



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA İNTESTİNAL İSKEMİ VE İSKEMİ/ REPERFÜZYON
HASARINDA ISI ŞOK PROTEİN 32 CEVABI**

Ersin ÖZTÜRK

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2009



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA İNTESTİNAL İSKEMİ VE İSKEMİ/ REPERFÜZYON
HASARINDA ISI ŞOK PROTEİN 32 CEVABI

Ersin ÖZTÜRK






(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Doç. Dr. Nevzat KAHVECI

Bursa-2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu tez, jürimiz tarafından Ersin Öztürk'ün doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Adı ve Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Doç Dr Nevzat Kahveci	
Üye	Prof Dr Ruhi Uyar	
Üye	Prof Dr Kasım Özlük	
Üye	Prof Dr Naciye İşbil Büyükçoşkun	
Üye	Prof Dr Tuncay Yılmazlar	

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 23.09.2009 tarih ve 2009/33 sayılı toplantısında alınan 3 numaralı kararı ile kabul edilmiştir.



Prof Dr Gürsel SÖNMEZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ ve YÖNTEM.....	13
Deney prosedürü.....	13
Kan örnekleri.....	14
Doku örnekleri.....	14
İstatistiksel değerlendirme.....	15
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	25
KAYNAKLAR.....	28
TEŞEKKÜR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	35

ÖZET

Bu çalışmanın amacı sıçanlarda intestinal iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarına, intestinal doku ve sistemik kan ısı şok proteini (I.Ş.P.) 32 yanıtının saptanmasıdır.

Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanan çalışmamızda kontrol grubu (K.G.), iskemi grubu (İ.G.) ve iskemi/reperfüzyon grubu (R.G.) olmak üzere üç gruba ayrılmış 21 sıçan kullanıldı. Tüm sıçanlara genel anestezi altında laparotomi yapıldı ve superior mezenterik demetleri (S.M.D.) hazırlandı. K.G. sıçanlarının S.M.D. etrafına 000 ipek yerleştirildi. İ.G. sıçanlarının S.M.D. 000 ipek fiyonk düğümle bağlandı. R.G. sıçanlarının S.M.D.'ne 000 ipekle fiyonk düğüm konuldu. Tüm sıçanlarda iplik uçları karın duvarından çıkarılıp, karın kapatıldı. R.G. sıçanlarının karınlarındaki iplikler bir saat sonra zıt yönde çekilerek fiyonk düğümün açılmasıyla reperfüzyon sağlandı. Sıçanlara ilk laparotominin 6. saatinde relaparotomi yapılarak ince barsaklar çıkarıldı. Sol ventrikülden kan örnekleri alındı ve sıçanlar kardiyak punkçır yöntemiyle sakrifiye edildi. Sıçanların ince barsak dokuları ve kan örneklerinde HO-1 (Rat) StressXpress ELISA Kit (Stressgen Technologies, Assay Designs Inc, Ann Arbor, USA) kullanılarak I.Ş.P. 32 ölçümü yapıldı. Sayısal verilerin karşılaştırılmasında, Kruskal Wallis veya Wilcoxon Rank Sum test, kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

İ.G. ve R.G. ortanca doku I.Ş.P. 32 düzeyleri K.G.'na oranla anlamlı olarak yüksekti ($p=0,0017$), ancak İ.G. ve R.G. arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0,48$). İ.G. ve R.G. ortanca kan I.Ş.P. 32 düzeyleri ile K.G. ortanca kan I.Ş.P. 32 düzeyi arasında fark yoktu ($p=1$).

Sonuç olarak, sıçanlarda intestinal iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarında doku I.Ş.P. 32 düzeyleri ilk 6 saat içinde benzer şekilde artmaktadır. Ancak bu artış sistemik dolaşıma yansımamaktadır.

Anahtar Sözcükler: Isı şok protein 32, intestinal, iskemi, reperfüzyon

THE HEAT SHOCK PROTEIN 32 RESPONSE TO INTESTINAL ISCHEMIA AND ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY

SUMMARY

The aim of this study was to clarify tissue and systemic blood heat shock protein (H.S.P.) 32 response to intestinal ischemia and ischemia/reperfusion injury in rats.

Twenty one rats, divided into control group (C.G.), ischemia group (I.G.) and ischemia/reperfusion group (R.G.) were used in our study which was approved by Uludag University Animal Experiment Ethical Committee. Following laparotomy under ether anesthesia, superior mesenteric bundles (S.M.B.) of the rats were prepared. A silk suture was placed around the S.M.B. of the rats in C.G. A permanent knot in the I.G. and a slip knot in the R.G. were placed on the S.M.B. The free ends of the silk sutures were taken throughout the abdominal walls and then the laparotomies were closed. Reperfusion was established by pulling out the free ends of the silk sutures after one hour in R.G. Relaparotomy was performed to all the rats on the 6th hour of the initial laparotomy and small intestines were removed. After blood was drawn from the left ventricle, all rats were sacrificed by cardiac puncture. HO-1 (Rat) StressXpress ELISA Kit (Stressgen Technologies, Assay Designs Inc, Ann Arbor, USA) was used to measure H.S.P. 32 in intestinal tissue and systemic blood samples. Quantitative variables were compared by using Kruskal Wallis or Wilcoxon Rank Sum test and categorical variables were compared by using chi-square test. $P < 0,05$ was considered to be significant.

Tissue H.S.P. 32 levels were significantly increased in I.G. and R.G. when compared to the C.G. ($p=0,0017$). However, there was no difference between I.G. and R.G. ($p=0,48$). The median blood H.S.P. 32 levels showed no difference between three groups ($p=1$).

As a conclusion, the tissue H.S.P. 32 levels increased similarly following a 6-hour intestinal ischemia and ischemia/reperfusion in rats; however, this increase did not reflect to the systemic circulation.

Keywords: Heat shock protein 32, intestinal, ischemia, reperfusion.

GİRİŞ

Mezenter iskemi klinik olarak yaşlılarda görülen, tüm ince barsakları ve çıkan kolonun önemli bir kısmını besleyen superior mezenterik arterin tıkanması sonucu ortaya çıkan, ince barsakların iskemi ve gecikilirse nekrozuyla seyreden, %56-93 gibi yüksek mortalite oranlarına sahip, ciddi, fatal bir hastalıktır (1). Yüksek mortalitenin en önemli nedeni tanıdaki gecikmedir. Erken dönemde tanı koymaya yardımcı en önemli yöntem mezenterik anjiyografidir. Ancak bu işlem uygulaması kolay olmayan, pahalı ve her zaman ulaşılamayan bir yöntemdir. Mezenter kan akımı azalmaya başladığında bu olaydan ilk ve en çok etkilenen intestinal mukozal epitel hücrelerinde Isı Şok Protein (I.Ş.P.) miktarında belirgin artış görülür (2). I.Ş.P.'leri, molekül ağırlıkları 100 kDa'dan daha az olan ve iskemi dışında ısı ve toksik ajanlara karşı da açığa çıkan moleküllerdir (2-4). Sistemik dolaşıma geçerler ve laboratuvar ortamında ölçümleri mümkündür (2, 3). I.Ş.P.'lerinin reperfüzyon hasarına cevap olarak ortaya çıkabileceği de gösterilmiştir (5).

İskemiye maruz kalan intestinal mukoza epitel bütünlüğünü yitirerek lümene dökülür. Mueller ve arkadaşları (6) renal iskemi gelişen deneklerde idrara dökülen epitel hücrelerinden açığa çıkan I.Ş.P.'lerini ölçebilmişlerdir. Dolayısıyla mezenter iskemi olgularında da lümene dökülen epitel hücrelerinden açığa çıkabilecek I.Ş.P. ölçülerek mezenter iskeminin süresi ve yaygınlığı hakkında fikir sahibi olunabilir. Ya da mezenter iskemi şüphesi bulunan hastalardan alınan kan örneklerinde I.Ş.P. düzeyleri bakılarak tanıya yardımcı bir yöntem geliştirilebilir. Bu şekilde mezenter iskeminin erken dönemde tanısı konabilir ya da anjiyografi yapılacak ve bundan fayda görecektir hastaların belirlenmesi daha spesifik bir hale getirilip aynı zamanda gereksiz anjiyografi gibi işlemler engellenebilir. Bu durum hem hasta sağlığı hem de maliyetlerin düşürülmesi açısından önem taşımaktadır.

Diğer adı I.Ş.P. 32 olan heme oksijenaz (HO), heme'nin biliverdin, karbon monoksit ve demire yıkılmasını sağlayan antioksidan bir enzim kompleksidir (3, 5, 7-9). I.Ş.P. 32'nin dokularda iskemi sonrası arttığına dair bilgi varken (5), reperfüzyondan nasıl etkilendiğini gösteren bir çalışma yoktur. Ayrıca I.Ş.P. 32 artış miktarının iskemi ya da reperfüzyon hasarının süresi veya genişliğinden ne kadar etkilendiği, sistemik dolaşıma yansıyan seviyeleri ve en nihayetinde dışkıya geçip, geçmedikleri ya da hangi durumda ne kadar geçtikleri ise cevap bekleyen sorulardır. Bu sorular yanıtlandığında belki de klinik olarak mezenter iskemi şüphesi bulunan hastaların tanısında kullanılacak, her yerde

uygulanabilecek, göreceli kolay ve ucuz bir yöntem tanımlanabilir. Ancak, I.Ş.P. 32'nin klinikte bu amaçla kullanılabilmesi için öncelikle mezenter iskemi geri döndüğünde ortaya çıkan reperfüzyon ortamından doku I.Ş.P. 32 seviyelerinin nasıl etkilendiğinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, mezenter iskemi veya iskemi/reperfüzyon hasarında, iskemi veya iskemi/reperfüzyon sonrası doku ve kan I.Ş.P. 32 düzeylerinin karşılaştırılarak, iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarına I.Ş.P. 32 yanıtının saptanmasıdır.

GENEL BİLGİLER

İlk kez 1962 yılında tanımlanan I.Ş.P.'leri hücrelerin hipertermiye (42-46°C) maruz kalmasıyla üretimi artan bir protein grubudur (10). I.Ş.P.'lerinin dramatik artışına yol açan olay çoğunlukla Isı Şok Faktör (I. Ş.F.) tarafından düzenlenir ve ısı şok cevabı olarak adlandırılır (11-13). I.Ş.P. artışına ısı dışında yol açan başka faktörler de vardır. Bunlar; infeksiyon, inflamasyon, etanol, arsenik, eser metaller ve ultraviyole ışık gibi birçok toksin, açlık, hipoksi, nitrojensizlik (bitkilerde) ve dehidratasyondur. Bu nedenle I.Ş.P.'lerine "stres proteinleri" de denmekte ve stres cevabının bir komponenti olarak da görülmektedirler (10, 11, 14).

Günümüzden yaklaşık 30 yıl önce radyoaktif olarak işaretlenmiş aminoasitler ile protein sentezini takip etmek mümkün hale gelmiştir (10). Bu yöntemle fizyolojik koşullarda hücrede protein sentezinin oldukça değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Ancak stres koşullarında normal şartlarda üretilen tüm proteinlerin sentezinde belirgin bir azalma yaşanırken bir grup protein sentezinin arttığı görülmüştür (12). İşte bu strese karşı oluşan ve temel deneysel modeli hipertermi olduğu için I.Ş.P.'leri olarak adlandırılan proteinler molekül ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar. I.Ş.P.'leri hemen hemen tüm canlı hücrelerinde biyolojik düzeyde bulunurlar (2, 3, 14).

I.Ş.P.'lerinin temel olarak hücrede sitoproteksiyon (fizyolojik ve stres koşullarında), nörodejeneratif bozukluklar, sinyal iletimi ve kanser immünolojisinde rolleri vardır.

Sitoproteksiyon

Modern stres cevabı çalışmaları ilk kez 40 yıl önce Ritossa (10) ile başlamıştır. Ritossa, *Drosophila melanogaster* olarak adlandırılan meyve sineklerinde hipertermiye spesifik olarak saptanan değişiklikler tanımlamıştır. Politen bir kromozoma bağlanan binlerce DNA dizininin aktif transkripsiyon alanlarının ışık mikroskopunda görülmesine olanak sağlamasıyla normal koşullarda hücre çekirdeğinde bulunan bazı aktif transkripsiyon alanlarının stres durumunda kaybolduğu, buna karşın yeni transkripsiyon alanlarının ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Ritossa'nın bu çalışması hücrenin strese bir cevap ürettiğini gösteren ilk çalışmadır (10).

Fizyolojik koşullarda, I.Ş.P.'leri protein katlanmasının doğru yürütülmesinden sorumludurlar (15, 16). Hücrede yeni üretilen proteinlerin doğru bir şekilde katlanmasına yardımcı olan maddelere “moleküler chaperon” lar denmektedir (17, 18). Prokaryotlarda posttranslasyonel katlanma (folding) ön planda iken yüksek canlılarda katlanma translasyon esnasında oluşur (19). Bunun sonucunda proteinler sentez aşamasında iken özellikle katlanma hataları sonucu hücrede çökerek devre dışı kalmaya açık hale gelirler. Moleküler chaperonlar özellikle bu noktada devreye girip yeni üretilen proteinlerin yanlış katlanmasını (misfolding) ve kümelenmesini engeller (18, 19). Katlanma hataları en çok hipertermi ile fazlaştığından moleküler chaperonların çoğu I.Ş.P.'leridir (10). Bu moleküllerin biraraya gelerek yaptıkları proteinlere de “moleküler chaperonin” denmektedir (20). Bunlar daha çok 6-9 proteinden oluşan yapılardır ve genellikle 400-1000 kDA ağırlığındadırlar. Protein sentezi esnasında yeni üretilen proteinlerin kümelenmeden katlanarak olgunlaşması çoğu I.Ş.P. olan birçok molekülün oluşturduğu bir chaperon ağıyla sağlanmaktadır (19).

Nörodejeneratif Bozukluklar

Son yıllarda yapılan çalışmalarda birçok nörodejeneratif bozukluğa protein katlanmasındaki sorunların yol açtığına dair artan sayıda çalışma yayımlanmıştır. Bunlara örnek olarak Huntington hastalığı, Kennedy hastalığı, spinoserebellar ataksi, Parkinson, Alzheimer ve amiotrofik lateral skleroz verilebilir (21-29). Bu hastalıklarda oluşan olgunlaşmamış proteinlerin uzaklaştırılmasında ya da oluşmasının engellenmesinde I.Ş.P.'lerindeki bir sorun nedeniyle bozukluk olduğu yapılan canlı hücre görüntüleme çalışmalarıyla gösterilmiştir (30).

Nörodejeneratif hastalıklar yaşamın ileri safhalarında görülür. Bu yaşlarda I.Ş.P. genlerinin indüksiyonunda bir zayıflama olduğu saptanmıştır. *Caenorhabditis elegans*'larda I.Ş.P. cevabının insülin sinyal yoluyla örtüşen bir yol aracılığı ile zayıflatıldığı bildirilmiştir (31). Bu mikroorganizmalarda I.Ş.P. cevabının zayıflaması mikroorganizmanın ömrünü belirgin olarak kısaltmıştır. Aynı etki yine bu mikroorganizmaların Daf-16 mutantlarında da görülmüştür. Bu mutantlarda insülin sinyal yolunda “forkhead box- O” (FoxO) transkripsiyon faktörü eksiktir. Yani I.Ş.P.'lerindeki azalma yaşlanmaya karşı koruyuculuğun azalmasına sebep olurken, artmış I.Ş.P. organizmaların yaşam süresini uzatabilir.

Sinyal İletimi ve Kanser İmmünolojisi

I.Ş.P. 90 ve I.Ş.P. 70, içlerinde NF-kB, p53, v-Src, Raf1, Akt ve steroid hormon reseptörleri bulunan birçok sinyal iletim yolunda, transkripsiyon faktörleri, sinyal molekülleri ve kinazları regüle ederek etki ederler (15). Tümör hücreleri malign olmayan köken hücrelerine nazaran aşırı miktarda I.Ş.P. üretirler. Bu gözlem tümör hücrelerinin daha çok I.Ş.P.'nine ihtiyaç duydukları savını gündeme getirmiştir (32). Belki de fazla miktarda bozuk protein üretimini engelleyerek tümör hücresinin ömrünün kısaltılmasını önlemek için buna ihtiyaç vardır. İlginç bir nokta da tümör hücrelerinin yüzeylerinde I.Ş.P. 72 bulunmasıdır. Bu hücreyi natural killer hücrelerine hedef haline getirmektedir (31).

Tümör hücrelerinden elde edilen ve içlerinde I.Ş.P.'lerinin de bulunduğu bazı moleküllerin, organizmadaki immün cevabı artırması mantığına dayanarak pasif kanser aşuları üretilmiştir (33). Kanserli doku cerrahi olarak rezeke edildikten sonra 24 saat içinde işlenerek kanserli dokunun ürettiği peptidleri taşıyan I.Ş.P.'leri pürifiye edilmekte ve daha sonra bu I.Ş.P.-peptid kompleksi dokunun alındığı kişiye geri enjekte edilmektedir. Kişinin enjeksiyon bölgesindeki antijen sunan hücreler bu I.Ş.P.-peptid kompleksini alarak T-hücrelerine sunmaktadırlar. T-hücreleri böylece kanserli dokuyu normal dokudan ayırt edebilmekte ve organizmada kalan residü kanser hücrelerini tanıyarak yok etmektedirler. Bu sayede fibrosarkom, hepatoma, skuamöz hücreli karsinom, kolon kanseri, melanomlar, akciğer kanseri, lenfoma ve prostat kanserine karşı başarılı sonuçlar alındığını bildiren yayınlar vardır (33). Yapılan çalışmalar organizmanın I.Ş.P.-peptid kompleksinde peptide karşı cevap ürettiğini göstermiştir. Ancak I.Ş.P.-peptid kompleksi, peptidlere göre 400 kat daha güçlü bir immün cevap yaratmıştır (33).

I.Ş.P. Regülasyonu

Normal şartlarda sitoplazmada bulunan I.Ş.P. 70, I.Ş.F.'ü bağlayarak inaktive etmektedir (2, 12). Hücre içinde protein denatürasyonuna yol açan bir olay olduğunda

I.Ş.P. 70 denatüre proteinlere bağlanır. Bunun sonucunda I.Ş.F. inaktivasyonu ortadan kalkar. Ayrıca, araşidonik asit metabolizma ürünlerinin de I.Ş.F.'ü aktiflediği gösterilmiştir (11, 31). Bu da inflamasyon ve I.Ş.P. üretimi arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir.

İnsanlarda I.Ş.F.'nin üç subüniti tanımlanmıştır (12). I.Ş.P. regülasyonunda temel olarak I.Ş.F. 1 rol oynar (2, 10, 12, 31). I.Ş.F. 1'ler trimer yaparak nükleustaki I.Ş.P. geninin promoter bölgesine bağlanır ve I.Ş.P. üretimi başlar (12). Ayrıca hücre içi artan denatüre proteinler doğrudan I.Ş.F.1 genini de indükleyerek daha çok I.Ş.F.1 üretimine yol açarlar. Yeni üretilen I.Ş.P. ler, özellikle de I.Ş.P. 70 hücre içi zararlı etkeni (genellikle denatüre ya da yaşlanmış proteini) bağlayarak etkisiz hale getirir (10). Bu işlem tamamlanınca artan I.Ş.P. 70'ler I.Ş.F.-1'e bağlanarak I.Ş.F. inaktive edilir ve hücre fizyolojik konumuna geri döner. Ek olarak I.Ş.P. -I.Ş.F.1 kompleksi I.Ş.F. 1 genine negatif feedback uygular ve I.Ş.F. 1 üretimi de durur (12, 31).

I.Ş.P.'leri ağırlıklarına göre dört ana gruba ayrılırlar. Tablo-1'de I.Ş.P. sınıflaması özetlenmiştir.

Tablo-1: I.Ş.P. sınıflaması (2).

	I.Ş.P.	Moleküler ağırlığı	Fizyolojik yerleşim	Streste yerleşim	Fonksiyon
I.Ş.P. 90 ailesi	I.Ş.P. 100	100	ER	ER	Glukoz met.
	I.Ş.P. 90 α	86	Sitoplazma	Sitoplazma	Steroid reseptör
	I.Ş.P. 90 β	84	Sitoplazma	Sitoplazma	Aktin
I.Ş.P. 70 ailesi	I.Ş.P. 80	80	ER	ER	Immünglobulin
	I.Ş.P. 75	75	Mitokondri	Mitokondri	Glukoz met.
	I.Ş.P. 73	73	Sitoplazma	Nükleus	Protein katlanması
	I.Ş.P. 72	72	Sitoplazma, nükleus	Nükleus	Protein katlanması
I.Ş.P. 60 ailesi	I.Ş.P. 60	58, 60	Sitoplazma, mitokondri	Mitokondri	Protein katlanması
Küçük I.Ş.P. ailesi	I.Ş.P. 47	47	Sitoplazma, mitokondri	Mitokondri, sitoplazma	Kollajen spesifik
	I.Ş.P. 32	32	Sitoplazma	Sitoplazma, nükleus	Heme oksijenaz-1
	I.Ş.P. 25	25	Sitoplazma	Sitoplazma	α -kristalin
	I.Ş.P. 8	8	Sitoplazma, membran	Sitoplazma, membran	PDGF

ER: Endoplazmik retikulum. **PDGF:** Platelet derived growth factor.

I.Ş.P. 90 Ailesi

I.Ş.P. 100 ve I.Ş.P. 90β: Bu iki molekül birbirine çok benzer etkiler göstermektedir. Ayrıca bu iki molekülün beraber etkinlik gösterdiğine dair çalışmalar vardır. En iyi bilinen etkileri kalmodulin bağlayıcılıklarıdır (34). Yüksek konsantrasyonda ise aktin filamentleri ile etkileşime girerler. Etkilerini gösterebilmeleri için Ca^{+2} a ihtiyaç duyarlar. Ayrıca I.Ş.P. 90β'nın glukoz metabolizmasında da rol aldığı düşünülmektedir. Bir çalışmada diyabetiklerde I.Ş.F. 1 ve I.Ş.P. 72'nin azaldığı buna karşın I.Ş.P. 90β artışı olduğu gözlemlenmiştir (35). Yine aynı çalışmada diyabetiklerde iskemik stresin I.Ş.F. 1 ve I.Ş.P. 72 düzeylerini etkilemediği ama egzersizin I.Ş.F. 1 ve I.Ş.P. 72 düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. Diyabetiklerdeki insülin direncinin I.Ş.P. ile ilişkisi şu an için ilgi çeken bir araştırma konusudur.

I.Ş.P. 90α: Günümüzde en iyi bilinen özelliği tümörgenesis ile olan ilişkidir (36). I.Ş.P. 90 daha çok I.Ş.P. 70, I.Ş.P. 40 ve I.Ş.P. organize edici protein gibi co-chaperon'larla birlikte multiprotein chaperon kompleksi şeklinde bulunur (37). Hücrelerin iletişimi ve normal morfolojik yapılarının korunmasında önemli rolleri vardır. I.Ş.F. 1 ile transkripsiyonu düzenlenir (31). Epidermal growth factor reseptör sinyal iletimi ve Akt sinyal yolu gibi muhtelif sinyal yolları ile apoptotik yollarda görev alır ve steroid hormon reseptörlerinin düzenlenmesinde rol oynar (36). Apoptozda birden fazla noktada görevi vardır ancak genel olarak antiapoptotik bir role sahiptir (38). Dolayısıyla kanser hücrelerinin canlılığının devam etmesine yardımcı olur (2). Özellikle androjenik hormon reseptörlerinin fonksiyonlarının ve stabiliteilerinin düzenlenmesinde etkilidir ve birçok tümörün gelişiminde etkisi olan vascular growth endothelial factor reseptörlerinin fonksiyon göstermesi I.Ş.P. 90'a bağlıdır (36).

Hipertermi ve hipoksi tümöral hücrelerde I.Ş.P. 90 artışına bağlı olarak tümör direncini artırır. Bloklanması hücre ölümünü hızlandırır. Lenfomalarda büyümeyi arttıran şimerik protein -anaplastic lymphoma kinase (NMK-ALK), I.Ş.P. 90 varlığında fonksiyon görür (39). Geldanamycin ile bloklanması kemoterapiye destek amaçlı deneysel olarak kullanılmaktadır. Geldanamycin türevlerinin kullanımı ile kanser hastalarında belirgin sürvi artışı bildirilmiştir (31).

Üveit gibi bazı inflamatuvar hastalıklarda koruyucu rol aldığı bildirilmiştir (40). Ancak intestinal mukozanın inflamatuvar ya da iskemik hadiselerle karşı korunmasında etkisi olmadığı gösterilmiştir (2).

I.Ş.P. 70 Ailesi

I.Ş.P. 70 tüm I.Ş.P.'leri içinde üzerinde en çok çalışma yapılmış olan moleküldür (2, 10, 14, 15). Sitozolik I.Ş.P. 70 temel olarak iki formda bulunur; stresle artan I.Ş.P. 72 (I.Ş.P. 70 olarak bilinir) ve sürekli üretilen I.Ş.P. 73 (2, 10, 15). I.Ş.P. 70'nin ilginç özelliklerinden biri de I.Ş.P. 60'la beraber ekstraselüler ortamda bulunmalarıdır (3).

Protein katlanması ile ilgili olarak geniş bir etki spektrumları vardır (15). Yeni üretilen proteinlerin katlanması, yanlış katlanmış ya da çökelti proteinlerin yeniden katlanması, sekretuar proteinlerin membrana translokasyonu ve regülatuar proteinlerin aktivitelerinin kontrolü en iyi bilinen etkileri arasındadır. Bu anlamda I.Ş.P. 70 hücrenin bekçisidir. Bu etkilerini ATP kullanarak peptidlerin hidrofobik segmentleri ile etkileşerek göstermektedirler. I.Ş.P. 70 faaliyetlerinin regülasyonu I.Ş.P. 70 gen kontrolü, co-chaperon ilişkileri ve diğer chaperon sistemlerle etkileşimleri ile sağlanır.

Yeni üretilen proteinlerin kümelenmesini co-chaperonu olan J-domain protein (JDP) ile beraber organize ederler (15). Bu kompleks yeni üretilen proteini hidrofobik uçlarından sararak hücre içi etkileşimlerden korur. Bu özellik sadece I.Ş.P. 70 ailesine mahsustur.

Yapılan çalışmalarda çöken proteinlerin I.Ş.P. 70-I.Ş.P. 100 işbirliği ile solubilize edildiği ve sonra tekrar katlanmaya uğradıkları gösterilmiştir (14).

Son yıllarda ökaryotların regülatuar proteinlerinin biyolojik aktivitelerinin I.Ş.P. 70 ailesi tarafından düzenlendiğine dair birçok çalışma vardır. Bunlar arasında steroid hormon reseptörleri gibi nükleer reseptörler, Raf, eIF2 α -kinaz gibi kinazlar ve I.Ş.F., c-Myc, pRb gibi transkripsiyon faktörleri vardır (31). Bu görevlerinde I.Ş.P. 70'lere I.Ş.P. 90, Cdc37 ve p23 gibi proteinler eşlik etmektedirler (15). Bu sayede I.Ş.P. 70'ler sinyal iletimi, hücre siklusu regülasyonu, differensiasyon ve apoptozda etkili görevler üstlenerek onkogeneze, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklar, viral infeksiyonlar ve yaşlanma gibi konularda önemli rol alırlar (32, 41).

Bakterilerde protein katlanmasının %10-20'si I.Ş.P. 70 bağımlıdır (42). Bakterilerde ortalama protein ağırlığı 35 kDa iken insanlarda 52 kDa'dur (15). Buradan insanda daha fazla oranlarda protein katlanmasının I.Ş.P. 70 bağımlı olduğu sonucu ortaya çıkar. İlginç olarak mutant proteinler çok daha fazla I.Ş.P. 70 bağımlıdırlar. Bu anlamda I.Ş.P. 90'a benzer şekilde mutant proteinlerin varlığını sürdürmesinde oldukça

önemlidirler (31). Stres gibi I.Ş.P. 70'lere fazla ihtiyaç duyulan durumlarda ya da yaşlanma gibi daha az I.Ş.P. 70 üretilen durumlarda mutant proteinler çöker (15). Ancak bazı SOD1 mutantları gibi mutant proteinlerin çökertilmesinde de I.Ş.P. 70'e ihtiyaç vardır. Her iki mekanizma da onkogeneze (mutant p53), ALS (mutant SOD1 proteini), Parkinson (mutant α -synuclein) gibi nörodejeneratif bozuklukların ortaya çıkmasında etkili olabilir (31).

I.Ş.P. 70 özellikle I.Ş.P. 90 beraber hücre ölümü, differensiasyon, proliferasyon ve hücre hemoastasisinin devamı konusunda görev alır(15). I.Ş.P. 70 caspase üzerinden apoptozu inaktive eder. I.Ş.P. 70 seviyesinin artması TNF α gibi apoptotik faktörlerin işlevini azaltır (32). Tersine I.Ş.P. 70 azalması apoptozu kolaylaştırır.

Gastrointestinal sistemde I.Ş.P. 70'nin stresle arttığı gösterilmiş ama bunun koruyucu bir etkisi görülememiştir (2). Başka bir çalışmada (43) I.Ş.P. 70'nin intestinal hücrelerde koruyucu etkisi için I.Ş.P. 32'i co-chaperon olarak kullandığı öne sürülmüştür. Kolonda ise I.Ş.P. 70'nin koruyucu etkileri bildirilmiştir (2).

I.Ş.P. 70'nin renal iskeminin geri dönüşümüne olumlu katkıları yaptığı, dolayısıyla renal transplant sonrası iyileşme sürecine faydası olduğu bilinmektedir (10). Bu etkinin detayları açık olarak aydınlatılamamış olsa da bu etkide hücre iskelet yapısının korunmasının önemli rol oynadığı düşünülmektedir (44).

Yaşla birlikte I.Ş.P. 70 üretimi azalmasına rağmen ilginç olarak 100 yaş üzerinde I.Ş.P. 70 üretimi tekrar artar (15). I.Ş.P. 70 ailesi konusunda net olarak bilinen farklı co-chaperonlarla etkileşerek farklı etkiler gösterdikleridir, ancak hangi co-chaperonların hangi I.Ş.P. 70 üyesini nasıl seçtikleri ve sonuçta hangi etkilere neden oldukları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

I.Ş.P. 60 Ailesi

I.Ş.P. 60 ailesi daha çok 6-8 molekülünün birleşimine I.Ş.P. 10 eklenmesi ile oluşan chaperonin şeklinde bulunur (2, 45). E. Coli'de büyüme için mutlak varlığı gereklidir (GroEL) (46). ATP bağımlı bir reaksiyonla polipeptid zincirlerinin katlanmasını düzenler (45). Birçok hücrede sitoprotektif etki gösterir. Bu etkileri I.Ş.P.

70 ailesine benzer özellikler gösterir, ancak farklı mekanizmalarla gerçekleşir. I.Ş.P. 70 tek başına etki ederken I.Ş.P. 60 chaperonini, GroES/I.Ş.P. 10 co-chaperonin ile birlikte yaklaşık 1000 kDa ağırlığında bir moleküldür (18). I.Ş.P. 60 chaperoninin en önemli özelliği mitokondride yer almasıdır (2, 18, 20, 45). Mitokondri matriksindeki en önemli protein katlayıcı moleküldür (20). Genetik mutasyonlarında ciddi mitokondriyal hastalıklar gelişmektedir (18). Mitokondrinin hücrel strese lokal yanıtla tolerans göstermesi I.Ş.P. 60 sayesinde olur (47).

Hücrede mitokondri dışında membranda da saptanmıştır. Aminoasit transportunda rolü olduğu düşünülmektedir (18). Pankreas β hücre membranında olması ve nonobez diyabetik ratlarda I.Ş.P. 60 kaybının insülitise eşlik etmesi, insülin sekresyonunda görevi olduğunu düşündürmektedir (48). Kanser hücrelerin membranlarında tümörün kaynaklandığı dokunun orijinal hücrelerinin membranlarına oranla daha fazla I.Ş.P. 60 olduğu saptanmıştır (49). Serviks ve mesane kanseri gibi bazı kanserlerde I.Ş.P. 60 seviyesinin yüksek oluşunun kötü prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar vardır (50, 51). Apoptoz ve I.Ş.P. 60 arasındaki ilişki henüz tam aydınlatılmamıştır. I.Ş.P. 60'nın apoptozu arttırdığını gösteren çalışmalar kadar azalttığını gösteren çalışmalar da vardır (18).

Dolaşıma çıkan I.Ş.P. 60 vasküler ve myeloid hücrelerin yüzeyinde adhezyon molekülü oluşmasını ve bu hücrelerden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır(52). Ayrıca renal ve vasküler hastalıklarda dolaşımında I.Ş.P. 60 saptanır. Muhtemelen vasküler yatak gerilime karşı I.Ş.P. 60 yanıtı vermektedir. Hipertansiyonlu hastalarda anti-I.Ş.P. 60 da saptanmıştır (3). I.Ş.P. 60, mitokondriyal rejenerasyonun göstergesi olduğundan, sürekli rejenerasyon görülen gastrointestinal sistem hücrelerinin epitel dokusunda normalde de ölçülebilir düzeylerde de vardır (20). Stres koşullarında hem ince barsak hem kolonda arttığı gösterilmişken, ne ince barsak ne de kolonda koruyucu etkileri gözlemlenmemiştir (2). Ancak, barsaklarda epitel dışında barsak duvarında da farklı hücrelerde bulunması, I.Ş.P. 60'nın barsaklarda daha çok motilite ile ilişkili fonksiyonları olabileceğini düşündürmektedir (2, 20, 52) .

Küçük I.Ş.P. Ailesi

Genel olarak 12-43 kDa ağırlığında olan bu grup özellikle insan göz lensinde bulunan α -crystallin ile benzerlik gösterir (53). Her ne kadar bir çok molekül bu gruba

dahil olsa da ortak noktaları α -crystallin domaini adı verilen 100 aminoasitlik ortak bir yapı içermeleridir (30). Hücrenin birçok değişik bölgesinde yerleşmişlerdir ve değişik görevleri vardır. Daha çok hücre iskelet yapısı ve membranlarla etkileşerek sitoprotektif olarak görev yaparlar (53). Chaperon etkilerini ve çözünürlüklerini moleküllerindeki serbest karboksil uç sayesinde korurlar (53). Yine aynı karboksil grup küçük I.Ş.P.'lerin birbirine bağlanmasını sağlar. I.Ş.P. 60, 70, 90 ve 110'la birlikte çalışarak enerji gerektirmeyen etkileri ile yeni üretilen proteinlerin kümelenmesini önlerler ancak tekrar katlanma I.Ş.P. 70 kontrolündedir (15, 54).

Küçük I.Ş.P.'leri ökaryotların mikrofilyaman, mikrotübül ve aktin gibi hücre iskelet yapıları ve α -crystallin ile etkileşerek bu yapıların ısı, oksidatif stres ve kimyasal ajanlara karşı korunmasını sağlarlar (53, 55). Mycobacterium membranında bulunan I.Ş.P. 16.3 oksijen radikallerinin etkilerini bloklayarak mycobacterium un makrofajlardan korunmasını sağlar (56). Gözde katarakt oluşumunu engellerler (57). Mutasyona uğramış formları ise Parkinson ve Alzhemier hastalığının patofizyolojisinde rol oynar (30). Kanserde tümörün agresifliğini azaltırlar ancak kemoterapiye direnç gelişiminde de rol oynamaktadırlar (58). Kalp, beyin ve böbrekte iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucudurlar (30). I.Ş.P. 25 (insanda 27) ve 32'nin intestinal hücrelerde de iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (2, 43).

I.Ş.P. 27, I.Ş.P. 25, I.Ş.P. B9 ve I.Ş.P. 20'nin stres durumunda nükleusa geçtiği gösterilmiş, ancak bu moleküllerin transkriptik faktör olarak mı görev aldıkları ya da nükleusu mu korudukları tam olarak aydınlatılamamıştır (53).

Sonuç olarak, I.Ş.P.'leri bilinenden daha fazla görevi olması muhtemel hücrenin koruyucu molekülleridir. I.Ş.P.'leri konusunda bilgiler arttıkça sebebi bilinmeyen birçok hastalığın patofizyolojisi anlaşılabilir ve hatta yeni tedavi imkanları ortaya çıkabilecek gibi durmaktadır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu'nun 8.01.2008 tarih ve 2008-1/9 sayılı onayını takiben, çalışmamızda, kontrol grubu (K.G.), iskemi grubu (İ.G.) ve iskemi/reperfüzyon grubu (R.G.) olmak üzere üç grup oluşturuldu. Her bir grupta, yasal bir üretici firmadan elde edilen, 12 adet 200-210 gr ağırlığında, erkek Wistar-Albino sıçan kullanılması planlandı. Ancak üç sıçanda anestezi indüksiyonu esnasında, üç sıçanda da deney esnasında karın dikişlerinin açılmasıyla oluşan evisserasyon sonucunda mortalite geliştiğinden kalan 30 sıçanla deney gerçekleştirildi.

Deney öncesi sıçanlara ortam koşullarına uyum sağlamaları için 24 saat süre tanındı ve kısıtlama olmaksızın yem ve su verildi.

Deney Prosedürü

Deneysel mezenterik iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturmak için superior mezenterik arter oklüzyon modeli kullanıldı. Bu modeli oluşturmak için sıçanlara eter inhalasyon anestezisi uygulandı. Daha sonra sıçanların hepsine povidin iyotla saha temizliğini takiben orta hattan laparotomi yapıldı. Tüm sıçanların superior mezenterik arter ve veni içeren superior mezenterik damar demetinin pankreas altından çıkıp ince barsak mezosuna girdiği noktası bulunarak superior mezenterik demet prepare edildi (Şekil-1). İ.G. ve R.G. sıçanlarının superior mezenterik demeti bu noktada 000 ipekle fiyonk düğüm atılarak bağlandı ve iplik uçları karın duvarının sağ ve solundan dışarı alındı (Şekil-2 ve 3). K.G. sıçanlarında ise ipek sütür, superior mezenterik demetin etrafına herhangi bir oklüzyon yaratmayacak şekilde, düğüm atılmadan yerleştirilip sağ ve sol karın duvarından geçildi. Daha sonra sıçanların karınları 00 ipekle, tam kat devamlı dikiş konularak, ciltleri ise cilt stapleri ile kapatıldı. Karın duvarından çıkan iplikler ile karın dikişlerini örtecek şekilde sıçanın gövdesine flaster sarıldı, sıçanların deney süresince sıvı ihtiyacını karşılamak üzere ense derilerinin altına 5 ml subkutan steril serum fizyolojik injekte edildi ve sıçanlar ayılmaya bırakıldı. Deneyin kalan kısmında sıçanların sadece su içmesine izin verildi. Laparotominin yapıldığı an başlangıç noktası kabul edildi. Deneyin 60. dakikasında tüm sıçanların flasterleri açıldı. Reperfüzyon hasarı için, R.G. sıçanlarının karın duvarlarından çıkan iplikler fiyonk düğümün açıldığı hissedilene kadar

zıt yönde çekildi ve iplikler tek bir yönde çekilmeye devam ederek karın dışına alındı (Şekil-4). Kontrol grubu ve iskemi grubu sıçanlarında ise karın duvarından çıkan iplikler ciltten hemen çıktıkları noktadan kesildi. Deneyin 360. dakikasında (6 saat), sıçanlara tekrar eter inhalasyon anestezisi uygulandı, karın dikişlerinin açılması ile yapılan relaparatomiyi takiben, sıçanların superior mezenterik arterlerinde parmakla pulsasyon kontrol edildi. İ.G. sıçanlarında pulsasyon olması, K.G. ve R.G. sıçanlarında ise pulsasyon olmaması çalışmadan çıkarma kriteri olarak belirlendi. Ayrıca ikinci laparotomide karın içi kanama ya da başka bir komplikasyon rastlanan sıçanlar çalışma dışı bırakıldı. Daha sonra Treitz ligamanının hemen distalinden itibaren tüm ince barsak ansları rezeke edildi. Sol ventrikülden kan örnekleri alındı ve sıçanlar kardiyak punkçır yöntemiyle sakrifiye edildi.

Kan Örnekleri

Sıçanlardan alınan kanlar kodlanmış polypropylene kuru tüplere 2 mL düz kan olarak konduktan sonra 30 dk oda sıcaklığında pıhtılaşmasına izin verecek şekilde bekletilip, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj ile serumlarına ayrıldı. Serum örnekleri daha sonra çalışılmak üzere -20°C'de küçük eppendorf tüplerine bölünerek saklandı. Serum örneklerinde I.Ş.P. 32 ölçümü için, HO-1 (Rat) StressXpress ELISA Kit (Stressgen Technologies, Assay Designs Inc, Ann Arbor, USA) kullanıldı. Tüm serum örnekleri, tüplerin üzerinde kullanılan kodların açılımlarını bilmeyen aynı Biyokimya uzman doktoru tarafından aynı günde çalışıldı.

Doku Örnekleri

Sıçanlardan eksize edilen doku örnekleri fayans zemin üzerine tam olarak yayıldı ve uzunlamasına lümen açıldı. Lümen içeriği plastik bir spatula yardımı ile temizlendi. İnce barsaklar göz kararıyla 5 eşit parçaya bölünüp, en proksimal ve dördüncü distal parça patolojik incelemeye gönderildi, kalan parçalar ise I.Ş.P. 32 ölçümü için ayrıldı.

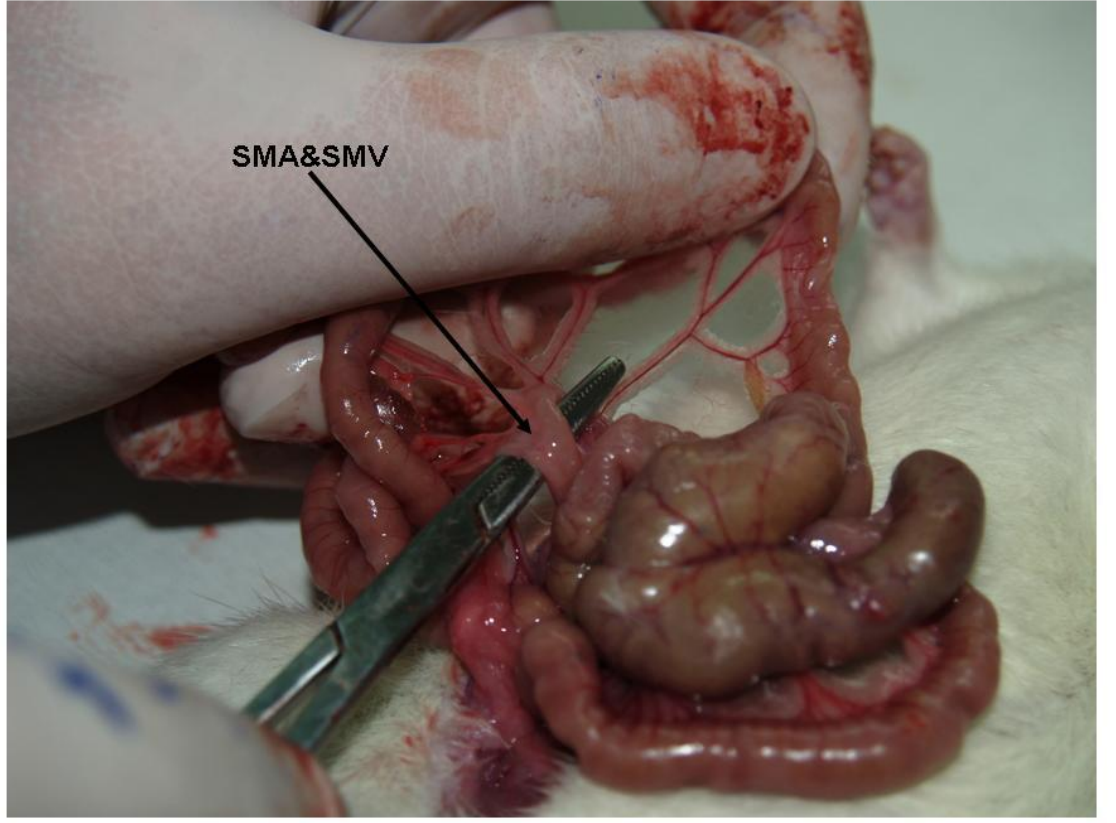
I.Ş.P. 32 ölçümü için, örnek alınan doku parçaları hemen sıvı nitrojen tüm dokuyu kaplayacak şekilde dökülerek donduruldu ve -70°C'de saklandı. Daha sonra tüm ölçümler aynı gün, aynı Biyokimya uzmanı tarafından yapıldı. Ölçüm yapılacağı zaman donmuş

doku ezilerek toz haline getirildi. Bu toz haline getirilmiş dokuya, 0,5 cm³ doku başına HO-1 ELISA Kiti ile gelen 1X Extraction Reagent'ten 1 mL olmak üzere çözelti hazırlandı. Bu çözeltinin her 5 mL için yine HO-1 ELISA Kiti ile gelen 5X Extraction Reagent'in 4°C distile su ile hazırlanmış çözeltisinden 1 mL bu çözeltiliye eklendi. Bu son çözeltiliye bir adet proteaz inhibitör tableti (SigmaFAST™ Protease Inhibitor Tablet, Sigma-Aldrich, Inc., Saint Louis, Missouri, USA) eklenerek sonuç karışım polypropylene bir tüpe alındı. Bu tüp, içeriği homojen hale gelene kadar çalkalandı ve daha sonra 4°C'de, 21000 rpm'de 10 dk soğuk santrifüj edildi. Supernatant üzeri etiketlenmiş başka bir polypropylene tüpe alındı. Elde edilen bu örnekten serum örneği ile aynı şekilde I.Ş.P. 32 ölçümü yapıldı.

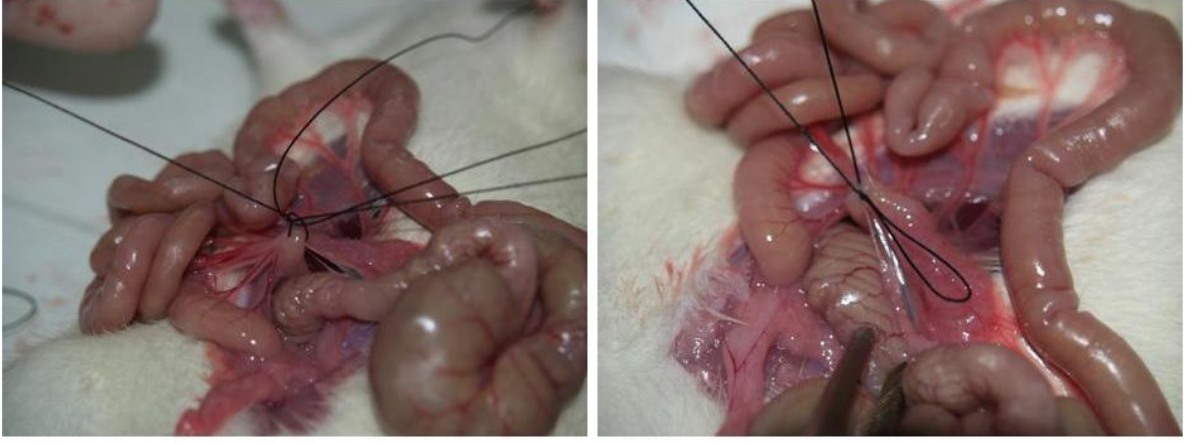
Sıçanlardan alınan iki parça ince barsak doku örneği, kodlanmış formaldehit solüsyonu içeren plastik kaplara konularak mikroskopik incelemeye gönderildi. Tüm örnekler aynı gün, kapların üzerindeki kodların açılımını bilmeyen aynı Patoloji uzman doktoru tarafından hemotoksilen+eozin ile boyanarak incelendi ve Chiu tarafından önerilen mikroskopik verilere dayalı barsak mukoza hasarını derecelendiren skala (59) (Tablo-2) kullanılarak değerlendirildi. Patolojik skorlamaya göre 4 ya da 5 puan intestinal mukozal hasar olarak kabul edildi ve I.G ve R.G.'dan mikroskopik olarak mukozal hasar gözlenmeyen sıçanlar çalışma dışı bırakıldı.

İstatiksel Değerlendirme

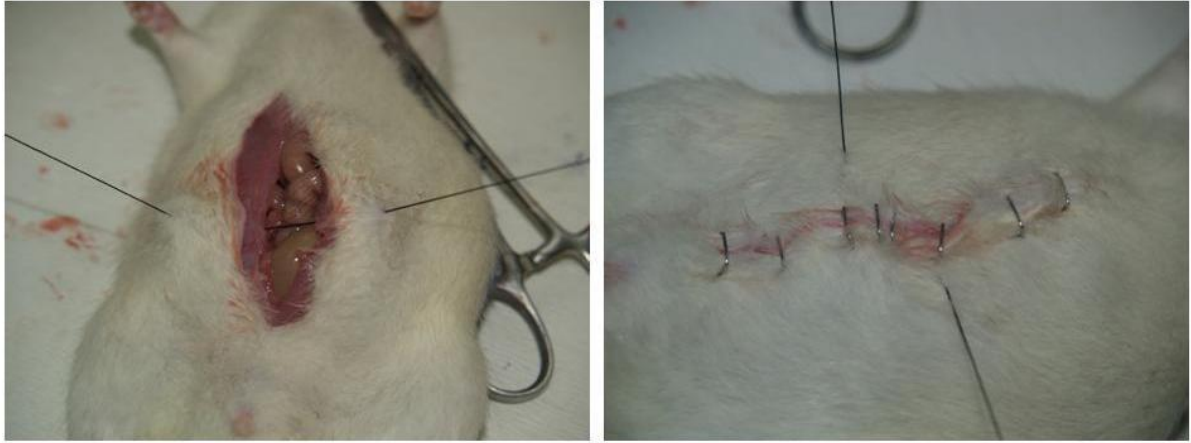
Sonuç veriler “the Statistical Package for Social Sciences [SPSS® for Windows ver. 15.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA)]” bilgisayar programına girilerek değerlendirildi. Deney gruplarının sayısal verilerin karşılaştırılmasında, üçlü grupların karşılaştırılması için Kruskal Wallis, ikili grupların karşılaştırılması için Wilcoxon Rank Sum test kullanıldı ve sonuçlar *ortanca (minimum ve maksimum)* olarak belirtildi. Kategorik değerler sıklık (%) olarak verildi ve gruplar arasında kategorik veriler ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi olarak p<0,05 kabul edildi.



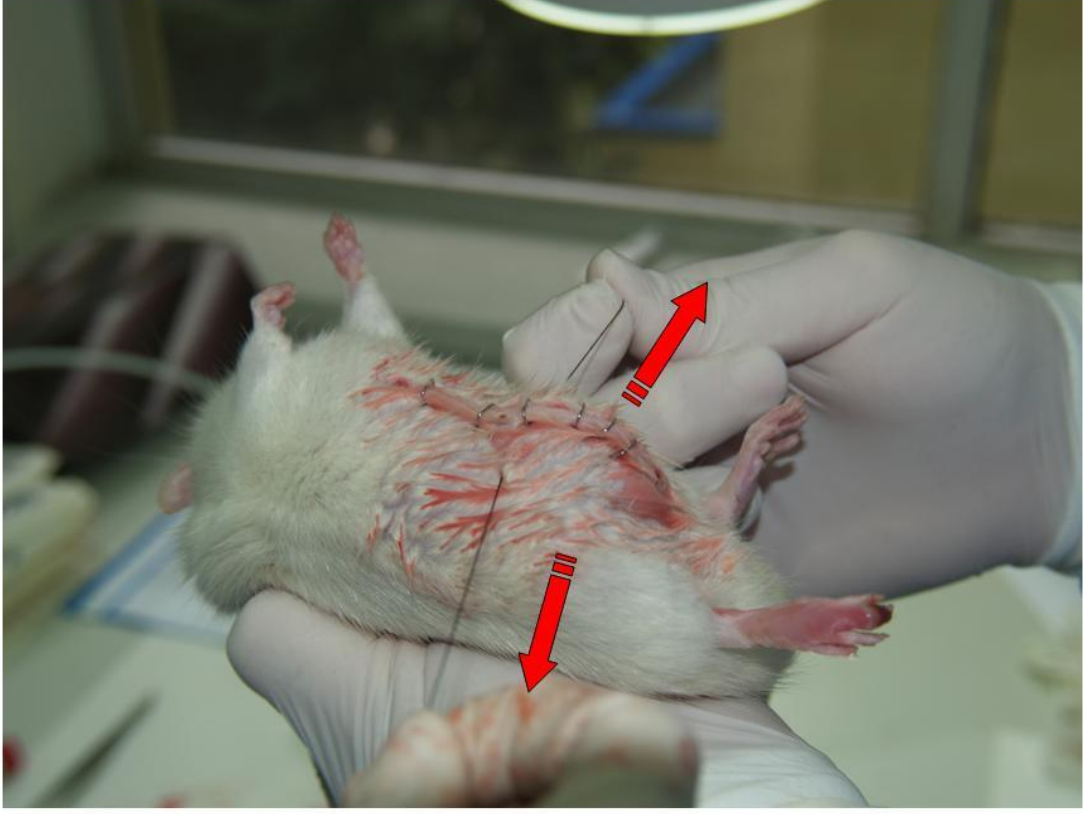
Şekil-1: Superior mezenterik arter (SMA) ve venin (SMV) hazırlanması.



Şekil-2: Superior mezenterik arterin köküne fiyonk düğüm konulması.



Şekil-3: Sütür uçlarının karın yan duvarlarından dışarı alınması ve karnın kapatılması.



Şekil-4: Sütür uçlarının çekilerek fiyonk düğümün açılması.

Tablo-2: Barsak mukoza hasarının mikroskopik olarak derecelendirilmesi – Chiu skoru (59).

Skor	Tanım
0	Normal mukozal villi
1	Villi apeksinde epitelin lamina propriadan hafifçe ayrılması
2	Epitelin lamina propriadan ayrılması
3	Epitelin villi alt kısımlarına kadar lamina propriadan masif olarak ayrılması
4	Lamina propriası ortada kalacak şekilde epiteli dökülmüş villiler ve dilate kapillerler
5	Lamina proprianın bütünlüğünü kaybetmesi, ülserasyon, hemoraji

BULGULAR

Sıçanlara doku örnek alınması için laparotomi yapıldığında R.G.'da iki sıçanda superior mezenterik arterde pulsasyon alınmadığı, bir sıçanın ise Chiu skoru 1 olduğu için, İ.G.'da iki sıçanda ciddi karın içi kanama (bir sıçanda mezodan, bir sıçanda düğüm atılan noktadan), bir sıçanda da superior mezenterik arterin yüzeysel bağlanması nedeniyle parsiyel iskemi olduğu için, K.G.'da bir sıçanda ipliklere bağlı ince barsak strangülasyonu, bir sıçanda ince barsak perforasyonu, bir sıçanda da mezodan ciddi kanama nedeniyle toplam dokuz sıçan çalışma dışı bırakıldı ve her grupta yedişer sıçanın doku ve kan örnekleri çalışmaya alındı.

K.G. sıçanların ortanca ağırlıkları 200 (200-210) gr, İ.G. sıçanlarının ortanca ağırlıkları 200 (200-210) gr ve R.G. sıçanlarının ortanca ağırlıkları 200 (200-210) gr'dı. Gruplar arasında sıçanların ağırlıkları açısından bir fark yoktu ($p=0,68$). Grupların makroskopik ve mikroskopik bulguları arasında belirgin fark vardı (Tablo-3). Makroskopik olarak, İ.G. sıçanlarının eksize edilen barsaklarında ödem, konjesyon, renk değişikliği ve yer yer nekrotik alanlar gözlemlenirken, R.G. sıçanlarının barsak örneklerinde ödem, konjesyon ve yer yer renk değişikliği görüldü. K.G. sıçanlarının eksize edilen barsaklarında ise belirgin bir morfolojik değişiklik yoktu (Şekil-5, 6 ve 7). İ.G. ve R.G. arasında Chiu skoru açısından anlamlı bir fark yokken, ($p=0,10$), K.G. ortanca Chiu skoru her iki gruba göre belirgin olarak düşüktü ($p=0,0004$).

Ortanca doku I.Ş.P. 32 seviyeleri K.G. için 3,4 (0,5-4) ng/ml, İ.G. için 114,6 (55,2-125,9) ng/ml ve R.G. için 90,1 (52-116,3) ng/ml 'ydi ($p=0,0011$). İ.G. ortanca doku I.Ş.P. 32 düzeyi K.G.'na oranla anlamlı olarak yüksekti ($p=0,0017$). R.G. ortanca doku I.Ş.P. 32 seviyesi de K.G.'na göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,0017$). İ.G. ortanca doku I.Ş.P. 32 seviyesi, R.G. ortanca doku I.Ş.P. 32 seviyesinden yüksek olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlılık taşııyordu ($p=0,48$).

İ.G. ve R.G. ortanca kan I.Ş.P. 32 düzeyleri ile K.G. ortanca kan I.Ş.P. 32 seviyesi arasında fark yoktu ($p=1$) (Tablo-3).

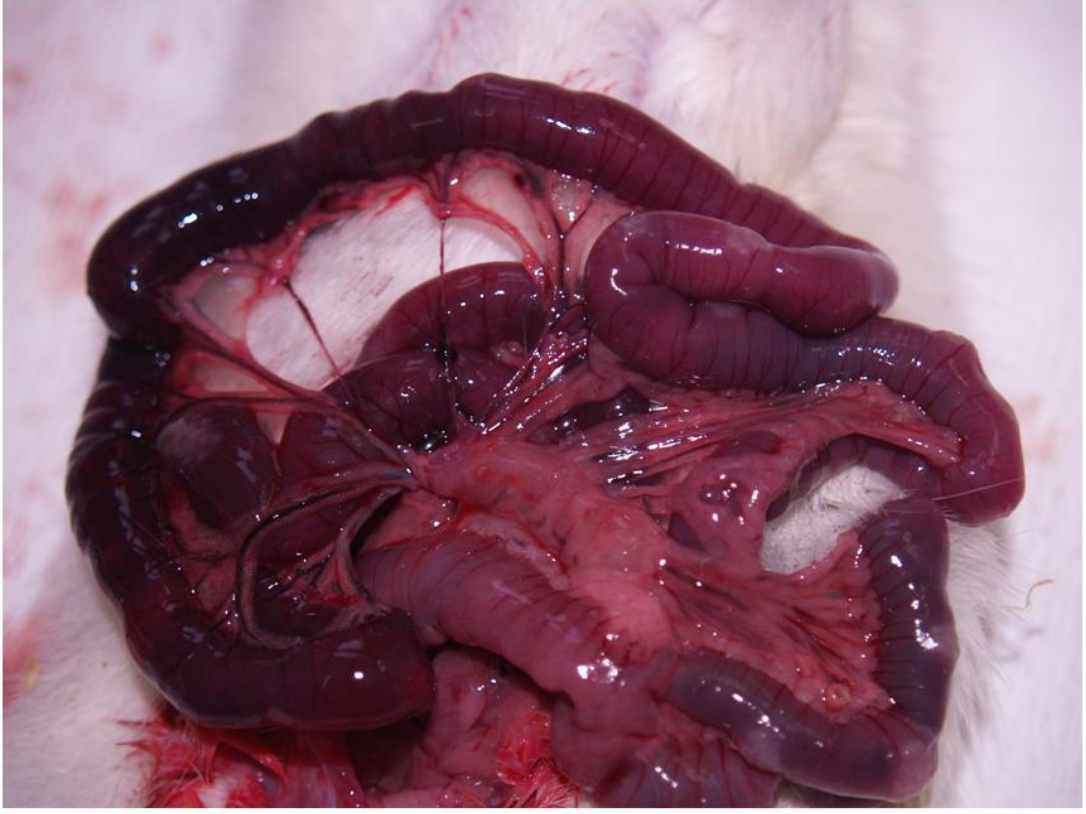
Tablo-3: Deney gruplarının karşılaştırılması.

	K.G.	İ.G.	R.G.	p
Makroskopi	Normal	Ödem, konjesyon, renk değişikliği, yer yer nekrotik alanlar	Ödem, konjesyon, yer yer renk değişikliği	-
Mikroskopi (Chiu skoru)	0 (0-0)	5 (4-5)	4 (4-5)	0,0004*
Ağırlık (gr)	200 (200-210)	200 (200-210)	200 (200-210)	0,68
Doku I.Ş.P. 32 (ng/ml)	3,4 (0,5-4)	114,6 (55,2-125,9)	90, 1 (52-116,3)	0,0011*
Kan I.Ş.P. 32 (ng/ml)	0,7 (0-3,6)	0,8 (0,4-1)	0,7 (0,1-2,6)	1

*: Kruskal Wallis test.



Şekil-5: Kontrol grubu sıçanlarının ikinci laparotomisinde ince barsakların morfolojik görünümü.



Şekil-6: İskemi grubu sıçanlarının ikinci laparotomisinde ince barsakların morfolojik görünümü.



Şekil-7: Reperfüzyon grubu sıçanlarının ikinci laparotomisinde ince barsakların morfolojik görünümü.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Deneysel olarak oluşturulan superior mezenterik arter oklüzyonuna bağlı mezenterik iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası ince barsak dokusu ve sistemik dolaşımında I.Ş.P. 32 seviyelerinin incelendiği bu çalışmamızda, hem iskemi hem iskemi/reperfüzyon sonrası 6 saat içinde, ince barsak dokusunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak I.Ş.P. 32 artışı saptanmıştır. Ancak sistemik dolaşımında I.Ş.P. 32 miktarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir.

Klinik olarak akut mezenterik iskemi, superior mezenterik arterin emboli veya trombus ile tıkanmasına ya da oklüzyon olmadan yaygın vazokonstriksiyon sonucu kan akımının azalmasına veya superior mezenterik venöz trombusa bağlı olarak gelişmektedir (60, 61). Ancak, venöz trombusa bağlı gelişen mezenterik iskemi sadece %10-15 hastada görüldüğünden, klinik olarak görülen akut mezenterik iskeminin ana nedeni (%85-90) superior mezenterik arter kan akımının azalmasıdır (60-64). Bu sebeple deneysel olarak mezenterik iskemi ya da iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturmak için optimal yol, superior mezenterik arterin oklüze edilmesidir (65, 66). Superior mezenterik arterin tek başına izole edilip bağlanmasından ziyade teknik olarak daha rahat ve kolay olan içinden superior mezenterik arter, ven ve lenf damarlarının geçtiği superior mezenterik demetin (Şekil-1) klemp ile veya bağlanarak oklüze edilmesi tercih edilmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, klinikten farklı olarak deneysel modellerde superior mezenterik venin oklüze edilmesinin mezenterik iskemiye çok az oranda katkısı olduğu gösterilmiştir (67). Bu nedenle çalışmamızda direkt olarak superior mezenterik demetin bağlanması tercih edilmiştir.

I.Ş.P. 32'nin bu çalışmada tercih edilmesinin en önemli nedeni;

1. İskemi ve iskemi/reperfüzyon dahil bir çok oksidatif tehdide karşı intestinal adaptasyonda erken dönemde rol oynaması (43, 68)
2. Antioksidan bir molekül olması nedeniyle, tüm vücutta görülebilmesine rağmen özellikle oksidatif strese spesifik olarak seviyelerinin artması (2, 4, 9, 68)
3. Tüm I.Ş.P.'lerinin olduğu gibi I.Ş.P. 32'nin de insan biyolojik örneklerinde ölçümünü mümkün kılan kitinin mevcut olmasıdır (Human HO-1 ELISA Kit, Assay Designs, Inc., Ann Arbor, MI, USA).

Diğer I.Ş.P'lerinden I.Ş.P. 60, normal sağlıklı insanların serumunda ölçülebilmesi (52), mezenter iskemili hastalarda sıkça görülen kardiyovasküler patolojiler ve

hipertansiyonun erken döneminde serumda düzeyinin artması (3, 69), ve gastrointestinal sistem mukozası gibi sürekli proliferasyon gösteren hücrelerde fizyolojik koşullarda dahi belirli bir seviyenin üzerinde olması nedeniyle akut mezenterik iskeminin tanısında yararlı olabilecek bir belirteç gibi durmamaktadır. I.Ş.P. 70'nin intestinal hücrelerdeki etkilerini I.Ş.P. 32 ile birlikte göstermesi (43) ve ayrıca, I.Ş.P. 60 ve 70'nin inflamatuvar barsak hastalıklarında seviyelerinin artması (2, 14, 70, 71), I.Ş.P. 70'nin de akut mezenterik iskeminin tanısındaki potansiyel belirteç olma ihtimalini azaltmaktadır. I.Ş.P. 90'nın ise daha çok kanser biyolojisinde rol oynadığı ve intestinal oksidatif stres durumlarında bilinen bir rolünün olmadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (2, 36, 45). Çalışmamızda kullandığımız I.Ş.P. 32 dışında kalan küçük I.Ş.P.'lerinden I.Ş.P. 25'nin (insandaki karşılığı I.Ş.P. 27'dir (30)) hemen hemen tüm dokularda fizyolojik düzeylerde olduğu ve stres durumunda hücre içi seviyelerinin hızla arttığı bildirilmiştir (72). I.Ş.P. 25'nin temel görevi strese karşı hücre iskelet yapısını stabilize ederek hücreyi korumaya çalışmak olduğundan (30, 72) dışkı veya sistemik dolaşımında I.Ş.P. 25 seviyesinin artması, gastrointestinal hücrelerin bütünlüğünün bozulduğunun iyi bir göstergesi olabilir. Bu nedenle çalışmamıza benzer deneylerde kullanılabilir en uygun diğer aday I.Ş.P. 25'tir.

Sugiura ve arkadaşları (73) intestinal hücrelerde indüksiyon sonrası I.Ş.P. seviyelerinin artması için yaklaşık 6-8 saat süre geçmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Her ne kadar onların deneyinde I.Ş.P. 72 (indükleme ile seviyesi artan I.Ş.P. 70) kullanılsa da tüm I.Ş.P.'lerinin üretimi için metabolik yol ortaktır (12, 13). Bu nedenle çalışmamızda 6 saat beklenmesi uygun görülmüştür.

Fiyonk düğüm atılarak reperfüzyon uygulaması daha önce miyokardiyal iskemi/reperfüzyon deneylerinde kullanılmıştır (74). Ancak bu uygulamanın mezenter iskemi/reperfüzyon modelinde uygulandığına dair herhangi bir literatür bilgisi yoktur. Hedef_organ farklı olsa da deneydeki temel mantık benzer olduğundan fiyonk düğüm ile reperfüzyon hasarı yapılması bu deney modeli için uygun gibi görünmektedir. İkinci laparotomiler yapıldığında parmak ile mezenter arter üzerindeki pulsasyonlar kontrol edilerek ancak pulsasyon hissedildiğinde iskemi/reperfüzyon hasarı olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca, hem makroskopik olarak hem de histopatolojik inceleme ile Chiu (59) skoru kullanılarak reperfüzyon modelinin eksiksiz oluşturulduğu teyit edilmiştir. Böylece, pratik ve basit bir yöntemle reperfüzyon modeli oluşturulmuştur. Bu sayede etkisi kısa sürede geçen eter inhalasyon anestezisi ile deney tamamlanabilmiş ve anestezi için intraperitoneal ilaç uygulamasının sistemik I.Ş.P. 32 seviyelerine etkime ihtimali ortadan kaldırılmıştır. Ayrıca, reperfüzyon için ek laparotomiye gerek kalmamıştır.

Genel olarak I.Ş.P.'lerinin oksidatif stres sonrası arttığı bilinirken (12) I.Ş.P. 70 ile yapılmış bir çalışmada (5) I.Ş.P.'lerinin iskemiden ziyade reperfüzyon sonrası ortaya çıktığı belirtilmiştir. Çalışmamızda ise hem iskemi hem reperfüzyon sonrası hücre içi I.Ş.P. 32 düzeyinin arttığı ve bu artışın benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Yapılan histopatolojik incelemelerde iskemi ve iskemi/reperfüzyon sonrası oluşan mukozal hasarın benzer nitelikte olması sonuçlarımızın geçerliliğini desteklemektedir. Deneyimizin sonucunda başlangıç hipotezimiz doğrulanmış olup, iskemi ve iskemi/reperfüzyon sonrası intestinal hücrelerde benzer şekilde I.Ş.P. 32 artışı gözlemlenmiştir. Ancak, sistemik dolaşımda I.Ş.P. 32 artışı hiçbir koşulda izlenmemiştir. Daha önce hastalardan alınan kan örneklerinde myokardiyal iskemide seviyeleri yükselen iskemi-modifiye albumin (75) ve diğer venöz trombuslarda sistemik dolaşımda seviyeleri artan d-dimer ölçümü (76) ile akut mezenterik iskemi tanısında faydalı olabilecek başka çalışmalar yapılmıştır. Benzer şekilde kan I.Ş.P.32 seviyesi bakılarak akut mezenterik iskemi tanısına yardımcı bir yöntem geliştirilebilir. Fakat mevcut deneyde tercih edilen 6 saat bekleme süresi iskemi veya iskemi/reperfüzyon sonrası kan I.Ş.P.32 seviyelerinde belirgin bir artış gözlemlenebilmesi için muhtemelen kısa kalmıştır.

Sonuç olarak, çalışmamızda intestinal iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası doku I.Ş.P 32 miktarında belirgin artış olduğu saptanmış, ancak kan I.Ş.P. 32 düzeylerinde 6 saat bekleme süresi ile benzer bir artış gözlenmemiştir. Çünkü hücrenin iskemi ya da başka sebeple bütünlüğünün bozulup, hücre içi materyalin sistemik dolaşıma geçmesi için 6 saat yeterli olmayabilir. Daha sonra yapılması öngörülen ve bu çalışmanın devamı niteliğindeki deneylerde bekleme süresini uzatıp (12-24 saat gibi), ayrıca gereç ve yöntemin dışkıda ölçüm yapmak üzere değiştirilerek iskemi ve iskemi/reperfüzyon hasarında serum ve intralüminal I.Ş.P. 32 ölçümü ile akut mezenterik iskemi tanısının olabilirliğinin araştırılması planlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. WHANG EE, ASHLEY SW, ZINNER MJ. Small intestine: mesenteric ischemia. Editors: BRUNICARDI FC, ANDERSEN DK, BILLIAR TR, DUNN DL, HUNTER JG, POLLOCK RE, Schwartz's principles of surgery, 8th edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, page 1047-1049, 2005.
2. OTAKA M, ODASHIMA M, WATANABE S. Role of heat shock proteins (molecular chaperones) in intestinal mucosal protection. *Biochemical and Biophysiological Research Communications*, 348: 1-5, 2006.
3. POCKLEY GA, FAIRE U, KIESSLING R, LEMNE C, THULIN T, FROSTEG J. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *Journal of Hypertension*, 20: 1815-1820, 2002.
4. MAINES MD. The heme oxygenase system: update 2005. *Antioxidant & Redox Signaling*, 7: 1761-1766, 2005. (sadece özeti var).
5. OKSALA NK, KAARNIRANTAD K, TENHUNENE JJ, TIIHONENA R, HEINO A, SISTONEN L, PAIMELA H, ALHAVA E. Reperfusion but not acute ischemia in pig small intestine induces transcriptionally mediated heat shock response in situ. *European Surgical Research*, 34: 397-404, 2002.
6. MUELLER T, BIDMON B, PICHLER P, ARBEITER K, RUFFINGSHOFER D, VANWHY SK, AUFRICHT C. Urinary heat shock protein-72 excretion in clinical and experimental renal ischemia. *Pediatric Nephrology*, 18: 97-99, 2003.
7. COLPAERT EE, TIMMERMANS JP, LEFEBVRE RA. Investigation of the potential modulatory effect of biliverdin, carbon monoxide and bilirubin on nitrenergic neurotransmission in the pig gastric fundus. *European Journal of Pharmacology*, 457: 177-186, 2002.
8. BARTON SG, RAMPTON DS, WINROW VR, DOMIZIO P, FEAKINS RM. Expression of heat shock protein 32 (hemoxygenase-1) in the normal and inflamed human stomach and colon: an immunohistochemical study. *Cell Stress and Chaperones*, 8: 329-334, 2003.
9. YANG L, QUAN S, ABRAHAM NG. Retrovirus-mediated HO gene transfer into endothelial cells protects against oxidant-induced injury. *American Journal of Physiology*, 277: 127-133, 1999.
10. AUFRICHT C. Heat-shock protein 70: molecular supertool? *Pediatric Nephrology*, 20: 707-713, 2005.
11. MORIMOTO RI, SANTORO MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nature Biotechnology*, 16: 833-838, 1998.
12. CHRISTIANS ES, YAN LJ, BENJAMIN IJ. Heat shock factor 1 and heat shock proteins: Critical partners in protection against acute cell injury. *Critical Care Medicine*, 30: 43-50, 2002.
13. SARGE KD, MURPHY SP, MORIMOTO RI. Activation of heat shock gene transcription by Heat Shock Factor 1 involves oligomerization, acquisition of DNA-binding activity, and nuclear localization and can occur in the absence of stress. *Molecular and Cell Biology*, 13: 1392-1407, 1993.
14. PETROF EO, CIANCIO M, CHANG EB. Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Chinese Journal of Digestive Diseases*, 5: 45-50, 2004.

15. MAYER MP, BUKAU B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62: 670-684, 2005.
16. BUKAU B, WEISSMAN J, HORWICH A. Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*, 125: 443-451, 2006.
17. ELLIS RJ, VAN DER VIES SM. Molecular chaperones. *Annual Review of Biochemistry*, 60: 321-347, 1991. (sadece özetidir).
18. DEOCARIS CC, KAUL SC, WADHWA R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60. *Cell Stress and Chaperones*, 11: 116-28, 2006.
19. MACARIO AJL, MACARIO EC. Sick chaperones, cellular stress, and disease. *New England Journal of Medicine*, 353: 1489-1501, 2005.
20. MÖBIUS J, GROOS S, MEINHARDT A, SEITZ J. Differential distribution of the mitochondrial heat-shock protein 60 in rat gastrointestinal tract. *Cell and Tissue Response*, 287: 343-350, 1997.
21. DOBSON CM. Protein folding and misfolding. *Nature*, 426: 884-890, 2005.
22. MUCHOWSKI PJ, WACKER JL. Modulation of neurodegeneration by molecular chaperones. *Nature Reviews Neuroscience*, 6: 11-22, 2005.
23. WACKER JL, ZAREIE MH, FONG H, SARIKAYA M, MUCHOWSKI PJ. Hsp70 and Hsp40 attenuate formation of spherical and annular polyglutamine oligomers by partitioning monomer. *Natural Structural & Molecular Biology*, 11: 1215-1222, 2004.
24. ARRASATE M, MITRA S, SCHWEITZER ES, SEGAL MR, FINKBEINER S. Inclusion body formation reduces levels of mutant huntingtin and the risk of neuronal death. *Nature*, 431: 805-810, 2004.
25. SELKOE DJ. Cell biology of protein misfolding: the examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Nature Cell Biology*, 6: 1054-1061, 2004.
26. FORMAN MS, TROJANOWSKI JQ, LEE VM-Y. Neurodegenerative diseases: a decade of discoveries paves the way for therapeutic breakthroughs. *Nature Medicine*, 10: 1055-1063, 2004.
27. LANDLE C, BATES GP. Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease. *EMBO Reports*, 5: 958-963, 2004.
28. ROSS CA, POIRIER MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nature Medicine*, 10: 10-17, 2004.
29. TANAKA M, KIM YM, LEE G, JUNN E, IWATSUBO T, MOURADIAN MM. Aggregates formed by α -synuclein and synphilin-1 are cytoprotective. *Journal of Biological Chemistry*, 279: 4625-4631, 2004.
30. SUN Y, MCRAE TH. The small heat shock proteins and their role in human disease. *FEBS Journal*, 272: 2613-2627, 2005.
31. WESTERHEIDE SD, MORIMOTO RI. Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation. *Journal of Biological Chemistry*, 280: 33097-33100, 2005.
32. JÄÄTTELÄ M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Experimental Cell Research*, 248: 30-43, 1999.
33. WANG HH, MAO CY, TENG LS, CAO J. Recent advances in heat shock protein-based cancer vaccines. *Hepatobiliary Pancreatic Diseases International*, 5: 22-27, 2006.
34. KOYASU S, NISHIDA E, MIYATA Y, SAKAI H, YAHARA I. HSP100, a 100-kDa heat shock protein, is a Ca^{2+} -calmodulin-regulated actin-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*, 264: 15083-15087, 1989. (sadece özetidir).

35. ATALAY M, OKSALA NK, LAAKSONEN DE, KHANNA S, NAKAO C, LAPPALAINEN J, ROY S, HÄNNINEN O, SEN CK. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*, 97: 605-611, 2004.
36. NECKERS L, PERCY SI. Heat shock protein 90. *Current Opinion in Oncology*, 15: 419-424, 2003.
37. PEARL LH, PRODROMOU C. Structure and in vivo function of Hsp90. *Current Opinion in Structural Biology*, 10: 46-51, 2000.
38. GARRIDO C, GURBUXANI S, RAVAGNAN L, KROEMER G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochemical and Biophysiological Research Communications*, 286: 433-442, 2001.
39. SCHMITT E, GEHRMANN M, BRUNET M, MULTHOFF G, GARRIDO C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *Journal of Leukocyte Biology*, 81: 1-13, 2007.
40. POULAKI V, ILIAKI E, MITSIADES N, MITSIADES CS, PAULUS YN, BULA DV, GRAGOUDAS ES, MILLER JW. Inhibition of Hsp90 attenuates inflammation in endotoxin-induced uveitis. *FASEB Journal*, 21: 2113-2123, 2007.
41. KREGEL KC. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of Applied Physiology*, 92: 2177-2186, 2002.
42. HARTL FU, HAYER-HARTL M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science*, 295: 1852-1858, 2000.
43. SAKAMOTO N, KOKURA S, OKUDA T, HATTORI T, KATADA K, ISOZAKI Y, NAKABE N, HANDA O, TAKAGI T, ISHIKAWA T, NAITO Y, YOSHIDA N, YOSHIKAWA T. Heme oxygenase-1 (Hsp32) is involved in the protection of small intestine by whole body mild hyperthermia from ischemia/reperfusion injury in rat. *International Journal of Hyperthermia*, 21: 603-614, 2005.
44. VICENCIO A, BIDMON B, RYU J, REIDY K, THULIN G, MANN A, GAUDIO KM, KASHGARIAN M, SIEGEL NJ. Developmental expression of HSP-72 and ischemic tolerance of the immature kidney. *Pediatric Nephrology*, 18: 85-91, 2003.
45. PARCELLIER A, GURBUXANI S, SCHMITT E, SOLARY E, GARRIDO C. Heat shock proteins, cellular chaperones that modulate mitochondrial cell death pathways. *Biochemical and Biophysiological Research Communications*, 304: 505-512, 2003.
46. HORWICH AL, FARR GW, FENTON WA. GroEL-GroES-mediated protein folding. *Chemistry Reviews*, 106: 1917-1930, 2006.
47. ZHAO Q, WANG J, LEVICHKIN IV, STASINOPOULOS S, RYAN MT, HOOGENRAAD NJ. A mitochondrial specific stress response in mammalian cells. *EMBO Reports*, 21: 4411-4419, 2002.
48. BRUDZYNSKI K, MARTINEZ V, GUPTA RS. Immunocytochemical localization of heat-shock protein 60-related protein in beta-cell secretory granules and its altered distribution in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*, 35: 316-324, 1992.
49. SHIN BK, WANG H, YIM AM, LE NAOUR F, BRICHORY F, JANG JH, ZHAO R, PURAVS E, TRA J, MICHAEL CW, MISEK DE, HANASH SM. Global profiling of the cell surface proteome of cancer cells uncovers an abundance of proteins with chaperone function. *Journal of Biological Chemistry*, 278: 7607-7616, 2003.

50. LEBRET T, WATSON RW, MOLINIE V, O'NEILL A, GABRIEL C, FITZPATRICK JM, BOTTO H. Heat shock proteins HSP27, HSP60, HSP70, and HSP90: expression in bladder carcinoma. *Cancer*, 98: 970-977, 2003.
51. CAPPELLO F. HSP60 and HSP10 as diagnostic and prognostic tools in the management of exocervical carcinoma. *Gynecological Oncology*, 91: 661, 2003.
52. POCKLEY AG, BULMER J, HANKS BM, WRIGHT BH. Identification of human heat shock protein 60 (Hsp60) and anti-Hsp60 antibodies in the peripheral circulation of normal individuals. *Cell Stress and Chaperones*, 4: 29-35, 1999.
53. SUN Y, MCRAE TH. Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62: 2460-2476, 2005.
54. MACRAE TH. Structure and function of small heat shock/a-crystallin proteins: established concepts and emerging ideas. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57: 899-913, 2000.
55. MOUNIER N, ARRIGO AP. Actin cytoskeleton and small heat shock proteins: how do they interact? *Cell Stress and Chaperones*, 7: 167-176, 2002.
56. ZHANG H, FU X, JIAO W, ZHANG X, LIU C, CHANG Z. The association of small heat shock protein 16.3 with the plasma membrane of *Mycobacterium tuberculosis*: Dissociation of oligomers is a prerequisite. *Biochemical and Biophysiological Research Communications*, 330: 1055-1061, 2005.
57. HORWITZ J. The function of alpha-crystallin in vision. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 11; 53-60, 2000.
58. OESTERREICH S, WENG CN, QIU M, HILSENBECK SG, OSBORNE CK, FUQUA SA. The small heat shock protein hsp27 is correlated with growth and drug resistance in human breast cancer cell lines. *Cancer Research*, 53: 4443-4448, 1993. (sadece özeti var).
59. ATTUWAYBI BO, KOZAR RA, MOORE-OLUFEMI SD, SATO N, HASSOUN HT, WEISBRODT NW, MOORE FA. Heme oxygenase-1 induction by hemin protects against gut ischemia/reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 118: 53-57, 2004.
60. BERLAND T, OLDENBURG AW. Acute mesenteric ischemia. *Current Gastroenterology Reports*, 10: 341-346, 2008.
61. WILCOX MG, HOWARD TJ, PLASKON LA, UNTHANK JL, MADURA JA. Current theories of pathogenesis and treatment of nonocclusive mesenteric ischemia. *Digestive Diseases and Sciences*, 40: 709-716, 1995. (sadece özeti var).
62. LOCK G. Acute mesenteric ischaemia. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 15: 83-98, 2001.
63. PARK WM, GLOVICZKI P, CHERRY KJ JR, HALLETT JW JR, BOWER TC, PANNETON JM, SCHLECK C, ILSTRUP D, HARMSSEN WS, NOEL AA. Contemporary management of acute mesenteric ischemia: factors associated with survival. *Journal of Vascular Surgery*, 35: 445-452, 2002.
64. VICENTE DC, KAZMERS A: Acute mesenteric ischemia. *Current Opinions in Cardiology*, 14: 453-458, 1999.
65. KOZAR RA, HOLCOMB JB, HASSOUN HT, MACAITIS J, DESOIGNIE R, MOORE FA. Superior mesenteric artery occlusion models shock-induced gut ischemia-reperfusion. *Journal of Surgical Research*, 116: 145-150, 2004.
66. BA ZF, WANG P, KOO DJ, ORNAN DA, BLAND KI, CHAUDRY IH. Attenuation of vascular endothelial dysfunction by testosterone receptor blockade after trauma and hemorrhagic shock. *Archives of Surgery*, 136: 1158-1163, 2001.
67. CERQUEIRA NF, HUSSNI CA, YOSHIDA WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/ reperfusion: a review. *Acta Cirurgica Brasileira*, 20336-20343, 2005.

68. INOUE K, TAKAHASHI T, UEHARA K, SHIMUZU H, IDO K, MORIMATSU H, OMORI E, KATAYAMA H, AKAGI R, MORITA K. Protective role of heme oxygenase 1 in the intestinal tissue injury in hemorrhagic shock in rats. *Shock*, 29: 252-261, 2008.
69. POCKLEY AG, WU R, LEMNE C, KIESSLING R, DE FAIRE U, FROSTEGÅRD J. Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension*, 36: 303-307, 2000.
70. PEETERMANS WE, D'HAENS GR, CEUPPENS JL, RUTGEERTS P, GEBOES K. Mucosal expression by B7-positive cells of the 60-kilodalton heat-shock protein in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 108: 75-82, 1995.
71. LUDWIG D, STAHL M, IBRAHIM ET, WENZEL BE, DRABICKI D, WECKE A, FELLERMANN K, STANGE EF. Enhanced intestinal expression of heat shock protein 70 in patients with inflammatory bowel diseases. *Digestive Disease Sciences*, 44: 1440-1447, 1999.
72. WELSH MJ, GAESTEL M. Small heat-shock protein family: function in health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851: 28-35, 1998.
73. SUGIURA M, KUWABARA Y, MITANI M, SATO A, SHINODA N, KIMURA M, YANO M, MITSUI A, SUZUKI T, FUJII Y. Effect of whole body hyperthermia on ischemia and reperfusion injury of rat intestine: Real-time ATP change studied using ³¹P-MRS. *European Surgical Research*, 34: 306-312, 2002.
74. HONG-GUANG H, ZENG-WEI W, NAN-BIN Z, HONG-YU Z. Role of nitric oxide during early phase myocardial ischemic preconditioning in rats. *Chinese Medical Journal*, 121: 1210-1214, 2008.
75. GUNDUZ A, TUREDI S, MENTESE A, ALTUNAYOGLU V, TURAN I, KARAHAN SC, TOPBAS M, AYDIN M, ERAYDIN I, AKCAN B. Ischemia-modified albumin in the diagnosis of acute mesenteric ischemia: a preliminary study. *American Journal of Emergency Medicine*, 26: 202-205, 2008.
76. ACOSTA S, NILSSON TK, BJÖRCK M. Preliminary study of D-dimer as a possible marker of acute bowel ischaemia. *British Journal of Surgery*, 88: 385-388, 2001.

TEŞEKKÜR

Her zaman ve her yerde içtenlikle belirttiğim şekilde bir mensubu olmaktan büyük gurur duyduğum Uludağ Üniversitesi'ni gelecekte daha iyi temsil edebilmemiz ve bilimsel açıdan daha etkin ve verimli işler yapabilmemiz için son derece önemli olan doktora programımızı düzenleyen, bu konuda emeği geçen herkese ve bu programların önemli yapıtaşlarından biri olan değerli hocamız Prof. Dr. Kasım Özlük'e de tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Kendisine sadece bu oluşumun temelini atıldığı dönemde doktora programlarını düzenleyen ve sürdüren Sağlık Bilimleri Enstitüsü müdürü olarak değil, aynı zamanda doktoramı yaptığım Fizyoloji Anabilim Dalı'nda hem Anabilim Dalı Başkanı hem bir hocamız olarak, bizlere gösterdiği sıcaklık, güven, inanç ve sonsuz sabırla her zaman yanımızda, her zaman arkamızda durduğu için, kendi mesaisi dışında bizlere daha iyi olmamız için her zaman büyük emek sarf ettiği için, bizlere hem insan olarak hem de bir meslektaş olarak gerçekten değer verdiği için tüm kalbimle teşekkür ederim. Yine bu bağlamda tez danışmanım Doç. Dr. Nevzat Kahveci ve Fizyoloji Anabilim Dalı hocalarımıza bize ayırdıkları zaman, gösterdikleri destek ve bilgi paylaşımı için teşekkür ederim. Ayrıca tüm Fizyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına doktora programımız süresince bize sanki yıllardır oranın bir parçasıymış gibi gösterdikleri sıcak ilgi ve alaka için teşekkür ederim.

Fizyoloji doktorası esnasında aktif olarak görev yaptığım Genel Cerrahi Anabilim Dalı hocalarıma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda göreve başladığım günden itibaren, bana her zaman ve her daim destek veren, doktora programı için bölümden uzak kalmak zorunda olduğum zamanlarda iş yükümü benimle paylaşan, desteği olmadan doktora programımı tamamlamamın mümkün olamayacağı değerli hocam Prof. Dr. Tuncay Yılmazlar'a ayrıca sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez deneyimin gerçekleşmesi aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen Dr. Uğur Duman, Dr. Betül Çam Etöz, Dr. Ela Paksoy ve Dr. Ersoy Taşpınar'a, yaptığı I.Ş.P. ölçümleri ile deneyin tamamlanmasında büyük katkıları olan Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Arzu Oral ve histolojik incelemelerle katkı sağlayan Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ömer Yerci ve Uzm. Dr. Berna Çalışır'a, sağladıkları maddi destek nedeniyle Biyotest Sağlık Hizmetleri Ltd. Şti. sahibi Namık Aynacı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ve ayrıca, hem Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki görevimi devam ettirip hem de Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki doktora programıma devam ederken neredeyse hiç vakit ayıramadığım ama buna rağmen şikayet etmeden bana sürekli destek veren, sevgisi ve yaşamdaşlığı olmadan bu zorlu süreci geçmeyi başarmamın mümkün olamayacağı sevgili eşime ve bana bugünlere gelmem için büyük fedakarlıklarla katkı sağlayan aileme en içten, yürekten, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

15.Mart.1974 tarihinde Bursa'da doğdum. İlköğrenimimi Bursa Osmangazi İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Bursa Özel Namık Sözeri Lisesi'nde tamamladım. Tıp Fakültesi Eğitimi'mi 1992-1998 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde, Tıpta Uzmanlık Eğitimi'mi 2000-2005 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda tamamladım. Mezuniyet sonrası aynı bölümde Uzman Doktor olarak görevime devam etmekte olup, 2005 yılından beri de Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora yapmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.