

758325

T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MELATONİNİN SIÇANLARDA OLUŞTURULAN
İNTESTİNAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA
İZOLE İLEUM DÜZ KAS FONKSİYONEL YANITLARI
ÜZERİNE ETKİSİ**

Arş. Gör. Zerrin ÖZÇELİK

DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Meral ERDİNÇ

DİYARBAKIR

2004

---"Melatonin'in Sıçanlarda Oluşturulan İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarında ---
İzole İleum Düz Kas Fonksiyonel Yanıtları Üzerine Etkisi

.....isimli bu tez04/06/2004..tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı
bulunmuştur.



Jüri Başkanı
Prof.Dr.Ramazan ÇİÇEK



Jüri Üyesi
rof.Dr.Kevser EROL



Jüri Üyesi
Doç.Dr.Hüda DİKEN



Jüri Üyesi
oç.Dr.Meral ERDİNÇ



Jüri Üyesi
Yrd.Doç.Dr.Aşkın HEKİMOĞLU

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince ve tez çalışmam sırasında benden bilgisini, ilgisini ve desteğini esirgemeyen ve her zaman bana yardımcı olan Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Meral ERDİNÇ'e,

Doktora öğrenimimde bilgisini, desteğini esirgemeyen Değerli Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Ramazan ÇİÇEK'e,

Çalışmamın istatistiksel değerlendirmesi aşamasında yardım ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Yusuf ÇELİK'e,

Çalışmamın histopatolojik incelenmesini yapan patoloji anabilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Nihal KILINÇ'a

Bölüm içerisinde her zaman bana yardımcı olan çalışma arkadaşlarıma,

Çalışmalarım sırasında bana her türlü konuda destek olan eşim Prof. Dr. Cemal ÖZÇELİK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Zerrin ÖZÇELİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1- Giriş ve Amaç.....	1
2- Genel Bilgiler.....	2
2.1. İskemi.....	2
2.2. Reperfüzyon Hasarı.....	3
2.3. Reperfüzyon Hasar Mekanizması.....	5
2.3.1. Lökosit (Nötrofil, Lenfosit, Monosit) Aktivasyonu.....	5
2.3.2. Ksantin Oksidaz.....	7
2.3.3. Plazma ve Organel Membranından Kaynaklanan Araşidonik Asit Kaskatı.....	7
2.3.4. Nitrik Oksid Sentaz Aracılı Serbest Radikal Oluşumu.....	8
2.4. Serbest Radikaller.....	8
2.4.1. Oksijen Türevi Serbest Radikallerin Oluşumu.....	9
2.4.2. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları.....	11
2.4.3. Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları.....	13
2.4.4. Serbest Radikal Hasarının Biyokimyası.....	13
2.4.4.1. Membran Lipidlerine Etkileri.....	13
2.4.4.2. Proteinlere Etkileri.....	14
2.4.4.3. Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri.....	14
2.4.4.4. Karbonhidratlara Etkileri.....	15
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	15
2.5.1. Endojen Savunma Sistemi.....	15
2.5.1.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	16
2.5.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	17
2.5.2. Eksojen Savunma Sistemi.....	20
2.6. İntestinal İskemi.....	20
2.7. Gastrointestinal Sistem Fizyolojisi.....	22

2.7.1. Barsakların Dolaşımı.....	23
2.7.2. Gastrointestinal Sistemin Sinirsel Fonksiyonu.....	24
2.7.2.1. Enterik Sinir Sistemi.....	24
2.7.2.2. İntrinsik Sinir Sistemi.....	25
2.7.2.3. Gastrointestinal Kanalin Otonomik Kontrolü.....	26
2.7.2.3.1. Parasempatik İnervasyon.....	26
2.7.2.3.2. Sempatik İnervasyon.....	27
2.7.3. GİS Düz Kasının Elektriksel Aktivitesi.....	29
2.7.4. Mide-Barsak Kanalinın Hormonal Kontrolü.....	31
2.8. Melatonin.....	33
2.8.1. Melatonin Biyosentezi.....	33
2.8.2. Melatoninin Farmakokinetik Özellikleri.....	35
2.8.3. Melatoninin Sinyal İleti Mekanizmaları.....	36
2.8.3.1. Melatonin Reseptörleri.....	36
2.8.3.2. Melatoninin İkinci Habercileri.....	36
2.8.4. Melatoninin Fizyolojik Etkileri.....	37
2.8.4.1. Endokrin Fonksiyonlarının Düzenlenmesi.....	37
2.8.4.2. Melatonin ve Sirkadiyen Ritim.....	38
2.8.4.3. Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri.....	38
2.8.4.4. Nonvasküler Düz Kas Üzerindeki Etkileri.....	39
2.8.4.5. Rejenerasyon Üzerine Olan Etkileri.....	39
2.8.4.6. Nöroprotektif Etkisi.....	39
2.8.4.7. Uyku Ritmini Düzenleyici Etkisi.....	40
2.8.4.8. Kemik Yapımı Üzerine Olan Etkileri.....	40
2.8.4.9. İmmün Sistem Üzerine Etkileri.....	40
2.8.4.10. Antikanserojen Etki.....	41
2.8.4.11. Hipotermik Etkisi.....	41
2.8.5. Melatoninin Antioksidan Etkileri.....	41
2.8.6. Melatonin ve Gastrointestinal Sistem.....	43
2.8.6.1. Lokalizasyon ve Reseptörleri.....	43
2.8.6.2. Gastrointestinal Etkileri.....	45
2.8.7. Melatoninin Tedavide Kullanım Alanları.....	47

3- Materyal ve Yöntem.....	48
3.1. Materyal.....	48
3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları.....	48
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	48
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddelerin Hazırlanması.....	49
3.1.4. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	49
3.2. Yöntem.....	50
3.2.1. Cerrahi İşlem.....	50
3.2.2. İzole Organ Deneyleri.....	50
3.3. Histopatolojik İnceleme.....	52
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	52
4- Bulgular.....	53
4.1. İzole İleum Yanıtları.....	53
4.2. Histopatoloji.....	73
5- Tartışma.....	77
6- Sonuç ve Öneriler.....	84
7- Kaynaklar.....	85

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo.1. Endojen savunma sistemleri.	16
Tablo.2. Tyrod solüsyonu içindeki maddeler.	49
Tablo.3. Kontrol ile Sham-opere grubunun izole barsak dokusunda Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	53
Tablo.4. Kontrol ile iskemi grubunun izole barsak dokusunda Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	54
Tablo.5. Kontrol grubu ile İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	55
Tablo.6. Sham-opere ile iskemi gruplarının Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	56
Tablo.7. Sham-opere ile İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	57
Tablo.8. Sham-opere ile melatonin + iskemi grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	58
Tablo.9. Sham-opere ile Melatonin + İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	59
Tablo.10. İskemi ile İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	60
Tablo.11. İskemi ile melatonin+iskemi grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	61
Tablo.12. İR ile melatonin +İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması.	62
Tablo.13. Kontrol grubu ile Sham-opere grubu arasında Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	63
Tablo.14. Kontrol grubu ile iskemi grubu arasında Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	64
Tablo.15. Kontrol grubu ile İR grubu arasında Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	65
Tablo.16. Sham-opere grubu ile iskemi grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması	66
Tablo.17. Sham-opere grubu ile İR grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	67

Tablo.18. Sham-opere grubu ile melatonin+iskemi grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	68
Tablo.19. Sham-opere grubu ile melatonin + İR grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	69
Tablo.20. İskemi grubu ile İR grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	70
Tablo.21. İskemi grubu ile melatonin+ skemi grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	71
Tablo.22. İR grubu ile melatonin+İR grubunun Adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması.	72



GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa
Grafik.1. Kontrol ile Sham-opere grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	53
Grafik.2. Kontrol ile iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	54
Grafik.3. Kontrol ile İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	55
Grafik.4. Sham-opere ile iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	56
Grafik.5. Sham-opere ile İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	57
Grafik.6. Sham-opere ile melatonin+iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	58
Grafik.7. Sham-opere ile melatonin+ir grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	59
Grafik.8. İskemi ile İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	60
Grafik.9. İskemi ile melatonin+iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	61
Grafik.10. İR ile melatonin+İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği.	62
Grafik.11. Kontrol ile Sham-opere grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	63
Grafik.12. Kontrol ile iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	64
Grafik.13. Kontrol ile İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	65
Grafik.14. Sham-opere ile iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	66
Grafik.15. Sham-opere ile İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	67
Grafik.16. Sham-opere ile melatonin+iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	68
Grafik.17. Sham-opere ile melatonin+İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	69
Grafik.18. İskemi ile İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	70
Grafik.19. İskemi ile melatonin+iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	71
Grafik.20. İR ile melatonin+İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği.	72

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.	Reperfüzyon hasarının mekanizması.	5
Şekil 2.	Nitrik oksid reaksiyonu.	8
Şekil 3.	Reaktif oksijen türleri.	8
Şekil 4.	Serbest radikallerin SOD ile reaksiyonu ile hidrojen peroksit oluşumu.	10
Şekil 5.	Hidrojen peroksidin geçiş metalleri ile reaksiyonu.	10
Şekil.6.	Hidrojen peroksidin toksik olan hipokloröz aside dönüşümü.	11
Şekil.7.	Oksidatif metabolizma sonucunda serbest radikal oluşumu.	11
Şekil.8.	Geçiş metal iyonu etkisiyle yüksek reaktiviteli OH radikali oluşumu.	11
Şekil.9.	Hipokloroz asit oluşumu.	12
Şekil.10.	Melatoninin kimyasal yapısı.	33
Şekil.11.	Melatonin sentez yolağı.	34
Şekil.12.	Melatonin elektron vererek bir antioksidan olarak çalışması.	42

RESİM LİSTESİ

	Sayfa
Resim.1. Kontrol grubunun histopatolojik resmi.	73
Resim.2. Sham-opere grubunun histopatolojik resmi.	74
Resim.3. İskemi grubu histopatolojik resim.	74
Resim.4. İskemi-reperfüzyon grubunun histopatolojik resmi.	75
Resim.5. Melatonin + iskemi grubunun histopatolojik resmi.	75
Resim.6. Melatonin + iskemi-reperfüzyon grubunun histopatolojik resmi.	76

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat.
İR	: İskemi-Reperfüzyon.
tPA	: Tissue Plazminogen Activator, doku plazminojen aktivatörü.
PAF	: Platelet Activating Factor, Trombosit aktive edici faktör.
NO	: Nitrik Oksid.
NOS	: Nitrik Oksid Sentaz
PNL	: Polimorfonükleer Lökositler.
SOD	: Süperoksid Dismutaz.
XO	: Ksantin Oksidaz.
C5a	: Kompleman 5a.
C3a	: Kompleman 3a.
IL 1, 6, 8	: İnterlökin 1, 6, 8.
LTB4	: Lökotrien B4.
TNF-α	: Tümör Nekroz -Faktör- α .
LAM-1	: Lökosit Adezyon Molekülü-1.
ICAM-1	: İntersellüler Adezyon Molekülü-1.
ELAM-1	: Endotelial Lökosit Adezyon Molekülü-1.
GMP-140	: Granüle Membran Protein-140.
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat.
NAD⁺	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid.
O₂⁻	: Süperoksit anyon radikali.
H₂O₂	: Hidrojen peroksit.
·OH	: Hidroksil radikali.
HOCl	: Hipoklorik asit.
PGG2	: Prostaglandin G2.
HPETE	: Hidroperoksieikozotetraenoik asit.
PGH2	: Prostaglandin H2.
ONOO⁻	: Peroksinitrit.

$^1\text{O}_2$	: Singlet oksijen.
ROO$\cdot$	: Peroksil radikali.
Fe^{++}	: Demir iyonu.
Cu$^+$	: Bakır iyonu.
Zn	: Çinko iyonu.
Mn	: Mangan iyonu.
MPO	: Myeloperoksidaz.
MDA	: Malondialdehit.
Vit E	: Vitamin E.
Vit C	: Vitamin C.
pO$_2$	: Parsiyel oksijen basıncı.
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz.
G-SH	: İndirgenmiş Glutasyon.
G-S-S-G	: Yükseltgenmiş Glutasyon.
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein.
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein.
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein.
PAYA	: Poliansatüre Yağ Asitleri.
GİS	: Gastrointestinal Sistem.
M$_{1-5}$	: Muskarinik reseptörler 1'den 5'e kadar.
N$_M$	: Kas tipi nikotinik reseptörler.
N$_G$	: Ganglion tipi nikotinik reseptörler.
GİP	: Gastrik İnhibitör Peptid.
VİP	: Vazoaktif İntestinal Peptid.
AADC	: Aromatik Aminoasit Dekarboksilaz.
AANAT	: Aril-Alkilamin-N Asetil Transferaz.
5-HT	: Serotonin.
NAS	: N-Asetil Serotonin.
HIOMT	: Hidroksiindol-O-Metil Transferaz.
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat.
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat.
^{125}I-Mel	: İyodomelatonin

SCN	: Suprakiazmatik Nukleus.
ML1a	: Melatonin 1a reseptörü.
ML1b	: Melatonin 1b reseptörü.
ML1c	: Melatonin 1c reseptörü.
MT1	: Melatonin1 reseptörü.
MT2	: Melatonin2 reseptörü.
MT3	: Melatonin3 reseptörü.
MSH	: Melanosit Stimüle Edici Hormon.
GnRH	: Gonadotropin Salıverici Hormon.
IP3	: İnoзитol Trifosfat.
DAG	: Diaçıl Gliserol.
PİP2	: Fosfo İnoзитol Difosfat.
Ca⁺⁺	: Kalsiyum iyonu.
Na⁺	: Sodyum iyonu
IL-2	: İnterlökin-2.
Emaks	: Maksimum etki.
HPLC	: Yüksek Performanslı Likit Kromatografi.
LOO[•]	: Lipit peroksil radikali.
ABTS	: 2,2-Azino-Bis-3-etilbenz-Tiazolin-6-Sulfonik asit.
5-AFMK	: N-Asetil-N-Formil-5-Metoksi-Kinüramine.
RİA	: Radyoimmunoassy
DÜSAM	: Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi.
Ach	: Asetilkolin.
H-E	: Hematoxilen-Eozin

ÖZET

MELATONİNİN SIÇANLARDA OLUŞTURULAN İNTESTİNAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA İZOLE İLEUM DÜZ KAS FONKSİYONEL YANITLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Zerrin ÖZÇELİK.

Amaç: Bu çalışmanın amacı iyi bir antioksidan olarak bilinen melatoninin sıçanlarda oluşturulan intestinal iskemi-reperfüzyon hasarında izole ileum segmentlerinde düz kas fonksiyonel yanıtlarına etkisini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Toplam 48 Sprague-Dawley rat 6 eşit gruba ayrıldı: Grup 1 kontrol, Grup 2 sham-opere, Grup 3 iskemi, Grup 4 iskemi-reperfüzyon, Grup 5 iskemi + melatonin, Grup 6 iskemi-reperfüzyon + melatonin. Melatonin intraperitoneal olarak 10 mg/kg dozunda verildi. Barsaklarda 30 dakika iskemi, 90 dakika reperfüzyon sağlandı. Ratlar ileum segmenti alındıktan sonra sakrifiye edildiler. Alınan ileum segmenti izole organ banyosunda asıldı ve asetilkoline karşı kasılma, adrenaline karşı gevşeme yanıtları kaydedildi. Ayrıca ileum segmentleri histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Asetilkolin kasılma yanıtları açısından, Grup 2, grup 3 ve grup 4 ile karşılaştırıldığı zaman istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$, $p<0.01$). Grup 3, Grup 5 ile karşılaştırıldığı zaman anlamlı bulundu ($p<0.01$). Grup 4 ile Grup 6 karşılaştırıldığı zaman istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$). Adrenalin gevşeme yanıtları açısından, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 ile karşılaştırıldığı zaman istatistiki olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$). Grup 3, Grup 5 ile anlamlı sonuç verdi ($p<0.05$, $p<0.01$). Grup 4 ile Grup 6'nın karşılaştırılması istatistiki olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Histopatolojik sonuçlar kasılma ve gevşeme yanıtlarıyla uyumluydu.

Sonuçlar: Bu çalışmada iskemi-reperfüzyona maruz kalan ratların barsak dokusunun kasılma ve gevşeme yanıtları, kontrol ve sham opere grubu kasılma ve gevşeme yanıtlarına göre daha düşük bulundu. İskemi-reperfüzyondan önce melatoninle tedavi ileal segmentlerin düz kas yanıtlarında bir düzelme sağladı.

Anahtar sözcük: iskemi-reperfüzyon , melatonin, izole ileum, rat

ABSTRACT

THE EFFECT OF MELATONIN ON FUNCTIONAL RESPONSES OF ISOLATED ILEAL SMOOTH MUSCLE IN ISCHEMIA- REPERFUSION INJURY IN RATS

Zerrin ÖZÇELİK.

Purposes: The aim of this study was to determine the effect of melatonin, a hormone that is known as an antioxidant, on functional responses of isolated ileal smooth muscle in rat intestinal ischemia-reperfusion

Materials and Methods: A total of 48 Sprague-Dawley rats were divided equally into 6 groups: Group 1 was control, Group 2 was sham-operated, Group 3 was ischemia, Group 4 was ischemia-reperfusion, Group 5 was ischemia plus melatonin, and Group 6 was ischemia-reperfusion plus melatonin. A dose of 10 mg/kg melatonin was administered intraperitoneally. 30 minutes before intestinal ischemia was followed by 90 minutes of reperfusion. Rats were sacrificed after removal of ileal segments. Ileal segments were placed in isolated organ baths and contraction responses for acetylcholine and relaxation responses for adrenaline were recorded. Additionally, ileal segments were examined histopathologically.

Results : By the contraction responses of acetylcholine, while Group 2 was compared to Group 3 and Group 4, the differences between these groups were found significant ($p<0.05$, $p<0.01$). Also the differences between Group 3 and Group 4, Group 5 were found significant ($p<0.01$). The comparison of Group 4 and Group 6 was found significant ($p<0.01$). Comparison of relaxation adrenaline responses of Group 2 with Group 3 and Group 4 was found significant (respectively $p<0.05$, $p<0.01$). The comparison of Group 3 and Group 5 was also found significant ($p<0.05$, $p<0.01$). The comparison of Group 4 and Group 6 was found significant ($p<0.05$). The histopathologic results were consistent with responses of contraction and relaxation.

Conclusions: The results of this study showed that the contraction and relaxation responses of rat ileal tissue exposed to ischemia-reperfusion were lower than those of control and sham-operated group. Treatment with melatonin before ischemia-reperfusion improved the responses of ileal tissues.

Key words: ischemia-reperfusion, melatonin, isolated ileum, rat.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda yapılan çalışmalar oksijen radikallerinin iskemik dokuların reperfüzyonu ile ortaya çıkan mikrovasküler ve parankimal hücre hasarında önemli rol oynadığını göstermektedir. Reperfüzyon sırasında organın tekrar kanlanması ile dokuya giren oksijen ile oluşan bu reaktif oksijen metabolitleri arasında süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit sayılabilir. Bu radikallerin neden olduğu hücre hasarı vücutta antioksidan sistemleri ile azaltılmaya çalışılırken, eksojen antioksidan etkili bileşiklerle yapılan tedavinin söz konusu hasarı önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir. Her geçen gün antioksidan özelliği ortaya çıkan bileşiklerin sayısı hızla artarken, son zamanlarda, vücutta fizyolojik olarak bulunan ve pineal bezden salgılanan bir hormon olan melatoninin de antioksidan etkilerinin olduğu görülmüştür. Melatonin karanlık fazda sentezlenen ve salıverilen bir hormondur. Dolaşıma salıverildikten sonra kendine özgü reseptörler aracılığı ile birçok dokuda temel fizyolojik fonksiyonlarla ilişkili etkiler gösterir. Bunlar; uyku, davranış ve sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesi, immün sistem ve üreme sistemleridir. Melatonin peroksinitrit, hidroksil ve süperoksit radikallerinin güçlü bir temizleyicisidir. Ayrıca, antioksidan enzimleri aktive eder yada bu antioksidan enzimlerin nükleusta ki ekspresyonunu etkiler. Bütün bu özellikleri nedeniyle, patogenezinde serbest radikallerin rol oynadığı çeşitli fizyolojik durumlarla ilgili deneysel modellerde yararlı etki gösterdiği bildirilmiştir.

Biz de bu çalışmamızda sıçanlarda intestinal iskemi-reperfüzyon modeli kullanarak barsakta oluşan iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine melatoninin etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ

İskemi vücudun bir bölgesinin kanlanmasının yavaşlaması ve durması olarak tanımlanır (1,2). İskemik doku yada organın yeterince kanlanamaması sonucu, doku yada organ gerekli besin maddelerinden, oksijenden yoksun kalır ve iskemik bölgede oluşan toksik metabolitler uzaklaştırılamaz. Ve bunun sonucunda iskemi dokularda ciddi hasarlar oluşturur. İskemiye bağlı oluşan dokulardaki hasarlar hücrede moleküler ve yapısal birbirini izleyen olaylarla gerçekleşir (2,3).

İskemi: hücre veya dokunun kanlanmasını sağlayan arter ve venin trombüs ve/veya emboliye bağlı oklüzyonu yada travma sonucu kesilmesi yada dışardan basıya uğraması sonucu gelişen ve özellikle aerobik oksidatif solunumu etkileyen hipoksik bir durumdur (1,3). Hipoksi iskemik dokuda oluşan hasarın en önemli nedenidir, hipoksi genel anlamıyla kanda, hücrelerde ve dokularda oksijen eksikliğine bağlı gelişen fonksiyon bozukluğudur (2,3). Hipoksinin nedenleri ise; Akciğer ve solunum yolları hastalıklarında arteriyal kandaki oksijen basıncının düşmesi, kansızlık, kan bozukluğu gibi durumlarda kanın yeterince oksijen taşıyamamasıdır. Ayrıca siyanid gibi maddelerin oksijenin uptake'ini önlediği durumlarda da görülür. Kalp yetmezliği yada bazı lokal damarlarda tıkanmadan dolayı görülen dokuların yetersiz kanlanması sonucu oluşan iskemi de bir hipoksi nedenidir (1).

Dokularda iskemi oluşması ile enerji üretimi için harcanacak oksijen ve besin maddeleri hücreye taşınmadığı için hücre içindeki enerji depolarında hızla tükenme oluşur. Bunun sonucu hücrede ilk etkilenen organel mitokondridir (2,3). Hücredeki oksijen yetersizliği mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulmasına neden olur ve bu Adenozin Trifosfatın (ATP) üretimini azaltır. ATP'nin azalmasının hücre içindeki birçok sistemler üzerine de etkisi olur. Sitoplazmik serbest kalsiyumda artış olur. Ayrıca hücre membranının ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesi azalır ve hücrenin iyon gradiyenti bozulur. Sodyum, kalsiyum hücre içinde birikir potasyum hücre dışına kaçar. Sonuçta sodyum iyonunun hücre içine girişinin artması ile suyun izoosmotik artışı birlikte olup akut hücresel şişmeye neden olur. Bu şişme inorganik fosfatlar, laktik asit ve pürin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile hücredeki ozmotik yükü daha da artar. Hücredeki ATP'nin azalması ile birlikte hücredeki anaerobik glikolizis hızlanarak glikojenden ATP oluşturulur.

Glikolizin hızla artması sonucu hücrede laktik asit birikmeye başlar. Laktik asit birikmesi, ATP yıkım ürünlerinin artması ve hücre içinde H^+ , fosfat birikimi ve bu metabolik artıkların uzaklaştırılamaması hücre içinde pH'nın düşmesine neden olur. Mitokondrilerde şiddetli şişme, hücre membranında aşırı hasar ve lizozomda şişme görülür. Hipoksi düzelmez ise mitokondrial fonksiyon daha da bozulur ve membran permeabilitesinin de artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. Eğer oksijenlenme sağlanırsa tüm yukarıda ki bozukluklar düzelebilir ve buna reversible (geri dönüşlü) zedelenme denir, ancak iskemi devam ederse geri dönüşü olmayan (irreversible) zedelenme gelişir. Geri dönüşü olmayan zedelenme morfolojik olarak mitokondrilerde şiddetli şişme, hücre membranında aşırı hasar ve lizozomda şişme ile karakterizedir. Mitokondrial matrikste büyük, kümeleşmiş amorf dansiteler gelişir. İskemik alan yeniden kanlanırsa hücre içine masif kalsiyum akışı olur. Aşırı geçirgen membrandan proteinlerin, esansiyel koenzimlerin ve ribonükleik asitlerin kaybı devam eder. Hücrelerden ATP'nin oluşumu için önemli metabolitler de sızabileceğinden, hücre içi yüksek enerjili fosfatlar daha da azalır. Bu dönemde lizozomal membranlarda hasar gözlenir ve enzimlerini sitoplazma içine kaçıırır. Bu enzimlerin aktivasyonu hücrenin komponentlerinin enzimatik sindirilmesine yol açar. Ölümden sonra hücre komponentleri ilerleyici olarak parçalanır, diğer hücreler tarafından fagosit edilir veya yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitleri kalıntılarının kalsifikasyonu ile kalsiyum sabunları oluşumu görülebilir (2,3).

Sonuç olarak; İskemi sonucu oluşan hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkiler, hücrenin devamı için gerekli olan ATP sentezi azalır. Membran hasarı, ölümcül hücre zedelenmesinin gelişmesinden sorumludur, hücre ölümüne yol açan biokimyasal ve morfolojik değişikliklerde kalsiyum önemli bir mediatördür.

2.2. REPERFÜZYON HASARI

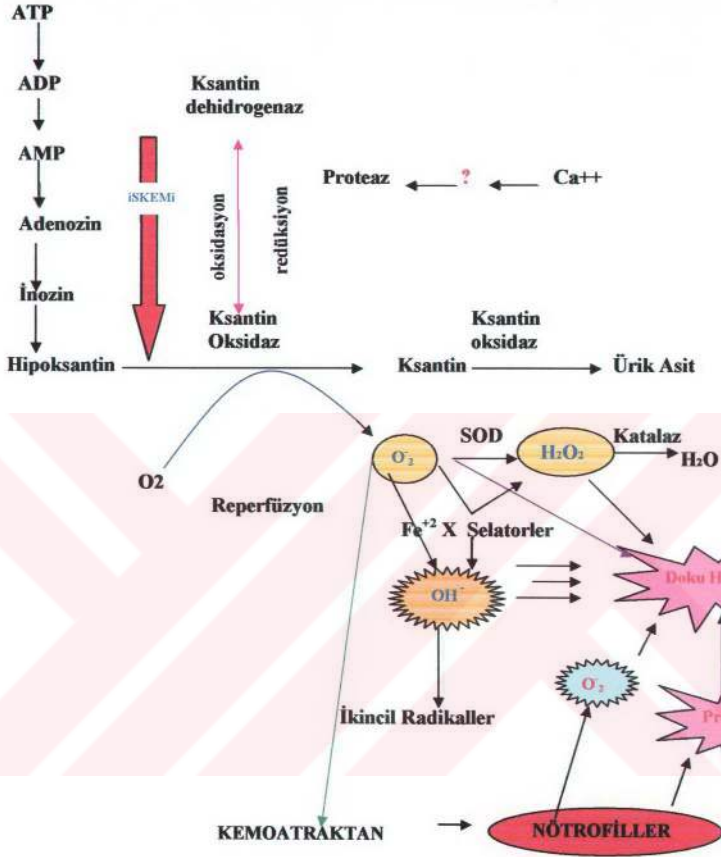
Reperfüzyon iskemiye maruz kalan doku yada organların yeniden kanlanması ile oluşur ve hücrelere yeniden oksijen girişi sağlanır (3). Reperfüzyon hasarı iskemi epizodunu izleyen, kan akışının yeniden başlaması esnasında bir organda meydana gelen hasar olarak da tanımlanabilir (3). İskemiye izleyen reperfüzyon sonucu oluşan hasarda, reperfüzyon serbest radikal oluşumu için şart olarak oluşmak zorunda olmasına rağmen kendiliğinden oluşan iskemik durumdaki hasarda farklıdır (3,4,5). İskemi periyodunun sonunda başlayan

reperfüzyon hasarının bir özelliği müdahale edilmesi ile düzeltilebilir olmasıdır. Bu nedenle, hasarlar iskeminin bir sonucu olarak düşünöldü ve bunun için tedavide daha uzun düzelmeler olmadı, aslında yeniden canlanmanın başlangıcında başlayan tedavi ile önlenebilirdi.

Oksijen doku ve hücrelerin yaşamını devam ettirmesi için esas olan bir elementtir (3,5,6). Oksijen eksikliğine bağılı doku ve hücrelerde yapısal ve biokimyasal hasarlar görölür, Ancak; oksijenin doku ve hücrelere girmesi ile birlikte bu hasarın azalması beklenir. Fakat yapılan bir çok çalışmaları iskemi sonucu oluşan hasarın reperfüzyonun sağlanması ile daha da şiddetlendiğini göstermiştir (7,8,9). Reperfüzyon iki ucu keskin kılıç gibi tanımlanabilir, doku yada organ normal metabolik fonksiyonu için oksijene gereksinim duyar, fakat oksijenin iskemik ortama girmesi bir diğör olaylar zincirini tetikler ve sonuçta esas olarak toksik oksijen metabolitlerinin ortaya çıkması ile doku hasarı oluşur (3,4,5,10). Parks ve Granger çalışmalarında üç saatlik iskemiye takiben oluşan bir saatlik reperfüzyonun, reperfüzyonsuz dört saatlik iskemiden sonra oluşan hasardan daha büyük hasar oluşturduğunu göstermişlerdir(11). Parks ve Grangerin yaptığı çalışmada üç saatlik iskemi sonrası barsağın oksijen içermeyen perfusat ile perfüzyonunun, perfusatın tamamı oksijen içeren kan ile perfüzyonu yapılandıan daha az anlamlı hasar oluşturduğunu göstermişlerdir (11).

İR hasarının oluşumunu açıklayan kesin bir mekanizma yoktur. Ancak hasarın oluşmasına aracılık eden birkaç mekanizmadan bahsedilebilir. Bunlar; nötrofil aktivasyonu ve endotelial adezyonu ve bunun sonucunda üretilen toksik metabolitler, sitokinler, fosfalipaz A2'nin aktivasyonu, ksantin oksidaz enzim sistemi, trombosit aktive edici faktör (platelet activating factor PAF), nitrik oksid (NO) ve serbest oksijen radikalleri en önemli mekanizmalardır. İR ile oluşan hasarın büyük bir kısmından serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır (12,13,14).

Reperfüzyon hasarının temel mekanizması, Garger ve arkadaşları tarafından hipotez olarak şekil 1'de özetlenmiştir (14).



Şekil 1. Reperfüzyon hasarının mekanizması.

2.3. Reperfüzyon Hasar Mekanizmaları:

2.3.1. Lökosit (nötrofil, lenfosit, monosit) aktivasyonu.

Reperfüzyon hasarının önemli bir nedenidir. İskemik bölgeye lökositlerin, öncelikle de polimorfonükleer lökositler (PNL) olan nötrofillerin infiltrasyonudur (5,12,14). Bilindiği gibi

nötrofiller fagositoz olayı ile canlıyı enfeksiyöz ajanlardan koruyan kan hücreleridir . Son yıllarda yapılan çalışmalarda, barsakta iskemik hücrelerin, nötrofil ve trombositlerin vasküler endotele adhezyonuna dolayısıyla yangısal yanıtı açan, kemoatraktan maddeleri ve adhezyon molekül aktivatörlerini salgıladıkları gösterilmiştir(13,15). Kedi ince barsağın da ki mukozal myeloperoksidaz aktivitesinin ölçümlerinde dokunun her gramı başına 10 milyon granülositin var olduğu söylenmiştir. Bu granülositler aktive olunca myeloperoksidaz, elastaz gibi çeşitli enzimler salgırlar ve bu enzimler mikrovasküler ve parankimal hücrelere zarar verebilirler(15).

Grisham ve arkadaşları dokudaki myeloperoksidaz aktivitesini kullanarak kedi ince barsak mukozasındaki granülositlerin değişimi üzerine İR'un etkisini araştırmışlar (16). Granger ise iskemi periyodu esnasında mukozadaki myeloperoksidazda beş ile yedi kat artış, halbuki reperfüzyon esnasında ise mukozadaki myeloperoksidazda 18 kat artış olduğunu gözlemiştir. Yine Granger İR'un yaptığı doku hasarının granülosit infiltrasyonu ile ilişkili olup olmadığını saptamak için yaptığı bir çalışmada İR'a bağlı mukozadaki myeloperoksidaz aktivitesinde artış üzerine ya süperoksid dismutaz (SOD) yada allopurinol ile tedavisinin etkilerini incelemiştir ve sonuçta reperfüzyon sonrası görülen mukozadaki myeloperoksidaz aktivitesindeki artış hem SOD ile hem de allopurinol ile anlamlı oranda azaldığını gözlemiştir (11,15). Granger'in ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada da barsakta reperfüzyon sonrası granülosit infiltrasyonunun ya katalaz, deferoksamın yada hidroksil radikal süpürücü dimetiltioüre ile ön tedavileri sonucunda büyük ölçüde önlediğini göstermişlerdir (15,16,17).

Nötrofil kemotaksisine neden olan en önemli etken, ksantin oksidaz (XO) reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalleridir. Reoksijenasyon ile aktive olan ve lökosit akümülyasyonunda görev üstlenen diğer ajanlar ise, kompleman 5a (C5a) kompleman 3a (C3a), araşidonik asit metabolitleri, özellikle lökotrien B4 (LB4), NO, PAF, interlökin-1,6,8 (IL-1,6,8), gama interferon ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi sitokinlerdir. Kemotaktik faktörlerin sentezi ve salınması ile birlikte, hem nötrofil hem de endotel hücresinde lokalize olan adhezyon moleküllerinin upregülyasyonu da başlamaktadır. Nötrofil-endotel etkileşimini sağlayan adhezyon molekülleri, glikoprotein yapısındadırlar. Nötrofiller üzerinde bulunan bazı adhezyon molekülleri; lökosit β_2 integrinler (CD11/CD18) ve lökosit adhezyon molekülü (LAM-1 veya L-selektin) dır. Endotel hücresi üzerinde bulunanlar ise; intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM-

1 veya E-selektin) ve granüle membran protein -140 (GMP-140 veya p-selektin) dır (5,14,17).

Nötrofiller, adhezyon molekülleri aracılığı ile etkileşime girdikleri endotel hücreleri arasında ilerleyerek (diapedez olayı) ekstrasvasküler dokuya doğru göç ederler. Aktive olmuş nötrofiller, antimikrobiyal savunma sisteminde kullandıkları mekanizma olan NADPH oksidaz enzimi aktivasyonu ile reperfüzyonda gelen moleküler oksijenden seri reaksiyonlar sonucunda süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hipoklorik asit ($HOCl$) ve kloraminleri oluşturarak, ileri doku hasarına neden olurlar. Nötrofiller radikal olmayan toksik mediatörlerin büyük bir sayısı kadar elastaz, kollejenaz ve diğer proteazları da içerirler ve bunlar iskemi reperfüzyon esnasında dokudaki parenkimal ve endotelial hücrelere zarar verirler. Proteaz inhibitörü olan aprotinin iskemi reperfüzyon hasarında proteolitik enzimleri inhibe ederek koruyucu etkiler gösterdiği bir çok klinik çalışmada gösterilmiştir (4,5,10,13,14,16,17).

2.3.2. Ksantin Oksidaz (XO).

İR'a bağlı oluşan önemli hasar mekanizmalarından birisi de ksantin oksidaza bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin oluşmasıdır. Granger ve arkadaşları reperfüzyon hasarı ile ilgili birçok araştırmalar yapmışlar ve reperfüzyon hasarının mekanizmasını yukardaki şekilde özetlemişlerdir (şekil 1) (13,15,16) .

İskemi döneminde Ca^{2+} bağımlı proteazlarca veya sülfidril gruplarının oksidasyonu ile ksantin dehidrogenazın, ksantin oksidaza dönüşmesi sonucunda dokuda XO oranı %10 luk fizyolojik oranın üzerine çıkmaktadır. İskemi esnasında, yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkılımı ile pürin metabolitlerin hipoksantin ve ksantin birikimine yol açar. Bu da XO için substrat oluşturmaktadır. Reperfüzyon da oksijenin ani ve fazla miktarda yeniden dokuya girmesi sonucu ksantin oksidaz reaksiyonu ile ürik asit, yan ürün olarak da süperoksit radikali oluşmaktadır. Oluşan süperoksit radikali H_2O_2 ve $\cdot OH$ 'ni oluşturmaktadır (Şekil. 1.) (14,15,16).

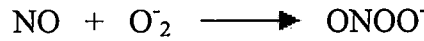
2.3.3. Plazma ve organel membranlarından kaynaklanan araşidonik asit kaskadı.

İskemi sırasında membran fosfolipidlerinin artmış lipolizi ile biriken araşidonik asidin reperfüzyonda hızlanmış metabolizması sonucu prostaglandin G_2 (PGG_2), hidroperoksieikozotetraenoik asit (HPETE) ve prostaglandin H_2 (PGH_2) oluşum basamaklarında süperoksit anyon radikali oluşmaktadır (5).

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi hücre içi antioksidanların aktivitelerindeki azalmanın, reperfüzyon ile organel membranlarından ayrılan araşidonik asidin metabolizma ürünleri olan serbest radikallerin hücre içindeki artışını gösterdiği öne sürülmektedir (5).

2.3.4. Nitrik oksit sentaz (NOS) aracılı serbest radikal oluşumu.

Reperfüzyonda, “inducible” NOS aktivasyonu ile nitrik oksit (NO[•]) yapımı artmaktadır. NO[•] in O₂⁻ ile reaksiyona girerek oluşturduğu peroksinitritin (ONOO⁻) parçalanması ile ortaya hidroksil radikali çıkmaktadır (18).



Şekil. 2. Nitrik oksit reaksiyonu.

2.4. SERBEST RADİKALLER

Günümüzde moleküler oksijen tarafından oluşan doku hasarları ve hücre ölümünün birçok metabolik reaksiyonun sonucu olarak oluşan serbest radikallerin yetersiz uzaklaştırılmasından dolayı olduğu kabul edilmektedir (14,19). Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir yada daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan moleküllerdir. Eşlenmemiş elektronlar molekülleri kararsız hale getirdiğinden stabil moleküller değildir ve bir başka molekülle etkileşerek, bu elektronu eşlemek ve böylece kararlı hale gelmek eğilimindedirler. Bu nedenle son derece reaktif moleküllerdir ve yarı ömürleri çok kısadır(14). Aşağıdaki şekil-3 de bazı iyi bilinen serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri gösterilmiştir(5,20,21).

$\text{O}_2^{\cdot -}$	Süperoksit radikali
$\text{OH}^{\cdot}$	Hidroksil radikali
$\text{ROO}^{\cdot}$	Peroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
$\text{NO}^{\cdot}$	Nitrik oksit
ONOO^-	Peroksinitrit

Şekil-3. Reaktif oksijen türleri.

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir. Radikaller başlıca üç mekanizma ile oluşur (6,14,20,21).

1-Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Yüksek enerjili elektromagnetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı atomlar üzerinde kalıyor ise, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde eşleşmemiş elektron kalır. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türlerde reaktiftir (14,19,20).

2-Normal bir molekülün elektron kaybetmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron kalıyorsa radikal formu oluşur (14,20).

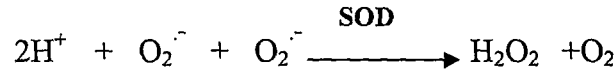
3-Normal bir moleküle elektron transferi ile: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron oluşuyor ise bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış da oksijenin diğer radikal türevlerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumu için tetik fonksiyonunu görür (14,20).

2.4.1. Oksijen türevi serbest radikallerin oluşumu:

Aerobik canlıların yaşamı için mutlak gerekli olan moleküler oksijenin dış yörüngesinde de eşleşmemiş iki elektron vardır (2,14,19,20). Bu elektronlar, spinleri (dönmeleri) aynı yönde ve farklı yörüngelerde iken minimum enerji seviyelerindedir. Oksijen diradikal yapıya sahip olmasına rağmen reaktivitesi beklenenin aksine çok düşüktür. Oksijenin herhangi bir moleküle tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülünde benzer yapıya sahip olması gerekir (farklı yörüngelerde aynı ve spinleri aynı yönde elektron içermesi gerekir). Oysa başta organik moleküller olmak üzere, atom ve moleküller yörüngelerinde elektronları antiparallel ve eşleşmiş olarak içerirler veya eşleşmemiş elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu olarak oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama spin kısıtlaması olarak adlandırılır. Canlıların

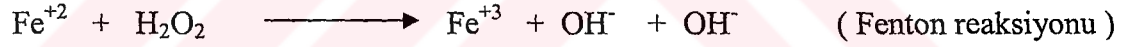
oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron tansferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar bazı metal iyonlarından (Fe, Cu, Mn, Zn) yararlanırlar (5).

Moleküler oksijen organizmada pek çok reaksiyonda önemli rol oynar ve çok sayıda serbest radikalin oluşmasına da neden olur. Moleküler oksijenin toksik etki göstermesi süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi reaktif ürünlere bağlıdır (5,22). Biyolojik sistemlerde süperoksit radikali, fizyolojik pH'da spontan dismutasyonla ve süperoksit dismutaz enziminin katalizasyonu ile hidrojen peroksite dönüşür. Süperoksit dismutaz enzimi süperoksit radikalini ortamdaki uzaklaştırmaya çalışır (5,21,22).



Şekil.4. Serbest radikallerin SOD ile reaksiyonu ile hidrojen peroksit oluşumu.

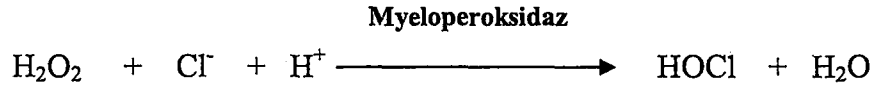
Hidrojen peroksit normalde radikal değildir, ancak reaktif oksijen sınıfında bulunur ve geçişli metallere reaksiyona girerek daha güçlü oksidanları oluşturur. Ortamda fazla miktarda hidrojen peroksit oluştuğunda, proteine bağlı demirin ferröz haline indirgenme reaksiyonu ile hidroksil radikalini oluşturur. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir (5,6,21,22).



Şekil.5. Hidrojen peroksidin geçiş metalleri ile reaksiyonu.

Hidroksil radikali çok kararsızdır ve 6-10 saniye kadar kısa ömürlüdür. Süperoksit radikali ve hidroksil radikalinin çift olmayan birer elektronu vardır. Hidrojen peroksidin çift olmayan elektronu yoktur, bu nedenle radikal değildir. Ancak; hidrojen peroksit (H_2O_2) biyolojik membranları geçebilir, intrasellüler olarak Fenton reaksiyonu ile fosfolipidler, karbonhidratlar, metallo proteinler ve DNA'yı hasara uğratabilir (6,21,22).

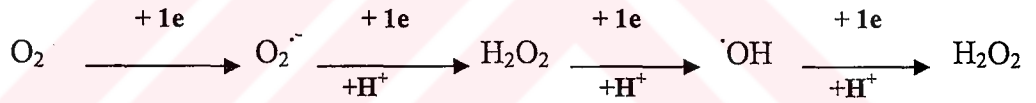
Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde reaktif oksijen metabolitleri arasında yer almaktadır. Hidrojen peroksit, klorür iyonu ile birleşerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan hipokloröz aside dönüşür (5,6,16,20).



Şekil.6. Hidrojen peroksidin toksik olan hipokloröz aside dönüşümü.

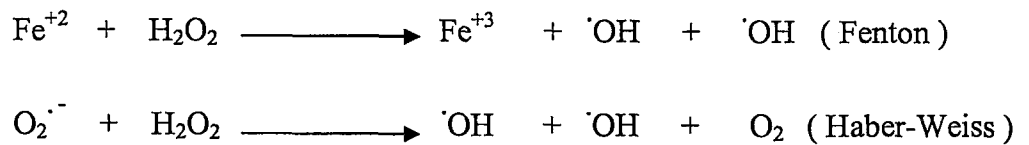
2.4.2. Serbest Radikallerin Endojen kaynakları

Oksijen türevi serbest radikaller oksidatif metabolizma sonucu organizmanın tüm hücrelerinde oluşur. Oksidatif fosforilasyon sırasında, mitokondrial sitokrom oksidaz, ATP üretimi için moleküler oksijenin dört elektron alarak suya indirgenmesini sağlar. Fakat oksijenin yaklaşık % 1-5'i sitokromun katalize ettiği bu yoldan, katalitik olmayan, basamaklı ve her basamakta bir elektronun kullandığı bir başka yolağa sızarak ve toksik ara ürünler oluşturur (2,5,14). Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle önce süperoksit radikali oluşur. Süperoksitin reaktivitesi sınırlıdır ve sadece birkaç bileşikle reaksiyona girer. Sulu ortamda spontan olarak sinklet oksijene ve H_2O_2 'ye dönüşür (6,14,20).



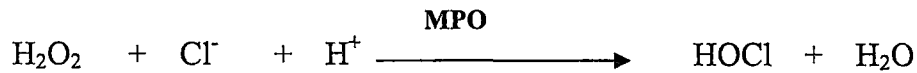
Şekil.7. Oksidatif metabolizma sonucunda serbest radikal oluşumu.

Mitokondride oluşan süperoksitin büyük bir kısmı magnezyum bağımlı SOD tarafından metabolize edilir; Ancak SOD ile süperoksitin detoksifikasyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Oluşan H_2O_2 serbest radikal değildir ancak çok reaktif bir metabolittir. H_2O_2 katalaz veya peroksidazla zararsız oksijen ve suya yığılır. H_2O_2 , Fe^{++} veya Cu^{++} gibi geçiş metallerinin katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile fizyolojik ortamda oldukça yavaş gelişen Haber-Weiss reaksiyonu ile $\cdot\text{OH}$ 'ye dönüşür (Şekil 4). Dolayısıyla H_2O_2 'nin ve süperoksitin oluşturduğu in vivo hasarın büyük çoğunluğu $\cdot\text{OH}$ radikaliyle bağlıdır (5,6,14,20).



Şekil.8. Geçiş metal iyonu etkisiyle yüksek reaktiviteli OH radikali oluşumu.

Oksidazların çoğu belli koşullar altında toksik oksijen metabolitlerini salıverirler. Ksantin oksido-redüktaz, hipoksantin, ksantin gibi pürinlerin ürata iki basamaklı oksidasyonunu katalize eder (14,15,16). Enzimin her iki formu da in vivo olarak mevcuttur ve her biri pürin metabolizmasını katalize eder. Dehidrogenaz formu elektron alıcısı olarak NAD^+ (nikotinamit dehidrogenaz)'yi kullanarak radikal oluşturmazken, oksidaz formu elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanır ve metabolizma yan ürünü olarak süperoksit anyon radikali oluşturur (14). Normal koşullarda bir çok dokuda enzimin dehidrogenaz formu baskındır; ancak çeşitli faktörler (iskemi, sülfidril yan gruplarının tersinir oksidasyonu, peroksinitrit vb) dehidrogenazın oksidaz formuna dönüşümüne neden olabilir. Aldehit oksidazlar, dehidroorat dehidrogenaz, flavin dehidrogenaz ve peroksidazlar reaktif oksidatlar oluşturur. Nötrofillerin plazma membranının dış yüzeyinde bulunan NADPH (nikotinamit adenin dinükleotit fosfat)-bağımlı oksidaz sistemi O_2^- salıverilmesi için oldukça etkin bir kaynaktır (14,15,18). Bu enzim normal koşullarda aktif değildir ancak bakteriler, mitojenler, sitokinler, forbolesterleri vb faktörler ile aktive edildiğinde oksijenin O_2^- ve H_2O_2 'ye indirgenmesi hızla katalize edilir. Bu olay solunum patlaması olarak adlandırılır ve stimüle olmuş nötrofiller oksijenin %90'dan fazlasını tüketir. Bu olay sırasında kullanılan oksijenin çoğu O_2^- ara ürünü üzerinden fagositler tarafından bakterisidal bir ajan olarak kullanılan H_2O_2 'ye dönüştürülür. Oluşan O_2^- 'nin hem kendisi hem de nötrofillerde bol miktarda bulunan myeloperoksidaz (MPO) ile katalize edilen reaksiyonla H_2O_2 ve klorür iyon (Cl^-)'nundan ikincil olarak oluşan ve ekstrasellüler olarak salıverilen hipokloroz asit (HOCl) toksiktir (Şekil 9) (5,14,20).



Şekil.9. Hipokloroz asit oluşumu.

MPO'nun katalize ettiği reaksiyonla oluşan HOCl , yeniden H_2O_2 ile reaksiyona girerek sinklet oksijeni ($^1\text{O}_2$) oluşturur. Sinklet oksijen serbest radikal değildir ancak kuvvetli oksidan bir ajandır ve pek çok molekülle etkileşme yeteneğindedir. $^1\text{O}_2$, ONOO^- 'nin H_2O_2 ile reaksiyonu sonucunda da oluşur (6,14,18).

Hücre membranında, araşidonik asit metabolizmasında prostaglandin ve lökotrien üretimini katalize eden siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimleri de metabolizma yan ürünü olarak $\cdot\text{OH}$ ve $\text{ROO}\cdot$ oluşturmaktadır (4,21,22).

Nitrik oksit eşlenmemiş bir elektron içermesi nedeniyle serbest radikal sınıfına sokulur. NO serbest radikallerden farklı bir biyosentetik yolakla nitrik oksit sentaz tarafından L-argininin terminal guanidino-azot grubunun moleküler oksijen ile oksidasyonu ile sentezlenir (6,18).

2.4.3. Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları

Çeşitli eksojen ajanlar biyolojik sistemde oluşan serbest radikal üretimine aracılık edebilir. Örneğin flavoproteinlerin katalize ettiği ksenobiyotiklerin redoks dönüşümü serbest radikal üretiminin potent bir mekanizmasıdır. Eksojen faktörlerin başında hiperoksi, inflamatuvar ilaçlar, yüksek enerjili ışınlar (X ışınları, gama ışınları gibi iyonize radyasyona maruz kalan hücrelerde su molekülü direkt homolitik fizyon ile hidrosil radikali oluşur.), sigara dumanı, fotokimyasallar, hava kirliliği, organik solvanlar (Karbon tetra klorürü vb), anestezikler, pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, elektromanyetik radyasyon gibi çeşitli çevresel ajanlar sayılabilir (2,5,14,20).

2.4.4. Serbest radikal hasarının biyokimyası

Serbest radikaller elektronlardan dolayı çok reaktif moleküller olduğundan; hücrenin herhangi bir bölümünü doğrudan oksitleme özelliğine sahiptirler. Ancak, membran lipidleri, proteinler, DNA zincirleri ve karbonhidratlar serbest radikallerin saldırısına en duyarlı moleküllerdir. Serbest radikaller mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (5,14,19,20,22).

Proteaz, fosfolipaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz, triptofan dioksijenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimlerini aktive ederken alfa-1 antitripsin gibi bazı savunma sistemlerini inaktive ederler. Serbest radikaller çeşitli dokularda reaksiyonlara neden olurlar (20,21).

2.4.4.1 Membran lipidlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu) :

Serbest radikallerin yapmış oldukları hasara en duyarlı olan dokular lipidlerdir. Membranların kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikaller ile reaksiyonu

lipit peroksidasyonu oluşur. Reaksiyonlar zincirleme gelişir oldukça zararlı ürünler oluşur ve meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Poliansatüre yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun çıkması ile peroksidasyonun başlamasına neden olur, böylece yağ asidi zinciri lipit radikali niteliği kazanır. Bu radikal dayanıksız olup, çift bağların yerini değiştirir ve oksijenle reaksiyonu sonucu lipit peroksil radikaline dönüşür. Lipit peroksil radikalleri diğer doymamış yağ asitlerine etkiyerek yeni radikaller oluşturur, aynı zamanda hidrojen atomları alarak hidroperoksitlere dönüşürler. Hidroperoksitlerin parçalanması ile lipit alkoksi radikalleri açığa çıkar. Lipit peroksidasyonu antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır ya da devam ederek hücre membranındaki geçirgenlik artışından hücrenin ölümüne kadar değişiklik gösteren zincirleme reaksiyonlar oluşturur (5,20,21).

Lipit peroksidasyonu ile oluşan ürünlerin tiobarbitrik asit ile reaksiyona girmesi sonucu malondialdehit (MDA) ortaya çıkar. Bu metot lipit peroksit seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir belirleyicisi değildir, fakat lipit peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon gösterir.

2.4.4.2. Proteinlere etkileri:

Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere göre daha az hassastır ve aminoasitlerin dizilişine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha fazla etkilenirler. İmmünglobulin G ve albumin gibi disülfüt bağı fazla olan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur (20,21).

2.4.4.3. Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri:

Nükleik asitler ve DNA da serbest radikal hasarına açık biyomoleküllerdir. İyonize radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'da tek veya çift bağ kırıklarına yol açarak mutasyona, karsinogeneze ve hücre ölümüne neden olurlar. Özellikle hidroksil radikali (OH) nükleik asitlerde baz modifikasyonuna, buna bağlı olarak da kromozom değişikliğine ve hücre fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Malign dokularda endojen serbest radikal gidericilerin seviyelerinde anlamlı düşüşler bulunmuştur. Hidrojen peroksit, DNA'daki demir ve bakır ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturur ve doku hasarına neden olur (20,21,22).

2.4.4.4-Karbonhidratlara etkileri:

Monosakkaritlerin otooksidasyonu ile hücre içinde hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diyabet, sigara içimi ve kanser ile birlikte olan kronik hastalıkların patogeneğinde rol oynarlar (20,21,22).

Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser, yaşlanma, diyabetik katarakt gelişmesine ve mikroanjyopati gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir (20).

2.5. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizmada sürekli oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu antioksidan savunma sistemleri bulunur. Antioksidanlar serbest radikalleri direkt olarak nötralize eder veya reaktivitelerini azaltır. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasında hassas bir denge vardır ve bu dengenin korunması, organizmanın canlılığını sürdürmesi açısından son derece önemlidir. Antioksidan miktarının serbest radikal hasarını kompanse edememesi halinde bu denge bozulur ve hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkar. Antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen ya da geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Endojen antioksidanların yetersiz kalması halinde diyetle alınan antioksidanların desteğine ihtiyaç duyulur. Bu bakımdan antioksidan kapasitenin belirlenmesi klinik önem taşır (14,19,20,22).

2.5.1. Endojen savunma sistemi

Normal hücre yapısı, serbest radikal reaksiyonlarının reaktanlarını birbirinden ayırır ve serbest radikal üretimini en aza indirir. Örneğin demir iyonları ferritin veya transferin gibi proteinler de inaktif olarak bulunur ve serbest radikallerin demir ile reaksiyona girmeleri engellenir. Endojen savunma sistemleri, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) sistemler olarak iki bölümde incelenmektedir (Tablo 1) (20,21,23).

Tablo 1. Endojen savunma sistemleri

Enzimler

- Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- Süperoksit dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Hidroperoksidaz

Enzim olmayanlar

a) Lipid fazda bulunanlar (Membranöz)

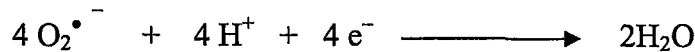
- α tokoferol (Vit E)
- β karoten

b) Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar

- Askorbik asit (Vit C)
 - Ürat
 - Sistein
 - Seruloplazmin
 - Transferrin
 - Albumin
-

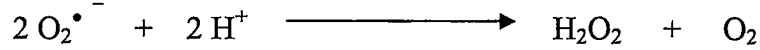
2.5.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

1-Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi: Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, hücrede kullanılan oksijenin çoğunu tüketerek moleküler oksijenin % 95-99'unu herhangi bir toksik metabolit oluşumundan korur (14,21).



Sitokrom oksidaz yukardaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir. Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli devam eder ve bu yolla bol miktarda enerji üretimi sağlanır (14, 20,23).

2-Süperoksit dismutaz (SOD): İnsanda SOD'un iki tipi bulunnur. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn içeren izomer ile mitokondiride bulunan tetramerik Mn içeren izomerlerdir. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır. SOD enzimi süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (20,23).

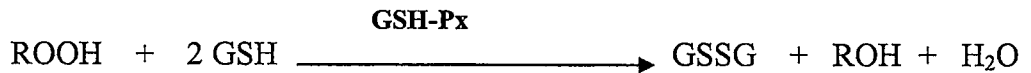
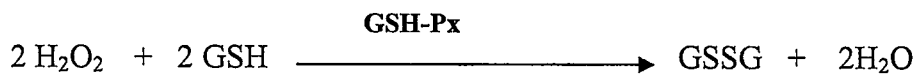


SOD aktivitesi, oksijen kullanımı yüksek olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD'un ekstarsellüler aktivitesi çok düşüktür (20).

3-Katalaz: Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi oksijen ve suya yıkılmasını sağlar. Peroksizomlarda lokalizedir (20,21,23).



4-Glutatyon peroksidaz (GSH-Px): Hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu,dört selenyum atomu içeren bir enzimdir. GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler (22).



2.5.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

1-Vitamin C: Suda eriyebilen vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve trunçgillerde bol miktarda bulunur. İnce barsaklardan kolayca emilir. Isıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya ise dayanıklıdır (20,23). Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar (20). Kollagen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Safra asitlerinin sentezindeki 7-α hidroksilaz başlangıç basamağında ve lizinden karnitin sentezinde rol alır. Katekolamin sentezinde

dopamin β -monooksijenaz reaksiyonunda kofaktör olarak etkilidir. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici bir rol oynar. İmmunitede ve yara iyileşmesinde etkilidir (20,23).

Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asid semidehidroaskorbat radikal ara ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Semidehidroaskorbat da antioksidan etki gösterir (20,23).

2- Vitamin E: Tokoferol yapısında olan Vitamin E'nin alfa, beta, gama, delta, eta ve zeta gibi çeşitli alt tipleri bulunmaktadır. α -Tokoferol en geniş doğal dağılımı, en büyük biyolojik aktiviteyi ve en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, E vitamininin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır(20,23).

α -Tokoferol değişik konsantrasyonlarda, en yüksek mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Miyokard membranlarındaki miktarı da fazladır. Gıdalarla alınan E vitamini şilomikronun yapısına girer ve şilomikronun lipoprotein lipaz ile hidroliziyle E vitamininin bir bölümü dokulara girer. Kalan E vitamini şilomikron kalıntılarıyla birlikte karaciğer tarafından alınır ve hepatik kökenli VLDL'ler aracılığıyla tekrar dolaşıma geçer veya HDL'ye transfer edilir. E vitamini en fazla LDL'de bulunur. Bir LDL partikülünde 6 tane α -tokoferol molekülü vardır. LDL'nin dış tabakasında ve kromonal halkası sulu faza yönelmiş şekilde lokalizedir. E vitamini en önemli depolanma yeri yağ dokusudur(20).

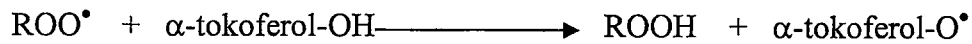
Güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Bir molekül α -tokoferol 100 molekül PAYA'nin peroksidasyonunu engelleyebilir. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikalini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (22).

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. En yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin eritrosit membranları ve solunum sistemi membranlarında yoğunlaşma eğilimindedir. Ateroskleroz gelişiminde önemli bir risk faktörü olan düşük dansiteli lipoprotein (LDL) damar çeperindeki hücreler tarafından daha yüksek riskli oksitlenmiş şekline dönüştürülmesini E vitamini inhibe eder.

Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda plazmada düşük E vitamini seviyesinin erken angina pectoris için bir risk faktörü olduğu ve E vitamini alımı ile koroner kalp hastalığı riskinin azaldığı gösterilmiştir(20).

E ve C vitaminin verilmesinin yaşlı kişilerde ortalama kan lipit peroksit konsantrasyonlarında bir azalma yaptığı görülmüştür(20).

E vitamini, zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir, lipit peroksi radikallerini parçalar ve böylece lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırır. Peroksitler üzerindeki nötralize edici etkisini, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline ($ROO^{\bullet}$) aktarmak suretiyle aşağıdaki şekilde iki basamakta yapar(20).



Birinci basamakta oluşan tokoferoksi radikali yeni bir serbest peroksil radikali ile reaksiyona girer. Sonuçta α -tokoferol serbest olmayan radikal ürününe okside olur. Bu oksidasyon ürünü glukronik asitle konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. İnsan eritrositlerinin hidrojen peroksit ile in vitro ortamda hemolizi, E vitamini tarafından önlenir.

E vitamini ile Glutatyon peroksidaz serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki oluştururlar. Glutatyon peroksidaz oluşan peroksidleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksidlerin sentezini engeller (20,23).

E vitamini, selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Selenyum, normal pankreas fonksiyonu ve E vitamini ile lipidlerin emilimi için gereklidir. Ayrıca, E vitamininin lipoproteinler içinde tutunmasına yardımcı olur. E vitamini ise selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif halde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır. Selenyumda E vitamininin gereksinimini düşürür(20).

3-Karotenoidler: β -karoten, A vitamininin metabolik ön maddesidir ve bitki pigmentlerinden olan karotenoid ailesindendir. β -karoten, peroksi radikaliyle, süperoksit radikali ile direkt olarak etkileşerek antioksidan etki gösterir (20).

4-Seruloplazmin: Süperoksit dismutaz enzimine benzer mekanizma ile etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükselterek Fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder (6,20,22).

5-Ürat: Normal plazma konsantrasyonlarında süperoksit, hidroksil, peroksil radikallerini ve singlet oksijeni temizler. Lipit radikalleri üzerine etkisi yoktur (20).

6-Sistein: Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (20).

7-Transferrin: Dolaşımdaki serbest demiri bağlar (6,20).

8-Albumin: ROOH ve HOCl toplayıcısıdır (20,22).

9-Glutatyon (GSH): Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptid. Serbest radikaller ve peroksitler ile reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membrandan geçişini sağlar. Eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korur (20,24).

2.5.2. Eksojen Savunma Sistemi

Eksojen kullanılan antioksidanlar serbest radikallerin salınımını engeller, oluşmuş radikalleri temizler veya endojen antioksidan savunma sistemini güçlendirerek etki ederler. Bu amaçla pek çok madde kullanılmakta olup yeni maddeler üzerinde de birçok deneysel çalışmalar yapılmaktadır. Allopurinol, Ksantin Oksidaz inhibitörleri, N-asetil sistein, Mannitol, Melatonin ve Pentoksifilin gibi birçok madde eksojen antioksidandır (7,8,9,20,24).

Magnezyum, selenyum, çinko ve bakır gibi eser elementler de serbest radikallerin yapmış olduğu doku hasarına karşı koruyan enzimlerin yapılarında görev almaktadır (19,20)

2.6. İNTESTİNAL İSKEMİ

İntestinal iskeminin genel nedeni hernial strangülasyon, volvulus, intusepsiyon gibi bölgesel durumlarda oluşan vasküler yapıların mekanik tıkanıklığıdır. Bazen primer lezyon mezenterik arterdedir ve iskeminin ağırlığına ve şiddetine göre sonuçlar değişir (1,25).

Süperior mezenterik arterin trombozu veya embolisi ince barsakların infarktına yol açar. Genellikle atheromatöz arter stenozu intestinal anjina yapabilen kronik iskemiye neden olur. İntestinal anjina yemekten hemen sonra artmış peristaltizmden dolayı barsakların yeterince kanlanamaması ile ortaya çıkan karın ağrısının olduğu bir sendromdur. Diare, kilo kaybı ve frank malabsorbsiyon sendromuna neden olur (1,25).

Masif enfarktüse neden olmayan akut intestinal iskemi yine de mukoza ve kas tabakasının iç kısmında infarktüse neden olabilir. Barsak duvarı konjesyone ve ödematöz olur; mukozaya geçebilen nekroz ve ülserasyon görülür. Lümen içindeki kanama bunun bir sonucudur. Bu lezyonlar yama ile karakteristiktir ve hem ince barsak hem de kolon etkilenmiş olabilir ancak; rektumun kanla beslenmesi iyi sağlandığı için genellikle korunur (1,26). Akut iskemik kolit, akut ülseratif kolit veya toksik megakolona hemen hemen benzeyebilir. Akut geçici bir durum olarak barsaktaki iskemik hasar kalp yetmezliği ve şokta ki kadar seyrekleşmez. Barsaktaki iskemik hasar, major cerrahinin önemli bir komplikasyonudur. Klinikte kanlı diare ve karın ağrısı vardır. Şoktaki hastaya olan bu ilave hasar fatal olabilir (25).

Tam iyileşme olabilir veya alternatif olarak tedavi edilebilir ve kronik iskemi iskemik daralmaya yola açabilir. Etkilenmiş barsaklarda yama ülserler gösterilir ve mukoza venleri arasında atrofi oluşur. Hemosiderin dolu makrofajları kapsayan granülasyon dokusu submukozaya uzanır ve hatta kas tabakalarının daha ciddi hasarlı alanlarına da uzanabilir. Daralma formasyonuna yol açan skarlar; daralmalar ince barsaklarda veya splenik fleksura ve inen kolon en yaygın etkilenmiş olarak bulunur (1,25).

Mezenterik venöz tromboz iskemisinin bir diğer önemli nedenidir. Bu süreç distal olarak küçük venöz köklerle başlar ve ana mezenterik venleri tutacak şekilde ilerler. Barsaklar şişer (tıkanır) ve taze kan rektumdan geçebilir veya kusma ile çıkabilir, bu durum akut ülseratif kolite veya peptik ülsere benzeyebilir. Tüm barsak infarktında olduğu gibi etkilenen kısmın paralizisinden dolayı erken barsak obstrüksiyonu vardır. Tüm duvar enfarktı olduğu zaman barsak serleşir, rengi de kırmızıdan mor renge doğru olur ve fibrinöz peritoneal eksuda ile kaplanır. Feçesten gelen saprofitler hızla kolonize olur ve gangreni takip eder (1,25).

DeneySEL olarak oluşturulan intestinal iskemi modelleri genelde süperior mezenterik arterin klemplenmesi ile ince barsaklarda oluşturulmuştur. Klempin açılması ile reperfüzyon sağlanmış ve bunların sonucunda barsakta oluşan hasarın etkileri değişik maddelerin kullanılması ile biyokimyasal yada patolojik olarak incelenmiştir (7,8,9,13). Barsaktaki iskemi reperfüzyon modeli Granger ve arkadaşları tarafından kedi ince barsağında geniş olarak incelendi. Granger bir saatlik iskemiyi takiben üç saatlik reperfüzyon yaptı (11). Diğer bazı çalışmalarda ise 30 dakika yada 60 dakika iskemiyi takiben 60 dakika yada 120 dakika reperfüzyon oluşturulan modellerde vardır (7,8,9,26).

2.7. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM FİZYOLOJİSİ

Gastrointestinal sistem (GİS) su, elektrolitlerin ve gıdaların sürekli olarak vücuda alınımını sağlar. Gıdaların sindirim kanalında hareket etmesi, sindirim kanalına salgıların salgılanması, besinlerin sindirilmesi, sindirilen gıdaların, su ve elektrolitlerin absorpsiyonu ve sindirim artıklarının uzaklaştırılması gibi fonksiyonların kontrolü sinirsel ve hormonal mekanizmalar aracılığı ile olur. Gastrointestinal çeperin ince barsak duvarının kesiti aşağıdaki şekilde görülmektedir. Bazı yerel farklılıklar olsa da genelde, lümeninden dışarıya doğru şu tabakaları içermektedir (27).

- 1-mukoza,
- 2-submukoza,
- 3-sirküler kas tabakası,
- 4-longitudinal kas tabakası,
- 5-seroza,

Bu tabakalara ek olarak seyrek düz kas liflerinden oluşmuş, mukozanın daha derin tabakalarında uzanan bir tabaka olan muskularis mukoza da vardır. Gastrointestinal sistemin motor işlevleri düz kasın farklı tabakaları tarafından gerçekleştirilir (27).

Gastrointestinal kanaldaki bireysel düz kas lifleri 1000 kadar paralel liften oluşmuş demetler şeklindedir. Longitudinal kas tabakasında bu demetler barsak kanalı boyunca uzunlamasına uzanır, sirküler kas tabakasında ise barsağın çevresinde uzanırlar. Her demetin içindeki kas lifleri birbirleriyle, iyonların bir hücreden sonrakine düşük rezistansla hareketine izin veren, çok sayıda gap junctions ile elektriksel olarak bağlanmışlardır. Böylece her demetin içindeki elektrik sinyalleri bir liften sonraki life kolayca ulaşır.

Düz kas liflerinin her demeti birbirinden gevşek bağ dokusu ile ayrılmıştır, fakat demetler bir çok noktada birbiriyle birleşir. Bu nedenle, her kas tabakası bir sinsityum olarak işlev görür, yani kas kitlesi içinde herhangi bir yerde bir aktivasyon potansiyeli oluştuğunda bu genellikle kas içinde tüm yönlerde doğru yayılır. Ancak uyarının ulaştığı uzaklık kasın uyarılabilirliğine bağlıdır; bazen yalnız birkaç milimetre sonra durur veya bazen de ince barsak kanalının tüm uzunluğu boyunca ilerleyebilir. Ayrıca, longitudinal ve sirküler kas

tabakaları arasında da bağlantılar vardır ve bu kas tabakalarından birindeki uyarılma diğerini de uyarabilir (27,28).

2.7.1. BARSAKLARIN DOLAŞIMI

Gastrointestinal sistemde barsaklar vücudumuzun ana arterlerinden olan abdominal aortanın dallarından süperior ve inferiyor mezenterik arterlerin dalları ile beslenir. Arteria mezenterika inferiyor kalın barsakları besler. Ancak arteria mesenterica superior doudenum'un üst kısmı hariç, tüm ince barsak ile caecum, colon ascendens ve colon transversum'un büyük bölümünü besler. Truncus coeliacus'un yaklaşık 1 cm aşağısından ve aortanın ön yüzünden çıkar. Hem başlangıcında ve ön tarafında v. splenica ile pankreas gövdesi bulunur. Arka tarafında v. renalis sinistra, daha arkasında da aorta bulunur. A. mesenterica superior aşağı ve ön tarafa doğru uzanırken pankreas'ın processus uncinatus'u ile doudenum'un 3. bölümünün (pars horizontalis) önünden geçer. Burada mesenterium'un iki yaprağı arasına girer ve sağ fossa iliaca'ya doğru dallarını vererek uzanır. Dallarını verdikçe de kalınlığı azalır. Bu esnada v. cava inferior, sağ ureter ve sağ m. psoas major'u önden çaprazlar. A. mesenterica superior, mesenterium içinde uzanırken konveksitesi öne, aşağı ve sola bakan bir kavis çizer. Sağ tarafında v. mesenterica superior ve çevresinde de plexus mesentericus superior bulunur (25,29).

A. Mezenterica Süperior'un Dalları

1-A. pancreaticoduodenalis inferior

a)R. Anterior

b)R. Posterior

2-Aa. Jejunales ve aa. İleales

3-A. ileocolica

a)A. caecalis anterior

d)R. İlealis

b)A. caecalis posterior

e)R. Colicus

c)A. appendiculari

4-A. colica dextra

5-A. colica media

Arteria mezenterika inferiyor da kalın barsakları ve rektumu besler. Bu damarlar arasında yaygın anastomazlar vardır. Bununla birlikte, büyük bir barsak arterinin tıkanması, yine de, barsakta enfarktüse yol açabilir. Mukozaya olan kan akımı, barsak duvarının geri kalan bölümüne olan akımdan daha fazladır ve bu akım metabolik etkinlikteki değişikliklere yanıt verir. Bu nedenle, yemekten sonra, ince barsak kan akımı artar (29).

2.7.2. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİN SİNİRSEL FONKSİYONU

Mide-barsak kanalının tonusu ve motilitesi ile salgılama ve absorbsiyon fonksiyonları sinirler tarafından düzenlenir. Mide barsağın hareketleri esas olarak otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Ayrıca barsaklar kendi sinir sistemine de sahiptir ve buna enterik sinir sistemi denir. Enterik sinir sistemin efferent kısmı sempatik ve parasempatik nöronlar tarafından oluşur ve bu nedenle otonom sinir sistemi ile uyum içinde çalışır. Enterik sinir sistemi gerekli durumlarda otonom sinir sisteminden bağımsız refleks olarak peristaltik hareketleri, sindirim sistemindeki bezlerin salgılamasını ve kan akımını düzenleyebilir.

Enterik sinir sistemini etkileyen sinirler, ekstrinsik sinirler ve intrinsik sinirler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Ekstrinsik sinirler kesildiğinde (kesilip dışarı alınan izole barsak parçasında olduğu gibi), mide barsak kanalı motor etkinliğini (örneğin barsak peristaltizmini) nisbeten düzenli bir şekilde sürdürür. Bu olay esas olarak mide-barsak düz kaslarının bir ağ oluşturan tek birimli düz kas olmasına ve ağ içindeki bazı hücrelerin spontan impuls oluşturan tempocu hücre olmasına bağlı olabilir (27,30).

2.7.2.1. Ekstrinsik sinirler:

Barsağın ekstrinsik inervasyonu dört değişik sinir yolları ile olmaktadır ve esas olarak otonom sinir sistemi tarafından oluşmaktadır. 1-Vagus ve pelvik sinirler içinde gelen preganglionik parasempatik sinirler. Auerbach ve Meissner pleksuslarındaki intrinsik kolinerjik nöronlarla sinaps yaparlar. 2-Prevertebral ganglionlardan arterler çevresinde gelen postganglionik sempatik sinirler. Mide-barsak çeperinde kolinerjik (parasempatik) intrinsik sinir uçlarındaki α_2 -adrenerjik reseptörleri aktive ederek oradan asetilkolin salgılanmasını inhibe eder ve böylece düz kasları gevşetir. Ayrıca düz kas hücrelerinin β_2 -adrenerjik reseptörlerini aktive ederek direkt gevşeme de yaparlar. 3-Nonadrenerjik nonkolinerjik sinirler. Çoğunluğu peptiderjik olan bu nöronlar barsak hareketlerinde refleks gevşemeyi

sağlamaktadır. 4- Arterler çevresinde veya vagus yada pelvik sinirler içinde mide-barsak kanalından otonomik ganglionlara ve santral sinir sistemine doğru seyreden afferent (duyusal) sinirler (30).

2.7.2.2.İntrinsik sinirler:

Bunlar nöron gövdeleri dahil tümüyle mide-barsak çeperi içinde yerleşmiş bulunan kısa nöronlardan ve ara nöronlardan oluşur. Bu nöronlar temel olarak iki pleksustan oluşur: 1- Myenterik veya Auerbach pleksus da denilen longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasında yer alan dış pleksus. 2-Submukozal veya Meissner pleksus da denilen submukozalarda yer alan iç pleksus.

Bu pleksuslar parasempatik (kolinerjik) ganglion hücreleridir. Myenterik pleksus, longitudinal ve sirküler düz kasları inerve eder ve esas olarak gastrointestinal sistemin motor hareketlerini kontrol eder iken, submukozal pleksus, glandüler epitel, intestinal endokrin hücreler ve submüköz kan damarlarını inerve eder ve esas olarak, gastrointestinal sekresyonları ve lokal kan akımını kontrol eder (27,28,30).

Gastrointestinal epitel veya barsak duvarından köken alan duyusal sinir uçları vardır. Bunlar daha sonra enterik sistemin her iki pleksusuna ve ayrıca sempatik sistemin prevertebral gangliyonlarına, medulla spinalise ve vagus sinirleri içinde beyin sapına afferent lifler gönderirler. Bu duyusal sinirler barsağın içinde lokal refleksler oluşturabilir ve diğer refleksler santral sinir sisteminin bazal bölgelerinden veya prevertebral gangliyonlardan barsağa doğru geriye yayılım olabilir (27,28,30).

Myenterik pleksus gastrointestinal kanalın tümü boyunca uzandığı için ve yine barsak düz kasının longitudinal ve sirküler tabakaları arasında yer aldığından temel olarak barsak boyunca oluşan motor aktivitenin kontrolü ile ilgilidir (27). Uyarıldığında temel etkileri şunlardır. 1-Artmış tonik kontraksiyon veya barsak duvarının kontraksiyonunun artması, 2-Ritmik kontraksiyonların yoğunluğunda artma, 3-Kontraksiyon ritminin hızında hafifçe artma, 4-Peristaltik dalgaların hızlanmasına neden olan uyarıcı dalgaların ileti hızında artma.

Myenterik pleksus tamamen uyarıcı olarak ele alınmamalıdır. Çünkü bazı nöronları inhibitördür, bu sinir lifleri terminal uçlarından vazoaaktif intestinal polipeptid gibi inhibitör transmitterler salgırlar. Oluşan inhibitör sinyaller, pilor sfinkteri gibi midenin boşalmasını ve ilioçekal valv gibi ince barsak içeriğinin çekuma ulaşmasını kontrol eden gastrointestinal kanalın birbirini takip eden segmentleri arasında gıdanın hareketini engelleyici intestinal sfinkter kaslarının inhibisyonu için özellikle yararlıdır (27,30).

Submukozal pleksus myenterik pleksusun aksine her bir küçük barsak segmentinin iç duvarındaki kontrolden sorumludur. Örneğin birçok duysal sinyal gastrointestinal epitelden kaynaklanır ve daha sonra submukozal pleksusta toplanarak lokal intestinal sekresyon, lokal absorpsiyon ve mide mukozasının çeşitli derecelerde katlanmasına neden olan submukozal kasın lokal kontraksiyonuna yardımcı olur (27).

İntrinsik sinirlerin peptiderjik nöronları da vardır. İntrinsik nöronların üçüncü grubunu oluşturan bu hücrelerinin aksonlarının ucunda VIP (Vazoaktif İntestinal Peptid), enkefalinler, somatostatin ve P maddesi gibi peptid nöromediatörler salıverilir. P maddesi içeren nöronların bir kısmı serotonerjik eksitator nöronlar tarafından aktive edilir ve bu nedenle P maddesi hariç diğer peptidler mide-barsak motilitesini inhibe ederler. Enkefalinerjik sinirler bu inhibisyonu, parasempatik kolinerjik sinir uçlarından asetilkolin salıverilmesini inhibe ederek (presinaptik inhibisyon) dolaylı bir biçimde yaparlar (30).

2.7.2.3. Gastrointestinal kanalın otonomik kontrolü :

2.7.2.3.1. Parasempatik inervasyon: Gastrointestinal sistemin parasempatik sinirleri kranial ve sakral bölümlere ayrılmaktadır. Sindirim sisteminin ağız ve farengeal bölgeye giden birkaç parasempatik lifi hariç, kranial parasemparikler tamamen vagus siniri içinde taşınırlar. Bu lifler özofagus, mide ve pankreası yoğun olarak inerve ederlerken kalın barsağın birinci yarısına kadar olan barsak bölümüne daha az ulaşırlar (27).

Sakral parasempatikler ikinci, üçüncü ve dördüncü sakral spinal segmentlerden oluşurlar ve pelvik sinirler içinde kalın barsağın distal yarısına ulaşırlar. Bu lifler kalın barsağın sigmoidal, rektal ve anal bölgelerini barsağın diğer alanlarına göre daha iyi inerve ederler (27).

Parasempatik sistemin postgangliyonik nöronları myenterik ve submukozal pleksus içinde yerleşmişlerdir. Bu ganglionlardaki sinir uçlarından salıverilen ve sinaptik aşırımdan sorumlu olan nörotransmitter asetilkolindir (kolinerjik sinaps veya kavşak) (30). Kolinerjik reseptör alt tiplerinden muskarinik reseptörler esas olarak G proteini (guanin nükleotid bağlayan düzenleyici protein) ile kenetli reseptörler grubuna girerler. Nikotinik tipteki reseptörler ise membranındaki Na^+ iyon kanalları ile direkt olarak kenetlenmişlerdir; bu nedenle iyon kanalı açıp kapayan (ion channel gating) reseptörler grubuna girerler. Bu reseptörler efektör hücrelerin veya nöronların sitoplazma membranı içinde yerleşmişlerdir. Asetilkolin'in otonom sinir sistemi ile ilgili nöronlar ve efektör hücreler üzerindeki etkisine,

birbirinden farklı yapıda reseptörler olan nikotinik reseptörler ve muskarinik reseptörler aracılık ederler (30,31).

Nikotinik reseptörler; nikotinik reseptör proteini beş alt birimden oluşan pentamerik bir yapıya sahiptir, her bir alt-birim proteini 4-transmembranal segmentten oluşur. Kanal katyon kanalıdır. Na^+ , Ca^{++} , K^+ 'u geçirmekle beraber, asetilkolin ile aktive edilip açıldığında Na^+ kanalı gibi çalışır ve depolarizasyona yol açar. Nikotinik reseptörler iki tipe ayrılmıştır. Bunlar çizgili kas tipi (muscle-type, N_M) reseptörler ve gangliyon tipi (N_G) reseptörlerdir.

Muskarinik reseptörler; M_1 , M_2 , M_3 , M_4 ve M_5 reseptörlerdir (30,31). M_1 reseptörler, beyinde öğrenme ve bellekle ilgili kolinergik yolların ucundaki sinapsların postsinaptik membranında ve periferde sempatik ganglion hücrelerinde ve parasempatik ganglion hücrelerinde (mide-barsak çeperinde) bulunurlar. $\text{G}_{q/11}$ (Fosfoinozotidaz (PIP_2 'nin hidrolizi sonucu IP_3 ve DAG oluşumu)) tipi G proteini ile kenetlenmişlerdir. M_2 reseptörler, kalpteki yapılarda (atriyum myokardı, sinus düğümü ve iletim sistemi), bazı düz kas hücrelerinde ve beyinde (özellikle superior colliculus'ta) bulunurlar. $\text{G}_{i/o}$ (Adenililsiklaz inhibisyonu) tipi G proteini ile kenetlenmiştir. M_3 reseptörler, ekzokrin salgı bezi hücrelerinde ve mide-barsak kanalı, trakeobronşiyal kanal ile mesane düz kasında ve beynin bazı bölgelerinde bulunurlar. M_3 reseptörleri aktive edildiğinde salgı bezlerinin salgısını artırır ve düz kaslı yapıların kasılmasına neden olurlar. $\text{G}_{q/11}$ ve G_k (Potasyum kanalının kapanması) tipi G proteinleri ile kenetlenmişlerdir (30, 31). M_4 reseptörlerin beyinde (örneğin striatum) ve bazı düz kaslı yapılarda bulunduğu iddia edilmektedir. $\text{G}_{i/o}$ tipi G proteini ile kenetlenmiştir (30). M_5 reseptörlerin periferde varlığı gösterilememiştir, beyinde substantia nigra'da ve hipokampusta bulunduğu iddia edilmekte (30).

Parasempatik sinirlerin uyarılması enterik sinir sisteminin tamamında genel bir aktivite artımına neden olur (27,30).

2.7.2.3.2. Sempatik inervasyon: Gastrointestinal kanalın sempatik lifleri omuriliğin T 5 – L 2 segmentleri arasından kaynaklanır. Barsakları innerve eden pregangliyonik liflerin çoğu medulla spinalisi terk ettikten sonra sempatik zincir içine girer ve bu zincirleri terk ederek çöliak gangliyon ve çeşitli mezenterik gangliyonlara doğru giderler. Burada daha çok postgangliyonik nöron gövdeleri yerleşmiştir ve postgangliyonik lifler buradan yayılarak postgangliyonik sempatik sinirler içinde temel olarak enterik sinir sistemindeki nöronlarda sonlanacak şekilde tüm barsaklara geçerler. Postganglionik sempatik sinir ucu ile efektör

hücreler arasındaki kavşakta impuls aşırımını sağlayan esas nörotransmitter noradrenalin (adrenerjik kavşak). Bu kavşaklarda noradrenalin, kavşak sonrası (post-junctional) membran üzerinde yerleşmiş olan adrenerjik reseptörleri aktive ederek impuls aşırımını sağlar. Adrenerjik reseptörlerin alfa (α) ve beta (β) tipleri ve onların çeşitli alt tipleri vardır. Adrenerjik reseptörler, benzer bazı reseptörler gibi (muskarinik, dopaminerjik ve serotonerjik reseptörler) gibi 7-transmembranal segmentli ve G proteinleri ile kenetli reseptör süperfamilyasına girerler. Adrenerjik reseptörler, alfa (α) ve beta (β) reseptörlerin klonlama deneyleri ile, fonksiyonel farmakoloji ve radyoligand bağlanma yöntemleri ile bulunan alt tipleri bulunmuştur. Gen klonlama ile α_1 reseptörlerin üç alt tipinin (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} alt tipleri) varlığı (30), α_2 adrenerjik reseptörlerin de α_{2A} , α_{2B} ve α_{2C} olmak üzere üç alt tipinin varlığı gösterilmiştir. Beta reseptörlerin gen klonlama ile tanımlanan β_1 , β_2 ve β_3 alt tip reseptörleri gösterilmiştir. Beta reseptörlerinin tüm tipleri G_s (adenililsiklaz stimülasyonu yapan) tipi G proteinleri ile kenetlenmişlerdir. Alfa reseptörlerinden α_1 ; $G_{q/11}$, $G_{i/o}$ tipi G proteinleri ile, α_2 reseptörlerinin bütün alt tipleri ise $G_{i/o}$ tipi G proteinleri ile kenetlenmiştir (30).

Mide-barsak kanalında β reseptörlerin düz kas membranı üzerinde, α reseptörlerinde ise kolinerjik (parasempatik) sinir ucu membranı üzerinde bulundukları saptanmıştır. Sempatik sinir stimülasyonu sonucu salıverilen veya ilaç olarak uygulanan noradrenalin, postsinaptik β reseptörleri aktive ederek veya α reseptörler aracılığı ile kolinerjik uçlardan asetilkolin salıverilmesini azaltarak mide barsak kanalında gevşeme yapar(30).

Genel olarak sempatik sinir sisteminin uyarılması parasempatik sistemin neden olduğu etkilerin tersine gastrointestinal kanalın aktivitesinde inhibisyona neden olur (30).

Sempatik sistem etkilerini iki yolla meydana getirir:1- Noradrenalinin düz kas üzerine direkt etki ile yaptığı hafif inhibisyona neden olur (muskularis mukoza hariç, burası için uyarıcıdır).2- Enterik sinir sistemi nöronlarına noradrenalin güçlü inhibitör etkilidir. Böylece sempatik sistemin kuvvetle uyarılması gastrointestinal kanalda gıdanın hareketini durdurabilir (27).

Barsaklardan birçok afferent duyuşal sinir lifleri çıkar. Bunların bazılarının hücre gövdeleri enterik sinir sistemi içinde bulunur. Bu sinirler barsak mukozasının irrtiasyonu, barsakların aşırı distansiyonu ve bazı kimyasal maddelerin oluşturduğu kimyasal stimülasyon ile uyarılabilirler. Bu liflerden gelen sinyaller uyarılmaya veya barsak hareketlerinde ve sekresyonunda inhibisyona neden olabilirler (27).

Enterik sinir sisteminin anatomik düzeni, sempatik ve parasempatik sistem ile olan bağlantıları, gastrointestinal kontrol için gerekli olan üç tip gastrointestinal refleksin meydana gelmesini sağlar (27). Bunlar:

- 1- Enterik sinir sisteminin tamamen içinde oluşan refleksler. Bunlar gastrointestinal salgıları, peristaltizmi, karıştırıcı kontraksiyonları, lokal inhibitör etkileri kontrol eden refleksleri içerir.
- 2- Barsaklardan başlayıp prevertebral sempatik ganglionlara giden ve gastrointestinal kanala geri dönen refleksler. Gastrointestinal kanalda bu refleksler uyarıları uzun mesafeler boyunca iletebilirler. Kolonun boşalmasının sağlayan mideden doğan sinyaller (gastrokolik refleks), mide motilite ve sekresyonunu inhibe eden ince barsak ve kolondan kaynaklanan sinyaller (enterogastirik refleks) ve ileum içeriğinin kolana boşalmasını inhibe eden kolondan kaynaklanan sinyaller (kolonoileal refleksler) gibi.
- 3- Barsaklardan medulla spinalise ve beyin sapına giden ve gastrointestinal kanala geri dönen refleksler. Bunlar özellikle:
 - a-Mide ve duodenumdan kaynaklanan, vagus ile beyin sapına giden tekrar mideye geri dönen midenin motor hareketlerini ve salgısını kontrol eden refleksler.
 - b-Tüm gastrointestinal kanalda genel bir inhibisyon yaratan ağrı refleksleri.
 - c-Medulla spinalise gelen ve geri dönüp, defekasyon için gerekli kuvvetli kolonik, rektal ve abdominal kontraksiyonları yaratan defekasyon refleksleridir.

2.7.3. GİS DÜZ KASININ ELEKTRİKSEL AKTİVİTESİ

GİS kanalının düz kası sürekli fakat yavaş aktiviteye maruz kalır. Bu aktivitede iki temel elektriksel dalga tipi bulunur (27). Bunlar:

- 1-Yavaş dalgalar
- 2-Dikensi (sivri) dalgalar

Ayrıca gastrointestinal düz kasın istirahat membran potansiyelinin voltajı farklı düzeylere değişebilir ve bu da gastrointestinal kanalın motor aktivitesinin kontrolünde önemli rol oynar (27).

Gastrointestinal kasılmaların çoğu ritmik olarak gerçekleşir ve bu ritim daha çok düz kas membran potansiyelindeki yavaş dalga diye adlandırılan dalgaların frekansı ile belirlenir. Bu dalgalar aksiyon potansiyelleri değildirler. Buna karşılık istirahat membran

potansiyelindeki yavaş ve dalgalanmalar gösteren değişikliklerdir. Şiddetleri 5 ile 15 milivolt arasında değişir ve frekansları insan gastrointestinal kanalının farklı bölümlerinde dakikada 3 ile 12 arasındadır: mide korpusunda yaklaşık 3, doudenumda 12 kadar ve terminal ileumda yaklaşık 8 veya 9 kadardır. Bu nedenle midenin korpus bölümünün kasılma ritmi sıklıkla dakikada yaklaşık 3, doudenumda yaklaşık 12 ve ileumda ise 8 ile 9 dur (27,28).

Yavaş dalgaların nedeni bilinmemektedir. Ancak sodyum pompasının pompalama aktivitesindeki yavaş dalgalanmalarından oluştuğuna inanılmaktadır (27).

Mide hariç gastrointestinal kanalın çoğu bölgesinde yavaş dalgaların kendileri genellikle kas kasılmasına neden olmazlar. Buna karşılık temel olarak ara sıra görülen dikensi potansiyellerin doğmasını kontrol ederler ve dikensi potansiyeller de takiben kas kasılmasının çoğuna neden olurlar (27).

Dikensi potansiyeller gerçek aksiyon potansiyelleridir. Gastrointestinal düz kasın istirahat potansiyeli yaklaşık 40 milivolttan daha pozitif olduğunda (normal membran istirahat potansiyeli -50 ile -60 milivolt arasındadır) otomatik olarak oluşurlar. Aşağıdaki şekilde yavaş dalgaların tepe noktalarının -40 milivoltun üstü düzeyine giderek yükseldiği, yani -40 milivolttan daha az negatif olduğu her seferde dikensi potansiyeller bu tepelerde görülür ve genellikle saniyede 1 ile 10 dikensi potansiyel görülür (27).

Gastrointestinal düz kastaki dikensi potansiyeller, büyük sinir liflerinde her biri 10 ile 20 milisaniye kadar süren aksiyon potansiyellere göre 10 ile 40 katı daha uzun sürmektedir.

Gastrointestinal düz kas ile sinir liflerinin aksiyon potansiyelleri arasındaki diğer bir önemli farklılık da oluşma şekilleridir. Sinir liflerinde, aksiyon potansiyelleri hemen tamamen sodyum iyonlarının sodyum kanallarından liflerin içine hızla girmesiyle gerçekleşir (27).

Gastrointestinal düz kasta, aksiyon potansiyeli oluşumundan sorumlu kanallar oldukça farklıdır; bu kanallar çok sayıda kalsiyum iyonunun yanı sıra daha az sayıda sodyum iyonunun da girmesine izin vermekte, bu nedenle kalsiyum-sodyum kanalları adını almaktadır. Bu kanalların hızlı sodyum kanallarına kıyasla daha yavaş açılıp kapanmaları aksiyon potansiyelinin uzun sürmesinden sorumludur. Ayrıca, aksiyon potansiyeli sırasında, kalsiyum iyonlarının kas lifinin içine fazla miktarda geçmesi ince barsak düz kasının kasılmasında da özel bir rol oynar (27).

Yavaş dalga ve dikensi potansiyellere ek olarak, istirahat membran potansiyellerinin voltaj düzeylerinde değişiklik olabilir. Normal şartlar altında istirahat membran potansiyelleri ortalama -56 milivolttur, fakat birçok faktör bu düzeyi etkileyebilir. Potansiyel daha fazla

pozitif olduğuunda kas daha kolay uyarılabilir duruma gelir ve bu duruma membranın depolarizasyonu denir. Potansiyel negatifleştiiğinde ise lifler daha az uyarılabilir, bu duruma ise hiperpolarizasyon denir (27).

Membranı depolarize eden faktörler membranı daha fazla uyarılabilir hale getirirler (27). Bunlar:

- 1-Kasın gerilmesi,
- 2-Asetilkolinle uyarılması,
- 3-Sinir uçlarından asetilkolin salgılayan parasempatik sinirler ile uyarılması,
- 4-Bazı özel gastrointestinal hormonlar ile uyarılması.

Membran potansiyelini daha da negatifleştiren önemli faktörler ise membranı hiperpolarize eder ve kas lifini daha az uyarılabilir hale getirirler (27). Bunlar:

- a-Noradrenalinin veya adrenalinin kas membranı üzerine olan etkisi,
- b-Sinir uçlarından noradrenalin salgılayan sempatik sinirlerin uyarılması.
- c-Bazı gastrointestinal sistem hormonları.

Kas kontraksiyonu kalsiyumun kas lifi içine girişine cevap olarak meydana gelir, kalsiyum iyonları kalmodulin kontrol mekanizması üzerinden hareket ederek lifteki miyozin filamentlerini aktive eder, böylece miyozin ve aktin lifleri arasında birbirini çeken güçlere neden olur ve kasın kontraksiyonu sağlanır (27).

Yavaş dalgalar kalsiyum iyonunun düz kas içine girişine neden olmazlarken sadece sodyum iyonunun girişini sağlarlar. Bu nedenle, yavaş dalgalar kendi başlarına genellikle kontraksiyona neden olmazlar, bunun yerine yavaş dalgaların en üst noktasında meydana gelen dikensi potansiyeller sırasında büyük miktarda kalsiyum iyonu lifin içine girer ve kontraksiyona neden olur (27).

2.7.4. MİDE- BARSAK KANALININ HORMONAL KONTROLÜ

Mide barsak kanalının tonus ve motilitesi ile salgılama ve absorbsiyon fonksiyonları sinirsel uyarılardan başka barsak hormonları adı verilen hormonlar tarafından da düzenlenir. Adı geçen hormonlar, kolesistokinin, gastrin, sekretin, glukagon, gastrik inhibitör peptid (GİP), vazoaaktif intestinal peptid (VİP), motilin, enterogastron, somatostatin ve nörotensin gibi gastrointestinal sistemin fonksiyonlarının kontrolünü ve eşgüdümünü sağlayan ve bu yerlerden salgılanan peptidlerdir (27,28).

Kolesistokinin: Besinlerin mideden doudenuma geçmesi ile ince barsakların çeperinden salgılanan bir hormondur. Bu hormon safra kesesini ve safra yollarını direkt etkilemek suretiyle kasarak ve oddi sifinkterini de gevşeterek safranın doudenuma boşalmasını sağlar. Ayrıca ince barsağın peristaltik hareketlerini artırır, midenin boşalmasını geciktirir pankreasın dış salgısını artırır (27,30).

Sekretin: Sekretin ince barsağın üst kısmının mukoza bezlerindeki derin yerleşimli S hücrelerinden salgılanır. Sekretin, pankreasın duktal hücrelerinden ve safra yollarından bikarbonat salgılanmasını artırır. Böylece sulu ve alkali bir pankreatik sıvının salgılanmasına neden olur. Sekretin pankreastan sindirim enzimlerinin salgılanmasına neden olan kolesistokinin'in bu etkisini artırır. Mide asidi salgılanmasını azaltır ve pilor sifinkterinin kasılmasına neden olur. Sekretinin salgılanması, protein sindirim ürünlerinin artması ve ince barsağın üst kısım mukozasının asitle karşılaşması durumlarında artar (27,30,32).

Vazoaktif İntestinal Poliipeptid: Peptid nöromediatörlerden periferik sinirler içinde en yaygın olarak bulunan peptittir. 28 amino asitli bir poliipeptiddir ve birer barsak hormonu olan sekretin ve glukagona yapıca benzer. Özofagus, mide, duodenum, ince ve kalın barsaklar, rektum, safra kesesi, pankreas gibi sindirim sistemini oluşturan yapılar içinde bulunur. VIP ter ve tükürük bezlerinde asetilkolin ile birlikte salıverilerek asetilkolinin etkisini modüle eder. Barsak çeperindeki VIPerjik nöronlar motiliteyi inhibe ederler, vazodilatasyon yaparlar ve su ve tuz transportunu kontrol ederler. Bazı VIPerjik lifler barsaktan çöliak ve inferior mezenterik gangliyonlara uzanırlar ve intestinointestinal reflekslerde rol oynarlar (30,32).

Gastrointestinal ve genitoüriner kanalda VIP içeren varikoziteler şeklindeki sinir uçları, düz kas hücreleri, ufak damarlar ve epitel hücreleri ile kavşak yaparlar. VIP buralarda çeper, sifinkter ve damar düz kaslarında gevşeme yapan inhibitör bir nöromediatördür. Vagal sinirin elektriksel uyarılması ile mide barsak kanalındaki sinir uçlarından VIP salıveridiği gösterilmiştir (30).

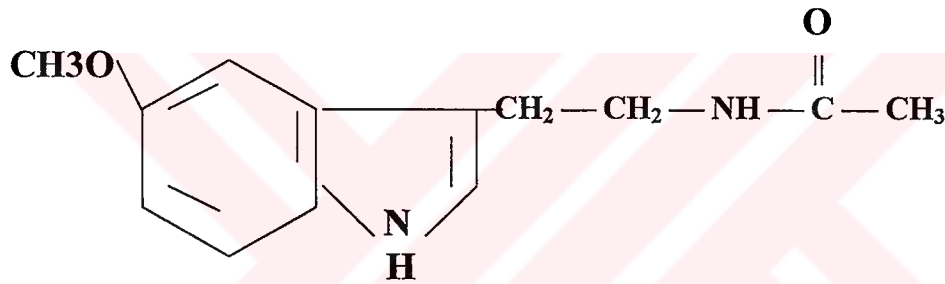
P maddesi (Substans P): Kolinerjik sinir uçlarında asetilkolinin kotransmitteri olarak bulunur ve böylece barsak düz kaslarını kasar ve dış salgı bezlerinin salgılanmasını artıran bir nöromediatördür olarak etki gösterir. Ayrıca damar düz kaslarını gevşetir ve vazodilatasyon yapar (30).

Somatostatin: Kolinerjik eksitator sinir uçlarından asetilkolin salgılanmasını inhibe ederek mide barsak motilitesini azaltır. Genellikle inhibitör etki gösterir (30).

Gastrik inhibitör polipeptid: Temel olarak yağ asitleri, aminoasitler ve kısmen de karbonhidratlara cevap olarak doudenum ve jejunum mukozası tarafından salgılanır. Glukozun aracı olduğu insülin salgılanmasını artırır. Gastirik asit sekresyonunu ve motiliteyi azaltır (27,28,30).

2.8. MELATONİN

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) tüm omurgalılarda pineal bezden salıverilen ve organizmanın sirkadiyan ritmik organizasyonunu kontrol eden bir nörohormondur (Şekil-10) (33,34).



Şekil.10. Melatonin kimyasal yapısı.

Tüm omurgalılarda ve bazı omurgasızlarda 24 saatlik melatonin siklusu söz konusudur. Melatonin aerobik metabolizmayla eşzamanlı olarak aktive olan ilkel bir hormon olduğu ve kan melatonin düzeylerinin aydınlık-karanlık siklusunun karanlık fazında en yüksek olduğu bilinmektedir (34,35,36).

Genç hayvan ve insanlarda melatonin ritminin son derece güçlü olmasına rağmen yaşla birlikte pineal bezin melatonin sentezi azalır. Bu son derece önemli antioksidanın sentezinin yaşla azalması, yaşlanmaya bağlı hastalıkların gelişimi açısından önemli olduğu kanısını uyandırmaktadır (36,37).

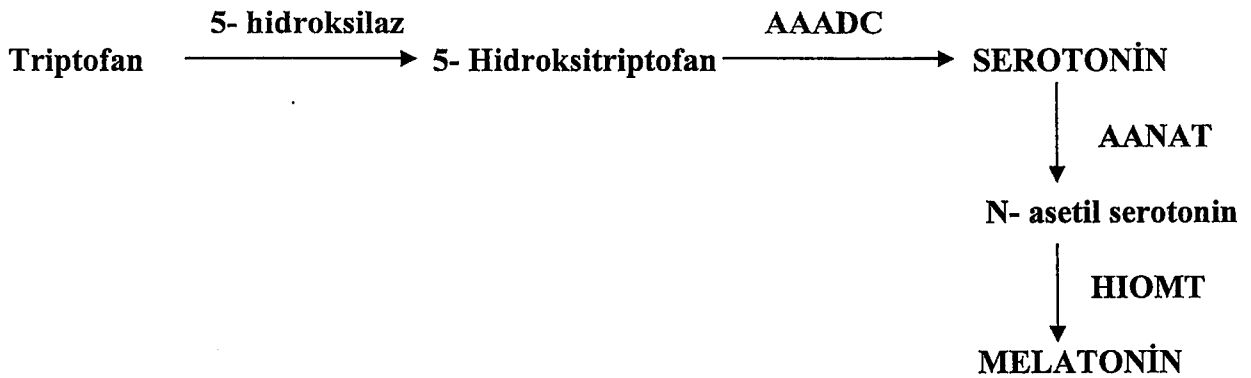
2.8.1. Melatonin Biyosentezi.

Melatonin biyosentezinin ve sekresyonunun sirkadiyen ritmi, omurgalıların biyolojik saatindeki sirkadiyen osilatörlerin direkt kontrolü altındadır. Melatonin, pineal bez dışında retina, Harderian bezleri (omurgalılarda orbital kavitedeki tubuloalveolar bezlerin büyük

kısmı) ve gastrointestinal sistem gibi pek çok organda sentezlenir. Sentezlenen melatonin hemen vasküler dolaşıma geçer (35,36,38). Son derece lipofil olması membranları kolayca aşmasını sağlar.

Melatonin biyosentez yolağı triptofanla başlar. Pineal gland ile sistemik dolaşım arasında kan-beyin bariyeri bulunmadığı için, kandaki triptofan pinealosit'lere kolayca ulaşabilmektedir. Aktif transport ile pinealosit sitoplazması içine alınan triptofan ilk olarak triptofan 5-hidroksilaz enzimiyle hidrokssillenerek 5-hidroksitriptofana, daha sonra 5-hidroksitriptofan da aromatik aminoasit dekarboksilazla (AAADC) 5-hidroksitriptamine (serotonin, 5HT) dönüşür. Gece, serotonin arilalkilamin N-asetiltransferaz (AANAT) enzimiyle N-asetillenerek N-asetilserotonine (NAS), NAS ise hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) ile melatonine dönüştürülür (Şekil 11) (33,36).

Pineal gland da serotonin miktarı gündüz yüksek ve gece düşük düzeylerde iken, melatonin miktarı ise serotoninin tam tersi bir ritim gösterir. Gece pineal gland daki serotonin miktarının azalmasının nedeni; melatonin sentez ve salınımının gece artış göstermesidir. Bununla birlikte, melatonin sentezinde; pineal gland ve retinada bulunan iki enzim önemli rol oynamaktadır: AANAT ve HIOMT enzimi. Bu enzimlerin salınımı; gündüz ışıktaki azalmasına rağmen, gece karanlıkta 100 kata ulaşan bir artma göstermektedir (36).



Şekil.11. Melatonin sentez yolağı.

Sıçan pineal bezinde postsinaptik α_1 ve β_1 adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu siklik AMP (cAMP) ve kalsiyum konsantrasyonlarını artırır ve böylece melatonin sentezini başlatan

N-asetil transferazı aktive eder (34,35). Gün ışıının olduğu saatlerde retinal fotoreseptör hücreleri hiperpolarize olarak noradrenalin salınımını inhibe eder. Ancak, karanlıının başlaması ile fotoreseptörler noradrenalin salgılayarak sistemi aktive eder. Noradrenalin α_1 ve β_1 adreno-reseptörler aracılııyla etki göstererek pineal siklik nükleotitlerin (cAMP, cGMP) düzeylerini artırır ve cAMP melatonin sentezinde kilit enzim olan NAT'ı aktive eder ve böylece melatonin sentez ve salınımı başlar. Ayrıca melatonin sekresyonunun, servikal ganglionlardan kaynaklanan sempatik inervasyonla noradrenalin salıverilmesi aracılııyla tetiklendiği ileri s r lm şt r. Pineal hormon olan melatonin gece, pinealositlerdeki β -reseptörlerin noradrenerjik stimülasyonu aracılııyla salıverildiği, ve melatonin sekresyonunun da β -blokör ilaçlarla inhibe edilebileceği gösterilmiştir (35,36).

2.8.2. Melatoninin Farmakokinetik  zellikleri.

Melatonin pineal bezde sentezlendikten sonra burada depolanmaz ve konsantrasyon gradiyenti doğrultusunda sistemik dolaşıma diffüze edilir. Melatoninin yaklaşık olarak 2/3'  plazma albuminine bağlanır ve geri kalan 1/3'  serbest taşınır. Lipofilik olduğundan vücut doku ve sıvılarına kolayca dağılır. Melatonin ve onun metabolitlerinin yüksek düzeyleri kan da, idrarda, g z n  n odacılıında, t kr kte, ovarian folliküler sıvıda, semende, amnion sıvısında ve anne sütünde esas olarak kaydedildi (36,39).

İnsanlarda melatoninin yarılanma ömrü yaklaşık 30 dakikadır. Melatonin oldukça lipofilik bir hormon olduğu için vücut sıvılarına hemen dağılır. Melatoninin salgılanması gece başlar ve gece saat 2 ile 4 arasında maksimum pik yapar. Ancak melatonin konsantrasyonları yaş ile değişiklik gösterebilir. Çocuklarda en yüksek düzeye sahiptir (plazma düzeyi 1400pM). Genç yetişkinlerde konsantrasyonları 40-260 pM arasında değişir. Bunun nedeni olarak da yaşlanma ile pineal glanda kalsifikasyonun olması veya melatoninin sentezlenmesine neden olan enzimi kodlayan genlerin aktivitesindeki azalmadan dolayı oldukça düşük düzeylere d şt ğ i sanılmakta (36,37,39).

Melatonin oral olarak alındıktan 60 dakika sonra plazma pik düzeylerine erişir ve %74'  ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Karaciğer melatonin metabolizmasında primer organdır. Melatonin 6-hidroksilasyonu takiben sülfat ve glukronik asit konjugasyonu ile karaciğerde metabolize edilir. Konjugasyon sonucunda suda çözünür bileşikler olan 6-s lfatoksimelatonin ve 6-hidroksimelatoninglukoziduronik asit oluşur. Bu bileşikler idrarla atılırlar. Melatoninin major metaboliti 6-s lfatoksimelatoninidir ve bu metabolitin düzeyleri

gece artar. 6-sülfatoksimeletonin düzeylerindeki artış melatonin gibi sirkadiyen pineal aktivitenin göstergesi olarak kullanılabilir. Hormonun metabolize edilmemiş hali, % 1 oranında idrarda tespit edilmiştir (36,37,40).

2.8.3. Melatoninin Sinyal İleti Mekanizmaları.

2.8.3.1 Melatonin reseptörleri.

Pineal hormon melatonin için G proteinleri ile bağlantılı reseptörler, omurgalılarından klonlanmıştır (35). Bu rekombinant reseptörler diğer endojen reseptörlere benzer afinite ve farmakolojik karakteristikler gösterir. Bu reseptörler, in vitro otoradyografi ve iyodomelatonin ($^{125}\text{I-Mel}$) gibi ligandlar kullanılarak konvansiyonel bağlanma yöntemleri ile dokuların pek çoğunda tanımlanmıştır. Memelilerde Mel-1a melatonin reseptörü bir çok $^{125}\text{I-Mel}$ bağlanma bölgesinde gösterilmiştir. Bu bölgeler suprakiazmatik nükleus (SCN), hipofizer pars tuberalis, melatoninin sirkadiyen etki bölgeleri ile reproduktif etki bölgelerini içerir. Mel-1b melatonin reseptörü retina ve beyinde tanımlanmıştır ve bazı memelilerde melatoninin retinal fizyoloji üzerindeki etkilerinden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür. Bunların dışında üçüncü reseptör alt tipi ML1c melatonin reseptörü, ML1a ve ML1b gibi benzer özellik ve fonksiyonlara sahip reseptördür, ancak bazı memelilerde gösterilmesine rağmen insanlarda henüz klonlanmamıştır. Sıçan majör arterlerinin incelenmesiyle kaudal arter, orta ve anterior serebral arterler ve sıçan basilar arterlerinde spesifik $^{125}\text{I-Mel}$ bağlanma yerleri gösterilmiştir. Bu dokularda $^{125}\text{I-Mel}$ bağlanması konsantrasyon bağımlıdır ve doyurulabilir (35,36,41).

En son yapılan sınıflandırmaya göre ML1a reseptörü MT1, ML1b reseptörü MT2, ML1c reseptörü ise MT3 olarak adlandırılmıştır (35).

2.8.3.2. Melatoninin ikinci habercileri.

Çeşitli dokularda yapılan çalışmalarda, melatoninin hem bazal hem de forskolinle, fosfodiesteraz inhibitörleriyle veya melanosit stimüle edici hormon (MSH)'la artmış olan cAMP düzeylerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Melatonin cAMP üzerindeki bu etkisi pertussis toksini veya kolera toksini varlığında ortadan kalkmıştır. Bu da melatonin reseptörlerinin iki farklı G proteini ile eşleşebileceğini göstermektedir. Ayrıca, melatoninin adenilat siklazı inhibe ettiği saptanmıştır (35,36).

Neonatal sıçan ön hipofiz kültürlerinde gonodotropin saliverici hormon (GnRH) ile indüklenen intrasellüler cGMP konsantrasyonundaki artış melatonin tarafından inhibe

edilirken (42), diğer dokularda melatoninin cGMP üzerinde stimülatör etkiye sahip olduğu saptanmıştır (42,43). Ayrıca melatoninin insan lenfositlerinde VIP ile indüklenen cGMP akümülyasyonundaki artışı potansiyalize ettiği de bulunmuştur (44). Ancak melatoninin sinyal ileti mekanizmalarında cGMP 'nin rolü tam olarak açıklanamamıştır.

Melatonin inozitol trifosfat (IP3) üzerindeki etkisiyle ilgili yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular çelişkilidir. Bir çok dokuda diaçilgliserol oluşumunu azalttığı, dolayısıyla protein kinaz C aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (35).

Melatonin intrasellüler Ca^{++} üzerindeki etkisi ile ilgili 2 farklı mekanizma önerilmiştir.

- 1- Deneysel olarak intrasellüler Ca^{++} artışı ilk olarak IP3 aracılıklı intrasellüler depolardan Ca^{++} mobilizasyonu ve bunu takiben voltaj duyarlı kanallardan hücre içine Ca^{++} girişi ile olmaktadır. Melatonin plazma membranında Na^+-Ca^{++} değiş tokuşu veya siklik nükleotit kapılı katyonik kanallardan Na^+ girişini azaltarak hiperpolarizasyon yapmak suretiyle Ca^{++} girişini inhibe edebilir. Ayrıca melatonin cAMP bağımlı kinazlar aracılığı ile voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının fosforilasyonunu inhibe ederek bu kanalların permeabilitesini etkileyebilir.
- 2- Melatonin fosfolipaz C aktivitesini ve IP3 oluşumunu inhibe edebilir. Böylece intrasellüler depolardan Ca^{++} salıverilmesini bloke eder veya bu depolara Ca^{++} geri alınmasını stimüle edebilir.

2.8.4. Melatoninin fizyolojik etkileri

Melatonin biyolojik etkileri, öküz pineal glandının çıkarılması ile büyük baş hayvanların derisinde renk değişikliği bulunduğu zaman 1917 de ilk kez gösterilmiştir. Melatonin sayısız fizyolojik işlemlerde önemli rol oynadığı kabul edilir.

2.8.4.1 Endokrin fonksiyonunun düzenlenmesi:

Melatoninin endokrin fonksiyonları arasında geniş olarak değerlendirilen üreme aktivitesidir. Memelilerdeki üreme siklusu temel olarak endokrin sistem tarafından kontrol edilir ve bu siklus mevsimsel periyodisite gösterir. Memelilerde, dış ortamda gün uzunluğunun değişim gösterdiği mevsimlere uygun olarak fertilitite-infertilitite evreleri değişim göstermektedir. Bazı hayvanlar günlerin uzadığı mevsimlerde, bazıları da günler kısaldığı zaman çiftleşmekte ve çiftleşme mevsiminde hem hipofiz bezi hem de gonadların aktivitesi

artmaktadır. Hipotalamus'daki suprakiazmatik çekirdekleri tahrip edilen hayvanlarda, çiftleşme koordinasyonu bozulmaktadır (34,36,45).

Melatoninin fizyolojik konsantrasyonu, insan granüloza hücrelerinde yüksek afiniteli reseptörlere bağlanması aracılığıyla, progesteron sentezini stimüle ve östradiol sentezini inhibe eder (45).

2.8.4.2. Melatonin ve sirkadiyen ritim:

Melatonin sentez ve salınımı “ışık miktarı” ile yakın bir ilişki gösterir. Gece maksimum düzeyde ve gündüz ise minimum düzeydeki seyri ile karakterize sirkadiyen salınım ritmi gösterir (37) .

Melatoninin memelilerdeki en önemli bir görevi fotoperiyotlarla mevsimsel ritimlerin düzenlenmesine aracılık eder. Organizma yıllık değişimlere uyum sağlayabilmek için mevsimsel değişiklikler sergiler. Mevsimsel uyum, üreme durumundaki, beslenme davranışındaki, post rengi ve yapısındaki, kış uykusuna hazırlanmadaki değişimleri kapsar. Bu değişimler canlının yılın uygun olmayan mevsimleri de canlı kalabilirliğini artırır. Ilıman bölgelerde fotoperiyot uzunluğundaki değişimler pek çok organizma için mevsimsel gösterge olarak algılanır, çünkü bu mevsimlerin en tekrarlanabilir ve beklenen işaretidir. Ayrıca, çevresel sıcaklık değişimi ve yiyecek sunumu da mevsimler için bir ipucu oluşturur. Çevresel değişimler bazı türlerde mevsimsel ritimler oluştururken bazı türlerde ise yılın mevsimlerine uyumu endojen sirkadiyen ritimler senkronize eder (35).

Memelilerde çevresel koşulların mevsimsel değişimine uyum pineal bezin intakt olmasını gerektirir. Pineal bezi çıkarılmış hayvanlarda mevsimsel değişiklikler ya olmaz ya da jeofizik yıllık döngüye senkronizasyon kaybolur. Pinealektomize hayvanlara melatonin enjeksiyonu fotoperiyodun etkilerini taklit edebilmektedir.

2.8.4.3. Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri:

Melatonin insanlarda in vivo olarak ortalama sistolik ve diastolik kan basıncını azalttığı gösterilmiştir (46). Ancak fizyolojik konsantrasyonlarda, sıçan izole kaudal ve serebral arterlerinde insan izole ve domuz izole koroner arterlerinde olduğu gibi vazokonstriksiyona neden olmaktadır (47). Melatoninin vasküler reaktiviteyi ve katekolamin düzeylerini azalttığı ayrıca iskemi reperfüzyon aritmilerini önlediği gösterilmiştir (48,49).

Sıçan kaudal arterinde melatoninin, dinlenme gerimini etkilemediği halde küçük (nM düzeyindeki) konsantrasyonlarda, noradrenalinle indüklenen kasılmaları potansiyalize ettiği ve kasılma süresini uzattığı gösterilmiştir (50). Melatoninin sıçan kuyruk arterinde, hem adrenerjik sinir stimülasyonu hem de fenilefrinle α_1 -adrenoseptör stimülasyonu ile oluşan kasılma cevaplarını stimüle ettiği gösterilmiştir (51). Melatonin sıçan aortunda KCl ile oluşan kasılma cevabını inhibe ettiği çalışmalarda gösterilmiştir. (52,53).

2.8.4.4. Nonvasküler Düz Kaslardaki Etkileri:

İleum, jejunum, doudenum, kolon, çekum ve özefagusta melatonin bağlanma bölgeleri gösterilmiştir (36,54). Sıçan izole ileal düz kasında yapılan bir çalışmada melatoninin karbakolle stimüle edilen kasılmaları ve potasyum klorür ile depolarizasyonu, konsantrasyon bağımlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Melatoninin inhibitör etkisinin apamin ve verapamil varlığında ortadan kalktığı saptanmıştır (55). Kobay izole proksimal kolonunda yapılan bir çalışmada melatoninin direkt kastırıcı etkili olduğu gösterilmiştir (56).

2.8.4.5. Rejenerasyon üzerine olan etkisi:

Melatonin, doku rejenerasyonu ve hücrel mitotik aktivite üzerine hızlandırıcı etki gösterdiği değişik doku türleri kullanılarak gösterilmiştir. Pinealektomi uygulanan hayvanlarda doku kollajen içeriğinde artış olduğu ve melatonin verilince kollajen yapımının baskılandığı bildirilmiştir (57). Deneysel nörodejenerasyon modellerinde, hayvana melatonin verilmesi serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek dejenerasyon gelişimini engellediği gösterilmiştir (58,59).

2.8.4.6. Nöroprotektif etkisi:

Melatonin beyin fonksiyonları üzerinde depresif bir etki gösterdiği saptanmıştır (59). Analjezik etkisinin olduğu ileri sürülmüştür (60). Ayrıca, antioksidan etki göstermesi nedeniyle “nöroprotektif” bir özelliğe sahiptir. Melatonin, hem hidroksil hem de peroksil radikallerini giderici antioksidan özelliği nedeniyle; nöronal aktivite üzerindeki analjezik, antikonvilzif ve depresif etkileri ile nöroprotektif bir ajandır (60,61,62).

2.8.4.7. Uyku ritmini düzenleyici etkisi:

İnsanlarda, melatonin sirkadiyen ritmi düzenleyici rolü nedeniyle uyku ritminin düzenlenmesi ve jet lag semptomlarının giderilmesi gibi bazı klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (38,63,64).

2.8.4.8. Kemik yapımı üzerine olan etkileri:

Yapılan deneysel çalışmalarda, melatonin'in osteoblastik aktiviteyi stimüle ettiği saptanmıştır (65). Klinik olarak postmenopozal dönemdeki kadınlarda osteoporoz gelişmesinin nedeninin serum melatonin düzeyindeki düşüş olduğu ileri sürülmüştür (66). Yaşlılarda, radyolojik olarak saptanan pineal kalsifikasyon nedeniyle serum melatonin düzeyinde bir düşmenin ortaya çıkması sonucu osteoblastik aktivitenin azalması muhtemeldir (36).

2.8.4.9. İmmün sistem üzerine etkisi:

Pek çok çalışmada pinealektomizasyondan sonra ratların timusunda histolojik bozulma ve atrofi olduğu gösterilmiş. Pinealektomizasyondan sonra interlökin-2'nin (İL-2) ürünlerinde düşme görülmüş. Aynı şekilde, hayvanlarda melatoninin endojen düşük düzeyleri ile, T hücrelerinin ürünlerinde azalma gözlenmiştir. Ancak dışardan melatonin verilmesi bu etkileri önleyebilmiştir (18,36,67,68).

Bu sebeple, insanlardaki T hücreleri melatoninin fizyolojik konsantrasyonlarına cevapta İL-2'nin belirli ürünleri ile hedef hücrelerdir. Melatoninin B lenfositlere bağlanmada önemli rol oynamadığı görülmüş (36,68).

Melatonin diğer bir immünmodülatör etkisi kemik iliğin de T-helper hücrelerinde İL-4'ü ve stromal hücrelerde granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör yapımını stimüle ettiği gösterilmiştir (36,69).

İmmünitede rol oynayan değişik komponentlerin köken aldığı kemikiliğindeki hemopoetik hücreler sürekli bir şekilde çoğalarak farklılaşmaktadır. Değişik oksidatif stres durumlarında, kemik iliği ve dolayısı ile de immün sistem zarar görmektedir. Kemik iliği hücrelerinde fazla miktarda melatonin bulunduğu ve immün hücrelerin zarar görmesini önleyici ve immün güçlendirici etkiye sahip oldukları saptanmıştır (70). Septik şok durumlarında görülen immünite bozukluklarının da melatonin verilerek düzeltildiği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (19,71,72).

2.8.4.10. Antikanserojen etki:

Kanserli hastalarda melatonin vermek suretiyle, hastanın immünitelerinin güçlendirilmesi sonucu kanserin ilerlemesinin durdurulabileceği ileri sürülmüştür (73,74,75). Bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir.

2.8.4.11. Hipotermik etkisi:

Hem hayvanlarda hem de insanlarda, dışardan melatonin verilmesi sonrası canlıda hipotermi geliştiği saptanmıştır. Bu etkisi sayesinde, metabolizmanın ve enerji tüketiminin yavaşlatılması mümkün olacaktır (62,72,76,77).

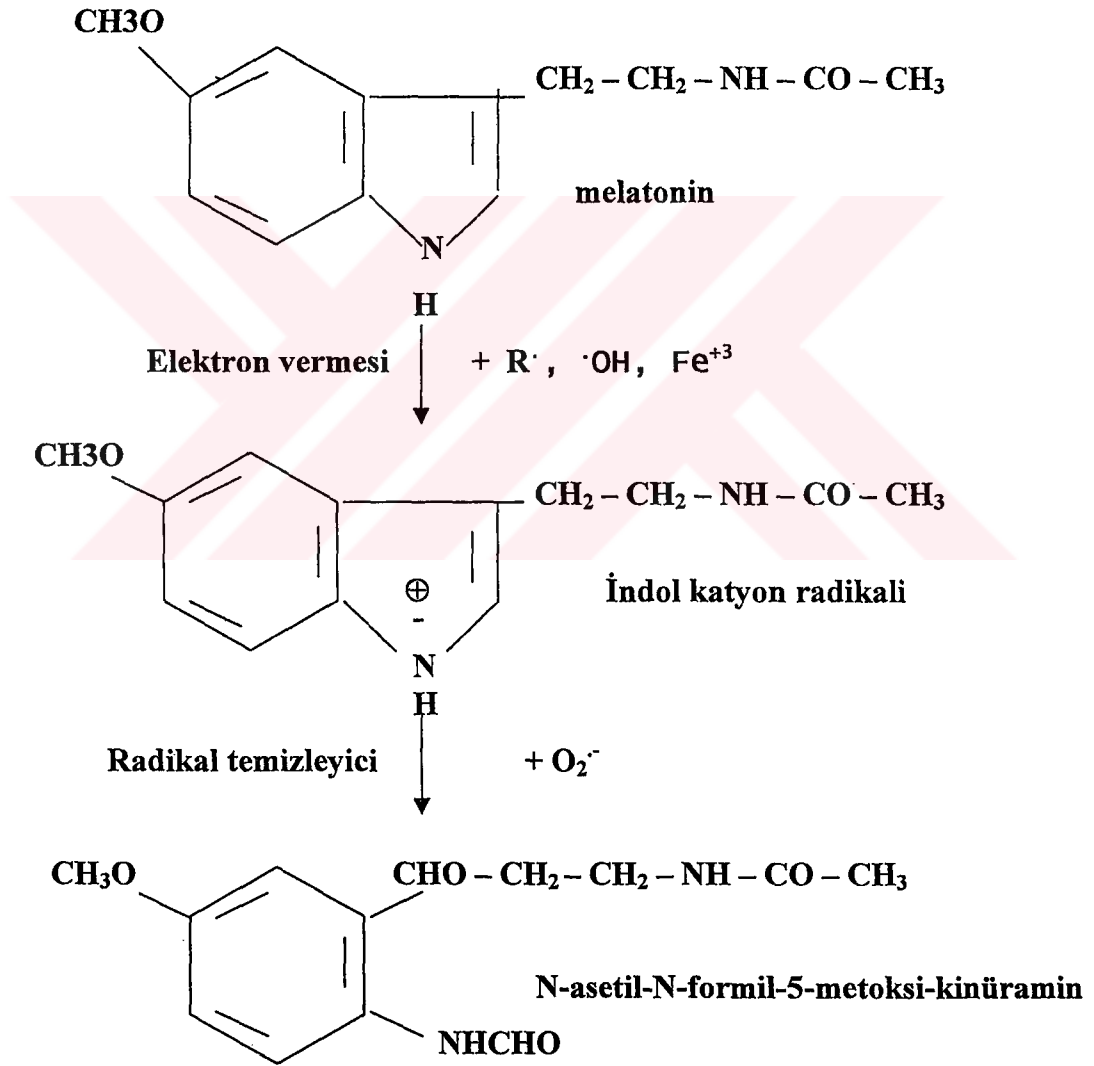
2.8.5. Melatoninin Antioksidan Etkileri.

Melatonin organizma için zararlı olan serbest radikalleri temizler, özellikle de oldukça reaktif hidroksil radikalini ve lipid peroksil radikalini önlediğini gösteren pek çok çalışma vardır (8,17,48,62,74,78,79). Melatonin oldukça toksik olan hidroksil radikali gibi serbest radikallere direkt olarak elektron vererek detoksifiye ettiği biliniyor(17,80,81).

Melatoninin serbest radikal süpürücü etkisi Tan ve arkadaşları tarafından 1993 yılında rapor edilmiştir (79). Tan ve arkadaşları, en toksik oksijen radikali olan hidroksil radikalini nötralize eden melatoninin yeteneğini test etmişlerdir. Hidroksil radikal ürününün yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC) ile elektrokimyasal incelenmesiyle miktarının belirlendiği in vitro sistem kullanılmış ve elektron spin rezonans spektroskopisi ile doğrulanmış (79). Melatoninin sadece hidroksil radikalini temizlemede etkin olduğu ispatlanmamış, aynı zamanda endojen antioksidan olan glutatyon'dan (GSH) beş kat ve eksojen temizleyici mannitol'den yaklaşık on beş kat daha fazla etkinlikte hidroksil radikalini nötralize ettiği ispatlanmış (79,80).

Melatonin ile ilgili bir başka grup araştırmacının yaptığı çalışmada, önemli bir radikal olan lipid peroksil radikali'ni ($LOO^{\bullet}$) nötralize edebildiğini rapor etmişlerdir(80,81,82). Pieri ve arkadaşları in-vitro çalışmalarında, melatoninin $LOO^{\bullet}$ temizleme yeteneğini trolox (suda eriyebilen bir vit. E), vit.C ve GSH temizleme yetenekleri ile karşılaştırmışlardır. Bu dört molekülün $LOO^{\bullet}$ temizle etkinliği melatonin > trolox > vit. C > GSH olarak sıralanmıştır. Melatonin vit. E'den daha iyi lipid peroksil radikalini temizlediği gösterilmiştir (83). De la Lastra ve arkadaşlarının mide de oluşturdukları iskemi reperfüzyo sonrası buldukları artan lipid peroksidasyonunun melatonin uygulanması ile inhibe edildiğini göstermişlerdir (84,85).

Melatoninin hem $\text{OH}^\bullet$ hem de $\text{LOO}^\bullet$ radikallerini temizleyebilmesinin yanı sıra, kendilerinin etkinliğini artırmak için diğer temizleyicilerle etkileşime girdiği bildirilmiştir. Böylece, melatonin ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenz-tiazolin-6-sulfonik asit) katyon radikalının varlığında bir in vitro sistemde diğer antioksidanlar ile (vit. C, trolox, glutatyon) birlikte verildiği zaman, melatonin diğer üç antioksidanın her biri ile sinerjistik etki ederek aşırı etkili şekilde radikali azalttığı gösterilmiştir (80,84,85).



Şekil. 12. Melatoninin elektron vererek bir antioksidan olarak çalışır.

Melatoninin OH'ı ve LOO[•] nonenzimatik süreçle bir elektron vererek radikal özelliğini etkisiz duruma getirir . Melatonin elektronlarından birini vermekle kendisi indol (veya melatonil) katyon radikal olur. İndol katyon radikalı hidroksil radikalinden daha az toksiktir. Bu indol katyon radikalı O₂⁻ nin katalitik temizlenmesi ile N-asetil-N-formil-5-metoksi-kinüramine (5-MAFK) dönüşür. 5-MAFK daha sonra idrarla dışarı atılır (Şekil. 12) (80,81,86,87,88).

Melatoninin antioksidan etkisini organizmada endojen bulunan enzimatik antioksidanların düzeyini artırmak suretiyle de göstermektedir (89). Kotler ve arkadaşları normal şartlarda eksojen uygulanan melatoninin sıçan beyin korteksinde antioksidan (SOD, glutatyon peroksidaz gibi) enzimlerin mRNA düzeylerini artırdığını göstermişlerdir (90).

Makromoleküller de hasar veren bir toksik ajan, oksijenin bir diğer aktif şekli olan singlet oksijendir (5,14). Melatoninin singlet oksijeni temizlediği Cagnoli ve meslektaşları tarafından ilk kez deneysel olarak gösterilmiştir (91).

Melatonin tarafından aktivitesinin etkilenmiş olduğu gösterilen bir diğer enzim 5-lipoksijenazdır (69). Bu enzim allerjik ve inflamatuvar olayları başlatan lökotrienlerin sentezinde anahtar rol oynar (92). Özellikle inflamatuvar reaksiyonların çok sayıda serbest radikalın oluşumu ile birlikte olduğu bilinmektedir. Melatonin 5- lipoksijenaz aktivitesini inhibe ettiği için, melatonin sonuç olarak oluşan serbest radikal hasarını olduğu kadar inflamatuvar reaksiyonları da azaltma eğilimindedir (69).

2.8.6. Melatonin ve Gastrointestinal Sistem.

Bir çok farklı hayvan türlerinin gastrointestinal sistemi intestinal enterokromafin hücrelerinde esas olarak sentezlenen melatonin içerir (36). Bazı araştırmalar melatonin salgılanma paterninin beslenme faktörleri ile etkilendiğini, ancak salıverilmesi sirkadiyen ritmi izlediğini ortaya çıkarmıştır. Melatonin için reseptörler sindirim sisteminde tanımlanmıştır (36).

2.8.6.1. Lokalizasyon ve reseptörleri:

Melatoninin sindirim sistemindeki yerleşimi kromatografi, radyoimmünoloji ve immünohistokimyasal yöntemler ile gösterilmiştir (93,94). Melatonin sentezlenmesinde önemli olan enzimler den hem N-asetiltransferaz hem de hidroksiindol-O-metiltransferaz enzimleri sindirim mukozasında ve serotoninenden zengin enterokromofinlerin yerleşimine uyan

yayılımında bulundu (36,75). İnsanların sindirim sistemlerinde bulunan aminoasit triptofan, insanların ve diğer türlerin dolaşımındaki melatonin miktarını yükseltebilir (36,75). Böylece, diyetle yeterince triptofan aminoasiti alınması melatonin hormonunun yeterli üretimi için önemli olabilir. Bazı türlerde, melatonin doudenal konsantrasyonları pineal konsantrasyonlarından 400 kez daha yüksek bulunmuştur (95).

Melatonin sindirim sisteminde homojen dağılmamıştır. Ratlarda, özefagus (mukoza, submukoza ve muskularis tabakasında), mide duvarının glandüler tabakasında ve doudenumun Brunner bezleri ve Liberkülin kriptalarında bulunmuş (36). Gastrointestinal sistemde melatoninin immün reaktivitesi serotonin konsantrasyonlarına benzeyen karakteristik dağılım göstermektedir (96). İndolün en düşük konsantrasyonları jejunum ve ileumda keşfedildi, oysa en yüksek konsantrasyonları kolon ve rektumda ölçüldü (36). Bununla birlikte, ratlarda en yüksek düzeyleri mide de keşfedildi ve en düşük konsantrasyonları jejunum ve kolonda bulundu (97). Böylece, melatonin hormonunun sindirim sisteminin farklı bölgelerinde türler arasında bölgesel dağılımının farklı olduğu anlaşılmıştır.

Melatoninin sistemik veya oral verilmesi gastrointestinal sistemde, özellikle mide ve kolonda birikmesine neden olur (75). İmmünohistoloji kullanılması ve sonra RIA, melatoninin gastrointestinal sistemin mukozasında çoğunlukla sınırlıdır. Otoradyografi kullanımı, en fazla bağlayan mukoza ve intestinal villiler olarak tanımladı (75). Subsellüler düzeylerde, melatonin en kuvvetli olarak nükleer bölümde bağlanmaktadır, bunu mikrozomlar, mitokondri ve sitozolik bölümler izler (38,75,80,81). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda melatoninin düz kaslar üzerindeki etkileri melatonin-2 (ML2) reseptörleri ile olduğu sanılmakta (53). Daha az melatonin ve az bağlanma alanları submukoza ve muskularis de bulunmuş. Bu bulgular melatonin mukozada enterokromafin hücreler tarafından üretildiğini, fakat gastrointestinal sistemin diğer bölümlerinde parakrin hormon olarak etki edebildiğini gösterebilir (38,75,98). Böylece mukozada üretilen melatonin muskularis üzerindeki etkilerinden sonra lamina propria ve submukozada ki kan damarları yolu ile derin tabakalar içine hareket edebilir (38,75).

Gastrointestinal sistemdeki melatoninin sentezlenme ve salgılanma mekanizması henüz tam olarak açık değildir. Pineal bez de üretilen melatonin ışık/karanlık siklusu ile uyumludur (99), ancak; gastrointestinal sistem dokularında melatonin sentez ve salgılanması yiyecek tüketimi ve yemek ile ilişkilidir. Gece esnasında plazmadaki melatonin

konsantrasyonun birkaç kat artmasından dolayı, gastrointestinal melatoninin sindirim sisteminden bağımsız olarak sentez edildiği veya pineal kökenli olup olmadığı veya gastrointestinal sistemde depolanıp depolanmadığı konusunda soru ortaya çıkıyor (36,75).

Melatonin veya melatonin prekürsörü triptofanın oral veya parenteral verilmesi gastrointestinal sistemde melatoninin birikmesine neden olur (36,75,97). Geceleri daha yüksek seviyelerde melatonin konsantrasyonlarının önemli diurnal varyasyonları bazı sağlıklı hayvanlarda en sıklıkla kuşlarda bulundu (75,93). Yukarıda ki bilginin ışığında gastrointestinal sistemde saptanan melatoninin en azından bir kısmının pineal orjinli olduğu speküle edildi. Bu durum Hunther ve Messer gibi araştırmacıların yaptıkları çalışmalar ile desteklendi. Onlar özellikle geceleyin sindirim sisteminin pineal kökenli melatonin için havuz olarak çalışabileceğini yayınladılar (100,101). Bununla birlikte çok miktarda bulgu gastrointestinal sistemde melatoninin bağımsız sentezine ve periferik dolaşıma salınımına işaret ediyor (75).

Pineal bezin çıkarılması kanda melatoninin gece düzeylerini azaltmasına rağmen gündüz düzeyleri değişmemiş olarak kaldığı gösterilmiş (36,75,102). Çok sayıdaki çalışmalar kandaki melatoninin gündüz konsantrasyonlarının çoğunun muhtemelen gastrointestinal sistem orjinli olduğunu göstermektedir (75,102).

Yeni bir çalışmada melatoninin domuzların ve sığırların gastrointestinal sisteminin lümen içi sıvısında saptanmış (103). Luminal melatoninin orjini henüz açığa çıkarılamadı ve yiyeceklerle gelebileceği speküle edildi. Luminal melatoninin bir kısmının barsaklarda ki yaşayan siliyalı organizmalar tarafından da üretilebileceği söyleniyor (75,103). Ayrıca luminal melatoninin bir diğer olası kaynağı melatoninin önemli konsantrasyonda bulunduğu safra olabileceğidir (75).

2.8.6.2. Gastrointestinal Etkileri:

Sindirim fonksiyonları ile melatoninin birleştirin pek çok çalışma da; diğer hormonların üretimini düzenler (94,102); mukusun salgılanmasını ve üretimini değiştirir (103); intestinal mukozadan iyon transportunu düzenler (36,75,98); gastirik motilite de biraz rol oynar ve besinlerin absorpsiyon sürecini etkiler (36,53,96). Aynı şekilde, melatonin gastirik ülser ve kolon kanseri gibi önemli sindirim hastalıklarının fizyopatolojisi ile de ilişkilidir (36,75,85,104,105).

Birkaç rapor gastrointestinal motilitenin lokal düzenleyicisi olarak melatoninin rolü üzerinde odaklanmıştır. Melatonin, rat da izole edilen mide, doudenum, ileum ve kalın

barsağın diğer kısımlarının spontan aktivitesini inhibe eder (36,106). Pinealektomize ratlarda, intestinal içeriğin boşalmasına neden olan göç edici miyoelektrik kompleksin üçüncü fazının baskılanmasından dolayı gastirik motilitenin bozulduğu gözlenmiştir. Fakat, intestinal geçişe karıştığı sanılan melatoninin verildikten sonra miyoelektriksel kompleks aktive olmaktadır (104). Bu değişiklikler santral sinir sisteminden salgılanan veya eksprese edilen kolesistokininin inhibisyonu aracılığı ile olabilir (104). Diğer hipotezler de melatonin ve serotonin arasında birbirini etkilediği de desteklenmektedir, barsak düz kaslarında serotonin ile uyarılmış kasılmaların şiddeti doza bağlı melatonin ile azalmaktadır (105). İn vivo deneyde, ratlara intraperitoneal melatonin verildiğinde yiyeceklerin geçiş zamanını azaltır, Ancak bundan önce serotonin verildiğinde yiyeceklerin geçiş zamanını artırır (96). Bu iki indol birbirini etkiler, iki hormonun konsantrasyonlarındaki dengesizlik bazı deneysel kolitlerin etiyolojisi ile ilişkili olmuştur (96). Serotonin yüksek konsantrasyonlarda olduğu zaman peristaltizm artar ve şiddetli diare oluşur, bu etkiler melatonin verilmesi ile önlenabilir (104). Bu deneyimler ile melatoninin gastrointestinal sistemde serotonin reseptörlerinin competitive antagonisti olarak etki edebileceği öne sürülmüş. Melatonin iştahın düzenlenmesi, sindirin işlevi ve beslenmenin uyumu ile ilişkili bulunduğu dikkat çekicidir (36,75).

Lopez ve arkadaşları melatoninin intestinal kaslardaki etkisinin ya direkt yada myenterik sinir sistemi yolu ile olabileceğini ileri sürmüşlerdir (107). Bonouali-Pellissier ise barsak motilitesinde santral sinir sisteminin etkisini göstermişler, santral sinir sistemindeki melatoninin ileal motilite üzerindeki kolesistokininin etkilerinin modülasyonuna karıştığını ispat etmişlerdir (104).

Melatoninin intestinal villuslarda lokalizasyonu Legris ve arkadaşlarının buluşu ile desteklenmiş ve melatoninin elektrolitler ve iyonların transmembranal geçişine karıştığı ispatlanmıştır (108). Bunula birlikte, melatonin sağlam farelerin feçesinde su içeriğini artırır ve melatoninin topikal uygulanması insan kolonik hücrelerinde mevcut kısa siklusları uyarır. Melatoninin sindirim sisteminde tanımlanmasından önceki on yılda, Quastel ve Rahamimoff in vitro melatoninin spontan veya serotonine bağlı rat doudenumunun kasılmalarını inhibe ettiğini bildirmişlerdir (75). Son çalışmalarda melatoninin mide, ileum, ve kolon da ki düz kasların da kasılmalarını inhibe ettiği doğrulanmıştır(36,53,75).

Melatonin gastrik mukozanın savunma mekanizmalarından bazılarını etkileyerek gastrointestinal sistemi koruyucu bir ajan olarak da önemlidir (84,109). Melatonin reseptörleri

ile etkileşerek gastrin gibi gastroprotektif hormonların sentezlenmesini uyarır (98). Ayrıca gastrik epiteldeki direkt savunma sistemlerini kullanır (110), submukozal kan akımını artırır (111) ve iskemiye izleyen reperfüzyona bağlı hasara karşı koruma sağlar (80, 84, 109).

Sonuç olarak, melatonin sindirim fizyolojisine katılır ve sindirim sisteminde intestinal geçişi veya besinlerin absorpsiyonu gibi işlemlerle birliktedir. Ayrıca melatonin hormonunun plazmadaki ve sekresyonundaki konsantrasyon değişiklikleri sindirim sistemindeki patolojiler arasında bir ilişki vardır. Doğrusu, son zamanlardaki gelişmeler de farklı gastrodoudenal lezyon modellerinde melatoninin koruyucu rolüne işaret edilmektedir ve melatonin bunu sindirim mukozasının savunma faktörlerini uyararak kapasitesi ile birlikte kendi antioksidan kapasitesi ile sağlamaktadır.

2.8.7. Melatoninin Tedavide Kullanım Alanları:

Melatoninin antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisi nedeniyle Alzheimer, Parkinson hastalığı ve iskemi-reperfüzyon hasarında yararlı olabileceği öne sürülmüştür (48,49,78,85,112). Ayrıca melatoninin insanlarda epilepsi nöbetlerini azalttığı ve bu nedenle epilepsi tedavisinde yararlı olabileceği gösterilmiştir (113).

Melatoninin immüno-hemapoetik rolü olduğu ve bu etkisinden dolayı gram-negatif septik şoktan korunma sağladığı (72), stresle indüklenen immünodepresyonu önlediği ve hemorajik şoktan sonra immün fonksiyonu yeniden düzenlediği saptanmıştır (17,67,68).

Kıtalar arası uçuş (jet lag), vardiya çalışması (shift work) gibi ritim bozukluğu nedenlerine karşı klinikte kullanılmaktadır (63,64). Ayrıca uykusuzlukta da yararlı olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Gastrointestinal bölgede melatoninin gastirik ülserin insidansını azalttığı ve mukozal lezyonlar ve diyare gibi kolit semptomlarını önlediği gösterilmiştir (75,84,109).

Koroner kalp hastalığı olan bireylerde gece melatonin düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir, fakat bu bulguların klinikteki önemi henüz bilinmemektedir (115).

Ayrıca melatoninin kanser tedavisinde diğer ajanlarla kombine halde veya tek başına kullanıldığı ve neoplastik hastalıkların belirlenmesinde diagnostik ve prognostik bir ajan olabileceği gösterilmiştir (75,114).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal:

3.1.1. Kullanılan deney hayvanları.

Çalışmamız için 08.02.2002 tarihli ve 118 sayılı Etik kurul izni alındı ve çalışmalarımız süresince hayvan hakları ile ilgili olarak NIH tarafından belirlenen “Hayvan Haklarının Korunması” hususundaki esaslara özenle uyuldu.

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DÜSAM) alınan 48 adet erişkin, erkek Sprague-Dawley rat (250-400g) kullanıldı. Ratlar ileum içeriğinin temizlenmesine kolaylık sağlaması amacıyla çalışmadan bir gece önce aç bırakıldı ancak su içmeleri kısıtlanmadı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.

Melatonin	(Merck)
Adrenalin	(Drogsan)
Asetilkolin	(Sigma Chemical Co.)
Barium chloride	(Riedel-De Hoen Agseelze)
Ketamin	(Parke-Davis)
Absolut etanol	(Sigma Chemical Co.)
Serum Fizyolojik	(%0.9 NaCl Eczacıbaşı)

Tablo.2. Tyrod solüsyonu içindeki maddeler:

NaCl	8 gr / L
KCl	0.2 gr / L
NaH ₂ PO ₄	0.065 gr / L
CaCl ₂	0.132 gr / L
NaHCO ₃	1 gr / L
MgCl ₂	0.213 gr / L
Glukoz	1.1 gr / L

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddelerin Hazırlanması:

Melatonin günlük olarak, önce absolut etanol de çözdürüldü ve daha sonra serum fizyolojikde çözündürülerek hazırlandı (%10 luk absolut etanolde çözündürülür, absolut etanol:serum fizyolojik = 1:10). Asetilkolinden önce stok solüsyon hazırlandı ve 0 °C'nin altında saklandı ve daha sonra bu stok solüsyondan ara konsantrasyonlar iki günlük ara ile hazırlandı ve +4 °C de saklandı. Adrenalinden de günlük stok solüsyon hazırlandı ve bu stok solüsyondan ara konsantrasyonlar hazırlandı ve ışıktan korunarak +4 °C de saklandı. BaCl₂ ise 10⁻³ M derişimde 5 ml lik stok solüsyon şeklinde hazırlandı ve bu stok solüsyon 3 gün ara ile yenilenecek +4 °C de saklandı.

Tyrod solusyonu da her çalışmaya göre günlük olarak hazırlandı. İçindeki maddeler distile su içinde çözdürüldü.

3.1.4. Kullanılan Araç ve Gereçler

Hassas terazi Sartorius Bp 1215

Cerrahi alet seti

Serum fizyolojik

Sıcak plak MAY RT C9404-A Animal rectal temperature controller şirket
commat

Klemp (boldoc) Aesculap

Distile su elde etmek için Autostill Double D still jencons (scientific) limited

İzole organ banyosu	MAY 10 BS-99 commat
Isıtıcı subanyosu	MAY WBC 3044 sirkülatör commat
Transduser	MAY FDT 10-A Force Displacement transducer
Kayıt sistemi	Biopac Student Lab Pro Manuel Professional Version 3.6.6
Bilgisayar	

3.2. Yöntem:

3.2.1. Cerrahi işlem.

Deney süresince anestezi madde olarak ketamin (ketalar®) 100 mg/kg kullanıldı, gerektiğinde ilave dozlar ile anestezi sürdürüldü. Ketamin anestezisi altındaki ratların vücut ısılarını korumak için sıcak plak üzerine yatırıldılar ve ratların rektumuna bir prob yerleştirilerek 37 C° göre sıcak plağın ısı ayarlandı, böylece ratlar cerrahi işleme hazırlandı. Cerrahi işleme hazır olan ratların karın boşlukları longitudinal abdominal insizyon ile açıldı, barsaklar hayvanın sol tarafına alındı ve üzerine serum fizyolojik sıkıldı. Daha sonra arteria mezenterika superior çevre dokulardan ayrılarak proksimal kısmından bulldock pensi ile klempe edildi. Damarın klemplenmesinden sonra arteriyel pulzasyonun tamamen kesildiği gözlemlendi ve barsaklar tekrar karın içine yerleştirildi ve karın kasları ile karın boşluğu kapatıldı ve sonra 30 dakika iskemi yapıldı, iskeminin sonunda damardaki pens çıkarılarak klemp açıldı arteriyel pulzasyonun gözlenmesinden sonra barsaklar tekrar karına yerleştirildi ve insizyon yerinden karın kasları ile ve spançla kapatıldı. Daha sonra 90 dakika reperfüzyon için beklendi.

3.2.2. İzole Organ Deneyleri.

İskemi-reperfüzyon sonrası doudenumun başlangıç kısmı hemostatik klemp ile tespit edildi ve makas yardımı ile mideden ayrılması sağlandı. Daha sonra klemp süratle çekilerek barsakların mezenterden ayrılması sağlandı. Klemplenilen doudenum kısmından ucunda özel bir aplikatörü bulunan enjektör yardımı ile, doku zedelenmeden, Tyrode solüsyonu ile barsakların içeriği yıkandı. Yaklaşık 40 cm uzunluğunda kesilen barsak parçası içinde Tyrode solüsyonu bulunan bir kaba kondu. Dokunun her iki ucundan 10'ar cm kesilerek atıldı ve kalan kısım Magnus yöntemine (116) göre 1,5-2 cm'lik tüp stripler şeklinde kesildi. İleum stripleri, 5/0 – 6/0 atravmatik krome katgüt sütur materyali kullanılarak izole organ banyosuna asılacak hale getirildi.

Hazırlanan stripler 20 ml Tyrode solüsyonu içeren organ banyosuna asıldı. Striplere 1g gerim uygulandı. Banyo solüsyonu 37 °C ısıda tutuldu ve sürekli olarak havalandırıldı. İlaç uygulamasından önce 15'er dakikada bir yıkama yapılmak koşulu ile dokular 60 dakika dinlendirilerek banyo ortamına uyumları sağlandı. Dokuların ortama uyumundan sonra; ortama 10^{-7} M asetilkolin (Ach) i lave edildi ve kasılma yanıtları alındıktan sonra dokular beşer dakika ara ile üç kez yıkandı. Aynı işlemler 10^{-6} M ve 10^{-5} M Ach için tekrarlandı. Daha sonra BaCl_2 ile maksimum referans kasılma yanıtları alındı. 10^{-7} - 10^{-5} M adrenalin ile gevşeme yanıtları alındı. Yanıtlar izotonik tipte FDT 10-A Force Displacement Transducer kullanılarak BIOPAC Student Lab PRO Manuel professional Version 3.6.6. for PC with Windows programı kullanılarak kaydedildi.

Çalışmamızda her grup ta (n=8) eşit sayıda rat kullanılan altı grup oluşturuldu.

1.Grup:

Kontrol grubudur. Bu grupta ki hayvanlar ketamin anestezisinin den sonra karın boşlukları longitudinal abdominal insizyon ile açıldı ve barsaklara herhangi bir işlem yapılmadan direkt barsak dokusu yukarda anlatıldığı gibi çıkarılarak izole organ banyosuna asıldı. İzole organ banyosuna asılan dokularda yöntem kısmında anlatıldığı gibi asetilkolin ve adrenalin ile kasılma ve gevşeme yanıtları alındı.

2.Grup:

Sham-opere grubudur. Bu grupta ki hayvanlara ketamin anestezisinden sonra karın boşlukları longitudinal abdominal insizyon ile açıldı ve barsaklar dışarıya çıkarıldı. Arteria mezenterika superior serbestleştirildi fakat klemplenmedi daha sonrada barsaklar batın içine konularak 30 dakika beklendi ve daha sonra yöntem kısmında anlatıldığı gibi asetilkolin ve adrenalinin kasılma ve gevşeme yanıtları alındı.

3.Grup:

İskemi grubudur. Bu grupta ki hayvanlara yöntem kısmında anlatılan işlemler uygulandı ve 30 dakika iskemi yapıldı. İskemiden sonra yine yöntem kısmında anlatıldığı gibi hazırlanan barsak dokuları izole organ banyosuna asıldı ve yine yöntem kısmında anlatıldığı gibi asetilkolin ve adrenalin yanıtları alındı.

4.Grup:

İskemi reperfüzyon grubudur. Bu gruptaki hayvanlara yöntem kısmında anlatılan işlemler 30 dakika iskemi ve 90 dakika reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyondan sonra yöntem kısmında anlatıldığı gibi hazırlanan barsak dokuları izole organ banyosuna asıldı ve yine yöntem kısmında anlatıldığı gibi asetilkolin ve adrenalın yanıtları alındı.

5.Grup:

Melatonin + iskemi grubudur. Bu gruptaki hayvanlara önce intraperitoneal 10 mg / kg melatonin uygulandı, 30 dakika bekledikten sonra üçüncü grupta yapılan işlemler burada aynen uygulandı ve yanıtlar alındı.

6.Grup:

Melatonin + İR grubudur. Bu gruptaki hayvanlara önce intraperitoneal 10 mg / kg melatonin uygulandı, 30 dakika bekledikten sonra dördüncü grupta yapılan işlemler aynen uygulandı ve yanıtlar alındı.

3.3. Histopatolojik İnceleme:

Her gruptan denek sayısı kadar barsak dokusu histopatolojik inceleme için ayrıldı. Barsak dokusu bir gün süre ile % 10'luk formaldehit solüsyonunda tesbit edildi, bunu izleyen günde mikroskopik rutin takip işlemlerinden sonra parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 4 µm kalınlığında hazırlanan kesitler Hematoxilen-Eozin (H-E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenip fotoğrafları çekildi.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme:

İlaç uygulaması öncesinde 1 gr'lık gerilim uygulanan ileum preparatlarının asetilkolin ve adrenalın ilaçlarına verdiği yanıtlar, BIOPAC Student Lab PRO MPV 3.6.6 for PC programında pick to pick değerleri hesaplanarak gram cinsinden ifade edildi.

Çalışmamızda elde edilen maksimum yanıtlar (Emaks) BaCl₂ ile oluşturulan kasılma yanıtlarıyla karşılaştırıldı ve yüzde (%) olarak gösterildi.

Çalışmamızda elde edilen verilerin gruplar arasında ki farkının değerlendirilmesinde varyans analizi olarak Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu gruplardan da hangileri arasında fark olduğunu anlamak içinde Mann Whitney U testi uygulandı; p< 0,05 ise gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğuna karar verildi.

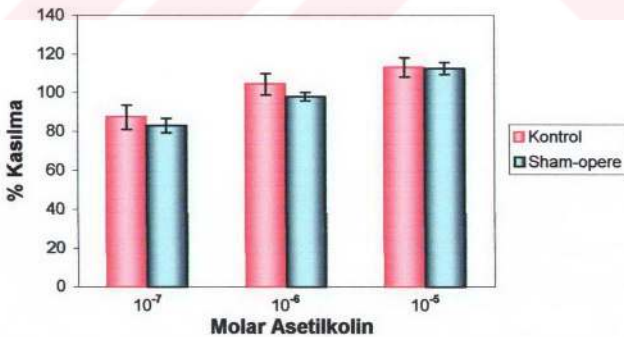
4. BULGULAR

4.1. İzole İleum Yanıtları.

Çalışmamız da bulduğumuz ileum düz kasının kasılma ve gevşeme yanıtlarını gruplar arasında karşılaştırdık. Bu karşılaştırmalara göre : Kontrol grubu dokusu ile sham-opere grubunun dokusu arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo.3, Grafik.1).

Tablo.3. Kontrol ile sham - opere grubunun izole barsak dokusunda Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Kontrol (A)	Sham-opere (B)	(A-B)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	88 ± 5.743	83 ± 3.703	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	105 ± 5.120	98 ± 2.262	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	113 ± 4.818	113 ± 3.086	$p > 0.05$

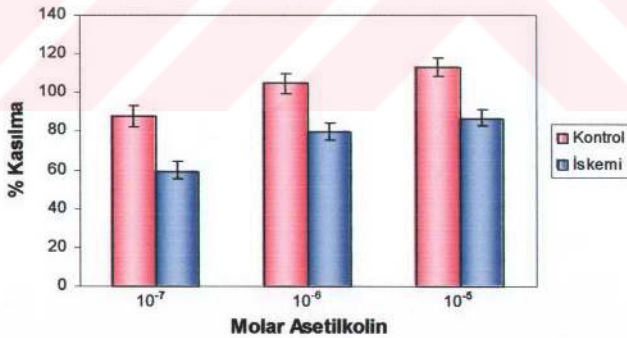


Grafik.1. Kontrol ile sham-opere grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Kontrol dokusu ile iskemi uygulanan doku arasında Ach 'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo. 4, Grafik. 2).

Tablo.4. Kontrol ile iskemi grubunun izole barsak dokusunda Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Kontrol (A)	İskemi (C)	(A-C)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	88 ± 5.743	59 ± 3.313	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	105 ± 5.120	79 ± 3.553	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	113 ± 4.818	86 ± 3.136	$p < 0.01$

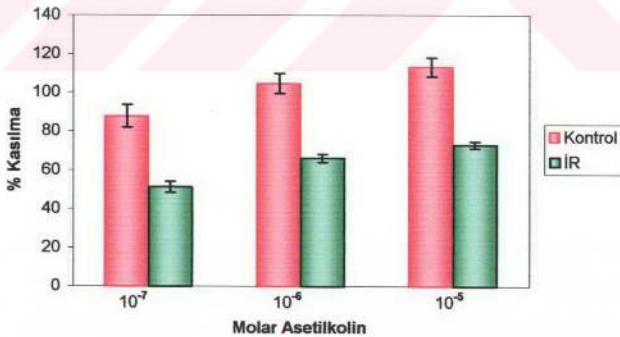


Grafik.2. Kontrol ile iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Kontrol dokusu ile İR uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo. 5, Grafik. 3).

Tablo.5. Kontrol grubu ile İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Kontrol (A)	İR (D)	(A-D)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	88 ± 5.743	51 ± 2.873	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	105 ± 5.120	66 ± 2.101	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	113 ± 4.818	73 ± 1.776	$p < 0.01$

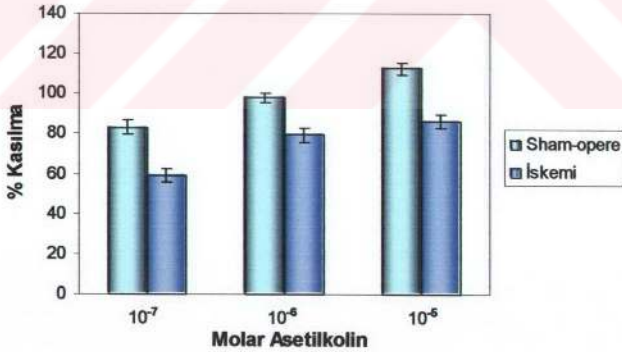


Grafik.3. Kontrol ile İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere dokusu ile iskemi uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo. 6, Grafik. 4).

Tablo.6. Sham-opere ile iskemi gruplarının Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	İskemi (C)	(B-C)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	83 ± 3.703	59 ± 3.313	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	98 ± 2.262	79 ± 3.553	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	113 ± 3.086	86 ± 3.136	$p < 0.01$

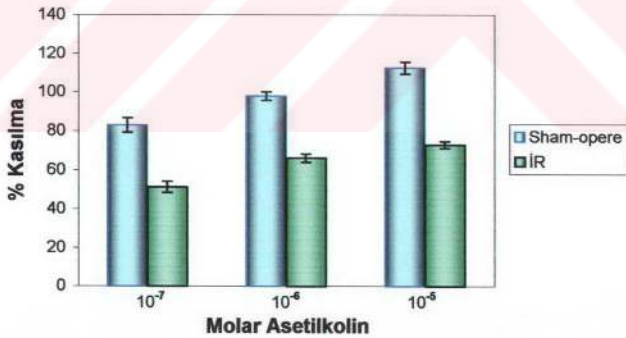


Grafik.4. Sham-opere ile iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere dokusu ile İR uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo. 7, Grafik. 5).

Tablo.7. Sham-opere ile İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	İR (D)	(B-D)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	83 ± 3.703	51 ± 2.873	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	98 ± 2.262	66 ± 2.101	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	113 ± 3.086	73 ± 1.776	$p < 0.01$

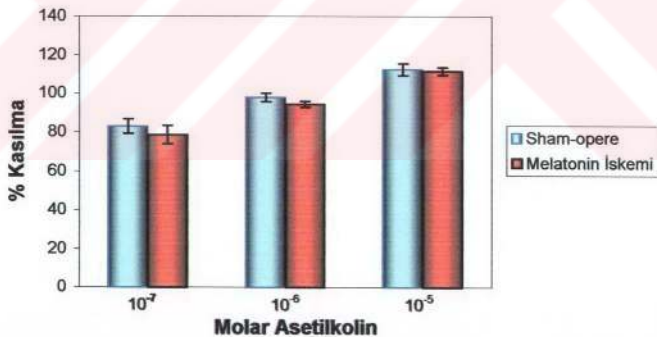


Grafik.5. Sham-opere ile İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere dokusu ile melatonin+iskemi uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunamadı ($p > 0.05$) (Tablo. 8, Grafik. 6).

Tablo.8. Sham-opere ile melatonin+iskemi grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	M + İ (E)	(B-E)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	83 ± 3.703	79 ± 4.639	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	98 ± 2.262	95 ± 1.546	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	113 ± 3.086	112 ± 1.933	$p > 0.05$

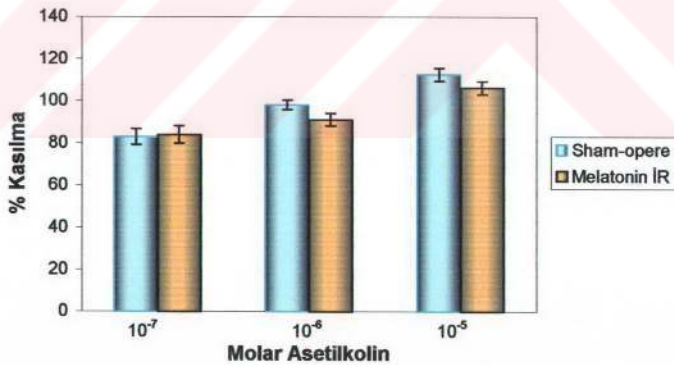


Grafik.6. Sham-opere ile melatonin+iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere dokusu ile melatonin + İR uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunamadı ($p > 0.05$) (Tablo. 9, Grafik. 7).

Tablo.9. Sham-opere ile melatonin+İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	M + İR (F)	(B-F)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	83 ± 3.703	84 ± 4.136	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	98 ± 2.262	91 ± 2.928	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	113 ± 3.086	106 ± 3.020	$p > 0.05$

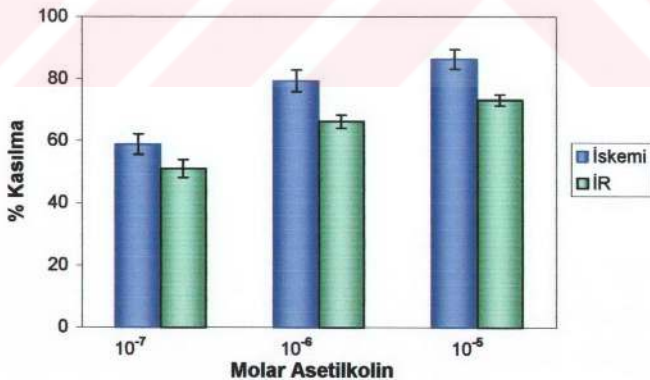


Grafik.7. Sham-opere ile melatonin + İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

İskemi dokusu ile İR uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, 10^{-7} M dozunda anlamlı fark bulunmadı. ($p > 0.05$), 10^{-6} M ve 10^{-5} M dozlarında ise anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Tablo. 10, Grafik. 8).

Tablo.10. İskemi ile İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	İskemi (C)	İR (D)	(C-D)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
10^{-7} M	63 ± 2.400	63 ± 3.880	$p > 0.05$
10^{-6} M	85 ± 2.350	73 ± 3.140	$p < 0.05$
10^{-5} M	92 ± 2.260	81 ± 2.080	$p < 0.05$

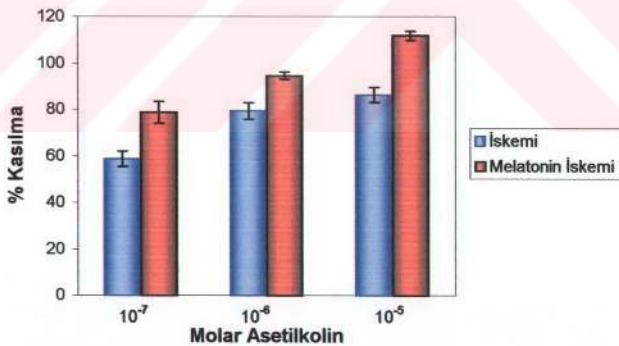


Grafik.8. İskemi ile İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

İskemi ile melatonin+iskemi uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Tablo. 11, Grafik. 9).

Tablo.11. İskemi ile melatonin+iskemi grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	İskemi (C)	M + İskemi (E)	(C-E)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	59 ± 3.313	79 ± 4.639	$p < 0.05$
$10^{-6} M$	79 ± 3.553	95 ± 1.546	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	86 ± 3.136	112 ± 1.933	$p < 0.01$

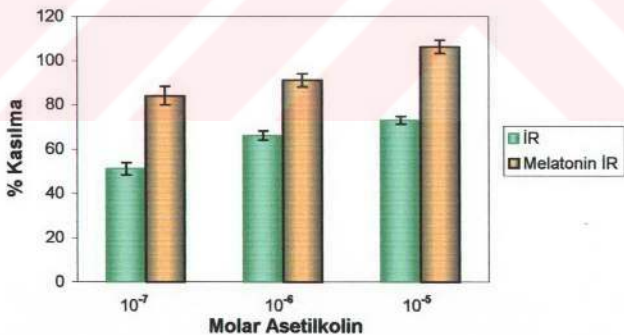


Grafik.9. İskemi ile melatonin+iskemi grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

İR ile melatonin+İR uygulanan doku arasında Ach'nin % kasılma yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Tablo. 12, Grafik. 10).

Tablo.12. İR ile melatonin+İR grubunun Ach yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	İR (D)	M+ İR (F)	(D-F)
	Kasılma (%)	Kasılma (%)	
$10^{-7} M$	51 ± 2.873	84 ± 4.136	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	66 ± 2.101	91 ± 2.928	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	73 ± 1.776	106 ± 3.020	$p < 0.01$

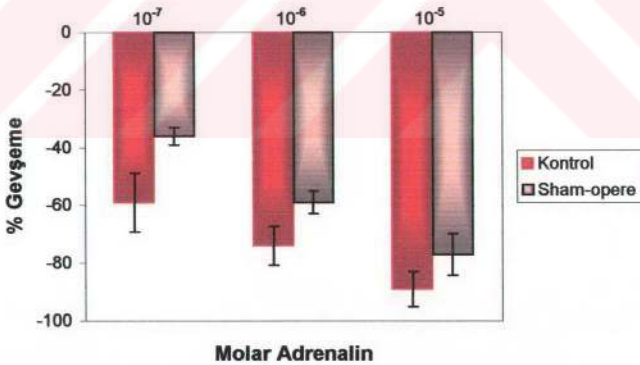


Grafik.10. İR ile melatonin+İR grubunun kasılma yanıtlarının grafiği (n = 8).

Kontrol grubu dokusu ile Sham-opere grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). (Tablo.13, Grafik.11).

Tablo.13. Kontrol grubu ile sham - opere grubu arasında adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Kontrol (A)	Sham-opere (B)	(A-B)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	59 ± 10.227	33 ± 3.036	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	74 ± 6.766	59 ± 3.852	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	89 ± 6.051	77 ± 7.220	$p > 0.05$

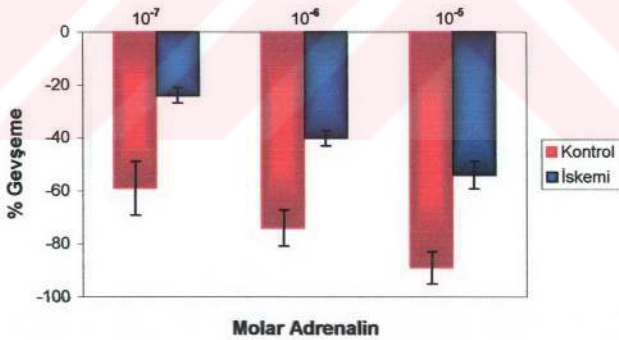


Grafik.11. Kontrol ile Sham-opere grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

Kontrol grubu dokusu ile iskemi grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo. 14, Grafik. 12).

Tablo.14. Kontrol grubu ile iskemi grubu arasında adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Kontrol (A)	İskemi (C)	(A-C)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	59 ± 10.227	24 ± 2.795	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	74 ± 6.760	40 ± 2.831	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	89 ± 6.051	54 ± 5.227	$p < 0.01$

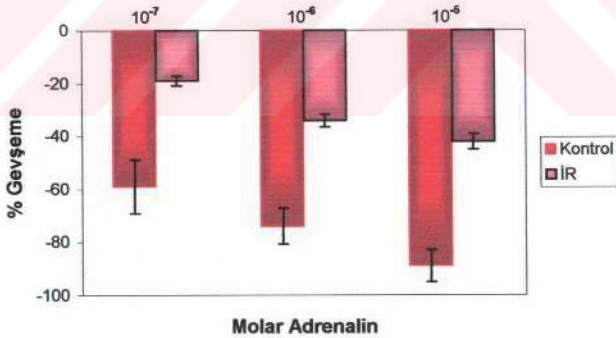


Grafik.12. Kontrol ile iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

Kontrol grubu dokusu ile İR grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo.15, Grafik.13)

Tablo.15. Kontrol grubu ile İR grubu arasında adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Kontrol (A)	İR (D)	(A-D)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	59 ± 10.227	19 ± 1.869	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	74 ± 6.760	34 ± 2.411	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	89 ± 6.051	42 ± 2.996	$p < 0.01$

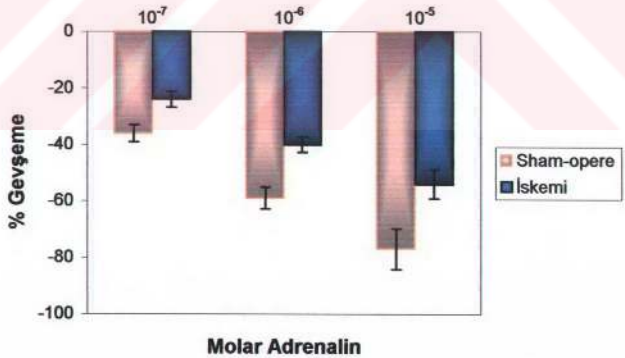


Grafik.13. Kontrol ile İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere grubu dokusu ile iskemi grubunun dokusu arasında adrenalin'nin % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Tablo.16, Grafik.14).

Tablo.16. Sham-opere grubu ile iskemi grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	İskemi (C)	(B-C)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	36 ± 3.036	24 ± 2.795	$p < 0.05$
$10^{-6} M$	59 ± 3.852	40 ± 2.831	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	77 ± 7.220	54 ± 5.227	$p < 0.01$

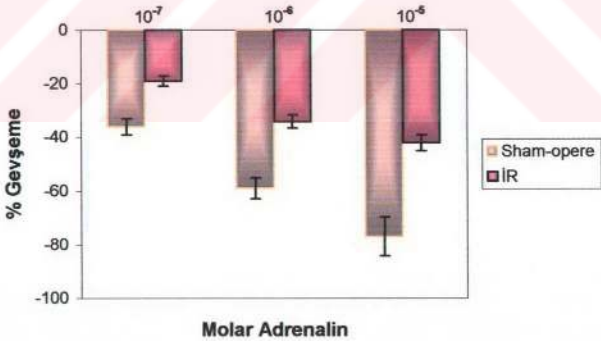


Grafik.14. Sham-opere ile iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere grubu dokusu ile İR grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo.17, Grafik.15).

Tablo.17. Sham – opere grubu ile İR grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	İR (D)	(B-D)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	36 ± 3.036	19 ± 1.869	$p < 0.01$
$10^{-6} M$	59 ± 3.852	34 ± 2.421	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	77 ± 7.220	42 ± 2.996	$p < 0.01$

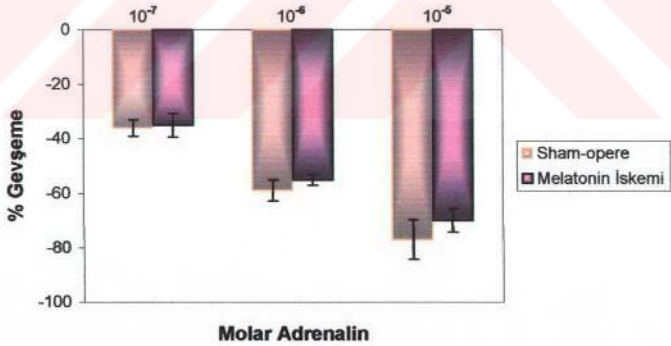


Grafik.15. Sham-opere ile İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere grubu dokusu ile melatonin+iskemi grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo.18, Grafik.16).

Tablo.18. Sham - opere grubu ile melatonin + iskemi grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	M+ İ (E)	(B-E)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	36 ± 3.036	35 ± 4.273	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	59 ± 3.852	55 ± 2.025	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	77 ± 7.220	70 ± 4.256	$p > 0.05$

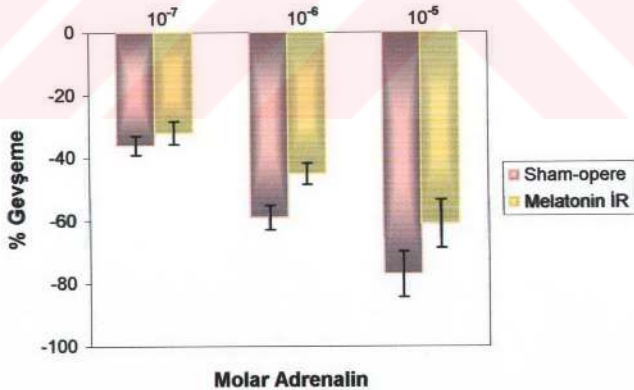


Grafik.16. Sham-opere ile melatonin+iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

Sham-opere grubu dokusu ile melatonin+İR grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo.19, Grafik.17).

Tablo.19. Sham – opere grubu ile melatonin + İR grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	Sham-opere (B)	M+ İR (F)	(B-F)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	36 ± 3.036	32 ± 3.662	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	59 ± 3.852	45 ± 3.417	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	77 ± 7.220	61 ± 7.766	$p > 0.05$

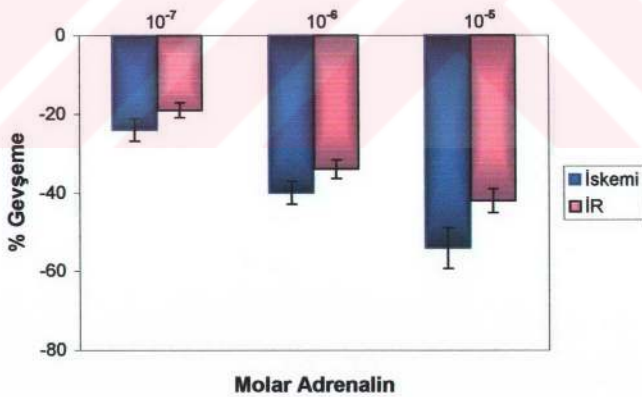


Grafik.17. Sham-opere ile melatonin+İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

İskemi grubu dokusu ile İR grubunun dokusu arasında adrenalin'in % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo.20, Grafik.18).

Tablo.20. İskemi grubu ile İR grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	İskemi (C)	İR (D)	(C-D)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	24 ± 2.795	19 ± 1.869	$p > 0.05$
$10^{-6} M$	40 ± 2.831	34 ± 2.421	$p > 0.05$
$10^{-5} M$	54 ± 5.227	42 ± 2.996	$p > 0.05$

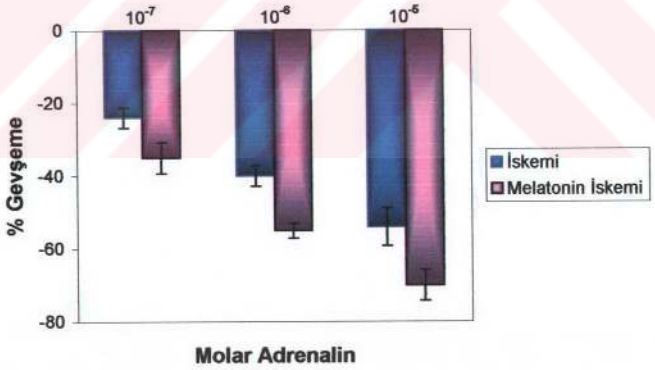


Grafik.18. İskemi ile İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

İskemi grubu dokusu ile melatonin+iskemi grubunun dokusu arasında adrenalin'inin % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Tablo.21, Grafik.19).

Tablo.21. İskemi grubu ile melatonin + iskemi grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

Dozlar	İskemi (C)	M+İ (E)	(C-E)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	24 ± 2.795	35 ± 4.273	$p < 0.05$
$10^{-6} M$	40 ± 2.831	55 ± 2.025	$p < 0.01$
$10^{-5} M$	54 ± 5.227	70 ± 4.256	$p < 0.01$

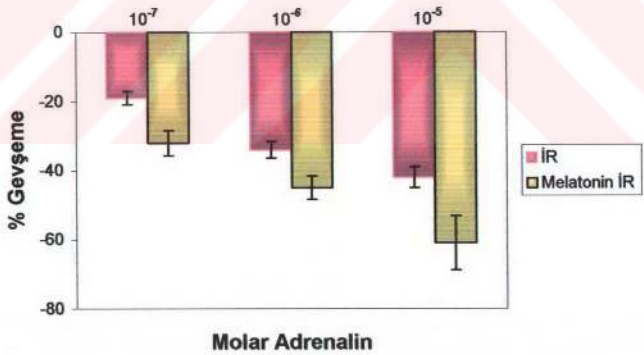


Grafik.19. İskemi ile melatonin+iskemi grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

İR grubu dokusu ile melatonin+İR grubunun dokusu arasında adrenalin'inin % gevşeme yanıtlarının (Emaks) aritmetik ortalaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$), (Tablo.22, Grafik.20).

Tablo.22. İR grubu ile melatonin+İR grubunun adrenalin yanıtlarının karşılaştırılması (aritmetik ortalama $\pm$ standart hata).

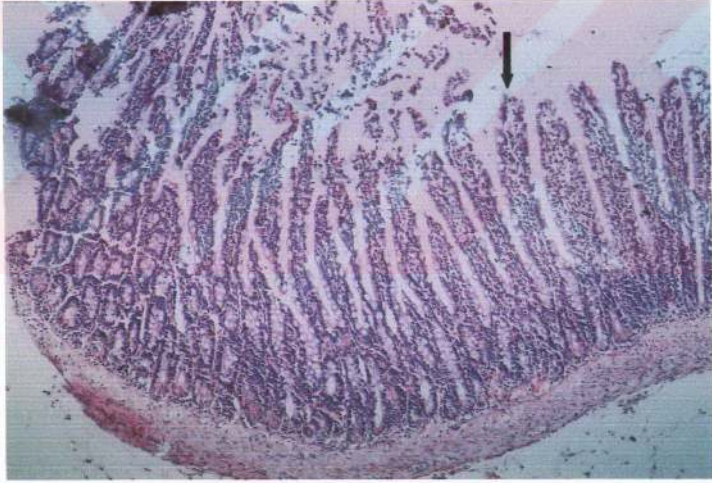
Dozlar	İR (D)	M+İR (F)	(D-F)
	Gevşeme (%)	Gevşeme (%)	
$10^{-7} M$	19 ± 1.869	32 ± 3.662	$p < 0.05$
$10^{-6} M$	34 ± 2.421	45 ± 3.417	$p < 0.05$
$10^{-5} M$	42 ± 2.996	61 ± 7.766	$p < 0.05$



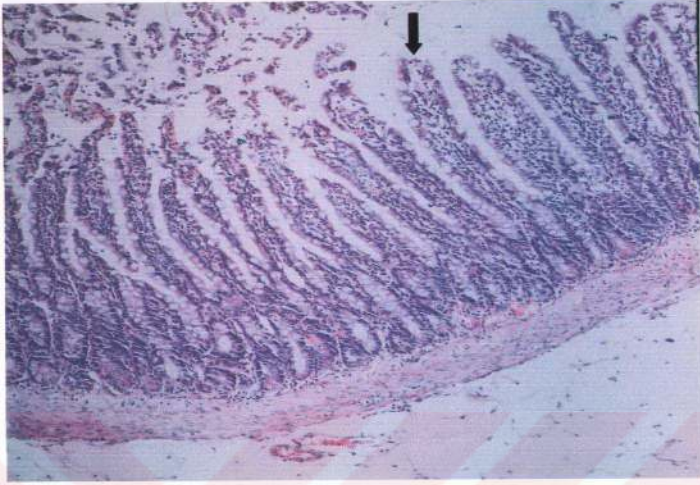
Grafik.20. İR ile melatonin+İR grubunun gevşeme yanıtlarının grafiği (n = 8).

4.2. Histopatoloji.

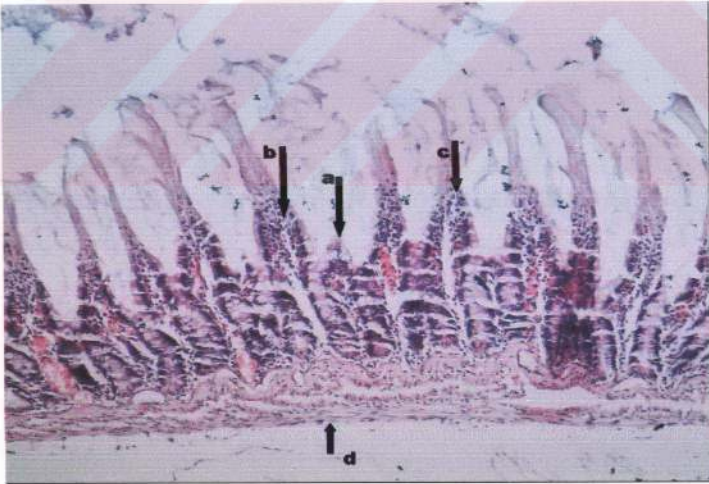
Barsak dokusunun histopatolojik incelenmesinde, kontrol ve saham-opere gruplarında normal villus yapısı görüldü (Resim. 1, 2). İskemi grubunda barsak villuslarında kısalma, lamina propriada ileri derecede iltihabi hücre infiltrasyonu, epitelde dökülme ve seroza tabakası izlenmedi. (Resim.3). İskemi-reperfüzyon grubunda barsak villuslarında kısalma, silinme ve nekroz, iltihabi hücre infiltrasyonu, epitel yapısında bozulma, muskularis ve seroza tabakası izlenmedi (Resim. 4). Melatonin + iskemi grubunda barsak villuslarında uzama, epitel yapısında düzelme izlendi (Resim. 5). Melatonin + İskemi-reperfüzyon grubunda barsak villuslarında uzama, lamina propriada iltihabi hücre infiltrasyonu, epitel yapısında düzelme, muskularis ve seroza tabakası izlendi (Resim. 6).



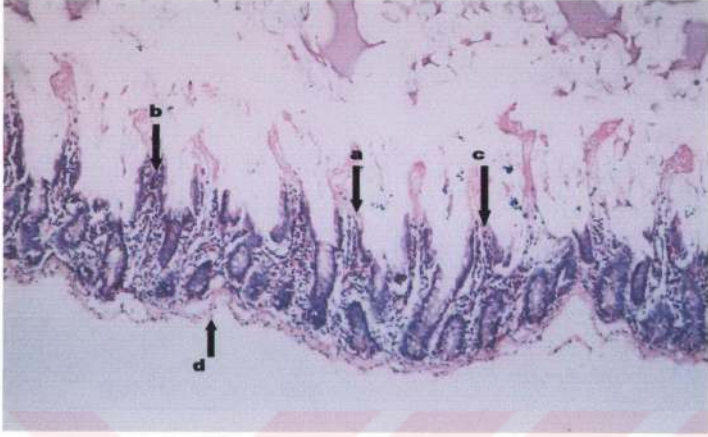
Resim.1. Kontrol grubu (normal villus) (H-E X 100).



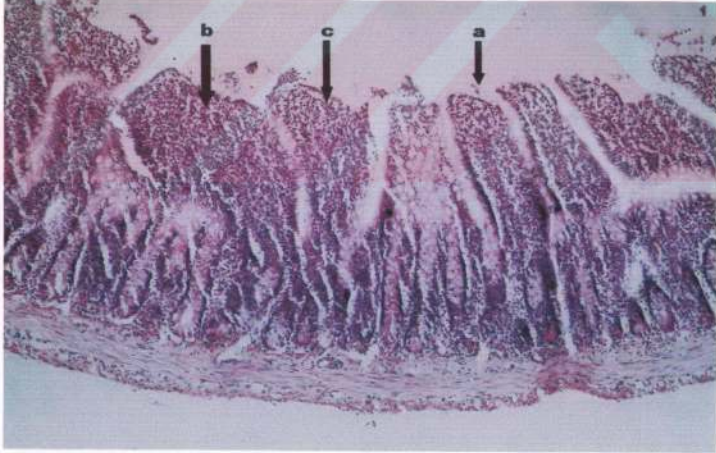
Resim.2. Sham-opere grubu(normal villus) (H-E X 100).



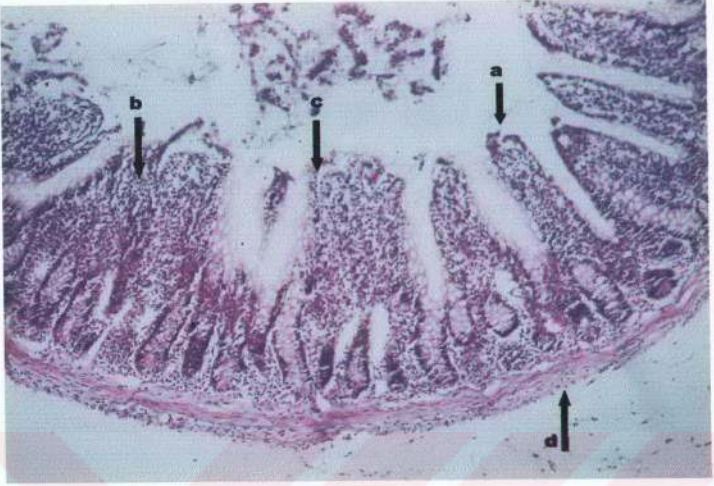
Resim.3. İskemi grubu (a: villuslarda kısalma, b: lamina propriada ileri derecede iltihabi hücre infiltrasyonu, c: epitelde dökülme, d: seroza tabakası izlenmedi) (H-E X 100).



Resim.4. İskemi - reperfüzyon grubu (a: villuslarda kısalma, silinme ve nekroz, b: iltihabi hücre infiltrasyonu, c: epitel yapısında bozulma, d : muskularis ve seroza tabakası izlenmedi) (H-E X 100).



Resim.5. Melatonin + iskemi grubu (a: villuslarda uzama, b: lamina proporda iltihabi hücre infiltrasyonu, c: epitel yapısında düzelme izlendi) (H-E X 100)



Resim.6. Melatonin + İskemi - reperfüzyon grubu (a: villuslarında uzama b: lamina propria hafif iltihabi hücre infiltrasyonu, c: epitel yapısında düzelme d: muskularis ve seroza tabakası izlendi) (H-E X 100).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre kontrol grubu iskemi grubu ile karşılaştırıldığında asetilkolin kasılma yanıtlarında anlamlı azalma gördük. İskemiye oldukça duyarlı intestinal muokozanın yüzeyinde oluşan hasar transmukozal ve transmural hasarı izler (7). Barsak strangülasyonu ve volvulusu gibi mekanik vasküler nedenler ve barsağı besleyen arterlerin emboli veya ateroskleroza bağlı tıkanıklığı veya barsağın venöz dönüşünde obstrüksiyon gibi çok çeşitli nedenlerle intestinal mukoza bariyerinde hasar oluşurken (1,25) intestinal mukoza hasarının en önemli mekanizması İR hasarıdır (1,5,6,8,14) . Çalışmamızda kontrol grubu İR grubu ile karşılaştırıldığında ise asetilkolin kasılma yanıtlarında daha da anlamlı azalma olduğunu gördük. Histopatolojik olarak da kontrol grubuna göre iskemi ve İR gruplarının barsak dokusunda yapısal bozulmalar gözledik Bu yapısal bozulmalar İR grubunda daha fazlaydı. İntestinal iskemi ve İR oluşturulan çalışmalarda histopatolojik değerlendirmelerde iskemi ve İR gruplarında yapısal bozulmalar gözlenmiş ve bunlarda da yine İR grubundaki yapısal bozukluğun iskemi grubundan daha fazla olduğu bulunmuştur (7). Bu çalışmalarda ayrıca biyokimyasal değerlendirmeler için MDA düzeylerine bakılmış ve sonuçta MDA değerinde artış olduğu bildirilmiştir (7, 8, 9,13).

İntestinal iskemide oksijen ve doku kanlanması azalır ve doku hasarı oluşur. İntestinal reperfüzyon sırasında oksijenlenme doku hasarını şiddetlendirir (1,8). İskemik dokudaki reperfüzyon doku hasarına neden olan zincirleme olayları başlatır (8,14,15). İR hasarının oluşumunu açıklayan kesin bir mekanizma yoktur. Ancak hasarın oluşmasına aracılık eden birkaç mekanizmadan bahsedilebilir. Bunlar; nötrofil aktivasyonu ve endotel adezyonu ve bunun sonucunda üretilen toksik metabolitler, sitokinler, fosfalipaz A2'nin aktivasyonu, ksantin oksidaz enzim sistemi, PAF, NO ve serbest oksijen radikalleri en önemli hasar oluşturan mekanizmalardır. İR ile oluşan hasarın büyük bir kısmından serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır (13,14).

Çalışmamızda sham-opere grubunu iskemi grubu ile karşılaştırdığımızda Ach kasılma yanıtlarında anlamlı azalma gördük. Yine sham-opere grubunu İR grubu ile karşılaştırdığımızda Ach kasılma yanıtlarında daha da anlamlı azalma olduğunu gördük. Çalışmamızın histopatolojik incelemesinde de sham-opere grubunu iskemi ve İR grubu ile karşılaştırdığımızda, iskemi ve İR gruplarında, villuslarda küntleşme yada silinme, kapillerlerde dilatasyon, epitelin yapısının bozulması ve iltihabi hücre infiltrasyonunda artış gibi yapısal bozukluklar gördük.

Çalışmamızda kontrol grubu iskemi grubu ile karşılaştırıldığında adrenalın gevşeme yanıtlarında anlamlı azalma gördük. Kontrol grubu İR grubu ile karşılaştırıldığında ise adrenalın gevşeme yanıtlarında daha da anlamlı azalma gördük. Adrenalin ile gevşeme yanıtları sham-opere grubu ile iskemi ve İR grubu arasında karşılaştırdığımızda da gevşeme yanıtlarında anlamlı azalma gördük. Bu sonuçların ışığında iskemi esnasında oksijen ve doku kanlanması azalır ve doku hasarı oluşur. Ancak; iskemiden sonra oluşan yeniden kanlanma (reperfüzyon) ve oksijenlenme doku hasarını şiddetlendirir. İskemik dokudaki reperfüzyon doku hasarına neden olan zincirleme olayları başlatır (5,8,14,15). Bu zincirleme olaylardan, önce hipoksantin-ksantin oksidaz sisteminden oluşan, oksijen radikaller, sonra kalsiyumun girişinden dolayı, fosfalipaz A₂'nin aktivasyonu, enzimatik başlamayı meydana getirir. Bunlar da barsak dokusunda nötrofillerin aktivasyonuna ve birikmesine neden olur (9,13,14,15,16). Yapılan bir çalışmada, pentoksifilin tedavisinin oksijen radikallerinin oluşumundan dolayı görülen doku hasarına karşı anlamlı koruyucu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir, MDA düzeylerindeki artış ve glutatyonun baskılanmasının pentoksifilin tedavisi ile tersine döndüğü ve İR grubunun glutatyon düzeyleri sham opere grubundan daha az anlamlı ve pentoksifilin ile tedavi edilenlerde glutatyon düzeylerinde anlamlı artış olduğu bildirilmiştir (9). Pentoksifilin nötrofiller üzerinde güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir (9). Doku hasarına neden olan reaktif oksijen radikallerini ve lizozomal enzimleri içeren toksik ürünler salıveren nötrofiller, değişik uyaranlar ile aktive olduğu zaman, myeloperoksidaz diğer doku hasarı maddeleriyle salıverilir. (13,14,15,16). Nötrofiller, inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit, kanser ve reperfüzyon hasarı gibi inflamatuvar hastalıklarda oluşan doku hasarında esas etken olarak dikkate alınmaktadır (9). Çalışmalarda nötrofillerin dokularda hasar oluşumunda etkisi olduğunu göstermek için lizozomal enzim düzeyleri ölçülmüştür ve İR uygulanan dokularda myeloperoksidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yükseldiği gösterilmiştir (5,7,9,13,15,22,84,117). Bu çalışmalarda bir antioksidan ilaç ile tedavi edildiği zaman artmış görülen myeloperoksidaz aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (9, 14,117,118).

İntestinal dokuda oluşan hasara iskemisinin süresi ve derecesi de katkıda bulunmaktadır. Kedilerde yapılan intestinal iskemi modelinde, Parks ve Granger 4 saatlik iskemide oluşan doku hasarının, 3 saatlik iskemiye izleyen 1 saatlik reperfüzyon ile oluşan doku hasarından daha az olduğunu göstermişlerdir (11). Klinik ve deneysel çalışmalar iskemiden sonra oluşan reperfüzyonun iskemik hasardan daha ciddi hasar oluşturduğunu göstermektedir (7,8,9,74).

Biz de çalışmamızda 60 dk iskemi 90 dk reperfüzyon oluşturduk. İR oluşturduğumuz gruplarda diğer gruplara göre kasılma ve gevşeme yanıtlarında azalma ve histopatolojik olarak da daha fazla yapısal bozukluklar gördük.

Birçok deneysel ve klinik çalışmalarda kalp, akciğer, karaciğer, beyin, böbrek, barsak gibi organlarda İR ile ciddi doku hasarı olduğu histopatolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmektedir (8,9,13,47,79,118). Hem kısa hem de uzun sürede oluşturulan iskemik hasar intestinal fonksiyonlarda düzensizliklere ve tahribata neden olmaktadır (7,8,9,74,119). İR'ye bağlı oluşturulan hasarın dışardan verilen Vit. E, vit. C, mannitol, pentoksifilin, dimetiltioüre ve allopurinol gibi antioksidanlar ile azaltıldığı gösterilmiştir (7,8,9,26,120,121). Son yıllarda yapılan çalışmalarda antioksidan özelliği nedeniyle melatonin İR hasarına karşı kullanılmaktadır (8,19,48,74,78,79,80). Pierri ve arkadaşları melatoninin vit.E den iki kez daha etkili olduğunu göstermişlerdir (83). Biz de çalışmamızda iskemi ve İR oluşturduğumuz barsakta oluşan toksik maddelerin etkilerini gidermek amacı ile melatonin kullandık.

Melatonin elektron vericisi olarak görev yaptığı için hidroksil radikali gibi yüksek toksik etkisi olan radikalleri hidrojen peroksit gibi daha az toksik radikallere çevirmektedir (80,81,86). Peroksil radikal tutucu özelliği sayesinde lipid peroksidasyonunu sınırlamaktadır. Ayrıca organizmanın mevcut antioksidan enzim sistemlerini de aktive etmektedir (78,85,89). Melatoninin serbest radikal süpürücü etkisi Tan ve arkadaşları tarafından 1993 yılında rapor edilmiştir (80,81). Melatoninin sadece hidroksil radikalini temizlemede etkin olmayıp aynı zamanda endojen antioksidan olan glutatyon'dan (GSH) beş kat ve eksojen temizleyici mannitol'den yaklaşık on beş kat daha fazla etkinlikte hidroksil radikalini nötralize ettiği ispatlanmıştır (80,81).

Melatoninin diğer özelliklerinden biri de gastrik mukozanın savunma mekanizmalarından bazılarını etkileyerek gastrointestinal sistemi koruyucu bir ajan olmasıdır (84,109). Bu etkisini melatonin reseptörleri ile etkileşerek gastrin gibi gastroprotektif hormonların sentezlenmesini uyarak yapmaktadır (98). Ayrıca gastrik epiteldeki direkt savunma sistemlerini kullandığı (110), submukozal kan akımını artırdığı (111) ve iskemiye izleyen reperfüzyona bağlı hasara karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (80,84,109).

De La Lastra ve arkadaşlarının rat gastrik İR modelinde melatoninin koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada 5, 10, 20 mg/kg dozlarında intraperitoneal melatonin çalışmanın başlangıcından 30 dakika önce verilmiş ve 30 dakika iskemiye takiben 60

dakikalık reperfüzyon yapılmıştır. Lipid peroksidasyonuna ve nötrofil infiltrasyon markırı olarak myeloperoksidaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitelere bakılan çalışmalarda İR sonrası oluşan ülserli alanın miktarının, melatoninin giderek artan dozlarda verilmesi ile azaldığı gösterilmiştir. İR hasarına yanıt olarak mukoza içinde önemli miktarda nötrofil infiltrasyonu olduğu ve melatoninin en yüksek (20 mg/kg) dozda verilmesi ile myeloperoksidaz enzim aktivitesindeki artışı hafiflettiği gösterilmiştir. Gastrik hasarı takiben azalan glutatyon peroksidaz aktivitesi 10, 20 mg/kg'lık dozda melatonin verilmesi ile kontrole yakın glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinde önemli artış olduğu bulunmuştur. İskemi sonrası oluşan mukozal hasarın melatonin vererek düzeldiği gösterilmiştir (84).

Bizim çalışmamızda sham-opere grubu ile melatonin+iskemi grubunun asetilkolin kasılma yanıtları karşılaştırıldığında sham-opere grubuna yakın kasılma yanıtları gördük ve iki grup arasında anlamlı bir fark bulamadık. Bu da melatoninin barsakta oluşan iskemi hasarını önlediğini düşündürdü. Yine sham-opere grubu ile melatonin+İR grubunun asetilkolin kasılma yanıtlarını karşılaştırdığımızda melatonin+İR grubundaki kasılma yanıtlarını sham-opere grubundaki kasılma yanıtlarına yakın bulduk ve iki grup arasında anlamlı bir fark görmedik. Histopatolojik olarak melatonin + iskemi grubu sham-opere grubuna benzer şekilde bozulmuş olan villus yapılarının normal villus yapılarına doğru düzeldiği, iltihabi hücre infiltrasyonunun azaldığını, epitel yapısının düzelmeye başladığını gördük. Melatonin + İR grubunda ise villus yapılarında küntleşme ve uzama, iltihabi hücre infiltrasyonunda azalma, epitel ve kas yapılarında düzelme olduğunu gördük. Bizim çalışmamıza benzer bir çalışmada melatonin verilen gruplarda histopatolojik düzelme gözlemlendiği belirtilmiştir (9,78,118)

Çalışmamızın iskemi grubu ile melatonin+iskemi grubunun kasılma yanıtlarını karşılaştırdığımızda kasılma yanıtlarında anlamlı artış gördük. İR grubu ile melatonin+İR grubunun kasılma yanıtlarını karşılaştırdığımızda melatonin verilen İR grubunda kasılma yanıtlarında kontrol grubuna yakın değerlerde artış gördük. Bu sonuçlar melatoninin iskemi ve İR hasarına karşı dokuyu koruduğunu göstermektedir.

Yapılan birçok deneysel çalışmada melatoninin peroksil radikalini ve hidroksil radikalini temizlediği ve yine peroksinitrit radikalini de melatonin tarafından direkt olarak temizlendiği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada İR'a maruz kalan ratların corperal dokuları ile sham opere grubundaki ratların corperal dokuları karşılaştırıldığında kontraktıl ve gevşeme yanıtları düşük bulunmuştur. Çalışmada iskemi ve reperfüzyon süreleri 60 ar dakika olarak

uygulanmış ve izole organ banyosunda kasılma yanıtlarını görmek için fenilefrin, gevşeme yanıtlarını görmek için ise asetilkolin kullanılmıştır. İR grubunda kontraksiyon ve gevşeme yanıtları kontrol grubuna kıyasla önemli derecede azalmış, İR+melatonin grubunda ise bu yanıtların önemli ölçüde düzeldiği gösterilmiştir (118).

Çalışmamızda sham-opere grubunu melatonin+iskemi grubunun gevşeme yanıtları ile karşılaştırdığımızda gevşeme yanıtlarını sham-opere grubuna yakın bulduk. Sham-opere grubunu melatonin+İR grubunun gevşeme yanıtları ile karşılaştırdığımızda gevşeme yanıtları birbirine yakındı. İskemi grubu ile melatonin+iskemi grubunun gevşeme yanıtları karşılaştırıldığında melatonin + iskemi grubunun yanıtlarında artış bulduk. İR grubu ile melatonin+İR grubunun gevşeme yanıtlarını karşılaştırdığımızda da melatonin + İR grubunun gevşeme yanıtlarında artış gördük. İntestinal dokudaki iskemi grubu ile İR grubunun kasılma ve gevşeme yanıtlarını karşılaştırdığımızda İR grubunun kasılma yanıtlarını iskemi grubundan daha düşük bulduk ve gevşeme yanıtlarında anlamlı fark bulamadık. Bizim yapmış olduğumuz çalışma benzer parametreleri kullanan diğer çalışmalarla benzer sonuçları vermektedir (118,119).

Paskaloğlu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, sepsis oluşturulan ratların intestinal ve mesane dokusunu korumak için melatoninin antioksidan etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada sepsis oluşturulmadan 30 dakika önce ve operasyondan 6 saat sonra intraperitoneal melatonin 10 mg/kg dozunda verilerek ileum ve mesane dokusunun karbakola karşı kasılma yanıtları incelenmiş ve dokular biyokimyasal olarak da değerlendirilmiştir. Melatonin verilen gruptaki kasılma yanıtları tedavi edilmeyen sepsis grubuna göre daha yüksek ve kontrol grubu yanıtlarından istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. (119). Bu çalışmaya göre dokulardaki sepsise bağlı oksidatif hasar nötrofil bağımlıdır ve melatonin ile geri dönebilmektedir. Ayrıca melatoninin sepsisten dolayı artan myeloperoksidaz aktivitesini inhibe ettiği ve melatoninin koruyucu etkisinin nötrofil infiltrasyonunun inhibisyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (119). Sepsise maruz kalan ratların mesane ve ileum kas stripleri sham-opere kontrolleri ile karşılaştırıldığında karbakol'e bağlı kasılma yanıtlarının daha düşük olduğu gösterilmiştir. Sham-opere grubunda görülen maksimum kasılma yanıtlarının sepsis oluştuktan sonra anlamlı olarak azalması karbakol ile kasılmaya neden olan muskarinik reseptörlerin uyarılmasındaki sinyal iletim merkezinin bozulmasına katkıda bulunabildiğini düşündürmüştür. Sepsis mesanenin veya ileum dokusunun kalsiyum hemostazisini bozar ve bunun da düz kas liflerinde kontraktıl mekanizmalarda hasar oluşturarak direkt kontraktıl

fonksiyon bozukluğuna neden olduğu ileri sürölmüştür. Bu sonuçla melatonin ile tedavi mesane ve ileum dokusunun kasılma fonksiyonunu düzelttiği gösterilmiştir. Bu sonucun güçlü serbest radikal temizleyicisi ve antioksidan olan melatoninin, oksidatif hasardan dokuları korumak için büyük ölçüde umut verici bir ilaç olabileceği kanaatine varılmıştır (119).

Cuzzocrea ve arkadaşlarının ratlarda süperior mezenterik arter ve trunkus çölyakusun birlikte oklüzyonu (45 dakika) ve reperfüzyon (60-240 dakika) ile oluşturdıkları deney modelinde reperfüzyondan 5 dakika önce İV bolus tarzında 3mg/kg dozunda verilmiş ve reperfüzyon süresince 3mg/kg/saat dozunda infüze edilmiş olan melatoninin etkileri araştırılmış; 1- melatoninin splanknik arter oklüzyonuna bağlı şok'u azalttığı. 2- melatoninin splanknik arter oklüzyon şok'un da morfolojik hasarı ve nötrofil infiltrasyonunu azalttığı. 3- lipid peroksidasyonunu azalttığı. 4- splanknik arter oklüzyonuna ve reperfüzyonuna maruz kalan melatonin tedavisi alan ratlarda, ileum da P-selectin ve ICAM-1'in upregölasyonunu tamamen bozduğu ve 5- melatonin tedavisi alan ratlar'ın yaşam süreleri daha uzun olduğu sonuçlarına varılmıştır (117). Çalışmada reperfüzyon grubunun histolojik değerlendirmesinde; epitel tabakasının altında ve epitel duvarı içine uzanan plazma hücreleri, lenfositler ve nötrofiller gibi inflamatuvar infiltrasyon görölmüştür. Melatonin tedavisi gören ratlarda ise organ hasarında anlamlı azalma olduğu belirtilmiştir (117).

Kazet ve arkadaşlarının rat intestinal İR modelinde melatoninin koruyucu rolünü araştırdıkları çalışmada 10 ve 20mg/kg dozlarında melatonin kullanmış ve 30 dakika iskemiye takiben hayvanlar 3 gün yaşatılmıştır. MDA düzeyleri ölçölerek ve histopatolojik incelemeler yapılarak değerlendirilen çalışmada İR grubu, melatonin kullanılan gruplar 10 mg/kg, 20 mg/kg dozlarında ve kontrol grupları arasında MDA düzeyleri karşılaştırılmıştır. İR grubunun MDA düzeyi diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Melatoninin 10 ve 20 mg dozları kendi aralarında MDA düzeyleri karşılaştırıldığı zaman anlamlı fark olduğu için İR hasarını önlemede melatoninin doza bağımlı bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (8).

Melatonin hangi yolla verilirse verilsin hemen absorbe olur ve ileri derecede 'lipofilik' özelliği sayesinde tüm dokulara kolayca diffuze olabilen bir maddedir (34,35). Oksidatif hasarın önleneceği yerdeki her hücrenin her kısmına girebilir ve mitokondrial fonksiyonu korur (118,122).

Melatonin direkt serbest radikal temizleme ve membran stabilizasyonu etkilerinin yanı sıra süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat

dehidrogenaz ve nitrik oksit sentataz gibi organizmanın total antioksidan savunma kapasitesini artıran enzimlerin aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir (81, 87, 88, 89, 90). Gliad ve arkadaşlarına göre, melatonin oksidatif hasara neden olan oldukça toksik peroksinitrit anyonunu (ONOO^-) temizleyebilmektedir. ONOO^- nitrik oksit ve $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin reaksiyonu ile oluşur. Melatoninin nitrik oksidi temizlediği ve nitrik oksit sentaz enziminin aktivitesini inhibe ettiği ve ONOO^- 'nin üretimini azaltabildiği bildirilmiştir (123). Okatani ve arkadaşları melatoninin fetal rat beyin homejanatında glutatyon peroksidaz kadar SOD'ın aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır(124). Bir başka çalışmada da melatoninin rat serebral korteksinde manganez SOD, çinko-bakır SOD ve glutatyon peroksidaz'ın mRNA'sının düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir(125). Wakatsuki ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, maternal verilen melatoninin fetal rat beyinin de santral sinir sistemin de esas antioksidan olan glutatyon peroksidaz'ın aktivitesini uyardığı bildirilmiştir. Bu veriler, melatoninin SOD veya glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak oksidatif serebral hasara karşı koruyucu olduğunu; bununla birlikte melatoninin direkt antioksidan etkili olduğunu göstermektedir (58).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz çalışmada intestinal iskemi ve iskemi-reperfüzyon (İR) hasarında kasılma ve gevşeme yanıtları istatistiki olarak kontrol ve sham-opere grubuna göre daha düşük bulunması iskemi ve İR hasarını gösterir, melatonin verilen gruplarda kasılma ve gevşeme yanıtlarının kontrol ve sham-opere gruplarına yakın bulunması iskemi ve İR hasarını önlemede melatoninin etkili olduğunu göstermektedir. Histopatolojik incelemede iskemi ve İR gruplarında iltihabi hücre infiltrasyonunda artış, epitel yapısında bozulma, kas dokusunda incelme ve villus yapılarında silinme, küntleşme, ülserasyon ve nekroz görülmesi hasarın ne kadar ciddi olduğunu göstermektedir. Melatonin verilen gruplarda ise iltihabi hücre infiltrasyonunda azalma, epitel ve villus yapılarında normale yakın düzelme koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Melatonin kıtalar arası uçuş (jet lag), vardiya çalışması (shift work) ritim bozukluğu nedenlerine karşı klinikte halen kullanılmaktadır. Ayrıca, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisi nedeniyle Alzheimer, Parkinson hastalığı, epilepsi, gastrik ülser, kanser tedavisinde diğer ajanlarla kombine halde veya tek başına ve iskemi-reperfüzyon hasarında yararlı olabileceği bir çok deneysel çalışmada öne sürülmüştür.

Sonuç olarak yapmış olduğumuz bu deneysel çalışma, gerek fonksiyonel gerekse histopatolojik olarak melatoninin iskemi-reperfüzyon hasarını önleyerek barsak düz kas fonksiyonunu ve morfolojik bütünlüğünü koruduğunu göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Talbot W.: Ischaemia and infarction. Genel Pathology Seventh Edition; Pearson Professional Limited 1996; 709-722.
- 2- Kumar Cotran Robbins, Çeviri Editörü: Uğur Çevikbaş. Temel Patoloji Altıncı Edisyon; Nobel Tıp Kitabevi 2000; 4-16.
- 3- Damjanov İ., Linder J.: Cell injury and cellular adaptations. Anderson's Pathology Tenth Edition; Volum 1; 357-365.
- 4- İşlekel H., İşlekel S., Güner G.: Biochemical mechanism and tissue injury of cerebra ischemia and reperfusion. Part 1 : Biochemical mechanism. Journal of Neurological Sciences (Turkis) 2000; 17; 2.
- 5- Li C., Jackson RM.: Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. Am J Physiol Cell Physiol 2002; 28; 22; Feb; C; 227-241.
- 6- Emerit J., Beamont C., Trivin F.: Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. Biomed Pharmacother 2001; 55; 333-339.
- 7- Günel E., Çağlayan F., Çağlayan O.: Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. Journal of Pediatric Surgery 1998; Vol 33, No: 10 (October); 1536-1539.
- 8- Kazez A., Demirbağ M., Üstündağ B.: The role of melatonin in prevention of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. Journal of Pediatric Surgery 2000; Vol 35, No: 10 (October); 1444-1448.
- 9- Şener G., Akgün Ü., Şatiroğlu H.: The effect of pentoxifylline on intestinal ischemia/reperfusion injury. Blackwell Science Fundamental & Clinical Pharmacology 2001; 15; 19-22.
- 10- Bulkley GB.: Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of reticuloendothelial function. The Lancet 1994; October; Vol 344; 934-936.
- 11- Parks DA., Granger DN.: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am. J. Physiol. 250 (Gastrointest. Liver Physiol. 13) 1986; G749-G753.
- 12- Terada LS., Dormish JJ., Shanley PF.: Circulating xanthine oxidase mediates lung neutrophil sequestration after intestinal ischemia-reperfusion. The American Physiological Society 1992; L394-L401.

- 13- Otamiri T.: Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophil infiltration after small-intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989; May; 593-597.
- 14- Reilly PM., Schiller HJ., Bulkley GB.: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *The Am. J. Of Surgery* 1991; Vol 161; April; 488-503.
- 15- Granger DN.: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *American Physiological Society* 1988; H1269-1275.
- 16- Grisham MB., Hernandez LA., Granger GB.: Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am. J. Physiol . 251 Gastrointest. Liver Physiol.*; 14 1986; G567-G574.
- 17- Zimmerman BJ., Granger DN.: Role of hydrogen peroxide, iron and hydroxyl radicals in ischemia/reperfusion-induced neutrophil infiltration. *Physiologist* 31; A229; 1988.
- 18- Cuzzocrea S., Reiter RJ.: Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia / reperfusion injury. *European Journal Of Pharmacology* 2001; 426: 1-10.
- 19- Athar M., Abdulla M., Sultana.: Free radicals and trace elements. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 1993; 6: 65-73.
- 20- Akkuş İ.: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları; 1995: 1-74.
- 21- Barber DA, Harris SR.: Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm.* 1994; Sep; NS; 34; 9; 26-35.
- 22- Miller RA., Britigan BE.: Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; Jan; Vol: 10; No: 1; 1-18.
- 23- Clarkson PM., Thompson HS.: Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.* 2000; Aug; 72; 2 Suppl; 637-646.
- 24- Frei B.: Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. *FASEB Journal* 1999; June; Vol: 13; 963-964.
- 25- Brand JL., Boley JS.: Ischemic and vascular lesions of the bowel. *Gastrointestinal Diseases* 1993; Vol: 2; Chapter: 97; 1927-1931.
- 26- Vejchapipat P., Williams SR., Spitz L.: Intestinal metabolism after ischemia-reperfusion. *J. Pediat. Surg.* 2000; May; 35; 5; 759-764.

- 27- Guyton AC., Hall JE., Çeviri Editörü: Hayrünnisa Çavuşoğlu. Tıbbi Fizyoloji Onuncu Edisyon; Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2001; 718-734.
- 28- Ganong FW., Çeviri: Türk Fizyoloji Bilimler Derneği. Tıbbi Fizyoloji. Yirminci Baskı; Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2002; Ankara; Bölüm: 26; 464-467.
- 29- Arıncı K., Elhan A.: Gastrointestinal sistem anatomisi. Anatomi cilt :2 yeniden gözden geçirilmiş 2.baskı güneş kitabevi; Ankara 1997; 73-74.
- 30- Kayaalp SO.: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Tıbbi Farmakoloji Sekizinci Baskı; Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 1998; Ankara; Konu; 70;1102-1135.
- 31- Goodman Gilman A., Limbird LE.: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Tenth edition. McGraw-Hill Medical Publishing Division: 2001; Capter: 6; 128-129
- 32- Murray RK., Mayes PA., Çeviri Editörü: Menteş G., Ersöz B.: Harper'ın Biyokimyası. Barış Kitabevi 1993; İstanbul; Bölüm:52;683-685.
- 33- Devlin. TM.: Textbooks of biochemistry with clinical correlations. Fifth Edition; 2002; 810-811.
- 34- Brzezinski A.: Melatonin in humans. The New England Journal Of Medicine 1997; January 16; Vol: 336; No: 3; 186-195.
- 35- Vanecek J.: Cellular mechanisms of melatonin action. Physiological Reviews 1998; July; Vol: 78; No: 3; 687-721.
- 36- Motilva V., Cabeza J., De La Lastra A.: New issues about melatonin and its effects on the digestive system. Current Pharmaceutical Design 2001; 7: 909-931.
- 37- Fourtillan JB., Brisson AM., Fourtillan M.: Melatonin secretion occurs at a constant rate in both young and older men and women.
- 38- Tan DX., Manchester LC., Hardeland R.: Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid and an antioxidant vitamin. J. Pineal Res. 2003; 34: 75-78.
- 39- Brown EN., Choe Y., Shanahan TL.: A mathematical model of diurnal variations in human plasma melatonin levels. Am. J. Physiol 1997; 272; E506-E516.
- 40- Harthe C., Claustrat B., Brun J.: Direct radioimmunoassay of 6-sulfatoxymelatonin in plasma with use of an iodinated tracer. Clin. Chem. 1991; 37/4; 536-539.
- 41- Naji L., Carrillo-Vico A., Guerrero JM.: Expression of membrane and nuclear melatonin receptors in Mouse peripheral organs. Life Sciences 2004; 74; 2224-2236.

- 42- Vanecek J., Vollrath L.: Melatonin inhibits cyclic AMP and cyclic GMP accumulation in the rat pituitary. *Brain Res.* 1989; 505; 157-159.
- 43- Vacas MI., Keller Sarmiento MI., Cardinal DP.: Melatonin increases cGMP and decreases cAMP levels in rat medial basal hypothalamus in vitro. *Brain Res.* 1981; 225; 207-211.
- 44- Lopez Gonzalez MA., Calvo JR., Osuna C.: Interaction of melatonin with human lymphocytes: evidence for binding sites coupled to potentiation of cyclic AMP stimulated by vasoactive intestinal peptide and activation of cyclic GMP. *J. Pineal Res.* 1992; 12; 97-104.
- 45- Sirotkin AV., Schaffer HJ.: Direct regulation mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *Journal of Endocrinology* 1997; 154; 1-5.
- 46- Cagnacci A., Arangino S., Angiolucci M.: Influences of melatonin administration on the circulation of women. *Am. J. Physiol* 1998; 274; R335-R338.
- 47- Mahle CD., Goggins GD., Agarwal P.: Melatonin modulates vascular smooth muscle tone. *J. Biol. Rhythms* 1997; 2; 6; 690-696.
- 48- Kaneko S., Okumara K., Numaguchi Y.: Melatonin scavenges hydroxyl radical and protects isolated rat hearts from ischemic reperfusion injury. *Life Sciences* 2000; 67; 101-112.
- 49- Sahna E., Acet A., Özer MK.: Myocardial ischemia-reperfusion in rats: reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J. Pineal Res.* 2002; 33; 234-238.
- 50- Viswanathan M., Laitinen J., Seavedra JM.: Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990; USA; 87; 6200-6203.
- 51- Lew MJ., Flanders S.: Mechanisms of melatonin-induced vasoconstriction in rat tail artery: a paradigm of weak vasoconstriction. *Br. J. Pharmacol.* 1999; 126; 1408-1418.
- 52- Kimberly K., Monroe and Stephanie W.: The vascular reactivity of melatonin. *Gen. Pharmac.* 1998; Vol; 30; No; 1; 31-35.
- 53- Weekley LB.: Melatonin-induced relaxation of rat aorta: interaction with adrenergic agonists. *J Pineal Res.* 1991; Aug; 11; 1: 28-34.

- 54- Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Bandyopadhyay D. Neurally-mediated and neurally-independent beneficial actions of melatonin in the gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol.* 2003 Dec;54 Suppl 4:113-25.
- 55- Reyes Vazquez C., Naranjo Rodriguez EB., Garcia Segoviano JA.: Apamin blocks the direct relaxant effect of melatonin on rat ileal smooth muscle. *J. Pineal Res.* 1997; 22; 1; 1-8.
- 56- Lucchelli A., Santagostino-Barbone MG., Tonini M.: Investigation into the contractile response of melatonin in the guinea-pig isolated proximal colon: the role of 5-HT₄ and melatonin receptors. *Br. J. Pharmacol.* 1997; 121; 1775-1781.
- 57- Dronik J., Dabrowski R.: Melatonin suppresses the pinealectomy-induced elevation of collagen content in a wound. *Cytobios* 1996; 85; 51-58.
- 58- Wakatsuki AW., Okatani Y., Shinohara K.: Melatonin protects against ischemia/reperfusion-induced oxidative damage to mitochondria in fetal rat brain. *J. Pineal Res.* 2001; 31; 167-172.
- 59- Lin AMY., Ho LT.: Melatonin suppresses iron-induced neurodegeneration in rat brain. *Free Radic Biol Med.* 2000; 28; 904.
- 60- Munoz-Hoyos A., Sanchez-Forte M., Molina-Carballo A.: Melatonin's role as an anticonvulsant and neuronal protector: experimental and clinical evidence. *J. Child Neurol.* 1998; 13; 501.
- 61- EL-Sokkary GH., Kamel ES., Reiter RJ.: Prophylactic effect of melatonin in reducing lead-induced neurotoxicity in the rat. *Cellular & Molecular Biology Letters* 2003; Vol: 8; 461-470.
- 62- Stolc S.: Indole derivatives as neuroprotectants. *Life Sciences* 1999; Vol: 65; 18/19; 1943-1950.
- 63- Krauchi K., Cajochen C., Wirz-Justice A.: A relationship between heat loss and sleepiness effects of postural change and melatonin administration. *Am. Physiological Society* 1997; Jul; 83; 1; 134-139.
- 64- Arendt J., Skene DJ., Middleton B.: Efficacy of melatonin treatment in jet lag, shift work and blindness. *J. Biol. Res.* 1997; 12; 604-617.
- 65- Roth JA., Kim BG., Lin WL.: Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J. Biol. Chem.* 1999; 274; 22041-.

- 66- Sandyk R., anastasidis PG., Amnios PA.: Is postmenopausal osteoprosis related to pineal gland functions? In. J. Neurosci 1992; 62; 215-.
- 67- Garcia Maurino S., Pozo D., Carrillo Vico A.: Melatonin activates Th-1 lymphocytes by increasing IL-12 production. Life Sci. 1999; Vol: 65; No: 20; 2143-2150.
- 68- Del Gobbo V., Libri V., Villani N.: Pinealectomy inhibits interleukin-2 production and natural killer activity in mice. Int J. Immunopharmacol 1989; 11; 5; 567-573.
- 69- Steinhilber D., Brungs M., Werz O.: The nuclear receptor for melatonin represses 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes. J. Biol. Chem. 1995; 270; 13; 7037-7040.
- 70- Maestroni GJ., Conti A., Pierpaoli W.: Hematopoietic rescue via T-cell-dependent, endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induced by the pineal neurohormone melatonin in tumor-bearing mice. Cancer Res. 1994; 54; 9; 2429-2432.
- 71- Reiter RJ., Calvo JR., Karbownik M.: Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. Ann N Y Acad Sci. 2000; 917; 376-386.
- 72- Bostanoğlu A., Bostanoğlu S., Erverdi N.: Deneysel sepsis modelinde melatoninin serbest oksijen radikallerine etkisi. Turk J. Gastroenterol 1999; 10; 4; 427-431.
- 73- Reiter RJ., Tan DX., Poeggeler B.: Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related diseases. Ann NY Acad Sci. 1994; 719; 1-12.
- 74- Karbownik M., Reiter RJ.: Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation (44547). P.S.E.B.M. 2000; Vol: 225; 9-22.
- 75- Bubenik GA.: Gastrointestinal melatonin: Localization, function and clinical relevance. Digestive Diseases and Sciences 2002; October; Vol: 47; No: 10; 2336-2348.
- 76- Van Den Heuvel CJ., Kennaway DJ., Dawson D.: Effects of daytime melatonin infusion in young adults. The American Physiological Society 1998; E19-E26.
- 77- Krauchi K., Cajochen C., Mori D.: Early evening melatonin and S-20098 advance circadian phase and nocturnal regulation of core body temperature. Am. J. Physiol 1997; 272; R1178-88
- 78- Ustundağ B., Kazez A., Demirbağ M.: Protective effect of melatonin on antioxidative system in experimental ischemia-reperfusion of rat small intestine. Cellular Physiology and Biochemistry 2000; 10; 229-236.

- 79- Tan DX., Reiter RJ., Manchester LC.: Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem.* 2002; Feb;2; 2: 181-197.
- 80- Reiter RJ., Tang L., Garcia JJ.: Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci.* 1997; Vol: 60; No: 25; 2255-2271.
- 81- Reiter RJ.: Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *European Journal of Endocrinology* 1996; 134; 412-420.
- 82- Longoni B., Salgo MG., Pryor WA.: Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci.* 1998; Vol: 62; No: 10; 853-859.
- 83- Pieri C., Mahra M., Moroni R.: Melatonin: a peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci.* 1994; 55; 15; PL271-PL276.
- 84- De La Lastra CA., Cabeza J., Motilva V.: Melatonin protects against gastric ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pineal Res.* 1997; 23; 47-52.
- 85- Atunes F., Barclay LRC., Ingold KU.: On the antioxidant activity of melatonin. *Free Radical Biology & Medicine* 1999; Vol: 26; No: ½; 117-128.
- 86- Poeggeler B., Reiter RJ., Hardeland H.: Melatonin, a mediator of electron transfer and repair reactions, acts synergistically with the chain breaking antioxidants ascorbate, trolox and glutathione. *Neuroendocrinol Lett.* 1995; 17; 87-92.
- 87- Reiter RJ., Tan DX., Mayo JC.: Melatonin as an antioxidant: Biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochemica Polonica* 2003; Vol: 50; No: 4; 1129-1146.
- 88- Reiter RJ., Tan DX., Osuna C.: Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J. Biomed Sci.* 2000; 7; 444-458.
- 89- Rodriguez C., Mayo JC., Sainz RM.: Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res.* 2004; 36; 1-9.
- 90- Kotler M., Rodriguez C., Antolin I.: Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J. Pineal Res.* 1998; 24; 83-89.
- 91- Cagnoli CM., Atabay C., Kharlamova E.: Melatonin protects neurons from singlet oxygen-induced apoptosis. *J. Pineal Res.* 1995; 18; 222-226.
- 92- Samuelsson B., Dahlen SE., Lundgren JA.: Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis and biological effects. *Science* 1987; 237; 1171-1176.

- 93- Vakkuri O., Rintamaki H., Leppaluoto J.: Presence of immunoreactive melatonin in different tissues of the pigeon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1985; 58; 69-75.
- 94- Vakkuri O., Rintamaki H., Leppaluoto J.: Plasma and tissue concentrations of melatonin after midnight light exposure and pinealectomy in the pigeon. *J. Endocrinol.* 1985; 105; 263-268.
- 95- Huether G., Poeggeler B., Reimer A.: Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats: evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract. *Life Sci.* 1992; 51; 945-953.
- 96- Bubenik GA., Dhanvantari S.: Influence of serotonin and melatonin on some parameters of gastrointestinal activity. *J. Pineal Res.* 1989; 7; 4; 333-344.
- 97- Bubenik GA., Ball RO., Pang SF.: The effect of food deprivation on brain and gastrointestinal tissue levels of tryptophan, serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid, and melatonin. *J. Pineal Res.* 1992; Jan.; 12; 1; 7-16.
- 98- Sjöblom M., Jedstedt G., Flemström G.: Peripheral melatonin mediates neural stimulation of duodenal mucosal bicarbonate secretion. *The Journal of Clinical Investigation* 2001; August; Vol: 108; No: 4; 625-633.
- 99- Reiter RJ.: The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia.* 1993; Aug; 15; 49; 8; 654-64.
- 100- Huether G., Messner M., Rodenback A.: Effects of continuous infusion on steady state plasma melatonin levels under near physiological conditions. *J. Pineal Res.* 1998; 24; 146-151.
- 101- Messner M., Hardeland R., Rodenback A.: Tissue retention and subcellular distribution of continuously infused melatonin in rats under near physiological conditions. *J. Pineal Res.* 1998; 25; 251-259.
- 102- Bubenik GA., Brown GM.: Pinealectomy reduces melatonin levels in the serum but not in the gastrointestinal tract of the rat. *Biol. Signals.* 1997; 6; 40-44.
- 103- Bubenik GA., Hacker RR., Brown GM.: Melatonin concentrations in the luminal fluid, mucosa and muscularis of the bovine and porcine gastrointestinal tract. *J. Pineal Res.* 1999; 29; 56-63.
- 104- Bonouali-Pellissier S.: Melatonin is involved in cholecystokinin-induced changes of ileal motility in rats. *J Pineal Res.* 1994 Sep; 17(2):79-85.

- 105-Bubenik GA., Ayles HL., Friendship RM.: Relationship between melatonin levels in plasma and gastrointestinal tissues and the incidence and severity of gastric ulcers in pigs. *J Pineal Res.* 1998; Jan; 24; 1; 62-66.
- 106- Bubenik GA.: The effect of serotonin, N-acetylserotonin, and melatonin on spontaneous contractions of isolated rat intestine. *J Pineal Res.* 1986; 3; 1; 41-54.
- 107-Barajas-Lopez C., Peres AL., Espinosa-Luna R.: Melatonin modulates cholinergic transmission by blocking nicotinic channels in the guinea-pig submucous plexus. *Eur. J. Pharmacol.* 1996; Oct; 3; 312; 3; 319-325.
- 108-Legrís GJ., Will PC., Hopfer U.: Inhibition of amiloride-sensitive sodium conductance by indoleamines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982; Mar; 79; 6; 2046-2050.
- 109-Kato K., Asai S., Murai I.: Melatonin's gastroprotective and antistress roles involve both central and peripheral effects. *J. Gastroenterol* 2001; 36; 91-95.
- 110-Tan DX., Manchester LC., Reiter RJ.: High physiological levels of melatonin in the bile of mammals. *Life Sci.* 1999; Oct; 29; 65; 23; 2523-2529.
- 111-Konturek PC., Konturek SJ., Majka J.: Melatonin affords protection against gastric lesions induced by ischemia-reperfusion possibly due to its antioxidant and mucosal microcirculatory effects. *Eur. J. Pharmacol.* 1997; Mar; 12; 322; 1; 73-77.
- 112-Reiter RJ., Cabrera J., Sainz RM.: Melatonin as a pharmacological agent against neuronal loss in experimental models of Huntington's disease, Alzheimer's disease and parkinsonism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999; 890 ; 471-485.
- 113-Molina-Carballo A., Muñoz-Hoyos A., Reiter RJ.: Utility of high doses of melatonin as adjunctive anticonvulsant therapy in a child with severe myoclonic epilepsy: two years' experience. *J. Pineal Res.* 1997; Sep; 23; 2; 97-105.
- 114-Bubenik GA., Blask DE., Brown GM.: Prospects of the clinical utilization of melatonin. *Biol. Signals Recept.* 1998; Jul-Aug; 7; 4; 195-219.
- 115-Penev PD, Zee PC. Melatonin: a clinical perspective. *Ann. Neurol.* 1997; Oct; 42; 4; 545-553.
- 116-Osinsky MA., Bass P.: Chronic denervation of rat jejunum results in cholinergic supersensitivity due to reduction of cholinesterase activity. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993; 266; 3; 1684-1690.

- 117-Cuzzocrea S., Costantino G., Mazzon E.: Beneficial effects of melatonin in a rat model of splanchnic artery occlusion and reperfusion. *J Pineal Res* 2000; 28: 52-63.
- 118-Şener G., Paskaloğlu K., Şehirli AÖ.: The effects of melatonin on ischemia-reperfusion induced changes in rat corpus cavernosum. *The J. of Urology* 2002; June; Vol: 167; 2624-2627.
- 119-Paskaloğlu K., Şener G., Kapucu C.: Melatonin treatment protects against sepsis-induced functional and biochemical changes in rat ileum and urinary bladder. *Life Sciences* 2004; 74; 1093-1104.
- 120-Garcia JG., Rollan M., Enrriquez MA.: Improved survival in intestinal ischemia by allopurinol not related to xanthine-oxidase inhibition. *J. of Surgic Res.* 1990; 48; 144-146.
- 121-Yağmurdur MC., Özdemir A., Özenç A.: The effects of α -tocopherol and verapamil on mucosal functions after gut ischemia-reperfusion. *Turk J. Gastroenterol* 2003; 14; 1; 26-32.
- 122-Acuna-Castroviejo D., Martin M., Macios M.: Melatonin, mitochondria and cellular bioenergetics. *J. Pineal Res.* 2001; 30; 65-74.
- 123-Gliad E., Cuzzocrea S., Zingarelli B.: Melatonin is a scavenger of peroxynitrite. *Life Sciences* 1997; Vol: 60; No: 10; 169-174.
- 124-Okatini Y., Wakatsuki A., Kaneda C.: Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J. Pineal Res.* 2000; 28; 89-96.
- 125-Antolin I., Rodriguez C., Sainz RM.: Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J.* 1996; Jun; 10; 8; 882-890.