 1992; 45:512-514
31. Li X, Cooley BC, Fowler JD, Gould JS. Intravascular heparin protects muscle flaps from ischemia/reperfusion injury. *Microsurgery* 1995;16:90-93
32. Suzuki S, Yoshioka N, Isshiki N, Hamanaka H, Miyachi Y. Involvement of reactive oxygen species in post-ischaemic flap necrosis and its prevention by antioxidants. *Br J Plast Surg* 1991; 44:130-134
33. Laura L. Dugan and Dennis W. Choi. Hypoxic-Ischemic Brain Injury and Oxidative Stress. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD (eds) *Free Radicals in Hypoxia-Ischemia. Basic Neurochemistry, Molecular, Cellular, and Medical Aspects* (6th ed). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1999:2458-2460.

34. Lee C, Kerrigan CL, Tellado JM. Altered neutrophil function following reperfusion of an ischemic myocutaneous flap. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89:916-923
35. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer* 1987; 8:66-73
36. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198:87-90
37. Meneshian A, Bulkley GB. The physiology of endothelial xanthine oxidase: From urate catabolism to reperfusion injury to inflammatory signal transduction. *Microcirculation* 2002; 9:161-175
38. Younes M, Schoenberg MH, Jung H, Fredholm BB, Haglund U, Schildberg FW. Oxidative tissue damage following regional intestinal ischemia and reperfusion in the cat. *Res Exp Med* 1984; 184:259-264
39. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now? *Free Radic Biol Med* 2002; 33:774-797
40. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992; 59:1609-1623
41. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of neutrophils in ischemic-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol* 1987; 253:699-703
42. Sisley AC, Desai T, Harig JM, Gewertz BL. Neutrophil depletion attenuates human intestinal reperfusion injury. *J Surg Res* 1994; 57:192-196
43. Schreiber J, Eling TE, Mason RP. The oxidation of arachidonic acid by the cyclooxygenase activity of purified prostaglandin H synthase: Spin trapping of a carbon-centered free radical intermediate. *Arch Biochem Biophys* 1986; 249:126-136
44. Adams DH, Nash GB. Disturbance of leucocyte circulation and adhesion to the endothelium as factors in circulatory pathology. *Br J Anaesth* 1996; 77:17-31
45. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76:301-314

46. Abei H. Catalase. Methods in enzymatic analysis. J Biol Chem 1974; 249:7130-7139
47. Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem 1971; 44:276-287
48. Goossens DP, Rao VK, Harms BA, Starling JR. Superoxide dismutase and catalase in skin flaps during venous occlusion and reperfusion. Ann Plast Surg 1990; 25:21-25
49. Koyama I, Bulkley GB, Williams GM, Im MJ. The role of oxygen free radicals in mediating the reperfusion injury in cold-preserved ischemic kidneys. Transplantation 1985; 40:590-595
50. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals, lipid peroxidation, and cell damage. Lancet 1984; 2:1095
51. Halliwell B. Drug antioxidant effects. Drugs 1991; 42: 569-605
52. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biochem Sci 1990; 15:129-135
53. Gutteridge JM, Halliwell B. Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine. Free Radic Biol Med 1992; 12:93-95
54. Savas C, Aras T, Cakmak M, Bilgehan A, Ataoglu O, Turkozkan N et al. Pentoxifylline inhibits overflow and reduces intestinal reperfusion injury. J Pediatr Surg 1997; 32:905-910
55. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafariet K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. Comp Biochem Physiol 2003; 135:331-336
56. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986; 250:749-753
57. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. J Neurochem 1992; 59:1609-1623
58. Henderson W. The role of leukotrienes in inflammation. Ann Intern Med 1994; 121:684-697
59. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med 1985; 312:159-163

60. Cuzzocrea S, Rossi A, Serraino I, Di Paola R, Dugo L, Genovese T, Caputi AP, Sautebin L. 5-Lipoxygenase knockout mice exhibit a resistance to splanchnic artery occlusion shock. *Shock* 2003; 20:230-236
61. Turrens JF, Crapo JD, Freeman BA. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutase. *J Clin Invest* 1984; 73:87-95
62. Akaike T, Ando M, Oda T, Doi T, Ijiri S, Araki S, Maeda H. Dependence on O₂- generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection in mice *J Clin Invest* 1990; 85:739-745
63. Xia G, Martin AE, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor downregulates expression of adhesion molecules and infiltration of inflammatory cells after intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2003; 38:434-9
64. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schorek MA, Lucchesi BR. Reduction in the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in dog. *Circulation* 1983; 67:1016-1023
65. Jean WC, Spellman SR, Nussbaum ES, Low WC. Reperfusion injury after focal cerebral ischemia: the role of inflammation and the therapeutic horizon. *Neurosurgery* 1998; 43:1382-1396
66. Natarajan R, Fisher BJ, Jones DG, Ghosh S, Fowler AA. Reoxygenating microvascular endothelium exhibits temporal dissociation of NF- κ B and AP-1 activation. *Free Radic Biol Med* 2002; 32:1033-1045
67. Topham MK, Cartevh HJ, McIntyre TM, Prescptt SM, Zimmerman GA. Human endothelial cells regulate polymorphonuclear leucocyte degranulation. *FASEB J* 1998; 12: 733-746
68. Lorant DE, Patel KD, McIntyre TM, McEver RP, Prescott SM, Zimmerman GA. Coexpression of GMP-140 and PAF by endothelium stimulated by histamine or thrombin: a juxtacrine system for adhesion and activation of neutrophils. *J Cell Biol* 1991; 115:223-234
69. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Haybron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. *Am J Physiol* 1992; 262:616-620

70. Oliver MG, Specian RD, Perry MA, Granger DN. Morphologic assessment of leukocyte-endothelial cell interactions in mesenteric venules subjected ischemia and reperfusion. *Inflammation* 1991; 15:331-346
71. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255:1269-1275
72. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R, Koziol JA, Zoppo DGJ. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994; 25:1847-1854
73. Fan H, Sun B, Gu Q, Lafond-Walker A, Cao S, Becker LC. Oxygen radicals trigger activation of NF-B and AP-1 and upregulation of ICAM-1 in reperfused canine heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:1778-1786
74. Panes J, Perry M, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell adhesion Avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 1999; 126:537-550
75. Riaz AA, Wan MX, Schaefer T, Schramm R, Ekberg H, Menger MD, et al. Fundamental and distinct roles of P-selectin and LFA-1 in ischemia/reperfusion-induced leukocyte-endothelium interactions in the mouse colon. *Ann Surg* 2002; 236:777-784
76. Bouloumie A, Marumo T, L fonta M, Buse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999; 13:1231-1238
77. Souza DG, Coutinho SF, Silveira MR, Cara DC, Teixeira MM: Effects of a BLT receptor antagonist on local and remote reperfusion injuries after transient ischemia of the superior mesenteric artery in rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 403:121-128
78. Souza DG, Cara DC, Cassali GD, Coutinho SF, Silveira MR, Andrade SP, Poole SP, Teixeira MM. Effects of the PAF receptor antagonist UK 74505 on local and remote reperfusion injuries following ischaemia of the superior mesenteric artery in the rat. *Br J Pharmacol* 2000; 131:1800-1808
79. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107:526-545
80. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 1988; 63:390-408

81. Zhu Y, Liao HL, Lin JHC, Verna L, Stemerman MB. Low-density lipoprotein augments interleukin-1-induced vascular adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Atherosclerosis* 1999; 144:357-365
82. Goldstein BD, Witz G. Free radicals and carcinogenesis. *Free Rad Res Com* 1990; 11:3-10
83. Toborek M, Lee Y W, Garrido R. Unsaturated fatty acids selectively induce an inflammatory environment in human endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 119-125
84. Phillips G, Tangney CC. Relationship of plasma alpha tocopherol to index of clinical severity in individuals with sickle cell anemia. *Am J Hematol* 1992; 11:227-231
85. Bocan TM, Mueller SB, Brown EQ. Antiatherosclerotic effects of antioxidants are lesion-specific when evaluated in hypercholesterolemic New Zealand white rabbits. *Exp Mol Pathol* 1992; 57:70-83
86. Cerutti P. Oxy-radicals and cancer. *The Lancet* 1994; 24:862-863
87. Nascimento NR, CostaeForti A, Peter AA, Fonteles MC. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 61:145-153
88. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386
89. Haglund U, Bergqvist D. Intestinal ischemia-the basics. *Langenbeck's Arch Surg* 1999; 384:223-238
90. Redfors S, Hallback DA, Haglund U, Jodal M, Lundgren O. Blood flow distribution, villous tissue osmolality and fluid and electrolyte transport in the cat small intestine during regional hypotension. *Acta Physiol Scand* 1984; 121:193-209
91. Chiu CJ, Mc Ardle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101:478-483
92. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, McCord JM. Ischemic injury in the cat small intestine: role of superoxide radicals. *Gastroenterology* 1982; 82:9-15
93. Mansour MA. Management of acute mesenteric ischemia. *Arch Surg* 1999; 134:328-331

94. Klempnauer J, Grothues F, Bektas H, Wahlers T. Acute mesenteric ischemia following cardiac surgery. *J Cardiovasc Surg* 1997; 38:639-643
95. Ariceta J, Ferrer JV, Guerrero D, Tellechea E, Balen E, Lera JM. Metabolism of the intestine with intermediate ischemia after intestinal ischemia-reperfusion injury: therapeutic effects of somatostatin. *Transplant Proc* 1999; 31:2572
96. Hirata Y, Taguchi T, Nakao M, Yamada T, Hirose R, Suita S. The relationship between the adenine nucleotide metabolism and the conversion of the xanthine Oxidase enzyme system in ischemia-reperfusion of the rat small intestine. *J Ped Surg* 1996; 31:1199-1204
97. Sato A, Kuwabara Y, Sugiura M, Seo Y, Fujii Y. Intestinal energy metabolism during ischemia and reperfusion. *J Surg Res* 1999; 82:261-267
98. Kaihara S, Egawa H, Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K, Tanaka K. Serotonin as a useful parameter for cold and warm ischemic injury in small bowel transplantation. *Transplantation* 1997; 64:405-410
99. Seidel SA, Bradshaw LA, Ladipo JK, Wikswo JP Jr, Richards WO. Noninvasive detection of ischemic bowel. *J Vasc Surg* 1999; 30:309-319
100. Ferrer JV, Ariceta J, Guerrero D, Balen E, Herrera J, Lera JM. Prevention by somatostatine and N-acetylcysteine of multiorgan failure mediated by oxidative stress after intestinal ischemia. *Transplant Proc* 1999; 31:2570-2571
101. Uauy RD, Fanaroff AA, Korones SB, Phillips EA, Phillips JB, Wright LL. Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: biodemographic and clinical correlates. *J Pediatr* 1991; 119:630-638
102. Hack M, Horbar JD, Malloy MH, Tyson JE, Wright E, Wright L. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development neonatal network. *Pediatrics* 1991; 87:587-597
103. Kliegman RM, Hack M, Jones P, Fanaroff AA. Epidemiologic study of necrotizing enterocolitis among low-birth-weight infants. *J Pediatr* 1982; 100:440-444
104. Yoshida N, Granger DN, Anderson DC, Rothlein R, Lane C, Kvietys PR. Anoxia/reoxygenation-induced neutrophil adherence to cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1992; 262:1891-1898

105. Qu X-W, Rozenfeld RA, Huang W, Bulkley GB, Hsueh W. The role of xanthine oxidase in platelet activating factor induced intestinal injury in the rat. *Gut* 1999; 44:203-211
106. Hsueh W, Caplan MS, Qu XW, Tan XD, De Plaen IG, Gonzalez-Crussi F. Neonatal necrotizing enterocolitis: clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol* 2003; 6:6-23
107. Chaudry IH, Clemens MG, Baue AE. Alterations in cell function with ischemia and shock and their correction. *Arch Surg* 1981; 116:1309-1317
108. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190:255-266
109. Buyukgebiz O, Aktan AO, Yegen C, Haklar G, Yalcin AS, Yalin R, et al. BQ-123, a specific endothelin A receptor antagonist prevents ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation. *Trans Int* 1996; 9:201-207
110. Granger DN, Benoit JN, Suzuki M, Grisham MB. Leukocyte adherence to venular endothelium during ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1989; 257:683-688
111. Monden K, Arai S, Ishiguro S. Involvement of ICAM-1 expression on sinusoidal endothelial cell and neutrophil adherence in the reperfusion injury of cold preserved livers. *Transplant Proc* 1995; 27:272-277
112. Van Leeuwen PA, Boermeester MA, Houdijk AP, Ferwerda CC, Cuesta MA, Meyer S, et al. Clinical significance of translocation. *Gut* 1994; 35:28-34
113. Xia G, Martin AE, Michalsky MP, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor preserves crypt cell proliferation and decreases bacterial translocation after intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2002; 37:1081-1087
114. Cicalese L, Sileri P, Green M, Abu-Elmagd K, Kocoshis S, Reyes J. Bacterial translocation in clinical intestinal transplantation. *Transplantation* 2001; 71:1414-1417
115. Rajeevprasad R, Alavi K, Schwartz MZ. Glucagonlike peptide-2 analogue enhances intestinal mucosal mass and absorptive function after ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2000; 35:1537-1539
116. Scolapio JS, Fleming CR. Short bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 1998; 27:467-479

117. Sileri P, Morini S, Schena S, Rastellini C, Abcarian H, Benedetti E, et al. Intestinal ischemia/reperfusion injury produces chronic abnormalities of absorptive function. *Transplant Proc* 2002; 34:984
118. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91:14-22
119. Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, Snyder SH. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* 1991; 351:714-718
120. Kubes P, Granger DN. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am J Physiol* 1992; 262:611-615
121. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 1993; 72:403-412
122. Vinten Johansen J, Sato H, Zhao ZQ. The role of nitric oxide and NO donor agents in myocardial protection from surgical ischemic-reperfusion injury. *Int J Cardiol* 1995; 50:273-281
123. Nakanishi K, Vinten-Johansen J, Lefer DJ, Zhao Z, Fowler WC 3rd, McGee DS, Johnston WE. Intracoronary L-arginine during reperfusion improves endothelial function and reduces infarct size. *Am J Physiol* 1992; 263: 1650-1658
124. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Haybron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine- nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. *Am J Physiol* 1992; 262:616-620
125. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi AP. Role of constitutive nitric oxide synthase and peroxynitrite production in a rat model of splanchnic artery occlusion shock. *Life Sci* 1998; 63:789-799
126. Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med* 1993; 14:191-197
127. Ischiropoulos H, Zhu L, Chen J, Tsai M, Martin JC, Smith CD, Beckman JS. Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase. *Arch Biochem Biophys* 1992; 298:431-437

128. Beltran B, Mathur A, Duchon MR, Erusalimsky JD, Moncada S. The effect of nitric oxide on cell respiration: A key to understanding its role in cell survival or death. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:14602-14607
129. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432
130. Hill RA, Margetic S, Pegg GG, Gazzola C. Leptin: its pharmacokinetics and tissue distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22:765-770
131. Wolinski J, Biernat M, Guilloteau P, Westrom BR, Zabielski R. Exogenous leptin controls the development of the small intestine in neonatal piglets. *J Endocrinol* 2003; 177:215-222
132. Gaige S, Abysique A, Bouvier M. Effects of leptin on cat intestinal motility. *J Physiol* 2003; 546:267-277
133. Pearson PY, O'Connor DM, Schwartz MZ. Novel effect of leptin on small intestine adaptation. *J Surg Res* 2001; 97:192-195
134. Saleri R, Giustina A, Tamanini C, Valle D, Burattin A, Wehrenberg WB et al. Leptin stimulates growth hormone secretion via a direct pituitary effect combined with a decreased somatostatin tone in a median eminence-pituitary perfusion study. *Neuroendocrinology* 2004; 79:221-228
135. Horlick MB, Rosenbaum M, Nicolson M, Levine LS, Fedun B, Wang J, et al. Effect of puberty on the relationship between circulating leptin and body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2509-2518
136. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Murphy E, Chu F, Leibel RL. Effects of weight change on plasma leptin concentrations and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:3647-3654
137. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3:1029-1033
138. Klein S, Coppack SW, Mohamed-Ali V, Landt M. Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes* 1996; 45:984-987
139. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377:530-532

140. Maresh GA, Maness LM, Zadina JE, Kastin AJ. In vitro demonstration of a saturable transport system for leptin across the blood-brain barrier. *Life Sci* 2001; 69:67-73
141. Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza G, Wong ML, Bongiorno PB, et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med* 1997; 3:575-579
142. Mastorakos G, Zapanti E. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the neuroendocrine regulation of food intake and obesity: the role of corticotropin releasing hormone. *Nutr Neurosci* 2004; 7:271-280
143. Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science* 1997; 275:88-90
144. Licinio J, Negrao AB, Mantzoros C, Kaklamani V, Wong ML, Bongiorno PB, et al. Synchronicity of frequently sampled, 24-h concentrations of circulating leptin, luteinizing hormone, and estradiol in healthy women. *Am J Physiol* 1998; 272: 1354-1358
145. Ahima RS, Saper CB, Flier JS, Elmquist JK. Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 2000; 21:263-307
146. Chaudhary M, Mandir N, FitzGerald AJ, Howard JK, Lord GM, Ghatei MA, et al. Starvation, leptin and epithelial cell proliferation in the gastrointestinal tract of the mouse. *Digestion* 2000; 61:223-229
147. Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2001; 121:79-90
148. FitzGerald AJ, Mandir N, Goodlad RA. Leptin, cell proliferation and crypt fission in the gastrointestinal tract of intravenously fed rats. *Cell Prolif* 2005; 38:25-33
149. Barrenetxe J, Villaro AC, Guembe L, Pascual I, Munoz-Navas M, Barber A, et al. Distribution of the long leptin receptor isoform in brush border, basolateral membrane, and cytoplasm of enterocytes. *Gut* 2002; 50:797-802
150. Morton NM, Emilsson V, Liu YL, Cawthorne MA. Leptin action in intestinal cells. *J Biol Chem* 1998; 273:26194-26201

151. Buyse M, Sitaraman SV, Liu X, Bado A, Merlin D. Luminal leptin enhances CD147/MCT-1-mediated uptake of butyrate in the human intestinal cell line Caco2-BBE. *J Biol Chem* 2002; 277:28188-28190
152. Sitaraman S, Liu X, Charrier L, Gu LH, Ziegler TR, Gewirtz A, et al. Colonic leptin: source of a novel proinflammatory cytokine involved in IBD. *FASEB J* 2004; 6:696-698
153. Buyse M, Berlioz F, Guilmeau S, Tsocas A, Voisin T, Peranzi G, et al. PepT1-mediated epithelial transport of dipeptides and cephalixin is enhanced by luminal leptin in the small intestine. *J Clin Invest* 2001; 108:1483-1494
154. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334:292-295
155. Buyukbese MA, Cetinkaya A, Kocabas R, Guven A, Tarakcioglu M. Leptin levels in obese women with and without type 2 diabetes mellitus. *Mediators Inflamm* 2004; 13:321-325
156. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392:398-401
157. Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P, Thorne A, Hoffstedt J, Lonnqvist F, et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes* 1998; 47:913-917
158. Löllmann B, Grüniger S, Stricker-Krongrad A, Chiesi M. Detection and quantification of the leptin receptor splice variants Ob-Ra, b, and e in different mouse tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 238:648-652
159. Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Smith-Gbur J, Mikhail A, Platika D et al. Novel B219 7/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat Med* 1996; 2:585-589
160. Faggioni R, Fantuzzi G, Fuller J, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C. IL-1 beta mediates leptin induction during inflammation. *J Am J Physiol* 1998; 274:204-208
161. Sarraf P, Frederich RC, Turner EM, Ma G, Jaskowiak NT, Rivet 3rd, et al. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J Exp Med* 1997; 185:171-175

162. Goossens DP, Rao VK, Harms BA, Starling JR. Superoxide dismutase and catalase in skin flaps during venous occlusion and reperfusion. *Ann Plast Surg* 1990; 25:21-25
163. Grunfeld C, Zhao C, Fuller J, Pollack A, Moser A, Friedman J, et al. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J Clin Invest* 1996; 97:2152-2157
164. Ma NS. Changes in malondialdehyde contents in serum and tissues after ischemia and reperfusion of the bowel in dogs. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi* 1992; 8:127-129
165. Kimura K, Tsuda K, Baba A, Kawabe T, Bohoka S, Ibata M, Moriwaki C, Hano T, Nishio I. Involvement of nitric oxide in endothelium-dependent arterial relaxation by leptin. *Biochem Biophys Res* 2000; 273:745-749
166. Salzman AL. Nitric oxide in the gut. *New Horiz* 1995; 3:33-45
167. Cakir B, Bozkurt A, Ercan F, Yegen BC. The anti-inflammatory effect of leptin on experimental colitis: involvement of endogenous glucocorticoids. *Peptides* 2004; 25:95-104
168. Maruna P, Gurlich R, Frasko R. Leptin--a new acute phase reactant. *Vnitr Lek* 2001; 47:478-483
169. Bozkurt A, Cakir B, Ercan F, Yegen BC. Antiinflammatory effects of leptin on acetic acid-induced colitis in rats: role of capsaicin-sensitive vagal afferent fibers. *Regul Pept* 2003; 116:109-118
170. Lin J, Yan GT, Wang LH, Hao XH, Zhang K, Xue H. Effect of intestinal ischemia/reperfusion injury on protein and mRNA levels of leptin in rats. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2004; 11:651-655
171. Tasdelen A, Algin C, Ates E, Kiper H, Inal M, Sahin F. Effect of leptin on healing of colonic anastomoses in rats. *Hepatogastroenterology* 2004; 51:994-997
172. Warzecha Z, Dembinski A, Ceranowicz P, Jaworek J, Konturek PC, Dembinski M, Bilski J, Konturek SJ. Influence of leptin administration on the course of acute ischemic pancreatitis. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53:775-790

173. Jaworek J, Bonio J, Leja-Szpa A, Nawrot K, Tomaszewska MR, Stachura J, Pawlik WW, Konturek SJ. Sensory nerves in central and peripheral control of pancreatic integrity by leptin and melatonin. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53:51-74
174. Koike K, Moore FA, Moore EE, Read RA, Carl VS, Banerjee A. Gut ischemia mediates lung injury by a xanthine oxidase dependent neutrophil mechanism. *J Surg Res* 1993; 54:469–473
175. Stallion A, Kou TD, Miller KA, Dahms BB, Dudgeon DL, Levine AD. IL-10 is not protective in intestinal ischemia reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105: 145-152
176. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001; 94:1133-1138
177. Moore EE, Moore FA, Franciose RJ, Kim FJ, Biffl WL, Banerjee A. The postischemic gut serves as a priming bed for circulating neutrophils that provoke multiple organ failure. *J Trauma* 1994; 37:881-887
178. Kong SE, Blennerhassett LR, Heel KA, McCauley RD, Hall JC. Ischaemia-reperfusion injury to the intestine *J Surg* 1998; 68:554–561
179. Ferrer JV, Ariceta J, Guerrero D, Gomis T, Larrea MM, Balen E, et al. Allopurinol and N-acetylcysteine avoid 60% of intestinal necrosis in an ischemia-reperfusion experimental model. *Transplant Proc* 1998; 30:2672
180. Ozden A, Tetik C, Bilgihan A, Calli N, Bostanci B, Yis O, et al. Antithrombin III prevents 60 min warm intestinal ischemia reperfusion injury in rats. *Res Exp Med* 1999; 198:237–246
181. Puglisi RN, Strande L, Santos M, Doolin EJ, Hewitt CW, Whalen TV. The effect of cyclosporine in gut ischemic injury: a computerized morphometric and enzymatic analysis. *J Pediatr Surg* 1996; 31:319-322
182. Günel E, Çağlayan F, Caglayan O, Dilsiz A, Duman S, Aktan M. Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 1536-1539
183. Suganami E, Takagi H, Ohashi H, Suzuma K, Suzuma I, Oh H, et al. Leptin stimulates ischemia-induced retinal neovascularization: possible role of vascular endothelial growth factor expressed in retinal endothelial cells. *Diabetes* 2004; 53:2443-2448

184. Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induced oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999; 13:1231-1238
185. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394:897-901
186. Tsuchiya T, Shimizu H, Horie T, Mori M. Expression of leptin receptor in lung: leptin as a growth factor. *Eur J Pharmacol* 1999; 365:273-279
187. Wolf G, Hamann A, Han DC, Helmchen U, Thaiss F, Ziyadeh FN, et al. Leptin stimulates proliferation and TGF-beta expression in renal glomerular endothelial cells: potential role in glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1999; 56:860-872
188. Glaskow A, Bornstein SR, Chrousos GP, Brown JW, Scherbaum WA. Detection of Ob-receptor in human adrenal neoplasms and effect of leptin on adrenal cell proliferation. *Horm Metab Res* 1999; 31:247-251
189. Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2001; 121:79-90
190. Erkasap S, Erkasap N, Koken T, Kahraman A, Uzuner K, Yazihan N, et al. Effect of leptin on renal ischemia-reperfusion damage in rats. *J Physiol Biochem* 2004; 60:79-84
191. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1990; 9: 515-40
192. Lefer AM, Lefer DJ. Nitric oxide. II. Nitric oxide protects in intestinal inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276:572-575
193. Liang GY, Niu YM, Liu DX, Xu G, Cai QY. The protective efficacy of rabbit endogenous nitric oxide against acute rabbit lung ischemia-reperfusion injury and its mechanism. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2005; 36:246-8, 280
194. Erkasap N, Uzuner K, Serteser M, Köken T, Aydın Y. Gastroprotective effect of leptin on gastric mucosal injury induced by ischemia reperfusion is related to gastric histamine content in rats. *Peptides* 2003; 24:1181-1187

195. Nakamoto K, Kamisaki Y, Wada K, Kawasaki H, Itoh T. Protective effect of acetaminophen against acute gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion in the rat. *Pharmacology* 1997;54:203-210
196. Konturek PC, Brozozowski T, Sulekova Z, Brozozowski I, Duda A, Meixner H, et al. Role of leptin in ulcer healing. *Eur J Pharmacol* 2001; 414:87-97
197. Shi Y, Hutchins W, Ogawa H, Chang CC, Pritchard KA Jr, Zhang C, et al. Increased resistance to myocardial ischemia in the Brown Norway vs. Dahl S rat: role of nitric oxide synthase and Hsp90. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 38:625-635
198. Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, et al. Biological action of leptin as an angiogenetic factor. *Science* 1998; 281:1683-1686
199. Marletta MA, Hurshman AR, Rusche KM. Catalysis by nitric oxide synthase. *Curr Opin Chem Biol* 1998; 2:656-663
200. Torihashi S, Horowitz B, Pollock JS, Ward SM, Xue C, Kobayashi S, Sanders KM. Expression of nitric oxide synthase in mucosal cells of the canine colon. *Histochem Cell Biol* 1996; 105:33-41
201. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-526
202. Fruhbeck G. Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. *Diabetes* 1999; 48:903-908
203. Vecchione C, Maffei A, Colella S, et al. Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes* 2002; 51:168-173
204. Nakagawa K, Higashi Y, Sasaki S, Oshima T, Matsuura H, Chayama K. Leptin causes vasodilation in humans. *Hypertens Res* 2002; 25:161-165
205. Lembo G, Vecchione C, Fratta L, Marino G, Trimarco V, d'Amati G, et al. Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms. *Diabetes* 2000; 49:293-297