

İntestinal iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda PAF antagonist ginkgo biloba EGB 761'in bağırsak anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi

The effect of the PAF receptor antagonist ginkgo biloba EGB 761 on local ischemia reperfusion injury of healing colonic anastomoses

Okan Demiray*, Nesimi Mecit*, Doğan Gönüllü*, Aysun Şimşek*, F. Nihat Köksoy*, Osman Yücel*, Ferruh İşman**

Amaç:

İntestinal iskemi-reperfüzyonun anastomoz iyileşme süreci üzerine olan olumsuz etkilerini göstermek ve bu olumsuz etkilere yol açan medyatörlerin neden olduğu patolojik mekanizmaları bir platelet aktive edici faktör (PAF) antagonist olan Ginkgo Biloba EGB 761 tedavisi ile engelleyerek anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemek.

Yöntem:

39 adet Wistar-Albino tipi rat her biri 13 rattan oluşan sham, kontrol (iskemi-reperfüzyon) ve çalışma (iskemi-reperfüzyon+EGB 761) gruplarına ayrıldı. Sham grubundaki deneklere orta hat laparotomisini takiben inen kolon transeke edilerek uç uca anastomoz edildi. Kontrol (iskemi-reperfüzyon) grubundaki deneklerde laparotomi sonrası a. mesenterica superior (SMA) atravmatik arteriyel kliplerle kliplenerek iskemi oluşturuldu. Daha sonra inen kolon transeke edilerek anastomoz yapıldı ve iskeminin 30. dakikasinda klipler çıkarılarak reperfüzyon oluşturuldu. Çalışma (iskemi-reperfüzyon+EGB 761) grubundaki deneklere kontrol grubundan farklı olarak ameliyattan 3 gün önce ve ameliyattan 7 gün sonrasına kadar 60 mg/kg/ gün Ginkgo Biloba EGB 761 iki eşit dozda orogastrik yolla verildi. Tüm denekler ameliyattan 7. günü sakrifiye edildikten sonra anastomoz bölgesini içeren inen kolon segmenti rezeke edilerek patlama basınçları ve hidroksiprolin ölçümleri için örneklemeler yapıldı.

Bulgular:

Kontrol (iskemi-reperfüzyon) grubunda, anastomoz patlama basınçları ve hidroksiprolin değerleri sham grubu ve çalışma (iskemi-reperfüzyon+EGB 761) grubu ile istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Sham grubu ile çalışma (iskemi-reperfüzyon+EGB 761) grubu arasında ise bu parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç:

Sham grubundaki patlama basıncı ve hidroksiprolin değerleri, iskemi-reperfüzyonla anlamlı ölçüde azalmış olup, bu değişim EGB 761 kullanımı ile önlenilebilir.

Anahtar Kelimeler:

İskemi-reperfüzyon, PAF antagonist, ginkgo biloba Egb-761.

Anastomoz kaçakları, gastrointestinal sistem cerrahisinde mortalite ve morbiditede en önemli faktör olarak yerini korumaktadır (1,2). Anastomotik iyileşme sürecinin başarısı veya başarısızlığı üzerine pek çok faktör sayılabilir. Anastomozun kanlanması ve oksijenasyonu bunların en önemlisidir. Yara iyileşmesi üzerine doku iskemisinin etkilerinin iyi bilinmesine rağmen anastomoz iyileşmesinde reperfüzyonun etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir (2). İskemi-reperfüzyona bağlı intestinal ve uzak organ disfonksiyonunda rol oynayan pek çok medyatör tanımlanmış olmakla birlikte, platelet aktive edici faktör (PAF) ve serbest toksik oksijen radikallerinin bu süreçte oldukça önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (3-5).

Yapılan bir çok deneysel çalışmada, Ginkgo Biloba Ekstresi EGB 761 ve diğer PAF antagonistlerinin intestinal iskemi reperfüzyona bağlı lokal ve uzak organ sistemlerindeki hasarı azaltabileceği gösterilmiştir (4-10). Ginkgo Biloba Ekstresi olan EGB 761, bir PAF antagonist olup aynı zamanda serbest radikal uzaklaştırıcı aktiviteye sahip bir bileşiktir (11). Bu çalışmada, EGB 761'in intestinal iskemi-reperfüzyon hasarındaki bazı fizyopatolojik mekanizmalar üzerine yapabileceği olumlu etkiler göz önüne alınarak, intestinal iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma Merkezi (TADEM)'nde gerçekleştirildi. Ağırlıkları 250-300 g. arasında olan 45 adet erkek Vistar albino rat kullanıldı. Çalışmada kullanılan denekler bu merkezden sağlandı.

Ginkgo Biloba ekstresi EGB 761 (Tebokan® Fort Damla), Abdi İbrahim firmasından sağlandı.

Biyokimyasal ölçümler Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada cerrahi aletler kullanıldı. Alınan bağırsak örnekleri Biyokimyasal değerlendirmeler için -20 °C derin dondurucuda muhafaza edildi.

Çalışmada kullanılan tüm ratlar deney öncesi bir hafta boyunca aynı laboratuvar ortamında tutuldular. Standart laboratuvar yemi ve su ile beslendiler. Opere edilecek ratlar bir gece önce aç bırakılarak sadece su ile beslenmeleri sağlandı.

2. Ulusal Deneysel Cerrahi Kongresi'nde sunulmuştur. (Ankara, 20-21 Eylül 2003).

* S.B.Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Cerrahi Kliniği, İSTANBUL

** S.B.Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, İSTANBUL

Dr. Okan DEMİRAY

Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Cerrahi Kliniği
Taksim / İSTANBUL

e-posta: drokantayfun@superonline.com

Anestezik ajan olarak eter indüksiyonunu takiben 65 mg/kg dozunda intraperitoneal sodyum pentotal kullanıldı. Laparatomiler 4 cm'lik orta hat insizyonu ile gerçekleştirildi. Dokulardan ısı kaybını azaltmak için, bağırsaklar sıcak ve steril serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlarla örtüldü.

Toplam 45 denekten 39 u çalışmaya alınarak 13'erli 3 gruba ayrıldı. 6 denek çalışma sırasında kaybedildi.

Grup 1 (Sham grubu)

Herhangi bir iskemi modeli oluşturulmaksızın anastomoz iyileşmesinin araştırıldığı bu grupta laparatomiyi takiben mezenterik arter ve mezenterik kollateraller disseke edildikten sonra bağırsak anastomozu yapıldı ve batın kapatıldı.

Grup 2 (İskemi- reperfüzyon grubu)

İskemi reperfüzyon hasarının; anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bu grupta laparatomiyi takiben mezenterik artere klipler uygulanarak iskemi oluşturuldu ve bağırsak anastomozu yapıldı. 30 dakikalık iskemi periyodu tamamlandıktan sonra arter klipleri çıkarılarak karın kapatıldı.

GRUP 3 (İskemi-reperfüzyon+ EGB 761 grubu)

İskemi-reperfüzyonda ginkgo biloba EGB 761'in anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bu gruba; iskemi reperfüzyon grubundan farklı olarak ameliyattan 3 gün önce ve ameliyattan 7 gün sonrasına kadar 64 mg/kg/gün ginkgo biloba (EGB 761) iki eşit dozda orogastrik yolla verildi.

Bağırsak anastomoz modeli: Bütün deneklerde karın girilerek inen kolon bulundu. Peritoneal refleksiyonun 2 cm proksimalinden bağırsak kesilerek 6/0 polipropilen (Prolene, Ethicon,UK®) ile tek kat üzerinden, tek tek sütürler ile uç-uca anastomoz yapıldı. İşlemi takiben intraperitoneal 5 cc NaCl verilerek karın tekrar iki kat üzerinden 3/0 ipek kul-

lanılarak tek tek sütürler ile kapatıldı.

Tüm deneklere ameliyatın 7. günü relaparotomi yapılarak, patlama basıncı ölçümü ve biyokimyasal incelemeler yapıldı. Denekler hidroksprolin seviyesi için anastomoz bölgesini kapsayan kolon segmenti anastomoz hattına zarar vermeyecek şekilde, çevresindeki yapışıklıklar korunarak rezeke edildikten sonra sakrifiye edildiler. Kolon segmentindeki feçes proksimal uçtan serum fizyolojik verilmek suretiyle temizlendi. Takiben çıkarılan segment anastomoz hattının 2 cm proksimal ve distal kısmından kesilerek, patlama basıncı ölçümü ve biyokimyasal incelemeler için standart bir bağırsak uzunluğu elde edildi. Örneklemelerin yapılmasından sonra tüm denekler yüksek doz eter inhalasyonu ile sakrifiye edildiler.

Anastomoz patlama basıncı ölçümleri, detayları daha önce literatürde belirtilen tekniğin bir modifikasyonu olarak gerçekleştirildi. Buna göre, anastomoz hattının proksimal ucundan 18F plastik kateter yerleştirilerek kateter üzerinden 2/0 ipekle kaçak olmayacak şekilde bağlandı. Distal uçta 2/0 ipekle bağlanarak sıvı kaçmayacak hale getirildi. Proksimal uca yerleştirilen kateter 3 yollu musluk yoluyla

dakikada 2 ml sıvı verilecek şekilde ayarlanmış İnfüzyon pompası (Abbott Lifecare 5000®) setine bağlandı. 3 yollu musluğa yerleştirilen diğer bir kateter civalı manometre aletine bağlandı. Tüm deneklerde anastomoz hattından sıvı sızıntısı veya manometreden basınç düşüşü gözlenerek patlama basınçları mmHg olarak kaydedildi. Hidroksprolinin ölçümü bu maddenin kollajenden hidroliz edilip, Kloramin T ile okside olması ve sonra Erlich reaktifi ile reaksiyona girip renkli kromofor bileşikler oluşturması esasına dayanan model ile Taksim Eğitim ve Araştırma hastanesi biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi için tek yönlü ANOVA ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Patlama Basınçları ve Hidroksprolin Düzeyleri

Deneklerden elde edilen materyellerin patlama basınçları ve hidroksprolin düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Her iki parametre için yapılan tek yönlü ANOVA testinde, 3 grup arasında anlamlı fark bulundu. Bu farkın

Tablo 1: Grupların patlama basınçları (mmHg)-hidroksprolin ($\mu\text{mol/gr}$) seviyeleri

Denek No	Sham		İR		İR+EGB 761	
	HP	PB	HP	PB	HP	PB
1-	11.32	150	3.8	120	7.24	100
2-	10.48	138	4.12	140	9.84	140
3-	7.60	142	2.72	105	9.88	135
4-	7.24	140	3.2	122	8.68	145
5-	10.2	145	3.8	110	7.84	120
6-	9.48	146	4.8	115	11	125
7-	4.76	135	7.64	120	11.04	135
8-	8.28	135	3.96	115	8.48	150
9-	7.44	125	8.88	123	9.64	145
10-	4.36	138	7.96	120	7.08	140
11-	4.56	148	6.4	130	10.96	135
12-	7.76	145	3.56	125	6.64	140
13-	4.36	140	3.68	120	9.32	145

İR: İskemi- reperfüzyon, HP: Hidroksprolin, PB: Patlama Basıncı

Tablo 2: Anastomoz Patlama Basınçlarının Median Değerleri	
Gruplar	(mmHg) (Median±Standart Sapma)
S	140.5 ± 6.666
İR	120.4 ± 8.713
İR+EGB 761	135 ± 13.39
S= Sham, İR= İskemi-Reperfüzyon	

Tablo 3: Anastomoz Hidroksiprolin Düzeylerinin Median Değerleri	
Gruplar	(mmHg) (Median±Standart Sapma)
S	7.52±2.43
İR	4.96±2.036
İR+EGB 761	9.04±1.52
S= Sham, İR= İskemi-Reperfüzyon	

hangi gruptan dolayı oluştuğunu ise Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile yapıldı. Gruplar arası anastomoz patlama basınçlarının ortalama değerleri Tablo 2'de, anastomoz hidroksiprolin düzeylerinin ortalama değerleri Tablo 3'de gösterilmektedir.

Anastomoz Patlama Basınçları

ANOVA ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testine göre;

Sham grubu ve iskemi-reperfüzyon grubu: $p < 0.001^*$

Sham grubu ve iskemi-reperfüzyon+EGB 761 grubu: $p > 0.05$

İskemi-reperfüzyon ve iskemi-reperfüzyon+EGB 761: $p < 0.01^*$

Anastomoz Hidroksiprolin Değerleri

ANOVA ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testine göre;

Sham grubu ve iskemi-reperfüzyon grubu: $p < 0.01^*$

Sham grubu ve iskemi-reperfüzyon + EGB 761 grubu: $p > 0.05$

İskemi-reperfüzyon ve iskemi-reperfüzyon+EGB 761 grubu: $p < 0.001^*$

Sonuçlar değerlendirildiğinde, anastomoz patlama basınçları açısından, sham grubu ve iskemi-reperfüzyon grubu arasında anlamlı fark mevcut, sham grubu ve iskemi-reperfüzyon + EGB 761 grubu arasında anlamlı fark yoktu; iskemi-reperfüzyon ve iskemi-reperfüzyon + EGB 761 grubu arasında anlamlı fark bulunmuştu.

Anastomoz Hidroksiprolin değerleri açısından, sham grubu ve iskemi-reperfüzyon grubu arasında anlamlı fark mevcut, sham grubu ve iskemi-reperfüzyon+EGB 761 grubu arasında anlamlı fark yoktu, iskemi-reperfüzyon grubu ile iskemi-reperfüzyon + EGB 761 grubu arasında anlamlı fark bulundu.

Bu değerler ışığında sham grubundaki hidroksiprolin ve patlama basıncı değerleri, iskemi-reperfüzyon oluşunca anlamlı ölçüde değişmekte olup, bu değişim EGB 761 kullanımı ile normale dönmektedir sonucuna varıldı.

Tartışma

İntestinal iskeminin en sık karşılaşılan formlarından olan akut intestinal iskemi, diagnostik ve terapötik modalitelerdeki ilerlemeye rağmen gastrointestinal sistemin major dolaşım bozukluklarından biri olmaya devam etmekte olup, yüksek morbidite ve mortalite oranıyla klinik pratikteki önemini korumaktadır (2,12). Akut mezenterik iskemi vakalarında, mortaliteyi azaltmayı hedefleyen çağdaş yaklaşım agresif tanı ve tedavi protokollerinin sürdürülmesi şeklindedir (12). İskeminin süresi hastanın prognozunu doğrudan etkilemekte, bunun için de erken tanı ve tedavi yaşamsal önem taşımaktadır. Ancak oluşan hasar bifazik karakterli olup iskemi kadar reperfüzyon da oluşan hasarda rol oynar (2,12,13). Parks ve Granger(14), iskemi-reperfüzyon

sürecinde intestinal mukozanın iskemik dönemde az hasarlandığını, hasarın büyük kısmının reperfüzyon döneminde gerçekleştiğini göstermişlerdir. Ayrıca iskemi-reperfüzyonun intestinal modellerinde görülen hasardan reperfüzyonun sorumlu olduğu düşüncesi, iskemi öncesi verilen ajanların mukozal hasarda belirgin azalma sağlaması ile desteklenmiştir (3,4). Erken tanı ile iskemik hasarın azaltılabileceği öngörülse bile, bu yaklaşımda reperfüzyon hasarı ve onun sonuçları hala kaçınılmazdır.

İskemiye yol açan nedenin ortadan kaldırılması ile, oksijenlenmiş kanın iskemik dokulara reperfüzyonu insitu olarak reaktif oksijen moleküllerinin oluşmasına yol açar. Moleküler oksijenden bir dizi tepkime sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri (süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil) aralarında nükleik asitler, membran lipidleri, enzimler ve reseptörlerin bulunduğu biyolojik moleküllere zarar verirler. Bu derece geniş spektrumlu bir hasar, hücre fonksiyonunun bozulmasına, hücre lizisine ve ölümüne yol açabilmektedir. Ayrıca oluşan oksijen radikallerinin Lökotrien B₄ ve platelet aktive edici faktör (PAF) salınımını arttırdığı, bunlarında nötrofil migrasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Bu nötrofiller de reaktif oksijen moleküllerinin bir diğer kaynağıdır. Bundan başka, iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında i-NOS (uyarılabilir nitrik oksit sentetaz) enziminin de

aktive olduğu ve oluşan bol miktardaki nitrik oksitin bağırsağın bariyer işlevini bozarak, bakteriyel translokasyona yol açtığı gösterilmiştir (3,4,12,15).

Park ve ark.(16), 20 dakikalık strangülasyon iskemisine maruz bırakılan ratlarda mukozal hasar saptamamış, 20 dakikanın üzerinde villüs hasarı, 60 dakikayı aşan strangülasyonda transmukozal hasar, 8-12 saatlik total veya totale yakın iskemide ise transmural gangren geliştiğini görmüşler. 20 dakikanın altında veya 8-12 saatlik sürenin üzerindeki iskemilerde reperfüzyonun iskemik hasarı arttırdığına dair veri olmadığını, en belirgin hasarın 40-60 dakikalık iskemi-reperfüzyonla geliştiğini ifade etmektedirler. Buna karşın Megison ve ark. 30 dakikalık derin intestinal iskemi modelinde; ki bu model literatürde tekrarlanabilir ve güvenilir bir model olarak belirtilmektedir, %70 oranında mortalite bildirmişlerdir(17).

Terzi ve ark.(12), 30 dakikalık derin intestinal iskemiden sonra mortalitenin anlamlı olarak (%44) arttığını ve bir ksantin oksidaz inhibitörü olan Allopürinol ile uzun süreli tedavide mortalitenin % 10'lara kadar düştüğünü göstermişlerdir.

Kuzu ve arkadaşlarının çalışmasında, derin mezenterik iskeminin, klinik ve mekanik parametrelerle ölçülen anastomoz iyileşmesini oldukça geciktirdiği gösterilmiş (2). Bir diğer çalışmada da; 40 dakikalık SMA oklüzyonunu takip eden reperfüzyon sürecinde, geçici iskemik mukozal hasarın reperfüzyon sonrası ilk 10 dakikada en yüksek seviyeye ulaştığı, 6.saatte %80 oranında azaldığı ve 12. saatte hemen hemen tamamen geri döndüğü izlenmiştir. Ayrıca, reperfüzyondan 20 dk, 90 dk, 6 saat ve 24 saat sonra yapılan anastomozlarda iyileşmenin geciktiği gösterilmiştir (18).

Koloğlu ve ark.(13) ise, 60 dakikalık segmental ince bağırsak iskemi-reperfüzyonu, tek taraflı alt ekstremitere reperfüzyonu ve renal iskemi-reperfüzyonun sağ kolondaki anastomoz iyileşmesini geciktirdiğini göstermiştir.

Megison ve ark.(17), sıçanların mezenterik kollateral dolaşımının, insanlardaki ile analog olması açısından insandaki klinik soruna en yakın, devamlı ve derin iskemiyeye ancak SMA akımı ile birlikte kollateral dolaşımının da engellenmesi ile ulaşılabileceğini bildirmiştir ve iskemik süre olarak 30 dakika belirtilmektedir. Çünkü, iskemik süreyuzadıkça dokunun oksijensiz kalmasının vereceği hasar reperfüzyon hasarını kat kat geçmekte, doku nekrozu ve hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır (4,12).

Biz derin iskemide bildirilen yüksek mortalite nedeni ile çalışmamızı, mezenterik arterin kliplenmesi ile 30 dakikalık intestinal iskemi oluşturulan rat modelinde gerçekleştirdik ve iskemiyi takip eden reperfüzyonun, anastomoz iyileşmesi süreci üzerine olan etkilerini, anastomoz iyileşmesini gösteren iki parametre kullanarak araştırdık. 30 dakikalık derin iskemi oluşturulduğunda (bütün kollaterallerde bağlanarak) ratlarda %70 lere varan mortalite bildirilmektedir(17). Sham grubuna oranla, iskemi-reperfüzyon grubunda anastomoz patlama basıncı ve hidrosiprolin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunması, intestinal iskemi-reperfüzyonun anastomoz iyileşme sürecini olumsuz etkilediği sonucunu ortaya çıkarmıştır ki bu sonuç literatür bilgilerini destekler niteliktedir. İntestinal iskemi-reperfüzyonun gerek mukozal hasar gibi lokal etkileri gerekse mortalite ve uzak organ hasarını üzerine olan olumsuz etkilerinin bazı ajanlarca azaltılabileceği

deneysel çalışmalarla gösterilmesine rağmen (ki bu çalışmalarda PAF antagonistleri sıklıkla kullanılmıştır) intestinal iskemi-reperfüzyonun neden olduğu anastomoz iyileşmesindeki gecikmeye yönelik herhangi bir ajan kullanımı oldukça çok az sayıda çalışmada incelenmiştir.

Tekin ve ark., rat modelinde oluşturdukları 30 dakikalık SMA oklüzyonu sonrası reperfüzyona bağlı sol kolon anastomoz iyileşmesinin geciktiği ve bu gecikmenin Antitrombin III ile anlamlı olarak düzeltilmediğini ifade etmektedirler (19).

Kubes ve ark., intestinal iskemi-reperfüzyon sonrası PAF seviyelerindeki artışın ve bunun yol açtığı lökosit adezyonu ve ekstrasvazasyonunun PAF antagonistleri ile önlenilebileceğini göstermiştir (3,4).

Stammerger ve ark.'nın rat modelinde uyguladıkları akciğer transplantasyonu sonucu gerçekleşen iskemi-reperfüzyon hasarını önlemek amacıyla kombine kullandıkları PAF antagonisti TCV-309 ile endotelin reseptör antagonisti TAK-044'ün myeloperoksidaz aktivitesinde, lipid peroksidasyonunda ve nötrofil migrasyonunda azalmaya yol açarak, erken greft rejeksiyonunun önlenmesinde bu antagonistlerin kullanılabilir olduğunu göstermişlerdir (19). Minyatür domuz modelinde yapılan diğer bir çalışmada ise intravenöz lipopolisakarid (LPS) uygulaması sonrasında, PAF antagonisti SAH-63-67510 kullanımı ile LPS e bağlı antrum, jejunum, ileum ve çekumda gözlenen elektrik aktivite inhibisyonunun geri döndüğü fakat LPS in neden olduğu negatif hematolojik parametrelerde değişiklik olmadığı gösterilmiştir(20).

Şu ana kadar söz konusu olan PAF antagonistlerine ek olarak yine bir PAF antagonisti olan, aynı zamanda serbest radikal uzaklaştırıcı etkisinin yanında vasküler relaksasyonu

özeliği de olan Ginkgo Biloba ekstresi EGB 761 de, bir çok iskemi ve/veya iskemi-reperfüzyon modelinde kullanılmıştır.

EGB 761, ince bağırsak iskemisi ile beraber görülen mukozal hasarı azaltıcı etkiye sahiptir. Ayrıca myokardial iskemi-reperfüzyona bağlı ani kardiyak ölümlerin en sık sebebi olan ventriküler fibrilasyon oranını azaltıcı etkisi de gösterilmiştir (21).

SMA oklüzyonu ile iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda 50 mg/Kg EGB 761 kullanılması sonucunda; kontrol grubuna oranla mukozal hasarın azaldığı, intestinal mukozadaki Malondialdehit (MDA) ve Myeloperoksidaz seviyelerinin anlamlı olarak düşük olduğu gösterilmiştir (8). Yine EGB 761 kullanımı ile sıcak hepatik iskemi-reperfüzyonu uygulanan ratlarda, hepatik mikrosirkülasyonun iyileştiği ve lökosit adezyonunun azaldığı görülmüştür (11,22).

Kronik hipoksiye maruz bırakılan ratlarda EGB 761 kullanılması ile serbest radikal üretiminin anlamlı olarak düşük bulunduğu, bu olumlu etkinin özellikle yüksek doz (50 mg/kg) EGB 761 kullanılan grupta daha belirgin olduğu saptanmıştır (10). Bir diğer çalışmada soğuk stres ve %100 etanol gavajıyla yaratılan gastrik mukozal hasarın, EGB 761 ile önlenilebileceği sonucuna varılmıştır (23). Gerek intestinal gerekse diğer organlara ait iskemi-reperfüzyon sonucu gelişen lokal ve uzak organ hasarının, PAF antagonistleri ile kismende olsa engellenebileceği gös-

terilmiş olmakla birlikte, bu süreçte EGB 761 de dahil olmak üzere adı geçen diğer PAF antagonistlerinin iskemi-reperfüzyon modelinde anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, anastomoz iyileşmesindeki değişimler, patlama basıncı ölçümleri ve perianastomotik hidroksiprolin seviyesi ölçümleriyle değerlendirilmiştir.

Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, intestinal iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda, anastomoz patlama basınçları ve hidroksiprolin değerleri diğer gruplarla istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur. EGB 761 tedavisi ile iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda anastomoz patlama basınçları ve hidroksiprolin düzeyleri, iskemi-reperfüz-

yon grubuna oranla anlamlı olarak yükselmiştir. Yani sham grubundaki patlama basıncı ve hidroksiprolin değerleri, iskemi-reperfüzyonla anlamlı ölçüde negatif olarak değişmekte, bu değişim EGB 761 kullanımı ile normale dönmektedir. Bu sonuçlar; EGB 761'in iskemi-reperfüzyonun neden olduğu endotelial ve epitelyal hasarı önleyerek intestinal, kardiyovasküler ve pulmoner hasarı kismende olsa düzelterebileceği gibi etkilerine atfedilmiştir. Bu sonuçtan hareketle; EGB 761'in intestinal iskemi-reperfüzyon nedeniyle olumsuz etkilenen anastomoz iyileşmesinde bir tedavi modalitesi olabileceği inancını taşımakla birlikte bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Summary:

The effect of PAF antagonist ginkgo biloba EGB 761 on healing of colonic anastomoses in rats with local ischemia reperfusion injury.

Purpose: To show the negative effects of intestinal ischemia and reperfusion over anastomotic healing and to prevent the harmful effect of pathological mechanisms, caused by mediators, through treatment with Ginkgo Biloba EGB 761, a platelet activating factor (PAF) antagonist.

Material and Methods: 39 Wistar-Albino rats were divided into three groups of 13; sham, control (ischemia and reperfusion) and study (ischemia-reperfusion+EGB 761) groups. The rats in the sham group were subjected to descending colon transection and end-to-end anastomosis after a midline laparotomy. In the control group rats (ischemia and reperfusion), an ischemia was created by clipping SMA with atraumatic clips, following midline laparotomy. Subsequently, anastomosis was done by descending colon transection, and reperfusion was restored at 30 minutes by removal of the clips. The rats in the study group received two equal parts of 60 mg/kg/day Ginkgo Biloba EGB 761 per oral b.i.d. starting three days before the operation, and ending on the 7th postoperative day. All rats were sacrificed on the 7th postoperative day and the colonic segments including the anastomotic area were resected and sampled for measurements of bursting pressure and hydroxyproline levels.

Results: Anastomosis bursting pressures and hydroxyproline levels were found to be significantly lower in the control group (ischemia-reperfusion) compared to sham and study groups (ischemia-reperfusion+Ginkgo Biloba EGB 761). No statistically significant difference was determined between sham and study groups in terms of these parameters.

Conclusion: The bursting pressure and hydroxyproline values in sham group are significantly decreased by ischemia-reperfusion and this decrement can be prevented by EGB 761.

Key Words: Ischemia-reperfusion, PAF antagonist, ginkgo biloba EGB-761.

KAYNAKLAR

- 1- Oruç T, Özçay N, Gündoğdu H, Turhan N, Akoğlu M, Atalay F. Mekanik barsak obstrüksiyonu oluşturulan ratlarda büyüme hormonu ve pentoksifilin kullanımının intestinal anastomoz yara iyileşmesi üzerine etkisi. Ankara Cerrahi Dergisi 2001;12: 192-197
- 2- Kuzu MA, Köksoy C, Kale İT, Tanık A, Terzi C, Elhan AH. Reperfusion injury delays healing of intestinal anastomosis in a rat. Am J Surg. 1998; 176: 348-351
- 3- Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. Br J Surg 1994; 81: 637-647
- 4- Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-68
- 5- Sun Z, Wang X, Deng X, Lasson A, Soltesz V, Borjesson A, Andersson R. Beneficial effects of lexipafant, a PAF antagonist on gut barrier dysfunction caused by intestinal ischemia and reperfusion in rats. Dig Surg 2000;17;1: 57-65
- 6- Souza DG, Cara DC, Casalli GD, Coutinho SF, Silveira MR, Andrade SP, Poole SP, Teixeira MM. Effects of the PAF receptor antagonists UK74505 on local and remote reperfusion injuries following ischaemia of the superior mesenteric artery in the rat. Br J Pharmacol 2000; 131: 1800-1808
- 7- Carter MB, Wilson MA, Wead WB, Garrison RN. Platelet-Activating Factor mediates pulmonary macromolecular leak following intestinal ischemia-reperfusion. J Surg Res 1996;60; 2:403-408
- 8- Pehlivan M, Dalbeler Y, Hazinedaroğlu S, Arıkan Y, Günel O, Türkcapar N, Türkcapar AG. Assessment of the effect of ginkgo biloba EGB 761 on ischemia reperfusion injury of intestine. Hepatogastroenterology 2002;49;43: 201-204
- 9- Noel AA, Hobson RW, Duran WN. Platelet-Activating Factor and Nitric Oxide mediate microvascular permeability in ischemia reperfusion injury. Microvascular Research 1996;52; 3: 210-220
- 10- Louarji A, Harraga S, Godot V, Toubin G, Kantelip JP, Magnin P. The effect of ginkgo biloba extract on free radical production in hypoxic rats. Biol Pharm Bull 2001;24;6: 710-712
- 11- Schutte A, Topp SA, Knoefel WT, Brillhoff S, Mueller L, Rogiers X, Gundlach M. Influence of ginkgo biloba extract (EGB 761) on expression of EGR-1 mRNA and HSP-70 mRNA after warm ischemia in the rat liver. Transplantation Proceedings 2001;33;7-8: 3724-3725
- 12- Terzi C, Kuzu A, Tanık A, Kale T, Aşlar K, Elhan A. Sıçanlarda intestinal iskemi modelinde profilaktik kısa ve uzun süreli yüksek doz Allopurinol kullanımının mortaliteye etkisi. Klinik ve Deneysel Cerrahi Dergisi 2000;8;1: 10-16
- 13- Koloğlu M, Yorgancı K, Renda N, Sayek İ. Effect of local and remote ischemia reperfusion injury on healing of colonic anastomoses. Surgery 2000;128;1: 99-104
- 14- Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986;250:749-753
- 15- Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis 2000;21;3:361-370
- 16- Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Falt K. The sequence of development of intestinal tissue injury after ischemia and reperfusion. Surgery 1990;107: 574-580
- 17- Megison SM, Horton JW, Chao H, Walker PB. A new model for intestinal ischemia in the rat. J Surg Res 1990;49: 168-174
- 18- Demiroğulları B, Sönmez K, Türkyılmaz Z, et al. Comparison of consequent small bowel anastomoses after transient ischemia: An experimental study in rats. J Pediatric Surg 1998;33;1: 91-93
- 19- Tekin K, Aytekin FO, Özden A, Bilgihan A, Erdem E, Sungurtekin U, Güney Y. Antithrombin III prevents deleterious effects of remote ischemia-reperfusion injury on healing of colonic anastomoses. Am J Surg 2002;184;2:160-165
- 20- Stammberger U, Carboni GL, Hillinger S, Schneider D, Weder W, Schmid RA. Combined treatment with endothelin- and PAF antagonists reduces posttransplant lung ischemia/reperfusion injury. The Journal of Heart and Lung Transp 1999;18;9: 862-868
- 21- Wechsung E, Houvenaghel A. Involvement of platelet activating factor in the endotoxin-induced effects on gastrointestinal electrical activity and some haematological parameters in the conscious miniature pig. J Vet Pharmacol Ther 2000;23;5: 323-327
- 22- Braquet P, Koltai M. Vasculoprotective effect of the platelet-activating factor antagonist ginkgolide B isolated from Ginkgo biloba leaves. Advances in Ginkgo biloba Extract Res. 1993;3: 79-94
- 23- Wang Q, Zhao WZ, Ma CG. Protective effects of Ginkgo Biloba extract on gastric mucosa. Acta Pharmacol Sin 2000; 21;12: 1153-1156