

**ARAŞTIRMA
MAKALESİ**

Mustafa Hancı¹
Ali Parlar²
S. Oktay Arslan³

¹ Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye
² Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye
³ Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Yazışma Adresi:
S. Oktay Arslan
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
E-mail: soarslan@gmail.com

Geliş Tarihi: 16.02.2019
Kabul Tarihi: 11.11.2019
DOI: 10.18521/kt.498768

Konuralp Medical Journal
e-ISSN1309-3878
konuralptipdergi@duzce.edu.tr
konuralptipdergisi@gmail.com
www.konuralptipdergi.duzce.edu.tr

Siçan İnce Barsak İskemi/Reperfüzyon Hasarında İleum ve Akciğer Dokusunda Görülen Damar Dışına Protein Kaçışının, Kanabinoid 2 Reseptör Agonisti (Am-1241) ile Kontrolü

ÖZET

Amaç: Kanabinoid 2 reseptör agonistinin İskemi/Reperfüzyon (İ/R) hasarı modelinde anti-inflamatuvar etkisinin olup olmadığını kanıtlamaktır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada; siçanlarda barsak iskemi ve reperfüzyon modeli oluşturuldu. Kanabinoid 2 reseptör agonisti (AM-1241), iskemi ve reperfüzyon oluşturmada hemen önce abdominal venden (iv) verildi. Sonrasında evans mavisi iv olarak uygulandı. Dokulara evans mavisinin geçişi çıplak gözle görüldü. Bu aşamadan hemen sonra siçanın göğüs kafesi açıldı ve sistemik kan dolaşım havuzu usulüne uygun olarak boşaltıldı. Dokular tartıldıktan sonra 48 saat formamidde inkübasyona bırakıldı ve spektrofotometrede 620 nm dalgaboyunda ölçüm yapıldı.

Bulgular: İ/R grubu şam kontrol grubunu göre yaklaşık % 803 evans mavisi kaçıışı izlendi. İ/R ve İ/R+CB2 agonist arasındaki fark ise agonistin proteinleri tutup, protein ve evans mavisinin doku sıvısına geçişini azalttığı görülür.

Sonuç: Kanabinoid 2 reseptör agonistinin, hem ileum dokusunda ve hem de uzak organda (akciğer) kılcal damarlardan dokuya protein kaçışımını engellediği ve dolayısıyla ileum İ/R hasarında antiinflamatuvar etki gösterdiği bulundu.

Anahtar Kelimeler: Kannabinoid, İskemi/Reperfüzyon, Evans Mavisisi, Plazma Kaçıışı.

Regulation of Protein Escape Outside of Vasculars on Ileum and Lung Tissues with Cannabinoids 2 Receptor Agonist (Am1241) In Ischemia/Reperfusion Rat Intestine Model

ABSTRACT

Objective: To prove whether the cannabinoid 2 receptor agonist has an anti-inflammatory effect in the model of Ischemia/Reperfusion (I/R) injury.

Methods: Intestinal ischemia and reperfusion model was created in rats. The cannabinoid 2 receptor agonist (AM-1241) was given through the abdominal vein (iv) just before creating ischemia and reperfusion. Afterwards, evans blue was applied iv. The transition of evans blue to the tissues was seen with the naked eye. Immediately after this stage, the systemic blood circulation pool was emptied properly. Tissues were incubated at formamide for 48 hours after weighing, and measurements were made at a wavelength of 620 nm on a spectrophotometer.

Results: About 803% evans blue escape was observed in the I/R group compared to the sham control group. The difference between the I/R and the I/R+CB2 agonist is that the agonist holds proteins and reduces the transition of protein and evans blue to tissue fluid.

Conclusions: The cannabinoid 2 receptor agonist was found to inhibit the escape of protein from both the ileum and the distant organ (lung) capillaries, and thus showed antiinflammatory effect in the ileum I/R injury.

Keywords: Cannabinoid, Ischemia and Reperfusion, Evans Blue Dye, Plasma Leakage

GİRİŞ

Cannabis sativa, bilinci değiştirici ve rahatlatıcı amaçla kullanılan bir bitki türüdür. Bu bitkinin çiçek, tohum ve yaprak gibi dokularında kanabinoid (CB) reçinesi bulunur (1). Endokanabinoidler, CB reseptörlerine seçici olarak yüksek afinite ile bağlanan, onların üzerinde biyolojik etkiler oluşturma özelliğine sahip endokanabinoidlerdir (Tablo 1). En önemli endokanabinoidler anandamid ve 2-araşidonil gliserol (2-AG)'dür (2).

Tablo 1. Kanabinoidler

No	Ajan	Etki	Yorum
1	Δ^9 -THC	CB1-CB2 agonist	psikoaktif bileşen
2	Kanabidiol	Bilinmeyen etki	nonpsikoaktif bileşen
3	Anandamid	CB1 agonist persiyel	TRPV1 bağlar
4	2-AG	CB1-CB2 agonist	Reseptörleri aktifleştirir
5	CP55940	CB1-CB2 agonist	Halüsinasyon
6	HU-210	CB1-CB2 agonist	Yüksek potentli
7	HU-211	Etkisiz	Nöroprotektif
8	SR144528	CB2 antagonist	Ters agonist
9	AM251	CB1 antagonist	Hafıza

Kanabinoidlerin günümüzde CB1 ve CB2 olarak bilinen iki tip reseptörü tanımlanmıştır (3). Bu reseptörler inhibitör G proteinleri sınıfına aittir. CB1 reseptörleri Ca²⁺ kanallarını inhibe edip, K⁺ kanallarını etkinleştirir. CB1 reseptörü daha ziyade MSS'nde bulunur. Çevresel sinir sisteminde ise her iki reseptör birlikte bulunur (3). CB2 reseptörleri, kan hücreleri, bağışıklık sistemi, özellikle B hücreleri, mast hücreleri, T4-T8 ve makrofajlarda vardır (4,5).

CB1 ve CB2 reseptör antagonistleri günümüzde, zayıflama ilaçları, sigara bıraktırma, obezite, depresyon ve intihar girişimi gibi klinik durumlarda reçetelenmektedir. Endokanabinoidlerin diğer bir fizyolojik etkisi de sinir hücrelerini korumasıdır. İskemi ve hipoksinin sonucunda MSS'nde anormal glutamat artışı sinir hücrelerine zarar vermektedir. Parkinson, damar tıkanıklığı ve Alzheimer gibi hastalıklarda kronikleşen sinir hücresi hasarında rolü olduğu bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar, kan basıncının ve oksijen rakikallerinin azalması neticesinde hücredeki bu hasarı azaltıcı etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (5-7).

İskemi olayı hücrelerde organik monomerlerin azalmasına sebep olur ve oksijenli solunumla üretilen adenosin trifosfat (ATP) miktarı azalır. Bu durum hücre içi aktif taşıma olaylarını, hücre zarından madde alış verişini zorlaştırır ve hücreye daha çok kalsiyum, su girişi gerçekleşir. Sinir hücrelerinde sodyum potasyum pompası bozulması ile akson boyunca iletilen uyarılarda gecikme olur. Reaktif oksijen türevleri (ROS) hücre içindeki derişimi artmaya başlar. Doku hücrelerine

yeniden oksijen verilmeye başlandığında ROS çeşitleri sayısı ve miktarı artar. İskemi aynı zamanda hücre içindeki bazı enzimlerin sentezlenme hızını artırırken, bazı enzim türevlerinin de üretilmesini yavaşlatır (8). Reperfüzyon sırasında doku veya hücrelere yoğun bir şekilde oksijen geldiği için geri dönüşümsüz hasara yol açabilir (9). Hasara neden olan başlıca etkenler makrofajlar, akyuvarlar ve endotel hücreleridir (10). Reperfüzyon sonrasında damarların endotel hücrelerinde denge bozulur. Bu bozulma zamanla NO miktarının azalmasına sebep olur (9). İ/R hasarı sırasında sitokinlerin miktarlarındaki artış, makrofaj, nötrofil ve lenfosit miktarlarını da doğru orantılı artırmıştır. İskeminin gerçekleşmesi makrofajlardan sitokin salınımını artırdığı görülmüş ve daha kısa zamanda reperfüzyon hasarını meydana getirmiştir. T-lenfositlerin aktifleşmesi ise reperfüzyon hasarını azaltmaktadır. Adezyon moleküllerinin de iskemiye akciğer damarındaki endotel hücrelerinde sayısının arttığı görülmüştür. Bu moleküllerden p-selektin, intraselüler adezyon ve CD18 gibi moleküllerin, akciğer reperfüzyon hasarını azaltıcı rol oynadığı düşünülmektedir (11). Akciğer alveollerinde bulunan oksijen iskemi sırasında hücredeki oksijenli solunumun devam etmesine katkıda bulunur (11).

İnce bağırsak İ/R hasarı sıklıkla görülebilen bir klinik vakadır. Tromboz, emboli, tümör, fibrötik bant gibi damar içi ve damar dışı yapılan uygulamalarla incebağırsaklarda iskemi oluşması mümkündür. Aynı zamanda damar içi tıkanıklığı oluşturmeyen düşük tansiyonda dokulara giden kanın akış hızı azalacağından iskemi gelişme ihtimali yüksektir. Kalın bağırsakta görülen iskemi ise inen kolon ve rektumda oluşur. Buraya gelen arterlerin az olmasından kaynaklanan beslenme yetersizliği gelişir (12).

Ratlarda ovalbumin ile duyarlılaştırılmış, kapsaisin ve ovalbuminin damar içi verilmesi deneylerde yer almıştır (13). Ayrıca, morfinin solunum yolundaki dokulardan plazma sızıntısını durdurduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (5).

Bu çalışmanın amacı; kanabinoid 2 reseptör agonistinin (AM-1241) sıçanlarda bağırsak iskemi reperfüzyon hasarında doku sıvısına geçen protein miktarına etkisini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Hayvanlar: Bu çalışmaya ilişkin, Düzce Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (DÜ-HADYEK) 2011/006 nolu etik kurul izni alınmıştır. AM-1241 kanabinoid reseptör agonisti Sigma-Aldrich (ABD) firmasından elde edilmiştir.

Deneyde 18 adet (180 ± 30g) vistar albino dişi sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele 3 gruba ayrılmıştır. Deney hayvanlarının tamamı, çalışma

boyunca 22 ± 5 °C oda ısısında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü bulunan ortamda takip edilmiştir. Hayvanların su ve besin ihtiyaçları günlük karşılanmıştır.

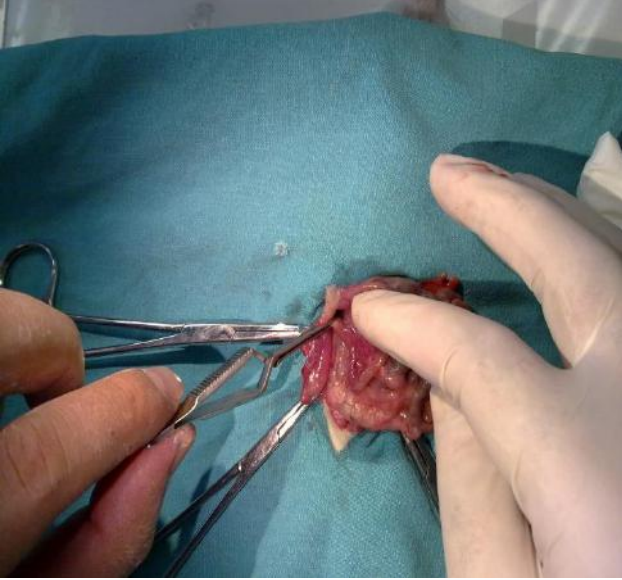
Çalışmalar Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda Tıbbi Farmakoloji ve Biyoteknoloji laboratuvarında bulunan cihaz, teknik malzeme ve sarf malzemeler kullanılmıştır.

Bu çalışmada her birisinde 6 sıçan olmak üzere, 3 grup olmak üzere toplamda 18 sıçan kullanıldı. Grup isimleri (I) şam-kontrol, (II) İ/R grubu ve (III) İ/R+CB2 Agonist grup olarak isimlendirildi. Şam-kontrol grubdaki sıçanların batın açılıp sadece gözlem yapıp batın kapatıldı. Diğer gurplar ise batın açılmasının ardından SMA 30 dakika mikroklem ile oklüze edildi ve 180

dakika reperfüzyon yapıldı. Son 10 dk 0.3 ml evans mavisini verildi. Kalbin sol aortuna kanülle girilip heparinli serum fizyolojik ile temizlendi. İ/R+CB2 Agonist grubuna yukarıdaki işlemler yapılmadan 10 dk önce AM-1241 agonisti DMSO'da çözüldü (5mg/kg) ve abdominal venden 0.3ml hacimde verildi. En son işlem olarak alınan dokular tartıldı yarısı 2ml formamid diğer yarısı da inkübatöre konuldu. İki gün sonra tekrar dokular tartıldı.

Yöntem

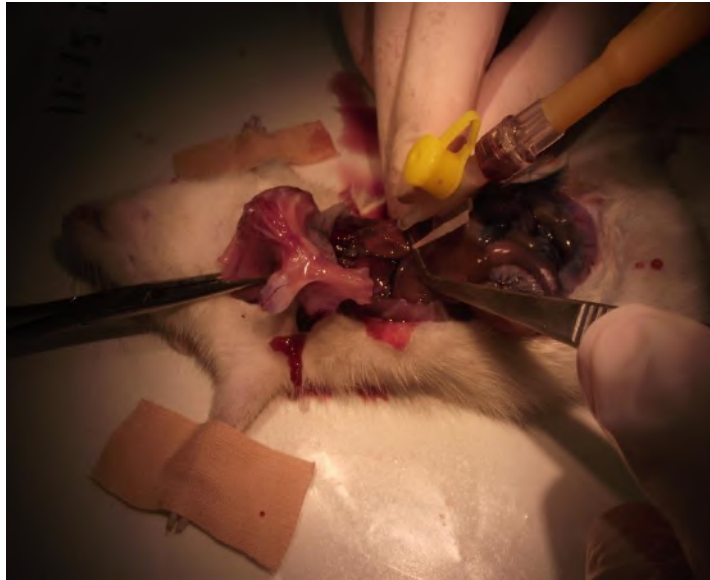
İ/R Modelinin Oluşturulması: Daha önce kullanılan yöntemlerden faydalanılmıştır (14). Sıçanlarda İ/R hasarı modeli oluşturuldu, akciğer ve ileum dokularındaki plazma sızıntısı miktarları spektrofotometrede (UV) ölçüldü. Kontrol grubu üzerinde Süperior mezenterik arter (SMA) mikroklemple kısmen daraltıldı ve 30dk'lık iskemi ile dokulara giden oksijen akışı azaltıldı (Resim 1).



Resim 1. SMA'nın mikroklemple ile bağlanarak iskemi oluşturulması.



Resim 2. Abdominal venden evans mavisinin sıçana verilmiş durumu.



Resim 3. Kanülle kalbin aortuna girilerek SF ile temizlenmesi.

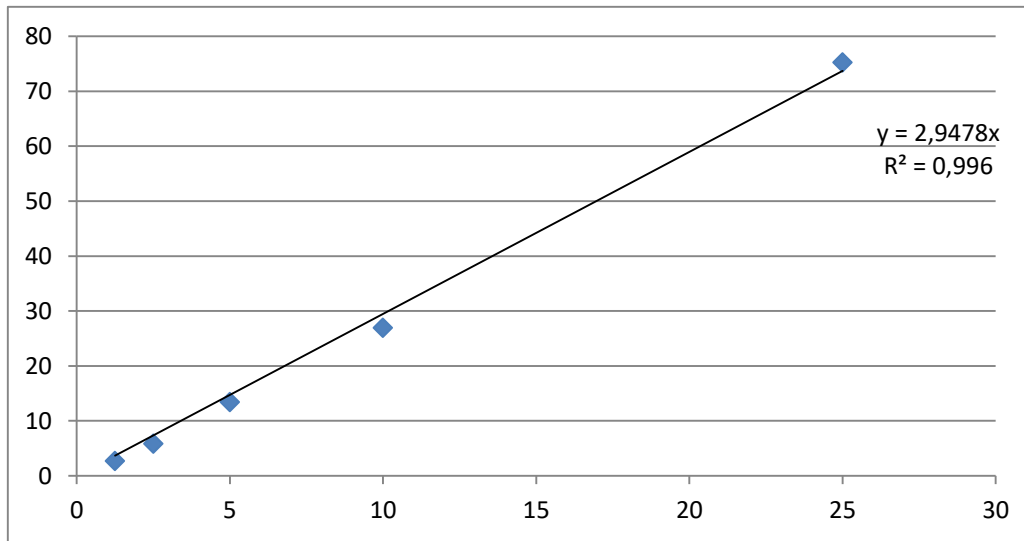
Sonrasında bağlanma açılarak 180dk reperfüzyon yapıldı. Son 10dk'lık zaman diliminde ise evans mavisi abdominal venden uygulama yapıldı (Resim 2). Dokulara evans mavisinin geçişi çıplak gözle görüldü. Bu aşamadan hemen sonra sıçanın göğüs kafesi açıldı ve sistemik kan dolaşım havuzu usulüne uygun olarak boşaltıldı (Resim 3). Heparinli SF 20ml enjektör ile birkaç defa uygun basınçta enjekte edilerek tüm vücut damarları kandan temizlendi. Hayvanın akciğer ve ileumu hassas bir şekilde alındı. İleumun dış kısmını saran yağ dokuları da temizlendikten sonra yaklaşık olarak eşit olacak şekilde iki parçaya ayrıldı. Bu doku parçaları kâğıt havlu ile kurutulmuş ve hassas terazide tartılıp, ağırlıkları mg olarak yazıldı. Bir parçası kuruması için 48 saat boyunca 60°C inkübatöre konuldu. Diğer parçası ise 2 ml formamid bulunan cam tüp içine konulmuş ve oda sıcaklığında 48 saat bekletildi. Akciğer dokusu da yaklaşık olarak eşit olacak şekilde 2 parçaya ayrıldı ve kâğıt havlu ile kurutulduktan sonra hassas terazide tartıldı. Akciğer parçalarının bir tanesi üstü açık cam kaba konularak 48 saat boyunca kuruması için 60°C sabit sıcaklıkta bulunan inkübatöre konuldu. Diğer parça aynı ileumda olduğu gibi 2 ml formamid içeren cam tüpün içine konuldu ve oda sıcaklığında 48 saat bekletildi. Dokular 48 saat sonra bu ortamdan alınarak hassas terazide tekrar tartıldı. Formamidli sıvı numunelerin UV

spektrometre cihazında 620 nm dalga boyunda ölçülebilmesi için formamidli standartları hazırlandı. Cam tüpler içindeki yağ dokuların sıvısı mikropipetle alındıktan sonra UV kuvvetlerine dolduruldu. Bu sıvılar ve standartlar ölçülmek üzere cihaz sıralarına göre yerleştirildi. Kalibrasyon grafiği elde edildi ve formamidli sıvılarda Evans boyası okutuldu.

İstatistik Analiz: SPSS'e veriler girilerek gruplar arasında homojen dağılım kontrol edildi. $P < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi. İki grup arasında akciğer ve ileum dokuları evans mavisi konsantrasyonu grupların ortalama hatası (ng/mg) olarak sunuldu. Gruplar arasında oluşan farklılıkları karşılaştırma yaparken one-way analysis of variance (ANOVA), ileum karşılaştırmada student-newman-keuls çoklu karşılaştırma testi, akciğer karşılaştırmada bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

BULGULAR

Kalibrasyon eğrisi: Akciğer ve ileum dokularının formamid içindeki derişim miktarları standart verilerine göre spektrofotometre cihazında okutularak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Güvenilir aralıkta kullanılan formamid sıvısındaki evans miktarları mg/ml olacak şekilde hesaplandı. Evans mavisi için kalibrasyon eğrisinin denklemi $y = 2,9478x$ değerinde ve R^2 denklemin değeri 0,996 olarak bulunmuştur (Grafik 1).



Grafik 1. Evans mavisi kalibrasyon eğri.

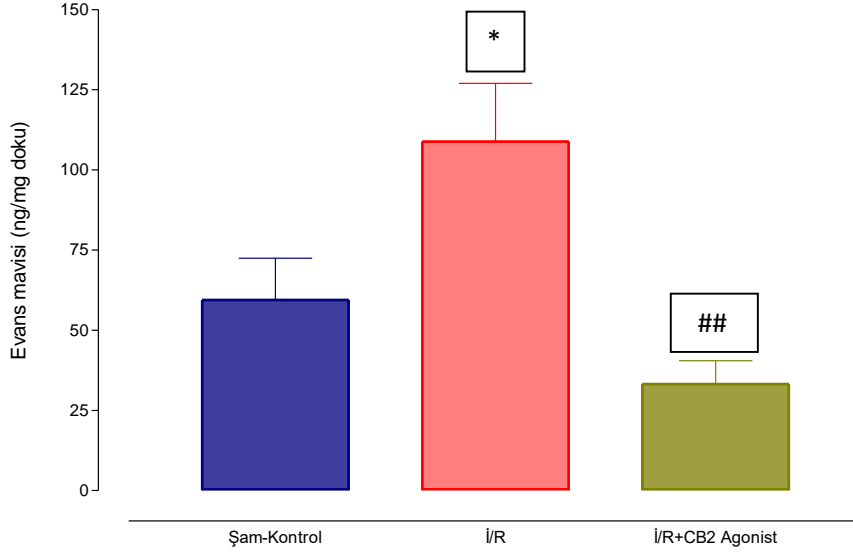
İleum dokusunda protein kaçı miktarları: İleum dokusunda kılcal damardan doku sıvısına geçen protein ve evans mavisi değerleri şam-kontrol, İ/R ve İ/R+CB₂ agonistinin gruplar arasında karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şam-kontrol grubu ile İ/R grubu arasındaki farkın yüksek olmasının sebebi doku hasarının artışına bağlı olarak kılcal damar geçirgenliğinin artmasıdır.

Deney hayvanlarına abdominal venden 0.3ml evans mavisi verilip 10dk bekletilmiştir. Doku sıvısının içindeki evans mavisi

spektrofotometre ile ng/mg olacak şekilde ölçülmüştür. Şam-kontrol grubunda standart grub ortalaması 59.40 ± 13.08 , İ/R grubunda 108.80 ± 18.18 ($P < 0.05$), İ/R+CB₂ agonisti grubunda ise bu; 33.20 ± 7.26 ($P < 0.05$) değerleri bulunmuştur. Agonist, akciğer dokusunda göstermiş olduğu etkiyi ileumda da evans mavisinin proteinlere bağlanması ile aynı sonuca varılmıştır. İ/R + CB₂ agonisti ileum dokusunda hasar olmasına rağmen kılcal damardan doku sıvısına protein geçişini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Akciğer ve

ileum dokularından protein sızıntı miktarları birbirinden farklı olduğu tesbit edilmiştir. Agonistin hasar verme durumuna göre bırakacağı etki doku

çeşitlerine göre değiştiği sonucuna varmak mümkündür (Grafik 2).



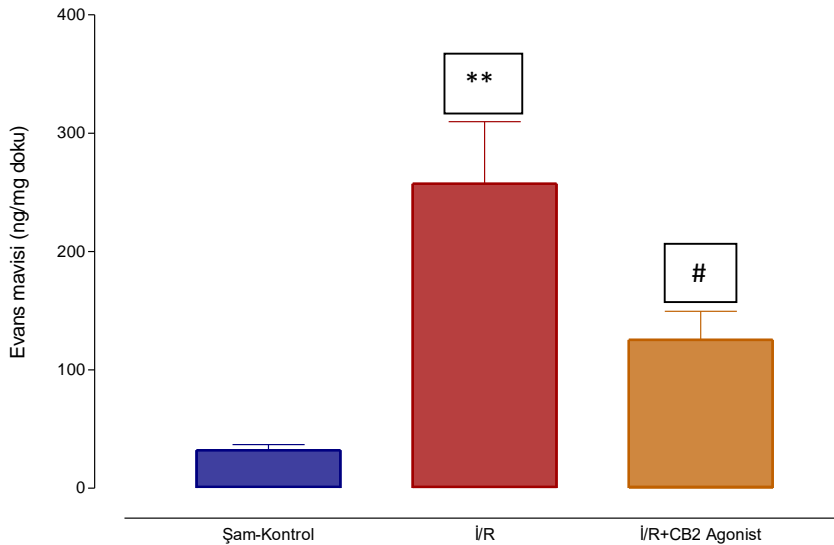
Grafik 2. İleum dokusunda protein kaçıışı. *İ/R grubu ile şam-kontrol grubu karşılaştırması (*P<0,05), İ/R+CB2 Agonist grubu ile İ/R grubu karşılaştırması (##P<0,01).

Akciğer dokusunda protein kaçıışı miktarları: Akciğer dokusunda protein kaçıışının miktarı karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Kontrol grubu ile İ/R grubu arasında evans mavisinin kılcal damarlarda proteinlere ne kadar bağlandığı ve doku sıvısına geçişi hakkında bilgi verir.

Deney hayvanlarına abdominal venden (0.3ml) evans mavisini uygulaması yapılmıştır. Şam-kontrol 32.20±4.78, İ/R 257.20±52.57 (P <0,05), İ/R+CB₂ agonist 125.40±24.03 (P<0,05) sonuçları bulunmuştur. Dokularda kan ve oksijen miktarının 30dk azalması hücrelere ulaşacak olan besin ve oksijen miktarını azaltmıştır. Reperfüzyonun 180dk yapılması ve hücrelere ulaşan oksijen

yoğunluğundaki artış dokulardaki hasar boyutunu artırmıştır. Buna bağlı olarak doku sıvısına geçen evans mavisinin artışı proteinlerin evans mavisine bağlanmaları sonucunda İ/R durumunda evans mavisini miktarı yüksek çıkmıştır.

İ/R ve İ/R+CB₂ agonist arasındaki fark ise agonistin proteinleri tutup, protein ve evans mavisinin doku sıvısına geçişini azalttığı görülür. İlaç, dimetil sülfoksit (DMSO)' de çözülerek (5mg/kg) abdominal venden 0.3ml uygulandı ve 10dk beklenmiştir. Agonist bu zaman diliminde kan dolaşımı ile bütün doku ve organlara yayılması sağlanmıştır. CB₂ agonist doku hasarının artışını engellediği bulunmuştur (P<0,05) (Grafik 3).



Grafik 3. Akciğer dokusunda protein kaçıışı. *İ/R grubu ile şam-kontrol grubu karşılaştırması (**P <0,001) , #İ/R+CB₂ Agonist grubu ile İ/R grubu karşılaştırması (#P <0,05).

TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı; sıçanlarda deneysel iskemi/reperfüzyon hasarı modelinde, kılcal damarlardan dokuya protein sızmasını ve CB₂ agonisti olan AM-1241'in protein sızması üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bu amaç için evans mavisi kullanıldı ve İ/R ile hem barsak ileum dokusunda ve hem de uzak organda gerçekleşen hasarı değerlendirmek için akciğer dokusunda plazma proteinlerinin damar dışına çıkışı spektrofotometre ile ölçüldü.

Kenevir bitkisi uzun yıllardan beri hem bilinci değiştirdiği hem de rahatlatıcı olarak kullanılan bir bitki türüdür. Bu bitkinin yaprak, çiçek ve diğer kısımlarında kanabinoid çeşitleri vardır. Günümüzde bu bağımlılık yapıcı maddeler esrar olarak kullanılmaya devam etmektedir (1). Kanabinoidlerin çok sayıda ve farklı yapılar da agonist ve antagonist reseptörlerinin olduğu günümüzde yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde varlıkları tesbit edilmiştir. Bazı kanabinoidlerin reseptörleri ise reaksiyonu yavaşlatıcı özellikte olduğu kanıtlanmıştır. Kanabinoid reseptörleri geniş kapsamlı olarak CB₁ ve CB₂ adı altında toplanmıştır (4). Adı geçen bu reseptörlerin agonist ve/veya antagonistleri günümüzde bazı hastalıkların tedavisinde kullanıldığı görülmektedir. Zayıflama ilaçları, sigara bıraktırma, şişmanlık ve depresyon gibi hastalıklarda doktorlar gözetiminde reçete ile satılmaktadır. Kanabinoidlerin molekül yapıları tetrahidrokanabinole benzedikleri ve reseptörlerinin aktif olduğu biliniyor. Değişik sıcaklık kanabinoid reseptörlerini pasifleştirebilme özelliğine sahiptir. THC'nin rolü lenfositlerde ve biyolojik bağımsızlık sistemindeki bozucu etkisinin sonuçları geniş yer kaplamıştır (15). Çevresel dokularda yerleşik CB₂ reseptörlerinin ağrı üzerindeki etkisi tam olarak anlaşılmamıştır. AM-1241 agonistinin bölgesel ve kan dolaşım sistemine uygulanması sonucu sinir hücrelerindeki C-lifinde meydana gelen hasarı engellemiştir (16). AM-1241 ayrıca deride keratinden opioid ve endorfinin çevresel sistemden serbest bırakılarak doğal uyarıcı gibi salgılanabilmektedir (17). Yapılan çalışmalarda kanabinoid agonist ve antagonist uygulamalarında hücrelerde oluşan hasar hakkında dokuların karşılaştırmalı olarak çalışmaları yapılmıştır (13,18).

İ/R çalışmasında akciğer dokusundaki miyeloperoksidaz aktivasyonu, şam kontrol grubu ile İ/R grubu arasında karşılaştırma yapılması sonucu akciğer dokusunda evans miktarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda CB₂ agonisti ile karaciğer dokusunda ve diğer dokularda İ/R hasarına karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu bilimsel çalışmalar sonucu bulunmuştur (19–21). Astım sonucu solunum

KAYNAKLAR

- 1 Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol* 1999;58:315–48.
- 2 Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* 1988;34:605–13.

yollarında meydana gelen bozulmanın önemli bir etkisi akciğer dokusunda plazma proteinlerinin kılcal damardan sızmasıdır. Dokularda birikmiş evans mavisi, proteinlere bağlanmış durumları plazma sızıntısı ölçülmüş ve değerlendirilmiştir (7). Sıçanlarda ovalbumin ve kapsaisin modeli ile yapılan deneyler kılcal damarlardan akciğer dokusuna protein sızıntısı olduğunu göstermiştir. Kılcal damar sızıntısı akciğer solunum yolları trake, bronş ve alveollerde rastlanmıştır. Morfinin doza bağlı etkisi ile kılcal damardan sızıntının yavaşladığı görülmüştür (5). Opioid reseptörlerinin insan ve hayvanların solunum yolunda çevre dokuların inflamasyonunda rolü olabileceği yorumlanmıştır (5).

Barsak, böbrek, beyin ve karaciğerde yapılan ve günümüzde klinikte çok sık rastlanan dolaşım sistemi bozulmalarını anlatan birçok İ/R modelleri vardır. Evans mavisi damardan uygulanmadan 5 dk önce kaptopril (2.5 mg/kg) verilmiştir. İ/R serumdaki kreatinin böbrek malondialdehid ve nitrik oksit seviyelerinin artışına neden olduğu ispatlanmıştır (19,22).

Kanabinoidler İ/R hasarında gerçekleşen kötü olguların, biyokimyasal tepkimeleri olumlu yönde düzeltmiştir. Patoloji sonuçlarına bakıldığında kanabinoid agonistinin doku bozulmasını engellediği belirtilmiştir. Kanabidiol, bağımsızlık sisteminde etkili olan TNF α ve nitrik oksit derecesini önemli ölçüde düzenlemiştir (23). Kanabinoidlerin yapısal özelliklerinden dolayı doku hasarına karşı koruyucu ilaç gibi kullanılabilir (20,22).

Bu çalışmada sıçan ince bağırsak ve akciğer dokusunda İ/R hasarı modeli oluşturulmuştur. Akciğer ve ileum dokularında evans mavisi miktarına bağlı olarak kılcal damarlardan doku sıvısına protein kaçıışı hakkında önemli derecede bulgular elde edilmiştir. Her grupta 30 dk iskemi, 180 dk reperfüzyon ve 10 dk evans mavisi (0.3 ml) uygulaması yapılmıştır. Son gruba diğerlerinden farklı olarak CB₂ agonisti olan AM-1241 (0.3 ml) abdominal venden verilmiştir. Bulgulara bakıldığında, hem akciğer hem de ileumdaki doku hasarlarının ve protein kaçışının farklı oldukları görüldü. İ/R işleminden önce verilen AM-1241'in doku hasarını azaltmıştır (P<0.05). Buna bağlı olarak damar dışına çıkan proteine bağlı evans mavisi miktarında dikkate değer azalma olmuştur. Gelecekte kanabinoidlerin doku hasarını azaltıcı etkisi dikkate alınarak birçok hastalıkta ilaç olarak kullanılabilir. Damar dışına sızan protein miktarını azalttığı için kanın ozmotik basıncının daha dengeli olmasını sağlayan etken madde gibi görev alması söz konusudur.

- 3 Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346:561-4.
- 4 Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993;365:61-5.
- 5 Oktay ARSLAN S. Morphine modulates microvascular leakage dose-dependently in the airway of ovalbumin-sensitized rats. *Turk J Med Sci* 2010;40:279-86.
- 6 Di Marzo V, Petrocellis L De. Plant, synthetic, and endogenous cannabinoids in medicine. *Annu Rev Med* 2006;57:553-74.
- 7 Parlar A, Arslan SO, Doğan MF, et al. The exogenous administration of CB2 specific agonist, GW405833, inhibits inflammation by reducing cytokine production and oxidative stress. *Exp Ther Med* 2018;doi: 10.3892/etm.2018.6753.
- 8 Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004;49:1359-77.
- 9 Gutteridge JMC, Halliwell B. Reoxygenation injury and antioxidant protection: A tale of two paradoxes. *Arch Biochem Biophys* 1990;283:223-6.
- 10 Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-9.
- 11 Thomas DD, Sharar SR, Winn RK, et al. CD18-independent mechanism of neutrophil emigration in the rabbit lung after ischemia-reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1995;60:1360-6.
- 12 Kayaalp SO, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji - Google Search n.d.
- 13 Parlar A, Arslan SO. Thymoquinone exhibits anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects on allergic airway inflammation. *Arch Clin Exp Med* 2019;4:60-5.
- 14 Ballabeni V, Barocelli E, Bertoni S, Impicciatore M. Alterations of intestinal motor responsiveness in a model of mild mesenteric ischemia/reperfusion in rats. *Life Sci* 2002;71:2025-35.
- 15 Kreutz S, Koch M, Ghadban C, Korf H-W, Dehghani F. Cannabinoids and neuronal damage: Differential effects of THC, AEA and 2-AG on activated microglial cells and degenerating neurons in excitotoxicity lesioned rat organotypic hippocampal slice cultures. *Exp Neurol* 2007;203:246-57.
- 16 Nackley AG, Zvonok AM, Makriyannis A, Hohmann AG. Activation of cannabinoid CB2 receptors suppresses C-fiber responses and windup in spinal wide dynamic range neurons in the absence and presence of inflammation. *J Neurophysiol* 2004;92:3562-74.
- 17 Ibrahim MM, Porreca F, Lai J, et al. CB2 cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102:3093-8.
- 18 Zhang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S, O'Donnell D. Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur J Neurosci* 2003;17:2750-4.
- 19 Horváth B, Magid L, Mukhopadhyay P, et al. A new cannabinoid CB2 receptor agonist HU-910 attenuates oxidative stress, inflammation and cell death associated with hepatic ischaemia/reperfusion injury. *Br J Pharmacol* 2012;165:2462-78.
- 20 Pressly JD, Mustafa SM, Adibi AH, et al. Selective Cannabinoid 2 Receptor Stimulation Reduces Tubular Epithelial Cell Damage after Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *J Pharmacol Exp Ther* 2018;364:287-99.
- 21 Maslov LN, Lasukova O V, Krylatov A V, et al. Role of cannabinoid receptors in the regulation of cardiac contractility during ischemia/reperfusion. *Bull Exp Biol Med* 2006;142:557-61.
- 22 Fouad AA, Al-Mulhim AS, Jresat I. Cannabidiol treatment ameliorates ischemia/reperfusion renal injury in rats. *Life Sci* 2012;91:284-92.
- 23 Parlar A, Arslan SO. Anti-inflammatory effects of cannabinoid 2 receptor agonist, Gw405833, in a model of carrageenan-induced acute inflammation of the rat paw. *Int J Sci Res* 2019;8:55-8.