



**T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHI  
ANABİLİM DALI**

**SIÇANDA JEJUNAL FLEP MODELİNDE PROSTATİKLİN  
VE İSKEMİK ÖN KOŞULLANDIRMANIN İSKEMİ  
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**DR. FATMA BETÜL TUNCER  
UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL 2017**





**T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHI  
ANABİLİM DALI**

**SIÇANDA JEJUNAL FLEP MODELİNDE PROSTATİKLİN  
VE İSKEMİK ÖN KOŞULLANDIRMANIN İSKEMİ  
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**DR. FATMA BETÜL TUNCER  
UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: YARD. DOÇ. DR. FATMA NİHAL DURMUŞ KOCAASLAN  
İSTANBUL 2017**



# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
<b>1 GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2 GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Jejunum Flebi .....</b>	<b>2</b>
2.1.1 Jejunal flep anatomisi ve jejunal flebin insanda hazırlanışı .....	3
2.1.2 Sıçanlarda ince bağırsak ve jejunum anatomisi .....	5
2.1.3 Jejunal flebin özofagus rekonstrüksiyonunda yeri .....	6
2.1.4 Vajen rekonstrüksiyonunda jejunal flebin yeri.....	7
<b>2.2 İskemi-Reperfüzyon Hasarı .....</b>	<b>8</b>
2.2.1 Mitokondrial sistem: .....	9
2.2.2 Hipoksantin-ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz sistemi:.....	10
2.2.3 Serbest oksijen radikalleri.....	12
2.2.4 Polimorfonükleer nötrofiller (PMN).....	13
2.2.5 Hücre içi kalsiyum artışı .....	14
2.2.6 Bağışıklık sisteminin aktivasyonu .....	15
2.2.7 Mikrovasküler disfonksiyon .....	16
2.2.8 Hücre ölümü .....	16
<b>2.3 Bağırsak Perfüzyonu ve Bağırsakta İskemi-Reperfüzyon Hasarı</b>	<b>17</b>
2.3.1 Bağırsak perfüzyonu .....	17
2.3.2 Bağırsak mikrodolaşımını değerlendirme teknikleri .....	18
2.3.3 Bağırsakta iskemi-reperfüzyon hasarı: .....	19
<b>2.4 İskemi-Reperfüzyon Hasarını Azaltma Yöntemleri .....</b>	<b>20</b>
2.4.1 İskemik ön-koşullandırma .....	20
2.4.2 Farmakolojik ve enteral beslenme yöntemleri .....	23
<b>2.5 Prostaglandinler ve İloprost .....</b>	<b>24</b>
2.5.1 İloprostun etkileri:.....	25
2.5.2 İloprostun farmakolojik ve farmakokinetik özellikleri .....	26
2.5.3 iloprostun endikasyonları: .....	27
2.5.4 İloprostun yan etkileri:.....	27
2.5.5 İloprostun kontrendikasyonları .....	27
2.5.6 İloprostun I/R hasarındaki rolü.....	27
2.5.7 Prostaglandin analogları ve ticari isimleri .....	29

<b>2.6</b>	<b>Lazer Dopler Flowmetri</b> .....	<b>29</b>
2.6.1	LDF cihazının tıpta kullanımı .....	30
2.6.2	LDF yönteminin avantajları .....	31
2.6.3	LDF yönteminin teknik kısıtlılıkları .....	31
<b>3</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>34</b>
<b>3.1</b>	<b>Anestezi ve Cerrahi işlem</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2</b>	<b>Deney Protokolü ve Deney Grupları</b> .....	<b>38</b>
3.2.1	Grup 1: Sham (Yalancı Cerrahi) grubu (n=6).....	38
3.2.2	Grup 2: Sadece iskemi-reperfüzyon grubu (Kontrol Grubu) (n=7).....	39
3.2.3	Grup 2: İskemik ön-koşullandırma grubu (ÖK) (n=7).....	39
3.2.4	Grup 4: İloprost grubu (İLO) (n=7) .....	39
3.2.5	Grup 5: İloprost ve iskemik ön koşullandırma grubu (ÖK+İLO) (n=7)...	40
<b>3.3</b>	<b>Sonuçların Değerlendirilmesi</b> .....	<b>40</b>
3.3.1	Lazer Dopler flowmetre ile flep perfüzyonunun değerlendirilmesi .....	40
3.3.2	Histopatolojik değerlendirme .....	41
3.3.3	Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyinin ölçümü .....	42
3.3.4	Miyeloperoksidaz (MPO) düzeyinin ölçümü.....	42
3.3.5	İstatiksel değerlendirme .....	43
<b>4</b>	<b>BULGULAR</b> .....	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Lazer Dopler Flowmetri ile Perfüzyon Değerlendirilmesi</b> .....	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>Histopatolojik Değerlendirme</b> .....	<b>45</b>
<b>4.3</b>	<b>Dokuda Süperoksit Dismutaz (SOD) seviyesinin belirlenmesi</b> .49	
<b>4.4</b>	<b>Dokuda Miyeloperoksidaz (MPO) seviyesinin belirlenmesi</b> .....	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>SONUÇLAR</b> .....	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>KAYNAKLAR:</b> .....	<b>60</b>
<b>8</b>	<b>EKLER</b> .....	<b>70</b>

## ÖNSÖZ

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerimin artmasına olanak sağlayan; kişisel ve mesleki gelişimimde her zaman maddi ve manevi destek sağlayan değerli hocalarım emekli öğretim üyesi Sn. Prof. Dr. Ayhan Numanoğlu'na, Sn. Prof. Dr. Özhan Bekir Çelebiler'e, Sn. Prof. Dr. Mehmet Bayramiçli'ye, Sn. Prof. Dr. Erdem Tezel'e, Sn. Yard. Doç. Dr. Bülent Saçak'a, Sn. Yard. Doç. Dr. Fatma Nihal Durmuş Kocaaslan'a, Sn. Uzm. Dr. Melekber Çavuş Özkan'a, Sn. Uzm. Dr. Zeynep Deniz Akdeniz Doğan'a sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Asistanlık süresi boyunca her zaman desteğini yanımda hissettiğim ve tecrübesinden faydalandığım sayın tez danışmanın Yard. Doç. Dr. Fatma Nihal Durmuş Kocaaslan'a, tez çalışması için yaptıkları katkılar ve değerli fikirleri için Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Yard. Doç. Dr. Alper Yıldırım'a, Arş. Gör. Sevil Arabacı Tamer'e, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Leyla Cinel'e, Dr. Hülya Şahin'e, desteklerinden dolayı Prof. Dr. Berrak Yeğen'e, Doç. Dr. Betül Karademir'e, Arş. Gör. Ayşe Mine Yılmaz'a, Arş. Gör. Türkan Koyuncuoğlu'na, tez sürecinde yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dr. Ömer Faruk Deveci'ye, Dr. Samet Şendur'a, Dr. Zafer Kaya'ya, Dr. Mehmet Cömert'e ve Dr. Taygun Oluklu'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tezin yapılmasında deneyimlerini ve desteğini benden esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Op. Dr. Doğuş Yalçın'a, uzmanlık eğitimim boyunca çalışma fırsatı bulduğum Op. Dr. Hakan Şirinoğlu, Op. Dr. Bora Akalın, Op. Dr. Furkan Certel'e, plastik cerrahi kliniği hemşire ve tüm çalışanlarına içten teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca bana inanan, her daim maddi ve manevi desteklerini yanımda hissettiğim annem Sn. Şerife Tuncer'e, babam Sn. Hüseyin Tuncer'e ve tezimin hazırlanışı sırasında yanımda olan, manevi ve teknik desteğini benden esirgemeyen kardeşim Sn. Esat Tuncer'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Şubat, 2017

Dr. Fatma Betül Tuncer

## ÖZET

**Amaç:** Jejunal flep özofagus rekonstrüksiyonunda en sık kullanılan fleplerden biridir. Ancak jejunum flebinin aktarımı sırasında görülen sıcak iskemi ve devamında reperfüzyon hasarı flebin kullanımını kısıtlamaktadır. Çünkü jejunum vücutta iskemiye en duyarlı organlar arasındadır. Jejunal flep ile özofagus rekonstrüksiyonunun en sık görülen komplikasyonlardan olan fistül oluşumu ve stenozun etiolojisinde flebin maruz kaldığı iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı gösterilmektedir. Bu çalışmada amaç bir prostasiklin analogu olan iloprost ile iskemik ön-koşullandırma modalitelerinin I/R hasarı üzerine etkilerini araştırmak ve bu iki modaliteyi karşılaştırmaktır.

**Yöntem:** 34 adet Sprague-Dawley sıçan randomize olarak 5 gruba ayrıldı. Orta hat laparotomisi yapıldı, Treitz ligamentinin yaklaşık 15 cm distalinde 5-7 cm uzunluğunda jejunal bir segment besleyen damarlar ile jejunal flep şeklinde hazırlandı. Sham grubunda flep hazırlandıktan sonra biyopsiler alındı. Op Kontrol ve iskemik ön-koşullandırma (ÖK) grubuna SF, iloprost (ILO) ve iloprost+iskemik ön-koşullandırma (ILO+ÖK) grubunda 1 mcg/kg iloprost iv bolus enjekte edildi. Jejunal flep pedikülü atravmatik mikrovasküler klemp ile kleplendi ve 60 dakika iskemi, 2 saat reperfüzyon uygulandı. Flep perfüzyonu lazer Doppler flowmetri ile değerlendirildi. Bağırsak biyopsisi hemotoksilen ve eozin ile boyandı ve Chiu skorlama sistemi ile değerlendirildi. Diğer biyopsiler homojenize edildi ve spektrofotometrik yöntemle süperoksit dismutaz (SOD) ve miyeloperoksidaz (MPO) enzimlerinin seviyesi tayin edildi.

**Bulgular:** ILO, ÖK, ILO+ÖK gruplarında mukozal hasarın kontrol grubuna göre daha az olduğu ve mukozal perfüzyonunun post-iskemik dönemde kontrole göre daha yüksek değerlere ulaştığı görüldü. ( $p<0.05$ ) ILO grubunun histolojik skoru ÖK grubundan daha iyidi. ILO, ÖK, ILO+ÖK gruplarında antioksidan enzim SOD miktarının arttığı, inflamasyon parametresi olan MPO'nun azaldığı tespit edildi.

**Sonuç:** Iloprost ve iskemik ön-koşullandırma jejunal flepte iskemi-reperfüzyon sonrası flep perfüzyonu arttırmış ve mukozal hasarı azaltmıştır. Bu çalışmadan elde edilen olumlu sonuçlar ileride iloprost ya da iskemik ön-koşullandırma yöntemlerinin jejunal flebi iskemiye hazırlamada kullanımına zemin hazırlamaktadır.



## ABSTRACT

**Objective:** Free jejunal flap is one of the most common used flaps for esophageal reconstruction. However, ischemia-reperfusion (I/R) injury due to warm ischemia seen during the transfer limits its use. Because jejunum is one of the organs that are least tolerant to ischemia. I/R injury was pointed out in the etiology of fistula formation and stenosis, which are among the most commonly observed complications of esophageal reconstruction with free jejunal flap. The goal of this study was to evaluate the effects of iloprost (a synthetic prostacyclin analogue) and ischemic pre-conditioning on intestinal I/R injury and to compare the effectiveness of these two modalities.

**Method:** 34 Sprague-Dawley rats were randomized into 5 groups. A midline laparotomy performed and a 5-7 cm long jejunal segment 15 cm distal to the Treitz ligament was isolated with its supplying vessels. Biopsies were taken in the sham group after the jejunal flap was prepared. In the other groups, EJV was cannulated through the neck incision. Before ischemia, 1 mcg/kg normal saline or iloprost was injected as iv bolus in control, ischemic pre-conditioning (PC) or iloprost (ILO), iloprost+ischemic pre-conditioning (ILO+PC) groups, respectively. The vascular pedicle of jejunal flap was clamped for 60 min by an atraumatic microvascular clamp. Following ischemia, the clamp was removed and the flap was perfused for 2 hours. Flap perfusion was assessed by laser doppler flowmetry. Intestinal tissue segments were stained with hematoxylin and eosin and evaluated using Chiu scoring system. Other flap segments were homogenized and assessed for superoxide dismutase (SOD) and myeloperoxidase (MPO) levels via spectrophotometry.

**Results:** Animals in groups ILO, PC and ILO+PC following I/R injury had significantly better post-ischemic recovery of mesenteric perfusion and significantly less mucosal injury compared to the control group. The histologic score of ILO group was better than PC. In treatment groups (ILO, PC, ILO+PC) the levels of the antioxidant enzyme, SOD, were increased and that of MPO, one of inflammatory markers, were reduced.

**Conclusion:** According to the results of this study, iloprost and ischemic preconditioning increased the mucosal perfusion and reduced the mucosal injury of jejunal flap following ischemia and reperfusion. Iloprost or ischemic preconditioning might be considered as a treatment strategy in the future to reduce I/R injury of jejunal flaps.



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

-OH	Hidroksil iyonu
ALT	Anterolateral thigh
ark.	Arkadaşları
ATP	Adenozin Trifosfat
cAMP	Siklik AMP
CD	Cluster of differentiation
DAMP	Damage-associated molecular patterns
e-	elektron
EJV	Eksternal Jugüler Ven
EP1	Prostasiklin reseptörü
EPO	Eritropoietin
GSH	Glutasyon peroksidaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HIF-1	Hipoksi ile indüklenen faktör
I/R	İskemi-Reperfüzyon
ICAM-1	Interselüler adezyon molekülü 1
IL-17	Interlökin 17
iNOS	İndüklenen nitrik oksit sentaz
LDF	Lazer Dopler Flowmetri
LFA	Lenfosit fonksiyonu ile ilişkili antijen
LPS	Lipopolisakkarit
MADCAM	Mukozal adresin hücre adezyon molekülü
MAPK	mitogen activated protein kinase
MCP	Monosit kemoatraktan proteini
MDA	Malondialdehit
MPO	Miyeloperoksidaz
mPTP	Mitokondrial transpermeabilite porları
NAD <sup>+</sup>	Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	Nuclear factor kappa B
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit radikali
PAF	Platelet aktive eden faktör
PECAM	Platelet ve endotel hücre adezyon molekülü
PGE1	Prostaglandin E1
PGI <sub>2</sub>	Prostaglandin I <sub>2</sub>
PKC/PI3K	Protein Kinaz C/Fosfotidol Inozin Kinaz
PU	Perfüzyon Ünitesi
ROM	Reaktif oksijen molekülleri
SMA	Superior mezenterik arter
SOD	Süperoksit dismutaz
TBS	Total Back Scatter
TLR	Toll-like Reseptörler
TNF-alpha	Tümör nekroz faktörü alfa
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü1
γδ T	Gama delta T hücresi

## 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Jejunal flep özofagus rekonstrüksiyonunda en sık kullanılan fleplerden biridir. Her ne kadar jejunal flep ile rekonstrüksiyon başarısının çok yüksek olduğu bildirilmişse de, flep nekrozu, anastomoz sahasında kaçış, fistül oluşumu, striktür gibi ciddi komplikasyonlar hala görülebilmektedir.<sup>1</sup> Jejunum vücutta iskemiye en duyarlı organlar arasında yer almaktadır. Jejunal flep ile özofagus rekonstrüksiyonu sonrasında en sık görülen komplikasyonlardan olan fistül oluşumu ve stenozun etiolojisinde flebin maruz kaldığı iskemi-reperfüzyon hasarı gösterilmektedir.<sup>2</sup> İnce bağırsakta iskemi-reperfüzyon(I/R) hasarını azaltmak için birçok farmakolojik, fiziksel ve kimyasal yöntem denenmiştir. Bunların arasında glutamin<sup>3</sup>, adenozin<sup>2</sup>, fosfodiesteraz tip 3 inhibitörü<sup>4</sup>, glisin<sup>5</sup>, fenofibrat<sup>6</sup>, ön koşullandırma<sup>2</sup>, art koşullandırma<sup>7</sup> sayılabilir. Jejunal fleplerde, iskemik ön koşullandırma ve art koşullandırma fikri, sistemik ilaç vermeden, lokal cerrahi bir manevra ile iskemi reperfüzyon hasarı oluşma penceresini uzattığı için cazip bir seçenek sunmaktadır.

İskemik dokunun reperfüzyonu sırasında iskemi sırasında oluşan zararlı maddeler dolaşıma katılmakta, reaktif oksijen moleküllerinin (ROM) oluşumuna ve aktif nötrofillerin hasar bölgesinde birikmesine yol açmaktadır. Endotel duvarına yapışan nötrofiller ise daha fazla ROM üretimine ve proteolitik enzimler ile endotel hasarına neden olmaktadır. I/R hasarını azaltan terapötik ajanlar reaktif oksijen moleküllerini, pro-inflamatuar genlerin sinyal iletim yollarını hedef almaktadır.<sup>8</sup> Bu ajanlar arasında, prostaglandin türevi olan prostaglandin E1 (PGE1) ve prostasiklin (PGI2) dikkat çekicidir. Kardiyak I/R modelinde ön koşullandırmanın ve atorvastatinin kardiyoprotektif etkisinin siklooksijenaz-2/prostasiklin reseptörü aksı üzerinden olduğu<sup>9,10</sup>, sistemik PGE1 uygulamasının intestinal I/R hasarını azalttığı<sup>8</sup> karaciğer transplantasyonu prelinik ve geniş sayılı klinik çalışmalarda prostasiklin uygulamasının hepatoselüler I/R hasarını azalttığı gösterilmiştir<sup>11,12</sup>.

Bu çalışmada amaç sıçanda jejunal flep modelinde sistemik prostasiklin uygulamasının ve iskemik ön-koşullandırmanın flep perfüzyonu ve iskemi reperfüzyonu üzerine etkisini araştırmak ve iskemi toleransını arttıran bu modalitelerin etkinliğini karşılaştırmaktır.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Jejunum Flebi

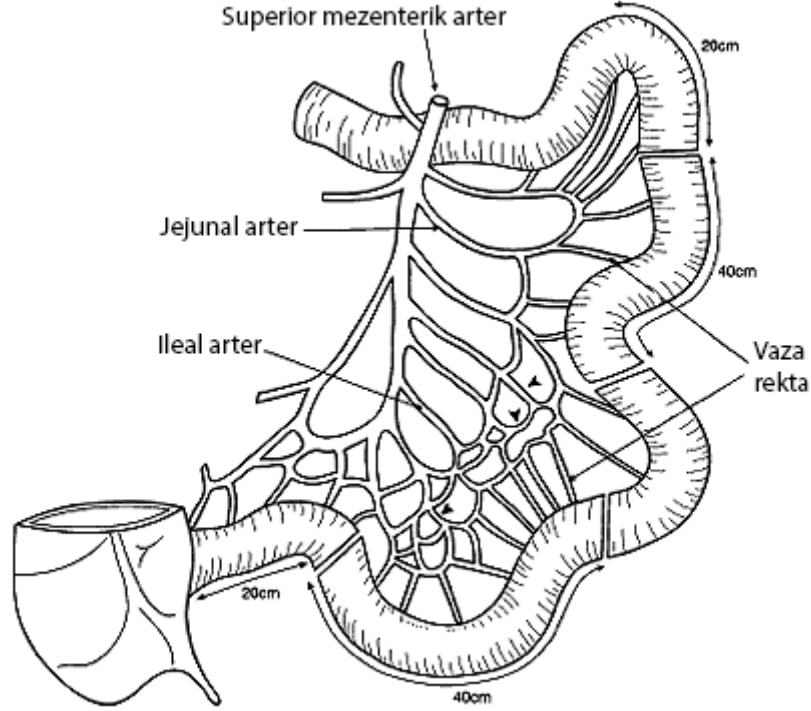
Literatürde bildirilen ilk serbest flep olma özelliğini de taşıyan jejunal flep, ilk kez Seidenberg ve arkadaşları tarafından 1957 yılında skuamöz hücreli karsinom nedeniyle faringoözofajektomi geçirmiş bir hastaya yapılmıştır. Seidenberg, jejunal flebi klinik uygulamaya koymadan önce melez köpekler üzerinde jejunal flep araştırmalarında bulunmuş, araştırmalarından yola çıkarak ulaştığı sonuçları ve jejunal flebin klinikte olan uygulamasını 1959 yılında yayımlamıştır.<sup>13</sup> Bu makaleye göre jejunal flep yapılan hasta 5 gün yaşamış ancak ameliyatla ilişkisiz serebrovasküler bir olay nedeniyle kaybedilmiştir. Yapılan otopside jejunal flebin radyokontrast boya ile tüm damarlarının açık olduğu ve özofajo-jejunal anastomozlarının iyileşmiş olduğu not edilmiştir.<sup>13</sup> Roberts ve Douglas, 1961 yılında literatürün ikinci jejunal flebini raporlamıştır.<sup>14</sup> Aynı yıl Heibert ve Cummings, farenks-özofagus bileşkesinde bir defekt için vaskülarize mide antrumunun kullanımını bildirdi.<sup>15</sup> 1980 yılında ise Sasaki ve ark. 7 hastalık vaka serilerinde jejunal flep kullanımını yayınladılar.<sup>16</sup> 1980'lerin sonuna doğru ise jejunal flep ile ilgili daha büyük vaka serileri yayımlandı. Ancak bu çalışmalarda mortalite, flep kaybı gibi ciddi başarısızlık ve komplikasyon oranları vardı. Coleman ve arkadaşları, 101 hasta üzerinde yapılan 111 serbest jejunal flepte %5 mortalite, %13.5 flep başarısızlığı ve %33 fistül formasyonu bildirmişti.<sup>17</sup> Daha sonra bazı otörler, özofagus rekonstrüksiyonunda jejunal flep kullanımının ciddi morbidite ve mortaliteye neden olduğunu ve jejunumun radyoterapiye dayanıksız olduğunu ileri sürdü. Bu görüşe savunma olarak olarak, Reece ve arkadaşları 93 hastalık serilerinde jejunal flebin radyoterapiye maruz kaldığında morbidite ve disfajiyi arttırmadığını gösterdi.<sup>18</sup> Bununla beraber Reece ve arkadaşlarının serilerinde de %57 gibi çok yüksek bir komplikasyon oranı vardı ve bunların çoğu fistül oluşumu ve striktördü.<sup>18</sup> Yıllar içerisinde mikrocerrahi tekniklerinin gelişmesi ve bu konuda olan deneyim artması ile jejunal flep yaşayabilirliği %95-97'e kadar çıktı.<sup>19</sup>

Dokunun intrinsik iyileşme kapasitesinin az olması fistül oluşumu ve anastomoz hattında striktürün gelişmesinde önemli bir risk faktörüdür. İntrinsik iyileşme kapasitesini belirleyen faktörler, jejunum ve özofagusun kalan kısmına olan kan akımı miktarı, hastanın radyoterapi hikayesi ve hasta ile ilgili diğer sistemik faktörlerdir. İskemi-reperfüzyon hasarı, yeni yerine transfer edilen jejunumun iyileşme kapasitesini etkileyen faktörlerden biridir. Jejunum, iskemiye en duyarlı organlardan biri olduğu için jejunal flep ameliyatları sırasında flep iskemi zamanı minimal tutulmalıdır.<sup>20</sup> Ancak bu durum, tümör eksizyonu ve jejunal flebin hazırlanması sırasında yorulan cerrahi ekip için ek bir stres oluşturmaktadır. Bu nedenle, jejunal flep henüz donör alanda kanlanırken güvenli iskemi süresini uzatabilecek hazırlıklar önem kazanmaktadır. Klinikte bu süreyi uzatmak için kullanıma geçmiş bir farmakolojik ajan ya da cerrahi teknik henüz yoktur. Preklinik çalışmalarda ise iskemik ön koşullanma veya adenozin ile jejunal I/R hasarının azaldığını gösteren bir çalışma mevcuttur.<sup>2</sup> Literatürde jejunal flep I/R hasarı ile ilgili çalışmalar çok kısıtlıdır. Ancak sepsis, abdominal aorta by-pass cerrahisi gibi nedenlerle oluşan intestinal I/R hasarı oldukça fazla çalışılmıştır. Bu modellerde genel olarak SMA kan akımı değişen sürelerde kesilmiş ya da hemorajik şok yoluyla bağırsak perfüzyonu kritik seviyeye indirilmiş; ardından yine değişen sürelerde reperfüzyona tabi tutulmuş ya da resüsitasyon uygulanmış; böylece tüm intestinal mukozayı değerlendiren sonuçlar elde edilmiştir.

### **2.1.1 Jejunal flep anatomisi ve jejunal flebin insanda hazırlanışı**

İnce bağırsak, duodenum, jejunum ve ileum adı verilen üç ayrı anatomik ve fizyolojik segmentten oluşmuştur. Jejunum, Treitz ligamentinden başlar ve yaklaşık uzunluğu 180-240 cm arasındadır. Kan dolaşımını superior mezenterik arter (SMA) sağlar. SMA, mezentere girdikten sonra yaklaşık 10 adet jejunal ve ileal segmental dala ayrılır. Her dal ikiye ayrılarak, kendinden üzerindeki ve altındaki dal ile "ark"ları oluşturur. Her bir arkta çok sayıda vaza rekta çıkar. Vaza rektalar, bağırsağa mezenterik kenardan girerek bağırsak

dolaşımını sağlar.<sup>21</sup> (Şekil-1)



**Şekil-1:** Şekilde superior mezenterik arter, segmental dalları jejunal ve ileal arterler, segmental dalların oluşturduğu ark yapıları ve ark sisteminden çıkan vaza rektalar görülmektedir.<sup>21</sup>

Jejunal flep cerrahisinde ameliyattan önceki akşam bağırsak temizliği yapılır. Laparotomi insizyon hattı ksifoid ile umbilikus arasında orta hatta yer alır. Mide ve transvers kolon kraniale retrakte edilir. İnce bağırsak mezenterinin tepe noktası olan Treitz ligamentinden başlanarak jejunal dallar distale doğru takip edilir. Vaskülarize jejunum segmenti her ne kadar Treitz ligamenti ile bu noktanın 150 santimetre distaline kadar herhangi bir yerden elde edilebilse de ligamentin yaklaşık 40 cm distalindeki bölüm seçilir. Çünkü bu noktada pedikül en uzundur (yaklaşık 15 cm) ve bağırsağın yeniden anastomozu daha kolay yapılabilir. Transilluminasyon ile uygun bir damar arkı seçilir ve dikkatli bir şekilde mezenterik damarlara diseksiyon uygulanır. Jejunumun segmental kan dolaşımı sayesinde tek bir damar arkı üzerinde 20 cm'ye kadar jejunum alınabilmektedir. Uzunluk ve beslediği jejunal segment açısından güvenli olduğu için ikinci ya da üçüncü dal jejunal flep için seçilir. Vasküler segmentin proksimalindeki ve distalindeki küçük dallar bağlanarak mezenter ayrılır.

Bağırsak segmenti izole edilerek bağırsağın kalan kısmına anastomoz uygulanır.<sup>22</sup>

Hazırlanan jejunal flep anastomoz sahasına aktarılır. Jejunal flebin metabolizması hızlı olduğu için iskemi süresinin çok kısa tutulması gerekir. Bu nedenle flep ile özofagusun anastomozunu yapmadan önce vasküler anastomozların yapılması gerekir. Yutma fonksiyonunun engellenmemesi için flep isoperistaltik yönde yerleştirilmelidir.<sup>23</sup>

### **2.1.2 Sıçanlarda ince bağırsak ve jejunum anatomisi**

Laboratuvar sıçanlarında ince bağırsak (intestinum tenue) midenin pilor kısmından (pars pylorica ventriculi) başlar. Pilor orta hattın sağ tarafında bulunur. İnce bağırsağın ilk kısmı olan duodenum 95-100 mm uzunluğundadır. Duodenumun çıkan parçası jejunum olarak devam eder. Jejunum looper yapılarak abdominal kavitenin sağ tarafını doldurur. Jejunumun toplam uzunluğu 900-1350 mm arasındadır. Jejunumu, uzunluğu 25-35 mm arasında olan ileum takip eder. Sıçanda ileum ile jejunum mikroskopik olarak bile kolay ayırt edilemez. Peyer plaklarının ileumda jejunuma kıyasla daha yoğun bulunması önemli bir ayırım kriteridir. İleumun, çekuma girdiği yerde lenfatik bir doku olan sacculus rotundus yer alır. Çekum, normalde abdominal kavitenin sol alt kısmında yer alır. Ancak uzun bir mezenteri olduğu için değişik pozisyonlarda olabilir. Çekumun en önemli özelliği insanda appendiks vermiformisin karşılığı olan lenfoid dokuya sahip olmasıdır.<sup>24</sup> Sıçanlarda bağırsak kısımlarının uzunluğu ve çapı Tablo-1'de gösterilmektedir.

**Tablo-1: Sıçanlarda bağırsak kısımlarının uzunluğu ve çapı**

	UZUNLUK (MM)	ÇAP (MM)
DUODENUM	95-100	2,5-3
JEJUNUM	900-1350	4-5
İLEUM	25-35	3-5
ÇEKUM	50-70	10
KOLON	90-110	3-10
REKTUM	80	3-10



Abdominal sindirim organlarının çoğunu aorttan köken alan 3 damar besler. Bunlar; a. coeliaca, a. mesenterica cranialis, a. mesenterica caudalis'tir. A. coeliaca, 3.lomber vertebra seviyesinde aorttan çıkar ve mide, karaciğer, pankreas ve dudodenumun kranial kısmını besler. A. mesenterica cranialis, abdominal aortanın en kalın dalıdır. A. coelica'nın kaudalinde yer alır. A. mesenterica cranialis, embriyolojik gelişim açısından önemlidir. Çünkü bağırsak bu arter etrafında dönerek gelişir. A. mesenterica cranialis şu dallara ayrılır: a. colica media, a. pancreaticoduodenalis caudalis, a. colica dextra, aa. jejunales, a. ileocecolica.<sup>24,25</sup>

İnferior mezenterik arter (a. mesenterica caudalis), sıçanda az gelişmiş olduğu için inen kolon ve rektum dışındaki tüm bağırsak bölümleri superior mezenterik arterden kan alır.

Jejunal arterler, mezojejunum içinde seyrederek; tüm jejunumu ve ileumun kranial kısmını besler. Jejunal arterler, trunkuslara dal verir; trunkuslar da bağırsak duvarının kenarında arkadları oluşturur. Jejunal arterlere eşlik eden venler birleşerek superior mezenterik vene ve oradan da portal vene dökülür.<sup>24,25</sup>

### **2.1.3 Jejunal flebin özofagus rekonstrüksiyonunda yeri**

Özofagus rekonstrüksiyonu birçok cerrah için zor rekonstrüksiyonlar arasında yer almaktadır. Özofagus rekonstrüksiyonunda kullanılacak seçeneklerden hangisinin tercih edileceği özofagus defekti kadar donör alanların uygunluğuna ve cerrahın tercihinine bağlıdır. Günümüzde özofagus rekonstrüksiyonunda en çok kullanılan yöntemler gastrik pull-up, pektoralis majör flebi, kolon interpozisyonu, fasyokutan flepler (radial ön kol, ALT), serbest jejunum ve serbest kolon flepleridir.<sup>23</sup>

**Gastrik pull-up** prosedürü totale yakın özofagusun rezeke edildiği vakalarda kullanılabilir. Ancak servikal özofagus ve hipofarenks defektlerinde ve primer hastalığın mideyi etkilediği durumlarda (tümör infiltrasyonu, radyoterapi, korozyon yanıkları) bu seçenek kullanılamaz. **Pektoralis majör**

**ve deltopektoral flepler** daha çok hipofarenks ve servikal özofagusun parsiyel defektlerinde ya da diğer fleplerin kısmen başarısız olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Mikrocerrahi yöntemlerinin kullanımı ile pektoralis major ve deltopektoral fleplerin kullanımı giderek azalmıştır. **Kolon interpozisyonu**, sol kolonun serbestleştirilip özofagus defektine yerleştirildiği işlemdir ve gastrektomi gibi nedenlerle gastrik pull-up prosedürünün uygulanamadığı hastalarda kullanılır. Striktür ve fistül oranları, gastrik pull-up ameliyatına benzerdir. Ancak kolon segmentine olan kan akımı, serbest jejunal flebe göre daha azdır. Özofagus rekonstrüksiyonunda en sık kullanılan **serbest flepler** radial ön kol, ALT ve jejunumdur.<sup>23,26,27</sup>

Jejunal flebinin, özofagus rekonstrüksiyonunda temel endikasyonu hipofarenks ve servikal özofagus defektleridir.<sup>23</sup> Bunun yanında mide ve kolonun kullanılmadığı durumlarda, başarısız gastrik pull-up operasyonu sonrasında da jejunal flep ilk seçenek olabilir.<sup>26,28</sup> Özofagus rekonstrüksiyonunda serbest flepler ile diğer seçeneklerin etkinliği hala tartışmalıdır. Göğüs cerrahları ve genel cerrahlar genel olarak gastrik pull-up ve kolon interpozisyonu seçeneklerini tercih etse de serbest flep kullanımının daha az kardiyak ve pulmoner morbiditeye neden olduğu gösterilmiştir.<sup>23</sup> Striktür oranları açısından jejunal flepler ve diğer yöntemler (gastrik pull-up, kolon interpozisyonu) benzerdir. Jejunal fleplerde ek olarak %88-100'e yaklaşan yutma ve ses fonksiyonunun geri kazanımı avantajı vardır.<sup>23</sup>

#### **2.1.4 Vajen rekonstrüksiyonunda jejunal flebin yeri**

Vajen rekonstrüksiyonu, başta müllerian kanal agenezi olmak üzere, tümör rezeksiyonu, radyoterapiye bağlı striktür ve cinsel kimlik değişikliği gibi nedenlerle yapılmaktadır. Vajen rekonstrüksiyonunda birçok teknik tarif edilmiştir. Bunların içerisinde non-operatif teknikler (Frank tekniği), deri greftlemesi (McIndoe tekniği), amniyon zarı, bukkal mukoza ya da mesane mukozası grefti, çeşitli pediküllü fasyakutanöz, muskulokutanöz ve perforatör flepler ve bağırsak transferleri yer alır. Non-operatif teknikler ve greftler sıklıkla striktüre neden olmakta; deri ve kas fleplerinin ise mukozal salgısı olmadığı

için neovajende kuruluğa neden olmaktadır. Bağırsak fleplerinin (pediküllü ya da serbest) ise stenoz riski yoktur, mold kullanımı gerektirmez, doğal lubrikasyon sağlar. Bağırsak fleplerinin dezavantajı ise bağırsağın doğal salgısı nedeniyle neovajen sekresyonunun çok olmasıdır.<sup>29,30</sup>

Vajen rekonstrüksiyonunda tarif edilen bağırsak flepleri hem jejunumdan hem de kolondan hazırlanabilir. Kolondan pediküllü bağırsak segmenti tercih edilirken; jejunumdan serbest, pediküllü ya da pedikül+mikrovasküler anastomozlu (*supercharged*) flepler vajen rekonstrüksiyonunda kullanılabilir<sup>29,31</sup>

## 2.2 İskemi-Reperfüzyon Hasarı

İskemi, bir organa veya dokuya kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu dokunun ihtiyacı olan oksijen ve diğer metabolitlerin sağlanamadığı durumdur. Dokular iskemi sırasında anaerobik metabolizma ile enerji üretmeye başlar. Dokuda oluşan toksik maddeler dolaşım tarafından uzaklaştırılmadığı için toksik maddeler dokuda birikmeye başlar. Dokuya kan akımı yeniden sağlanamazsa dokuda hızlı bir şekilde geri dönüşümsüz hücre hasarı oluşur. Paradoksik olarak, dokuya kan akımının yeniden sağlanmasıyla dokuya iskemiden daha fazla zarar veren güçlü bir inflamatuvar yanıt başlar. Bu hasar “reperfüzyon hasarı” olarak adlandırılır.<sup>32</sup>

I/R hasarının tıpta görülme alanı oldukça geniştir. Travma, replantasyon cerrahisi, revaskülarizasyon cerrahisi, şok, sepsis, organ transplantasyonu, bypass cerrahisi, abdominal aort anevrizması cerrahisi, flep cerrahisi, bağırsak strangülasyonu düzeltilmesi, testis de-torsiyonu sonucu oluşabilir. I/R aynı zamanda inme, miyokardiyal enfarktüs gibi birçok vasküler olayın progresyonunda ve tedavisinde de önemlidir.<sup>33</sup> Bu nedenle, I/R hasarı kuşkusuz tıpta en çok araştırılan konulardan biridir.

I/R hasarının patofizyolojisini tek bir yolak üzerinden anlatmak mümkün değildir. Çünkü iskemi-reperfüzyon hasarı hücre içi ve hücreler arası birçok yolağı aktive etmekte, bu yolakların son ürünleri olan olaylar morfolojiye yansımaktadır. Genel olarak I/R hasarının karakteristik özellikleri şunlardır:

1. Mitokondri disfonksiyonu
2. Reaktif oksijen moleküllerinin üretilmesi
3. Lökositlerin endotel hücrelerine yapışarak ortamda birikmesi
4. Endotel disfonksiyonu sonucunda vasküler permeabilite ve kaçışın artması
5. Doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminin aktivasyonu
6. Hücre ölümü (apoptoz veya nekroz)

Birçok yayında iskemi sırasında hasarın ilk başladığı yerin mitokondri olduğu vurgulanmıştır. Bu hasarı büyüten olaylar dizisinde ise serbest oksijen radikalleri, inflamatuvar sitokinler, kompleman sisteminin aktivasyonu, nötrofil infiltrasyonu, demir depolarının boşalması, endotel disfonksiyonu, mikrodolaşımın bozulması, apoptoz yolaklarının aktivasyonu, nekroz ve otofaji rol oynamaktadır.<sup>34</sup> Aşağıda I/R hasarının patofizyolojisi ve bu hasarda rol alan aracı moleküller ve sistemler anlatılmaktadır.

### **2.2.1 Mitokondrial sistem:**

İskemi sırasında ortamda oksijen olmadığı için oksidatif fosforilasyon yapılamaz ve hücre anaerobik glikoliz ile ATP üretmeye başlar. Hücre içi serbest ATP miktarı hızla düşer. Normal şartlar altında hücre içerisinde üretilen ATP'nin büyük kısmı hücre membranında yer alan ATP aracılı iyon taşıyıcılarında kullanılmaktadır. Azalan ATP nedeniyle iskemi sırasında hücre membranında yer alan ATP aracılı iyon transport mekanizmaları çalışmaz. Hücre içinde kalsiyum, sodyum iyonları ve anaerobik glikoliz ürünü olan laktat birikmeye başlar. Bu maddelerin oluşturduğu ozmotik gradient ile hücre şişer ve sonrasında nekroz, apoptoz, otofaji ile hücre ölümü görülür.<sup>35</sup>

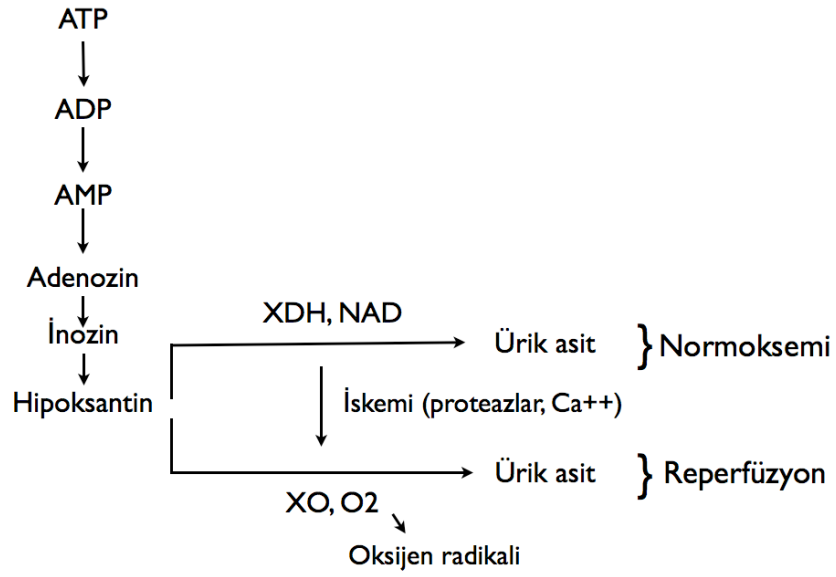
ATP bağımlı Na/K antiportu ve kalsiyum kanalı enerji kullanarak hücre içi sodyum ve kalsiyumu aktif olarak hücre dışına atmaktadır. İskemi durumunda ise ATP eksikliğine bağlı bu kanalların çalışmaz ve hücre içi kalsiyum düzeyi artar. Kalsiyum yükseklği hücre için toksiktir. Hücre içerisinde kalsiyumun

artışı ile kalsiyuma bağı proteazlar aktive olur. Aktive olan proteazlar ksantin dehidrogenaz enzimini ksantin oksidaza dönüştürür.<sup>34,35</sup> Ksantin oksidaz enzimi reaktif oksijen moleküllerinin oluşmasında anahtar role sahiptir. Ksantin oksidaz sistemi ile ROM'nin oluşumu aşağıda daha detaylı anlatılmaktadır.

Bunun yanı sıra reperfüzyon sırasında artan serbest radikaller ve hücre içi kalsiyum, mitokondriye ait geçici permeabilite porlarını açmakta ve mitokondri içeriği sitoplazmaya geçmektedir. Mitokondri içeriğinin sitoplazmaya dağılması programlı hücre ölümü olan apoptozu başlatmakta ve hücre ölümüne neden olmaktadır.<sup>35</sup>

### **2.2.2 Hipoksantin-ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz sistemi:**

Hipoksantin-ksantin oksidaz sistemi, reperfüzyon sırasında oluşan ROM'nin temel mekanizması ve muhtemel ilk kaynağıdır. İskemi sırasında adenosin trifosfat (ATP) üretimi durur ancak ATP kullanımı devam eder. ATP yapısında enerji sağlayan fosforlar iskemi sırasında yıkılır ve adenosin trifosfat adenosin monofosfata; adenosin monofosfat ise adenozine dönüşür. Adenozin hızla ekstraselüler alana difüze olarak inozin ve hipoksantine yıkılır. (Şekil-2) Normalde normo-oksemik koşullarda hipoksantin, NAD<sup>+</sup> aracılı ksantin dehidrogenaz enzimi ile ürik aside dönüşür. Hipoksik koşullarda ise ksantin dehidrogenaz enzimi, hücre içinde artan kalsiyum ile aktive olan proteazlar ile ksantin oksidaza dönüşür. Bu reaksiyonda ise oksijen elektron alıcısıdır. Hipoksik ortamda oksijen olmadığı için hipoksantin ürik aside dönüşemez ve ortamda birikmeye başlar. Reperfüzyon sırasında dokuda biriken hipoksantin, ksantin oksidaz ile ürik aside dönüşür ve bu reaksiyonda elektronlar NAD<sup>+</sup> yerine oksijene aktarılır. Oksijenin serbest elektronları almasıyla reaktif oksijen molekülleri (ROM) ya da diğer ismiyle "serbest oksijen radikalleri" oluşur.<sup>36</sup>



**Şekil-2:** Hipoksantin-ksantin dehidrogenaz ve oksidaz mekanizması. Normoksemide hipoksantin XDH (ksantin dehidrogenaz) ile ürik asite dönüşür. İskemi sırasında hücre içinde artan kalsiyum ile aktive olan proteazlar XDH'ı, ksantin oksidaz'a (XO) dönüştürür. XO, reperfüzyon döneminde hipoksantini ürik asite çevirirken oksijen radikalleri üretilir.

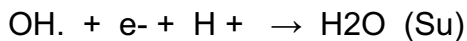
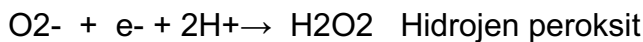
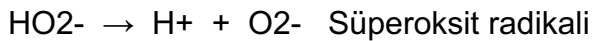
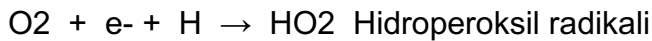
Oksijenin üzerine aldığı elektron sayısına göre farklı tiplerde serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar. Oksijen tek elektron alarak süperoksite; çift elektron alarak ise hidrojen peroksite dönüşür. Süperoksit, son derece kararsız bir moleküldür; hızlı şekilde hidrojen peroksit ve oksijene dönüşür. Süperoksit ve hidrojen peroksit zayıf oksidan serbest oksijen radikalleridir. Hücre hasarından asıl sorumlu radikal ise hidrojen peroksitin kimyasal reaksiyonuyla ortaya çıkan hidroksil (-OH) iyonudur. Hidroksil, en reaktif ve kısa ömürlü serbest oksijen radikalidir. Protein, polisakkarid, nükleik asit, çoklu doymamış yağ asitleri gibi tüm biyolojik maddeler ile reaksiyona girer. Çoklu doymamış yağ asitleri hücre membranında yüksek konsantrasyonda bulunur ve serbest radikal saldırısına en açık konumdadır. Oksijen radikallerinin, özellikle de hidroksil iyonlarının, hücre zarındaki lipidleri peroksitelemesi ile hücre zarı bütünlüğü bozulur ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Lipid peroksidasyonunun kapiller ve venül endotelinde oluşması permeabilite artışına; plazma ve eritrositlerin ekstrasvazasyonuna neden olur. Oksijen radikallerinin bu şekilde dokuya direkt zarar vermesinin yanında, dokuda

nötrofillerin birikmesine neden olduğu da gösterilmiştir. In vitro koşullarda, oksijen radikalleri nötrofiller için kemotaktik özelliği olan maddeleri aktive etmektedir.<sup>36</sup>

Ksantin oksidazın vücutta en fazla olduğu yer bağırsaktır. Bağırsağın I/R hasarına en duyarlı organlardan biri olmasının nedeni de bu olabilir. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda en yüksek ksantin dehidrogenaz enzim konsantrasyonunun ince bağırsağın villus tabakasında, villus yapısında ise villus tabanından uca doğru artan bir gradiyentte olduğu görülmüştür. Enzimin bu yerleşimi, I/R hasarının en çok villus ucunda görülmesiyle de uyumludur.<sup>36</sup>

### **2.2.3 Serbest oksijen radikalleri**

Serbest oksijen radikallerinin ya da diğer adıyla Reaktif Oksijen Moleküllerinin (ROM), I/R hasarı sırasındaki kaynağı mitokondride yer alan elektron transport zinciri ve hipoksantin-ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz mekanizmasıdır. Oksijen molekülünün bir adet serbest elektronu almasıyla superoksit radikali ( $O_2^*$ ) oluşur. Superoksit radikaline elektron ve proton eklenmesiyle hidrojen peroksit ortaya çıkar. Superoksit ve hidrojen peroksit zayıf oksidan yapıdadır. Hidrojen peroksite yeni elektron eklenmesiyle hidroksil iyonu oluşur. Hidroksil iyonu, oldukça reaktif bir oksijen molekülüdür. Protein, polisakkarid, nükleik asit, çoklu doymamış yağ asitleri gibi tüm biyolojik maddeler ile reaksiyona girer ve bu moleküllerde işlev kaybına neden olur. Alt ünitelerde meydana gelen işlev kaybı nedeniyle hücre hayatını sürdürmez ve hücre ölümü gerçekleşir.<sup>37</sup>



Serbest oksijen radikalleri çok kararsız yapıda olduğu için dokuda serbest oksijen radikalleri direkt olarak ölçülemez. Bunun yerine indirekt yollarla serbest oksijen radikali aktivitesinin ölçümü yapılır. Örneğin; malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir ve serbest radikallerin hücre duvarı lipidleri üzerinde yaptığı etkiyi gösterir. Daha önce yapılan çalışmalarda hem total iskemi durumunda hem de iskemi-reperfüzyon sonrasında MDA seviyesinin arttığı gösterilmiştir.<sup>38</sup>

#### **2.2.4 Polimorfonükleer nötrofiller (PMN)**

PMN'lerin I/R patofizyolojisindeki rolüne dair kanıtlar giderek artmaktadır. Örneğin, ince bağırsak transplantasyonunda I/R hasarında primer rolün submukozal venüllerde endotel ile temasa geçen lökositlere ait olduğu gösterilmiştir. Yine I/R hayvan modelinde PMN'den arındırılmış kan ile reperfüzyon yapıldığında ince bağırsak I/R hasarı ciddi derecede azalmaktadır. İntravital mikroskop kullanılarak yapılan çalışmalarda postkapiller venüllerde lökositlerin endotele yapıştığı ve hasar alanına hareket ettiği gösterilebilmiştir. Lökosit aktivitesinin bir göstergesi olan miyeloperoksidaz (MPO) enzimi aktivitesi de birçok I/R hasarı çalışmasında halen kullanılmaktadır.<sup>39</sup>

Lökositler inflamasyon sırasında ortaya çıkan kemotaktik maddeler ile inflamasyon sahasına çekilir. Lökositlerin doku içerisine hareket etmesi ise 3 basamakta olur. Bunlar; yuvarlanma, adezyon(yapışma) ve ekstravazasyondur. Lökosit öncelikle endotel üzerinde yuvarlanmaya başlar. Bu safhada görev alan adezyon molekülleri endotel üzerinde yer alan P-selektin, E-selektin ve lökosit üzerinde yer alan L-selektin'dir. Endotel ile bu yaklaşma lökosit kemokin ve kemoatraktan moleküllere yakın hale getirir. Kemokinlerin lökosit üzerindeki reseptörlere bağlanmasıyla  $\beta$ 2 integrinler (CD11a, CD11b, CD11c/CD18) aktive olur. Bu integrinler endotel üzerinde bulunan ICAM-1 ve VCAM-1 adezyon moleküllerine tutunurlar. Bu bağlanma lökosit-endotel arasındaki etkileşimi daha da artırır ve lökositler dolaşımdan



çıkarak dokuya girer.<sup>39</sup>

Oksijen radikalleri etkisiyle dokuya gelen nötrofiller dokuda birikmeye başlar. Bazen bu birikime bağlı tüm damar tıkanır ve bu durum reperfüzyon evresinde görülen mikrodolaşım patolojisine katkıda bulunur. Aktive nötrofiller endotel hücreler yapışma ve damarı tıkanmanın yanında mukozayı hasar veren miyeloperoksidaz, elastaz, proteaz gibi enzimler salgılar, prostaglandin sentezler ve oksijen radikalleri yayar. Deneysel araştırmalarda antinötrofil serum ya da nötrofillerin endotele yapışmasını ve ekstrasvazasyonunu engelleyen antikorlar kullanıldığında post-iskemik mikrovasküler permeabilitenin artmadığı ve mukozal hasarın azaldığı görülmüştür. Bu gözlemler ve iskemi-reperfüzyon hasarını azaltan birçok ajanın dokuya nötrofil akışını engellemesi, nötrofillerin reperfüzyon hasarında büyük bir rolü olduğunu göstermektedir.<sup>36</sup>

### **2.2.5 Hücre içi kalsiyum artışı**

İskemi sırasında ATP üretiminin azalması ile hücre membranında yer alan ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesi azalır. Sodyum dışarı çıkamadığı için hücre içinde birikmeye başlar. Artan sodyum konsantrasyonu ile sodyum-kalsiyum pompasının aktivitesi artar ve her dışarı çıkan sodyum için hücre içine kalsiyum girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı bir dizi proteaz ve enzimin aktivasyonu ile hücre ölümüne neden olur.

Hücre içi artan kalsiyum aşağıdaki mekanizmalar üzerinden hücreyi apoptoza hazırlar.<sup>40</sup>

1. Proteazların aktivasyonu ile hücre iskeletinin parçalanması
2. Ksantin dehidrogenaz enziminin aktive proteazlar ile ksantin oksidaza dönüşmesi ve serbest oksijen radikallerinin oluşması
3. Artan serbest oksijen radikalleri ile membran fosfolipidlerinin, proteinlerin ve nükleik asitlerin peroksidasyonu, bu moleküllerin işlevlerinin bozulması
4. Artan kalsiyum ile fosfolipaz enziminin aktive olması ve hücrede yer alan fosfolipidlerin yıkılması

5. ATPaz enziminin aktive olmasıyla azalmış olan ATP düzeyinin daha da düşmesi
6. Endonükleazların aktive olmasıyla nükleer kromatinin parçalanması

### **2.2.6 Bağışıklık sisteminin aktivasyonu**

İskemi reperfüzyon hasarı dokuda mikroorganizmalara karşı olan inflamasyon yanıtı taklit etmektedir. Her ne kadar I/R hasarı mikroorganizmalardan uzak bir ortamda gerçekleşiyor olsa da, dokuda oluşan inflamatuvar yanıt Toll-like Reseptörler (TLR) aracılığı ile doğal immün sistemi; doğal immünitinin aktive olması da kompleman sistemini ve kazanılmış immün sistemi aktiflemektedir.<sup>41</sup>

**I/R sırasında oluşan doğal immün cevap:** Normalde doğal immün cevabı TLR'lere bir ligandın bağlanmasıyla başlar. Bu ligandlar, lipopolisakkarit gibi mikroorganizmaların ortak taşıdığı genel paternlerdir. I/R sırasında ise hücre hasarı ve hücre ölümü ile ilişkili moleküler paternler (Damage-associated molecular patterns, DAMP) oluşur ve bu moleküller TLR için ligand görevi görür. TLR reseptörlerinin aktive olmasıyla inflamasyonda ana role sahip NF- $\kappa$ B, MAPK (mitogen activated protein kinase) yolları aktive olur ve inflamatuvar sitokinler üretilir.<sup>41</sup> Ayrıca I/R hasarının bağışıklık sistemi hücrelerinde TLR ekspresyonunu da arttırdığı da gösterilmiştir. Hemorajik şok ve resüsitasyon sonrası oluşan iskemi reperfüzyon hasarında alveolar makrofajların daha çok TLR-4 eksprese etmektedir.<sup>42</sup> TLR-4 alleli zayıf olan insanlardan yapılan böbrek transplantasyonunda ise inflamatuvar sitokinlerin daha az olduğu, erken greft fonksiyonunun daha iyi olduğu gösterilmiştir.<sup>43</sup>

**I/R sırasında oluşan adoptif immün cevap:** Adoptif immün cevabın I/R alanında nasıl oluştuğu kesinlik kazanmamakla birlikte adoptif immün sistem hücreleri olan CD4+ ve CD8+ T hücreler I/R sahasında birikmektedir. Beyin iskemi-reperfüzyon modellerinde IL-17 üretiminin ve bu sitokini üreten  $\gamma\delta$  T hücrelerinde artış olduğu gösterilmiştir.<sup>44</sup>

Doğal ve adoptif immün cevabın yanı sıra I/R hasarında kompleman sistemi de aktive olur. Bu hasarı başlatan intestinal modellerde annexin IV gibi neoepitoplardır.<sup>45</sup> Kompleman sisteminin aktive olması var olan immün cevabı daha da şiddetlendirmektedir. Kompleman sisteminin inhibisyonu hayvan modellerinde I/R hasarını çok etkili bir şekilde tedavi etmiştir.<sup>41</sup> Ancak bir kompleman sistemi inhibitörü olan Pexelizumab ile miyokardiyal infarktüs üzerine yapılan klinik çalışmalarda istenilen sonuç elde edilememiştir.<sup>46</sup>

### **2.2.7 Mikrovasküler disfonksiyon**

İskemi-reperfüzyon, vasküler permeabilite artışına, endotel hücre inflamasyonuna ve ödemine, koagülasyon ve kompleman sistemi aktivasyonuna, vazodilatör ve vazokonstriktör faktörler arasında dengesizliğe neden olur. Hipoksinin in vitro koşullarda endotel hücrelerin geçirgenliğini arttırdığı, in vivo koşullarda ise pulmoner ödeme neden olduğu gösterilmiştir.<sup>41</sup>

Reperfüzyon sırasında olan kompleman sistemi aktivasyonu, lökosit-endotel hücre adezyonu, trombosit-lökosit agregasyonu mikrovasküler disfonksiyonu daha da artırır. Lökositler, postkapiller venüllerde birikerek kan akımının durmasına neden olur.<sup>47</sup>

Reperfüzyon sırasında vasküler direncin düşmesine rağmen dokuya kan akımının olmamasına “geri akım yokluğu fenomeni” (*no reflow phenomenon*) denir.<sup>41</sup>

### **2.2.8 Hücre ölümü**

İskemi reperfüzyon hasarı nekroz, apoptoz, otofaji gibi değişik hücre ölümü yollarını aktive eder. Nekroz, hücre ve organellerin şişmesi, hücre membranının patlaması, hücre içeriğinin dışarı dökülmesi ile karakterizedir. İskemi sırasında ATP üretiminin azalması ile hücre membranında yer alan ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesi azalır. Bunu sodyumun hücre içinde birikimi ve potasyumun hücre dışına çıkışı izler. Sodyum elektrolitinin artışı izoozmotik olarak suyu da çeker ve akut hücresel şişmeye neden olur.

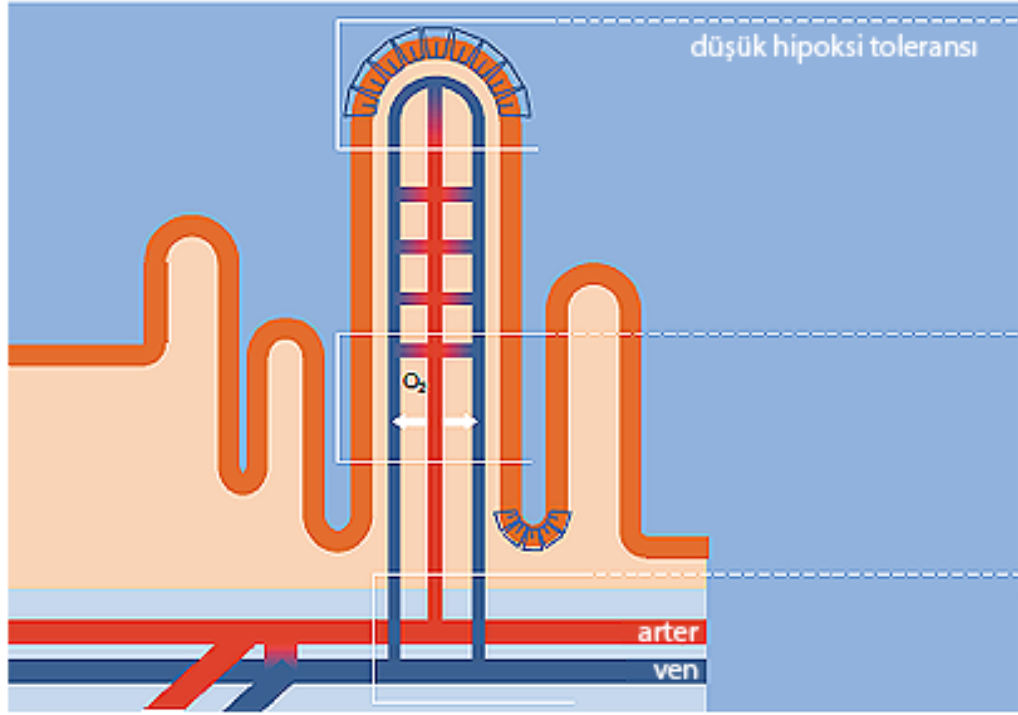
İnorganik fosfatlar, laktik asit ve purin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile bu şişme daha da artar ve sonuçta hücre membranı patlayarak hücre ölümü gerçekleşir.<sup>40</sup>

## **2.3 Bağırsak Perfüzyonu ve Bağırsakta İskemi-Reperfüzyon Hasarı**

### **2.3.1 Bağırsak perfüzyonu**

Kardiyak debinin dinlenme halinde %20-25'i, postprandial durumda ise %35'i bağırsağa gider. Mezenterik kan akımının %70'i mukozal ve submukozal tabakalara giderken, %30'u kas ve seroza tabakasına iletilir. Sistemik tansiyonun düştüğü durumlarda, sabit bir kan akımını sağlamak için arteriollerde yer alan sfinkterler aracılığıyla bağırsak kendi kan akımını ile düzenler (oto-regülatör mekanizma). Oksijen ihtiyacının arttığında ortam artan metabolitler vazodilatasyona ve hiperemiye neden olur. Bu intrinsek mekanizmaların yanı sıra, nöral ve endokrin sistemler ekstrinsek olarak bağırsak kan akımının düzenlenmesine yardımcı olur.<sup>47</sup>

Bağırsakta kan damarlarının organizasyonu, organı iskemiden korumaya yönelik birçok dallanmayı içerir ve birden fazla seviyede pleksus oluşumu gösterir. Arterial damarlar superior mezenterik arterden (SMA) köken alır; arkatlarla birbirine bağlanan jejunal ve ileal damarlara ayrılır. Arterial yapılar bağırsağın seroza tabakasına mezenterik kenardan girer ve dallanarak antimezenterik kenarda tekrar anastomoz yaparlar. Serozadan giren damarlar dış kas tabakasını geçerek submukozada geniş damar pleksusları oluştururlar. Bu pleksustan çıkan arteriollerin bir kısmı submukozanın dış tabakasında seyrederken, bir kısmı subepitelyal kapiller ağı kurar ve villus uçlarına uzanır.<sup>47</sup>



**Şekil-2:** Her villusta santral bir arteriol ve bunun her iki yanında villusu drene eden 1 ya da 2 venül vardır.

Her villusta santral bir arteriol ve onun 15-20  $\mu\text{m}$  uzağında, arteriolun her iki yanında villusu drene eden 1 ya da 2 venül vardır.(Şekil-2) Teoride bu mekanizma nedeniyle arterial oksijenin bir kısmı villus tabanında ters akımlı vene difüze etmektedir. Özellikle sistemik hipotansiyon durumlarında, kan akımı yavaşlayacağı için daha fazla oksijen ters akıma katılmakta ve villus ucunda olan hipoksi artmaktadır.<sup>47</sup>

### **2.3.2 Bağırsak mikrodolaşımını değerlendirme teknikleri**

Bağırsak mikrodolaşımının bozulduğu durumlar, Clark elektronları ile doku oksijenasyonu ölçülerek ya da tonometre ile intramukozal pH ve pCO<sub>2</sub> monitorize edilerek anlaşılabilir. Ayrıca doku reflektans spektrofotometre mikrovasküler hemoglobin oksijen saturasyonu hakkında; lazer dopler flowmetri ise mikrovasküler perfüzyondaki rölatif değişiklikler hakkında bilgi verebilir.<sup>47</sup>

### 2.3.3 Bağırsakta iskemi-reperfüzyon hasarı:

Bağırsak kendi akımını düzenleme fonksiyonuna sahiptir. Bağırsağa olan kan akımının azaldığı durumlarda kandan oksijen ekstraksiyonunu arttırarak ve kullanılmayan kapilleri kullanıma açarak uzun süren hipovolemi-hipotansiyonda bile perfüzyonu devam ettirir. Ancak kan akımı 30 mL/dakika/100 gram-doku veya sistemik kan basıncı 50 mmHg'nin altına düştüğünde kandan oksijen alımı sistemik kan basıncına bağlı hale gelir.<sup>47</sup>

Kapiller perfüzyonun olmaması sonucu dokular hipoksiye girer. Hipoksi ise hipoksida görülen patofizyolojinin önemli bir rolü olan HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) molekülünü aktive eder. HIF-1 *knock-out* farelerde yapılan sepsis-resüsitasyon modelinde intestinal permeabilitenin, bakteri translokasyonunun, kaspaz-3 aktivasyonunun ve TNF-alfa, IL-1beta, siklooksigenaz-2, iNOS gibi inflamatuvar sitokinlerin azaldığı gösterilmiştir.<sup>48</sup> Bu açıdan HIF-1, bağırsak iskemisinde önemli bir moleküldür. Ancak reperfüzyon, bağırsak için iskemiden daha ölümcül bir olaydır. İskemi-reperfüzyon hasarının iskeminin kendisinden daha çok hasar bıraktığını ilk kez Parks ve Granger, 4 saat iskeminin, 3 saat iskemi+1 saat reperfüzyondan daha fazla dokuya hasar verdiğini bularak göstermiştir.<sup>49</sup> Transplante edilmiş ancak reperfüze olamamış bağırsağın histolojisinde kapillerde mikrotrombuslar olmadığı, endotelin şişmediği; ancak damar içinde kan akımının yavaşlaması sonucu kan hücrelerinin biriktiği görülmüştür. Bu yavaşlamanın nedeni olarak postkapiller venüllerde lökositlerin endotel hücrelere adezyonu gösterilmiştir.<sup>50,51</sup> Bu gözlemler uyumlu olarak Beuk ve ark. submukozal kapiller perfüzyonun, submukozal venüllere lökosit yapışması ile azaldığını; ve lökosit adezyon inhibitörleri olan anti-PAF ya da anti-ICAM ile submukozal kapillerden dolaşımın arttığını göstermişlerdir.<sup>52</sup> Ancak inflamatuvar hücre cevabının submukozal tabakaya sınırlı kalırken tüm bağırsak tabakalarında perfüzyon azalması, I/R hasarında tek suçlunun lökositler olmadığını düşündürmektedir.

İntestinal iskemi-reperfüzyon hasarında kilit oyuncu lökosit gibi görülmektedir. Her inflamatuvar cevapta olduğu gibi iskemi-reperfüzyonda da lökositler önce inflamasyon bölgesinin endotelinde yuvarlanır (rolling), daha

sonra da damar duvarına yapışır (adezyon). Lökositlerin yuvarlanması, selektin ailesinden adezyon molekülleri aracılığıyla olmaktadır. SMA oklüzyonu sonrası reperfüzyonun 5. saatinde bağırsak endoteli hücrelerinde P-selektin ekspresyonu 4 kat artmıştır.<sup>53</sup> Dahası P-selektinin inhibe edildiği kolon iskemi-reperfüzyon modelinde lökosit inflamatuvar cevabı oluşmamıştır.<sup>54</sup> İntestinal I/R'de sıkı lökosit adezyonu temel olarak lökosit tarafındaki beta2 integrinler ile endotel membranındaki immünglobulinlerin birbirine bağlanmasıyla oluşmaktadır.<sup>47</sup> Bu adezyonda rolü olan diğer etkenler LFA (CD11a/CD18), CXC kemokinleri ve makrofaj inflamatuvar protein-2'dir.<sup>47</sup>

Her ne kadar birçok çalışma I/R da hız kısıtlayıcı basamağın lökosit-endotel ilişkisi olduğunu gösterse de son yıllarda artan sayıda çalışma patogeneze CD4+, CD8+ T lenfosit gibi diğer kan hücrelerinin olduğunu göstermektedir. İskemi, postkapiller venüllerde MADCAM-1(mucosal addressin cell adhesion molecule-1) ekspresyonuna, bu da lökositlerin ve T lenfositlerin buraya yapışmasına neden olmaktadır.<sup>55</sup>

İskemi-reperfüzyon patogenezinde rolü olduğu düşünülen bir diğer kan hücresi ise plateletlerdir. Plateletler de kapiller edoteline yapışarak mikrovasküler perfüzyonu bozmaktadır. Endotelin eksprese ettiği P-selektin'e ek olarak; plateletin eksprese ettiği P-selektin de lökosit-endotel yapışmasında rol alır.<sup>56</sup> Trombositler ayrıca lökositler ile sinerjik etki göstererek inflamatuvar transkripsiyon faktörü NF-κB'nin aktivasyonuna ve inflamasyonu çoğaltan CD11b/CD18, MCP-1, reaktif oksijen moleküllerinin sentezine neden olur.<sup>57</sup> Son olarak doğal immün sistem ile kazanılmış immün sistem arasında bir bağlantı olarak ortaya çıkarılan TLR (toll-like receptors) moleküllerinin de intestinal I/R hasarında rolü gösterilmiştir.<sup>58-60</sup>

## **2.4 İskemi-Reperfüzyon Hasarını Azaltma Yöntemleri**

### **2.4.1 İskemik ön-koşullandırma**

İnsan vücudu değişen çevre koşullarına uyum sağlayamak için stres yaratan duruma karşı birçok fizyolojik ve biyomoleküler yanıt geliştirmiştir. Bir

dokunun büyük bir olumsuz durum öncesi, küçük karşılaşmalarla büyük olaya biyomoleküler seviyede tolerans geliştirmesine “koşullandırma” denir. İskemi gibi canlı için olumsuz bir olay öncesi kısa süren iskemi periyotları ile dokunun ya da organın iskeminin ve reperfüzyonun ölümcül etkilerine hazırlanmasına “ön-koşullandırma”, doku ya da organ iskemiye girdikten sonra kısa süren reperfüzyon periyotları ile dokunun reperfüzyon hasarına hazırlanmasına ise “art-koşullandırma” denir. Ön-koşullandırma birçok doku için art-koşullandırmaya göre daha güçlü bir mekanizmadır. Farmakolojik ön-koşullandırma ise farmakolojik ajanlar ile iskemik ön-koşullandırmanın taklit edilmesidir. Farmakolojik ön-koşullandırma mekanizmaları volatil anestezi ajanları da olabilmektedir. Bu olaya ise “anestezik ön-koşullandırma” denilmektedir.<sup>61</sup>

İskemik ön-koşullandırma ilk olarak Murry ve arkadaşları tarafından 1986 yılında kanin miyokardı üzerinde yaptıkları çalışma ile ortaya çıkarılmıştır.<sup>62</sup> Bu tarihten beri yapılan birçok deneysel çalışma kalp kası yanı sıra bağırsak, karaciğer, beyin, iskelet kası, spinal kord, retina ve böbrek üzerinde de iskemik ön-koşullandırmanın iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmada olumlu etkisini göstermektedir.<sup>61,63</sup> Ön-koşullandırmada yer alan mekanizmalar birçok sinyal iletim yolağını içeren ve hücreyi strese birden fazla seviyede hazırlayan mekanizmalardır. Bu mekanizmaları aktifleyen birden fazla tetikleyici vardır. Bunlar; adenosin, bradikinin, prostaglandinler, opioid reseptörleri, nitrik oksit ve kalsiyumdur.<sup>64</sup> Gen ekspresyon ve mikroarray çalışmalarından çıkan sonuçlar birden fazla reseptörün aktive olduğunu; ve bu reseptörlerin Protein Kinaz C/Fosfotidol Inozin Kinaz (PKC/PI3K) yolağını kullanarak hücre içine sinyali ilettiğini göstermektedir.<sup>65</sup> Bu yolak dışında p38 mitojen aracılı protein kinaz yolağının da sinyal iletiminde rol aldığını gösteren çalışmalar vardır.<sup>66</sup> Yolakların tam olarak hangi mekanizma ile iskemiye koruyuculuğu arttırdığı henüz bulunamamıştır. Ancak mitokondrinin iskemik ön-koşullandırma mekanizmasına anahtar rolü oynadığına inanılmaktadır. Özellikle mitokondriyal ATP-sensitif potasyum kanallarının iskemik ön-koşullandırmayı başlattığı, bu kanalı aktive eden ilaçların iskemiye karşı koruduğu ve bu kanalın inhibitörlerinin ise koruyucu etkiyi tersine çevirdiği gösterilmiştir.<sup>64</sup>



Ön-koşullandırma mekanizmaları yoğunlaştığı ana başlıklar arasında, ROM (reaktif oksijen molekülleri) üretimi, pro- ve anti-apoptotik proteinlerin seviyesinde değişiklik, mitokondriyal K<sup>+</sup> ATP kanalları yer alır.<sup>64</sup> Her ne kadar iskemi sırasında ortaya çıkan ROM'un hücre üzerinde toksik etkileri olsa da bu moleküllerin aynı zamanda PKC'yi aktive ettiği gösterilmiştir. PKC aracılı fosforilasyon ile pro-apoptotik bcl-2 proteinin inaktive edilmekte; bu şekilde hücre apoptoza karşı dirençli hale gelmektedir.<sup>64</sup>

**Tablo-2:** İskemik ön-koşullandırma sonrasında I/R hasarına karşı koruyucu etki sağlayan moleküler mekanizmalar

<b>İskemik ön-koşullandırmada yer alan moleküler mekanizmalar:</b>
1. Reaktif oksijen moleküllerinin üretimi
2. Pro- ve anti-apoptotik proteinlerin seviyesinde değişiklik
3. Mitokondriyal K <sup>+</sup> ATP kanalları
4. PKC/PI3-K yolağı
5. MEK/ERK/1/2 yolağı
6. Akt-1 ve Akt-2 reseptörlerinin fosforilasyonu
7. mPTP (mitochondrial transpermeability pores) kanalları
8. PI3-K/AKT/PKB yolağı

İskemik ön-koşullandırma Tablo-2'de görüldüğü gibi birden fazla mekanizma üzerinden etki göstermektedir. Ayrıca iskemik ön-koşullandırmanın mekanizmalarını araştıran çalışmalar iskemik ön-koşullandırmanın farklı organlarda farklı mekanizmaları kullanarak koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Örneğin; kalpte mitokondriyal K<sup>+</sup> ATP kanalları rol oynarken, ince bağırsakta K<sup>+</sup> ATP kanallarının bir önemi yoktur. İnce bağırsak ve iskelet kasında lökosit adezyonu ve migrasyonunun iskemik ön-koşullandırma mekanizmasında önemli bir mekanizma olduğu; bu işlevin de ortamdaki nitrik oksitini artırılarak ve bir adezyon molekülü olan p-selektinin azaltılarak yapıldığı gösterilmiştir.<sup>67</sup>

#### **2.4.2 Farmakolojik ve enteral beslenme yöntemleri**

Intestinal I/R patogenezinde değişik basamakları hedef alan birçok farmakolojik ajan deneysel hayvan modellerde denenmiştir. İskemi/reperfüzyon patofizyolojisinde serbest oksijen moleküllerinin hayati bir rol vardır. Serbest oksijen radikallerini ilk kaynağı hipoksantin/ksantin oksidaz sistemidir. Oksijen radikalleri doğrudan membranda bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna neden olur.<sup>36</sup> Trombosit inhibitörlerinin, fosfodiesteraz inhibitörlerinin ve asetilsalisilik asitin I/R hasarını azalttığı gösterilmiştir. Lökosit, trombosit, T hücre, endotel üzerinde yer alan adezyon moleküllerini hedef alan birçok antikor uygulaması da yine bağırsağı korumada başarılı olmuştur. Ayrıca PECAM-1, LFA-1, ICAM-1 gibi moleküllerin blokajı da yine intestinal I/R hasarını azaltmıştır.<sup>47</sup>

Hipoksi ve iskemi durumlarında doku iskemi hasarını kontrol eden bir molekül olan adenzin son yıllarda göze çarpmaktadır. Adenzin, A2BAR adlı reseptörüne tutunarak G protein aracılığı ile cAMP'yi artırır. cAMP ise dokuda iskemi sonucu olan hasarı nötrofil inhibisyonu ve apoptoz redüksiyonu ile azaltır.<sup>2,47</sup>

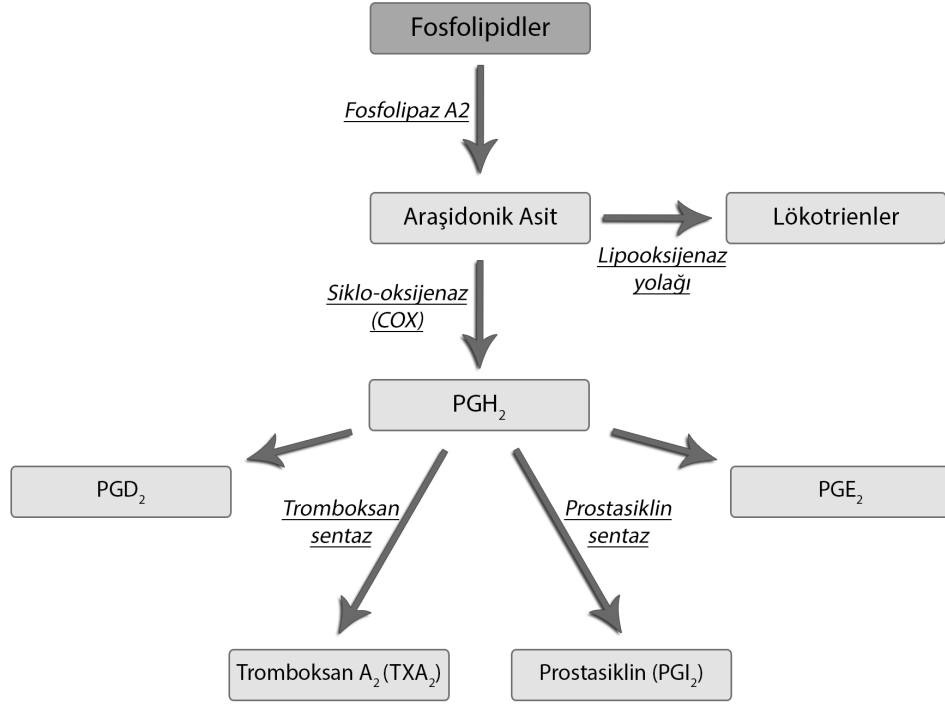
İskemi-reperfüzyon hasarında hayvan çalışmalarında başarılı olan diğer ajanlar EPO, statinler ve L-glisindir. Bu ajanlardan statinler, endotelial NOS enzimini koruyarak etki göstermektedir.<sup>47</sup>

İskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde son yıllarda öne çıkan başka bir konsept ise beslenme yoluyla hasarın azaltılmasıdır. Lümende mukus varlığının faydalı, proteaz enzimlerinin varlığının ise hasarı artırıcı rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>68</sup> Beslenmenin hem mukus hem de proteaz salınımına etkisi olduğu için I/R hasarında tedavi edici yönü araştırılmaktadır. Bouritius ve ark. abdominal operasyon öncesinde karbonhidrat alımının rat modelinde intestinal bariyer fonksiyonunu arttırdığını ve bakteriyel translokasyonu azalttığını gösterdiler.<sup>69</sup> Bir diğer çalışmada ise açlığın intestinal epitel hücrelerin apoptozunu arttırdığı gösterildi.<sup>70</sup> Probiotiklerin TLR-2 ve -4 yoluyla I/R hasarına karşı koruduğu, TLR ligandı olan LPS'nin de mezenterik I/R hasarını azalttığı ortaya koyuldu.<sup>47</sup> Enteral aminoasit solüsyonlarından glutaminin

inflamasyonu azalttığı, mukozayı koruduğu, bağırsağın bariyer fonksiyonunu arttırdığı gösterildi.<sup>71</sup> Bu bilgi ile korele olarak aynı grup tarafından yapılan klinik çalışmada aktif şok sonrası enteral glutamin kullanımının güvenli olduğu ve glutaminin enteral toleransı arttırdığı bildirildi.<sup>72</sup>

## 2.5 Prostaglandinler ve İloprost

Prostaglandin (prostaglandin I<sub>2</sub>; PGI<sub>2</sub>) “eikozanoid” olarak bilinen lipid molekülleri ailesinin bir üyesidir. İlk kez 1960’lı yıllarda Sir Jane Vane ve arkadaşları tarafından bulunmuştur.<sup>73</sup> Prostaglandin, primer olarak arter ve venlerin iç çeperlerini oluşturan endotel hücrelerinde, prostaglandin sentaz enzimi ile arakidonik asitten sentezlenmektedir. Prostaglandinin en önemli iki özelliği vazodilatasyon yapması ve antiagregan olmasıdır. Arakidonik asitten tromboksan sentaz ile sentezlenen bir diğer ürün olan tromboksan ise prostaglandinin tam tersine vazokonstriktör ve proagregan etki gösterir. Normal fizyolojik durumda bu iki enzim ve bu yolların son ürünleri olan prostaglandin ve tromboksan denge halinde bulunmaktadır. (Şekil-3) Ancak damar bütünlüğünün bozulduğu durumlarda dengenin yönü tromboksan yönüne kaymakta ve ortamda biriken trombositler ile kanama kontrolü olmaktadır. Siklooksijenaz enzimi inhibitörünün kullanımı ise tromboksan sentazı inhibe eder ve dengeyi prostaglandin yönüne kaydırır. Bu nedenle, bir siklooksijenaz inhibitörü olan aspirin antiagregan etki gösterir.<sup>74</sup>

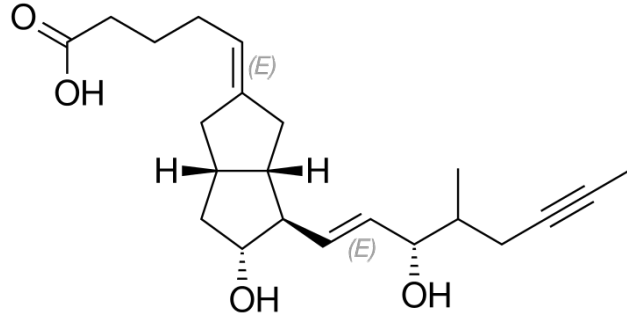


**Şekil-3:** Prostaglandin metabolizması

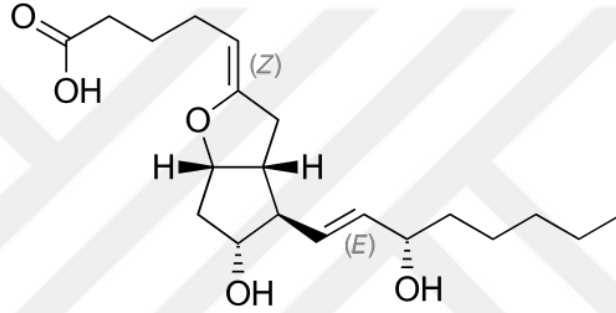
### 2.5.1 İloprostun etkileri:

İloprost uzun etkili bir prostasiklin analogudur. Ancak analogu olduğu prostasiklinden daha stabil bir moleküldür.<sup>75</sup> İloprost, prostasiklin reseptörüne (EP1) kompetitif şekilde bağlanmasıyla adenilat siklaz enzimi aktive olur ve hücre içi siklik AMP seviyesi yükselir.<sup>76</sup> Farmakolojik dozda plateletlerin agregasyonunu ve adezyonunu inhibe eder; arteriol ve venülleri dilate eder.<sup>77</sup> Vazodilatasyon ve endoteli koruyucu etkisi ile mikrodolaşımı artırır. Bu özellikleri ile periferel arter hastalıklarının tedavisinde kullanılır. İloprost ayrıca serotonin ve histamin aracılığıyla mikrodolaşımda vasküler permeabilite artışını azaltır, fibrinolizisi artırır, pro-inflamatuar bir sitokin olan TNF salınımını azaltır; inflamasyon sırasında lökositlerin endotele adezyonunu ve hasarlı dokuda birikimini engeller.<sup>77,78</sup> Bu ek özelliklerin, iloprostun iskemi-reperfüzyon hasarını azaltıcı etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir.

## 2.5.2 İloprostun farmakolojik ve farmakokinetik özellikleri



**Şekil-4:** Prostatiklin (PGI<sub>2</sub>) molekülünün kimyasal yapısı



**Şekil-5:** İloprost molekülünün kimyasal yapısı

İloprost, araşidonik asitten endojen olarak sentezlenen prostatiklin (PGI<sub>2</sub>) molekülüne karboksilin yan dalı eklenmesiyle sentetik olarak üretilir. (Şekil-4) Prostatiklinden farklı olarak C18-C19 arasında üçlü bağ, C16'da metil grubu ve bir adet metilen grubu içerir. (Şekil-5) Bu kimyasal özellikleri iloprostu daha stabil bir molekül haline getirir ve ilacın intravenöz kullanımını mümkün kılar.<sup>77</sup>

İloprost sadece intravenöz infüzyon şeklinde tatbik edilebilmektedir. İnsanda farmakolojik doz 0.5-2 ng/kg/dk. arasında önerilmiştir. İnfüzyona başlandıktan sonra 10-20 dakika içerisinde plazma seviyesi dengeye gelir ve sistemde hızlı metabolize edildiği için infüzyonun kesilmesinin hemen ardından plazma seviyesi düşer. İloprostun eliminasyonu iki fazda gerçekleşir. İlacın yarı ömrü ilk faz için 3-5 dakika, ikinci faz için 15-30 dakikadır. Daha çok böbrek, az miktarda karaciğer yoluyla atılır. Bu nedenle ileri derece böbrek ve karaciğer yetmezliği olan insanlarda ilaç klerensi düşüktür.<sup>77</sup>

### **2.5.3 İloprostun endikasyonları:**

İloprostun endikasyonları, cerrahi ya da anjiyoplasti yapılamayan ve amputasyon riski taşıyan ileri derece periferik arter hastalığı; revaskülarizasyonun mümkün olmadığı ileri derece tromboanjitis obliterans (Buerger hastalığı), diğer tedavilere cevap vermeyen ciddi Raynaud fenomeni ve orta veya ciddi derece pulmoner hipertansiyondur.<sup>77</sup>

### **2.5.4 İloprostun yan etkileri:**

İloprostun en sık yan etkileri baş ağrısı, kızarıklık, hipotansiyon, kusma, bulantı ve terlemedir. Ancak tüm bu yan etkiler dozun azaltılmasıyla genellikle son bulur. İloprostun nadir görülen ancak ciddi yan etkileri ise serebrovasküler olay, anjina pektoris, miyokardiyal infarktüs, pulmoner emboli, konvülsiyon ve pulmoner ödemdir.<sup>77</sup>

### **2.5.5 İloprostun kontrendikasyonları**

İloprost, kanama riskinin yüksek olduğu durumlarda (aktif peptik ülser, intrakranial hemoraji vb.), ciddi koroner arter hastalığında, anstabil anjina pektoris ve etkileri bilinmediği için gebelik ve laktasyon döneminde kontrendikedir.<sup>77</sup>

### **2.5.6 İloprostun I/R hasarındaki rolü**

İloprost anti-inflamatuar, sitoprotektif, vazodilatör etkisi ile kalp, böbrek, iskelet kası, akciğer, karaciğer, spinal kord gibi birçok organ üzerinde araştırılmış ve I/R hasarı üzerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>79-85</sup>

İloprost ile ilgili umut vaat edici çalışmalar daha çok karaciğer transplantasyonu alanındadır. Schoening ve arkadaşları, karaciğer transplantasyonu modelinde iskemi öncesinde ve organ banyosunda iloprost kullanımının hepatic arterde kan akımını, safra üretimini ve mikrodolaşımı

arttırdığını göstermişlerdir.<sup>86</sup> Pre-klinik çalışmalardan yola çıkarak karaciğer transplantasyonu sırasında donöre intravenöz bolus epoprostanil (prostasiklin analogu) uygulamasının alıcı karaciğer safra üretimini arttırdığını ve karaciğer enzim seviyelerini olumlu yönde etkilediği klinik çalışmalarda da kanıtlanmıştır.<sup>12</sup>

İloprost nötrofil adezyonunu azaltır, nötrofillerden serbest radikallerin salınımını engeller. Böylece reperfüzyon sırasında nötrofillerin endotele yaptığı hasarı azaltır.<sup>84</sup> İloprost p-selektin, interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak,<sup>87</sup> reperfüzyon sırasında olan lökosit-endotel etkileşimini, dolayısıyla serbest oksijen radikallerinin üretimini ve dokuya verilen hasarı azaltır. İloprost ayrıca mikrovasküler permeabilite artışını azaltarak dokuya nötrofil göçünü engeller.<sup>88</sup> İloprost ilginç olarak endotele yapışmış olan lökositin de endotelden ayrılmasına yardımcı olur. Sıçan mezenterik damarlarda lökosit adezyonunu intravital mikroskopi ile inceleyen bir çalışmada lokal olarak damlatılan prostasiklinin aktive olmuş lökositleri damar duvarından ayırdığı görülmüştür.<sup>76</sup>

İloprostun I/R hasarını azaltmada önemli bir rolü antioksidan miktarını artırmasıdır. Deneysel aort klemplenmesi modelinde iloprost kullanılan grupta iskelet kası ve spinal kord'da SOD düzeyi artmıştır.<sup>80</sup> Hayvan modellerinde doz ile orantılı olarak nötrofillerden serbest oksijen radikallerinin üretimini inhibe ettiği, lipid peroksidasyon ürünü MDA seviyesini azalttığı gösterilmiştir.<sup>79</sup> Benzer şekilde iloprost infüzyonu alan sistemik skleroz hastalarında MDA seviyesi ciddi azalmıştır.<sup>89</sup>

Prostasiklin ve analogları, trombositlere karşı çok güçlü antiagregan etkiye sahiptir. İloprost iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında postkapiller venüllerde lökosit ve trombosit birikimini azaltarak mikrodolaşımı ve doku perfüzyonunu artırıcı etki gösterir. İloprost infüzyonunun düşük kardiyak output modelinde kan basıncını değiştirmeden mezenterik kan akımını arttırdığı da gösterilmiştir.<sup>90</sup> İloprostun antiagregan etkisi lokal kullanımda da ortaya çıkmaktadır. Deneysel anastomoz modellerinde topikal prostasiklin uygulamasının trombüsü azalttığı gösterilmiştir.<sup>91,92</sup>

### **2.5.7 Prostatiklin analogları ve ticari isimleri**

İloprost, prostatiklin analoglarından birisidir. Epoprostenol, treprostiniil, sisaprost klinik kullanımda olan diğler prostatiklin türevleridir. Ülkemizde prostatiklin analoglarından sadece iloprost bulunmakta olup İlomedin 20mcg/ml (Bayer Schering Pharma AG®, Berlin, Almanya) ticari ismi ile piyasada satılmaktadır. Bir ampul, 1 mililitre içerisinde 20 mikrogram iloprost ihtiva etmektedir.

### **2.6 Lazer Dopler Flowmetri**

Lazer Dopler Flowmetri (LDF), mikrovasküler yapılarıdaki kan akımını, dolayısıyla bir dokudaki lokal perfüzyonu kantitatif olarak ölçmede kullanılan alettir. Çalışma prensibi monokromatik lazer ışınının dokuya gönderilmesi ve dokudaki canlı komponentlerden geri yansıyan lazer ışınında olan spektral değışikliklerin analize edilmesine dayanır. LDF cihazında lazer ışını üreten bir ana makine, bu makineden çıkan fiberoptik kablolar ve bu kabloların bağlandığı bir adet probtan oluşur. Probtta 780 nm dalga boyunda lazer ışını gönderen bir adet uç ile, yansıyan ışını algılayan bir adet alıcı uç vardır. Verici ve alıcı fiber optik uçların arasında 0.25 mm bulunur ve bu şekilde 0.5-1.0 mm doku derinliğı değerlendirilebilir. Optik uçlardan çıkan ışığın bir kısmı emilir, bir kısmı saçılır, büyük bir kısmı ise geri yansır. Lazer ışını, statik yapılara çarptığında ışın dalga boyunda değışiklik olmaz. Işın, mikrodolaşımda hareket eden kan hücrelerine çarptığında ise dalga boyu değışir. Bu değışime “dopler kayması” (doppler shift) denir. (Şekil-6) Işın dalga boyunda değışikliğın büyüklüğü ve frekans dağılımı, hareket eden hücrelerin sayısı ve hızı ile ilişkilidir. Ancak, hücrelerin hareket yönünü göstermez. Her ne kadar mikrodolaşımda olan hücrelerin %99'u kırmızı kan hücreleri ise de LDF tüm hareket eden kan hücrelerini ölçmektedir.<sup>93</sup>

LDF'nin iki çeşidi bulunur: Lazer Dopler Perfüzyon Monitorizasyonu (LDPM) ve Lazer Dopler Perfüzyon Görüntülemesi (Laser Doppler Perfusion Imaging, LDPI). İlk yöntem dokuya ışın gönderiminde ve alımında fiber optik



kabloları kullanırken; ikinci yöntem tarama yöntemi ile uzak bir ışık kaynağı ve alıcı kullanılmaktadır. Bu nedenle LDPM küçük bir alanda mikrodolaşımı ölçerken, LDPI daha büyük bir doku alanında ölçüm yapmaktadır. Ancak LDPI, tarama zamanının uzun olmasına bağlı dolaşımda devamlı olarak ölçüm yapamamaktadır.<sup>93</sup>

LDF ile ölçülen kantite “perfüzyon” dur ve “perfüzyon ünitesi” (PU) olarak adlandırılan dilemsel bir değer ile ölçülür.<sup>94</sup> Bir dokuda mikrodolaşımı sağlayan yapılar arteriol, kapiller ve venüllerdir. Hareket eden kan hücreleri doku hacminin az bir bölümünü işgal etmektedir. Örneğin mukozada, bir milimetre karelik alanda yaklaşık 50 kapiller bulunmaktadır. Mikrodolaşımdan geçmeyen lazer ışınları doku tarafından absorbe edilmekte ya da geri yansıtılmaktadır; ancak bu ışınların dalga boyunda bir değişim olmaktadır. Geri yansıtılan ışın, “total back scattered (TBS)” değeri ile ölçülmektedir. TBS, perfüzyon ölçümünde gürültü olup olmadığını değerlendirmede kullanılmaktadır.<sup>94</sup>

LDF cihazının ölçtüğü perfüzyon değeri (Perfusion unit, PU) cihaz üzerinde olan dijital ekrandan ya da cihazın bağlandığı bilgisayar programı kullanılarak okunabilmektedir. Bilgisayar programı, doku perfüzyonunda olan değişimlerin trasesini gerçek zamanlı olarak izlemeye olanak sağlamaktadır. Dijital ekranda ya da bilgisayar programında verilen perfüzyon ünitesi değeri, hücrelerin konsantrasyonu ile hız değerlerinin çarpımı ile elde edilmektedir.<sup>95</sup>

### **2.6.1 LDF cihazının tıpta kullanımı**

LDF cihazı tıpta ilk olarak tavşan retinasında kan akımını ölçmek için kullanılmıştır. Kardiyovasküler cerrahide vasküler rekonstrüksiyon sırasında mikrovasküler kan akımının gözlenmesinde; anestezide farklı anestezi ajanlarının periferik kan akımına yaptığı etkinin izlenmesinde, farmakolojide vazodilatör ilaçların doku perfüzyonu cevabının ölçülmesinde, plastik cerrahide flep mikrodolaşımının non-invaziv ölçümünde kullanılmaktadır.<sup>95</sup>

## **2.6.2 LDF yönteminin avantajları**

LDF cihazının klinikte ve araştırmalarda kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Çünkü LDF metodu kolay ve non-invaziv olarak doku perfüzyonu hakkında devamlı ya da istenilen aralıklarda gerçek zamanlı bilgi vermektedir. Dahası, kapiller dolaşımında olan küçük değişimleri bile hızla yansıtmaktadır. LDF cihazının bir diğer avantajı da özel bilgisayar programı kullanılarak elde edilen verilerin istatiksel olarak analiz edilebilmesidir.<sup>95</sup>

## **2.6.3 LDF yönteminin teknik kısıtlılıkları**

### **2.6.3.1 Ölçümlerin tekrar üretilebilirliği**

Doku anatomisinin heterojen olması ve LDF cihazının küçük bir alanda ölçüm yapması nedeniyle dokunun her yerinde eşit ölçümler alınmayabilir. Bunun dışında mikrodolaşım sabit değildir ve sıcaklık, fizyolojik aktiviteler gibi birçok etkene bağlı değişkenlik gösterir.<sup>93</sup> Örneğin; Tenland ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada prob yeri değişmemesine rağmen farklı zamanlarda aynı noktadan yapılan ölçümlerde cilde olan kan akım sinyalinin %25 oranında değiştii görülmüştür.<sup>96</sup>

### **2.6.3.2 Hareket artefaktları**

LDPM monitorü ışık dalga boyunda olan değişimi ölçer ancak dalga boyunda olan değişimlerin nedenini algılayamaz. Probun solunum, bölgesel kas kontraksiyonu gibi nedenlerle doku yüzeyinden hareket etmesi dopler kaymasına benzer ışık şiddetinde değişikliğe neden olur. Ancak bu sinyal değişiklikleri perfüzyonda olan değişimlerden çok daha fazla büyüklüktedir. Bu nedenle kullanıcının bunun farkında olması ve bu durumu düzeltmesi gerekir.<sup>93</sup>

### **2.6.3.3 Kantitatif birimlerin ve ölçümlerin yokluğu**

LDF ile ölçülen kantite “perfüzyon”dur ve “perfüzyon ünitesi”(PU) olarak adlandırılan dilemsel bir değer ile ölçülür.<sup>94</sup> PU değeri, diğer kan akımı ölçüm

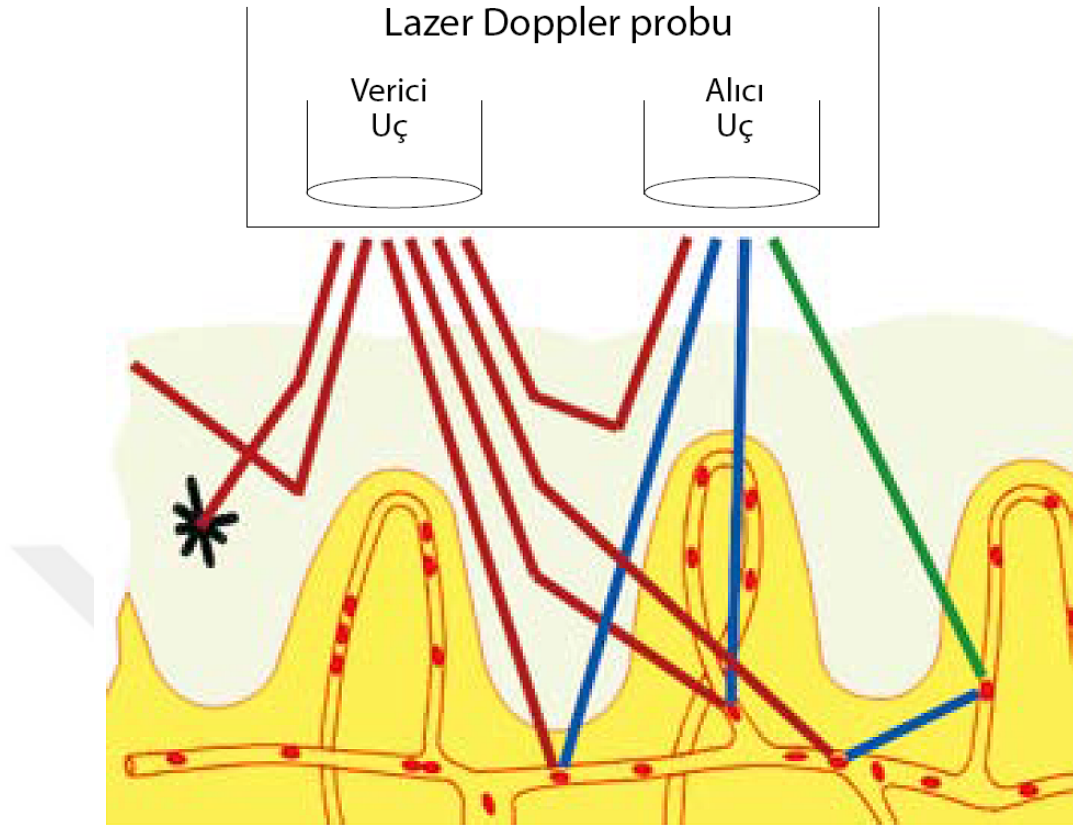
birimleri olan ml/dk ya da ml/dk/100 gram doku gibi birimlere çevrilemez. Ancak bu çevirmelere olanak sağlayan matematiksel modeller gelişim aşamasındadır.<sup>93</sup>

#### **2.6.3.4 Biyolojik sıfır**

Akım sinyali arter oklüzyonunda bile tamamen sıfıra düşmez. Kan akımı olmadığı zamanlarda “biyolojik sıfır” (the biological zero) olarak adlandırılan bir minimal akım sinyali vardır. Bu sinyal muhtemelen hücrelerin Brown hareketinden, damar hareketlerinden ya da elektriksel gürültüden kaynaklanmaktadır. Morales, bu akımın ölçülmesini ve LDPM değerinden çıkarılması gerektiğini savunmuştur.<sup>93</sup>

#### **2.6.3.5 Sinyal işlemcisi**

Ticari LDPM cihazlarının her birinin ayrı sinyal işleme algoritmaları ve kalibrasyon yöntemleri vardır. Her ne kadar akım sinyali kan akımına bağlı olsa da, farklı marka cihazlarla yapılan ölçümlerde farklı PU değerleri alınabilmektedir. Bu nedenle farklı cihazlar ile yapılan LDPM değerleri direkt olarak karşılaştırılmamalıdır.



**Şekil-6:** Lazer dopler aletinin probunda iletici ve alıcı iki adet uç bulunur. İletici uçtan çıkan lazer ışınlarının bir kısmı dokuda absorbe olur; bir kısmı değişmeden geri yansır, bir kısmı ise hareket eden kan hücrelerine çarpar, ışık dalga boyutu değişmiş olarak geri yansır. Alıcı uç, geri yansıyan ışının dalga boyunda olan değişikliği algılayarak cihaza iletir.

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 101.2016.mar protokol kodlu yerel etik kurul onayı alınarak yapıldı. Proje Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından SAG-C-TUP-131216-0525 numarasıyla desteklenmiştir. Çalışmada kullanılan sıçanlar Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DEHAMER) elde edildi. Otuz-beş adet, 200-300 gram ağırlığında, Sprague Dawley tipi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar bir kafeste en fazla 4 hayvan olacak şekilde ayrı kafeslerde, ortalama 24°C±1 oda sıcaklığı, ortalama %45±10 nem, 12 saat gece/12 saat gündüz ve ad libitum yem ve su gibi standart laboratuvar bakım şartlarına tabi tutuldu. Deney protokolünün tüm aşamaları hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesine uygun şekilde yapıldı.

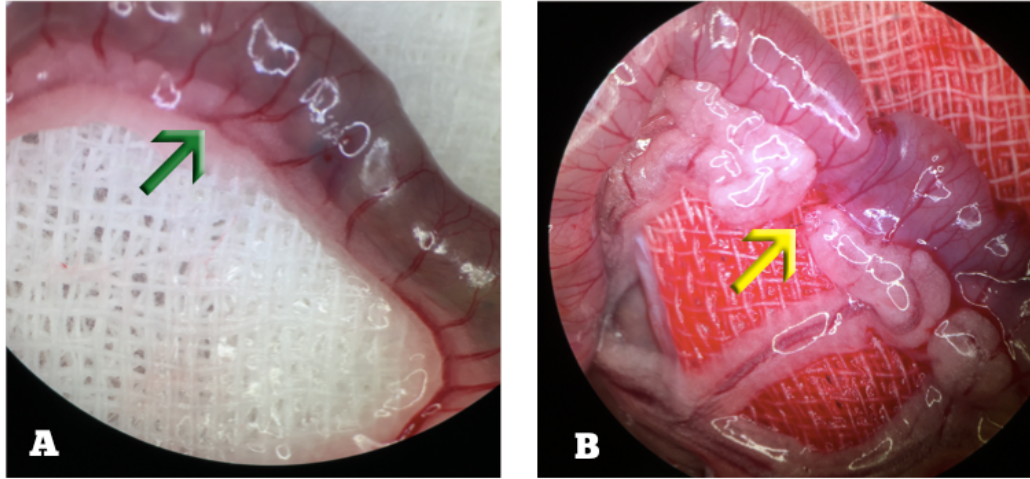
#### 3.1 Anestezi ve Cerrahi İşlem

Deney hayvanlarına, intraperitoneal olarak 100 mg/kg ketamin (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg ksilazin (Rompun® %2, Bayer, Almanya) enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Sıçanlar anestezi sonrası emici ped ile kaplanmış strafor üzerinde supin pozisyonda ekstremiteleri ve kuyruğu ipek flaster yardımıyla daha önce tarif edilen şekilde sabitlendi.<sup>25</sup> Ratların tüm karın bölgesi ve sağ supraklavikular bölgesi traşlandıktan sonra %10'luk povidon iyot solüsyonu (Isosol, Merkez Laboratuvarı A.S.) ile antiseptik kurallarına uygun şekilde temizlendi. Orta hat subksifoid bölgeden 3 santimetrelilik cilt insizyonu yapıldı. Linea alba bir penset yardımıyla yukarı asılarak median laparotomi yapıldı. Omentum majus superiora retrakte edildi. Karaciğer sağ lobunun altında duodenum bulundu. Duodenum distale doğru takip edilerek Treitz ligamenti ve jejunum proksimali belirlendi. Treitz ligamentinin yaklaşık 15 cm distalinde 5-7 cm uzunluğunda jejunal segment ve bu segmenti besleyen jejunal arterler eksplere edildi. (Şekil-7)



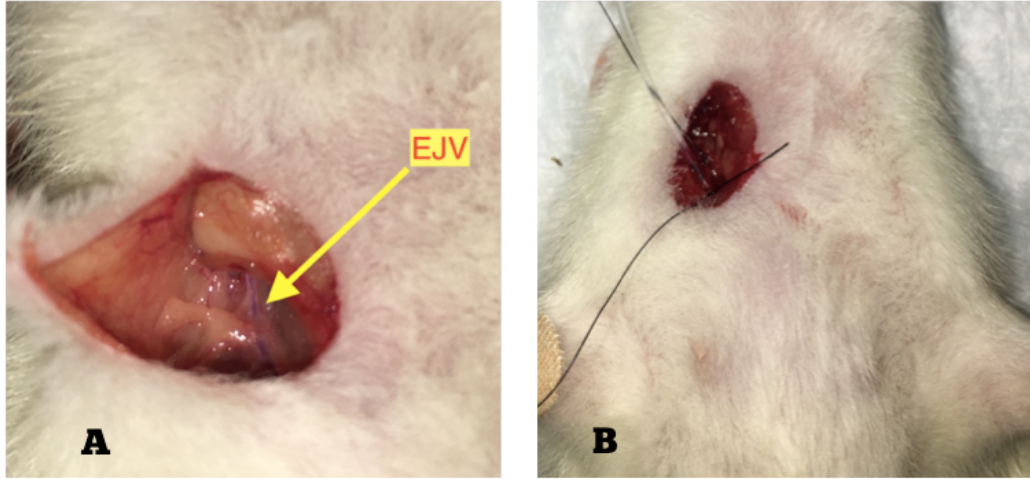
**Şekil-7:** Tek bir jejunal arter ve ven üzerinden beslenen jejunal flebin görünümü

Jejunal segmentin izolasyonu için jejunal arterlerin bağırsak duvarının komşuluğunda yaptığı arkadlardan köken alan vaza rektalar mikro penset ve makas yardımıyla diseke edildi ve 8/0-9/0 poliamid suturelerle bağlandı. (Şekil-8) Flebi besleyen jejunal arterler üzerinde bağırsak segmenti izole edildi. Donör jejunumun proksimal ve distal uçları intraabdominal kontaminasyonu engellemek için 4/0 ipek suture ile bağlandı. Jejunal flebin lümeni enjektör ucunda yer alan bir angiocath yardımıyla serum fizyolojik ile temizlendi. Tek jejunal arter üzerinde eleve edilen flebin dolaşımının ve renginin normal olduğu görüldükten sonra peroperatif sıvı kaybını azaltmak için 4/0 ipek suture ile karın duvarına yaklaşıtııcı sutureler yerleştirildi.



**Şekil-8:** (A) Mikroskop altında jejunal flep hazırlanırken bağırsak duvarına giden vaza rektalar (yeşil ok) ve (B) vaza rektaların mikrosütür ile bağlandığı (sarı ok) görülmektedir.

**Eksternal juguler venin (EJV) diseksiyonu:** İntravenöz yoldan ilaç ve serum fizyolojik verilebilmesi için sağ eksternal juguler ven kullanıldı. Sağ supraklavikuler bölge ve boyun sağ yarısı traşlandıktan sonra betadin solüsyonu ile antisepsi uygulandı. Klavikula üzerinden yapılan longitudinal insizyon ile supraklavikular yağ yastıkçığına ulaşıldı. Bu yastıkçığın altında eksternal juguler ven bulundu ve çevre dokudan diseke edildi. EJV'nin kraniali bir adet 4/0 ipek sütür yardımıyla bağlandı ve bu sütürün saat 11 hizasına ipek flaster ile asılmasıyla traksiyon sağlandı. Başka bir sütür, kanülasyon sonrası damarın ligasyonu için EJV proksimaline yerleştirildi. EJV askı sütür yardımıyla havalandırıldı; damar duvarına mikro makas ile kanülün girmesine uygun delik açıldı. 30 gauge kalınlığında intravenöz katater damara yerleştirildi ve 0,25 cc hacminde sıvı (deney gruplarına göre iloprost veya serum fizyolojik) bolus enjekte edildi. (Şekil-9) Damarın proksimali de ligate edilerek boyun insizyonu sütüre edildi.

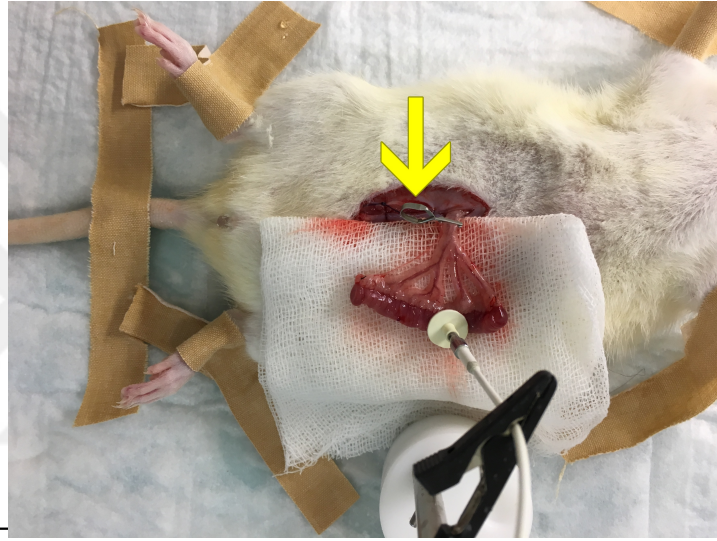


**Şekil-9:** Boyun sağ tarafta yapılan insizyon ile eksternal juguler venin (EJV) bulunması (A) ve kanüle edilmesi (B)

Jejunal flep, dolaşımının normal olduğu teyit edildikten sonra deney hayvanı cerrahi masadan doku perfüzyonu ölçümü için lazer dopler perfüzyon monitorü masasına alındı. İkinci masada Lazer Dopler Perfüzyon monitorü, (LPDM Periflux System 5000, Perimed AB, Stockholm, İsveç), PROBE 407-1, Small Short Probe (Perimed AB, Stockholm İsveç) Perifost for Windows Examination Manager (Perimed AB, Stockholm, İsveç) yazılımının olduğu bilgisayar hazırlandı. Lazer Dopler Flowmetre (LDF) cihazının ölçüm probu flebin antimezenterik kenarında, jejunal arkların orta noktaya gelecek şekilde sabitlendi. İskemi öncesinde LDF cihazı ile 5 dakika bazal ölçüm alındı. İskemi uygulanan gruplarda (Grup 2-3-4-5) iskemi, jejunal arter ve eşlik eden vene atravmatik mikrovasküler klempin (Acland Micro Vessel Clip, Art.No. 56.85.07, Medicon, Tuttlingen, Almanya) yerleştirilmesi ile sağlandı. (Şekil-10) Klinik olarak flebin renk değiştirmesi ve LDF monitoründe flep perfüzyonunun 50 PU'nun altına düşmesiyle iskemi konfirme edildi. Altmış dakikalık iskeminin son 5 dakikasında iskemi sırasında flep doku perfüzyonunu ölçmek için LDF ile ölçüm alındı ve mikrovasküler klemp açılarak iskemiye son verildi. İki saatlik reperfüzyon sırasında, birinci saatin son beş dakikasında (Reperfüzyon-1) ve ikinci saatin son beş dakikasında (Reperfüzyon-2) iki kez doku perfüzyonu ölçümü alındı. Ölçüm aralarında bağırsak segmenti vücut sıcaklığında SF'e emdirilmiş gazlı beze sarıldı ve kurumayı engellemek için gazlı bez nemli



tutuldu. Deney bitiminde açık pnömotoraks yöntemi ile deney hayvanlarına ötenazi uygulandı. Jejunal flep segmenti nemli bir gaz üzerinde mezenter dokudan temizlendi ve her biri en az 1 cm olan 4 eşit parçaya bölündü. Bir adet parça histolojik değerlendirme için %10 formaldehit solüsyonunda fikse edildi. İki parça miyeloperoksidaz (MPO), süperoksit dismutaz (SOD aktivitesinin değerlendirilmesi için 1 cc PBS solüsyonu içeren ependorf tüplere aktarıldı -80°C'de saklandı. Kalan bir adet parça ise yedek örnek olarak yine 1 cc PBS solüsyonu içeren ependorf tüp içinde -80°C'de saklandı.



**Şekil-10:** Mikrovasküler klemp ile flep pedikülünün klempelenmesi (ok işareti) ve flep perfüzyonunu ölçmek için sabitlenen lazer Doppler Flowmetri probunun görünümü.

### 3.2 Deney Protokolü ve Deney Grupları

Ratlar randomize edilerek 5 gruba ayrıldı. Deney protokolü Şekil-11'de özetlenmiştir.

#### 3.2.1 Grup 1: Sham (Yalancı Cerrahi) grubu (n=6)

Bu grupta yer alan 6 adet rata, anestezi ve cerrahi işlem bölümünde (bölüm 3.2) bahsedilen laparotomi ve jejunal flebin hazırlanması uygulandı. Jejunal flep, tek bir jejunal arter üzerinde eleve edildikten sonra vasküler

pedikül klemplenmeden histoloji için doku örnekleri alındı.

### **3.2.2 Grup 2: Sadece iskemi-reperfüzyon grubu (Kontrol Grubu) (n=7)**

Bu grupta yer alan 7 adet ratta jejunal flep hazırlandıktan sonra EJV'den 0.25 cc SF intravenöz enjekte edildi. LDF ile 5 dakika süren bazal ölçüm alındı. Mikrovasküler klemp ile 60 dakikalık iskemi süreci başlatıldı ve iskeminin son 5 dakikasında iskemi LDF ölçümü alındı. Mikrovasküler klemp açılarak 2 saat süren reperfüzyon süreci başlatıldı. Reperfüzyonun 55. ve 115.dakikasında 5 dakika süre ile reperfüzyon-1 ve reperfüzyon-2 LDF ölçümü alındı.

### **3.2.3 Grup 2: İskemik ön-koşullandırma grubu (ÖK) (n=7)**

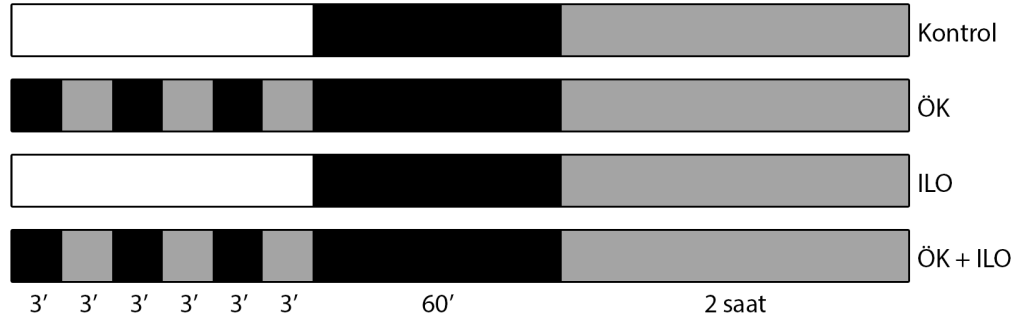
Bu grupta yer alan 7 adet ratta jejunal flep hazırlandıktan sonra LDF ile 5 dakika süren bazal ölçüm alındı. Mikrovasküler klemp yardımıyla üç siklus 3 dakika iskemi ve 3 dakika reperfüzyon ile iskemik ön koşullandırma yapıldı. Ön koşullandırmanın son 3 dakikalık reperfüzyon döneminde EJV'den 1 mcg/kg SF (0.25 cc hacminde) intravenöz bolus enjekte edildi. Üç dakikanın sonunda 60 dakikalık iskemi süreci başlatıldı ve iskeminin son 5 dakikasında LDF ölçümü alındı. Mikrovasküler klemp açılarak 2 saat süren reperfüzyon süreci başlatıldı. Reperfüzyonun 55. ve 115.dakikasında 5 dakika süre ile reperfüzyon-1 ve reperfüzyon-2 LDF ölçümü alındı.

### **3.2.4 Grup 4: İloprost grubu (İLO) (n=7)**

Bu grupta yer alan 7 adet ratta jejunal flep hazırlandıktan sonra LDF ile 5 dakika süren bazal ölçüm alındı. Ölçüm sonunda 1 mcg/kg iloprost (0.25 cc hacminde) intravenöz bolus enjekte edildi. Üç dakika beklendikten sonra mikrovasküler klemp ile 60 dakikalık iskemi süreci başlatıldı ve iskeminin son 5 dakikasında iskemi LDF ölçümü alındı. Mikrovasküler klemp açılarak 2 saat süren reperfüzyon süreci başlatıldı. Reperfüzyonun 55. ve 115.dakikasında 5 dakika süre ile reperfüzyon-1 ve reperfüzyon-2 LDF ölçümü alındı.

### 3.2.5 Grup 5: İloprost ve iskemik ön koşullandırma grubu (ÖK+İLO) (n=7)

Bu grupta yer alan 7 adet ratta jejunal flep hazırlandıktan sonra LDF ile 5 dakika süren bazal ölçüm alındı. Mikrovasküler klemp yardımıyla üç siklus 3 dakika iskemi ve 3 dakika reperfüzyon ile iskemik ön koşullandırma yapıldı. Ön koşullandırmanın son 3 dakikalık reperfüzyon döneminde EJV'den 1 mcg/kg iloprost (0.25 cc hacminde) intravenöz bolus enjekte edildi. Üç dakikanın sonunda 60 dakikalık iskemi süreci başlatıldı ve iskeminin son 5 dakikasında LDF ölçümü alındı. Mikrovasküler klemp açılarak 2 saat süren reperfüzyon süreci başlatıldı. Reperfüzyonun 55. ve 115.dakikasında 5 dakika süre ile reperfüzyon-1 ve reperfüzyon-2 LDF ölçümü alındı



**Şekil-11:** Deney protokolünün gruplara göre şematik olarak özetlenmesi. İskemi periyotları siyah renkte, reperfüzyon periyotları gri renkte bar ile gösterilmiştir. ÖK: iskemik ön-koşullandırma, İLO: iloprost, ÖK+İLO: iskemik ön-koşullandırma+iloprost.

### 3.3 Sonuçların Değerlendirilmesi

#### 3.3.1 Lazer Dopler flowmetre ile flep perfüzyonunun değerlendirilmesi

Cerrahi bitiminde denek lazer dopler masasına alındı ve lazer dopler flowmetri cihazının Probe 407 (Perimed AB, Stockholm, İsveç) ucu flep üzerine yerleştirildi. Lazer dopler flowmetrinin okuduğu değerler eş zamanlı olarak Perisoft for Windows (Perimed AB, Stockholm, İsveç) bilgisayar programı ile izlendi. Perisoft for Windows programında "PU" değeri ile gösterilen flep

perfüzyon değerlerinin trasesi farklı zaman aralıklarında kaydedildi. Solunum hareketleri gibi gürültüye yol açan sinyaller kayıttan çıkarıldı. Elde edilen kayıtlar Perisoft for Windows programı ile analiz edildi. Belirlenen zaman aralığında kaydedilen perfüzyon değerinin ortalama değeri hesaplandı. Bazal ölçüm o denek için %100 kabul edildi. İskemi, reperfüzyon 1. saat ve reperfüzyon 2. saatteki değerler, bazal ölçüm ile karşılaştırıldı. Her grubun bazal ölçüme göre yüzde değerinin ortalaması alındı. Değerler istatistiksel değerlendirme için tablo haline getirildi.

### **3.3.2 Histopatolojik değerlendirme**

Histopatolojik değerlendirme için deney bitiminde, hayvan sakrifiye edilmeden flep pedikülü ligate edildi. Flebin 1/4'i histopatolojik değerlendirme için %10'luk formolin içerisine yerleştirildi. Formolin içerisinde fikse edilen doku örnekleri 3-4 mm'lik parçalara ayrıldı. Parçalar doku işleme cihazında işlendi. Bu cihazda yükselen alkol serileri ile (%70, %90, %96, %100) dehidratasyon, ksilen ile şeffaflaştırma, parafin içinde gömme işlemi uygulandı. Doku bloklarından mikrotom yardımıyla 4 µm kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler histopatolojik skorlama için hematoksilin ve eosin (H&E) boyası ile boyandı. Boyanan kesitler Olympus BX51 mikroskobu (Tokyo, Japonya) ile görüntülendi. Kesitler karışık düzende deney gruplarına kör olan uzman bir patolog tarafından değerlendirildi. Skorlama birbirine benzer en az 5 alanda 20X objektif altında yapıldı. Fotoğraflama için Olympus DP72 kamera (Tokyo, Japonya) kullanıldı.

Işık mikroskobu altında değerlendirilen dokularda iskemi-reperfüzyon hasarının derecesi Chiu skorlamasına göre yapıldı.<sup>97</sup> Aşağıdaki tabloda detayları olan Chiu skorlamasına göre her kesite bir derece verildi. (Tablo-3)

**Tablo-3:** İntestinal I/R hasarının Chiu ve ark. tarafından derecelendirilmesi<sup>97</sup>

Skor	Tanım
0	Normal
1	Subepitelyal Gruenhagen aralığının oluşması
2	Subepitelyal aralığın artması ve villus uçlarında epitelyal tabakanın lamina propriadan ayrılması.
3	Epitel tabakasının hem villus uçlarında hem de yanlarında lamina propriadan ayrılması
4	Masif epitelyal ayrılma, birkaç çıplak villuslar
5	Lamina proprianin sindirimi ve parçalanması. Bazen beraberinde ülserasyon ve hemoraji eşlik eder.

### **3.3.3 Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyinin ölçümü**

Biyokimyasal değerlendirme için alınan biyopsi MPO, SOD değerlendirilmesi için 1 mL pH 7.4 PBS (Fosfat tamponlu solüsyon) içeren eppendorf tüplerine alınarak -80°C'de muhafaza edildi. Dokuda SOD aktivitesi 2.8 mL 50 mM potasyum fosfat (pH=7.8) ile 0.1 mM EDTA, 10 mM potasyum fosfat (pH 7.5) içinde 0.1 mM 0.39 mM riboflavin, deiyonize su içinde 0.1 mL 6 m M O-dianisidin.2 HCl ve doku ekstresi (50, 100 mL) içeren küvette gerçekleştirildi. Absorbanslar 460 nm'de Shimadzu UV-02 model spektrofotometrede ölçüldü.

### **3.3.4 Miyeloperoksidaz (MPO) düzeyinin ölçümü**

Dokudaki MPO aktivitesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye bağlı o-dianizidin 2HCl oksidasyonu ölçümüyle değerlendirildi. Dokular (0,1-0,3 g) ağırlıklarının 9 katı miktarındaki, HETAB içeren potasyum fosfat içinde homojenize edildi. Homojenize olmuş dokular 4 °C, 12000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Ardından

süpernatantları boşaltılarak kalan topak % 0.5 (w/v) hekzadesil-trimetilamonyum bromid ve 10 mmol/l etilendiamintetraasetik asit (EDTA, Sigma) içeren 50 mmol/l  $K_2HPO_4$  ile tekrardan homojenize edildi. Enzim aktivitesindeki 1 birimlik değişim, dokunun bir gramındaki MPO miktarının 1 dk-1 460 nm ve 37°C'deki absorbanı değiştirmesiyle ölçüldü.

### **3.3.5 İstatiksel değerlendirme**

Veriler Graphpad Prism 6.0 (GraphPad Software, Inc. Kaliforniya, ABD) istatistik programında değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma sahip olup olmadığı Shapiro-Wilk normallik testi ile test edildi. Normal dağılıma uyan veriler tek yönlü ANOVA (analysis of variance), normal dağılıma uymayan testler ise Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. Grupların çoklu karşılaştırılmasında ANOVA kullanılan gruplarda Tukey'in çoklu karşılaştırma testi, Kruskal-Wallis analizi kullanılan gruplarda ise Dunn'in çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Gruplarda perfüzyon değerlerinin birbirleriyle olan ilişkilerini analiz etmede çift-yönlü ANOVA testi kullanıldı. "p" değerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4 BULGULAR

### 4.1 Lazer Dopler Flowmetri ile Perfüzyon Değerlendirilmesi

Tüm deneklerin bazal zaman aralığında ortalama perfüzyon değeri o denek için %100 kabul edildi ve diğer zaman aralıklarındaki perfüzyon, bazal perfüzyona göre yüzde (%) cinsinden hesaplandı. Her grubun hesaplanan ortalama PU (perfüzyon ünite, PU), standart sapma değeri ve belirli zaman noktalarında bazale göre olan yüzde değeri Tablo-4'de gösterilmektedir.

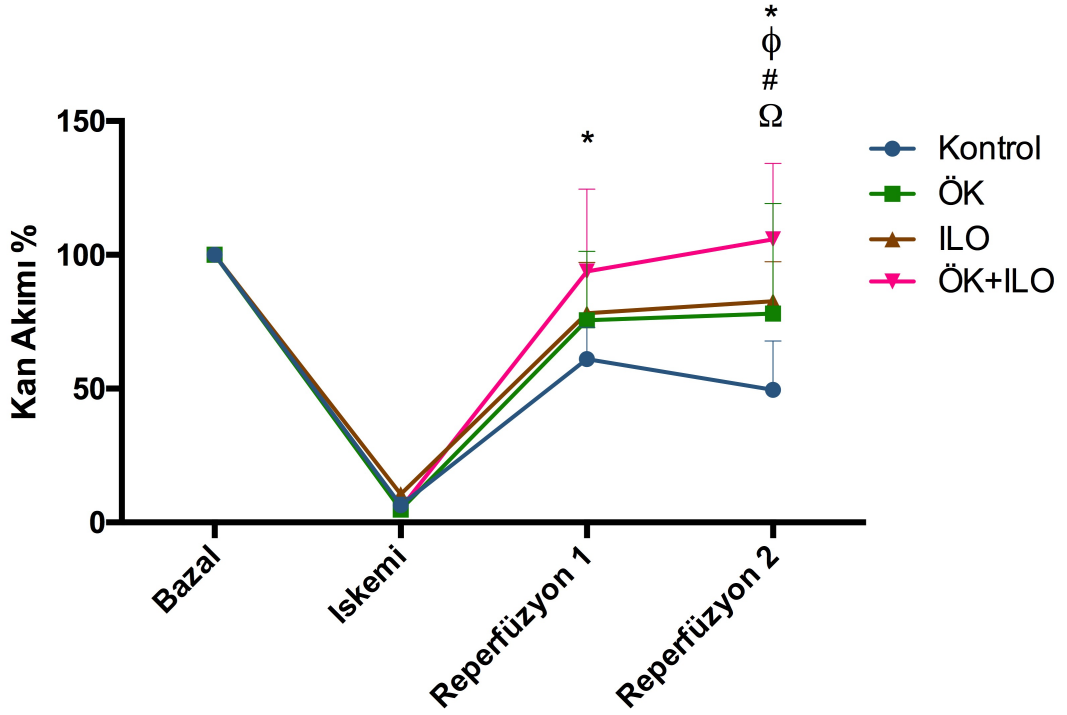
Gruplar karşılaştırıldığında bazal ve iskemi PU değerleri arasında fark bulunmadı. Reperfüzyon 1. saat PU değerleri arasında sadece ön-koşullandırma+iloprost grubunun PU değeri kontrol grubundan yüksekti. (%61'e karşılık %94,  $p<0.05$ ) Reperfüzyon 2. saatin sonunda ise tedavi grupları olan ön-koşullandırma (ÖK), iloprost (ILO), ön-koşullandırma+iloprost (ÖK+ILO) gruplarının perfüzyon değerlerinin kontrol grubundan yüksek olduğu görüldü. (Sırasıyla %78'e karşı %50, %83'e karşı %50, %90'a karşı %50;  $p<0.05$ ). Ayrıca reperfüzyon bitişinde iskemik ön-koşullandırma+iloprost grubunun PU değeri, sadece ön-koşullandırma yapılan gruptan yüksek bulundu. (%90'a karşı %78,  $p<0.05$ ) Grup perfüzyon değerlerinin zamana göre değişim grafiği Şekil-12'de gösterilmektedir.

**Tablo-4:** Deney gruplarında jejunal flep perfüzyonunun\* dört farklı zaman aralığında ölçülen perfüzyon değerleri

	Bazal	İskemi	Reperfüzyon-1	Reperfüzyon-2
<b>Kontrol</b>	738.5 ± 129 (%100)	49.9 ± 14(%7,1)	449.2 ± 94 (%61)	386 ± 203 (%50)
<b>Ön-koşullandırma</b>	569.6 ± 144 (%100)	36.1 ± 23 (%5,3)	509.9 ± 131 (%76)	512.6 ± 184(%78)
<b>İloprost</b>	641.9 ± 116 (%100)	70.0 ± 19 (%11)	496 ± 117 (%78)	532.7 ± 117 (%83)
<b>İloprost+Ön-koşullandırma</b>	639.7 ± 165 (%100)	34.9 ± 14 (%5,8)	586 ± 175 (%94)	549 ± 190 (%90)

\*Perfüzyon ünitesi (PU) cinsinden, grupların ortalama PU değerleri ve standart deviasyonu. Parantez içinde bazal perfüzyon değerine göre değişim % olarak verildi.

Şekil-12: Flep perfüzyonunun\* zamana göre değişim grafiği



\*Değerler bazale göre yüzde (%) cinsindedir. ÖK, İskemik ön-koşullandırma grubu; ILO, iloprost grubu; ÖK+ILO, iskemik ön-koşullandırma+ILO grubu.

\* ÖK+ILO grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ .

φ ILO grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ .

# ÖK grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ .

Ω ÖK+ILO, ÖK grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ .

## 4.2 Histopatolojik Değerlendirme

Her denekten alınan doku örnekleri H&E ile boyandıktan sonra ışık mikroskopu altında incelendi. İntestinal I/R hasarı semikantitatif olarak Chiu skorlaması ile ölçüldü. Bu skorlamaya göre normal mukoza en düşük skor (0) alırken, epitelin tamamen villustan ayrıldığı, hemoraji ve ülserasyon görülen örnekler en yüksek skoru (5) aldı. Deneklerin aldığı skorlar ve grup ortalaması Tablo-5'de gösterilmektedir.



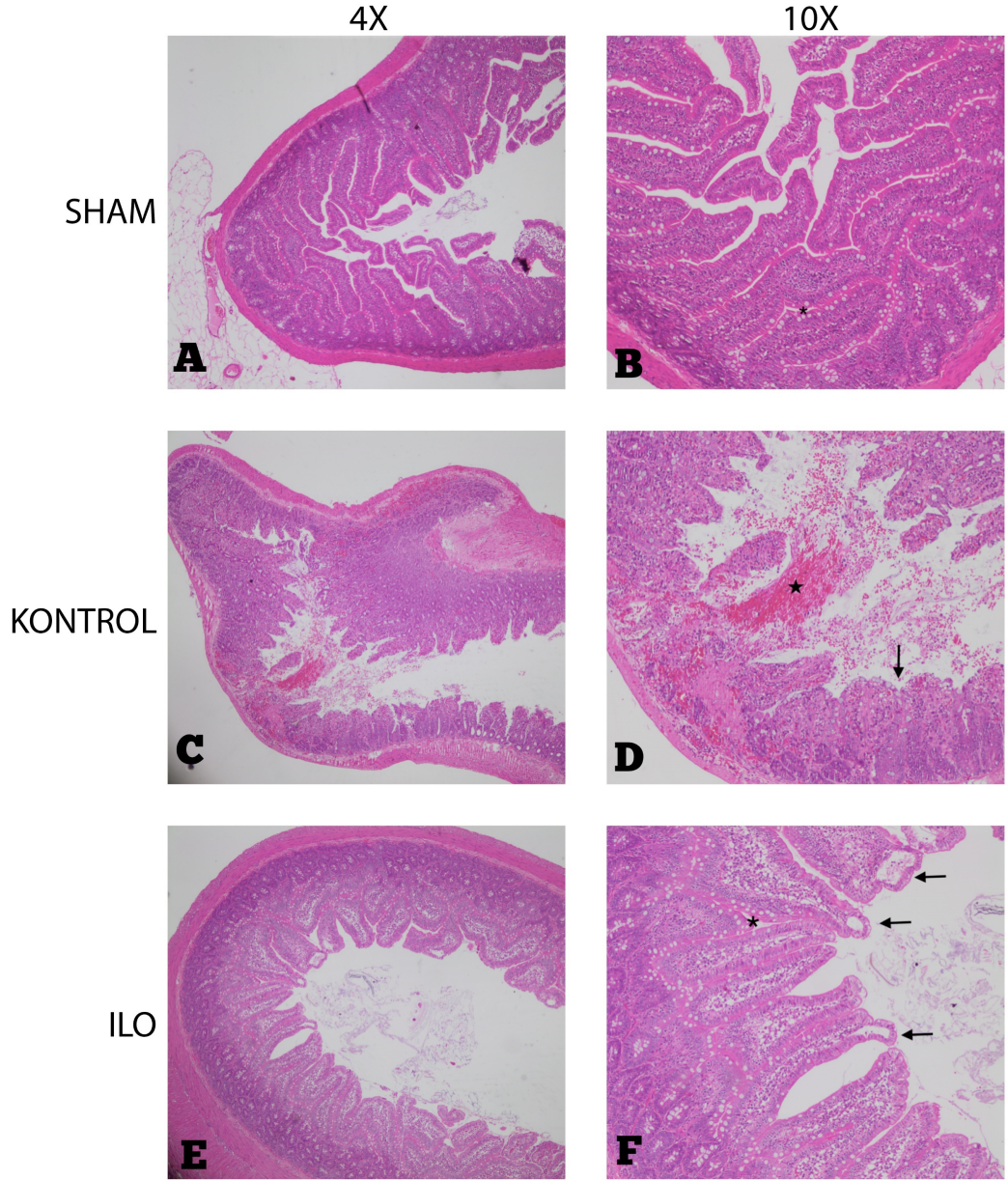
**Tablo-5:** İntestinal I/R hasarına göre her deneğin aldığı Chiu skoru\* ve grupların ortalama skorları.

Denek	Sham	Kontrol	ÖK	ILO	ÖK+ILO
1	0	4	3	3	3
2	1	5	3	3	3
3	0	5	4	3	4
4	2	4	3	1	3
5	1	5	3	3	4
6	0	5	3	3	3
7		5	2	0	3
<b>Ortalama</b>	<b>0.6</b>	<b>4.7</b>	<b>3</b>	<b>2.2</b>	<b>3.2</b>

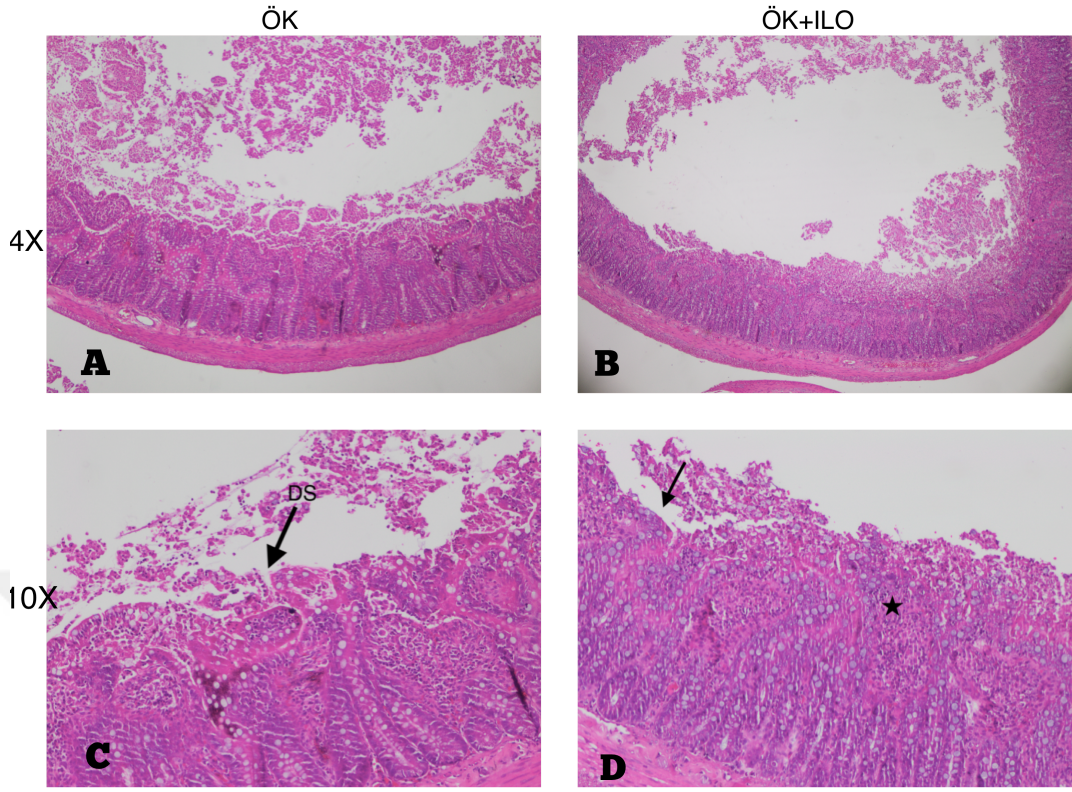
\* Chi skorlama sisteminde "0" normal mukozayı gösterirken, "5" en ağır mukozal hasarı gösterir. ÖK, İskemik ön-koşullandırma grubu; ILO, iloprost grubu; ÖK+ILO, iskemik ön-koşullandırma+ILO grubu.

Gruplara ait örnek resimler Şekil-13 ve 14'te gösterilmektedir. (Şekil-13 ve 14)

Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak incelendiğinde en düşük skorun sham grubuna (Chiu=0.6), en yüksek skorun ise kontrol grubuna (Chiu=4.7) ait olduğu görüldü. Sham grubunun skoru tüm gruplardan anlamlı derecede daha düşüktü. Tedavi grupları olan ÖK, ILO, ÖK+ILO gruplarında ise histoloji skorları kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. (Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ÖK, ILO, ÖK+ILO sırasıyla 0.5-2.9; 1.2-3.6; 0.2-2.6 %95 güven aralığı) (Şekil-15)

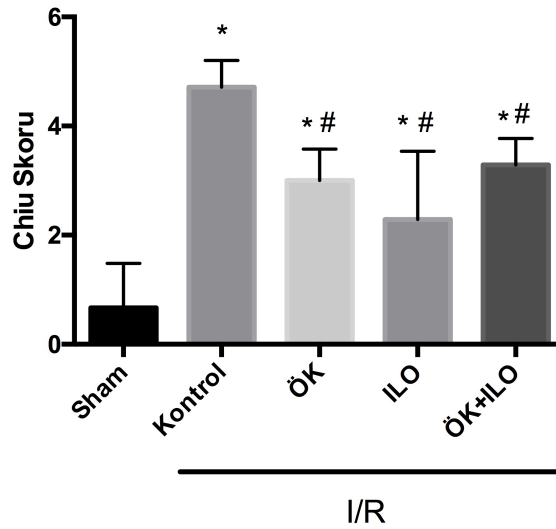


**Şekil-13:** İloprost, iskemi sonrası mukozal hasarı azaltmaktadır. Kontrol grubunda (C, D) villüs epitelinin döküldüğü, villus boyunun kısaldığı (siyah ok), yer yer mukozal ülserasyon, hemoraji (yıldız) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu görülüyor. İloprost grubunda (E, F) ise sham (A, B) grubuna benzer şekilde villus uzunluğunun ve goblet hücrelerinin korunduğu (asteriks), sham grubundan farklı olarak epitelin mukozadan kalkmaya başladığı (siyah oklar) ve hafif derece inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmektedir.



**Şekil-14:** İskemik ön-koşullandırma (A, C) ve iskemik ön-koşullandırma+iloprost (B, D) gruplarında villus epitelinin mukozadan ayrılıp lümeneye dökülmeye başladığı (ok işareti), orta derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız) göze çarpmaktadır.

**Şekil-15:** Grupların aldığı ortalama Chiu skoru.



\* Sham grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ .  
# Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ .

### 4.3 Dokuda Süperoksit Dismutaz (SOD) seviyesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) antioksidan bir enzimdir. Hücrede rezerv halinde bulunur ve ortamda serbest oksijen radikali olduğunda seviyesi azalır. SOD seviyesinde düşüklük I/R hasarının göstergelerinden biridir.

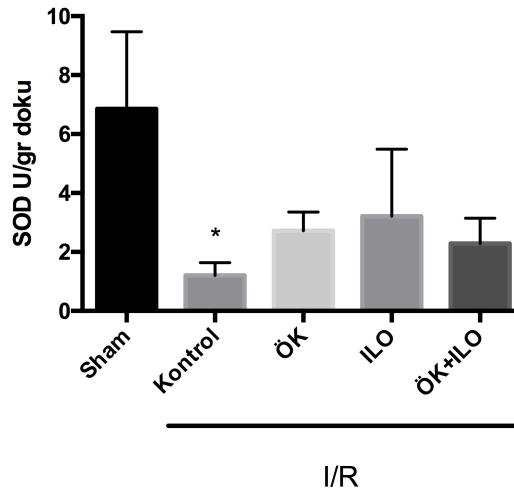
Dokuda spektrofotometri yardımıyla hesaplanan SOD değerleri, ünite/gram-doku cinsinden Tablo-6'da gösterilmektedir. Bu verilere göre sham grubunda SOD seviyesi diğer gruplara göre yüksek bulundu. ( $p<0.05$ ) Her ne kadar ILO, ÖK, ÖK+ILO gruplarında SOD değerleri kontrol grubuna göre yüksek olsa da, bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (Şekil-16)

**Tablo-6:** Grupların ortalama SOD değerleri ( $\pm$  standart sapma) \*

Gruplar	Ortalama
Sham	6.8 $\pm$ 2
Kontrol	1.2 $\pm$ 0.4
ÖK	2.7 $\pm$ 0.6
ILO	3.2 $\pm$ 2.2
ÖK+ILO	1.2 $\pm$ 1

\* ÖK, İskemik ön-koşullandırma grubu; ILO, iloprost grubu; ÖK+ILO, iskemik ön-koşullandırma+ILO grubu.

**Şekil-16:** Grupların SOD değerlerinin dağılımı (U/gr)



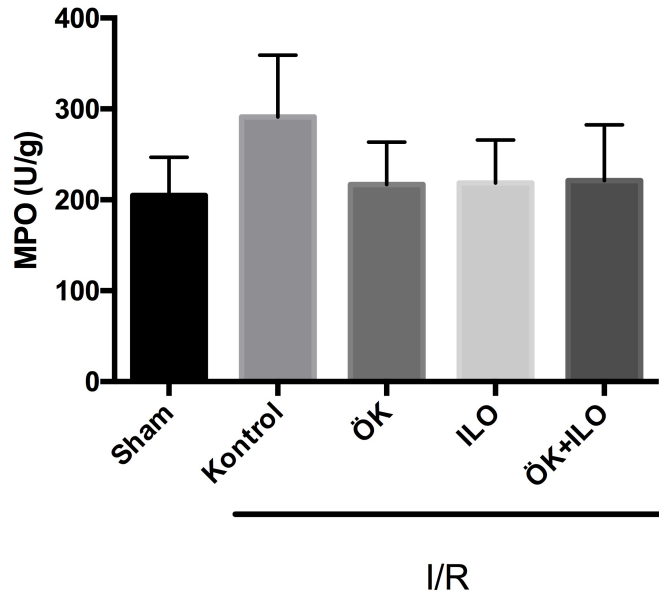
\*Sham grubu ile karşılaştırıldığında  $p<0.05$

#### 4.4 Dokuda Miyeloperoksidaz (MPO) seviyesinin belirlenmesi

Miyeloperoksidaz enzimi lökositlerin azurofilik granüllerinde bulunan ve nötrofillerin dokuya olan infiltrasyonunun biyokimyasal olarak ölçümünde kullanılan bir işarettir. Spektrofotometrik olarak hesaplanan MPO değerlerinin gruplara göre dağılımı Şekil-17'de gösterilmektedir.

Grupların MPO seviyesi değerlendirildiğinde kontrol grubunun MPO seviyesinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu görüldü. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ÖK, ILO, ÖK+ILO gruplarında MPO seviyesi kontrole göre düşüktü. Bu grupların MPO seviyesi sham grubundan farklı değildi.

**Şekil-17:** Grupların MPO değerlerinin dağılımı (Unite/gram-doku)



## 5 TARTIŞMA

İskemi-reperfüzyon hasarı, tıbbın hemen hemen her alanında karşılaşılan ve bu nedenle üzerinde en çok araştırma yapılan konularından biridir. Plastik cerrahi çerçevesinden bakıldığında iskemi-reperfüzyon hasarı özellikle serbest flep, revaskülarizasyon ve replantasyon operasyonlarında önem kazanmaktadır. Her dokunun iskemiye toleransı farklıdır. Bir dokunun iskemiye olan hassasiyeti arttıkça reperfüzyon hasarı da artmaktadır. Reperfüzyon hasarı mikrosirkülasyon bozukluğuna yol açarak organ fonksiyonunu azaltır ve transfer edilen dokunun işlevini yerine getirememesine neden olur. Özellikle özofagus rekonstrüksiyonunda kullanılan bir flep olan jejunal flep iskemiye en hassas dokuların başında gelmektedir. Jejunal flebin iskemi süresi uzadıkça I/R hasarı artmakta ve yeni yerine aktarılan dokunun intrinsik iyileşme kapasitesini azalmaktadır.<sup>1</sup> Lokalizasyon nedeniyle vasküler anastomozu zaten zor olan jejunal flebin iskemiye toleransının çok az oluşu, anastomozu yapacak cerrahda ek stres yaratır. Bu nedenle serbest jejunal flebin iskemi-reperfüzyon hasarını azaltacak yöntemler cerrahlar için önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı iloprost ile jejunal flebi iskemiye hazırlayıp iloprostun jejunal flepte iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkisini araştırmak ve bu farmakolojik önkoşullandırma yöntemini, daha önce etkinliği kanıtlanmış iskemik önkoşullandırma yöntemi ile karşılaştırmaktır.

Günümüze kadar jejunal flep üzerine yapılan çalışmaların çoğu retrospektif ya da az sayıda prospektif klinik çalışmadır. Klinik çalışmaların çoğu jejunal flep uygulanan hastaların tedavi sonuçlarını ve komplikasyonlarını değerlendirmektedir.<sup>22,98-104</sup> İskemi-reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik bir çalışma vardır.<sup>105</sup> Deneysel hayvan modeli üzerinde yapılan çalışmaların sayısı ise oldukça kısıtlıdır.<sup>1,2,5,106-109</sup> Bu araştırmalardan bir kısmında bu çalışmada kullanılan hayvan modeline benzer izole jejunal segmentler ile hayvan modeli oluşturulmuştur.<sup>1,106-109</sup> Ancak bu çalışmalar domuz, tavşan, köpek gibi sıçandan daha büyük hayvanlar üzerinde yapılmıştır. Sıçanda yapılan diğer iskemi-reperfüzyon çalışmalarında<sup>2,5</sup> ise SMA ya da truncus

coeliacus klemplenmiş ve tüm ince bağırsağı etkileyen total iskemi yapılmıştır. Her ne kadar tüm SMA klemplendiğinde inferior mezenterik arterden gelen kollateral dolaşım çok az olsa da, bu modellerdeki asıl sorun bu çapta bir iskemi oluşturulmasının sistemik etkileridir. Çünkü SMA ince bağırsak, kolon ve pankreasın büyük bir kısmını beslemektedir. SMA'ya konulan klempin açılması ile jejunal flebin aksine tüm vücudu etkilenen bir reperfüzyon periyodu başlar.<sup>110</sup> Örneğin; ince bağırsak transplantasyonu sıçan modellerinde 40 dakika üzerinde iskemi süresi mortalite ile ilişkili bulunmuştur.<sup>111</sup> Bu nedenle bu çalışmanın diğer sıçan jejunal flep I/R hasarı çalışmalarına göre avantajı izole jejunal segmentler üzerine yapılmış olmasıdır.

Bahsedildiği üzere literatürde jejunal fleplerde I/R hasarını değerlendiren az sayıda yayın vardır.<sup>2,5</sup> İntestinal I/R hasarı üzerine literatürde toplanan bilgilerin çoğu ince bağırsak transplantasyonu, sepsis, şok, bağırsak strangülasyonu, nekrotizan enterokolit, abdominal aort anevrizma cerrahisi modellerinden gelmektedir. Bu modeller incelendiğinde iskemi süresinin 30 dakika ile 90 dakika gibi geniş bir zaman aralığında değiştiği görülür.<sup>5,112</sup> İskemi süresi 30 dakika tutulduğunda mukozal hasarın histolojik olarak başladığını gösteren yayınlar var iken<sup>6,113</sup>, bu iskemi süreleri ile mukozal hasarın oluşmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur.<sup>107,114</sup> Bu nedenle intestinal iskemi reperfüzyon hasarının çalışıldığı modellerde iskemi süresinin doğru seçilmesi önemlidir. Puglisi ve ark. sıçanda SMA ve veni klempledikten sonra 0-90 dakika arasında değişen iskemi zamanları uygulayarak intestinal hasarı analiz etti.<sup>114</sup> Onların sonuçlarına göre 40.dakikadan sonra iskeminin bazı parametreleri oluşmaya başladı. Ancak analiz edilen tüm parametrelerin görünmesi 60.dakikadan sonra oldu. Bu nedenle 60 dakikalık iskemi, orta derece hasar veren iskemi olarak kabul edildi. Bu tezin pilot çalışmasında 40 dakika iskemi uygulandığında iskeminin mukozanın her tarafında eşit oluşmadığı görüldü. Bu nedenle deney protokolünde iskemi süresi 60 dakika olarak değiştirildi. Sonuçta, sadece iskemi-reperfüzyon uygulanan kontrol grubunun tamamında histolojik analizde kullanılan iskemi parametrelerinin tümü görüldü ve bu denekler, Chi skorlamasına göre en az 4 puan aldı.

İskemik ön-koşullandırma ilk olarak Murry ve arkadaşları tarafından 1986

yılında kanin miyokardı üzerinde yapılan çalışmada gösterildi.<sup>62</sup> Bu tarihten beri yapılan birçok deneysel çalışma, kalp kasının yanı sıra karaciğer, beyin, iskelet kası, spinal kord, retina ve böbrek üzerinde de iskemik ön-koşullandırmanın iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmada olumlu etkisini gösterdi.<sup>61,63</sup> İskemik ön-koşullandırmanın bağırsak üzerinde de etkili olduğunu ilk kez Hotter ve ark gösterdi.<sup>115</sup> Ancak bağırsak üzerine yapılan çalışmalarda ön-koşullandırmanın iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkisi çelişkili sonuçlar gösterdi.<sup>2,116</sup> Abrahao ve ark. tek siklus 10 dakikalık iskemi süresi ile ön koşullandırmanın kontrol grubundan farklı olmadığını belirtirken<sup>116</sup>, aynı süre ile ön koşullandırmanın I/R hasarını azalttığını gösteren yayınlar da vardır.<sup>117,118</sup> Ama genel olarak literatür değerlendirildiğinde iskemik ön-koşullandırmanın moleküler, histolojik ya da fizyolojik düzeyde I/R hasarını azalttığına yönelik kanıtlar daha çoktur.<sup>2,39,63,117-119</sup> Deneysel çalışmalarda iskemik ön-koşullandırma protokolleri arasında görüş birliği yoktur. Bazı çalışmalar tek siklus<sup>117,118</sup>, bazı çalışmalar birden fazla siklus ile ön koşullandırma yapmıştır.<sup>2,120</sup> Optimal ön-koşullandırma siklusunu araştıran bir çalışma kısa süren siklusların ince bağırsak I/R hasarını önlemede daha etkili olduğunu ortaya koydu.<sup>121</sup> İskelet kası üzerinde yapılan ve en iyi iskemik ön-koşullandırma protokolünü araştıran başka bir çalışmaya göre ise artan siklus sayısı ile I/R hasarı etkilerinin azalmaktadır.<sup>122</sup> Bu nedenle bu çalışmada kısa süreli (3 dakika iskemi, 3 dakika reperfüzyon) çok tekrarlı (3 siklus) iskemik ön-koşullandırma protokolü uygulandı. İskemik ön-koşullandırma uygulanan grupta literatürün geneline uyumlu şekilde mukozal hasarın daha az olduğu görüldü. Literatürde, mukozal hasarın semikantitatif olarak değerlendirilmesinde en çok kullanılan skorlama sistemi Chiu skorlama sistemidir.<sup>97</sup> Daha önce iskemik ön-koşullandırma ile yapılan çalışmalarda mukozal hasar skoru kontrol grubunda 5 iken, iskemik ön-koşullandırma grubunda 3'e inmiştir.<sup>123-126</sup> Bu çalışmanın sonuçlarında da iskemik ön-koşullandırma yapılan grupta literatürü destekler şekilde hasar skoru ortalama 3'e indi.(Tablo-:)

İskemik ön-koşullandırmanın ince bağırsakta I/R hasarını nasıl azalttığının mekanizması halen net olarak bilinmemektedir. Ancak bazı



önerilen mekanizmalar mevcuttur. İskemik ön-koşullandırmanın etkilerinin görüldüğü iki faz vardır: erken faz ve geç faz. Erken faz, iskemiden sonra dakikalar içinde başlar ve 2-3 saat sürer. Erken fazda etkili olan mekanizmalar muhtemelen hücrede devam eden fonksiyonları düzenlenmesiyle ortaya çıkar. Geç faz ise iskemiden 12-24 saat sonra başlar ve 3-4 gün devam eder. Geç fazda strese cevap olarak hücrenin gen ekspresyonunun değiştiği düşünülmektedir.<sup>39</sup> Ferencz ve ark. SOD ve GSH gibi antioksidan moleküllerin iskemik ön-koşullandırma yapılan grupta daha yüksek olduğunu gösterdi.<sup>120</sup> Unal ve ark. adenosin reseptörlerinin uyarılmasıyla iskemik ön-koşullandırmaya eş etkinlik elde etti.<sup>2</sup> Sota ve ark. iskemik ön-koşullandırmanın olumlu etkisinin NO sentaz inhibitörü olan L-NAME ile ortadan kalktığını göstererek mekanizmada nitrik oksit katkıda bulunabileceğine kanıt sundu.<sup>124</sup> Yolaklar henüz tam olarak ortaya konamamış olsa da, mekanizma muhtemelen antioksidan düzeyinde artışı, nitrik oksit sentezini, adenosin reseptörlerini, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu içerir.<sup>39</sup> Bu çalışmada da iskemik ön-koşullandırma grubunda bir antioksidan enzim olan SOD aktivitesinin arttığı görülmektedir. Antioksidan seviyesindeki artışın, iskemik ön-koşullandırma nedeniyle mi arttığı, yoksa azalmış I/R hasarına bağlı antioksidan seviyelerinin korunmuş olmasına mı bağlı olduğunu söylemek zordur. Ancak bu çalışmada ve daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında iskemik ön-koşullandırma mekanizmasında antioksidan enzimlerinin rolü olması muhtemeldir ve ileride bu konuyla ilgili başka bir çalışma yapılabilir.

Prostaglandinler, araşidonik asitten sentezlenen lipid yapıda aracı moleküllerdir. Platelet ve endotel üzerine etki ederek inflamasyonun başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol alırlar. Araşidonik asitten sentezlenen iki önemli prostaglandin, prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>, prostasiklin) ve tromboksan (TXA<sub>2</sub>) dir. Tromboksan, vazokonstriktördür ve platelet agregasyonunu artırır. Prostrasiklin ise tam tersine vazodilatördür ve platelet agregasyonunu inhibe eder.<sup>74</sup> İloprost, bu etkileri nedeniyle önce deneysel I/R çalışmalarında kullanıldı. Vazodilatör ve antiagregan etkilerinin yanı sıra anti-inflamatuar, sitoprotektif etkileri ile kalp, böbrek, iskelet kası, akciğer,

karaciğer, spinal kord gibi birçok organ üzerinde araştırıldı ve I/R hasarı üzerinde koruyucu etkisinin olduğu gösterildi.<sup>79-85</sup> İskemi-reperfüzyon hayvan çalışmalarında iloprost ile elde edilen başarılı sonuçlar araştırmacıları bir basamak ilerisine götürdü; ve karaciğer transplantasyonu üzerine yapılan bir pilot çalışmada transplantasyon sonrası alıcılara prostasiklin uygulamasının greft fonksiyonunu arttırdığı gösterildi.<sup>127</sup> Klein ve ark. prospektif randomize karaciğer transplantasyonu klinik çalışmasında, alıcılara prostasikline benzer özelliklere sahip prostaglandin E1 infüzyonu verilmesinin greft fonksiyonunu arttırdığı, böbrek yetmezliğini ve yoğun bakım ünitesinde kalışı azalttığını gösterdi.<sup>128</sup> Aynı grup, 106 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada donöre intravenöz (i.v.) bolus prostasiklin verilmesinin I/R hasarını azalttığını, greft fonksiyonu parametrelerini iyileştirdiğini bildirdi.<sup>11</sup> Bilgimiz dahilinde jejunal flep I/R modelinde ya da ince bağırsak I/R modelinde iloprost uygulamasının etkisi araştıran bir çalışma bulunamadı. Bu nedenle bu çalışmada iloprostun jejunal flep I/R hasarına olan etkisi araştırıldı. İloprostun donöre uygulanmasının daha etkili olduğunu belirten çalışma baz alınarak iloprost iskemiden 5 dakika önce i.v. bolus şeklinde verildi. Sonuçta morfolojik incelemede iloprost uygulamasının I/R hasarını kontrole göre anlamlı derecede azalttığı görüldü. Aynı şekilde iloprost verilen grupta I/R hasarının parametreleri olan SOD aktivitesi yüksek, MPO seviyesini düşüktü. İloprost grubunda mukozal kan akımı kontrole göre anlamlı derecede yükseldi. Elde edilen bu sonuçlar, jejunal flepte iloprost uygulamasının I/R hasarından koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir.

İloprost ile yapılan deneysel çalışmalarda iloprostun iskemiden önce mi, reperfüzyon sırasında mı ya da her iki dönemde de verilmesi gerektiği sorusu ortaya çıkar. İloprost yarı ömrü kısa bir ilaçtır. Bu nedenle pulmoner hipertansiyon ve ileri derece periferik arter hastalığında 0.5-2 ng/kg/dk hızında intravenöz infüzyon şeklinde verilmektedir.<sup>77</sup> Bu nedenle iloprostun I/R hasarını azaltıcı etkisi üzerine yapılan çalışmalarda iloprost genel olarak aynı dozda infüzyon şeklinde tatbik edilmekte ve reperfüzyon döneminde ya da iskemi+reperfüzyon döneminde uygulanmaktadır.<sup>79,80,82,87</sup> Ancak özellikle karaciğer transplantasyonu çalışmalarında prostasiklini donöre ya da alıcıya

uygulayan farklı çalışmalar vardır.<sup>11,127,128</sup> İloprost iskemiden önce mi reperfüzyon sırasında mı verileceğine dair yapılan bir deneysel çalışmada iskemiden önce intravenöz bolus iloprost uygulamasının karaciğer I/R hasarını daha çok azalttığı gösterildi.<sup>86</sup> Cargnoni ve ark. iskemiden önce iloprost uygulamasının reperfüzyon döneminde uygulanan iloprost uygulamasına göre daha kardiyoprotektif olduğunu kanıtladı.<sup>129</sup> Bu çalışmaların sonuçları göz önüne alınarak bu tez çalışmasında iloprost iskemiden hemen önce i.v. bolus şeklinde uygulandı ve iloprostun koruyucu etkinliği açısından olumlu sonuçlar elde edildi.

Bu tez çalışmasının hedeflerinden biri de jejunal flepte I/R hasarını azaltmada iloprost ile iskemik ön-koşullandırma yöntemlerinin karşılaştırılmasıydı. Mukozal kan akımı sonuçları değerlendirildiğinde her iki yöntemin kullanılmasının reperfüzyon birinci saatten itibaren, sadece iloprost ya da sadece iskemik ön-koşullandırma yönteminin kullanılmasının reperfüzyon 2. saatten itibaren kontrole göre mukozal kan akımını arttırdığı gösterildi. I/R hasarı ne kadar az olursa mikrodolaşım dolayısıyla da perfüzyon o kadar iyi olacaktır. Bunun dışında iloprost vazodilatör bir maddedir ve düşük kardiyak çıktı durumlarında mezenterik kan akımını artırır.<sup>90</sup> İloprost bu özellikleri ile, sonuçlarda elde edilen yüksek mukozal kan akımı değerlerine neden olmuş olabilir. Literatürde I/R modelinde iskemik ön-koşullandırmanın ve iloprostun perfüzyona etkisini değerlendiren çok az sayıda çalışma vardır. İskemik ön-koşullandırmanın moleküler mekanizmasını inceleyen pek çok çalışma olmasına karşın,<sup>65,66,117,130</sup> iskemik ön-koşullandırma sırasında mukozal kan akımında olan değişikliği inceleyen tek bir yayın bulunabildi. Bu çalışma bizim sonuçlarımıza benzer şekilde iskemik ön-koşullandırma uygulanan grupta reperfüzyon sırasında mukozal kan akımının kontrole göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.<sup>131</sup> I/R sırasında iloprostun kan akımına olan etkisini değerlendiren bir çalışma literatür bilginiz dahilinde yoktur. Bu çalışma mukozal kan akımının değerlendirilmesi açısından da literatüre katkı sağlamaktadır.

İloprost grubu ile iskemik ön-koşullandırma grubu histolojik skor açısından karşılaştırıldığında, iloprost grubunun skorları daha düşüktü. Her ne

kadar aradaki fark (3'e karşılık 2.2.) istatistiksel anlamlılığa ulaşmamış olsa da, mukozal kan akımı parametreleri ve histolojik skorlar göz önüne alındığında iloprostun, I/R hasarına karşı iskemik ön-koşullandırma grubundan daha koruyucu olduğu söylenebilir. Histolojik incelemede dikkat çeken başka bir durum da iloprost+iskemik ön-koşullandırma grubunun skoru ise her iki gruptan daha yüksek olmasıydı. Bu da iskemik öncesi artan manipülasyonun I/R hasarını arttırdığını ya da iskemik ön-koşullandırma etkisinin iloprostun gölgesinde kaldığını düşündürmektedir.

Bu çalışmanın kısıtlılıkları mukozal kan akımının ölçüm metodu olan lazer dopler flowmetri cihazına ait olan kısıtlılıklar ve SOD, MPO enzim seviyesinin değerlendirilmesinde olan kısıtlılıklardır. Lazer dopler flowmetri (LDF) cihazının kendisine ait olan kısıtlılıklar Genel Bilgiler bölümünde anlatılmıştır. Bunlar temel olarak ölçümlerin tekrar edilebilirliği, hareket artefaktları ve biyolojik sıfırın olmayaşadır.<sup>93</sup> LDF ölçümlerinin tekrar edilebilir olması için flebi besleyen iki vasküler arkın orta noktasından ölçüm alındı ve değerler flebin diğer bölgeleri ile karşılaştırılarak tüm flebin perfüzyonunu yansıtan bir noktadan ölçüm yapıldı. Solunum gibi ritmik olan hareketlerin ölçüm trasesinde artefakta neden olduğu görüldü. Trase devamlı takip edilerek bu tip artefaktlar izlendiğinde probun yeri değiştirildi. Bazal ölçümlerde denekler arasında farklılık olması nedeniyle her denegin bazal ölçümü o denek için %100 kabul edildi ve analiz yapılırken, diğer zamanlardaki ölçümler bazale göre değerlendirildi. SOD ve MPO enzim düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile değerlendirildi. Elde edilen değerlerde geniş varyasyon görüldü. Bu varyasyonun nedeni, spektrofotometrik yöntemlerde araştırılan enzimlerin değişik hücresel kompartmanlarda olması, doku homojenizasyonu iyi olmadığına yanlış değerler hesaplanması, homojenat bulanık olduğunda yanlış spektrofotometrik ölçüm alınması, tüp içerisindeki enzimin spontan redükte olmasıdır.<sup>132</sup> Bu nedenle her ne kadar diğer çalışmalarda I/R hasarının ölçülmesinde kullanılan<sup>82,119,120,133</sup> parametrelerden olan MPO, SOD enzimi seviyeleri bu çalışmada istatistiksel anlamlılığa ulaşmamış olsa da histolojik skorlar ile uyumlu artış ve azalış göstermiştir. Ticari hazır enzim assaylerinin kullanımı ile biyokimyasal değerlerin daha hassas bir analizi yapılabilir.

Bu çalışmanın daha önce yapılan çalışmalara üstünlükleri ise hayvan modeli, iskemik ön-koşullandırma sikluslarının dikkatli seçimi, iloprost ilacının uygulama zamanında farklılık ve mukozal kan akımının lazer dopler flowmetri cihazı ile değerlendirilmesidir. Daha önce bahsedildiği gibi şu ana kadar jejunal flep ile yapılan çok az deneysel çalışma vardır; ve bunların da çok azında jejunal flep hazırlanmıştır.<sup>1,106-109</sup> Literatürde intestinal I/R hasarı ile olan bilgilerin neredeyse tamamı SMA ve venin kleplendiği total bağırsak iskemisinin yapıldığı çalışmalardan gelmektedir. Jejunal flepte ise iskemi bağırsak segmentini içermektedir. Klinik uygulamada bile en çok görülen bağırsak iskemisi inkarsere herni ya adezyonlara bağlı segmental bağırsak iskemisidir.<sup>110</sup> Bu nedenle ve majör iskeminin sistemik etkilerini de saf dışı etmek için deneysel hayvan modellerinde bağırsak segmentinin izole edilmesi jejunal flepte I/R hasarını değerlendirmede daha uygundur.

## 6 SONUÇLAR

Sonuç olarak bu tez çalışmasında sıçanda jejunal flep modelinde iskemik ön-koşullandırmanın ve iloprostun I/R hasarını önlemede etkisi araştırıldı ve iloprostun, en az iskemik ön-koşullandırma kadar etkili olduğu; hatta histolojik skor ve mukozal kan akımı bulguları değerlendirildiğinde iloprostun iskemik ön-koşullandırmadan daha etkili olabileceği ortaya kondu. Bunun yanında iloprost ve iskemik ön-koşullandırma yöntemlerinin mukozal kan akımına olan etkisi kantitatif bir yöntemle ölçüldü ve her iki yöntemin de iskemi sonrasında kontrole göre mikrodolaşımı arttırdığı gösterildi. Bu çalışmadan elde edilen olumlu sonuçlar ileride klinikte iloprost ya da iskemik ön-koşullandırma yöntemlerinin jejunal flebi iskemiye hazırlamada kullanımına zemin hazırlamaktadır.

## 7 KAYNAKLAR:

1. Olding M JJ. Ischemic tolerance of canine jejunal flaps. *Plast Reconstr Surg.* 94(1):167-173.
2. Unal S, Demirkan F, Arslan E, et al. Experimental Comparison of Ischemic and Chemical Preconditioning in Jejunal Flaps in the Rat. 2002:1024-1031. doi:10.1097/01.PRS.0000076224.23190.52.
3. Mondello S, Galuppo M, Mazzon E, et al. Glutamine treatment attenuates the development of ischaemia / reperfusion injury of the gut. *Eur J Pharmacol.* 2010;643(2-3):304-315. doi:10.1016/j.ejphar.2010.06.044.
4. Ouchi M, Ito Y, Hospital JU. Comparison Of The Protective Effects Of Type Iii Phosphodiesterase ( Pde3 ) Inhibitor ( Cilostazol ) And Acetylsalicylic Acid On Intestinal Microcirculation After Ischemia Reperfusion Injury In Mice Toshiaki Iba , Akio Kidokoro , Masaki Fukunaga , Kitoji . 2006;26(5):522-526. doi:10.1097/01.shk.0000228800.56223.db.
5. Lee MA, Mccauley RD, Kong S HJ. Pretreatment with glycine reduces the severity of warm intestinal ischemic-reperfusion injury in the rat. *Ann Plast Surg.* 46(3):320-326.
6. Sukhotnik I, Nissimov N, Shahar Y Ben, Bitterman DMN. Fenofibrate reduces intestinal damage and improves intestinal recovery following intestinal ischemia – reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int.* 2016. doi:10.1007/s00383-016-3979-x.
7. Chu W, Li S, Wang S, Yan A, Nie L. Ischemic postconditioning provides protection against ischemia-reperfusion injury in intestines of rats. 2015;8(6):6474-6481.
8. San Norberto Garcia EM, Taylor JH, Cenizo N, Vaquero C. Beneficial effects of intra-arterial and intravenous prostaglandin E1 in intestinal ischaemia-reperfusion injury. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2014;18(4):466-474. doi:10.1093/icvts/ivt552.
9. Guo Y, Tukaye DN, Wu WJ, et al. The COX-2/PGI2 receptor axis plays an obligatory role in mediating the cardioprotection conferred by the late phase of ischemic preconditioning. *PLoS One.* 2012;7(7):1-14. doi:10.1371/journal.pone.0041178.
10. Birnbaum Y, Ye Y, Rosanio S, et al. Prostaglandins mediate the cardioprotective effects of atorvastatin against ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2005;65(2):345-355. doi:10.1016/j.cardiores.2004.10.018.
11. Klein M, Geoghegan J, Wangemann R, Böckler D, Schmidt K, Scheele J. Preconditioning of donor livers with prostaglandin I2 before retrieval decreases hepatocellular ischemia-reperfusion injury. *Transplantation.* 1999;67(8):1128-1132. doi:10.1097/00007890-199904270-00007.
12. Anthuber M, Farkas S, Rihl M, et al. Conditioning of liver grafts by donor bolus pretreatment with epoprostenol. *Transplantation.* 1996;62(1):13-17. doi:10.1097/00007890-199607150-00003.

13. Seidenberg B, Rosenak SS, Hurwitt ES, Som ML. Immediate Reconstruction of the Cervical Esophagus by a Revascularized Isolated Jejunal Segment\*. *Ann Surg.* 1959;149(2):162-171. doi:10.1097/00000658-195902000-00002.
14. Roberts, R. E., Douglas FM. Replacement of the cervical esophagus and hypopharynx by a revascularized free jejunal autograft. *N Engl J Med.* 1961;264:342.
15. Heibert CA CG. Successful replacement of the cervical esophagus by transplantation and revascularization of a free graft of gastric antrum. *Ann Surg.* 1961:103-106.
16. Sasaki TM, Baker HW, McConnell DB VR. Free jejunal graft reconstruction after extensive head and neck surgery. *Am J Surg.* 1980;139:650-653.
17. Coleman JJ, Tan KC, Searles JM, Hester TR, Nahai F. Jejunal free autograft: analysis of complications and their resolution. *Plast Reconstr Surg.* 1989;84:589-595-598. doi:10.1097/00006534-198984040-00006.
18. Reece GP, Schusterman MA, Miller MJ, et al. Morbidity and functional outcome of free jejunal transfer reconstruction for circumferential defects of the pharynx and cervical esophagus. *Plast Reconstr Surg.* 1995;96(6):1307-1316. doi:10.1097/00006534-199511000-00012.
19. Walker RJ, Parmar S, Praveen P, Martin T, Pracy P JC. Jejunal free flap for reconstruction of pharyngeal defects in patients with head and neck cancer-the Birmingham experience. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 52(2):106-110.
20. Hikida S, Takeuchi M, Hata H et al. Free jejunal graft autotransplantation should be revascularized within 3 hours. *Transpl Proc.* 1998;30:3446-3448.
21. Conley D, Hurst ÆPR, Stringer ÆMD. An investigation of human jejunal and ileal arteries. 2010:23-30. doi:10.1007/s12565-009-0047-9.
22. Disa JJ, Pusic AL, Mehrara BJ. Reconstruction of the Hypopharynx With the Free Jejunum Transfer. *J Surg Oncol.* 2006:466-470. doi:10.1002/jso.
23. Evans KFK, Mardini S, Salgado CJ, Chen H. Esophagus and Hypopharyngeal Reconstruction. 2010;1(212):219-226.
24. Vdoviaková, K., Petrovová, E., Maloveská, M., Krešáková, L., Teleky, J., Elias, M., Petrášová D. Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat. *Gastroenterol Res Pract.* 2016.
25. Bayramicli Mehmet. *Deneysel Mikrocerrahi.* Istanbul: Argos Yayınevi; 2005.
26. Ascioti AJ, Hofstetter WL, Miller MJ, et al. esophageal reconstruction. 2005;130(5). doi:10.1016/j.jtcvs.2005.06.032.
27. Anthony JP, Singer MI, Mathes SJ. Pharyngoesophageal reconstruction using the tubed free radial forearm flap. *Clin Plast Surg.* 1994;21(1):137-147.
28. Chen S, Chen H. BACK-UP PROCEDURES FOLLOWING COMPLICATED GASTRIC PULL-UP PROCEDURE FOR ESOPHAGEAL RECONSTRUCTION: SALVAGE WITH INTESTINAL



- FLAPS. 2014;1-6. doi:10.1002/micr.
29. Özkan Ö, Akar ME, Özkan Ö, Mesci A, Çolak T. Microvascular augmented pedicled jejunum transfer for vaginal reconstruction using a laparoscopy-assisted technique. *Microsurgery*. 2008;28(8 SPEC. ISS):671-675. doi:10.1002/micr.20562.
  30. Bistoni G, Alamouti R, Alcaide SM, Javier L, Tobias M. Versatility of the free jejunum flap in vaginal reconstruction. 2016;4-7. doi:10.1002/ccr3.480.
  31. Emiroğlu M, Gülltan SM, Adanali G, Apaydin I YE. Vaginal reconstruction with free jejunal flap. *Ann Plast Surg*. 1996;36(316-320).
  32. Stallion A, Kou TD, Latifi SQ, Miller KA, Dahms BB, Dudgeon DL LA. Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation. *J Pediatr Surg*. 40(3):470-477.
  33. Wu D, Wang J, Li H, Xue M, Ji A LY. Role of Hydrogen Sulfide in Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxid Med Cell Longev*. Epub.
  34. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000;190(3):255-266. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6.
  35. Pac-Soo CK, Mathew H, Ma D. Ischaemic conditioning strategies reduce ischaemia/reperfusion-induced organ injury. *Br J Anaesth*. 2015;114(2):204-216. doi:10.1093/bja/aeu302.
  36. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med*. 1993;21(9):1376-1386.
  37. Izquierdo R, Swartz WM, Sutker KB, Boydell CL AJ. Attenuation of reperfusion-induced lipoperoxidation by systemic use of oxygen radical scavengers after pedicle occlusion. *Ann Plast Surg*. 28(2):175-179.
  38. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med*. 2011;17(11):1391-1401. doi:10.1038/nm.2507.
  39. Mallick IH, Yang W, Winslet MC. Ischemia – Reperfusion Injury of the Intestine and Protective Strategies Against Injury. 2004;49(9):1359-1377.
  40. Mitchell RS, Kumar V, Abbas AK FN. Basic Pathology. In: *Robbins Basic Pathology 8th Edition*. ; 2007:345.
  41. Eltzschig HK, Eckle T. review Ischemia and reperfusion — from mechanism to translation. *Nat Med*. 2011;17(11):1391-1401. doi:10.1038/nm.2507.
  42. Powers KA, Szászi K, Khadaroo RG, et al. Oxidative stress generated by hemorrhagic shock recruits Toll-like receptor 4 to the plasma membrane in macrophages. *J Cell Biol*. 2006;174(3):1951-1961. doi:10.1084/jem.20060943.
  43. Kruger B, Krick S, Dhillon N, et al. Donor Toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(9):3390-3395. doi:10.1073/pnas.0810169106.
  44. Shichita T, Sugiyama Y, Ooboshi H, et al. Pivotal role of cerebral interleukin-17-producing T cells in the delayed phase of ischemic brain injury. *Nat Med*. 2009;15(8). doi:10.1038/nm.1999.
  45. Kulik L, Fleming SD, Moratz C, et al. Pathogenic natural antibodies

- recognizing annexin IV are required to develop intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Immunol.* 2009;182(9):5363-5373. doi:10.4049/jimmunol.0803980.
46. Armstrong PW, Granger CB, Adams PX, et al. Pexelizumab for acute ST-elevation myocardial infarction in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007;297(1):43-51. doi:10.1001/jama.297.1.43.
  47. Vollmar B, Menger MD. Intestinal ischemia / reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. 2011:13-29. doi:10.1007/s00423-010-0727-x.
  48. Feinman R, Deitch E a, Watkins AC, et al. HIF-1 mediates pathogenic inflammatory responses to intestinal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010;299(4):833-843. doi:10.1152/ajpgi.00065.2010.
  49. Parks D a, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986;250(6 Pt 1):G749-G753. <http://ajpgi.physiology.org/content/250/6/G749>.
  50. Schoots IG, Levi M, Roossink EHP, Bijlsma PB, Van Gulik TM. Local intravascular coagulation and fibrin deposition on intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Surgery.* 2003;133(4):411-419. doi:10.1067/msy.2003.104.
  51. House SD LH. In vivo determination of the force of leukocyte-endothelium adhesion in the mesenteric microvasculature of the cat. *Circ Res.* 1988;63:658-668.
  52. Beuk RJ, Heineman E, Tangelder GJ, Quaedackers JS M, WH, Lieberman JM OEM. Total warm ischemia and reperfusion impairs flow in all rat gut layers but increases leukocyte-vessel wall interactions in the submucosa only. *Ann Surg.* 2000;231:96-104.
  53. Eppihimer MJ, Russell J, Anderson DC, Epstein CJ, Laroux S, Granger DN. Modulation of P-selectin expression in the postischemic intestinal microvasculature. *Am J Physiol.* 1997;273(6 Pt 1):G1326-32. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9435558>.
  54. Riaz AA, Wan MX, Schaefer T, et al. Fundamental and distinct roles of P-selectin and LFA-1 in ischemia/reperfusion-induced leukocyte-endothelium interactions in the mouse colon. *Ann Surg.* 2002;236(6):777-84; discussion 784. doi:10.1097/01.SLA.0000036759.32788.FC.
  55. Watanabe C, Miura S, Hokari R, Teramoto K, Ogino T K, S, Hara Y, Koseki S, Tsuzuki Y, Nagata H, Granger DN IH. Spatial heterogeneity of TNF-alpha-induced T cell migration to colonic mucosa is mediated by MAdCAM-1 and VCAM-1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;283:1379-1387.
  56. Cooper D, Russell J, Chitman KD, Williams MC, Wolf RE, Granger DN. Leukocyte dependence of platelet adhesion in postcapillary venules. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286(5):H1895-H1900. doi:10.1152/ajpheart.01000.2003.
  57. Neumann FJ, Marx N, Gawaz M, et al. Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets. *Circulation.*

- 1997;95(10):2387-2394. doi:10.1161/01.CIR.95.10.2387.
58. Watson MJ, Ke B, Shen XD, et al. Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury Triggers Activation of Innate Toll-Like Receptor 4 and Adaptive Chemokine Programs. *Transplant Proc.* 2008;40(10):3339-3341. doi:10.1016/j.transproceed.2008.07.144.
  59. Moses T, Wagner L, Fleming SD. TLR4-mediated Cox-2 expression increases intestinal ischemia/reperfusion-induced damage. *J Leukoc Biol.* 2009;86(4):971-980. doi:10.1189/jlb.0708396.
  60. Victoni T, Coelho FR, Soares AL, et al. Local and remote tissue injury upon intestinal ischemia and reperfusion depends on the TLR/MyD88 signaling pathway. *Med Microbiol Immunol.* 2010;199(1):35-42. doi:10.1007/s00430-009-0134-5.
  61. Loveridge R, Mbbs MA, Mrcp H. Anaesthetic preconditioning. 2010;10(2):38-42. doi:10.1093/bjaceaccp/mkq005.
  62. Murry CE, Jennings RB RK. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74:1124-1136.
  63. Wu B, Ootani A, Iwakiri R, et al. Ischemic preconditioning attenuates ischemia-reperfusion-induced mucosal apoptosis by inhibiting the mitochondria-dependent pathway in rat small intestine. 2004:580-587.
  64. Ardehali H. Signaling mechanisms in ischemic preconditioning: interaction of PKCepsilon and MitoK(ATP) in the inner membrane of mitochondria. *Circ Res.* 2006;99(8):798-800. doi:10.1161/01.RES.0000247029.31997.a4.
  65. Nakano a, Cohen M V, Downey JM. Ischemic preconditioning: from basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacol Ther.* 2000;86(3):263-275. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10882811>.
  66. Nakano A, Baines CP, Kim SO, et al. Ischemic preconditioning activates MAPKAPK2 in the isolated rabbit heart: evidence for involvement of p38 MAPK. *Circ Res.* 2000;86(2):144-151. doi:10.1161/01.RES.86.2.144.
  67. Ishida T, Yarimizu K, Gute DC, Korthuis RJ. Mechanisms of ischemic preconditioning. *Shock.* 1997;8(2):86-94.
  68. Qin X, Sheth SU, Sharpe SM, et al. The mucus layer is critical in protecting against ischemia-reperfusion-mediated gut injury and in the restitution of gut barrier function. *Shock.* 2011;35(3):275-281. doi:10.1097/SHK.0b013e3181f6aaf1.
  69. Bouritius H, van Hoorn DC, Oosting A, et al. Carbohydrate supplementation before operation retains intestinal barrier function and lowers bacterial translocation in a rat model of major abdominal surgery. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2008;32(3):247-253. doi:10.1177/0148607108316191.
  70. Fujise T, Iwakiri R, Wu B, et al. Apoptotic pathway in the rat small intestinal mucosa is different between fasting and ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;291(1):G110-6. doi:10.1152/ajpgi.00393.2005.
  71. Kozar RA, Schultz SG, Bick RJ, Poindexter BJ, DeSoignie R, Moore FA. Enteral glutamine but not alanine maintains small bowel barrier function after ischemia/reperfusion injury in rats. *Shock.* 2004;21(5):433-437.

- doi:10.1097/01.shk.0000123510.13212.58.
72. McQuiggan M, Kozar R, Sailors RM, Ahn C, McKinley B, Moore F. Enteral glutamine during active shock resuscitation is safe and enhances tolerance of enteral feeding. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2008;32(1):28-35. doi:10.1177/014860710803200128.
  73. Moncada, S.; Gryglewski, R.; Bunting, S.; Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature.* 1976;263(5579):663-665.
  74. Samuelsson B. Arachidonic acid metabolism: role in inflammation. *Z Rheumatol.* 1991;50 Suppl 1:3-6. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=1907059](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1907059).
  75. Tiryakioglu O, Erkoc K, Tunerir B, et al. The Effect of Iloprost and N-Acetylcysteine on Skeletal Muscle Injury in an Acute Aortic Ischemia-Reperfusion Model: An Experimental Study. 2015;2015. doi:10.1155/2015/453748.
  76. Frick A, Baumeister RGH, Menger MD, Vollmar B, Wohllaib U, Wiebecke B. Secondary ischaemia in experimental free flaps – treatment by long acting prostacyclin analogues. 1999:392-398.
  77. İlomedin 20 mcg/ml 1ml Bayer-Schering Pharma prospektüs.
  78. Gomez-Arroyo J, Sakagami M, Syed AA, et al. Iloprost reverses established fibrosis in experimental right ventricular failure. *Eur Respir J.* 2015;45(2):449-462. doi:10.1183/09031936.00188013.
  79. Caliskan A, Yavuz C, Karahan O, Yazici S, Guclu O. Iloprost reduces myocardial edema in a rat model of myocardial ischemia reperfusion. 2014. doi:10.1177/0267659113514472.
  80. Avci T, Erer D, Kucuk A, et al. The effects of iloprost on ischemia-reperfusion injury in skeletal muscles in a rodent model. *J Surg Res.* 2014;187(1):162-168. doi:10.1016/j.jss.2013.09.031.
  81. Yakut N, Yasa H, Bahriye Lafci B, et al. The influence of levosimendan and iloprost on renal ischemia-reperfusion: an experimental study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2008;7(2):235-239. doi:10.1510/icvts.2007.161356.
  82. Koksel O, Ozdulger A, Aytacoglu B, et al. The influence of iloprost on acute lung injury induced by hind limb ischemia-reperfusion in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2005;18(4):235-241. doi:10.1016/j.pupt.2004.12.005.
  83. Sahsivar MO, Narin C, Kiyici A, Toy H, Ege E, Sarigül A. The effect of iloprost on renal dysfunction after renal I/R using cystatin C and beta2-microglobulin monitoring. *Shock.* 2009;32(5):498-502. doi:10.1097/SHK.0b013e3181a1ba54.
  84. Tiryakioglu O, Erkoc K, Tunerir B, et al. The effect of iloprost and N-acetylcysteine on skeletal muscle injury in an acute aortic ischemia-reperfusion model: an experimental study. *Biomed Res Int.* 2015;2015:453748. doi:http://dx.doi.org/10.1155/2015/453748.
  85. Ay Y, Kara I, Aydin C, Ay NK, Teker ME, Senol S. Effects of ischemic preconditioning and iloprost on myocardial ischemia-reperfusion damage in rats. 2013;6(7):516-523.

86. Schoening WN, Feige I, Schubert T, et al. Iloprost donor treatment reduces ischemia-reperfusion injury in an isolated extracorporeal pig liver perfusion model. *Exp Clin Transplant*. 2015;13(1):51-61. doi:10.6002/ect.2014.0148.
87. Kiris I, Tekin I, Yilmaz N, Sutcu R, Karahan N, Ocal A. Iloprost Downregulates Expression of Adhesion Molecules and Reduces Renal Injury Induced by Abdominal Aortic Ischemia-Reperfusion. *Ann Vasc Surg*. 2009;23(2):212-223. doi:10.1016/j.avsg.2008.06.010.
88. Erlansson M, Bergqvist D, Persson NH SE. Modification of postischemic increase of leukocyte adhesion and vascular permeability in the hamster by Iloprost. *Prostaglandins*. 1991;41:157-168.
89. Pope J, Fenlon D, Thompson a, et al. Iloprost and cisaprost for Raynaud's phenomenon in progressive systemic sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;(2):CD000953. doi:10.1002/14651858.CD000953.
90. Kang H, Manasia A, Rajamani S, et al. Intravenous iloprost increases mesenteric blood flow in experimental acute nonocclusive mesenteric ischemia. 2002;30(11). doi:10.1097/01.CCM.0000035387.46039.5B.
91. Emerson DJM, Patel CB, Krishna BV SP. Prostacyclin in preventing occlusion of microvascular anastomoses by platelet thrombus: an experimental study in rats. *Br J Plast Surg*. 1981;34:35-37.
92. Kort WJ, De Kam J, Westbroek DL. Per-operative topical administration of ZK 36 374 (iloprost) acts favorably on patency of small artery anastomoses in rats. *Microsurgery*. 1987;8(1):17-21. doi:10.1002/micr.1920080106.
93. Version D. Improving the clinical applicability of laser Doppler perfusion monitoring Morales, Fernando. 2017.
94. Arne D, Hoff L, Gregersen H, et al. Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring. 2009;15:198-203. doi:10.3748/wjg.15.198.
95. Karaçaylı U. GY. Laser Doppler Flowmetrinin Önemi ve Kullan ı m Alanlar ı The Significante and Application Area of Laser Doppler Flowmentry. *Kocatepe Tıp Derg*. 2007;(4):45-48.
96. Tenland T, Salerud EG, Nilsson GE, Oberg PA. Spatial and temporal variations in human skin blood flow. *Int J Microcirc Clin Exp*. 1983;2(2):81-90. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=6236158](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6236158).
97. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ GF. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg*. 101(4):478-83.
98. Moradi P, Glass GE, Atherton DD, et al. Reconstruction of pharyngolaryngectomy defects using the jejunal free flap: a 10-year experience from a single reconstructive center. *Plast Reconstr Surg*. 2010;126(6):1960-1966. doi:10.1097/PRS.0b013e3181f446a6.
99. Perez-Smith D, Wagels M, Theile DR. Jejunal free flap reconstruction of the pharyngolaryngectomy defect: 368 Consecutive cases. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg*. 2013;66(1):9-15.

- doi:10.1016/j.bjps.2012.08.033.
100. Theile DE, Robinson DW, McCafferty GJ. Pharyngolaryngectomy Reconstruction By Revascularized Free Jejunal Graft. *Aust N Z J Surg.* 1986;56(11):849-852. doi:10.1111/j.1445-2197.1986.tb01837.x.
  101. Sharp D a, Theile DR, Cook R, Coman WB. Long-term functional speech and swallowing outcomes following pharyngolaryngectomy with free jejunal flap reconstruction. *Ann Plast Surg.* 2010;64(6):743-746. doi:10.1097/SAP.0b013e3181af3019.
  102. Bhathena HM. Free jejunal transfer for pharyngo-esophageal reconstruction. *Acta Chir Plast.* 2002;44(4):120-123.
  103. Theile DR, Robinson DW, Theile DE, Coman WB. Free jejunal interposition reconstruction after pharyngolaryngectomy: 201 consecutive cases. *Head Neck.* 1995;17(2):83-88. doi:10.1002/hed.2880170202.
  104. Carlson GW. Reconstruction of the and cervical. *Curr Prob Sur.* 1993;(May).
  105. Tekeli KM, McKenzie J, Goodger NM, Hendy CW. Transplant-related experience in pharyngo-oesophageal reconstruction: Use of organ preservation techniques to improve ischaemic tolerance in free jejunal flaps. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2016.
  106. Nielsen IM, Riis A, Jahn H, Gottrup F. Measurements of Tissue Oxygen Tension in Vascularised Jejunal Autografts in Pigs. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1995;29(4):297-302. doi:10.3109/02844319509008963.
  107. Tsuchida Y, Aoki N, Fukuda O, Nakano M, Igarashi H. Changes in hemodynamics in jejunal flaps of rabbits due to ischemia, venous congestion, and reperfusion as measured by means of colored microspheres. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101(1):147-154. doi:10.1097/00006534-199801000-00024.
  108. Cordeiro PG, Santamaria E, Hu QY, DiResta GR RV. The timing and nature of neovascularization of jejunal free flaps: an experimental study in a large animal model. *Plast Reconstr Surg.* 103(7):1893-1901.
  109. Birch DW, Park A, Shuhaibar H. Acute thermal injury to the canine jejunal free flap: Electrocautery versus ultrasonic dissection. *Am Surg.* 1999;65(4):334-337.
  110. Jensen AR, Doster DL, Hunsberger EB, et al. Human Adipose Stromal Cells Increase Survival And Mesenteric Perfusion Following Intestinal Ischemia And Reperfusion Injury. 2016;46(1):75-82. doi:10.1097/SHK.0000000000000571.
  111. Giele HP, Heel KA, Storrie A, McCauley RD, Hall JC. Warm ischaemia time in a model for small bowel transplantation. *Microsurgery.* 1996;17:438-443. doi:10.1002/(Sici)1098-2752(1996)17:8<438::Aid-Micr4>3.0.Co;2-A.
  112. Shigeta T, Sakamoto S, Li X-K, et al. Luminal Injection of Hydrogen-Rich Solution Attenuates Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Transplantation.* 2015;99(3):500-507. doi:10.1097/TP.0000000000000510.
  113. Impellizzeri D, Cordaro M, Campolo M, et al. Anti-inflammatory and

- antioxidant effects of flavonoid-rich fraction of bergamot juice (BJe) in a mouse model of intestinal ischemia/reperfusion injury. *Front Pharmacol.* 2016;7(JUL). doi:10.3389/fphar.2016.00203.
114. Puglisi RN, Whalen T V, Doolin EJ. Computer analyzed histology of ischemic injury to the gut. *J Pediatr Surg.* 1995;30(6):839-844. doi:0022-3468(95)90761-0 [pii].
  115. Hotter G, Closa D, Prados M, Prats N, Gelpí E. Intestinal Preconditioning Is Mediated by a Transient Increase in Nitric Oxide. 1996;32:27-32.
  116. Abrahão MS, Montero EFS, Junqueira VBC, Giavarotti L, Juliano Y, Fagundes DJ. Biochemical and morphological evaluation of Ischemia-Reperfusion injury in rat small bowel modulated by ischemic preconditioning. *Transplant Proc.* 2004;36(4):860-862. doi:10.1016/j.transproceed.2004.03.046.
  117. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Protective effects of ischemic preconditioning on the intestinal mucosal microcirculation following ischemia-reperfusion of the intestine. *Microcirculation.* 2005;12(8):615-625. doi:10.1080/10739680500301631.
  118. Aksöyek S, Cinel I, Avlan D, Cinel L, Oztürk C, Gürbüz P, Nayci A OU. Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock.* 2002;18(5):476-480.
  119. Ji Y, Wang Z, Wang S, et al. Ischemic preconditioning ameliorates intestinal injury induced by ischemia-reperfusion in rats. 2015;21(26):8081-8088. doi:10.3748/wjg.v21.i26.8081.
  120. Ferencz A, Szántó Z, Borsiczky B, et al. The effects of preconditioning on the oxidative stress in small-bowel autotransplantation. *Surgery.* 2002;132(5):877-884. doi:10.1067/msy.2002.129910.
  121. Jácome DT, Abrahão MS, Morello RJ, Martins JL, Medeiros AC, Montero EFS. Different Intervals of Ischemic Preconditioning on Small Bowel Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Transplant Proc.* 2009;41(3):827-829. doi:10.1016/j.transproceed.2009.01.071.
  122. Saita Y, Yokoyama K, Nakamura K, Itoman M. Protective effect of ischaemic preconditioning against ischaemia-induced reperfusion injury of skeletal muscle: how many preconditioning cycles are appropriate? *Br J Plast Surg.* 2002;55(3):241-245. doi:10.1054/bjps.2002.3809.
  123. Yang SP, Hao YB, Wu YX, Dun W, Shen LH, Zhang Y. Ischemic preconditioning mediated by activation of KATP channels in rat small intestine. *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* 1999;20(4):341-344. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=10452121](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10452121).
  124. Sola A, Hotter G, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Modification of oxidative stress in response to intestinal preconditioning. *Transplantation.* 2000;69(5):767-772. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=10755524](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10755524).
  125. Zhang Y, Wu Y-X, Hao Y-B, Dun Y, Yang S-P. Role of endogenous opioid peptides in protection of ischemic preconditioning in rat small intestine. *Life Sci.* 2001;68:1013-1019.
  126. Dun Y, Hao YB, Wu YX, Zhang Y, Zhao RR. Protective effects of

- nitroglycerin-induced preconditioning mediated by calcitonin gene-related peptide in rat small intestine. *Eur J Pharmacol.* 2001;430(2-3):317-324. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11711050>.
127. Bärthel E, Rauchfuß F, Hoyer H, et al. Impact of stable PGI 2 analog iloprost on early graft viability after liver transplantation: A pilot study. *Clin Transplant.* 2012;26(1):38-47. doi:10.1111/j.1399-0012.2011.01516.x.
  128. Klein AS, Cofer JB, Pruett TL, et al. Prostaglandin E1 administration following orthotopic liver transplantation: a randomized prospective multicenter trial. *Gastroenterology.* 1996;111(3):710-715. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=8780576>  
<http://resolver.ebscohost.com/openurl?issn=00165085&Volume=111&issue=3&spage=710&title=Prostaglandin+E1+administration+following+orthotopic+liver+transplantation:+a+ran>.
  129. Cargnoni A, Boraso A, Comini L, et al. Role of timing of administration in the cardioprotective effect of iloprost, a stable prostacyclin mimetic. *Eur J Pharmacol.* 1991;199:165-178.
  130. Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: Underlying mechanisms and clinical application. 2009;204:334-341. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.029.
  131. Wolfárd A, Kaszaki J, Varga S, Lázár G, Boros M. Early microcirculatory changes after ischemic preconditioning and small bowel autotransplantation. *Eur Surg Res.* 2007;39(5):284-290. doi:10.1159/000103739.
  132. Spitz DR, Oberley LW. Measurement of MnSOD and CuZnSOD activity in mammalian tissue homogenates. *Curr Protoc Toxicol.* 2001;Chapter 7:Unit7.5. doi:10.1002/0471140856.tx0705s08.
  133. Gedik E, Girgin S, Obay BD, Ozturk H, Ozturk H, Buyukbayram H. Iloprost, a prostacyclin (PGI2) analogue, reduces liver injury in hepatic ischemiareperfusion in rats. *Acta Cir Bras.* 2009;24(3):226-232. doi:10.1590/S0102-86502009000300012.



## 8 EKLER

### EK-1 Deney tutanağı

#### DENEY TUTANAĞI-1

1. Deney Tarihi :
2. Başlangıç Saati :
3. Bitiş Saati :
4. Deney Grubu :
5. Denek No :
6. Deney Hayvanı Kütleli Olarak Değerlendirilmesi ..... Gram
7. Deney hayvanına verilen ilk doz anestezi miktarı:
8. Ketalar: ..... cc
9. Rompun: ..... cc
10. İdame verilen ketalar miktarı:

İlave doz sayısı	Deneyin aşaması	Zaman (Kaçınıcı dk)	Miktar (cc)
1			
2			
3			
4			

11. Deney sırasında yaşanan sorunlar/ beklenmeyen durumlar:

Adı-Soyadı:

İmza:

## DENEY TUTANAĞI-2

Deney Tarihi/Saat.....

Denek No :

Denek Grubu:

Deney Aşamaları	Saat	Foto	
1. Anestezi indüksiyonu			
2. Cerrahi başlangıç			
3. Cerrahi bitiş			
4. Bazal LDPM ölçümü			
5. İskemi başlangıç			
6. İskemi 35.dk'da 5' LDPM ölçümü			
7. İskemi bitiş			
8. Reperfüzyon başlangıç			
9. Reperfüzyon 55.dk'da 5' LDPM ölçümü			
10. Reperfüzyon 115.dk'da 5' LDPM ölçümü			
11. Reperfüzyon bitiş			
12. Histoloji için örnek alınması ve uygun taşıyıcıya yerleştirilmesi			
13. Biyokimya için örnek alınması ve uygun taşıyıcıya yerleştirilmesi			
14. Hayvanın sakrifiye edilmesi			

