



T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL MEZENTER İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARI MODELİNDE DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLI
HEPARİNLERİN BAKTERİYEL TRANSLOKASYON ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Dr. Selçuk KÖKSAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

BOLU - 2018



T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL MEZENTER İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARI MODELİNDE DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL
HEPARİNLERİN BAKTERİYEL TRANSLOKASYON ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Dr. Selçuk KÖKSAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nuri Aydın KAMA

BOLU - 2018

Etik İlkelerine Uyulduğuna İlişkin Beyan

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak sunduğum, **Ratlarda Deneysel Mezenter İskemi Reperfüzyon Hasarı Modelinde Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinlerin Bakteriyel Translokasyon Üzerine Etkileri** başlıklı çalışmanın yazılmasında bilimsel ve etik kurallara uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda atıfta bulunduğumu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin tamamının ya da bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitede bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

TARİH/İMZA

Dr. Selçuk KÖKSAL

TEŞEKKÜR

Abant izzet baysal Tıp Fakültesi, Genel cerrahi Anabilim Dalı'nda yaptığım uzmanlık eğitimimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mehmet Hayri ERKOL'a;

Uzmanlık eğitimim süresince üstün bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve tezimin planlanması ve yürütülmesinde yol gösteren, çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. Nuri Aydın KAMA'ya;

Bilgisine her zaman ihtiyaç duyup başvurduğum hocam Prof. Dr. Neriman ŞENGÜL'e;

Eğitimimin her aşamasında bilgi, becerilerini örnek aldığım, tecrübelerinden faydalandığım, desteğini hissettiğim ve bir abi gibi sevdiğim Doç. Dr. Mustafa ŞİT'e;

Benden yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Dr. Oğuz ÇATAL ve Dr. Bahri ÖZER'e;

Birlikte çalıştığım araştırma görevlisinden öte dostum ve eş kıdemlim Dr. Semih YAMAN'a;

Asistanlığım ve tıp fakültesi eğitimim boyunca her zaman yanımda olan dostlarım ve kardeşlerim Dr. Evren AKMUT ve Dr. Umut GÜVEN'e;

Asistanlığım sırasınca birlikte çalıştığım tüm asistan, başta Semra AYTÖP olmak üzere tüm hemşire arkadaşlarıma ve güler yüzlü sekreterimiz Arzu UZUNÖZ'e;

Benim her koşulda yanımda olan çok sevdiğim biricik eşim Dr. Ece BİLİR KÖKSAL'a;

Cerrah olmamla gurur duyan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

RATLARDA DENEYSEL MEZENTER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI MODELİNDE DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL HEPARİNLERİN BAKTERİYEL TRANSLOKASYON ÜZERİNE ETKİLERİ

Bir dokuya gelen arteriyel kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesiyle iskemi; kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. İskemi ve reperfüzyon dokuda hücresel düzeyde bir takım kimyasal olayların başlamasını tetikler ve bu süreç uzadıkça doku hasarı artar. Bu hasarlanmanın sonuçlarından biri de barsaklarda meydana gelen bozulmalarda gelişen bakteriyel translokasyondur.

Çalışmamızda daha önce hiç üzerinde çalışılmayan mezenter iskemi-reperfüzyon (İ/R) sonrası oluşan bakteriyel translokasyona düşük molekül ağırlıklı heparinin etkisinin ne yönde olacağını araştırmayı amaçladık.

21 Adet Wistar Albino sıçan eşit şekilde 3 gruba ayrılmıştır: Kontrol grubu, İ/R grubu, İ/R+DMAH grubu. Kontrol grubunda sadece batın açılmış, herhangi bir işlem yapılmamıştır. İ/R grubunda SMA 45 dakika klemplendikten sonra 60 dk reperfüzyon yapılmıştır. İ/R + DMAH grubunda sıçanlara işlemden 4 saat önce 1mg/kg enoksaparin sodyum verilmiştir. SMA 45 dakika klemplendikten sonra 60 dk reperfüzyon yapılmıştır. Deney sonunda ileum örnekleri histopatolojik olarak; kan, MNL, dalak ve karaciğer örnekleri ise mikrobiyolojik olarak değerlendirilmiştir.

İ/R grubunda meydana gelen ileal doku hasarının İ/R+DMAH grubunda artış gösterdiği tespit edilmiştir. İ/R+DMAH grubunda doku kültürlerinde bakteriyel translokasyon düzeylerinin İ/R grubuna göre anlamlı bir biçimde azaldığı görülmüştür ($p<0.001$). İntestinal İ/R oluşturulan sıçanlarda kullanılan düşük molekül ağırlıklı heparinin terminal ileumdaki doku hasarını önlemedeki etkinliğinin yeterli düzeyde olmadığı, fakat mikrobiyolojik değerlendirmeler göz önüne alındığında bakteriyel translokasyon üzerine etkisinin olumlu yönde olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Enoksaparin sodyum, intestinal iskemi-reperfüzyon, bakteriyel translokasyon

ABSTRACT

THE EFFECTS OF LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARINS ON BACTERIAL TRANSLOCATION IN EXPERIMENTAL MESENTERIC ISCHEMIA REPERFUSION INJURY MODEL

Ischemia is a partial or complete interruption of arterial blood flow to a tissue, while reperfusion injury occurs when blood flow is restored. Ischemia and reperfusion trigger the initiation of a number of chemical events at the cellular level in the tissue, and injury increases in time. One of the consequences of this damage is the bacterial translocation emerging with intestinal impairments.

We aimed to demonstrate the effect of low molecular weight heparin on bacterial translocation following mesenteric ischemia-reperfusion (I/R), which have not been studied in the literature.

Twenty-one Wistar Albino rats were equally divided into 3 groups: Control group, I/R group, I/R + DMAH group. In the control group, SMA was exposed without insult. In the I/R group, SMA was clamped for 45 minutes and reperfused for 60 min. In the I/R+DMAH group, rats were given 1 mg / kg enoxaparin sodium 4 hours before the procedure. The SMA was then clamped for 45 minutes and reperfused for 60 min. At the end of the experiment, ileum samples were stained with hemotoxylin eosin and histopathologically evaluated with Chiu score; blood, MNL, spleen and liver samples were evaluated microbiologically.

It was determined that ileal tissue damage in the I/R group was not decreased significantly in the I/R+DMAH group. In the I/R+DMAH group, bacterial translocation levels in tissue cultures decreased significantly when compared with the I/R group. Low molecular weight heparan used in intestinal I/R rats was not effective enough to prevent I/R injury; however, when microbiological evaluations were taken into consideration, the effect on bacterial translocation was positive.

Key words: Enoxaparin sodium, intestinal ischemia-reperfusion, bacterial translocation

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İnce Barsak Dolaşımının Anatomisi Ve Fizyolojisi	4
2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarının Fizyopatolojisi	9
2.3. Bakteriyel translokasyon	11
2.4. Düşük Molekül ağırlıklı Heparinler	12
2.5. Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinlerin Klinikte Kullanımı	14
3. GEREÇ ve YÖNTEM	15
3.1. Deney Hayvanları ve Ortam	15
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	15
3.3. Ameliyat Prosedürü	16
3.4. Histopatolojik İncelemeler	18
3.5. Mikrobiyolojik Analiz	20
3.6. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR	22
4.1. Histopatolojik inceleme sonuçları	22
4.2. Mikrobiyolojik Analiz sonuçları	24
4.3. Doku Örneklerinde Doku Gramı Başına Düşen Bakteri Sayısı (Bakteriyel Translokasyon İndeksi kob/g=koloni sayısı/ gram)	28
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
7. KAYNAKLAR	40

--

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
3.4 - 1 Chiu Skörlaması	19
4.1 - 1 Deneklerin Chiu Skörlama sonuçları	22
4.1 - 2 Grupların ileum hasar skörlaması	23
4.2 - 1 Grupların MNL, dalak, KC ve kan doku örneklelerinde bakteri üreme durumu	25
4.2 - 2 Gruplara göre dokularda toplam bakteri üreme oranları	26
4.2 - 3 Grupların MNL, Dalak, KC ve kan doku örneklelerinde bakteri üreme durumları	28
4.3 - 1 Gruplara göre MNL, Dalak, KC örneklelerinde gram doku başına bakteri sayısı	30
4.3 - 2 İ/R ve İ/R+DMAH doku örneklelerinde gram doku başına düşen bakteri sayısı	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
2.1 - 1. Süperior mezenterik arter ve dalları	5
2.2 - 2. SMA, İMA ve Çölyak arter arasındaki anatomik arklar	6
2.1 - 3. Süperior ve inferior mezenterik arterler arasındaki ilişkiler	8
2.1 - 4. İnce barsak villus yapısı	9
2.4 - 1. DMAH'ın antitrombine bağlanması ve Faktör Xa inaktivasyonu	13
3.3 - 1 Ratlarda povidone iodinle cilt temizliği sonrası batının açılması	16
3.3 - 2 SMA'nın görülüp korunması	17
4.1 - 1 İ/R+ ve İ/R++DMAH gruplarının Chiu hasar skorları	23
4.1 - 2 Hematoksilen & Eozin Boyama'da Chiu Skorları	24
4.2 - 1 Gruplara göre bakteri üreme oranları	27
4.3 - 1 Gruplara ait MLN, Dalak, KC örneklerinde ortalama bakteri sayıları	31
4.3 - 2 Gruplara ait dokularda gram doku başına düşen toplam bakteri sayıları	33

SİMGELER ve KISALTMALAR

AMI:	Akut mezenterik iskemi
İ/R:	İskemi reperfüzyon
MLN:	Mezenterik lenf nodu
NO:	Nitrik oksit
SIRS:	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
DMAH:	Düşük molekül ağırlıklı heparin
SMA:	Süperior mezenterik arter
İMA:	İnferior mezenterik arter
Na⁺:	Sodyum
K⁺:	Potasyum
ATP:	Adenozin trifosfat
Ca⁺²:	Kalsiyum
BT:	Bakteriyel translokasyon
AT:	Antitrombin
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
bFGF:	Temel fibroblast büyüme faktörü
DVT:	Derin ven trombozu
SH:	Standart heparin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut Mezenterik İskemi (AMI), %60-80 mortalite oranına sahip olan ve acil müdahale gerektiren vasküler bir durumdur. Dünya genelinde AMI insidansının giderek arttığı bildirilmektedir. AMI'nin etkin bir şekilde tedavi edilebilmesi için patolojinin erken tanınması önemlidir. Barsak nekrozu gelişmeden mezenterik kan dolaşımının yeniden sağlanması için terapötik işlemlerin hızlı bir biçimde uygulamaya konması gerekmektedir.

Mezenterik iskemide sonuçlar birbirine benzerdir ve ince barsaklardaki iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı endotel hücre şişmesi, kapiller blokaj, intestinal kan akımında azalma ve mukozal bariyer disfonksiyonu gibi mikrovasküler ve mukozal değişiklikler ile karakterizedir. Hasarlanmış mukoza, endojen mikroorganizmalara karşı direnç kaybına uğramaktadır. Direncin düşmesi sonucunda ise bakterilerin kan dolaşımı, mezenterik lenf nodları (MLN), karaciğer ve dalak gibi ekstraintestinal alanlara translokasyonu gerçekleşmektedir.

İskemi reperfüzyon sonrası damarlarda meydana gelen endotelial disfonksiyona bağlı nitrik oksit (NO) biyoyararlanımının azalmasının neden olduğu vazokonstriksiyon, nötrofil aktivasyonu ve infiltrasyonu ile trombosit agregasyonu, serbest oksijen radikallerinin oluşması ile gelişen oksidatif hasar ve birçok organda hasar ve yetmezliğe sebep olan Sistemik İnflamatuvar Cevap Sendromu (SIRS), intestinal iskemi reperfüzyonunun bilinen sonuçlarıdır (1, 2). Barsak mikrosirkülasyon bozukluğu ve barsak motilitesinde değişiklik, mukozal bariyerin bozulması, bakteri translokasyonu ve çoklu organ fonksiyon bozukluğu sendromu gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bu da göstermektedir ki barsaktaki mikrosirkülasyon bozukluğunun düzeltilmesi, tedavinin ana amaçlarından birisi olup bu hasarı önlemek için yapılabilecekler önemli bir araştırma konusudur (3). Bu amaç için kullanılan yöntemlerden biri de antikoagülan tedavidir.

Heparin mast hücrelerinde histamin ve serotonin ile birlikte bulunan bir mukopolisakkarittir. Bu nedenle mast hücrelerinden zengin dokulardan elde edilmektedir. Yapı olarak tekrarlayan sülfatlanmış glukoronik asit, iduronik ve glukozaminden meydana gelmiştir. Yüksek miktarda anyonik sülfat ve karboksilik gruplar içermesi nedeniyle asidik yapıdadır. Bu asidik yapının klinik uygulamalarda önemli rolü bulunmaktadır. Asidik yapısı nedeniyle plazmadaki proteinlere, endotel hücrelerine ve monositlere kolaylıkla bağlanmakta ve plazmadan temizlenmesi oldukça hızlı olmaktadır.

Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) ise, anfraksiyone heparinin depolimerizasyonu ile elde edilmektedir ve ortalama molekül ağırlığı 5000 Da'dur (4). Düşük molekül ağırlığı sebebiyle plazma proteinlerine ve hücrelere daha az bağlanmaktadır. Faktör Xa'yı aynı anfraksiyone heparin gibi inaktive etmektedirler ve plazma proteinlerine daha az bağlandıkları için daha düşük dozlarda daha belirgin etki göstermektedirler. DMAH'lerin düşük dozlarda subkutan biyoyararlanımı %100'dür ve anti-faktör Xa aktivitesi ortalama 4 saatte pik düzeye erişmektedir. Yapılan pek çok çalışmada, DMAH'lerin anti-inflamatuvar etkisi olduğu gösterilmiştir (5, 6). Dahası, bir DMAH'nin endotoksemik sıçanlarda lökosit yapışmasını önleyerek endotel hasarına karşı protektif etki gösterdiği de rapor edilmiştir (7). Bu etkinin, DMAH'nin kullandığı mikrosirkülasyon işlev bozukluğunu önlemeye yönelik mekanizmalar arasında yer alması muhtemeldir. Ayrıca bu etki, mezenter iskemi sonrası reperfüzyonla ortaya çıkan en önemli patofizyolojik mekanizmalardan birinin tamiri olacak niteliktedir. Bleeker ve ark. (8) heparinin iskemi sonrası endotel hücre disfonksiyonunu önlediğini ve lökosit adezyonunu azalttığını bildirmiştir. Bir diğer çalışmada ise Zapata-Sirvent ve ark. (9), heparinin yanık hasarında bakteriyel translokasyon insidansını azalttığını rapor etmiştir.

Bu deneysel çalışmamızda genel cerrahi kliniklerinde oldukça sık karşılaşılan, tedavisi ve yönetimi zor olan ve yüksek mortalite ile seyreden mezenterik iskemide, antikoagülan etkisinin dışında farklı özelliklere sahip olduğu kanıtlanan DMAH'nin, reperfüzyon hasarı ve bakteriyel translokasyon üzerine etkilerinin ne yönde olacağını araştırmayı amaçladık.

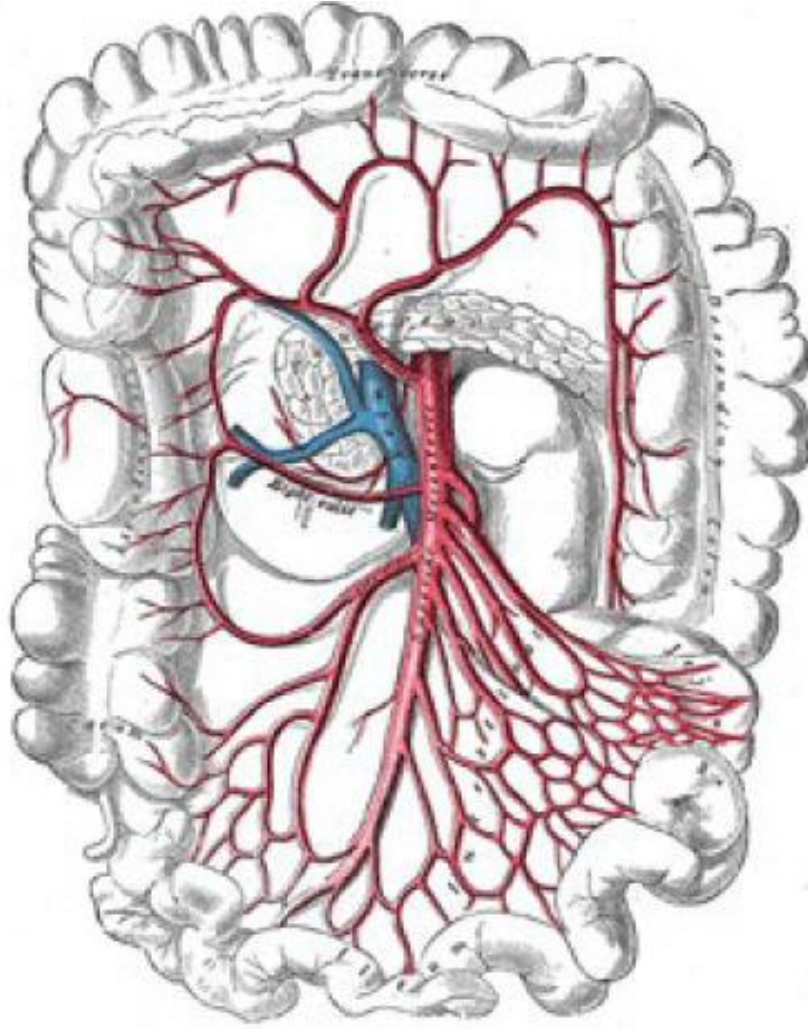
2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnce Barsak Dolaşımının Anatomisi Ve Fizyolojisi

İnce barsak, yaklaşık olarak yedi metre uzunluğundadır ve anatomik olarak duodenum, jejunum ve ileum bölümlerinden oluşmaktadır. İntestinal kan desteği primer olarak, abdominal aortun üç büyük dalı olan çölyak trunkus, superior mezenterik arter (SMA) ve inferior mezenterik arter ile sağlanmaktadır. Bu damarların tamamı abdominal aortanın ön yüzünden çıkmaktadır.

Duodenum ince barsağın en proksimalindeki segmenttir ve hemen pankreas baş ve gövdesinin inferior sınırının arkasından başlayarak retroperitoneal uzanım göstermektedir. Duodenum, mideden pilor, jejunumdan ise treitz ligamanları ile ayrılmaktadır. Jejunum ve ileum periton boşluğunun içinde yer almaktadır ve yaygın şekilde mezenterik yapı ile retroperitona bağlanmıştır. Jejunum ve ileum segmentleri arasında anatomik olarak ayırıcı herhangi bir yapı bulunmazken proksimal %40'lık segment jejunum, distal %60'lık segment ise ileum olarak adlandırılmaktadır. İleum ise çekumdan ileoçekal valv ile ayrılmaktadır (10).

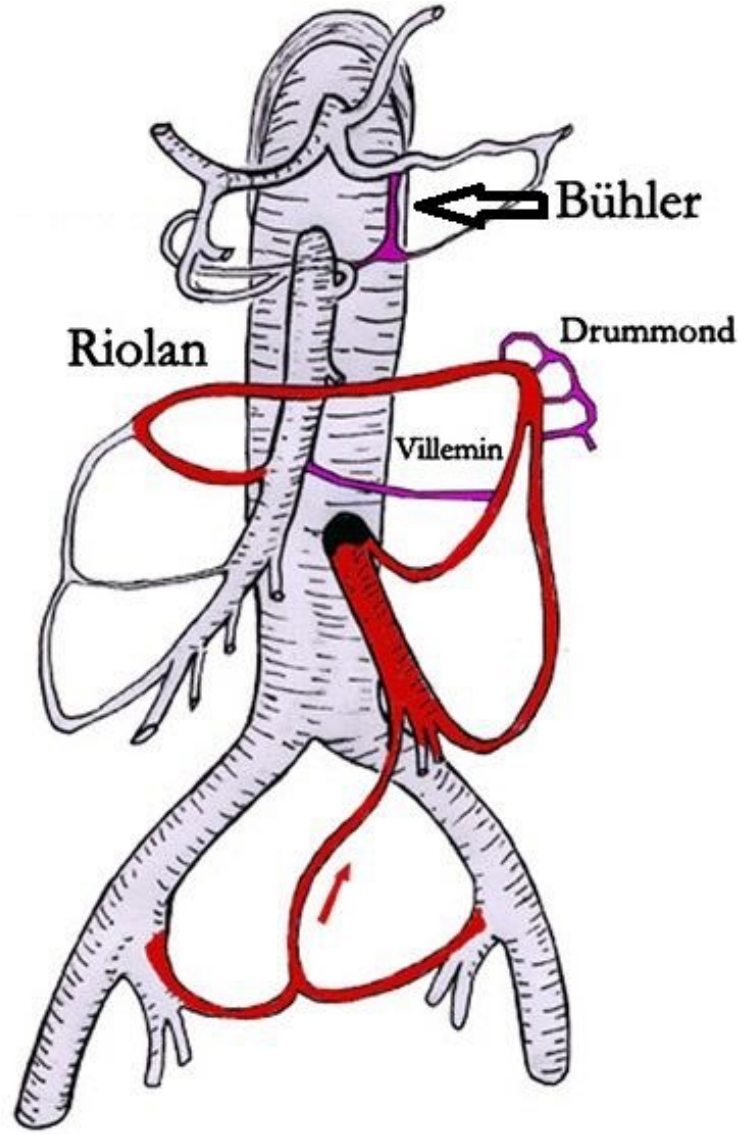
Duodenum büyük bölümü arteriel kan akımını çölyak ve süperior mezenterik arterlerin dallarından almakta ve primer olarak çölyak trunkusun dalı olan pankreatikoduodenal arter tarafından beslenmektedir. Distal duodenum, jejunum ve ileum arteriyel kan akımını süperior mezenterik arterin dallarından alırken, venöz dönüşleri süperior mezenterik vene olmaktadır (Şekil 2.1-1).



Sekil 2.1- 1 Süperior mezenterik arter ve dalları.

Süperior Mezenterik Arter ve Çölyak Arter Arasındaki Anatomik İlişki

Süperior Mezenterik Arter'in ilk dalı inferior pankreatikoduodenal arterdir ve ön ve arka olarak ikiye ayrılmaktadır. Bu dallar çölyak arterle, süperior pankreatikoduodenal arter aracılığı ile ilişkilidir. Bu iki arter arasındaki temel yan dal grubu, gastroduodenal veya pankreatikoduodenal arterler yolu ile sağlanmaktadır. Bu seviyede iki önemli yan dal bulunmaktadır. Birincisi SMA'in omental dalları ile çölyak arter dalları arasında gelişebilen Barkow arkı, ikincisi de SMA ve çölyak arter arasındaki embriyonik bir kalıntı olup sıklıkla görünmeyen Bühler arkıdır (Şekil 2.1-2).



Şekil 2.1 - 2. SMA, İMA ve Çölyak arter arasındaki anatomik arklar

Süperior Mezenterik Arter ve İnferior Mezenterik Arter arasındaki anatomik ilişki

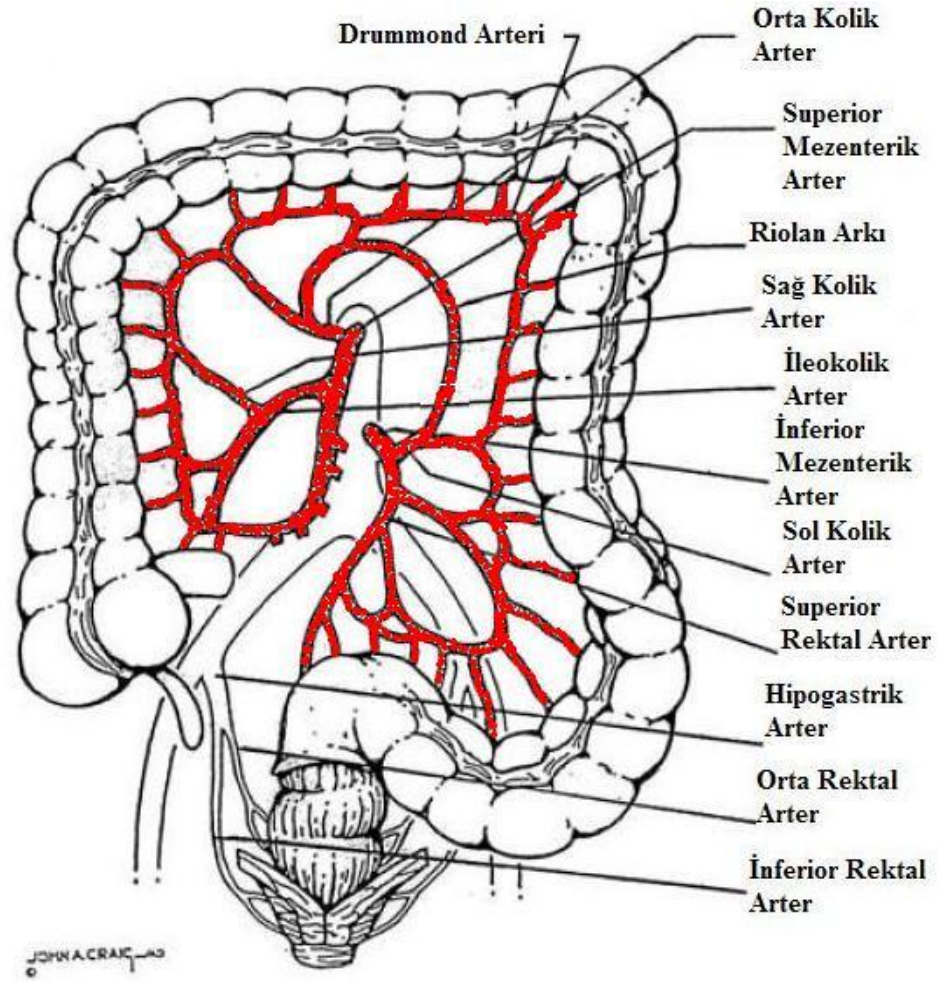
Süperior Mezenterik Arter ve İMA arasında üç önemli ilişki bulunmaktadır (Şekil 2.1 - 2). Bunların içinde en önemlisi Drummond'un marjinal arteridir. Normalde kolonun mezenter yüzeyine yakın ve küçük olan bu arter SMA ve İMA tıkanığında genişlemektedir. İkinci önemli ilişki ise Riolan arkıdır (Şekil 2.1 - 2). Bu yapı mezenter içinde ve daha merkezde yer almakta, sol ve orta kolik arterleri birleştirmektedir (Şekil

2.1-3). Kıvrıntılı gidişi nedeniyle “meandering mezenterik arter” olarak da adlandırılabilir. Arteriografilerde görüntülendiğinde hemen daima viseral arteriyel tıkanmayı göstermektedir.

Mezenterik vasküler yatağın önemli özellikleri bulunmaktadır: Vasküler yataktaki akım direnci çok düşüktür ve bu özelliğin bir sonucu olarak ana kanallar daraldığında kollateral kan akımı gelişme potansiyeli göstermektedir. Kronik iskemide, üç ana arter de, diğer aortik dallardan önemli miktarda kan akımı alabilmektedir. Bu dallar, lumbar, interkostal, renal, internal mamarial (derin epigastrik dallar aracılığı ile), orta sakral ve hipogastrik arterlerdir (inferior ve superior rektal arterler aracılığıyla).

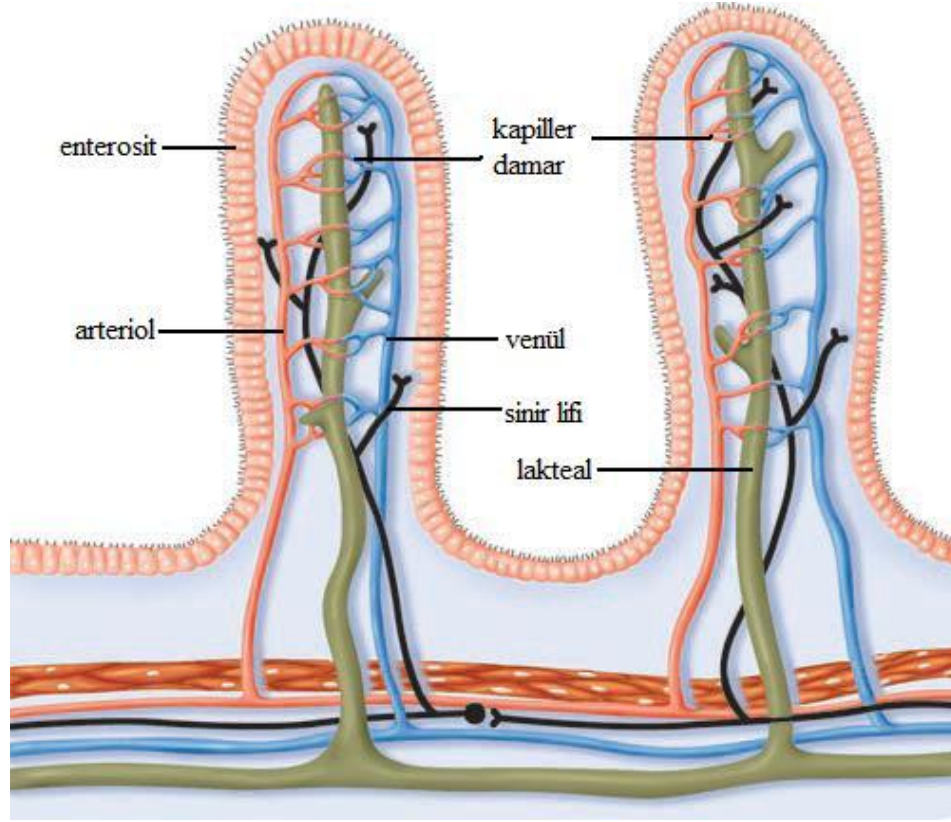
Damarların villuslardaki paralel yerleşimi ve santral arterle kapiller ve venüllerin sadece 15-20 mikron uzaklıkta seyretmesi kan akımının zıt yönlü olmasını sağlamaktadır (Şekil 2.1-4). Villusta ters akım mekanizmasının birkaç etkisi bulunmaktadır: Teorik olarak, kompleks bir şant olan bu mekanizma, arteriyel oksijenin bir kısmının uç kapillerlere ulaşmadan önce villus bazalinde yakın venlere diffüze olmasına izin vermektedir. Bu durum villus uçlarının iskemiyeye karşı hassas olmasına neden olmaktadır. Ayrıca arteriyel hipotansiyon durumlarında kan akış hızı yavaşlatılmakta ve değiş tokuş yoluyla oksijen şantının artmasına neden olan transit zamanı uzamaktadır. Kan akımının engellendiği durumlarda bu olayın zıt akım mekanizması ile barsakta iskemik hasarı arttıracığı anlamına gelmektedir (11).

Barsaklar villus kript aksı boyunca iskemi/Reperfüzyon hasarına karşı heterojenik duyarlılık göstermektedir. Barsak villus uçlarında bulunan hücreler bazaldaki hücrelere göre iskemik hasara karşı daha duyarlıdır. Zıt akım mekanizmasının yanı sıra villus ucunda bulunan hücrelere barsak lümenindeki içeriğin mekanik kuvvet uygulamasının bu duyarlılıkta rol oynadığı bildirilmiştir (11, 12).



Sekil 2.1 - 3. Süperior ve inferior mezenterik arterler arasındaki ilişkiler

Ayrıca hassasiyetin daha önce yapılmış çalışmalarda villus ucunda bulunan enterositlerin kriptlerdeki enterositlere göre santral arteriolden daha düşük basınçla kanlanması nedeniyle olduğu gösterilmiştir (13). Yapılan bir çalışmada da enterosit duyarlılığının hücrenin farklılaşma durumuna bağlı olduğu ileri sürülmüştür (14).



Şekil 2.1 - 4. İnce barsak villus yapısı

2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarının Fizyopatolojisi

İskemi, organ veya dokuyu besleyen kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz olabilen hücre ve doku hasarıdır (15). Geri dönüşümsüz hücre hasarını engellemek için dokuya yeniden kan akımının sağlanması (reperfüzyon) gerekmektedir. Ancak reperfüzyonun gerçekleşmesi, iskemik dokularda iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açmaktadır. İ/R periyotlarından oluşan bu zararlı etkilerin tümü İ/R hasarı olarak adlandırılmaktadır (16).

İskemi

Oksijen hücre fonksiyonu için temel gereksinimdir. İskemi sonucu dokulara yeterli O₂ sağlanamaması hücre disfonksiyonuna ve sonuçta hücre ölümüne neden olan bir dizi kimyasal olayı başlatmaktadır. Oluşan bu anaerobik metabolizmaya laktik asit artışının

yarattığı asidoz normal enzim kinetiğini değiştirerek yüksek enerjili bağların azalmasına ve selüler dengenin korunması için gereken enerjinin yetersiz kalmasına sebep olmaktadır (17, 18).

Hipoksinin en sık görülen başlıca sebebi iskemidir (19). İskemiye bağlı hasarın şiddeti, hipoperfüzyonun süresi ve miktarı ile orantılı olup, hücrenin tipi, yaralanmaya karşı hassasiyeti, differansiyasyonu, kan ihtiyacı ve metabolizmasına göre farklılık göstermektedir (20). Sonuç olarak, hücresel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolit birikimi hücre ölümüne yol açmaktadır (21, 22). İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalmakta ve adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalmaktadır (23). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+, K^+ -ATP az pompası inhibe olmaktadır. Sonuçta intraselüler ortamda Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonları artmaktadır (24). İntraselüler Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (25). Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında belirgin bir yükselme görülürken, antioksidan enzimlerin üretiminde azalma olmaktadır. Bu durum hücreyi yeniden kanlanma dönemindeki reperfüzyon hasarına karşı savunmasız bırakmaktadır (25).

Reperfüzyon

İ/R hasarı, oksijenlenmesi bozulmuş dokuda kan akımının yeniden sağlanması sonucunda ortaya çıkan bir takım patofizyolojik değişiklikler olarak tanımlanmıştır. İ/R hasarından hücre içine moleküler oksijen girişi ile ortaya çıkan serbest oksijen radikal türevleri ve inflamatuvar mediatörler başta olmak üzere birçok mekanizma sorumlu tutulmaktadır (21, 26, 27). Dokular ve organlar normal metabolik fonksiyonlarını sürdürebilmek adına oksijene ihtiyaç duymaktadırlar, fakat iskemik ortama ani oksijen girişi çeşitli reaksiyon zincirlerini tetiklemekte ve toksik oksijen metabolitlerinin ortamda artması ile doku hasarı meydana gelmektedir (28-30).

Reperfüzyon döneminde dokuda nötrofil infiltrasyonu, kompleman sistem aktivasyonu, kalsiyum aracılı proteazların aktivasyonu, araşidonik asit yolağı gibi pek çok mekanizma serbest radikal oluşumunu artırarak selüler hasara yol açmaktadır. Pek çok yolağın etkin rol oynadığı İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde yer alan başhat faktörler şunlardır: 1) Serbest oksijen radikalleri, 2) Polimorfonükleer lökositler, 3) Kompleman sistemi ve 4) Endotel hücreleri.

2.3. Bakteriyel translokasyon:

Sağlıklı barsak mukozası steril olmayan lümen ile steril vücut arasında bariyer oluşturarak barsaktaki kolonize bakterilerin organlara ve dokulara geçmesine engel olmaktadır. Bu engeldeki bozulmalarla bakterilerin sistemik dolaşıma ve/veya organlara geçmesine bakteriyel translokasyon (BT) adı verilmiştir (31-33). Mezenterik iskemiye bağlı gelişen BT'daki temel mekanizmalar intestinal disfonksiyon, intestinal permeabilite bozukluğu ve konak immünitelerindeki bozulmadan kaynaklı enterik floranın aşırı çoğalmasıdır.

Normal şartlarda intestinal bariyer, immünolojik sistem ve intestinal flora ile bir denge içerisinde bulunmaktadır. Bu dengenin basamaklarından birinin zarar görmesi halinde BT ve enfeksiyon-ilişkili komplikasyonlar gelişebilmektedir. Kolon florasındaki değişiklikler selüler immünite bozukluğu, intestinal mukoza hasarı ve intestinal mekanik bariyerde hasar oluşturabilmekte, buna bağlı olarak da sırasıyla bakteriyel translokasyon, sepsis ve çoklu organ yetmezliği ortaya çıkmaktadır (34).

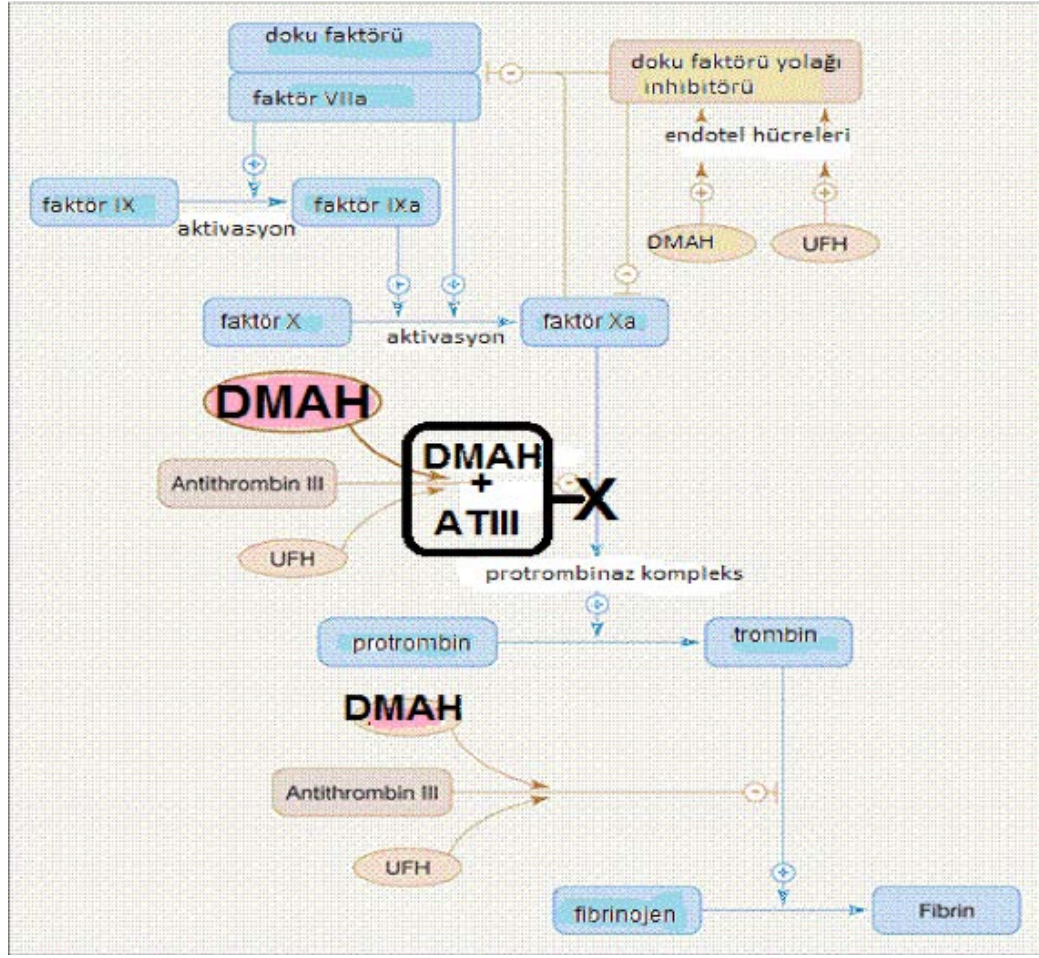
Geçmişten günümüze kadar BT yerine çeşitli terimler kullanılmıştır. Bakteriyel translokasyon ilk defa 1958'de Keller ve Engley, daha sonra da Hildebrand ve Volochow tarafından işaretlenmiş makrofajların oral yolla alımı sonrasında barsak lümeninden kana veya lenfatik dolaşıma geçişini tarif etmek için kullanılmıştır (35). Daha sonra 1979'da Berg ve Garlington gastrointestinal sistemden bakterilerin kan, karaciğer, dalak, böbrek ve MLN, gibi ekstraintestinal bölgelere geçişini BT olarak tanımlamışlardır (36). Duffy ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel çalışmada

BT'nun ince barsak aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiştir (37).

Barsak içinde kolonize bakterinin intestinal mukozayı geçerek sistemik dolaşıma geçmesini engelleyen bazı savunma mekanizmaları bulunmaktadır, bunlar: Mukoza epitelinin fiziksel bariyer fonksiyonu, lümen içindeki bakteri ile intestinal epitel arasındaki mukus tabakası, sekrete edilen IgA'nın bakteri duvarı üzerindeki epitelyal yapışma bölgelerini bloke etmesi, intestinal peristaltizmin bakterinin uzun süre intestinal mukoza ile temasının engellemesi, mukozayı oluşturan epitel hücrelerinin aralıklı olarak dökülmesidir.

2.4. Düşük Molekül ağırlıklı Heparinler

Düşük molekül ağırlıklı heparinlerin ortalama molekül ağırlığı 5000 Dalton olup anfraksiyone heparinin depolimerizasyonu ile elde edilmektedir. Heparinin depolimerizasyonu sonucu oluşan düşük moleküler ağırlıklı parçacıklar, hücre ve proteinlere daha az bağlanmaktadır. DMAH'lerin antikoagülan, farmakokinetik ve diğer biyolojik etkinliklerinin standart heparin (SH)'den farklı olmasının nedeni, DMAH'in SH'ne göre plazma proteinlerine, endotel hücrelerine ve makrofajlara daha az bağlanmasıyla açıklanmaktadır. Fraksiyone olmayan heparinden kimyasal veya enzimatik yolla elde edilen DMAH deriveleri, asıl etkilerini faktör Xa (FXa)'yı inhibe ederek göstermektedirler (Şekil 2.4-1). Ayrıca, AT III'ü inhibe edip trombin oluşumunu engelleyici etkileri de bulunmaktadır (38-40).



Şekil 2.4 - 1. DMAH'ın antitrombine bağlanması ve Faktör Xa inaktivasyonu

DMAH'lerin düşük dozlardaki subkutan biyoyararlanımı %100'dür ve plazma proteinlerine daha az bağlandıklarından anfraksiyone heparin ile karşılaştırıldığında, uygulanan doza göre yanıt ilişkisi çok daha belirgindir. Subkutan uygulama sonrası eliminasyon yarı ömrü 3 - 6 saat olup standart heparinin aksine dozdan bağımsızdır. Bu yüzden DMAH'ler kiloya uygun dozlarda laboratuvar izlemi gerektirmeden uygulanabilir. DMAH'in inflamatuvar barsak hastalıklarında etkili olabileceğini destekleyen, trombositoz ve hiperkoagülasyon sonucu oluşabilecek iskemik komplikasyonları azaltabilecek antikoagülan mekanizmaya sahip olduğunu bildiren, bunlara ek olarak da nötrofil göçünü inhibe ettiğini ve proinflamatuvar sitokin üretimini

azalttığını, reaktif oksijen radikali üretimini engellediğini, vasküler permeabilityyi artırdığını ortaya koyarak anti-inflamatuvar etki hipotezini savunan çalışmalar literatürde mevcuttur (41). Bunların yanı sıra anjiyogenezi, büyüme faktörlerini (VEGF ve bFGF) ve onların inhibitörlerinin sentezini regüle ederek etki ettiğini öneren çalışmalara da rastlanmaktadır (42-44).

2.5. Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinlerin Klinikte Kullanımı

DMAH'ler, venöz tromboembolizm olgularında profilaksi ve tedavi, pulmoner embolide tedavide, unstabil anjina ve akut koroner sendromda primer tedavi ve ek tedavi amacıyla kullanılmalarının beraberinde hemodiyaliz sırasında ekstrakorporeal dolaşımda tromboz oluşumunun önlenmesi amacıyla da klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır (45). DMAH ile ilgili ilk klinik çalışma Kakkar ve arkadaşları (46) tarafından yapılmış olup bu çalışmada postoperatif DVT profilaksisinde DMAH'lerin etkinliği incelenmiştir. Bu çalışmadan birkaç yıl sonra DMAH'ler, Avrupa'da kullanılmaya başlanmıştır.

Günümüzde nadroparine, enoksaparine, dalteparin, longiparin, sandoparin gibi birçok DMAH preparatı bulunmaktadır. Hastadaki risk faktörlerine ve yapılacak cerrahi girişimin türüne göre ameliyattan 2-12 saat önce, preparata göre değişebilen dozlarda günde tek doz olarak subkutan olarak uygulanmaktadırlar. Ameliyatı takip eden ilk hafta boyunca her 8 veya 12 saatte bu doz tekrarlanmaktadır. Ucuz olması, kolay uygulanabilmesi ve monitorizasyon gerektirmemesi bu preparatların sağladığı avantajlardır. Ancak minör kanama ve trombositopeni gibi komplikasyonları bulunmaktadır.

Heparin ve DMAH'ler, keşfedilip klinik kullanımda yer bulduktan sonra pek çok çalışmaya konu olmuştur. Önceleri sadece venöz tromboemboli tedavisinde ve profilaksisinde kullanılırlarken son dönemde farklı kullanım amaçlarına yönelik araştırmalar da yapılmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. DeneY Hayvanları ve Ortam

Bu çalışma, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan DeneYleri Etik Kurulu tarafından incelenerek, 10/05/2017 tarihinde etik kurul yönergelerine uygun görülerek 2017/26 karar no ile onaylanmıştır. Ameliyatlar, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi DeneY Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Çalışmada 6 - 8 haftalık, ortalama 250-350 gr ağırlığında 21 adet dişi Wistar-Albino sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar her bir grupta 7 denek olacak şekilde rastgele biçimde 3 gruba ayrılmıştır.

DMAH'in mezenter İskemi/reperfüzyon hasarında bakteriyel translokasyon üzerine etkileri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. DMAH olarak ise enoksaparin sodyum (Clexan, Aventis Pharma ilaç sanayi, Fransa) kullanılmıştır.

3.2. DeneY Gruplarının Oluşturulması

21 adet rat, her biri 7 hayvandan oluşan 3 gruba ayrılmıştır.

Grup 1. Sham grubu (n=7): Ratlara yalnızca laparotomi yapılan, mezenter iskemi oluşturulmayan ve sonrasında kan ve intestinal doku (ileum), karaciğer, mezenterik lenf nodları, dalak doku örnekleri alınan grup.

Grup 2. Mezenter iskemi/Reperfüzyon grubu (İ/R) (n=7): 45 dk'lık mezenter iskemi ve ardından 60 dk'lık reperfüzyon oluşturulan ve sonrasında kan ve intestinal doku (ileum), karaciğer, mezenterik lenf nodları, dalak doku örnekleri alınan grup.

Grup 3. Mezenter iskemi/Reperfüzyon+Enoksaparin sodyum (İ/R+DMAH) (n=7): Mezenter iskemi oluşturulmadan 4 saat önce tek doz subkutan 1 mg/kg enoksaparin sodyum uygulanan ve 45 dk'lık mesenter iskemi, ardından 60 dk'lık reperfüzyon

oluşturulan ve sonrasında kan ve intestinal doku (ileum), karaciğer, mezenterik lenf nodları, dalak doku örnekleri alınan grup.

3.3. Ameliyat Prosedürü

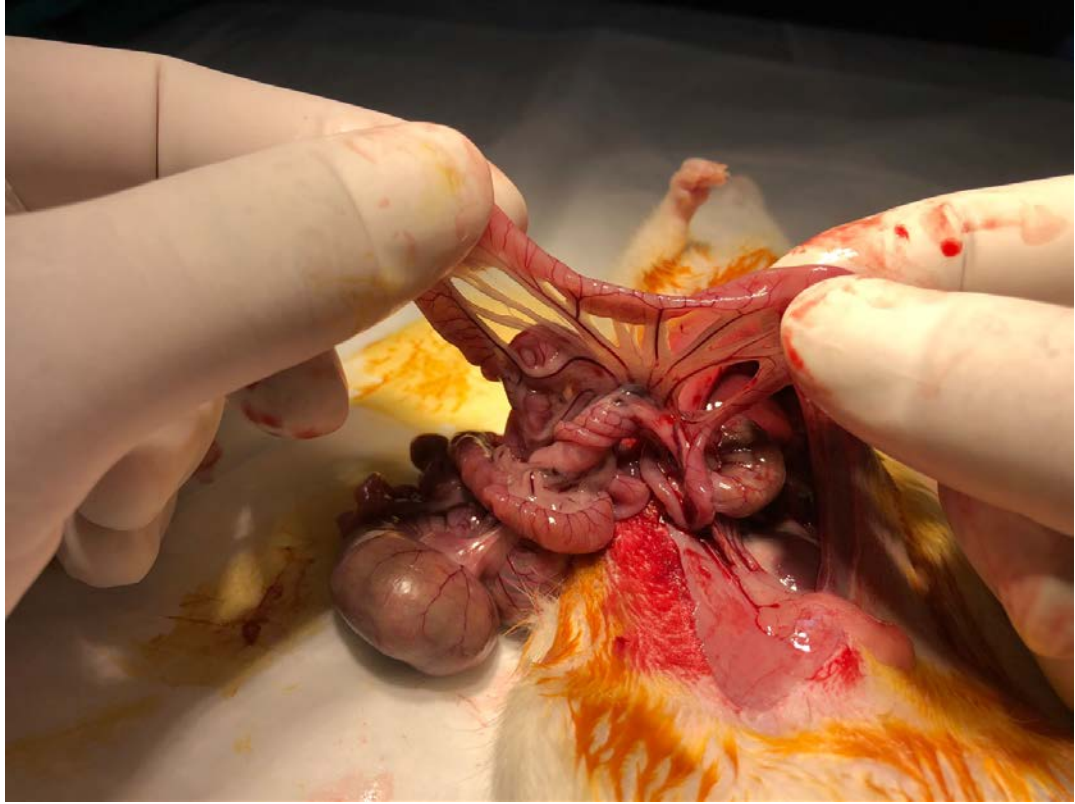
Ratlara Xylazine (5mg/kg) ve Ketamine (40 mg/kg) karışımı tek ciltaltı injeksiyon uygulanarak anestezileri sağlandı.

Anestezi altındaki hayvanlar deney masasına supin pozisyonunda ön ve arka ayaklarından tesbit edilerek yatırıldı. Tüm deney hayvanlarının cilt temizliğini sağlamak için karın bölgesi derisi ameliyat masasında traş edildi ve %10' luk povidone iodine ile cilt temizliği yapıldı ve batın açıldı (şekil 3.3 - 1.).



şekil 3.3 - 1. Ratlarda povidone iodine ile cilt temizliği sonrası batının açılması

Birinci grup (kontrol grubu): Anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı. SMA görüldü ve korundu (Şekil 3.3 - 2.). Herhangi bir işlem yapılmadan çekumun 10 cm distalinin (terminal ileum) 2 cm lik kısmı rezeke edildi ve patolojiye gönderilmek üzere formalinli solüsyona koyuldu. Daha sonra mezenterik lenf nodlarından, karaciğerden ve dalaktan olmak üzere yaklaşık 1x1 cm lik örnekler alınarak uygun şekilde mikrobiyolojik tüplere yerleştirildi. En son olarak v. portadan kan alınarak mikrobiyolojik tüpe koyuldu ve daha sonra denekler sakrifiye edildi.



Şekil 3.3 - 2. SMA nın görülüp korunması

İkinci grup (İ/R grubu): Anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı. Treitz ligamanı bulundu ve bu ligaman kesilerek

Superior Mezenterik Arter (SMA) aortadan çıktığı yerden atravmatik mikrovasküler klemp ile oklude edildi ve barsaklar 45 dakika iskemiye bırakıldı. Barsaklarda solukluk izlenmesi ve nabzın kaybolmasının ardından 45 dk iskemiye takiben klemler açıldığında barsakların pembe renk alması ve nabızların geri gelmesi ile 60 dk reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonu takiben çekumun 10 cm distali (terminal ileum) nin 2 cm lik kısmı rezeke edildi ve patolojiye gönderilmek üzere formalinli solüsyona koyuldu. Daha sonra mezenterik lenf nodlarından, karaciğerden ve dalaktan olmak üzere yaklaşık 1x1 cm lik örnekler alınarak uygun şekilde mikrobiyolojik tüplere yerleştirildi. En son olarak v. portadan kan alınarak mikrobiyolojik tüpe koyuldu ve daha sonra denekler sakrifiye edildi.

Üçüncü grup (İ/R + DMAH grubu): Subkutan uygulama ile tepe plazma düzeyine 3-4 saatte ulaşan enoksaparin sodyum, ratlara işlemden 4 saat önce tek doz 1mg/kg subkutan (SC) yolla uygulandı. Anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı. Treitz ligamanı bulundu ve bu ligaman kesilerek Superior Mezenterik Arter (SMA) aortadan çıktığı yerden atravmatik mikrovasküler klemp ile oklude edildi ve barsaklar 45 dakika iskemiye bırakıldı. Barsaklarda solukluk izlenmesi ve nabzın kaybolmasının ardından 45 dk iskemiye takiben klemler açıldığında barsakların pembe renk alması ve nabızların geri gelmesi ile 60 dk reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonu takiben çekumun 10 cm distalinin (terminal ileum) 2 cm lik kısmı rezeke edildi ve patolojiye gönderilmek üzere formalinli solüsyona koyuldu. Daha sonra mezenterik lenf nodlarından, karaciğerden ve dalaktan olmak üzere yaklaşık 1x1 cm lik örnekler alınarak uygun şekilde mikrobiyolojik tüplere yerleştirildi. En son olarak v. portadan kan alınarak mikrobiyolojik tüpe koyuldu ve daha sonra denekler sakrifiye edildi.

3.4. Histopatolojik İncelemeler

İleal doku örneklerindeki histopatolojik incelemeler Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Histopatolojik inceleme için alınan ileal doku parçası %10 formaldehitte fikse edilerek daha sonra alkol ile dehidrate

edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Işık mikroskopisinde inceleme yapılması için parafin bloklardan ince kesitler elde edildikten sonra bu kesitler hemotoksilen-eozin boyasıyla boyanarak histolojik değişiklikler kantitatif olarak değerlendirildi. Terminal ileumda meydana gelen doku hasar derecesi Chiu klasifikasyonuna göre (Tablo 3.4 - 1) yapıldı ve grupların sonuçları tablo haline getirildi (Tablo 4.1-1). Chiu klasifikasyonuna göre histopatolojik değişiklikler;

Level 0: Mukozada hasar yok.
Level 1: İyi korunmuş vilüsler, sellüler lizis yada inflamatuvar proçez yok ancak Grunhagen'in subepitelyal boşlukları mevcut.
Level 2: Sellüler lizis yanında Grunhagen'in subepitelyal boşlukları mevcut ve villüsler arasında artmış boşluklar mevcut.
Level 3: Serbest villüs kesimlerinde tahribat ve inflame hücreler ile dilate damarların varlığı söz konusu.
Level 4: Villüslerde yapısal hasarlar, bazal glandüler ülserasyon ve hemoraji ile birlikte nekrotik materyal ve inflame hücrelerin varlığı söz konusu.
Level 5: Tüm mukozada hasar, glandüler yapıların görülememesi sadece submukozal dokuda şekilsiz materyallerin varlığı söz konusu.

Tablo 3.4 - 1. Chiu skorlaması

3.5. Mikrobiyolojik Analiz

Steril olarak alınan doku (Mezenter lenf nodu, dalak ve karaciğer) örnekleri hassas terazide tartılarak, 1 ml tiyoglikolatlı buyyon içeren ve önceden ağırlıkları bilinen steril tüplere konulup laboratuvara ulaştırıldı. Steril koşullarda ezilen dokular vorteksenerek homojenize edildi. Aerop kültürler için örnekler %5 koyun kanlı agar, çukulatamsı agar ve EMB agara (RTA, Türkiye) ekilerek 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Aerop kültürlerde üreme olan petrillerdeki koloniler Gram yöntemiyle boyandı. Besiyerlerinde üreyen bakteri koloni sayıları kaydedildi ve standart mikrobiyolojik yöntemlerin yanı sıra Phoenix 100 (BD Diagnostics, ABD) ile tanımlandı (47).

Anaerop kültür amacıyla örnekler kanlı, EMB ve Schaedler besiyerine (RTA, Türkiye) ekildi. Kanlı agar, Schaedler besiyeri ve EMB besiyerleri anaerop kavanoz içinde 37°C'de 72 saat inkübe edildi; anaerop ortam gaz kitleriyle (Anaero-Gen, Oxoid, İngiltere) sağlandı. Anaerop inkübasyon sonrası üreme tespit edilen besiyerlerindeki kolonilerle aerop besiyerlerindeki kolonilerin morfolojisi karşılaştırılıp, Gram boyalı preparat hazırlanarak incelendi. Aerotolerans kontrolü için kanlı besiyerine pasaj yapılarak, aerop ortamda 24 saat 37°C'de inkübe edildi.

Üreme saptanan dokularda bakteriyel translokasyon indeksi olarak, doku gramı başına düşen mikroorganizma sayısını hesaplamak için şu formül kullanıldı (2) *Doku başına düşen koloni sayısı (kob/g) = [Koloni sayısı (kob) x Sulandırım değeri x 10] / [Doku ağırlığı]*

Hayvanlardan alınan kan örnekleri ise otomatize kan kültür şişelerine (BACTEC 9120, BD Diagnostic, ABD) ekildi ve yedi gün izlendi. Bu süre içinde üreme sinyali vermeyen örnekler Gram boyalı preparatları yapıldıktan ve %5 koyun kanlı agar besiyerlerine pasajlanıp üreme olmadığı doğrulandıktan sonra sonuç negatif olarak kabul edildi. Sinyal veren örnekler, %5 koyun kanlı agar ve EMB besiyerine pasajlar yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme olup olmadığı kontrol edilip, aerop kültürlerde üreme olan besiyerindeki koloniler önce Gram yöntemiyle boyandı, daha sonra standart mikrobiyolojik yöntemler ve Phoenix 100 (BD Diagnostics, ABD) ile tanımlandı (48).

3.6. İstatistiksel Analiz

Kontrol, İ/R ve İ/R + DMAH gruplarındaki bakteriyel translokasyon varlığı çapraz tablolar ve ki-kare bağımsızlık testleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca İ/R ve İ/R + DMAH gruplarını doku gramı başına düşen bakteri sayısı ve ileum hasar skorlaması açısından karşılaştırılmış, bu karşılaştırmalar için veriler normal dağılım göstermediğinden, non-parametrik Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Veri analizi için SPSS 22.0 programı kullanılmış, istatistiksel testler $\alpha=0.05$ anlamlılık düzeyinde yorumlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1.Histopatolojik inceleme sonuçları

Deneklerden alınan ileal doku örneklerinin histopatolojik incelenmesi sonucunda dokularda oluşan hasarların Chiu Skorlama sonuçları Tablo 4.1-1’de verilmiştir.

Grup Denek	Kontrol Hasar skoru	İ/R Hasar skoru	İ/R+DMAH Hasar skoru
1	0	3	5
2	0	3	5
3	0	3	3
4	0	4	5
5	0	5	5
6	0	3	4
7	0	4	2
Ortalama skor	0	3.57	4.14

Tablo 4.1-1. Gruplara göre ayrı ayrı deneklere ait doku örneklerinde oluşan histopatolojik değişikliklerin Chiu Skorlama sonuçları

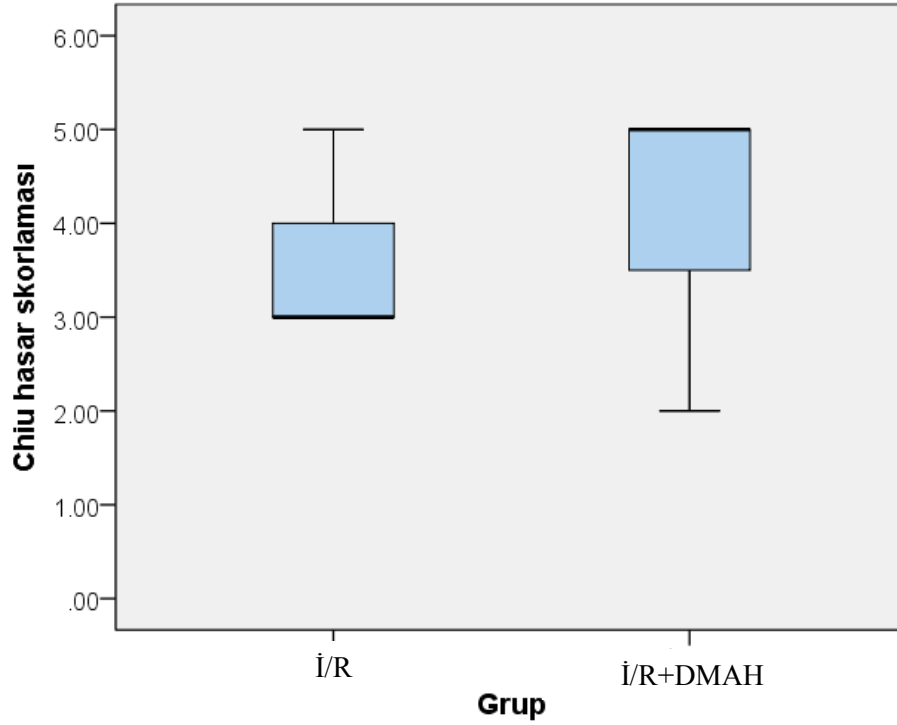
Gruplar ileum hasar skorlaması açısından karşılaştırılmış, kontrol grubunda herhangi bir hasar oluşmadığından bu karşılaştırmaya dahil edilmemiştir. İ/R ve İ/R+DMAH gruplarının hasar skorlaması ortalama ve ortanca değerleri Tablo 4.1-2’te verilmiştir. Ayrıca iki grup arasında fark Şekil 4.1-1 ve Şekil 4.1-2’te görselleştirilmiştir. Bu bulgulara göre, İ/R+DMAH grubundaki hasar skorlarının (Ort. Hasar:4.14) İ/R grubuna (Ort. Hasar:3.57) göre ortalama olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca iki grubun Chiu hasar skorları arasındaki fark non-parametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmış, ancak gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı

bulunmamıştır (p-değeri=0.318). Her ne kadar aradaki fark anlamlı bulunmıyorsa da, DMAH verilmesinin doku hasarı iyileştirici bir etki göstermediği söylenebilir.

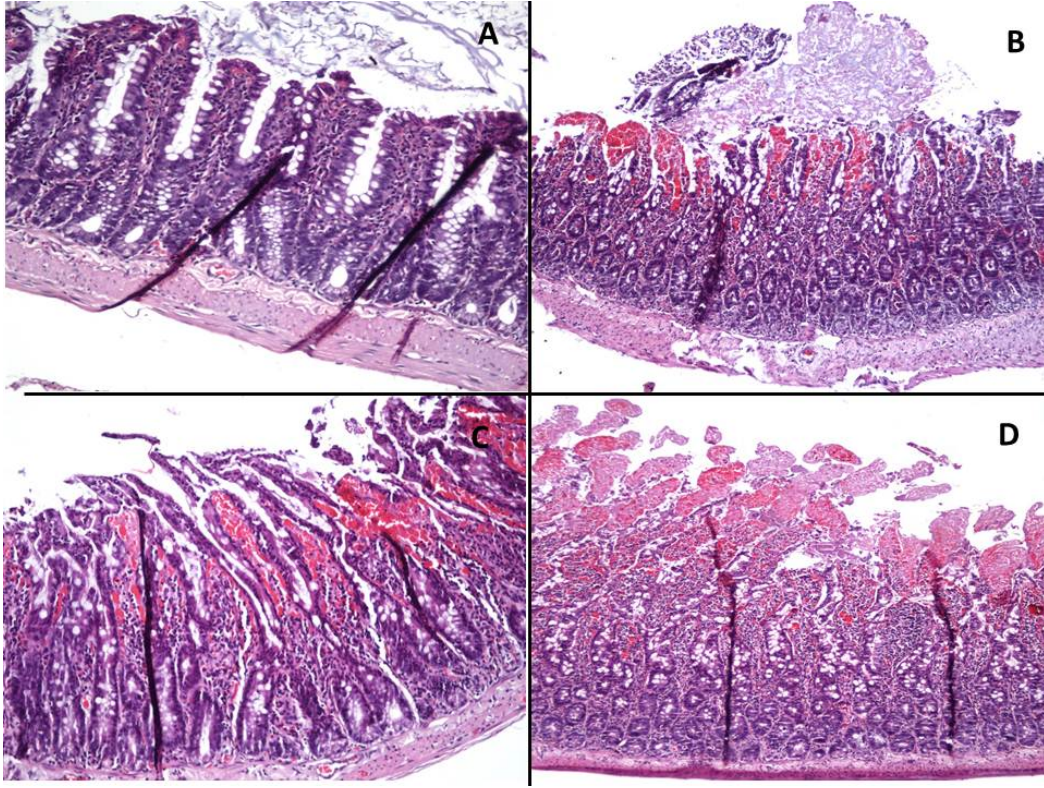
Grup	Ortalama (S. Sapma)	Medyan (ÇAA*)	Değer Aralığı	Mann-Whitney U test istatistiği	p-değeri
İ/R	3.57 (0.78)	3.00 (1.00)	3.00 - 5.00	16.000	0.318
İ/R+DMAH	4.14 (1.21)	5.00 (2.00)	2.00 - 5.00		

*ÇAA: Çeyrekler Arası Açıklık

Tablo 4.1-2. İ/R ve İ/R+DMAH gruplarının ileum hasar skorlaması karşılaştırılması.



Şekil 4.1-1. İ/R ve İ/R+DMAH gruplarının Chiu hasar skorları



Şekil 4.1-2. Hematoksilen & Eozin Boyama'da Chiu Skorları. A) Chiu skor 0; B) Chiu skor 3; C) Chiu skor 4; D) Chiu skor 5

4.2. Mikrobiyolojik Analiz sonuçları

Deneklerden steril ortamda alınan MLN, dalak, KC ve kan doku örneklerinde bakteri üreme durumları tablo 4.2-1'de verilmiştir.

Doku	Grup		Üreme olan doku sayısı	Toplam	Ki-kare test istatistiği	p-değeri
MLN	Kontrol	Sayı %	0 %0.0	7 %100.0	15.167	0.001*
	İ/R	Sayı %	7 %0.0	7 %100.0		
	İ/R+DMAH	Sayı %	5 %71.4	7 %100.0		
Dalak	Kontrol	Sayı %	0 %0.0	7 %100.0	10.500	0.005*
	İ/R	Sayı %	6 %85.7	7 %100.0		
	İ/R+DMAH	Sayı %	3 %42.9	7 %100.0		
Karaciğer	Kontrol	Sayı %	0 %0.0	7 %100.0	14.127	0.001*
	İ/R	Sayı %	7 %100.0	7 %100.0		
	İ/R+DMAH	Sayı %	3 %42.9	7 %100.0		
Kan	Kontrol	Sayı %	0 0.00%	7 100.00%	2.100	0.350*
	İ/R	Sayı %	1 14.30%	7 100.00%		
	İ/R+DMAH	Sayı %	0 0.00%	7 100.00%		

Tablo 4.2-1. Gruplara göre MNL, dalak, KC ve kan doku örneklerinde bakteri üreme durumu

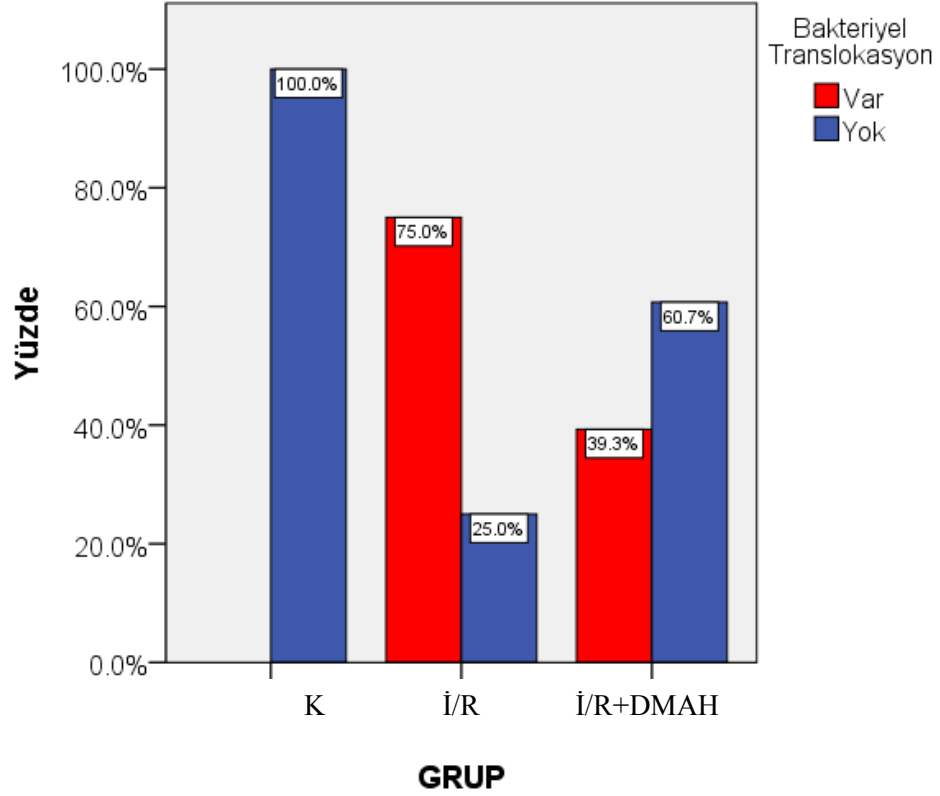
Kontrol, İ/R ve İ/R+DMAH gruplarındaki deneklere ait doku örneklerinde bakteri üreme yüzdeleri karşılaştırılmış gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak incelenmiştir.

Buna göre, Kontrol grubunda hiç bir doku örneğinde bakteri üremesi gözlenmemiştir. İ/R grubunda örneklerin %75'inde, İ/R+DMAH grubunda ise %39.3'ünde bakteri üremesi olmuştur. (Tablo 4.2-2), (Şekil 4.2-1)

			Üreme olan doku sayısı	Toplam	Ki-kare testi istatistiği	p-değeri
Grup	Kontrol	Sayı %	0 0.0 %	28 100.0%	33.418	<0.001 *
	İ/R	Sayı %	21 75.0%	28 100.0%		
	İ/R+DMAH	Sayı %	11 39.3%	28 100.0%		
Toplam		Sayı %	32 38.1%	84 100.0%		

* $\alpha=0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 4.2-2. Gruplara göre dokularda toplam bakteri üreme oranlarının karşılaştırılması



Şekil 4.2-1. Gruplara göre bakteri üreme oranları

Bu sonuçlara göre kontrol grubunda hiçbir doku örneğinde üreme olmamıştır. İ/R grubunda 28 doku örneğinin 21'inde (%75) üreme olurken, İ/R+DMAH grubunda 28 dokudan 11'inde (%39.3) üreme olmuştur. İ/R+ grubuna göre İ/R+DMAH grubunda daha az sayıda doku örneğinde bakteri üremesi olmuştur. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). İ/R grubunda dokulara olan bakteri translokasyonu, DMAH uygulanan grupta azalma göstermiştir.

Ayrı ayrı dokularda bakteri üreme durumu ve İ/R ve İ/R+DMAH grupları arasındaki karşılaştırmalı sonuçlar Tablo 4.2-3'de verilmiştir.

Doku	Grup		Üreme olan doku sayisi	Toplam	Ki-Kare İstatistiği	P- Değeri
MLN	İ/R		7	7	2.333	0.127
		(%)	100.0%	100.0%		
	İ/R+DMAH	Sayı	5	7		
		(%)	71.4%	100.0%		
Dalak	İ/R	Sayı	6	7	4.677	0.031*
		(%)	85.7%	100.0%		
	İ/R+DMAH	Sayı	3	7		
		(%)	42.9%	100.0%		
Karaciğer	İ/R	Sayı	7	7	5.600	0.018*
		(%)	100.0%	100.0%		
	İ/R+DMAH	Sayı	3	7		
		(%)	42.9%	100.0%		
Kan	İ/R	Sayı	1	7	1.077	0.299
		(%)	14.3%	100.0%		
	İ/R+DMAH	Sayı	0	7		
		(%)	0.0%	100.0%		

* $\alpha=0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 4.2-3 Gruplara MNL, Dalak, KC ve kan doku örneklerinde bakteri üreme durumları. İ/R ve İ/R+DMAH gruplarının karşılaştırılması

İ/R ve İ/R+DMAH gruplarındaki üreme oranları arasındaki farka her bir doku için ayrı ayrı ki-kare testleri ile bakılmıştır. Bu bulgulara göre dalak ve karaciğerde iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Dalak için p-değeri=0.031; Karaciğer için p-değeri=0.018). Dalak dokusunda, İ/R grubunda bakteriyel translokasyon ratların %85.7'sinde, İ/R+DMAH grubunda ise %42.9'unda gözlenmiştir. Karaciğer dokusunda ise, İ/R grubunda bakteriyel translokasyon ratların tamamında, İ/R+DMAH grubunda ise %42.9'unda gözlenmiştir. MLN ve Kan doku örneklerinde ise bakteriyel translokasyon oranları açısından İ/R ve İ/R+DMAH grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Bu sonuçlara göre DMAH uygulamasının deneklerde özellikle Dalak ve KC doku örneklerinde görüldüğü gibi bakteri translokasyonunu önemli derecede azalttığı görülmüştür.

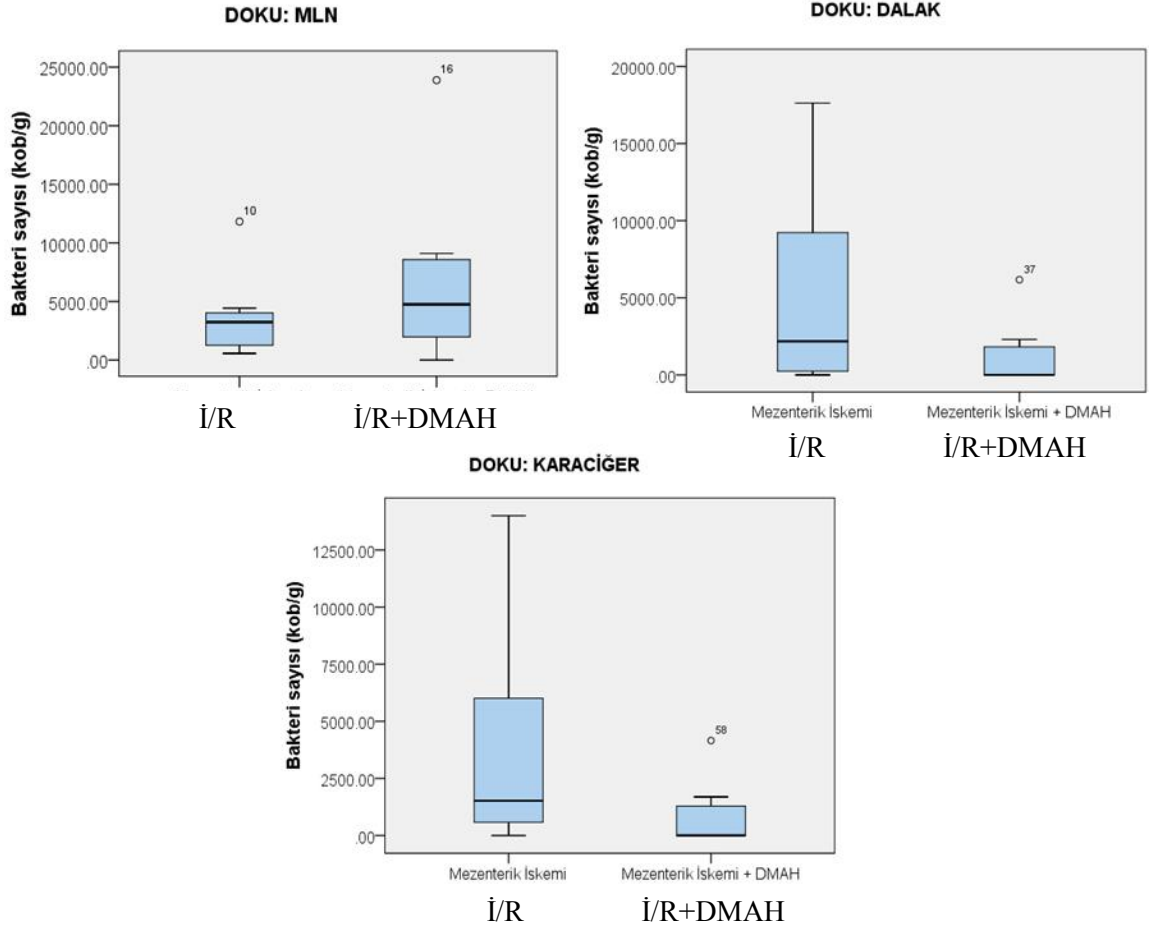
4.3.Doku Örneklerinde Doku Gramı Başına Düşen Bakteri Sayısı (Bakteriyel Translokasyon İndeksi kob/g=koloni sayısı/ gram)

Kontrol grubunda hiçbir doku örneğinde bakteri üremesi olmadığı için bu gruba ait bakteri sayıları sıfır olup tabloya dahil edilmemiştir. Tüm gruplara ait kan örneklerinde ise sadece İ/R grubunda bir ratta bakteri üremesi olmuştur. Buda tabloya dahil edilmemiştir. Gruplara ait MLN, Dalak, ve KC örneklerinde gram doku başına düşen ortalama bakteri sayıları Tablo 4.3-1'de verilmiştir. MLN, Dalak ve Karaciğer dokularında İ/R ve İ/R+DMAH gruplarında bakteri sayıları ayrı ayrı karşılaştırılmıştır (Şekil 4.3-1). Bu bulgulara göre Dalak ve Karaciğer dokularında İ/R+DMAH grubunda belirgin oranda daha az bakteri sayısı olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak MLN dokusunda İ/R+DMAH grubunda gözlenen bakteri sayıları İ/R grubuna göre daha fazla olmuştur. Her bir doku için İ/R ve İ/R+DMAH grupları ayrı ayrı Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki bu fark veri sayısı azlığından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p-değeri_{MLN}=0.535, p-değeri_{DALAK}=0.165, p-değeri_{KARACİĞER}=0.565).

Doku	Grup	Bakteri sayısı/gr Ortalama (S.Sapma)	Medyan (ÇAA*)	Değer Aralığı	Mann-Whitney U test istatistiği	p-değeri
MLN	İ/R	3741.20 (3853.67)	3235.67 (3796.05)	568.72- 11818.18	19.000	0.535
	İ/R+DMAH	7109.17 (8196.16)	4751.87 (9099.10)	0.00- 23890.78		
Dalak	İ/R	5534.18 (6811.85)	2181.02 (10949.63)	0.00- 17621.15	13.000	0.165
	İ/R+DMAH	1400.84 (2288.82)	0.00 (2298.85)	0.00-6172.84		
Karaciğer	İ/R	4099.74 (5105.15)	1520.00 (6715.72)	0.00- 14000.00	13.000	0.165
	İ/R+DMAH	961.42 (1551.84)	0.00 (1693.00)	0.00-4156.77		

*ÇAA: Çeyrekler Arası Açıklı

Tablo 4.3-1. Gruplara göre MNL, Dalak, KC örneklerinde ortalama gram doku başına düşen dokularda bakteri sayıları karşılaştırmaları



Şekil 4.3-1. Gruplara ait MLN, Dalak, KC örneklerinde ortalama bakteri sayılarının şekil olarak gösterilmesi

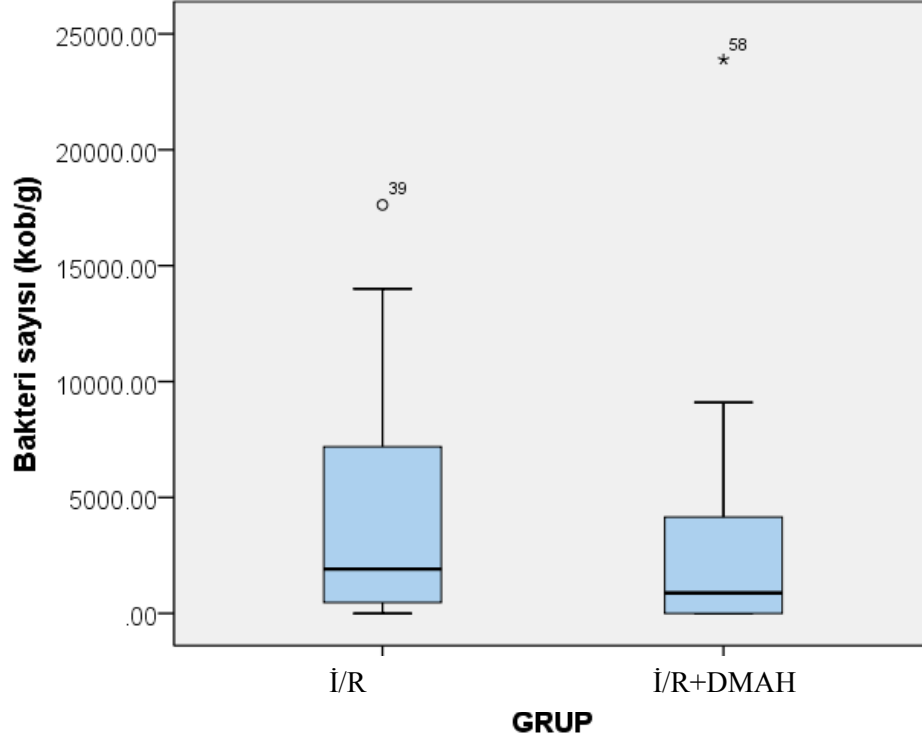
Ayrıca bu üç organa ait toplam ortalama bakteri sayıları da Tablo 4.3-2’de ve şekil 4.3-2’de verilmiştir. İ/R ve İ/R+DMAH grupları arasında, doku gramı başına düşen bakteri sayısı (bakteriyel translokasyon indeksi, kob/g) açısından fark olup olmaması incelenmiştir. Normallik testi sonucunda, verilerin normal dağılmadığı sonucuna ulaşılmış bu nedenle iki grubun bakteri sayıları arasındaki fark non-parametrik Mann-

Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Tablo 4.3-2 ve Şekil 4.3-2’de gösterildiği gibi İ/R+DMAH grubunda gözlenen bakteri sayısının ortalama ve medyan değerinin İ/R grubuna göre daha az olduğu sonucu elde edilmiştir, ancak gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p-değeri=0.101).

Grup	Bakteri sayısı/gr Ortalama (S.Sapma)	Medyan (ÇAA*)	Değer Aralığı	Mann-Whitney U test istatistiği	p-değeri
İ/R	4458.37 (5179.23)	2181.03 (6754.48)	0.00 - 17624.15	156.0	0.101
İ/R+DMAH	3157.14 (5539.01)	880.19 (4454.32)	0.00 - 23890.78		

*ÇAA: Çeyrekler Arası Açıklık

Tablo 4.3-2. İ/R ve İ/R+DMAH gruplarına ait doku örneklerinde gram doku başına düşen toplam bakteri sayılarının karşılaştırılması



Şekil 4.3-2 İ/R ve İ/R+DMAH gruplarına ait dokularda gram doku başına düşen toplam bakteri sayıları

5. TARTIŞMA

Mezenterik iskemi, % 60 - % 80 oranı ile yüksek bir mortaliteye sahip olup, günümüzde hala önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (49). İntestinal obstrüksiyon, inkarsere herni, ince barsak volvulusu, pnömoperitoneum ve nekrotizan kolit gibi çeşitli klinik durumlarda akut mezenterik iskemiye bağlı intestinal İskemi reperfüzyon hasarı ile karşı karşıya kalınmaktadır. Mezenterik iskemi hastalarda ciddi morbitide ile seyrederek bunlar arasında malabsorpsiyon, şiddetli diyare, kısa barsak sendromu sayılabilir.

Akut Mezenter İskeminin (AMİ) mortalite oranının bu kadar yüksek olmasının en önemli nedeni hastalığın tanısında ve ayırıcı tanısında kullanılacak, hastalığa özgü tetkik ve fizik muayene yöntemlerinin olmaması, bu sebeple tanı ve tedavide geç kalınmasıdır. Erken tanı, mezenterik kan dolaşımını sağlayarak pek çok vasoaktif mediatör, sitokin, endotelin ve serbest toksik oksijen radikalleri salınımını engelleyerek, reperfüze edilen dokuda lökosit aktivasyonu, endotel disfonksiyonu, doku ödemi azaltabilmekte ve ortaya çıkabilecek mukozal hasarı hafifletmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda sınırlı sayıda farmakolojik ajanın, intestinal İskemi reperfüzyon hasarında kısmen yarar sağladığı gösterilmiş; ancak tamamen etkili bir ajan gösterilememiştir (50). Literatüre bakıldığında İskemi reperfüzyon hasarı ile ilgili daha çok tek ajanlı olmak üzere, kombine tedavi rejimlerinin de kullanıldığı deneysel çalışmaları görmek mümkündür. Çalışmalarda vurgulanan temel amaç İskemi reperfüzyon sürecinin çoklu hasar mekanizmalarını inhibe etmek, bu mekanizmaları tetikleyen inflamatuvar ve toksik mediatörlerin oluşmasını engelleyerek hasarı azaltmak veya ortadan kaldırmaktır.

Mezenterik iskemi sonrasında ince barsaklarda ortaya çıkan İskemi reperfüzyon hasarı barsaktaki canlı bakterilerin ve/veya ürünlerinin barsak bariyerini geçerek mezenterik lenf nodları (MLN'ler), dalak, karaciğer ve kan dolaşımı gibi steril vücut

bölgelerine geçmesi olarak tanımlanan bakteriyel translokasyona zemin hazırlamaktadır. Ozban M ve ark.'nın (51) sıçanlarda superior mezenterik arter oklüzyonuyla intestinal İskemi reperfüzyon hasarı oluşturduğu çalışmada, İskemi reperfüzyon hasarının bakteriyel translokasyonu (BT) tetiklediğini saptamıştır. Berg D. (36) tarafından bakteriyel translokasyona öncülük eden üç primer mekanizma tanımlanmıştır: 1. Aşırı intestinal bakteriyel büyüme, 2. Konakçı immün savunma yetersizliği ve 3. İntestinal mukozal permeabilitede artış veya hasar olarak tanımlanmıştır. Mezenterik İskemi reperfüzyon hasarında ortaya çıkan BT'da daha ziyade son mekanizmanın rol oynadığı açıktır. Bu mekanizmanın oral risinoleik asit, endotoksemi, zymosan enjeksiyonu, termal hasar ve hemorajik şok ile de tetiklenebileceği belirtilmiştir (36). Morehouse J ve ark. (52) risinoleik asidin intragastrik inokülasyonunun intestinal mukozayı ciddi biçimde harapladığını ve Gastrointestinal trakt yoluyla pek çok endojen bakteri türünün translokasyonuna imkan sağladığını göstermiştir. Ayrıca hemorajik şok, endotoksik şok veya termal hasar kaynaklı şok ile ilişkili İ/R'nun da intestinal epitelyuma hasar vererek bakteriyel translokasyonun önünü açtığı belirtilmiştir (53). Çalışmamızda da mezenterik iskemi uygulamasının ileumda doku hasarı oluşturduğu patolojik incelemelerle ortaya konulmuş ve deneklerde bakteri translokasyonundaki artışa bunun yol açtığı düşünülmüştür. Grup 3'te ileum doku hasarı skorları DMAH uygulanmasına rağmen daha fazla bulunmuştur. Bu sonuç beklentimizin tersine ortaya çıkan bir durumdur. Öte yandan İ/R+DMAH grubundaki doku hasarı skorlarındaki artış istatistiksel olarak da anlamsız bulunmuştur.

Bakteriyel translokasyona neden olan iskemi reperfüzyon nedenli vazokonstriksiyon, oksidatif stres, nötrofil göçü ve trombosit agregasyonu ile oluşan mikrosirkülatuar disfonksiyonun önlenmesi AMI için terapötik bir hedef olabileceğine işaret etmektedir. Bu bağlamda, antikoagülan etkilerinin dışında lökosit adhezyonunun önüne geçerek endotel hasarına karşı protektif etki gösterdiği ve dolayısıyla mikrosirkülatuar disfonksiyonu da önleyebileceği öne sürülen Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin (DMAH)'nin AMI tedavisinde de yarar sağlayabileceği düşünülerek bu

çalışmada enoksiparinin mezenterik iskemi sonrasında gastrointestinal anatomik değişiklikler ve BT üzerine etkileri incelenmiştir.

Alexander ve ark. (54) enterik bakterilerin, mukoza boyunca hasarlı epitel hücreleri veya hasarlı hücre bileşenleri yoluyla ilk olarak en hassas bölge olan MLN'ye yerleştiğini göstermiştir. Bazı bakteriler MLN'de hayatta kalabilmekte, kana karışabilmekte ve sistem sirkülasyonu yoluyla karaciğere, böbreğe ve dalağa yayılım gösterebilmektedir. Bizim çalışmamızda da MLN'ye yayılan bakteri sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da, literatürle tutarlı olacak şekilde gram doku başına düşen bakteri sayısı karşılaştırıldığında MLN'de karaciğer ve dalağa kıyasla daha fazla bakteri yükü tespit edilmiştir. Bu da bakterial translokasyonun ilk olarak MLN'den yayıldığını, bakterilerin öncelikle bu bölgeye yerleştiğini desteklemiştir.

Son yıllarda anti-trombotik moleküllerin de antioksidan etkiler gösterebileceği ileri sürülmektedir (55). Örneğin, bir DMAH olan enoksiparinin beyin dokusunda, travmatik beyin hasarı kaynaklı tiyobarbitirik asit reaktif maddelerdeki (TBARS) artışı, okside protein düzeylerindeki yükselmeyi ve COX-2 aşırı ekspresyonunu hafiflettiği, dolayısıyla antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikler taşıyor olabileceği öne sürülmüştür (56). Bu öneriyi destekler şekilde Okutan H. ve ark. (57) yaptıkları çalışmada venöz trombozisi oluşturulan ratlarda DMAH'in (deltaparin, enoksiparin, nadroparin) ven duvarındaki erken nötrofil infiltrasyonunu azaltarak akut inflamasyonu azalttığını göstermişlerdir. Daha detaylı olarak ise Wang L ve ark. (58) heparinlerin potent anti-inflamatuvar etkilerinin P-selectin ve L-selectin blokajı aracılığıyla ortaya çıktığını bildirmiştir. Harada ve ark. (59) ise bir heparinoid olan danaparoid sodyumun iskemi-reperfüzyon hasarına maruz kalan sıçanlarda duyu nöronlarından salınan bir nöropeptid olan ve organ hasarını iyileştiren kalsitonin-gen-ilişkili peptid (CGRP) salımını arttırdığını göstermiştir.

Bizim çalışmamızda da Enoksiparinin mezenterik iskemi kaynaklı barsak translokasyonunu azaltabileceği gösterilmiştir. Bu etkinin altında hangi moleküler yolların yer aldığı ileride yapılacak çalışmalarla ortaya konabilecektir. Elimizdeki

mevcut bilgiler enoksaparinin anti-oksidan özelliğinin bu sonucun ortaya çıkmasına katkı sağladığını düşündürmektedir.

Enoksaparinin BT'yi azaltmada yeterli perfüzyonu sağlayabilecek küçük damar yoğunluğunu koruyabilme etkisinin, önceki çalışmalarda ortaya konmuş olan, anti-inflamatuar özelliği ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. (5, 6, 60). Nitekim, Iba ve ark. (5), sadece koagülasyon bozukluğunun düzelmesinin değil, aynı zamanda dolaşımdaki pro-inflamatuar sitokin düzeylerinin düzenlenmesinin de sıçanlarda organ disfonksiyonunu koruma mekanizmasında rol oynayabileceğini göstermiştir. Çalışmamıza benzer şekilde sıçanlarda mezenterik arter iskemisi oluşturulmuş ve MLN'de BT incelenmiş olan bir çalışmada da inflamatuvar moleküllerdeki azalmanın MLN'ye transloke olan bakteri miktarındaki düşüşle korele olduğu gözlenmiştir (61). Enoksaparinin mezenterik İskemi reperfüzyon indüklü BT üzerinde ilk defa tarafımızca tespit edilmiş etkisine, pek çok çalışmada gösterilmiş olan anti-inflamatuar özelliğinin de katkı sağlayabilmesi söz konusudur. Literatüre bakıldığında intestinal İskemi reperfüzyon hasarında DMAH'ların anti-inflamatuar özellikleriyle ilgili herhangi bir bulguya rastlanmazken Zhang ve ark (62) DMAH'nin serebral İskemi reperfüzyon hasarını inflammatuar reaksiyonu azaltmanın yanı sıra enerji metabolizmasını arttırarak ve apoptozisi inhibe ederek hafiflettiğini ortaya koymuştur.

Heparinlerin antikoagülan özellikleri venöz trombozu önlemek ve düşük akışlı iskemi ve tedavi sonrasında reperfüzyon sırasında mikrosirkülasyonu geliştirmek için gereklidir. Buna karşılık, antikoagülan etkileri nedeniyle heparinlerin, şiddetli mezenterik İ/R sırasında meydana geldiği bilinen kanama komplikasyonlarını ve hemorajileri şiddetlendirdiği de bilinmektedir (63). İntestinal İskemi reperfüzyon hasarıyla ilgili pek çok çalışmada terapötik dozda uygulanan heparin sodyumun yarar sağlamaktan ziyade intestinal hasarı ağırlaştırdığı bildirilmiştir (64-68). Bu problemi daha detaylı bir şekilde incelemek amacıyla Walensi ve ark. (69) heparin sodyumun ve enoksaparinin subterapötik (antikoagülan etkinin görülmediği) dozlarının intestinal iskemi reperfüzyon hasarına etkisini superior mezenterik arter iskemisi modelinde incelemiştir. Çalışmada iskemi öncesinde sub-terapötik dozda uygulanan enoksaparinin,

intestinal mikrosirkülasyondaki değişimlerden bağımsız olarak intestinal koruma sağladığı gösterilmiştir. Bu veriler doğrultusunda da enoksaparinin koagülasyonu etkilemeyen dozlarda iskemi reperfüzyon-indüklü gastrointestinal klinik komplikasyon riskini azaltabileceği vurgulanmıştır. Daha farklı olarak, Yeh YC ve ark. (3) tarafından yapılmış olan çalışmada enoksaparinin endotoksemik sıçanlarda mikrovasküler tromboz formasyonunun önüne geçerek ve normal ortalama arteriyal basıncı idame ettirerek intestinal mikrosirkülatuvar disfonksiyonu engelleyebileceği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise Chiu skorlamasına göre ileum hasar sınıflandırması kıyaslandığında, DMAH verilen sıçanlarda ileum hasarının istatikselsel olarak değişmediği, hasar gelişen dokuların da ağırlıklı olarak grade 4 ve 5 skorunda olduğu saptanmıştır. Bu da heparinin ülserasyon ve hemoraji üstünde olumlu etki yaratmadığını, aksine anti-koagülan etkisi sebebiyle kanama yatkınlığını arttırdığını desteklemiştir.

Çalışmamız da yer alan gruplar MLN, karaciğer, dalak ve kan bakteriyel translokasyonu, bakteri yükü açısından ve ileum hasarları karşılaştırılmıştır. Gram doku başına düşen bakteri sayısı ve ileum hasarı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olsa da tüm ekstraintestinal dokular için mezenterik iskemiyel bakteri translokasyonunun indüklendiği ve bu translokasyonun DMAH tedavisiyle hafiflediği söylenebilir.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Mezenter iskemi ve reperfüzyon gelişen olgularda düşük moleköl ağırlıklı heparinin etkilerini araştırdığımız bu çalışmada; DMAH'ın terminal ileumdaki iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltmadığı görülmüştür. Buda DMAH'ın antikoagülan ve antifibrinolitik etkisine bağlı ülserasyon ve hemoraji yapmasına bağlanmıştır.

Bununla beraber klinikte, hastalar üzerinde yıllardır güvenle kullandığımız DMAH'ın bizim çalışmamızda da ispatlandığı gibi bakterial translokasyonu azaltıcı etkisi bulunmuştur. Yalnızca cerrahi kliniklerde değil birçok klinikte hastalarda en çok korktuğumuz son dönem sepsis kliniğini düzeltmede olumlu etkileri birçok çalışmada ispatlanmıştır. Bizim çalışmamızda da; bakterial translokasyonu azaltarak bu olumlu etkilerine ek bir katkı sunduğu inancındayız. Bu da DMAH'ın klinikteki hastalar için hala çok güvenli bir moleköl olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Oldenburg, W.A., ve ark., *Acute mesenteric ischemia: a clinical review*. Arch Intern Med, 2004. **164**(10): p. 1054-62.
2. Kozuch, P.L.ve L.J. Brandt, *Review article: diagnosis and management of mesenteric ischaemia with an emphasis on pharmacotherapy*. Aliment Pharmacol Ther, 2005. **21**(3): p. 201-15.
3. Yeh, Y.C., ve ark., *Enoxaparin sodium prevents intestinal microcirculatory dysfunction in endotoxemic rats*. Crit Care, 2012. **16**(2): p. R59.
4. Trzeciak, S., ve ark., *Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis*. Intensive Care Med, 2008. **34**(12): p. 2210-7.
5. Iba, T.ve T. Miyasho, *Danaparoid sodium attenuates the increase in inflammatory cytokines and preserves organ function in endotoxemic rats*. Crit Care, 2008. **12**(4): p. R86.
6. Li, L.F., ve ark., *Unfractionated heparin and enoxaparin reduce high-stretch ventilation augmented lung injury: a prospective, controlled animal experiment*. Crit Care, 2009. **13**(4): p. R108.
7. Iba, T.ve T. Takayama, *Enoxaparin attenuates endothelial damage with less bleeding compared with unfractionated heparin in endotoxemic rats*. Shock, 2009. **32**(5): p. 530-4.
8. Bleeker, W.K., ve ark., *Protective effect of antithrombin III in acute experimental pancreatitis in rats*. Dig Dis Sci, 1992. **37**(2): p. 280-5.
9. Zapata-Sirvent, R.L., ve ark., *Reduction of bacterial translocation and intestinal structural alterations by heparin in a murine burn injury model*. J Trauma, 1994. **36**(1): p. 1-6.
10. Schwartz, S.I.ve F.C. Brunickardi, *Schwartz's principles of surgery*. 9th ed. ed2010, New York: McGraw-Hill Medical ; London : McGraw-Hill [distributor].
11. Vollmar, B.ve M.D. Menger, *Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences*. Langenbecks Arch Surg, 2011. **396**(1): p. 13-29.
12. Guan, Y., ve ark., *Intestinal ischemia-reperfusion injury: reversible and irreversible damage imaged in vivo*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009. **297**(1): p. G187-96.
13. Mallick, I.H., ve ark., *Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury*. Dig Dis Sci, 2004. **49**(9): p. 1359-77.
14. Hinnebusch, B.F., ve ark., *Enterocyte response to ischemia is dependent on differentiation state*. J Gastrointest Surg, 2002. **6**(3): p. 403-9.
15. Tullis, M.J., S. Brown, ve B.L. Gewertz, *Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion*. J Surg Res, 1996. **66**(2): p. 143-6.

16. Collard, C.D.ve S. Gelman, *Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury*. Anesthesiology, 2001. **94**(6): p. 1133-8.
17. Grace, P.A., *Ischaemia-reperfusion injury*. Br J Surg, 1994. **81**(5): p. 637-47.
18. Rhodes, R.S.ve R.G. DePalma, *Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock*. Surg Gynecol Obstet, 1980. **150**(3): p. 347-52.
19. Siemionow, M.ve E. Arslan, *Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers*. Microsurgery, 2004. **24**(6): p. 468-75.
20. Kumar, V.ve S.L. Robbins, *Robbins basic pathology*. 8th ed. ed2007, Philadelphia, Pa. ; Edinburgh: Elsevier Saunders.
21. Carden, D.L.ve D.N. Granger, *Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury*. J Pathol, 2000. **190**(3): p. 255-66.
22. Anaya-Prado, R., ve ark., *Ischemia/reperfusion injury*. J Surg Res, 2002. **105**(2): p. 248-58.
23. Jennings, R.B.ve K.A. Reimer, *The cell biology of acute myocardial ischemia*. Annu Rev Med, 1991. **42**: p. 225-46.
24. Green, C.J., ve ark., *The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys*. Free Radic Res Commun, 1989. **7**(3-6): p. 255-64.
25. Orrenius, S., ve ark., *Calcium ions and oxidative cell injury*. Ann Neurol, 1992. **32 Suppl**: p. S33-42.
26. Rock, P.ve Z. Yao, *Ischemia reperfusion injury, preconditioning and critical illness*. Curr Opin Anaesthesiol, 2002. **15**(2): p. 139-46.
27. SA, Y., *Antioksidanlar*. Klinik Gelişim, 1998.
28. Damjanov, I., J. Linder, ve W.A.D.P. Anderson, *Anderson's pathology*. 10th ed. / edited by Ivan Damjanov, James Linder, Mary Jean McFadden, illustrator. ed1996, St. Louis ; London: Mosby.
29. Li, C.ve R.M. Jackson, *Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury*. Am J Physiol Cell Physiol, 2002. **282**(2): p. C227-41.
30. Bulkley, G.B., *Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of reticuloendothelial function*. Lancet, 1994. **344**(8927): p. 934-6.
31. Haglund, U., *Gut ischaemia*. Gut, 1994. **35**(1 Suppl): p. S73-6.
32. Benjamin, E., J.M. Oropello, ve T.J. Iberti, *Acute mesenteric ischemia: pathophysiology, diagnosis, and treatment*. Dis Mon, 1993. **39**(3): p. 131-210.
33. Deitch, E.A., R. Berg, ve R. Specian, *Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut*. Arch Surg, 1987. **122**(2): p. 185-90.
34. Yigitler, C., ve ark., *Effect of mesalazine, metronidazole and gentamicin on bacterial translocation in experimental colitis*. J Gastroenterol Hepatol, 2004. **19**(10): p. 1179-86.
35. Keller, R.ve F.B. Engley, Jr., *Fate of bacteriophage particles introduced into mice by various routes*. Proc Soc Exp Biol Med, 1958. **98**(3): p. 577-80.
36. Berg, R.D., *Bacterial translocation from the gastrointestinal tract*. Compr Ther, 1990. **16**(10): p. 8-15.

37. Duffy, L.C., *Interactions mediating bacterial translocation in the immature intestine*. J Nutr, 2000. **130**(2S Suppl): p. 432S-436S.
38. Streif, W., ve ark., *Use of low molecular mass heparin (enoxaparin) in newborn infants: a prospective cohort study of 62 patients*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2003. **88**(5): p. F365-70.
39. Eikelboom, J.W.ve G.J. Hankey, *Low molecular weight heparins and heparinoids*. Med J Aust, 2002. **177**(7): p. 379-83.
40. E, K., Deneysel venöz trombus üzerine düşük molekül ağırlıklı heparin ve taurolidinin etkisinin karşılaştırılması, in Dr. Lütfü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi2005: İstanbul.
41. Malhotra, S., ve ark., *Drug treatment of ulcerative colitis: unfractionated heparin, low molecular weight heparins and beyond*. Expert Opin Pharmacother, 2004. **5**(2): p. 329-34.
42. Akl, E.A., ve ark., *Anticoagulation for the initial treatment of venous thromboembolism in patients with cancer*. Cochrane Database Syst Rev, 2008(1): p. CD006649.
43. Gasowska, K., ve ark., *The influence of unfractionated and low-molecular weight heparins on the properties of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC)*. Folia Histochem Cytobiol, 2009. **47**(1): p. 17-23.
44. Vignoli, A., ve ark., *LMWH bemiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells*. Cancer Invest, 2011. **29**(2): p. 153-61.
45. Hirsh, J., ve ark., *Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety*. Chest, 2001. **119**(1 Suppl): p. 64S-94S.
46. Nieuwenhuis, H.K., ve ark., *Identification of risk factors for bleeding during treatment of acute venous thromboembolism with heparin or low molecular weight heparin*. Blood, 1991. **78**(9): p. 2337-43.
47. Şahin İ, A.S., Özaydın İ, Özaydın Ç , Çalışkan E, Yavuz MT, İskender A., *Tanısıl Amaçla Uygulanan Laparoskopi Sırasında Oluşan Bakteriye Translokasyona Probiyotik Bakterilerin Etkilerinin Araştırılması: Deneysel Bir Çalışma* Mikrobiyol Bul 2012. **46**(4): p. 660-670.
48. Forbes, B.A., D.F. Sahm, ve A.S. Weissfeld, *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. 11th ed. ed2002, St. Louis: Mosby.
49. Tendler, D.A., *Acute intestinal ischemia and infarction*. Semin Gastrointest Dis, 2003. **14**(2): p. 66-76.
50. Yasuhara, H., *Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology*. Surg Today, 2005. **35**(3): p. 185-95.
51. Ozban, M., ve ark., *The effect of melatonin on bacterial translocation following ischemia/reperfusion injury in a rat model of superior mesenteric artery occlusion*. BMC Surg, 2015. **15**: p. 18.
52. Morehouse, J.L., ve ark., *Translocation of indigenous bacteria from the gastrointestinal tract of mice after oral ricinoleic acid treatment*. Gastroenterology, 1986. **91**(3): p. 673-82.

53. Berg, R.D., *Translocation of enteric bacteria in health and disease*. Curr Stud Hematol Blood Transfus, 1992(59): p. 44-65.
54. Alexander, J.W., ve ark., *The process of microbial translocation*. Ann Surg, 1990. **212**(4): p. 496-510; discussion 511-2.
55. Demirtas, S., ve ark., *Investigation of possible prophylactic, renoprotective, and cardioprotective effects of thromboprophylactic drugs against ischemia-reperfusion injury*. Kaohsiung J Med Sci, 2015. **31**(3): p. 115-22.
56. Zupan, Z., ve ark., *Effects of enoxaparin in the rat hippocampus following traumatic brain injury*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2011. **35**(8): p. 1846-56.
57. Okutan H, E.I.E., Karahan N, Aydın A, Tunç B, Çandı Ö, Kutsal, A. , *Farklı düşük molekül ağırlıklı heparinlerin (deltaparin, nadroparine, enoxaparin) ve standart heparinin sıçan venöz tromboz modelinde karşılaştırılması*. Turkish J Vasc Surg 2004. **13**(2): p. 17-22.
58. Wang, L., ve ark., *Heparin's anti-inflammatory effects require glucosamine 6-O-sulfation and are mediated by blockade of L- and P-selectins*. J Clin Invest, 2002. **110**(1): p. 127-36.
59. Harada, N., ve ark., *Danaparoid sodium reduces ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats by attenuating inflammatory responses*. Thromb Haemost, 2007. **97**(1): p. 81-7.
60. Hagiwara, S., ve ark., *Danaparoid sodium inhibits systemic inflammation and prevents endotoxin-induced acute lung injury in rats*. Crit Care, 2008. **12**(2): p. R43.
61. Idrovo, J.P., ve ark., *AICAR attenuates organ injury and inflammatory response after intestinal ischemia and reperfusion*. Mol Med, 2015. **20**: p. 676-83.
62. Zhang, Z.G., ve ark., *Neuroprotective effects of ultra-low-molecular-weight heparin on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats: involvement of apoptosis, inflammatory reaction and energy metabolism*. Int J Mol Sci, 2013. **14**(1): p. 1932-9.
63. Petrat, F., ve ark., *Quantification of ischemia-reperfusion injury to the small intestine using a macroscopic score*. J Invest Surg, 2010. **23**(4): p. 208-17.
64. Balogh, Z., ve ark., *Dalteparin sodium treatment during resuscitation inhibits hemorrhagic shock-induced leukocyte rolling and adhesion in the mesenteric microcirculation*. J Trauma, 2002. **52**(6): p. 1062-9; discussion 1070.
65. Huwer, H., ve ark., *Clinically diagnosed nonocclusive mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass: retrospective study*. Vascular, 2004. **12**(2): p. 114-20.
66. Kazmers, A., ve ark., *Pharmacologic interventions in acute mesenteric ischemia: improved survival with intravenous glucagon, methylprednisolone, and prostacyclin*. J Vasc Surg, 1984. **1**(3): p. 472-81.
67. Lanzafame, R.J., ve ark., *The effect of heparin on intestinal survival in experimental small intestinal ischemia*. Curr Surg, 1983. **40**(6): p. 438-40.

68. Van Moerkercke, W., ve ark., *Cytomegalovirus-associated superior mesenteric vein thrombosis treated with systemic and in-situ thrombolysis*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2009. **21**(5): p. 587-92.
69. Walensi, M., ve ark., *Mesenteric ischemia-reperfusion injury: clearly improved hemodynamics but only minor protection of the rat small intestine by (sub)therapeutic heparin sodium and enoxaparin doses*. J Surg Res, 2013. **179**(1): p. e57-69.

