

**T.C.**

**FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**AMRİNON VE SİLDENAFİL SİTRATIN  
AKUT MEZENTERİK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA  
BAKTERİYEL TRANSLOKASYONA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.Özkan GÖĞEBAKAN**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof.Dr.Yavuz Selim İLHAN**

**ELAZIĞ 2006**

**DEKANLIK ONAYI**

**Prof. Dr. ÖZGE ARDIÇOĞLU** .....

**DEKAN**

**Bu tez Uzmanlık Tez standartlarına uygun bulunmuştur.**

**Prof. Dr. YAVUZ SELİM İLHAN** .....

**GENEL CERRAHİ ANA BİLİM DALI BAŞKANI**

**Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Prof.Dr.Yavuz Selim İLHAN** .....

**DANIŞMAN**

**UZMANLIK JÜRİ ÜYELERİ**

**Dr.** .....

**Dr.** .....

**Dr.** .....

**Dr.** .....

**Dr** .....

## TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince yetiŐmemde büyük emekleri olan, sayın hocalarım Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Yavuz Selim İLHAN, Prof.Dr.Osman DOĞRU, Doç.Dr.Ziya ÇETİNKAYA, Yrd.Doç.Dr.Nurullah BÜLBÜLLER, Yrd.Doç.Dr.Cemalettin CAMCI, Yrd.Doç.Dr.Erhan AYGEN, Yrd.Doç.Dr.Refik AYTEN'e, tez çalışmaları sırasında her konuda benden anlayış ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof.Dr.Yavuz Selim İLHAN'a tezin deney aşamasında ve sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde her türlü desteği esirgemeyen Uzm.Dr.Cüneyt KIRKIL'a ve patolojik incelemede yardımcı olan Doç.Dr.İbrahim ÖZERCAN'a Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Prof.Dr.Necip İLHAN ve Uzm.Dr.Dilara SEÇKİN'e, anlayış ve sabırlarından dolayı eşim ve çocuklarıma, destek ve dostluklarını unutmayacağım hem.Figen YÜCEL'e, klinik çalışanlarına ve asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ve saygılarımla.

Dr.Özkan GÖĞEBAKAN

# İÇİNDEKİLER

I.ÖZET .....	IX
II.ABSTRACT .....	X
III.GİRİŞ .....	1
3.1 Genel Bilgiler .....	2
3.1.a Barsak Bariyeri.....	2-5
3.2.. İskemi Reperfüzyon .....	5-6
3.2.1. İskeminin selüler etkileri .....	6-8
3.2.1.a. Reaktif ok sijen radikallerin rolü.....	8-9
3.2.1.b. Komplemanın rolü.....	9
3.2.1.c. Lökositin rolü .....	12
3.2.2. İskemi-reperfüzyon hasarının kliniği .....	13
3.2.2.a Vasküler hasar ve akımın geri dödürülememesi sendromu.....	13
3.2.2.b. Myokardiyal etkilenme.....	13
3.2.2.c. Gastrointestinal sistemde iskemik-reperfüzyon hasarı.....	13
3.2.2.d.. Multisistem organ yetmezliği.....	14
3.2.3. İskemik reperfüzyon hasarını önlemedeki terapötik stratejiler .....	15
3.2.3.a İskemik precondition .....	15
3.2.3.b Antioksidan tedavi.....	15
3.2.3.c. Antikompleman tedavi .....	15-16
3.2.3.d Antilökosit tedavi .....	16-17
3.3 Bakteriyel translokasyon .....	17
3.4. Polimeraz Zincir reaksiyonu .....	18
3.5. Glutasyon peroksidaz.....	18
3.6. Nitrik oksit.....	19
3.7 Myeloperoksidaz .....	19

3.8	Malondialdehit.....	19	
3.9	Amrinon.....	20-23	
3.10	Sildenafil .....	23-25	
<b>IV. GEREÇ VE YÖNTEM</b>			
4.1.	Deneysel grupların oluşturulması.....	26	
4.2	Cerrahi işlem .....	26	
4.3	Örnekleme .....	28	
4.4	Örneklerin değerlendirilmesi.....	28	
4.4.1.	Biyokimyasal analiz .....	28	
4.4.2	Histopatolojik değerlendirme .....	28	
4.4.3	Mikrobiyolojik değerlendirme .....	29	
4.4.3.a	Polimeraz zincir reaksiyonu .....	29-30	
4.4.3.b	Elektroforez ile görüntüleme.....	30	
4.4.4.	İstatistiksel analiz .....	30	
<b>V-BULGULAR</b>			
5.1	Biyokimyasal inceleme bulguları.....	31-34	
5.2.	Histopatolojik inceleme bulguları .....	34-37	
5.3.	Mikrobiyolojik inceleme bulguları.....	37-40	
5.3.a	Doku kültür sonuçları.....	37-38	
5.3.b.	PCR sonuçları.....	38	
<b>VI. TARTIŞMA .....</b>			<b>41-47</b>
<b>VII. KAYNAKLAR.....</b>			<b>48-60</b>
<b>VIII. ÖZGEÇMİŞ.....</b>			<b>61</b>

## **TABLÖLAR**

Tablo 1:.....	31
Tablo 2:.....	34
Tablo 3:.....	38
Tablo 4:.....	38

## ŞEKİL VE RESİMLER

Şekil 1:.....	10
Şekil 2:.....	11
Şekil 3: .....	12
Şekil 4:.....	25
Şekil 5:.....	32
Şekil 6:.....	33
Şekil 7:.....	33
Şekil 8:.....	34
Şekil 9:.....	35
Şekil 10:.....	39
Şekil 11:.....	39
Resim 1:.....	27
Resim 2:.....	27
Resim 3:.....	36
Resim 4:.....	36
Resim 5:.....	37
Resim 6:.....	40

## KISALTMALAR

NO:	Nitrik oksit
SOR:	Serbest oksijen radikalleri
GSH-Px:	Glutasyon peroksidaz
MPO:	Myeloperoksidaz
MAD:	Malondialdehit
İ/R:	İskemi –reperfüzyon
MLN:	Mezenterik lenf nodu
cAMP:	siklik adenozin monofosfat
cGMP:	Siklik Guanizin monofosfat
H&E:	Hemotoksilen Eozin
GİS:	Gastrointestinal sistem
Mg:	Miligram
ml:	mililitre
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Hidrojen peroksid.
OH <sup>-</sup> :	Hidroksil
E.Coli:	Esherichia Coli
ATP:	Adenozin tri-fosfat
EMB:	Eosin –Metilen-Blue Agar
NAD <sup>+</sup> :	Okside nikotinamid adenin dinükleotid.
NADH:	Redükte nikotinamid adenin dinükleotid.
SMA:	Süperior Mezenterik Arter.
Gr:	Gram
PDE:	Fosfodiesteraz
RES:	Retikülo Endotelyal Sistem
TPN:	Total parenteral beslenme
MO:	Mikroorganizma
DMSO:	Dimetil Sülfiksit
MODS:	Multipil orđan disfonksiyonu
SIRS:	Sistemik inflamtuvar cevap sendromu.
PAF:	Platelet aktive edici faktör.
CNS:	Santral sinir sistemi



TNF:	Tümör Nekroz Faktör
LT:	Lökotrien
BT:	Bakteriyal Translokasyon
PCR:	Polimeraz Zincir reaksiyonu
RIA:	Radyoaktif İyod
ONOO <sup>-</sup> :	Peroksinitrit
ICG:	İndosiyenin yeşili
SOD:	Süperoksit Dismutaz
GALT:	Barsaktaki lenfoid doku
sIgA:	Salgısal Ig A
PMNL:	Polimorfo Nüveli Lökosit
Na:	Sodyum
Ca:	Kalsiyum
HOCL:	Hipoklorik Asit
TxA <sub>2</sub> :	Tromboksan A <sub>2</sub>
PG:	Prostaglandin
O <sup>-</sup> :	Süperoksit
LT:	Lökotrien
NFkB:	Nükleer Faktör kB
MCP-1:	Lökosit-monosit kemoatraktan protein-1
TNF-α:	Tümör nekroz faktör-α
IL:	İnterlökin
VCAM:	Vasküler hücre adhezyon molekülü
ICAM-I:	İntrasellüler adhezyon molekülü.
PSGL-1:	P-Selektin glikoprotein-1
PECAM:	Platelet endotelial hücre adhezyon molekülü.
PAF:	Platelet aktive edici faktör.
ARDS:	Akut respiratuvar yetmezlik
DIC:	Dissemine intravasküler koagülasyon
sCR-1:	Soluble reseptör -1 kompleksi
ONOO:	Peroksinitrit

## I-ÖZET

İskemi Reperfüzyon hasarında iki mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan birisi doku hipoksisi, diğeri ise ortama salınan serbest oksijen radikalleridir (SOR). Deneysel iskemi-reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri ve bakteriyel translokasyonun arttığı tesbit edilmiştir. Çalışmamızda Akut mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan bakteriyel translokasyona, hücre hasarına ve serbest oksijen radikallerine amrinon ve sildenafil sitratın etkisini araştırdık.

Çalışmamızda ortalama ağırlığı 250-300 gram olan 50 adet Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Denekler 5 gruba ayrıldı. Grup 1'e herhangi bir işlem uygulanmadı. Grup 2'ye (kontrol grubu) 1cc Serum fizyolojik intraperitoneal verilip laparotomi yapılarak akut mezenterik iskemi oluşturuldu. Grup3'e iskemi öncesi intraperitoneal olarak 50 mcg/kg Amrinon verildi. Grup 4'e iskemi öncesi intraperitoneal olarak 0.05 mg/kg sildenafil sitrat verildi. Grup 5'e ise iskemi öncesi intraperitoneal olarak 50 mcg/kg Amrinon ve 0.05 mg/kg Sildenafil Sitrat verildi. Kanda serbest oksijen radikalleri; nitrik oksit (NO), malondialdehit (MDA), myeloperoksidaz (MPO) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri araştırıldı. Karaciger, dalak ve mezenterik lenf nodundan (MLN) örnekler alınıp klasik doku kültüründe üreme olup olmadığına bakıldı. Kanda polimerase chain reaksiyonu (PCR) yöntemi ile bakteri translokasyonu araştırıldı. Terminal ileumdan alınan örnekler histopatolojik olarak değerlendirildi. Tedavi verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında amrinon verilen grupta biyokimyasal parametrelerden MDA azalması ve GSH-Px artmasında istatistiksel anlamlılık mevcut iken ( $p<0.05$ ), MPO azalmasında ve NO artmasında istatistiksel anlamlılık mevcut değildi ( $p>0.05$ ). Mikrobiyolojik parametrelerde istatistiksel anlamlılık mevcut iken ( $p<0.05$ ). Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlılık mevcut değildi ( $p>0.05$ ). Sildenafil verilen gruplarda biyokimyasal, histopatolojik ve mikrobiyolojik sonuçlar kontrol grubuna göre daha iyi idi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ).

Sonuç olarak amrinon ve sildenafil sitratın akut mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarında hücresel hasarı, SOR ve bakteriyel translokasyonu azaltmada etkili olduğu tesbit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Akut mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarı, bakteriyel translokasyon, serbest oksijen radikalleri, sildenafil sitrat, amrinon.

## II-ABSTRACT

### THE EFFECT OF AMRINONE AND SILDENAFIL CITRATE TO BACTERIAL TRANSLOCATION IN ACUTE MESENTERIC ISCHAEMIA-REPERFUSION INJURY.

Two mechanisms are responsible in ischaemia –reperfusion injury. One of them is cell hypoxia and the other is reactive oxygen species (ROS). In experimental ischaemia-reperfusion injury. Increase of ROS and bacterial translocation were established. In our study we examined the effect of amrinone and sildenafil citrate to acute mesenteric ischaemia-reperfusion injury and bacterial translocation.

We used 50 wistar Albino rats, which were have average 250-300 gram weight. They were divided into 5 groups. Nothing done to group 1. In group 2 (control group) 1cc saline solution was given intraperitoneally, laparotomy was done and acute mesenteric ischemia was performed. 50 mcg/kg amrinone was given intraperitoneally to group 3 before the ischaemia. 0,05 mg/kg sildenafil citrate was given intraperitoneally to group 4 before the ischaemia. 0,05 mg/kg sildenafil citrate and 50 mcg/kg amrinone were given intraperitoneally to group 5 before the ischaemia. The activities of malondialdehyde (MDA), Myeloperoxidase (MPO), Glutathione peroxide (GSH-Px) and levels of ROS and Nitric Oxide (NO) in blood were examined. The samples were taken from liver, spleen and mesenteric lymph node and examined that the reproduction on classical tissue culture has occurred or not. Bacterial translocation was observed with PCR method. Samples taken from terminal ileum were evaluated histopathologically. We compared the groups and MDA decrease and GSH-Px increase in the amrinone group were statistically significant ( $p < 0,05$ ). The MPO decrease and NO increase were not statistically significant ( $p > 0,05$ ). Microbiologic parameters were statistically significant ( $p < 0,05$ ). But histopathologic parameters weren't statistically significant ( $p > 0,05$ ). The biochemical, histopathological and microbiological results were better than the control group and statistically significant in the groups which were given sildenafil citrate ( $p < 0,05$ ).

As a result amrinone and sildenafil citrate were effective on decreasing cell injury, ROS and bacterial translocation in acute mesenteric ischaemia-reperfusion injury.

**Key word:** Acute mesenteric ischaemia-reperfusion injury, bacterial translocation, ROS, amrinone, sildenafil citrate.

### III-GİRİŞ

Barsak iskemisi; tanı ve tedavisindeki güçlükler nedeniyle önemli bir sorundur. Çeşitli nedenlerle oluşan barsak iskemisi, mukozal bariyerinin bozulmasına ve mukozal geçirgenliğin artmasına yol açmaktadır (1-4). İskemi reperfüzyon hasarının patogenizinden hücre hipoksisi ve serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. İskemi sırasında dokunun yeterince kanlanamaması, hücre dışı mesafedeki nötrofillerin çoğalmasına ve bu nötrofillerden salınan myeloperoksidaz enzimi de kapiller por aralığında genişlemeye neden olmaktadır. Ayrıca hipoksi sonucunda ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaz'a dönüşmekte ve bu enzim reperfüzyon sırasında, serbest oksijen radikallerinin (SOR) sentezinde rol oynamaktadır. SOR ise hidroksil radikalleri ile lipid peroksidasyonunu başlatmakta ve hücre membranının lipid yapısını bozarak doku hasarına yol açmaktadır (2-9).

Cerrahi kliniklerde sık rastlanılan intestinal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde bir çok deneysel çalışma yapılmıştır. Aynı şekilde iskemi patolojisinde rol oynayan hipoksi ve serbest oksijen radikallerinin, hücre hasarı üzerindeki etkisini azaltmak için çeşitli madde ve ilaçlar kullanılmıştır (10).

Bizimde çalışmamızda, kullanacağımız amrinon, antiaritmik bir ilaç olup pozitif inotropik ve vazodilatatör özelliği olan non-katekolmin, non-glikozid bir maddedir. Selektif fosfodiesteraz tip-III inhibitörüdür. Vasküler düz kas ve myokardiyumda cAMP'yi artırır, cAMP artınca sarkoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  salınımı artar ve kalp kasında kasılmayı artırırken tersine vasküler düz kasta cAMP artımı intrasellüler  $Ca^{+2}$  azaltır sonuçta relaksasyon ve vazodilatasyon oluşur (11).

Eretil disfonksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılan sildenafil sitrat ise cGMP'nin inaktif formuna dönüşmesini sağlayan Fosfodiesteraz-Tip V enzimini ihibe ederek cGMP artmasını sağlar. cGMP vasküler düz kas hücrelerinde vazodilatasyona neden olurken aynı zamanda platelet agregasyonunu inhibe eder (12).

Akut Mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarının giderilmesinde, sildenafil sitrat ve amrinon kullanımının yararlı olup olmadığını araştırmak istedik.

### **3.1.GENEL BİLGİLER:**

Splanknik organların kanlanması çölyak, süperior ve inferior mezenterik arterler sağlar. Bunlar geniş alanda anastomozlaşan daha küçük arterler şeklinde dallanır. Splanknik dolaşımı etkileyen sayısız intrensek ve ekstrensek faktörler mevcuttur.

Ekstrensek faktörler; kardiyovasküler sistemin genel hemodinamik şartları, otonomik sinir sistemi ve nörohumoral ajanlardır. İntrensek faktörler; damarlanma özellikleri, lokal metabolitler, intrensek sinirler, parakrin kaynaklı lokal hormonlardır (8,13-16).

Mezenterik dolaşımında oluşan herhangi bir değişiklikte intrensek ve ekstrensek faktörler, damar düz kasını birlikte etkileyerek vasküler bazal tonüsü sağlarlar (13,17).

Barsak iskemisi en sık süperior mezenterik arter (SMA) tıkanıklığı sonucu meydana gelmektedir (17). Yapılan çalışmalarda, okluziv iskemide sadece damarın beslediği sınırlı bölgede barsak hasarı oluşurken, non-okluziv iskemide ise yaygın yama tarzı barsak hasarı olduğu tesbit edilmiştir. Mezenterik dolaşım bozukluğu yapan bir çok klinik durum barsak iskemisine neden olur. Bunlar arasında trombus ve emboli gibi doğrudan damar içini tıkayan patolojiler, inkarsere inguinal herni, invaginasyon, nekrotizan enterokolit, tümör, fibrotik bant gibi dışarıdan bası yapan cerrahi hastalıklar, şok, hemokonsantrasyon, hipovolemi ve atrial fibrilasyon gibi perfüzyon bozukluğuna yol açan nonokluziv durumlar sayılabilir (8,17-20).

#### **3.1.a. Barsak Bariyeri:**

Normal şartlarda Gastrointestinal bölge yaklaşık  $10^9$ 'u patojenik potansiyeli olan Gr(-) enterik bakteri olmak üzere toplam  $10^{12}$  bakteri içerir. Gastrointestinal bölgedeki bakteriler konağı birkaç kez öldürecek kadar endotoksin içerir. Barsağın fizyolojik fonksiyonu bakteri ve endotoksini lümende tutmak, aynı zamanda gıdaları emmektir.

Barsak bariyer komponentleri;

- 1-Normal mikrobik flora
- 2-Mekanik faktörler
- 3-Sağlam immün yanıt
- 4-Barsak karaciğer aksıdır (21).

Bu komponentlerden herhangi birinin değişmesi barsak permeabilitesinin artmasına neden olurken, bakteri ve endotoksinlerin translokasyonuna sebep olur.

Defansif barsak bariyerinin ilk komponenti mikrofloradır. İntestinal epitelyal hücreler arasındaki boşlukta bulunan enterosite genelde gr(-) patojenik enterik basiller tutunur. Barsak bariyerinin anaerobik bakterilerin çoğalmasını sınırlayıcı rolü ve potansiyel patojenleri tutma özelliği, kolonizasyon direnci olarak adlandırılır (22).

Mikrobik flora değişimi geniş spekturumlu antibiyotiklerle olur, antibiyotikler anaerobları yok ederek koruma mekanizması kaybına yol açar, bununla beraber epitelde potansiyel patojenlerin tutunması, anormal bakteriyel translokasyon artışına neden olur.

Gastrointestinal traktın diğer önemli defans mekanizması: normal mukozal bariyer ve bunun primer komponenti olan musindir. Musin goblet hücrelerinden salınan yüksek moleküler ağırlıklı bir glikoproteindir. Mukus bariyeri birkaç koruyucu kısım içerir. Bunlardan submukozal plazma hücrelerinden salgılanan IgA mukozal bariyere anaeroplara tutunma ve büyümesinde optimal düzeyde etkilidirler. İntestinal kolonizasyonu potansiyel patojenlerden koruma mekanizmalarından biride budur (23).

Mukozal bariyerin bozukluğu bakteriyel çoğalmaya neden olurken bu çoğalma potansiyel patojenik bakterilerin epitelyal hücre bariyerinden geçisi ile sonuçlanır. Tam gelişmemiş peristaltizm ve küçük obstrüksiyonlar gibi nedenler insan ve hayvanlarda bakteriyel translokasyona sebep olur (24).

İnce barsağın hücresel bariyerini; basit kolumnar epitelyal hücreler (enterositler), özelleşmiş goblet hücreleri, lenfositler ve M hücreleri oluşturur. Bir kripta ise genç enterositler, stem hücreleri ve paneth hücrelerinden oluşur. Bir enterosit intestinal kriptadaki stem hücrelerinden meydana gelir ve villöz şekle dönüşür. Bu enterositler Apoptotik ölüm yada etrafındaki diğer hücreler tarafından fagositozla ortadan kaldırılır. Farelerde bir kripta için bölünme 5 dakikada bir gelişir ve enterosit yaşam süresi 4-5 gündür. Enterositler primer glutamini besinsel yakıt olarak alır ve epidermal büyüme faktörü ve Transforming büyüme faktörü- $\beta$ 'yı da proliferasyon için kullanır (25). Barsak bariyeri bir birlerine desmozomlar ve tight junctionla bağlıdır. Barsak bariyeri küçük moleküllerin geçişine müsade ederken normal olarak büyük molekül ve bakterilerin geçişine müsade etmez .

İskemi-reperfüzyon hasarında gastrointestinal sistemdeki hücresel bariyer önemli bir fonksiyon içerir.

Normalde gastrointestinal sistem kardiyak outputun %20'sini alır ve intrensik, ekstrensik vazoaktif maddeler ve sinir sistemi tarafından kontrol edilir (26). Hipovolemik ve kardiyojenik şok esnasında kan vital organlara (kalp ve beyin ) splanknik dolaşımdan yönlendirme yapılır. Bu olay splanknik perfüzyon azalmasıyla ilişkili olarak O<sub>2</sub> dağıtımının ve intestinal mukozanın düzensizleşmesine neden olur. İntestinal mukozada PO<sub>2</sub> azalması histolojik olarak mukozal iskemi ile sonuçlanır. İskemide oluşan histolojik değişiklikler ilk olarak villus yapılarında meydana gelir ve transmural nekroza kadar ilerleyebilir, iskeminin süresi ve hipotansif epizodun sıklığı transmural nekroz için belirleyicidir (27,28). Mukozal bariyerin yıkılması, intestinal permeabilite artışına neden olurken bakteri ve endotoksin translokasyonuna da yol açar. Farklı çalışmalar iskeminin reperfüzyon azalması ile arttığı ve süperoksit radikallerinin birikimine yol açan ksantin oksidaz enziminin bu durumda rol oynadığını gösterir (8,29,30). Ksantin oksidazla oluşan serbest radikaller mukozal hasarı: süperoksit bağımlı olarak yada demir katalize edilmiş hidroksil radikalleri ile meydana getirirler. Sonuçta lipid peroksidasyonu ve hücre membran hasarı gelişir. İskemi-Reperfüzyon hasarı ve bakteriyel translokasyon; hemorajik şok, yanık hasarı, septik olaylar, endotoksin gibi nedenlere bağlıdır (21).

İmmün sistem yada barsaktaki lenfoid doku (GALT): intraepitelyal ve lamina propriadaki lenfositler, lenfoid folekülleri, peyer plakları ve mezenterik lenf nodlarından oluşur, bunlar bakteriyel adhezyon ve translokasyonda önemli rol oynar. Örneğin sekreatuar IgA plazma hücrelerinden sentezlenir, bakteri hücre duvarındaki antijenik determinantlara karşı villusun lamina propriasında meydana gelir ve enterositte bakteriyel adhezyonu engeller. Deneysel çalışmalar barsak bariyer fonksiyonlarında sIgA'nın önemli bir role sahip olduğunu ve azalmış intestinal sIgA'nın artmış bakteriyel adhezyonla ilişkili olduğunu göstermiştir (21).

Barsak bariyerinin son defans mekanizması Karaciğer-barsak aksıdır. Bu sistem endotoksin translokasyonuna karşı primer defans gibi görünmektedir (31). Karaciğer-barsak aksı safra tuzlarıyla deterjan benzeri komplekslerle hafifce emilen endotoksinlerin translokasyonunu sınırlamada rol oynar. Bu süreç %100 etkili değildir. Ancak bazı çalışmalarda portal kandaki küçük miktarlardaki endotoksinin normal bir komponent olduğu gösterilmiştir (32).

Bu küçük miktarlardaki endotoksinin portal sirkülasyona girerek antijenik örneklemede karaciğer, RES’de rol oynadığına inanılmaktadır. Portal endotoksinin yüksek miktarları hasarlanmanın tipine göre artabilir. Bununla beraber hepatik disfonksiyonun arttığı siroz ve karaciğer yetmezliğinde barsaktan gelen endotoksinin temizlenmesi azalır, sistemik endotoksin seviyesi artar ve sepsis için potansiyel bir indüktatör olarak rol oynar (33).

İleus, hastalarda sıklıkla intestinal hareket azalması, patojen mikroorganizma artışına neden olurken, bakteriyal translokasyona predispozisyon oluşturur. Hiperosmolar enteral beslenme ve TPN barsak normal florasına hasar vererek, bağırsağın normal mekanik defansını azaltır. Hipotansiyon periyotları ve vazoaktif ilaçların alınması splanknik perfüzyonun azalmasına bağlı olarak mukozal iskemiye ve epitelyal bariyerde fiziksel hasara neden olur (33).

### **3.2.İSKEMİ VE REPERFÜZYON:**

İntestinal kan akımın azaldığı, belirli bir süre kesildiği ve sonrasında yeniden normal akımın sağlandığı durumda, iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı meydana gelmektedir (34, 35). İskemi-reperfüzyon hasarında iki mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan birisi doku hipoksisi, diğeri ise ortama salınan serbest oksijen radikalleridir (4).

Bir organ veya sistemin iskemisi tıkanan arterlerdeki kan akımın büyüklüğüne ve tıkanma süresine bağlı olarak değişik derecelerde doku yıkımı ile sonuçlanır. İskemiyle oluşan hasar aynı zamanda doku özelliklerinede bağlıdır, Çünkü bazı organlar iskemiye diğerlerinden daha fazla dayanabilir (36). İskemi sırasında hücre, iyon gradiyentini ve hemostazı devam ettirmek için gerekli enerjiden yoksun kalabilir. Dokunun yaşaması için iskemiye müteakip reperfüzyon zorunludur, ancak reperfüzyon hasarının tek başına iskeminin neden olduğu doku hasarından daha fazla hasar yaptığı gösterilmiştir (37,38). Bu hasar yalnızca lokal olmayıp bazen multi organ yetmezliğine kadar giden sistemik sonuçlara yol açabilir (39).

Parks ve Granger 4 saatlik bağırsak iskemi-reperfüzyon hasarındaki çalışmasında, 3 saatlik iskeminin, takip eden 1 saatlik reperfüzyondan daha az hasara neden olduğunu göstermişlerdir (4). İskemi reperfüzyon hasarında vasküler endotel temel rol oynar. İskemi-reperfüzyon hasarında reaktif oksijen ürünleri ile antioksidan defans sistemi arasındaki dengesizlik oksidatif strese neden olur (40). Bağırsaktaki iskemi-reperfüzyon hasarının ardından oluşan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin



patogenezinden reaktif oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. Sonuç olarak barsak bariyerinin değişimi bakteriyal translokasyona ve endojen olarak intestinal lümende sınırlı olan mikroorganizmaların barsak dışı yerlere geçişine neden olur (41).

Son yıllarda vitamin E, vitamin C, selenyum , mannitol, allopurinol gibi bazı antioksidan bileşiklerin iskemik-reperfüzyon hasarını azalttığı tesbit edilmiştir (41).

İntestinal hipoksi ve iskemiye takip eden reperfüzyon bağırsak mukozasında dekstüriksiyona neden olurken ayrıca ROS salınımına ve sonuçta diğer faktörlerle bir araya gelerek mukoza hasarına neden olur. İnflamasyon ve doku rejenarasyonu; reperfüzyonu izleyen ve lökositlerin oluőturdugu immün hücrelerle oluşur. Özellikle PMNL'ki ROS ürünlerine katkıda bulunur. PMNL aktive olduğunda doku hasarını artırır, bu süreç reperfüzyondan sonraki organ ve vasküler fonksiyonların tesbitinde önemli role sahiptir (42).

### **3.2.1.İskeminin Hücresel etkileri:**

İskemi esnasında hücresel enerji depolarının tükenmesi, iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini tetiklemektedir. İskemik dokunun reperfüzyonu ise bir taraftan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer taraftan oksijen kaynaklı serbest oksijen radikallerin oluőumunu hızlandırarak daha ileri hasarlara yol açmaktadır (43). İskemi sırasında oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalmakta, ATP sentezi durmasına karőtın, ATP kullanımı ve ATP hidrolizi sonucu oluşan ADP düzeyi artmaktadır (43, 44).

Hücre içi ATP düzeyindeki azalıő , pentoz fosfat metabolik yolunu etkileyerek NADPH+H<sup>+</sup> üretimini düşürmektedir. Pentoz fosfat yolunda üretilen NADPH+H<sup>+</sup>'ler hücrede yağ asidi , redükte glutatyon, kolesterol ve steroid hormon sentezi gibi bir çok biyosentetik yolda indirgeyici görev yapmaktadır (45). Pentoz fosfat yolundaki NADPH+H<sup>+</sup> üretimindeki azalıő, oksidatif stresi artırarak iskemik kaskadı genişletmektedir.

İskeminin ilk dakikalarında aőtırı stimüle olan glikolitik yol, ortamda sitrat, laktat, NADH birikimi ve doku asidozunun geliőtmesiyle inhibe olur. İskemik dokuda var olan oksijen ise oksidatif fosforilasyonu desteklemek içi yetersiz kalır, glikolizis sonucu oluşan piruvatın Krebs siklusuna değil de laktata dönüőü gerçekleőtir. Adenozin trifosfat (ATP)'ın anaerobik olarak üretimi doku ihtiyacını

karşılayamaz ve iskemi devam ettikçe ATP'nin doku düzeylerinin düşmesi hücre için zararlı olayları başlatır. Sonuçta hücre içine  $\text{Na}^+$  girişi olur ve reperfüzyon esnasında  $\text{Ca}^{+2}$  ile yer değiştirir. Hücre içine kalsiyum girişiyle kalsiyumdaki net artış hücrenin iyonik dengesini bozar. Bundan sonra kalsiyum mitokondri içine sızmaya başlar. Mitokondrinin kalsiyumla yüklenmesi ATP üretimi için olmayıp, kalsiyumun varlığıyla proteazlar ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipazların aktivasyonu, serbest yağ asidi ve lizofosfolipidlerin salınımına bağlı olarak hücre membranında toksik etkiler oluşturup beraberinde araşidonik asit metabolizmasını başlatarak, reperfüzyon esnasında sitotoksik ürünler ve radikal türevleri üretir. Proteazların aktivasyonu, hücre iskeletinin parçalanmasına neden olur. Enzim sisteminde değişimler meydana gelirken yine reperfüzyon esnasında SOR oluşumu gerçekleşir ve hatta artar. Böylece iskemi esnasında oluşan birçok olay reperfüzyon esnasında oluşacak olan hasarlara zemin hazırlar. McCord (46) tarafından yapılan birçok çalışmada, iskemi sırasında oluşan hasarların reperfüzyon hasarları için başlangıç teşkil ettiği ileri sürülmüştür.

DeneySEL çalışmalar, reperfüzyonun akut faz esnasından önceki iskemik doku üzerine ek bir hasar yüklediğini göstermiştir. Reperfüzyon hasarı olarak bilinen bu ardışık olaylar; intraselüler enzimlerin salınımını potansiyalize ederek,  $\text{Ca}^{+2}$ 'un hücre içine girişine, sarkolemmal fosfolipitlerin bozulmasına ve hücre membranlarının dağılmasına neden olur. Bütün bunlar tek başına veya kombine olarak sonunda hücre ölümüyle sonuçlanır. Bu değişiklikler, iskemi esnasında değil de, daha çok reperfüzyon esnasında meydana geldiğinden "reperfüzyon hasarı" olarak bilinir. Reperfüzyon hasarının bilinen en az üç bileşeni mevcut olup bunlar; mikrovasküler hasar, hücre nekrozu ve hemorajidir. İskemiye maruz kalan her organda reperfüzyon hasarı oluşup, iskemi esnasında biyokimyasal olayların oluşumuyla kendini gösterir ve sonuçta süperoksit anyonu, hipoklorik asit (HOCl) ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen metabolitleri yanında  $\text{Ca}^{+2}$  artar ve sarkolemmal fosfolipitlerin kaybı meydana gelir (46,47).

Karaciğerde SOR oluşturan birçok önemli potansiyel mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan birincisi ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz, iskemik dokuda serbest radikal oluşturan ve karaciğer dokusunda bol miktarda bulunan bir enzimdir. Nükleik asit yıkımında hız kısıtlayıcı bir enzim olan ksantin oksidaz, tüm pürinlerin terminal oksidasyonunu katalizler. İlk basamak ATP'nin yıkım ve tüketilme işlemi olup, bu da hipoksantin tarafından indirgenir.

Normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz enzimi tarafından okside edilir. Ksantin  $\text{NAD}^+$ 'i kullanarak  $\text{NAD}^+$ 'nin  $\text{NADH}$ 'a dönüşümünü sağlayarak oksidasyon işlemini gerçekleştirir (47).

İskemik dokuda  $\text{O}_2$ 'nin ana kaynağının ksantin oksidaz olduğu ileri sürülmekte ve hipoksantin ve ksantin oksidasyonu esnasında,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve süperoksit radikali oluşmaktadır. Bu görüşe göre, iskemik dokuda iskemi ve reperfüzyon sonrası oluşan vasküler permeabilite artmakta ve mukozal lezyonlar bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol kullanılarak inhibe edilmektedir (48).

İskemide polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve trombosit agregasyonu sonucunda ortama myeloperoksidaz enzimi ve lokal mediatörler salınır. Bu mediatörlerin etkisiyle kapiller por boyutu genişler. Bu durum, mukozal bariyer geçirgenliği artırarak, makromolekül ve sıvıların interstityel yataktan lümen içine girişine neden olur (49).

İskemide enerjiden zengin, Fosfat, ATP ve Fosfokreatinin gibi maddelerin resentezinde hasar oluşur ve sonuçta hücrel oksidatif fosforilasyon azalır. Membrandaki ATP bağımlı Na, Ca ve suyun hücre içine geçişini düzenleyen iyon pompasındaki değişimler ortaya çıkar. Bununla beraber iskeminin neticesinde Adenin dinükleotid katabolizması bozulur ve hücre içinde hipoksantin birikir buda hücre içine moleküler  $\text{O}_2$  girişiyle serbest  $\text{O}_2$  radikallerine dönüşür. Endotelial iskemik proinflamatuvar gen ekspresyon ürünlerini (Lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler), biyoaktif ajanları (Endotelial  $\text{TxA}_2$ ,  $\text{PGI}_2$ ) ve diğer koruyucu gen ürünleri (NO, Trombomodülin) gibi maddelerin üretilmesini tetikler. (16,50). İskemi-reperfüzyona maruz kalan dokuda proinflamatuvar durum artar.

### **3.2.1.a.Reaktif Oksijen Radikallerinin Rolü:**

İskemik dokuların reperfüzyonu; süperoksit ( $\text{O}^-$ ) anyonları, hidroksil radikalleri ( $\text{OH}^-$ ), hipoklorik asit ( $\text{HOCL}$ ), hidrojen peroksit, peroksitten oluşan NO gibi toksik reaktif oksijen radikallerin oluşması ile sonuçlanır. İskemiyle hücre içinde hipoksantin artar. Normalde hipoksantin, ksantin dehidrogenaz ile ksantine okside olur. Bununla beraber iskemi ile ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza değişir, ksantin dehidrogenaz substrat olarak  $\text{NAD}$ 'yi, ksantin oksidaz ise  $\text{O}_2$ 'ni substrat olarak kullanır.

İskemi hipoksantin ksantine katalizlenmesine engeller ve dokularda artmış hipoksantin seviyelerine neden olur. O<sub>2</sub>'nin reperfüzyonla yeniden hücre içine girişi artmış hipoksantin toksik ROS ürünlerine dönüşmesine neden olur.

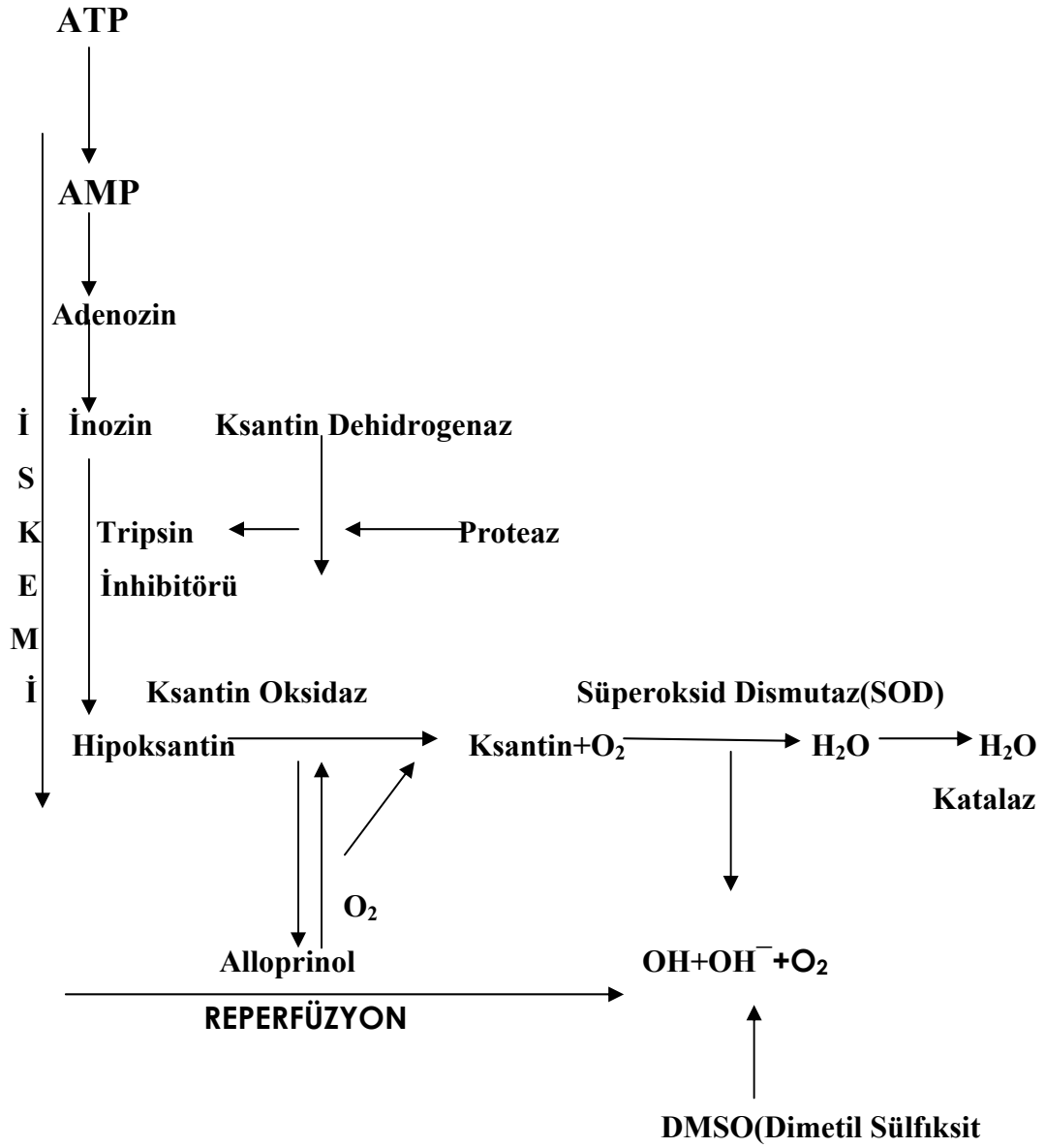
ROS hücre membranının lipit peroksidasyonu yolu ile direkt hasarına neden olan potent oksidasyon ve redüksiyon ajanıdır, ek olarak ROS lökosit aktivasyonu ve kemotaksisini, eikozanoid sentezi için önemli bir prekürsör olan araşidonik asiti , membran fosfolipaz A<sub>2</sub> aktivasyonu aracılığı ile stimüle eder (ör:TxA<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>).

ROS ayrıca NFκB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yolu ile lökosit adhezyon molekülü ve sitokin gen ekspresyonunu uyarır. Sonuç olarak ROS iskemik-reperfüzyon hasarından sonra lökosit aktivasyonunu, kemotaksisini ve lökositlerin endotele adhezyonunu artırır (51).

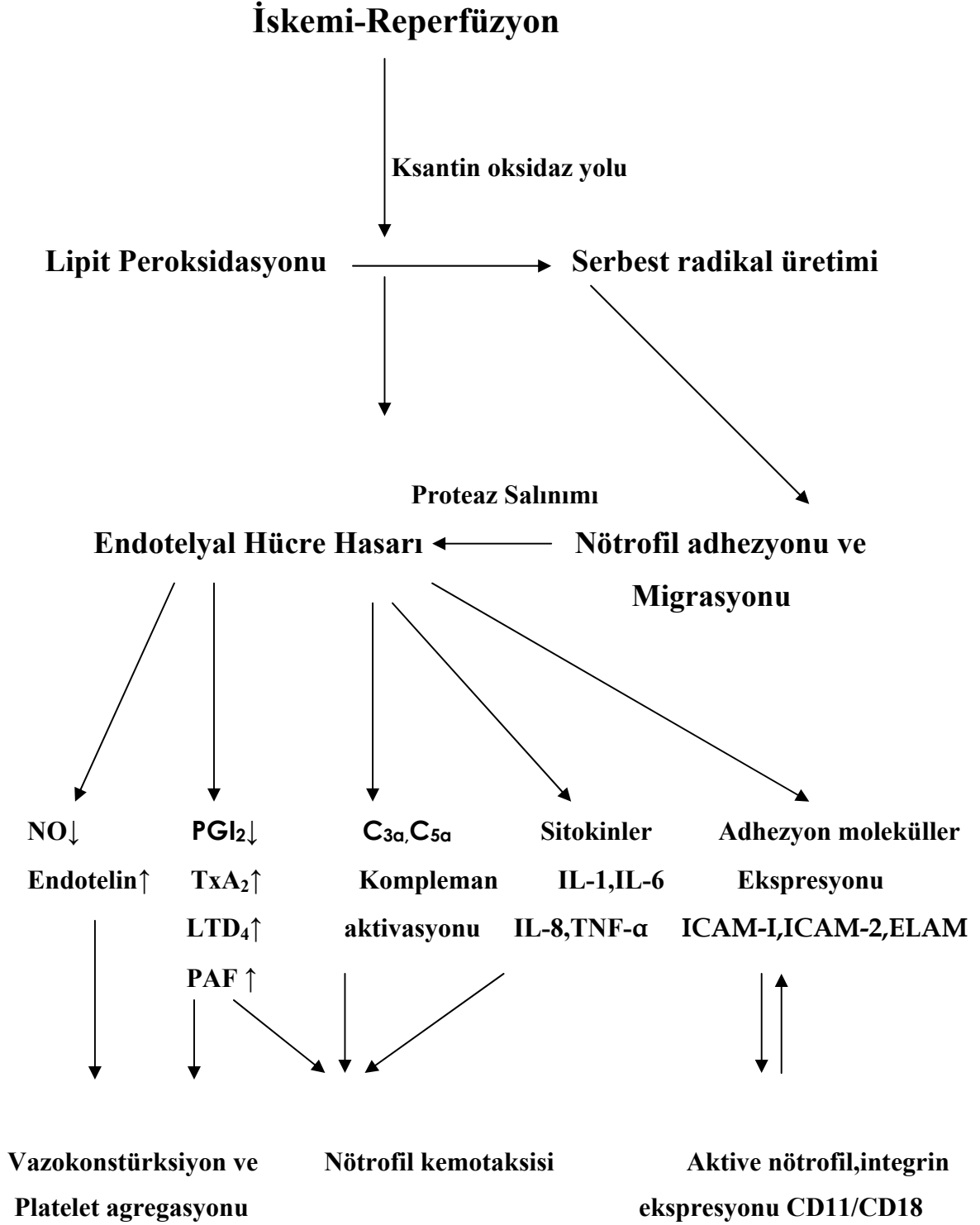
### **3.2.1.b. Komplemanın Rolü:**

İskemi-reperfüzyon hasarı başta vasküler hemostazı değiştirerek, kompleman aktivasyonu ve bazı proinflamatuvar mediatörlerin oluşmasına yol açar. Anafilotoksinler (C3a,C5a) ve membran atak kompleksleri (C5b-9) iskemik-reperfüzyon hasarında önemli role sahiptir. Proinflamatuvar mediatörlerden C5a, C3a'dan yaklaşık 20 kat daha potenttir. Ek olarak C5a, lökosit aktivasyonunun ve kemotaksisinin stimülasyonu yoluyla; lökosit-monosit-kemoatraktan protein-1(MCP-1), TNF-α, IL-1, IL-6 gibi inflamatuvar ürünlerin artışı sağlar (52).

iC3b, C3b'den oluşur. C5b-9 ve iC3b vasküler hemostazı değiştirebilir. Vasküler endotelial- β2 integrin, CD11-b ve CD18 (MAC-1) lökosit adhezyonu için spesifik bir ligandır. Ek olarak CD5b-9 kompleksi, lökosit adhezyon moleküllerinin transkripsiyonunu ve ekspresyonunu artıran endotelial hücrelerdeki NFκB'yi aktive eder.VCAM-1, ICAM-1, E-Selektin, P-Selektin gibi endotelial lökosit adhezyon molekülleri komplemandan etkilenir. C5b-9, lökosit aktivasyonu ve kemotaksisini endotelial IL-8 ve monosit kemoatraktan protein-1 salınımı yolu ile tetikler. Sonuç olarak C5b-9 endotelial relaksasyon ve endotelial cGMP yi azaltarak vasküler tonusta değişikliğe neden olur. Sonuçta kompleman aktivasyonu iskemik organlarda vasküler hemostazı değiştirip kan akımında değişikliklere ve lökositin endotele adhezyonun artmasına neden olabilir (52).



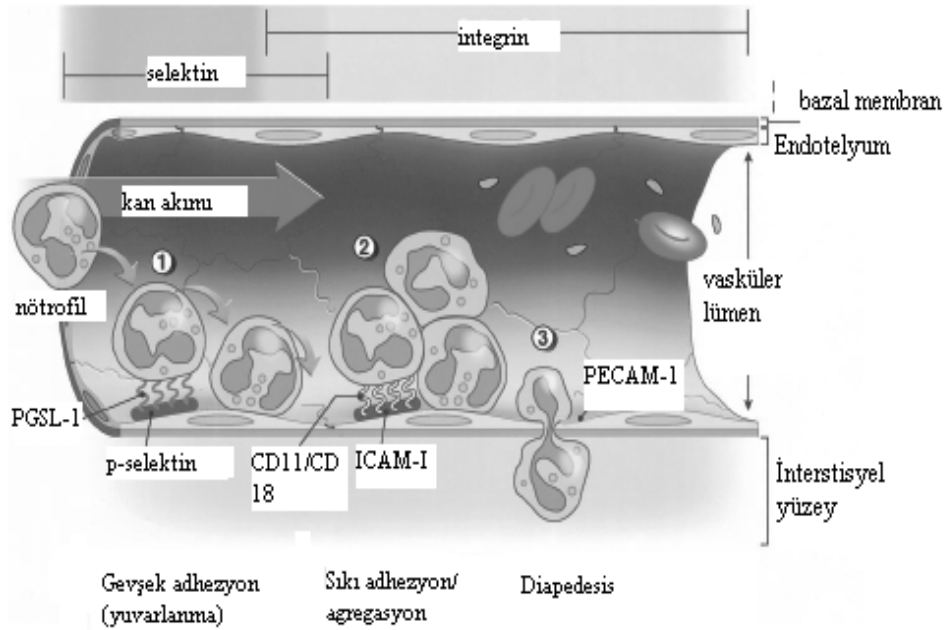
**Şekil 1:** İskemi-Reperfüzyon hasarında metabolik yolunun şematik resmi



Şekil 2: İskemi-Reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyonunu gösteren şema.

### 3.2.1.c. Lökositin Rolü:

İskemik reperfüzyon hasarı sonucunda; lökositlerin aktivasyonu ve kemotaksisi, lökositlerin endotelial hücrelere adhezyonu ve lökositin göçü meydana gelir (16,53). Lökosit sırayla endotelde yuvarlanır endotele tutunur ve dokulara göç eder. İlk adımda, iskemik reperfüzyondan dolayı endotelial P-Selektin yüzey ekspresyonunun artışı oldukça önemlidir. P-Selektin; lökosit reseptörüne ve P-Selektin glikoprotein-1(PSGL-1)'e bağlanmasını sağlar ki, bu ilişki düşük affinitelidir.  $\beta$ 2-integrinler (CD11<sub>a</sub>/CD18, MAC-1), endotelial intrasellüler adhezyon molekülü-1(ICAM-1)'in ekspresyonu sonucunda lökositin göçü sağlanmış olur. Lökositin intersitijel kompartmana göçü endotelial hücre bağlantılarında eksprese edilen platelet endotelial hücre adhezyon molekülü-(PECAM) ile alakalıdır. Lökositlerin ekstravasküler kompartmana geçişinde, toksik ROS, proteaz, ve elastaz nedeniyle mikrovasküler permeabilite artışı neden olur ve buna bağlı olarak ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümü gerçekleşir (16-53).



**Şekil 3:** İskemi-reperfüzyondan sonra lökositlerin endotel hücrelere yapışması ve interstisyel alana geçişini gösteren şematik resim (54).

### **3.2.2.İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ KLİNİĞİ:**

İskemi-Reperfüzyon hasarı, kliniğe multipil organ disfonksiyonu olarak yansiyabilir. Hiperkolestrolemi, hipertansiyon yada diabet gibi mikrovasküler hasara maruz kalındığı durumlarda iskemi-reperfüzyonun etkileri değişebilir.

#### **3.2.2.a.Vasküler Hasar ve akımın geri döndürülmemesi fenomeni:**

Yaygın olan klinik gözlemlere göre vasküler oklüzyon oluşumundan sonra iskemik organlardaki kan akımı tam olarak geri gelmemektedir. İskemi-reperfüzyon hasarında akımın geri dönmemesinden, lökosit endotel adhezyonu, platelet lökosit agregasyonu, intersitisyel sıvı birikimi, endotel kaynaklı vazorelaksasyonun azalması gibi mekanizmalar ve mekanik olarak akımın obstrüksiyonu sorumludur (50). Klinikte bu durum postperfüzyonal transplante greft hasarı veya artmış infarkt miktarı olarak kliniğe yansır. Lökositlerin tükenmesi, koroner kan akımını artırıp, miyokardiyal infarkt miktarının azalmasına ve ventriküler aritmi insidasının azalmasına neden olur.

#### **3.2.2.b. Myokardiyal etkilenme:**

Myokardiyal etkilenme reperfüzyonun ardından oluşan myokardiyal disfonksiyonu tanımlar, geçici kontraktıl disfonksiyonu genellikle zamanla geri döner. Ancak inotroplarla desteklemek gerekebilir. Myokardiyal etkilenmenin mekanizması, post-perfüzyonal ATP sentezinin azalması, ROS bağlı sitotoksik hasar, koroner mikrovasküler spazm ve anormal kalsiyum metabolizmasına bağlıdır (50).

#### **3.2.2.c. Gastrointestinal Sistemde İskemik-Reperfüzyon Hasarı:**

İskemik-Reperfüzyon hasarı, gastrointestinal sistemde; strangüle barsak, vasküler cerrahi ve hemorajik şok gibi çeşitli patolojik durumlar ile yakından alakalıdır. İskemik-reperfüzyon hasarında barsak bariyerinin kırılması temel rol oynar. Barsak bariyerinin kırılması barsak motilitesini ve absorpsiyonunu azaltır. Bakteriyal translokasyonla portal ve sistemik dolaşıma bakteriler geçer (55). İnterstisyel bakteriyal translokasyon sitokin aktivasyonu yoluyla SIRS'e neden olur (55).



### 3.2.2.d. Multisistem organ yetmezliği:

İmmüniflamatuvar sistem, Multisistem organ yetmezliği (MODS) patofizyolojisinde majör rol oynar ve bu olayda karaciğerin kendi endojen mediatörleri, eksojen mediatörlerinden daha etkilidir. İmmüniflamatuvar mediatörlerin kontrol dışı kaskadı, kendi kendine hasarda önemli rol alır. Multisistem organ yetmezliğindeki hiperaktif yanıtta 3 hipotez önemlidir:

1-Mediatör hipotezi.

2-İskemi-reperfüzyon hipotezi.

3-Barsak hipotezi.

İskemi-reperfüzyon sonucu uzak organlardaki hasar (MODS), kritik hastalarda ölüme neden olabilmektedir (51,56). MODS için risk faktörleri sepsis, majör travma, yanık, pankreatit ve immün yetmezliktir. MODS'da pulmoner sistem önemli ölçüde etkilenir. Sendromun oluşması, iskemik olayın başlamasından sonraki 24-72 saat içinde akut respiratuvar yetmezlik gelişeceğinin habercisidir (56) Reperfüzyondan sonra serbestleşen SOR, PAF, LTB<sub>4</sub> gibi biyolojik moleküller nötrofil adezyonunun kimyasal mediyatörü olup aktive nötrofillerin akciğerlerde ve diğer orđanlarda birikimine neden olur, bu birikim multisistem organ yetmezliği (MODS) gelişiminde önemli bir basamaktır (37). Pulmoner hasar hızla respiratuvar yetmezliğe neden olarak ARDS'ye yol açar. Respiratuvar yetmezliği, hepatik, renal, GİS, myokardiyal ve Santral sinir sistemi disfonksiyonu izler bunu takiben mikrovasküler permeabilite artar. MODS, Koagülasyon disfonksiyonu, immünsistem disfonksiyonu, trombozis, DIC ve immün yetmezlikle sonuçlanır (52,56).

Bağırsak İR hasarına neden olan değişik patofizyolojik olayların bakteriyel translokasyona, sepsis ve MODS'e yol açtığı bildirilmiştir (57).

İmmün yetmezliği mevcut, stres ve travma geçirmiş hastalarda endotoksemi göreceli olarak sıktır. İnteramüsküler veya intraperitoneal olarak uygulanan endotoksinin, enterik gram(-) bakterilerin mezenterik lenf nodlarında (MLN) translokasyonu kolaylaştırdığı, intestinal mukozanın geçirgenliğini artırdığı ve MODS ile birlikte olduğu gösterilmiştir. Organ disfonksiyonu ve MODS ,sepsis ve şiddetli enflamatuvar reaksiyonun sonucunda görülür. MODS klinik olarak ensefalopati, pulmoner yetmezlik, miyokardiyal disfonksiyon, hepatik yetmezlik, vasküler hiporeaktivite, koagülopati, renal yetmezlik, laktik asidoz ve metabolik bozukluk gibi bir çok patolojinin görüldüğu bir durumdur (57-59).

### **3.2.3. İSKEMİ –REPERFÜZYON HASARINI ÖNLEMEDEKİ TEDAVİ STRATEJİLERİ:**

Kontrollü deneysel çalışmalarda bir çok terapötik stratejinin İskemik-Reperfüzyon hasarını başarıyla sınırlayıp önlediği fakat insanlarda henüz klinik çalışmalara ulaşılmadığı görülmüştür. Bunun yanı sıra çok az çalışmada yeterli kombinasyonla IR hasarın azaldığı görülmüştür.

#### **3.2.3.a. İskemik Precondition:**

İskemik precondition dokuların kısa periyotlarla iskemiye maruz bırakılarak uzun süreli İskemik-Reperfüzyon hasarının zararlı etkilerinden koruyan fenomeni kasteder. Özellikle precondition (PC)'nun ventriküler fonksiyonu artırdığı, myokardiyal nötrofil birikimini azalttığı ve iskemi-reperfüzyon hasarından sonra apoptozise neden olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (60,61). Bununla birlikte iskemik PC yararlı etkileri insan klinik verilerinde kanıtlanmamıştır. Sonuçta PC koroner arter bypass grefti uygulanan hastalarda sağ ventrikül kontraktilesinin yeniden düzenlenmesi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Hepatik rezeksiyon uygulanan insanlarda, karaciğer hasarını azalttığı da ispatlanmıştır. Akut PC yararlı etkileri ATP duyarlı K kanallarının Protein kinaz C ile fosforilasyonun kısmi bir sonucu olabilir (60). Akut PC hücre yüzeyinde protein kinaz-C bağımlı 5'nükleotidaz translokasyonunu indükleyebilir ki bu durum adenzin üretiminin artmasını, artan hücresel enerji depolarının korunmasını ve/veya lökosit adhezyonunun inhibisyonunu sağlar (60).

#### **3.2.3.b. Antioksidan Tedavi:**

Superoksit dismutaz, mannitol, allopurinol, Vitamin E, N asetil sistein, Fe şelasyon birleşikleri, ACE inhibitörleri, Ca<sup>+2</sup> kanal blokörleri gibi antioksidan ilaçlarla yapılan tedavinin iskemik-reperfüzyon hasarını azalttığı veya engellediği deneysel hayvan çalışmalarında kanıtlanmıştır (50). Marzi, hemorajik şoktaki hastada, 5 gün boyunca sürekli rekombinant süperoksit dismutaz infüzyonu ile organ hasarının önemli derecede azaldığını, kanıtlamıştır (62). SOD; serum fosfolipazını ve PMNL'in elastaz konsantrasyonunu azaltır. Ayrıca greftin yaşamını artırır ve kadavradan renal transplantasyonun akut reddinin insidansını azaltır.

#### **3.2.3.c. Antikompleman Tedavi:**

İskemi-reperfüzyondan sonraki doku hasarı kompleman inhibisyonu ile önemli oranda azalır (52). C3 konvertaz enzimi inhibisyonu ve sCR-1 komponentin

idaresiyle rat modellerindeki myokardiyal iskemik-reperfüzyon hasarında %44 gibi bir oranda infarkt miktarını azalttığı gösterilmiştir. Çok yakın zamanlarda insan rekombinant tek zincir spesifik C5 antikorların, kompleman aktivasyonunu, lökosit aktivasyonunu azaltarak miyokard hasarını azalttığı, ayrıca kardiyopulmoner by-passla, koroner arter by-pass grefti uygulanan hastalarda greft reddinde azalmaya neden olduğu kanıtlanmıştır (63). C5 inhibisyonun iskemik-reperfüzyon hasarına maruz kalan hayvan modellerinde myokardiyal infarkt genişliğinde, apoptoziste ve lökosit infiltrasyonunda önemli azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (63,64).

### **3.2.3.d.Antilökosit Tedavi:**

Genel olarak lökosit kaynaklı iskemik-reperfüzyon hasarını sınırlamada deneysel tedavi stratejileri; inflamatuvar mediatör salınımı, lökosit adhezyon moleküllerin sentezi veya reseptör bağlanması ve lökositin endotele adezyonu üzerinde odaklanmıştır (53). İskemi-reperfüzyon'dan sonraki lökosit aktivasyonu; histamin, PAF, LTB4 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımını artırır. İnflamatuvar mediatör salınımının inhibisyonu yada reseptöre bağlanmayı sağlayan soluble IL-1 reseptör antagonistleri ve antiTNF- $\alpha$  antikorların terapötik ajanlarla inhibisyonu, iskemik-reperfüzyonun tetiklediği lökosit aktivasyonunu azaltır (53). Güncel olarak aspirinin biyoaktif eikozonoidlerinden 15 epi-lipoksini tetiklediği bulunmuştur (65). lipoksin araşidonik asidin lipoksijenazla oluşturduğu üründür. Çoğu tarama sistemiyle lipoksinlerin , lökotrien ile artan kemotaksizi , adhezyonu ve nötrofil göçünü engellediği ve bununla birlikte lipoksinin konak inflamatuvar reaksiyonunu kıran sinyaller oluşturduğu tahmin edilmektedir (65). Biyostabil aspirinin oluşumunun tetiklediği lipoksin analogları nötrofilin sebep olduğu vasküler değişiklikleri azaltır.

Lökositlerin sebep olduğu İR hasarını sınırlamada kullanılan ikinci bir tedavi stratejiside lökosit adhezyon molekül sentezinin inhibisyonudur. Glukokortikoidler, aspirin, salisilatlar, altın tuzları ve D-Penisilamin gibi antiinflamatuvar ilaçlar çoğunlukla Lökosit adhezyon molekülü sentezinin inhibisyonunda ve NF $\kappa$ B gibi transkripsiyon faktörlerinin regülasyonunda kullanılan ilaçlardır (53).

3.tedavi yaklaşımı ise lökositlerin endotele adhezyonunun inhibisyonudur. Antilökosit adhezyon molekülleri, monoklonal antikorları veya çözülebilen adhezyon molekülleri ( P-selektin glikoprotein 1, sialy -lewis intrasellüler adhezyon

molekölü-1 gibi), adezyon moleküllerinin reseptörüne bağlanması engellemektedir (53).

### **3.3.Bakteriyel Translokasyon:**

Bozulmamış barsak mukozası steril olmayan lümen ile steril olan vücut arasında bariyer oluşturarak bağırsakta kolonize bakterilerin, sistemik organ ve dokulara geçmesine engel olmaktadır. Bu engelin kırılıp bakterilerin sistemik dolaşım ve/veya organlara geçmesine bakteriyel translokasyon (BT) denilmektedir (58,66,67). Gastrointestinal sistem (GİS)'de BT'nu uyaran etkenler arasında, bakteriyel aşırı çoğalmaya yol açacak şekilde yerleşik GİS mikroflora ekolojisinin bozulması, immünoşüpresyon ve/veya protein malnütrisyonu gibi nedenlerle konak bağışıklığının bozulması, barsak mukoza engelini iskemi, şok veya endotoksinlerle fiziksel bozulması bulunmaktadır (58,59, 68).

İskemik intestinal hastalık örneklerinde mukozal bütünlüğün bozulması ile bakterilerin karaciğer ve portal dolaşıma geçtiği gösterilmiştir. Okluziv ve non-okluziv intestinal iskeminin değişmeyen komplikasyonu, enterik organizmalar ve endotoksinlerin translokasyonuna sekonder gelişen sistemik sepsistir.

Bakteri ve endotoksinler BT sürecine bağlı olarak hastanın nihai durumunu etkilemektedir. Endotoksinlerin immün sistemi modüle etmek, vasküler geçirgenliği artırmak, hücrel metabolizma ve oksijen kullanımını bozmak, yaygın damar içi pıhtılaşmasını başlatmak, hipotansiyon ve ölüme neden olan çeşitli hemodinamik değişiklikler oluşturmak gibi oldukça geniş biyolojik etkileri vardır (58, 59,68).

### **3.4.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):**

Enfeksiyon etkenin laboratuvar tanısı klasik olarak etkenin uygun kültür ortamında üretilmesi esasına dayanır. Ancak her etken üretilemez (Hepatit) veya çok uzun zamanda üretilir (Tüberküloz) (69).

Özgül antijen yada antikörlerin RIA yöntemiyle gösterilmesinde yalancı negatif veya yalancı pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu durumlar da tanı ve tedaviyi geciktirir. Doku kültürü ile etkenin tanımlanması ise her hastada mümkün değildir (70).

Son 15 yıldır mikroorganizmaların nükleik asidini gösterme temeline dayanan PCR yöntemi kullanıma girmiştir. Her mikroorganizmanın nükleik asit yapısında sadece kendisine ait dizilimler bulunur ve bu dizilimler adeta onun kimliği gibidir. Yani ortak özellikten kaynaklanan çapraz reaksiyonlar ve bunların neden olduğu

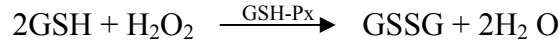
yalancı negatif ve pozitif sonuçlara rastlanmaz. Bu nedenle PCR yöntemi son derece özgüldür. Canlı yada ölü, bir tek etkeni bile saptayabilir. Nükleik asitler son derece stabil bir yapıya sahip olduklarından, örneklerin uygun koşullarda alınması, laboratuvara uygun koşullarda gönderilmesi gibi sorunlardan etkilenmez (70).

PCR tekniğinde alınan örnekte bulunduğu sanılan etkenin nükleik asit dizisinin sadece ona ait olan kısmını çoğaltır. Bunun için ısıtılarak DNA zinciri birbirinden ayrılır. Sonra bu ortama yapıtaş olarak nükleotidler, çoğalmayı başlatıcı olarak primerler ve çoğalmayı devam ettiren Tag polimeraz enzimi konur. Böylece her bir tek DNA parçası kendi karşılığını sentezler. Bu işlem 30-40 defa yapılarak DNA sayısı milyonlara ulaşır. Daha sonra etkene özgül nükleik asit dizisinin karşılığı olan ve elde hazır olarak bulunan radyoaktif yada enzimle işaretli DNA dizisi (prob) aynı ortama konur. Prob DNA'nın özgül kısmına bağlanıp bantlar oluşturur ve bu durum fotoğraflanır.

PCR yönteminin BT'da klasik kan kültüründen daha sensitif olduğu bildirilmiştir (69,70).

### **3.5. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px):**

Bu enzim glutasyon tripeptidini (GSH) oksitlenmiş şekline (GSSG) çevirerek, sitozol ve mitokondrideki SOD tarafından oluşturulan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' yi uzaklaştıran majör enzimlerden biridir ( 30).



Lipit hidroperoksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini önleyici etkiye sahip olan GSH-Px'in Selenyuma bağımlı olan tipi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipit hidroperoksitlerini metabolize ederken, bağımsız olan tipi ise yalnızca lipit hidroperoksitlerini metabolize edebilir (71). Fagositik hücrelerde solunum patlaması esnasında diğer antioksidanlarla beraber GSH-Px, serbest radikal etkisi ile hücrenin zarar görmesini önler (72).

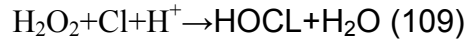
### **3.6. Nitrik oksit (Endothelium derived relaxing factor):**

Nitrik oksit (NO) aralarında endotelial hücrelerin de bulunduğu birçok dokuda nitrik oksit sentaz ile L-arginin'den elde edilen bir radikaldir (37,73). Salgılanan NO düz kas hücresinde cGMP düzeyini artırarak hücrenin gevşemesine ve vazodilatasyonuna neden olur.

Trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe ederek kan akımını koruyucu etki gösterir. Nitrik oksit mikrovasküler sistem üzerinde vazodilatasyon etkisi bulunmakla birlikte paradoksik olarak patolojik koşullarda süperoksit anyon ile reaksiyona girerek peroksinitrit anyon ( $\text{ONOO}^-$ ) ve hidroksil radikalini içeren sitotoksik maddeler de oluşturabilir (30, 37, 73, 74). Peroksinitrit oluşum hızı süperoksit anyon ve NO seviyelerine bağlı olduğundan bunların üretiminde relatif olarak az miktarda artış,  $\text{ONOO}^-$  oluşumunda toksik düzeylere ulaşan artışlara neden olmaktadır. Peroksinitrit gibi sitotoksik ürünlerin lipit peroksidasyonunu başlatabileceğini Parks ve arkadaşları göstermişlerdir.

### **3.7. Myeloperoksidaz:**

Nötrofillerin  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}^-$  ve myeloperoksidaz salgıladığı bilinmektedir. Myeloperoksidaz  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve klor iyonlarından hipoklorik asid formasyonlarını katalize ederler (75).



İskemi esnasında nötrofillerin aracılığı ile salınan MPO'nun doku ölçümlerinde 5 ile 7 kat arttığı tesbit edilmiştir aynı ölçüm reperfüzyon esnasında yapıldığında 18 katlık bir artış tesbit edilmiştir (76).

SOD ve Allopurinol tedavisi ile yapılan bir çalışmada reperfüzyon sonrasında mukozal MPO aktivitesinde önemli derecede azalma gösterilmiştir (76).

### **3.8. Malondialdehid:**

Malondialdehit Lipit peroksidasyonunun son ürünüdür. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ve kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (72,76). Lipit peroksidasyonuna bağlı MDA birikimi daha çok reperfüzyon fazında gelişen hasarın önemli bir komponentidir. MDA membran komponentlerinde polimerizasyon ve çapraz bağlanmaları, iyon transportunu ve enzim aktivitesini değiştirerek iç membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini ciddi şekilde etkiler (70,72,76,77)

### 3.9.Amrinon:

Amrinon bir bipirimidin türevi olup (78,79), pozitif inotropik ve vazodilatatör özelliği olan non-katekolmin, non-glikozid bir maddedir. Selektif fosfodiesteraz tip III inhibitörüdür, vasküler düz kas ve myokardiyumda cAMP'yi artırır, cAMP artınca sarkoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  salınımını artırır ve kalp kasında kasılmayı artırırken bunun tersine vasküler düz kasta cAMP artımı intrasellüler  $Ca^{+2}$  azaltır buna bağlı olarak relaksasyon ve vazodilatasyon oluşturur (11).

cAMP'nin damar düz kasındaki dilatasyon etkisi kalsiyum iyonu aracılığıyla gerçekleşir (80-83). Hücre içi kalsiyum seviyesindeki değişikliklerden, cAMP kontrolündeki farklı biyokimyasal mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan biri, cAMP'nin Na/Ca-ATP'azı aktive etmesi sonucu kalsiyumun hücre içinden hücre dışına çıkması, diğeri ise sitoplazmadaki cAMP aracılığıyla kalsiyumun sakoplazmik retikulumda depolanmasıdır (82,83).

Bunların sonucunda hücre içi kalsiyum iyon seviyesi azaldığından kalsiyum-kalmodilin kompleksi oluşmamaktadır. Damarların kontraksiyonundan sorumlu olan bu kompleksin oluşumunun engellenmesi vasodilatasyona yol açmaktadır (80-83).

Amrinon'un pozitif inotropik ve vazodilatasyon özelliklerine c-AMP azalması neden olmaktadır. klinik olarak preload ve afterloadı azaltıp kardiyak kontraktiletiyi artırdığı için kalp yetmezliği tedavisinde kullanılmaktadır. Açıkcası amrinon bu vazodilatatör etkisinden dolayı sepsisin tedavisinde seçilecek ilk ilaç olarak tavsiye edilmemektedir. Bununla beraber kardiyak etkilerine ilaveten önemli antiinflamatuvar etkilerinde bulunduğu gösterilmiştir. Tip 3 ve Tip 4 PDE içeren immün hücreler ve PDE inhibitörleri çeşitli immün süreçlerde potent regülatörlerdir. Çoğu invivo ve invitro çalışmalarda amrinonun endotoksemide proinflamatuvar mediatörlerin üretimini inhibe ederek immün aktivasyonu azalttığı gösterilmiştir (11,84). IL1 $\alpha$  inhibisyonu ile endotelial adhezyon molekül konsantrasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Diğer deneysel çalışmalarda amrinonun sepsise bağlı olarak iskelet kası protein sentezini azalttığı ayrıca pirüvat dehidrogenaz kompleks aktivitesini azaltarak plazma laktat konsantrasyonunu azaltıldığı tesbit edilmiştir (84). Antiinflamatuvar özellikleri yanınada sepsiste amrinonun kardiyovasküler bir ilaç olarak kullanılması hala tartışılmalıdır. Bir çok araştırmacı amrinonun hipotansiyona katkıda bulunduğunu ve kardiyak kontraktiletiyi ve oksijen sunumunu artırdığını

buldu. Ama oksijen kullanımını ve atılımını artırmadığını tespit ettiler (84). Bununla beraber Vincent (85), amrinonun hipotansiyonu kötüleştirmediğini ama oksijen sunumunu artırdığını gösterdi. İntestinal mukoza üzerinde mukozal hipoksiyi azaltarak ve barsak bariyer hasarını engelleyerek mukozal perfüzyon artışına neden olarak yararlı etkileri mevcuttur.

Endotoksemik normotensif modellerde, PDE inhibitörü amrinonun intestinal villus kan akımı üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmada, endotoksine bağlı azalmış villus kan akımını önlemekle birlikte, sistemik kan basıncını azaltma etkileride mevcuttur. Amrinonun iskemik olaylarda mikrosirkülatuvar dolaşımı artırdığı için kullanışlı olduğu gösterilmiştir (86). Sadece iskemik reperfüzyon kaynaklı dolaşım bozukluklarında değil aynı zamanda endotoksemi kaynaklı dolaşım bozukluklarında önerilmektedir. Amrinonu septik hastalarda etkilerini araştıran sadece birkaç klinik çalışma vardır. Hoffman ve Schockenhoff (87) katekolamin dirençli kardiyak yetmezlikli septik şoklu hastalarda pulmoner ve renal fonksiyonu artırdığını gösterdi ve Fretschner(88) amrinonun septik hastalarda O<sub>2</sub> sunumunu ve O<sub>2</sub> uptakini artırdığını, fakat sistemik vazodilatasyon nedeniyle arteriyal kan basıncını azalttığını tesbit etti.

Literatürde PDE inhibitörlerinin vazodilatatör etkilerini kapsayan çok az çalışma vardır. Bunlardan 3 literatür, İshioka ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (86). Amrinon hedef organlarda potent bir vazodilatatördür ve mikrosirkülatuvar hemodinamiği artırır. Bir diğer çalışma Grosmana (89) aittir. Grosman *in vivo* olarak PDE-3 spesifik inhibitörleri olan amrinon ve enoksaminin ile spesifik olmayan PDE inhibitörleri teofilin ve pentoksifilini insan elindeki venler üzerindeki etkilerini karşılaştırmıştır. Bulgular ışığında enoksaminin ve amrinonun benzer vazodilatatör etkileri olduğu ve bu etkilerinin de teofilinden 6 kat fazla olduğunu tesbit etmiştir.

Vincent (85) kendi köpek septik şok modellerinde amrinon verilen hayvanlarda arteriyal hipotansiyonu kötüleştirmediğini ve mevcut olan endotoksin kaynaklı hipotansiyona amrinonun az yada hiçbir sirkülatuvar kollaps yapmadığını bulmuştur.

Vincentin sonuçları (85) Amrinon infüzyonunun, O<sub>2</sub> sunumu ve tüketimini anlamlı derecede artırdığını gösterdi. Doku perfüzyonunu artırdığından dolayı intestinal mukoza bu artmış doku perfüzyonunda yarar gören dokulardan biridir.

Einzigin çalışmasında (90) Amrinonun oluşturduğu vazodilatasyonun tüm dokuların perfüzyonunu artırmada yeterli olmadığını kanıtladı. Çalışmasında



köpeklerde amrinonun sistemik kan akımı dağılımı üzerindeki akut etkilerini araştırdı ve kan akımının renal kortekste , dalakta, karaciğerde artmış olduğunu fakat ince ve kalın barsak ve gastrik mukozada değişmediğini buldu. Buna rağmen amrinonun endotoksin nedenli vazokonstriksiyonu engellemedeki direkt vazodilatatör etkisi ve diğer antiinflamatuvar özellikleri diğer araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır (91). Amrinon endotoksemi esnasında intestinal mukozadaki villuslarda arterioler vazokonstriksiyonunu önleyerek doku perfüzyonunu artırdığı gösterildi. Sistemik arteriyel hipotansiyon gibi bir zararlı etkisi olduğundan dolayı sepsiste kardiyovasküler aktif ilaç olarak kullanımı sınırlıdır. Bununla beraber vazokonstrikatif bir ajanla kombine kullanımı, SIRS yada sepsis tedavisinde daha yararlı olabilir, amrinonun özellikle sistemik inflamasyonu zayıflattığı tesbit edilmiştir (90).

Cody ve arkadaşları (78) pozitif inotropik ajan olan amrinon'un vazodilatör etkisini göstermişlerdir. Daha sonra Le Jemtel ve arkadaşları(92) ilacın cAMP üzerinden vasküler direnci azaltarak vazodilatasyon yaptığını saptamışlardır.

Shigeru ve İshioka (79) amrinon'un fleb iskemisi üzerine etkisini incelemiştir. Araştırmaları sonucunda, ilacın flep mikrosirkülasyon akımını düzenleyerek dolaşımı artırdığını göstermişlerdir. Ayrıca amrinon'un antitrombotik ve eritrosit deformasyonunu önleyici etkiye sahip olduğunu da ileri sürmüşlerdir

Vazodilatatör özelliği sayesinde mikrovasküler dolaşımı düzenlediği için hem kalp damar cerrahisinde hemde plastik cerrahide flebin iskemik hasarını azaltmak amacıyla denenmektedir (79).

Takashi Kobayashi ve arkadaşları (11) karaciğerde iskemik-reperfüzyon hasarına amrinonun etkisini araştırdılar. İskemik karaciğerdeki indosiyanin yeşili (ICG) klerensi ve kan laktat değerleri ölçüldü. ICG eliminasyonu hepatik kan akımının ve hepatosellüler fonksiyonun güvenilir göstergesidir ve kan laktat profili, özellikle laktat birikimi ve atılım oranı karaciğer cerrahisi sırasında hepatik fonksiyonun sensitif göstergelerindedir Yapılan çalışmada İ.V düşük doz amrinon infüzyonu uygulanarak yapılan hepatektomi sırasında ICG eliminasyonunu amrinonun arttırdığı gösterildi, ayrıca kan laktat konsantrasyonun da kontrol grubuna göre azalmaktadır. Amrinon laktat birikimini iskemi öncesi azalmakta ve iskemi sonrasında da atılımını artırmaktadır. Bu çalışmada düşük doz amrinon uygulanmasının hepatektomi sırasında iskemiye azaltarak karaciğer fonksiyonunu koruduğu gösterilmiştir.

Bu etkisini hepatik kan akımını artırarak, kardiyak fonksiyonu artırarak ve hepatik vasküler yatakta dilatasyon yaparak yapması olasıdır.

### **3.10.Sildenafil Sitrat:**

Sildenafil sitrat selektif bir fosfodiesteraz Tip5 (PDE-5) inhibitörü olup (93). Tüm dünyada erektil disfonksiyonun tedavisinde etkin olarak kullanılan bir drogdur (94).

PDE-5 enzimi kavernozaal cisim düz kas hücrelerinde bulunan protein yapıda bir enzim olup, aktif siklik guanizon monofosfatı (cGMP), inaktif guanizon monofosfata (GMP) dönüşümünü katalize ederek (94), kavernozaal cisim düz kas hücresi içerisindeki iyonize kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) miktarını artırır. Bu duruma bağlı olarak kavernozaal cisim düz kas hücresi relaksasyon sürecinden çıkarak kontraksiyon sürecine girer (94).

Seksüel stimulusla nonadrenarjik ve nonkolinerjik terminal sinir uçlarından ve endotel hücrelerinden salınan NO kavernozaal hücelere diffuzyonla geçerek guanilat siklaz enzimini aktive eder ve cGMP düzeyini artırır (95,96). Artan cGMP'de protein kinaz-G enzimini aktive ederek kavernozaal hücrelerdeki intra sitoplazmik  $Ca^{+2}$  düzeyini azaltır ve kavernozaal ereksiyon oluşumu için gerekli relaksasyon sürecini başlatır (12).

Spesifik tip-5 PDE inhibitörleri cGMP'yi metabolize eden PDE'leri inaktive eder. Buna bağlı olarak, cGMP'nin birikimi düz kas relaksasyonun artmasına ve hedef dokuda kan akımı artışına neden olur. İnsan mezenterik arterinde PDE'nin 1,2,3,4 ve 5 inci tipleri mevcuttur. İnsan plateletlerini 6,3 nm'nin konsantrasyonda sildenafil ile %50 oranında inhibe edilen PDE 5 taşıdığı tesbit edilmiştir. Sildenafil tek başına platelet fonksiyonları üzerine doğrudan etkiye sahip değildir ancak sodyum nitropurisidin tavşan ve insan plateletindeki invitro antiagregatuar aktivitesini potansiyelize eder (97).

PDE enziminin 11 alt tipi vardır. PDE-5,6,9 alt tipleri cGMP için spesifiktir. PDE 1,2,3,10,11 alt tipleri ise hem cAMP hemde cGMP için spesifiktir. PDE 4,7,8 cAMP için spesifiktir (98).

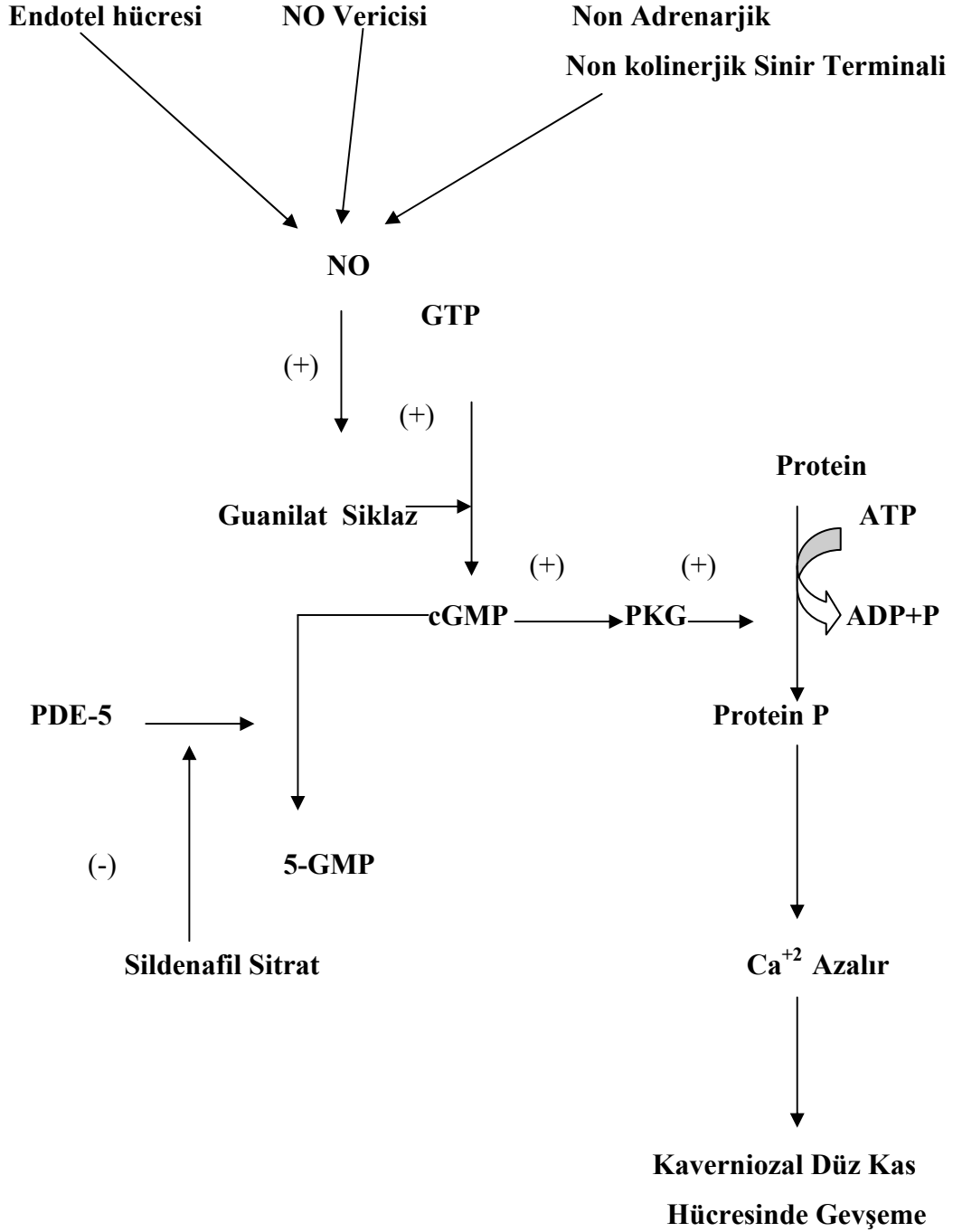
Sildenafilin Fosfodiesteraz tip V'e affinitesi diğer fosfodiesteraz izoformlarına göre 80-8500 kat daha yüksektir. Bununla birlikte yüksek dozlarda diğer fosfodiesteraz formlarında etki ederek, sistemik etki gösterir, mesala hipotansiyon yapması gibi. Fosfodiesteraz tip-V(PDE-V) mezenterik arter, pulmoner arter ve diğer vasküler yapılarda bulunur (93).

Sildenafil antianjinal medikasyon da ilk çalışmış olan potent ve selektif bir PDE-V inhibitörüdür. Ereksiyon yaygın bir etkisidir, bu etkide azalmış cGMP yıkımı, seksüel stimülusa yanıt olarak NO salınımına bağlı penil sirkülasyondaki vazodilatatör etkisinin sürmesi ile açıklanabilir. Vasküler düz kas endotelial hücreleri NO kontrolünde olsada temel aktivitesi solubil guanilat siklazı aktive etmektedir. Sildenafil, fizyolojik relaksasyonu artırıp, guanilat siklaz aktivasyonu yolu ile vasküler sisteme etkili olan ilaçların farmokolojik aktivitelerini güçlendirir (99).

Sildenafil istenmeyen özelliklerinin büyük çoğunluğuna bu vazodilatatör etkileri sorumludur, sildenafilin yaygın yan etkileri vazodilatasyona bağlı semptomlardır. Örneğin baş ağrısı, flushing, nazal konjesyon gibi. Trombüslerde PDE-V içerdikleri için bu hücrelere ait fonksiyonları etkileyebilmektedir. Yani sildenafil platelet agregasyonunu değiştirebilir. fakat kanama zamanına ve mikrosirkülatuvar dağılım üzerine etkilerinin olmadığı literatürde çok eskiden beri rapor edilmiştir (99).

Sarifakioğlu N ve arkadaşları (99) sildenafil sitrat'ın fleb yaşamı üzerine olan etkilerini inceleyen çalışmasında fleb yaşamını artırdığını tesbit etmişlerdir, fleb yaşam süresini artırmasını'da sildenafilin 2 karakteristik özelliğinden dolayı olduğunu ileri sürmüşler, ilki sildenafil platelet agregasyonunu azalttığı ve/veya değiştirdiği için deri kan damarlarında potansiyel trombozisi azaltabilir ikincisi ise vasküler düz kastaki vazodilatatör etkisinin yaygın görülen bir etki olduğudur. Plateletlerin PDE'larla münasebeti ve cGMP bağımlı protein kinazın NO ile platelet inhibisyonundaki önemli rolü konusunda oldukça iyi çalışmalar eskiden beri yapılmıştır.

Colle İ ve arkadaşlarının (93) deneysel siroz yapılan ratlarda sildenafil sitratın etkisini inceleyen çalışmalarında sildenafilin sitratın intramezenterik ve intravenöz uygulamalarından sonra ortalama arteriyel basıncını düşürdüğünü, mezenterik kan akımını ve portal venöz basıncını doza bağımlı olarak arttığını tesbit etmişlerdir. Sonuçta sildenafil mezenterik kan akımını ve portal venöz basıncı artırıp , sistemik hipotansiyona neden olduğunu kanıtlamışlardır (94).



Şekil 4: Nitrik oksit deşarjı ve Sildenafil'in kavernozaal düz kas hücresinde olan etkisi.

## IV-GEREÇ VE YÖNTEM

Bu Deneysel çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi FÜTDAM araştırma laboratuvarında Temmuz-Ağustos 2005 tarihleri arasında, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen dişi Wistar Albino cinsi 50 rat üzerinde yapıldı. Ratlar 5 gruba ayrılarak, deney sonuna kadar onarlı kafeslerde tutuldu. Hayvanların beslenmesinde standart pellet yemi ve şehir içme suyu kullanıldı.

### 4.1-Deneysel grupların oluşturulması

**Grup 1** (n:10, Sham grubu): Tüm denekler ile aynı ortama maruz bırakıldı ve herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı.

**Grup 2** (n:10, kontrol grubu): Operasyondan 30 dakika önce intraperitoneal olarak 1 cc serum fizyolojik verildi.

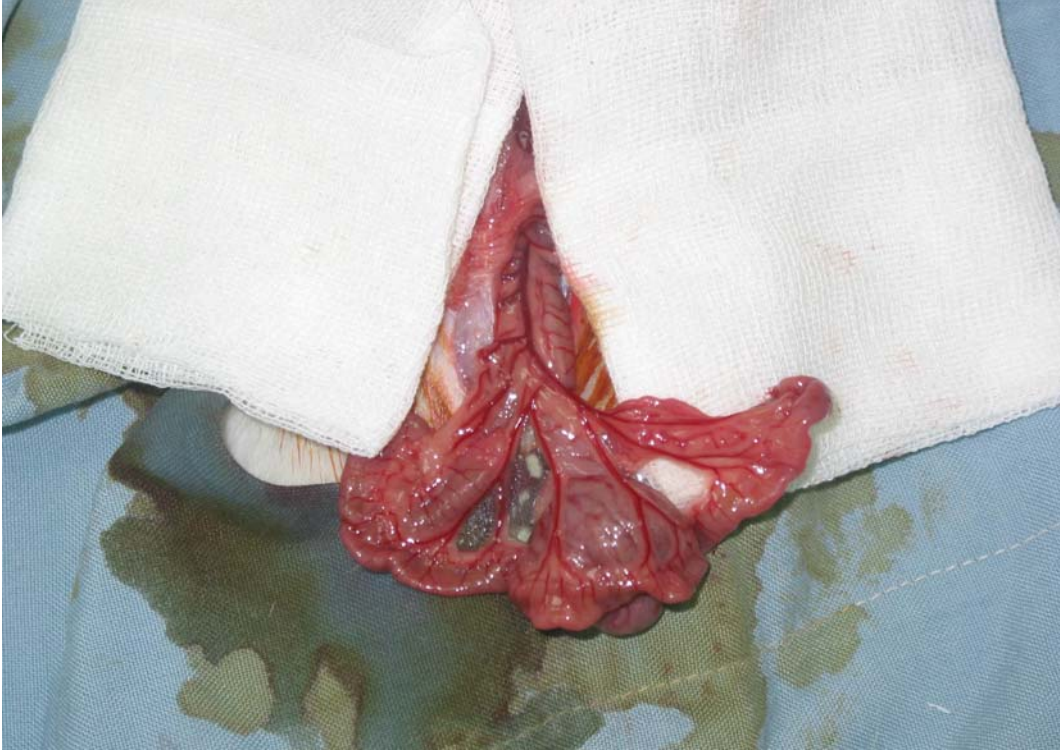
**Grup3** (n:10): Operasyondan 30 dakika önce intraperitoneal olarak 50 mcg/kg Amrinon verildi.

**Grup4** (n:10): Operasyondan 30 dakika önce intraperitoneal olarak 0.05 mg/kg sildenafil sitrat verildi.

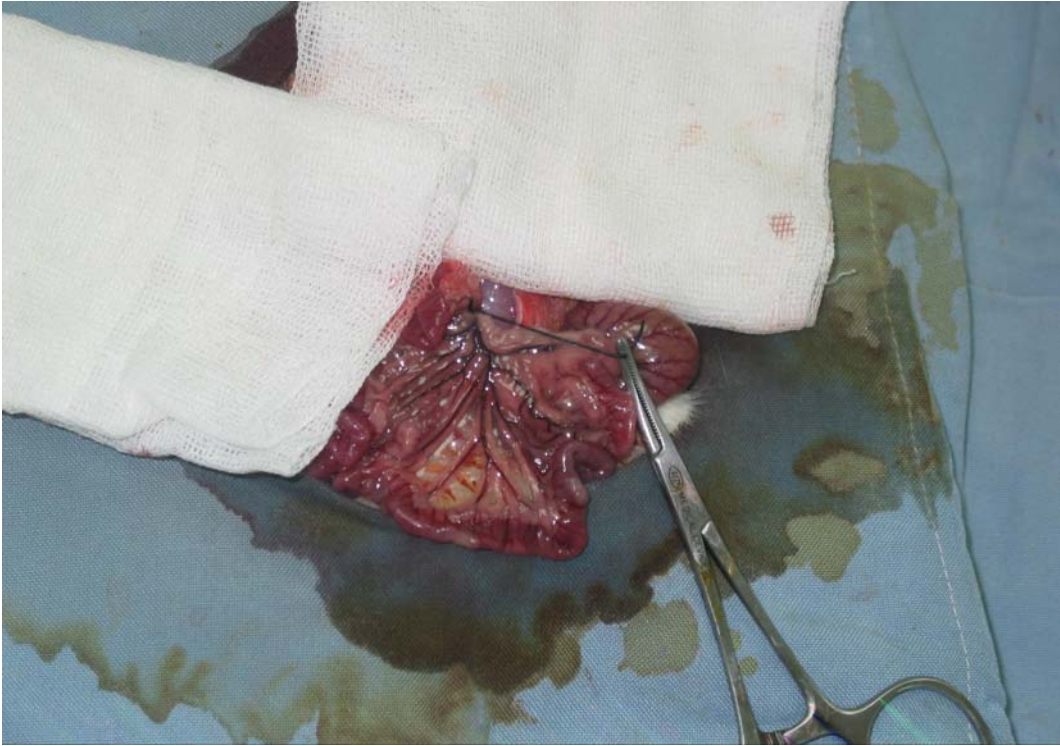
**Grup 5** (n:10): Operasyondan 30 dakika önce intraperitoneal olarak 50 mcg/kg Amrinon ve 0.05 mg/kg Sildenafil Sitrat verildi.

### 4.2-Cerrahi İşlem:

Ratlar operasyondan 18 saat önce aç bırakıldı bu süre içerisinde sadece su içmelerine izin verildi. Tüm gruplara genel anestezi oluşturmak amacı ile her biri 0.25 ml/100 gr vücut ağırlığı dozunda olmak üzere, ketamin HCL (ketalar flk 50 mgr/m<sup>2</sup> Eczacıbaşı istanbul) ve Xylazine HCL (Rompon flk 23,32 mg/m<sup>2</sup> Bayer istanbul) ratların sağ arka bacaklarından intramüsküler olarak uygulandı. Operasyondan yaklaşık 2 dakika önce karın traşı yapılan hayvanlarda operasyon sahası %10 Povidin İodine ile temizlendi. Yalnızca insizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril örtü ile örtüldü. Steril aletler kullanılarak orta hat karın insizyonu ile laparotomi yapıldı. A.Mezenenterika Süperior bulunarak askıya alındı vasküler klemple kollateralleri ile birlikte klempe edildi. 30 dakika süre ile intestinal iskemi uygulandıktan sonra 30 dakika süre ile reperfüzyon uygulandı ve batın usulüne uygun olarak kapatıldı.



**Resim 1:** Laparotomi sonrası dışarı alınan normal ince barsak yapısı.



**Resim 2:** Süperior mezenterik arteri bağlanarak oluşturulan ince barsağın iskemik görüntüsü.

### **4.3-Örnekleme:**

Biyokimyasal olarak malondialdehit (MDA), Glutasyon Pereoksidaz (GSH-Px) , Myeloperoksidaz (MPO), Nitrik oksit (NO) çalışmak için iskemi sonrasında vena kava inferiordan 2 cc alınan kan örnekleri, serumları ayrıldıktan sonra çalışmanın yapılacağı güne kadar -20 °C de saklandı.

Ratlardan alınan karaciğer, dalak ve mezenterik LAP örnekleri steril penset yardımı ile ezilerek homojenize edilip, önceden hazırlanan 3-4 ml'lik beyin-Kalp infüzyon besisi yerlerine konuldular.

Histopatolojik inceleme için distal ileumlar SF ile yıkandıktan sonra %10'luk Formalin ile fikse edildi ve rutin laboratuvar işlemlerinden sonra parafine gömüldü.

PCR çalışılması için alınan 1cc kan numunesi (2-5 ml Na<sub>2</sub> EDTA içeren ) Eppendorf tüplerine (Sigma) konuldu ve DNA ekstraksiyon işlemine kadar +4 °C'de saklandı.

Çalışma için doku ve kan örnekleri alınıp saklıfiye edildikten sonra ratlar aşırı doz ketamin verilerek öldürüldü.

### **4.4-Örneklerin Değerlendirilmesi:**

#### **4.4.1 Biyokimyasal Analiz:**

-20°C'de saklanan serumlar biyokimyasal değerlendirmeden bir saat önce çıkarılıp çalışmaya alındı. Plazmada Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA tayini Satoh (100) ve Yagi'den (101) modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak yapıldı. NO tayini Nitrit ve nitrat miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlendi (102). Total nitrit (nitrit+nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile tayin edildi. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışılmıştır (103). GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP<sup>+</sup>ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de spektrofotometrik olarak okunmasıyla hesaplandı. Myeloperoksidaz enzimin aktivitesi MPO aracılı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile yapılan oksidasyon için substrat olarak 4-aminoantipyrine/phenol solüsyonu kullanılarak yapıldı (104).

#### **4.4.2.Histopatolojik değerlendirme:**

İnce barsak örnekleri %10'luk formaldehit (Formalin ) ile Fikse edildi, doku örnekleri 0,5 cm'lik parçalara bölünerek histopatolojik inceleme için ,standart laboratuvar takiplerinden sonra parafine gömülerek 5µm kalınlığında kesitler hazırlandı ve Hemotoksilen-Eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda 100'lük

büyütme altında örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen tek bir patalog tarafından değerlendirildi.

Mukoza hasar Chiue ve arkadaşları tarafından belirlenen skora sistemine göre derecelendirildi (105).

**Grade 0:** Normal Mukoza

**Grade I:** Villus apeksinde subepitelyal konjesyon

**Grade II:** Villus Tabanına yayılan subepitelyal konjesyon.

**Grade III:** Birkaç villus tepesinde ülserasyon , yaygın subepitelyal konjesyon.

**Grade IV:** Villusta ülserasyon, Lamina propriada dilate kapillerler.

**Grade V:** Lamina propriada hemoraji, ülserasyon olarak belirlendi.

#### **4.4.3. Mikrobiyolojik Değerlendirme:**

Steril cam şişelerdeki beyin-kalp infüzyon besi yerine konulan doku kültür örnekleri 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda sıvı besi yerinden kanlı ağı ve EMB ağı besi yerlerine pasajlar yapılarak 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmalar geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlandı.

#### **4.4.3.a Polimerase Chain Reaksiyonu (PCR):**

Bütün kan örnekleri, steril viallere (Eppendorf tüpü) 800 µl bırakıldı ve Wizard Genomic DNA purification kitindeki "Whole Blood" prosedürüne göre DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Ekstrakte edilen pelet halindeki DNA 100 µl PCR reaksiyonunda kullanılmak üzere H<sub>2</sub>O ile sulandırıldı. Bu reaksiyonda E.coli'nin β-galaktozidaz gen bölgesine spesifik olan ve aynı gen bölgesi üzerinde sırasıyla 201-225 ve 939-963 nükleotidler arasındaki bölgeye özgül olan BG-1 (5'-CTT TGC CTG GTT TCC GGC ACC AGA A-3') ve BG-4 (5'-ACC CAC CGC ACG ATA GAG ATT CGG G-3') primerleri kullanıldı.

PCR miski için.

10µl kalıp DNA

1µl BG-1 Primeri (20 pM/µl) (promega, sigma)

1µl BG-4 Primeri (20 pM/µl)

5µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM)

5µl 10XPZR tamponu

4µl 5mM dNTP

1µL Taq polimeraz (1 ünite/µl)

25µl Steril su



Kullanıldı, bu reaksiyon total volüm 50µl olacak şekilde hazırlandı. Örnekler ısısal döngü cihazına (Thermal-Cycler) yerleştirildi.

Bu cihazda örneklerden DNA amplifikasyonu için bir siklus 94°C de 1 dakika, 56 °C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika olacak şekilde toplam 36 sikluste işlem gerçekleştirildi.

#### **4.4.3.b. Elektroforez ile görüntüleme:**

Çoğaltma işleminden sonra örnekler %1,5'lik agaroz jele yüklenerek elektroforez işlemine tabi tutularak pozitif ve negatif örneklerin görüntülenmesi gerçekleştirildi. Bu aşama için 1,5 gr olarak tartılan agaroz daha sonra 100 ml'lik 1XTAE baftan (tampon) içinde karıştırılarak erimesi için kaynatıldı. Daha sonra jel 55-60°C'ye kadar soğutulurken içine 0.5mg/ml oranında ethidium bromid bırakıldı, taraklar yerleştirildi ve jelin oda ısısında donması sağlandı. Jel elektroforez tankına yerleştirilerek kuyucuklara 3µl 6X'lik yükleme tamponu ve 12 µl PCR örneği karıştırılarak toplam 15 µl olacak şekilde yüklendi. Uygun güç kaynağı kullanılarak 150 volt'da 25 dakikada örneklerin göç etmesi sağlandı. Bu işlem sonunda UV ışık altında göç motiflerini ve pozitif, negatif örnekler değerlendirildi. Uygun marker kullanılarak sonuçlar görüntüledi.

#### **4.4.4. İstatistiksel analiz:**

Gruplardan elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak gösterildi. Ölçülebilir veriler, gruplar arasında One-Way ANOVA yöntemi ile %95 güven aralığında karşılaştırıldı. Anlamlı farklılık bulunan parametreleri Tukey HSD ve Bonferonni düzenlemeleri uygulanarak farklılığı oluşturan gruplar belirlendi. Sayımla elde edilen veriler Ki-kare testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değerinin altı anlamlı olarak kabul edildi.

## V. BULGULAR

**5.1-Biyokimyasal inceleme bulguları:** Tüm grupların kan örneklerindeki plazmada NO, GSH-Px, MPO ve MDA değerlendirildi.

**Tablo 1:**Plazmadaki serbest oksijen radikallerinin gruplardaki ortalama ve standart sapma değerleri.

	MDA	NO	GSH-PX	MPO
G <sub>1</sub>	1,32±0.71	446±50,94	301±70	1,7±0.8
G <sub>2</sub> #	4,39±1,94	397±30,06	256±43,9	2,02±1,05
G <sub>3</sub> *	1,62±1,25 <sup>&amp;</sup>	390±87	520±140	1,62±0,54 <sup>£</sup>
G <sub>4</sub> *	1,20±0,63 <sup>&amp;</sup>	649±102 <sup>€</sup>	502±184	0,70±0.54 <sup>£</sup>
G <sub>5</sub> *	1,34±1,25 <sup>&amp;</sup>	640±49,7 <sup>€</sup>	465±137	1,62±1,34 <sup>£</sup>

# Kontrol Grubu \*Tedavi Grupları &MDA azalan tedavi grupları € NO artan tedavi grupları £MPO azalan tedavi grubu

Grup 1 ile Grup 2 karşılaştırıldığında MDA ve MPO değerlerinin,Grup 2’de arttığı gözlemlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi (p<0.05).

MDA değerleri bakımından Grup2 ile tedavi grupları (Grup 3,4,5) karşılaştırıldığında tedavi gruplarında azalma mevcuttu ve bu azalma derecesi istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05).

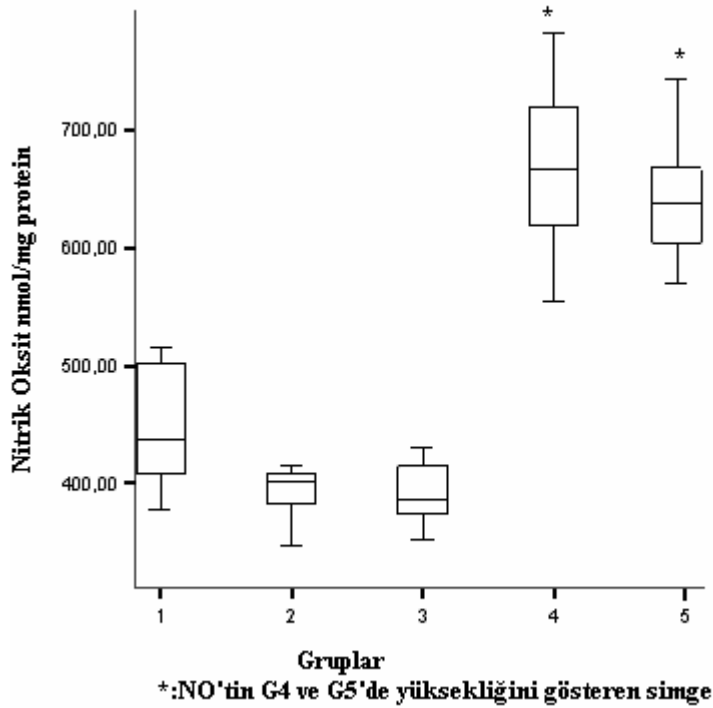
Grup 2 ile tedavi grupları (Grup 3,4,5) MPO değerleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup 4’deki MPO miktarı azalmıştı ve fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0.05).

MPO’ değeri diğer tedavi gruplarında da (Grup3,5) azalmasına rağmen bu

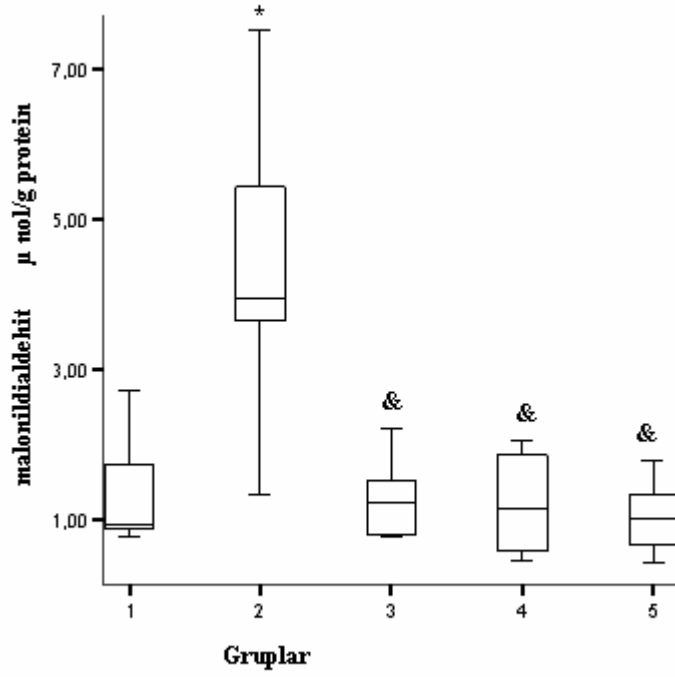
azalma miktarı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamsız tesbit edildi ( $p>0.05$ ).

Grup 2 ile tedavi grupları (Grup3,4,5) NO degerleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup 4,5 de (sildenafil verilen gruplarda) NO miktarı artmıştı ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı tesbit edildi ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu ile Grup 3 (amrinon verilen grup) NO degerleri bakımından karşılaştırıldığında amrinon verilen grupta bir artış mevcut değildi istatistiksel olarak fark anlamsızdı ( $p>0.05$ ).

Grup 2 (kontrol grubu) ile tedavi grupları (Grup3,4,5) GSH-Px degerleri bakımından karşılaştırıldığında tedavi gruplarının tamamında GSH-Px artışı mevcuttu ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ).

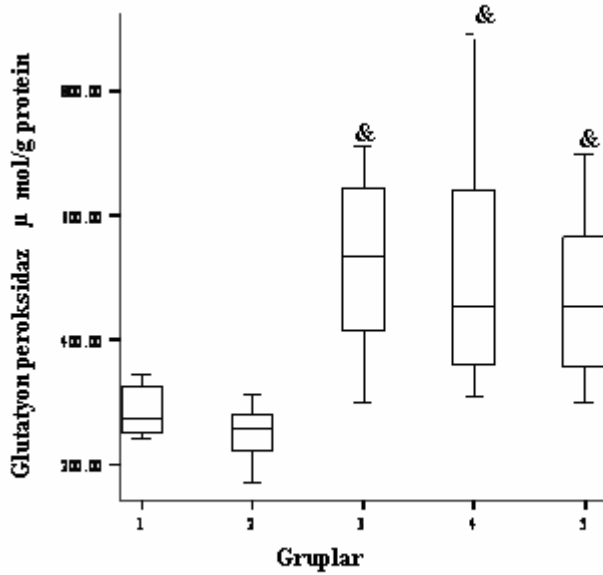


**Şekil 5:** Nitrik oksitin gruplara göre ortalama ve standart sapma degerlerinin grafiksel dağılımı.



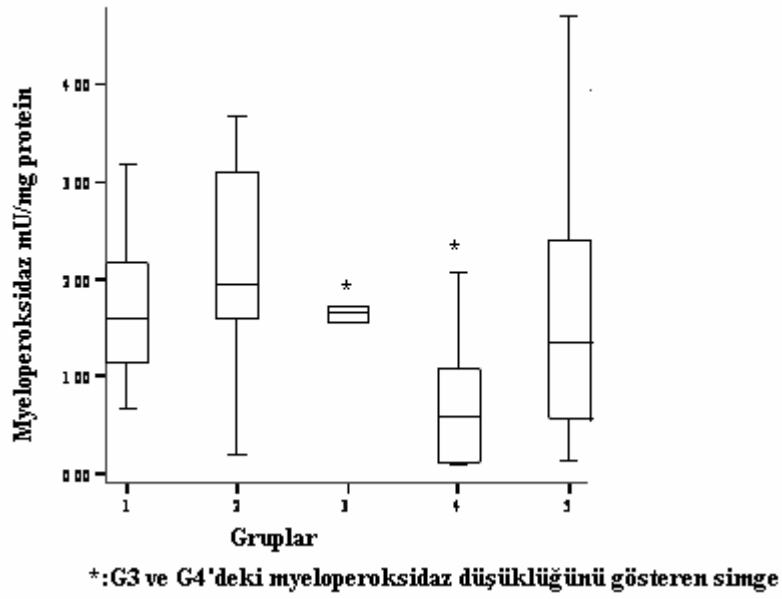
&,\*:G2 ile G3,G4,G5 arasındaki farkı gösteren simge

Şekil 6: Malondialdehitin gruplara göre ortalama ve standart sapma değerlerinin grafiksel dağılımı.



&:Glutasyon peroksidazın G3,G4,G5'de arttığını gösteren simge

Şekil 7: Glutasyon Peroksidazın ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre grafiksel dağılımı.



**Şekil 8:** Myeloperoksidazın ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre grafiksel dağılımı.

## 5.2- Histopatolojik inceleme Bulguları:

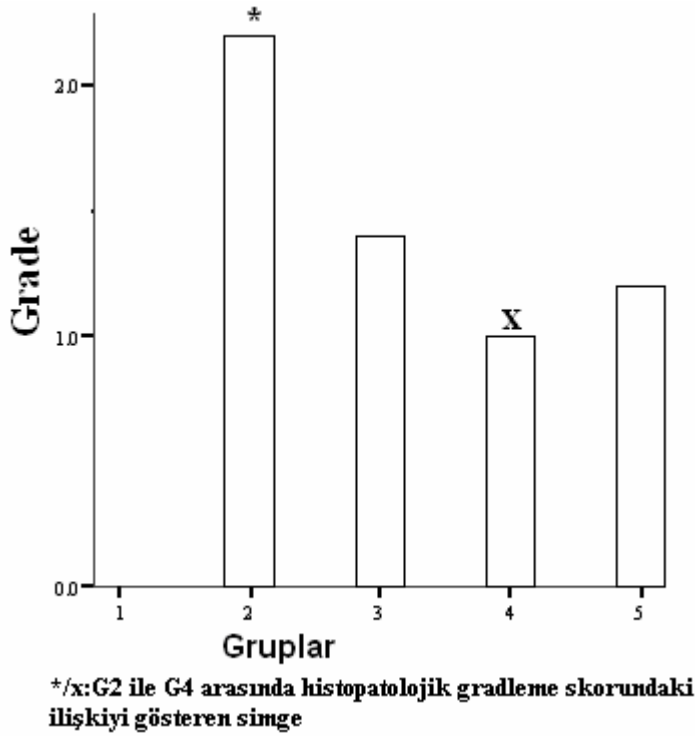
**Tablo 2:** Grupların histopatolojik bulguları.

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
<b>G<sub>1</sub></b>	10	0	0	0	0
<b>G<sub>2</sub><sup>* &amp;</sup></b>	0	3	2	5 <sup>* &amp;</sup>	0
<b>G<sub>3</sub><sup>&amp;</sup></b>	1	5	3	1 <sup>&amp;</sup>	0
<b>G<sub>4</sub><sup>*</sup></b>	4	3	2	1 <sup>*</sup>	0
<b>G<sub>5</sub></b>	2	5	2	1	0

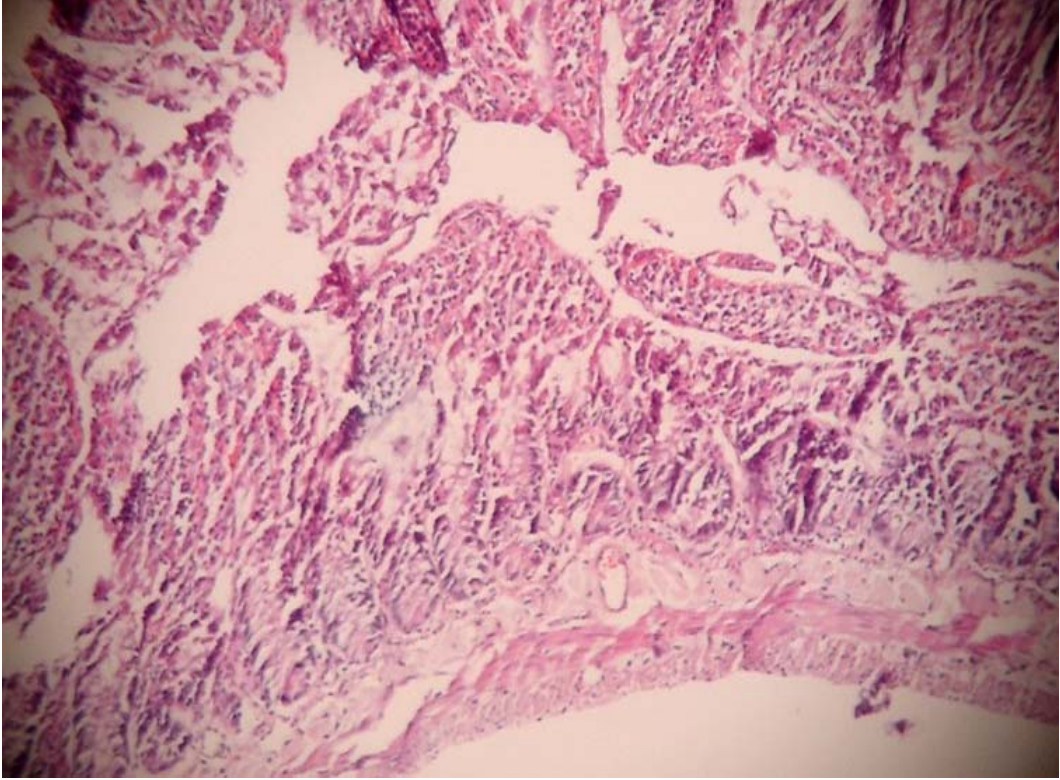
\*G<sub>2</sub> ile G<sub>4</sub> arasındaki ilişkiyi gösteren simge. &G<sub>2</sub> ile G<sub>3</sub> arasındaki ilişkiyi gösteren simge.

Grup 1 ile Grup 2 histopatolojik bulgularına göre karşılaştırıldığında. Grup 2'nin grade değerleri Grup1 göre daha kötüydü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ).

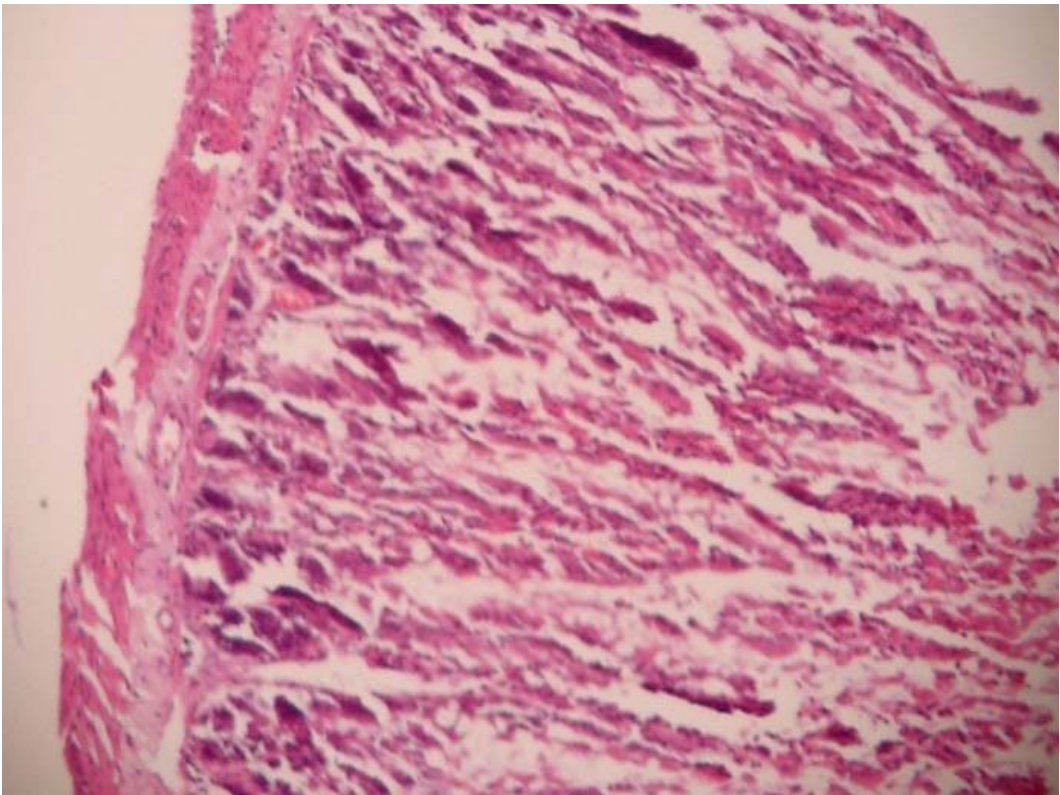
Grup 2 ile tedavi grupları (Grup3,4,5) karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 5'de histopatolojik bulgular Grup 2'ye göre dahi iyi olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). Grup 2 ile Grup 4 karşılaştırıldığında histopatolojik bulgular Grup 4'de daha iyi idi ve arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ).



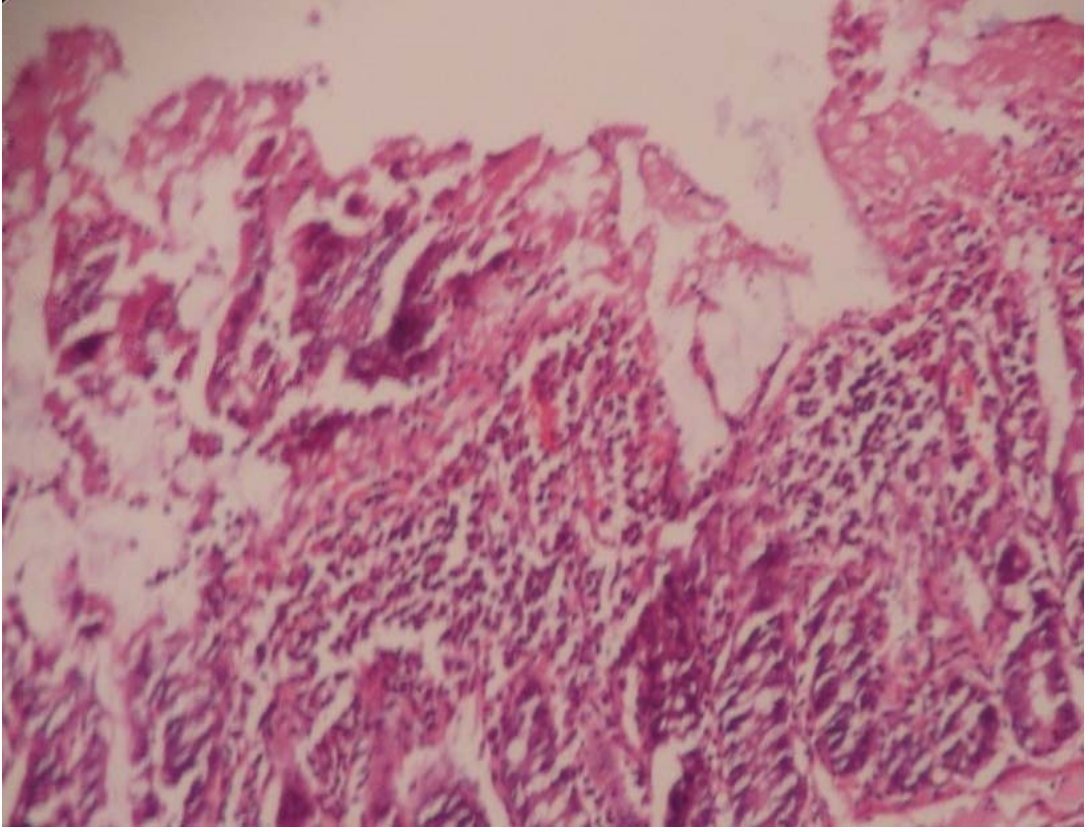
Şekil 9: Histopatolojik bulguların gruplardaki grafiksel dağılımı



**Resim 3:** Grade 1: Villus Apeksinde subepitelyal konjesyon.(HE& X 100)



**Resim 4:** Grade2: Villus Tabanına yayılan subepitelyal konjesyon.(HE& X 100)



**Resim 5:** Grade 3: Birkaç villus tepesinde ülserasyon , yaygın subepitelyal konjesyon

### **5.3-Mikrobiyolojik İnceleme Bulguları:**

#### **5.3.a. Doku Kültür Sonuçları:**

Doku kültür sonuçlarına göre gruplar değerlendirildiğinde. Grup 1’de bir denekte kültür pozitifliği mevcut iken Grup 2’de ise 8 denekte kültür pozitifliği mevcuttu. Grup 2 ile Grup 1 istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkda anlamlılık mevcuttu ( $p<0.05$ ). Bakteriyel kültür pozitifliği bakımından Grup 2 ile tedavi verilen Grup 3, Grup 4 ve Grup 5 karşılaştırıldığında Grup 2 ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ).



**Tablo 3:**Doku kültürlerinde tüm gruplarda bakteriyel kültür pozitifliğinin oransal değerleri.

	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>5</sub>	Total
<b>Üreme yok</b>	9	2	8	9	8	36
<b>Kültür</b>						
<b>ÜremeVar</b>	1	8 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	14
<b>Total</b>	10	10	10	10	10	50

#G<sub>2</sub> ile G<sub>3</sub>,G<sub>4</sub>,G<sub>5</sub> arasındaki kültür (+) sayısına göre ilişkiyi gösteren simge.

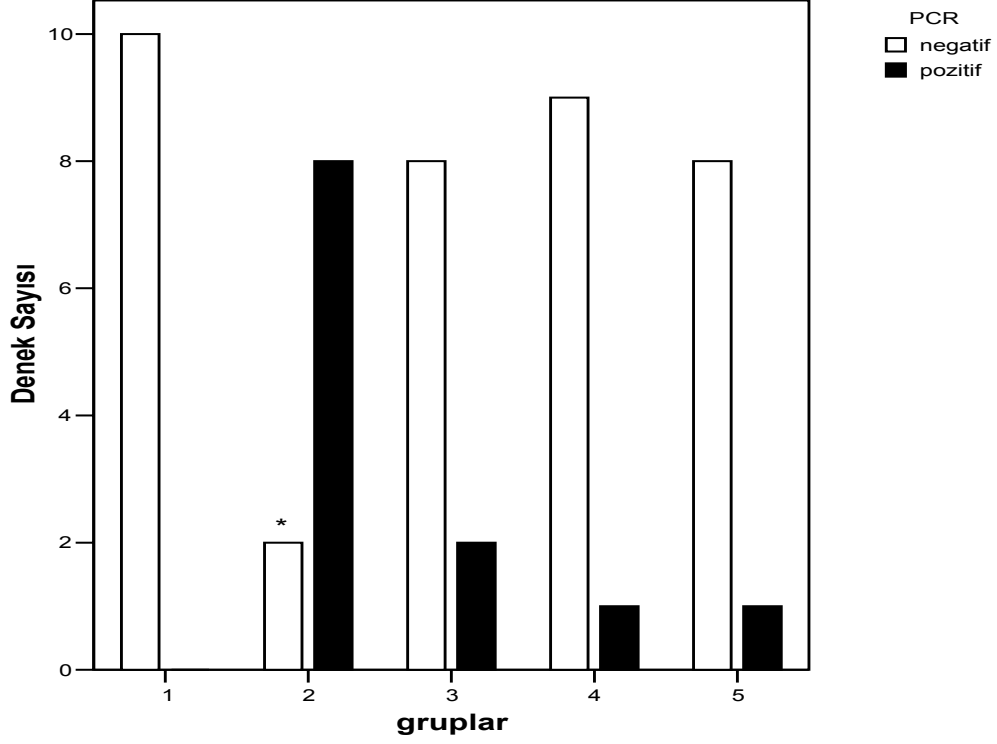
### 5.3.b. PCR Sonuçları:

PCR sonuçları gruplara göre değerlendirildiğinde Grup 1’de PCR sonuçlarında pozitiflik mevcut değilken , Grup 2 ‘de 10 denekten 8 tanesinde pozitiflik mevcut idi. Grup 2 ile Grup 1 karşılaştırıldığında Grup 2’deki PCR’daki pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ( $p<0.05$ ). PCR’daki pozitiflik oranı Grup 2 ile tedavi grupları karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış pozitiflik tesbit edildi ( $p<0.05$ ).

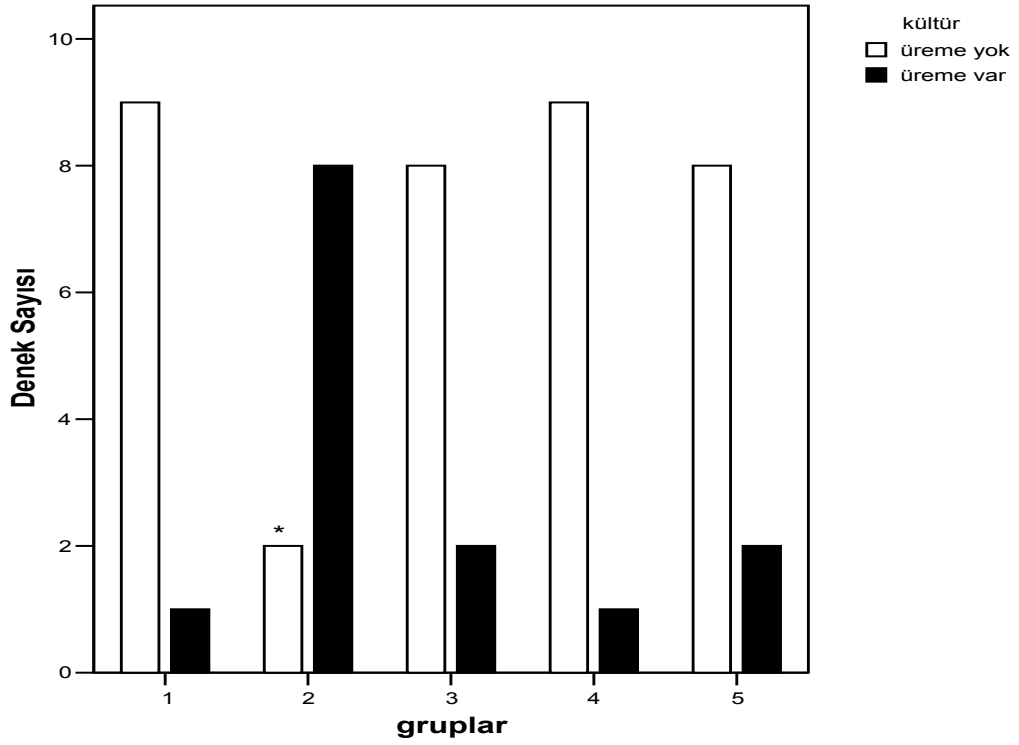
**Tablo 4:** PCR da tüm gruplarda tesbit edilen pozitiflik oranların gruplara göre dağılımını gösteren tablo.

	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>5</sub>	Total
<b>Neğatif</b>	10	2	8	9	9	38
<b>PCR</b>						
<b>Pozitif</b>	0	8 <sup>&amp;</sup>	2 <sup>&amp;</sup>	1 <sup>&amp;</sup>	1	12
<b>Total</b>	10	10	10	10	10	50

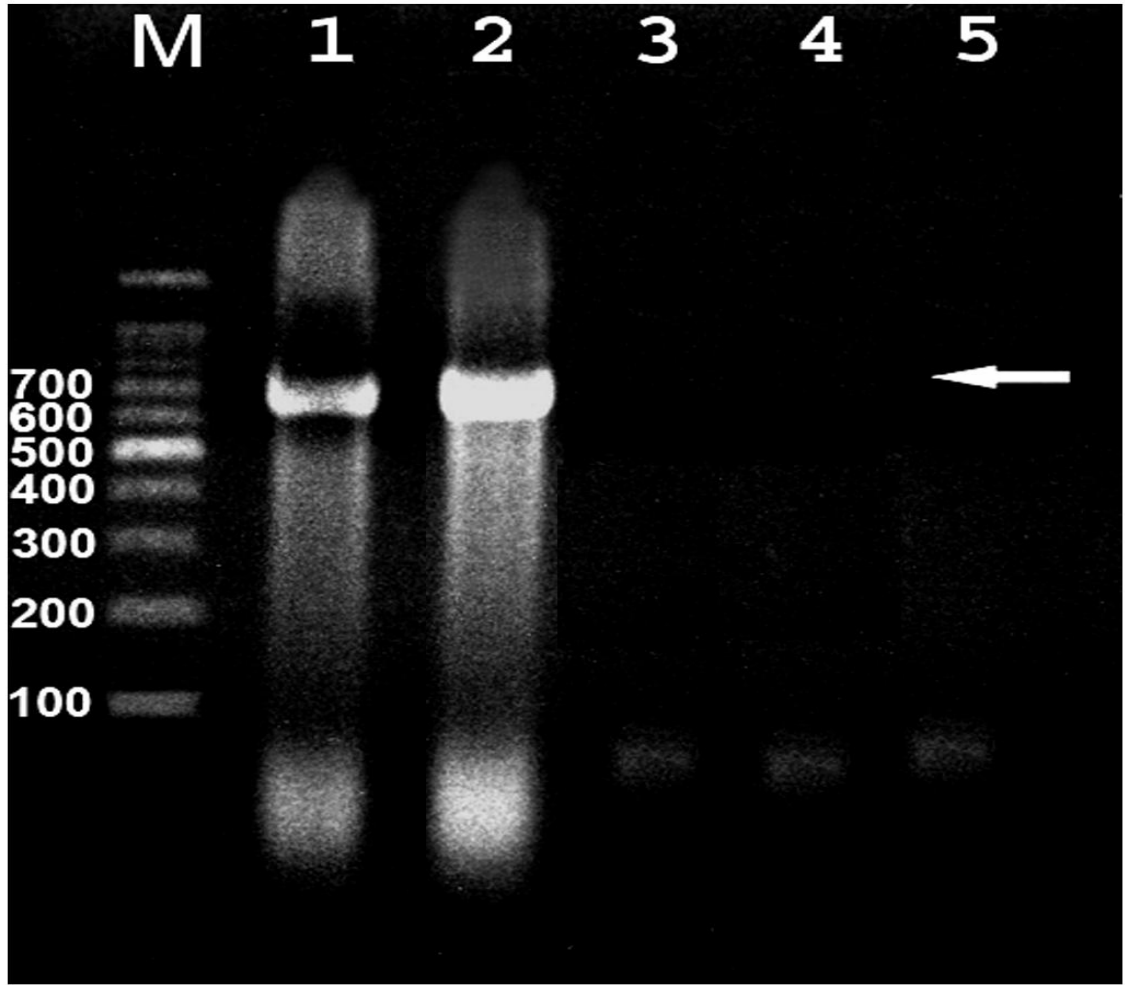
&:G<sub>2</sub> ile G<sub>3</sub>,G<sub>4</sub>,G<sub>5</sub>arasındaki PCR (+) sayısına göre ilişkiyi gösteren simge.



**Şekil 10:** PCR sonuçlarının gruplara göre negatif ve pozitif oranlarının grafiksel dağılımı.



**Şekil 11:** Doku kültüründe üremenin pozitifliğinin ve negatifliğinin gruplara göre grafiksel olarak dağılımı.



**Resim 6:** PCR tekniğiyle tesbit edilen bakteri DNA'sının oluşturduğu bantların fotografik görünümü.

M= 100 bp'lık DNA (adden Marken (promega))

Hat1: Pozitif kontrol E.Coli

Hat 2: Pozitif kontrolleri.

Hat 3,4 ve 5: Negatif kontrolleri.

## VI-TARTIŞMA

İskemi Reperfüzyon hasarında iki mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan birisi doku hipoksisi, diğeri ise ortama salınan serbest oksijen radikalleridir (4). İskemi sırasında hücre iyon gradiyenti ve hemostazı devam ettirmek için gerekli enerjiden yetersiz kalabilir. Dokunun yaşaması için iskemiye müteakip reperfüzyon zorunludur ancak reperfüzyon hasarının tek başına iskeminin neden olduğu doku hasarından daha fazla hasar yaptığı gösterilmiştir (37,38).

İnce bağırsaklar iskemiye çok hassas olup, Serbest oksijen radikallerinin majör kaynağı olan ksantin oksidazı en fazla bulunduran dokudur (105). İntestinal IR hasarında olay sadece lokal olarak iskemik barsak dokusunda sınırlı değildir. İntestinal iskemide jeneralize inflamatuvar reaksiyonlar oluşmakta, bu da uzak organlarda hasara yol açabilmekte ve multiorgan yetmezliğine neden olmaktadır (106). İntestinal iskemide pulmoner, hepatik ve vasküler yatakta nötrofil birikiminin jeneralize inflamatuvar cevabın esas sebebi olduğu ifade edilmiştir (107). Fakat bazı araştırmacılar sadece nötrojeni ile oksijen toksisitesinin önlenemeyeceğini belirtmişlerdir (108,109). Pogetti ve arkadaşları daha önce intestinal IR hasarında oluşan akciğer ve karaciğer hasarında nötrofillerin kritik rolü olduğunu bildirmelerine rağmen, daha sonraki çalışmalarında bu etkide ksantin oksidazında etkili olduğunu belirlemişlerdir (110). Barsaktaki iskemik reperfüzyon hasarının ardından oluşan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin patogenezinin ROS sorumlu tutulmaktadır. Sonuç olarak barsak bariyerinin değişimi bakteriyal translokasyona ve endojen olarak intestinal lümeninde sınırlı olan MO ların ekstra intestinal steril yerlere geçişine neden olur (41). İntestinal hipoksiyi ve iskemiye takip eden reperfüzyon barsak mukozasında dekstrüksiyona neden olurken ayrıca ROS salınımına ve buna diğer faktörlerle bir araya gelerek mukoza hasarına neden olur. İnflamasyon ve doku rejenerasyonu, reperfüzyonu izleyen immün hücrelerce oluşur özellikle PMNL'ki ROS ürünlerinin salınımına katkıda bulunur. PMNL aktive olduğunda doku hasarını artırır bu süreç reperfüzyondan sonraki organ ve vasküler fonksiyonların tesbitinde önemli role sahiptir (42).

Akut mezenterik iskemi tedavisinde farklı ajanlar çalışılmıştır. Son yıllarda vitamin E, Vitamin C, Selenyum, mannitol, allopurinol gibi bazı antioksidan bileşiklerin iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı tesbit edilmiştir (41). Biz de

çalışmamızda amrinon ve sildenafil sitratın akut mezenterik iskemi reperfüzyon hasarına, SOR salınımına ve bakteriyel translokasyona etkisini inceledik.

Çolak T ve arkadaşları fosfodiesteraz inhibitörü olan trapidilin, intestinal iskemi-reperfüzyon hasarındaki mukozal bariyer fonksiyonuna ve bakteriyel translokasyona etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada kan MDA düzeyini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Yine histopatolojik sonuçları tedavi grubuyla kontrol grubunu karşılaştırdıklarında tedavi gruplarında histopatolojik sonuçları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha iyi tesbit etmişlerdir. Aynı zamanda bakteriyel translokasyon oranlarını tedavi gruplarında, kontrol grubundan istatistiksel olarak daha iyi olduğunda göstermişlerdir (111).

Sildenafil sitratın akut mezenterik-iskemi reperfüzyona hasarına etkisi ile ilgili daha önceden yapılmış böyle bir çalışma yokken, amrinon etkisi ile ilgili tek bir çalışma mevcuttur bu çalışma ise Gülşen Ekingen ve arkadaşlarının Gazi üniversitesinde 1999'da yaptıkları çalışmadır (112).

Sildenafil sitrat selektif bir fosfodiesteraz Tip-5 (PDE-5) inhibitörü olup (93). Tüm dünyada erektil disfonksiyonun tedavisinde etkin olarak kullanılan bir drog'dur (90). Seksüel stimulusla nonadrenarjik ve nonkolinerjik terminal sinir uçlarından ve endotel hücrelerden salınan NO kavernozaal hücrelere difüzyonla geçerek, guanilat siklaz enzimini aktive eder ve cGMP düzeyini artırır (96). Artan cGMP'de protein kinaz-G enzimini aktive ederek kavernozaal hücrelerdeki intra stoplazmik  $Ca^{+2}$  düzeyini azaltır ve kavernozaal ereksiyon oluşumu için gerekli relaksasyon sürecini başlatır (12). PDE-5 enzimi kavernozaal cisim düz kas hücrelerinde bulunan protein yapıda bir enzim olup, aktif siklik guanizon monofosfat (cGMP)'ı inaktif guanizon monofosfat (GMP)'a dönüşümünü katalize eder (93). Sildenafil PDE-5 enzimini inhibe ederek cGMP'nin inaktif formuna dönüşmesini engelleyerek vazodilatasyona neden olur.

İmmünohistokimyasal çalışmalarla PDE-5'in vasküler ve bronşial düz kasta ve trombositlerde bulunduğu gösterilmiştir (113). İnsan mezenterik arterinde, PDE'nin 1,2,3,4 ve 5'inci tipleri mevcuttur (97). NO seviyelerindeki düşme kardiyovasküler hastalıklar ve endotel disfonksiyonu ile ilişkili bulunmuştur. Sildenafilin kalp yetmezlikli hastalarda endotel disfonksiyonunun vazomotor durumlarını düzelttiğine dair çalışmalar mevcuttur (97). Sildenafil sitratın platelet fonksiyonunu azalttığı çalışmalar ile tesbit edilmiştir fakat nötrofil kemotaksisine etkileri net değildir.

Sarifakioğlu N ve arkadaşlarının (99) yaptıkları çalışmada, sildenafil sitratın deri flebleri üzerindeki etkilerini araştırdılar ve flep yaşam suresini artırdığını tesbit ettiler. Bu etkininde sildenafilin 2 karakteristik özelliğine bağlı olarak ortaya çıkabileceğini düşünmüşler. Bunlardan 1'cisi platelet agregasyonunu azalttığı veya değiştirdiği için deri kan damarlarında potansiyel trombozisi azaltması, diğerisi ise düz kastaki vazodilatatör etkisine bağlı olarak kan akımını artırmasıdır. Plateletlerin PDE ile olan ilişkileri ve cGMP bağımlı protein kinazın, NO ile platelet inhibisyonu konusunda oldukça iyi çalışmalar mevcuttur.

Colle İ ve arkadaşlarının (93) sirozlu hayvan modellerinde sildenafilin sistemik ve splanchnic kan akımı üzerine etkilerine yönelik çalışmalarında, sildenafilin NO üzerinden mezenterik vasküler tonusu azalttığını, buna bağlı olarak mezenterik ve portal kan akımını artırdığını ve sistemik hipotansiyona neden olduğunu tesbit etmişlerdir .

Bizde bu literatür bilgilerine dayanarak sildenafil sitratın akut mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarını, SOR salınımını ve bakteriyal translokasyonunu azaltacağı hipotezini kurduk.

Çalışmamızda kullanacağımız amrinon ise, selektif fosfodiesteraz tip-III inhibitörüdür, vasküler düz kas ve myokardiyumda cAMP'yi artırıp, cAMP artınca sarkoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  salınımını artırarak kalp kasında kasılmayı artırırken tersine vasküler düz kasta cAMP artımı intrasellüler  $Ca^{+2}$  azaltır ve relaksasyon ve vazodilatasyon oluşturur (11). Amrinonun bu kardiyak etkilerine ilaveten önemli antiinflamatuvar etkilerinin de bulunduğu gösterilmiştir. Tip 3 ve Tip 4 PDE enzimi içeren immün hücreler çeşitli immün süreçlerde potent regülatörlerdir. Çoğu invivo ve invitro çalışmalarda amrinonun endotoksemide proinflamatuvar mediatörlerin üretimini inhibe ederek immün aktivasyonu azalttığı gösterilmiştir (11,84).

Bununla beraber amrinon iskelet kası protein sentezini pirüvat dehidrogenaz kompleksi aktivitesini bloke ederek azaltır ve plazma laktat konsantrasyonundaki artış gibi sepsis kaynaklı anormallikleri engellemektedir (114).

Gülşen E ve arkadaşları (112) amrinonun intestinal iskemi-reperfüzyon hasarına etkisini araştıran bir çalışmada; Ratlarda barsak iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturduktan sonra meydana gelen mukoza hasarı üzerine amrinon'un etkisini barsak 51 CrEDTA emilim testini kullanarak geçirgenlik değişikliği ile gösterdiler. Sonuçlarında amrinon uygulanan deneklerin kan 51 CrEDTA değerini, kontrol grubuna göre daha düşük buldular ve histopatolojik sonuçları kontrol grubu ile

karşılaştırdıklarında amrinon uygulanan gruplarda histopatolojik sonuçları daha iyi tesbit ettiler. Sonuçta amrinonun iskemi reperfüzyona bağlı mukozal hasarı azalttığı ve geçirgenlik artışını önlediğini gösterdiler (105).

Werner S ve arkadaşları (84) amrinonun endotoksemi boyunca jejunal mukozada doku oksijenasyonu üzerine etkisini araştırmaları sonucunda amrinonun endotoksemi esnasında intestinal mukoza doku oksijenasyonunun azalmasına engel olduğunu, pulmoner disfonksiyonu hafiflettiğini tesbit etmişlerdir. Bununla beraber sepsiste sistemik arteriyel hipotansiyon gibi zararlı etkilerinde dolayı kardiyovasküler ilaç olarak kullanımının sınırlı kaldığını, ancak vazokonstriktif ajanla beraber kullanılırsa daha yararlı olduğunu ve özellikle sistemik inflamasyonu zayıflattığını gösterdiler. Sonuç olarak amrinonun iskemik atakların tedavisinde faydalı olduğunu, çünkü hemodinamik mikrosirkülasyonu artırdığını tesbit ettiler .

Kobayashi T ve arkadaşlarının (11) ratlardaki hepatik iskemi-reperfüzyon hasarına amrinon etkisini araştırdılar. Çalışma sonucunda amrinonun hepatik kan akımını kontrol grubuna göre artırdığı, platelet agregasyonunu ve myeloperoksidaz aktivitesini azalttığını tesbit ettiler .

Orii R. ve arkadaşları (115) hepatektomi yapılmış sirotik hastalardaki iskemi-reperfüzyona amrinonun etkisini araştıran çalışmalarında amrinonun post-iskemik fazda daha belirgin olmak üzere karaciğer kan akımını artırdığını ve laktat metabolizmasını artırdığını gösterdiler .

Shigeru ve Arkadaşları (79) amrinon'un fleb iskemisi üzerine etkisini incelemiştir. Araştırmaları sonucunda, ilacın flep mikrosirkülatör akımını düzenleyerek dolaşımı artırdığını göstermişlerdir. Ayrıca amrinon'un antitrombotik ve eritrosit deformasyonu önleyici etkiye sahip olduğunu da ileri sürmüşlerdir .

Bizde bu literatür bilgilerine dayanarak amrinonun akut mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarını, SOR salınımını ve bakteriyel translokasyonu azaltacağı hipotezini kurduk.

İskemi-reperfüzyon hasarında nötrofillerin öneminin farkına varılmıştır. İskemi-reperfüzyon hasarını nötrofillerin primer olarak tetiklediği düşünülmüştür. Nötrofillerin  $H_2O_2$  ve  $O^-$  ürettiği ve myeloperoksidaz salgıladığı bilinmektedir. Oksidatif stres durumunda uyarılmış nötrofillerden NADPH aracılığıyla süperoksit radikalleri oluşur. Süperoksit dismutaz ile katalize edilen reaksiyonda hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) sentezlenir. Hidrojen peroksit ve hidrojen kloriden, hipoklorik (HOCL) asit oluşur. Bu sitotosik özelliğe sahip metabolitler lökositlerin bakterisidal

aktivitesi için zorunludur. İskemi esnasında MPO aktivitesi 5-7 kat artmakta iken reperfüzyonda 18 katlık bir artış mevcuttur. İskemi-reperfüzyon esnasında allopurinol verilerek yapılan çalışmalarda MPO aktivitesinde önemli derece azalma tesbit edilmiştir (76,116).

Amrinon ve sildenafil sitrat iskemi-reperfüzyon hasarında nötrofil aktivitesini azaltıyorsa bunu MPO aktivitesinin ölçümü ile tesbit edebileceğimizi düşündük.

Çalışmamızda Sildenafil sitrat verilen tedavi grubunda MPO aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı ( $p<0.05$ ). Amrinon verilen tedavi grubunda MPO aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı tesbit edilmedi ( $p>0.05$ ). Amrinonun daha önceki çalışmalarda lökosit aktivasyonunu inhibe ettiği kanıtlandığından dolayı bizim çalışmamızda amrinonun verilen gruptaki bu farkın ilacın verilmiş şekline veya dozuna bağlı olarak ortaya çıkabileceği sonucuna vardık.

Malondialdehit Lipit peroksidasyonunun son ürünüdür. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ve kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (72,76). Lipit peroksidasyonuna bağlı MDA birikimi daha çok reperfüzyon fazında gelişen hasarın önemli bir komponentidir. Bizde çalışmamızda MDA miktarının ölçümü ile reperfüzyon sırasında meydana gelebilecek hasarı tesbit edebileceğimiz sonucuna vardık.

Bizim çalışmamızda tedavi verilen grupların hepsinde kontrol grubuna göre MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşme tesbit ettik ( $p<0.05$ ). MDA'nın daha çok reperfüzyon fazında artıyor olması, sildenafil sitratın ve amrinonun reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi olduğu kanısına vardık. Çalışmamızın MDA sonuçlarını Çolak T ve arkadaşlarının çalışmalarındaki MDA sonuçları ile kıyasladığımız zaman benzer sonuçlara sahip olduğunu tesbit ettik (111).

Antioksidan özelliği olan ve iskemik-reperfüzyon hasarını önleme etkisi buluna GSH-Px düzeyini tedavi verilen gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artığını tesbit ettik ( $p<0.05$ ). Çağlayan F ve arkadaşlarının intestinal iskemik-reperfüzyon hasarında GSH-Px artışı ile ilişkili çalışmasını bizim çalışmamız ile karşılaştırdığımızda sonuçların korelasyon gösterdiğini tesbit ettik (117).

NO'nin serbest oksijen radikalleri ile etkileşimi ve antioksidan özellikleri çelişkilidir. Aktif makrofajların mikrosidal aktivitelerini NO aracılığıyla gösterdikleri



ileri sürülmekle birlikte, NO'den üretilen nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub>) ikincil bir antioksidan olabileceği düşünülmektedir. Süperoksit bağladığı içinde, NO'in serbest radikalleri temizleyen koruyucu bir faktör olduğuda düşünülmektedir. Yapısal NOS ile üretilen NO normal fizyolojik olayların sürdürülmesi için gereklidir. İndüklenebilir NOS ile üretilen NO yüksek konsantrasyonları ise hasarı artırıcıdır. Kısaca NO akut inflamatuvar olayda hem koruyucu hemde hasarlayıcı bir molekül olarak gösterilebilir (118).

Sildenafil sitrat verilen tedavi gruplarında NO miktarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış mevcuttu ( $p<0.05$ ). Amrinon verilen tedavi grubunda NO miktarında kontrol grubuna göre ek bir artış tesbit edilmedi ( $p>0.05$ ). Sildenafil sitrat verilen tedavi gruplarındaki NO miktarının amrinon verilen tedavi grubundan daha yüksek olması ve buna bağlı olarak biyokimyasal, Histopatolojik ve mikrobiyolojik sonuçların sildenafil sitrat verilen tedavi gruplarında amrinon verilen tedavi gruplarından daha iyi olması, NO miktarının artmasının iskemik-reperfüzyon hasarını azaltmada daha etkin olduğu kanısına vardık.

Çalışmamızın histopatolojik sonuçlarını değerlendirdiğimiz zaman Amrinon (Grup 3) ve Amrinon+Sildenafil sitrat (Grup 5) verilen tedavi gruplarındaki histopatolojik sonuçlar kontrol grubundan (Grup 2) daha iyi olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Sadece Sildenafil sitrat (Grup 4) verilen grubun histopatolojik sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçların daha iyi ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tesbit edildi ( $p<0.05$ ). Bu histopatolojik bulguları, mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmaya yönelik amrinon verilerek yapılan Gülşen Ekingen ve arkadaşlarının ve trapidil verilerek yapılan Çolak T ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar ile kıyaslırsak sonuçların histopatolojik olarak benzerlik arz ettiği tesbit edildi (111,112).

Barsak mukozası nonsteril olan lümen ile steril olan vücut arasında bariyer oluşturarak barsakta kolonize bakterilerin sistemik organ ve dokulara geçmesine engel olmaktır. Normal floranın değişmesi, hücresel bağışıklığın bozulması veya barsakta iskemik mukozal hasar sonucu intestinal sistemin bariyer ve immünolojik disfonksiyonu, bakteri ve endotoksinlerin mezenterik lenf nodlarına, portal ve sistemik dolaşıma geçmesine neden olmaktadır. Bu olay "Bakteriyel translokasyon"olarak adlandırılır (119,120,121)

Hayvanlarda yapılan çalışmalar bakteriyel translokasyonda en etkili tetikleyici mekanizmanın barsak fonksiyon bozukluğu olduğunu göstermektedir. Mukozal hasar

sonucu: GİS’de normalde geçirgen olmayan maddelere karşı mukozanın geçirgenliği artmaktadır. Zimmerman ve arkadaşları kedi ince barsağını reperfüzyon olmaksızın 1 saat iskemiye maruz bıraktıklarında, mikrovasküler geçirgenliğinin iki katına çıktığını gösterdiler. Ancak aynı çalışmada iskemiye reperfüzyon izlediğinde, mikrovasküler geçirgenliğin 5 kat arttığını tesbit ettiler (122).

Çalışmamızda bakteriyel translokasyonu değerlendirmek için doku kültür sonuçlarına baktığımız zaman, tedavi verilen gruplardaki üreyen bakteri sayısı , kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü ( $p<0.05$ ). Yine kan PCR sonuçlarını değerlendirdiğimizde tedavi verilen gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bakteri sayısı tesbit edildi ( $p<0.05$ ). Bu sonuçlarda bize sildenafil sitratın ve amrinonun, reperfüzyon fazında daha çok olmak üzere iskemi-reperfüzyon hasarında bakteriyel translokasyonu azalttığı kanısına vardık. Bu sonucu çolak T ve arkadaşlarının bizim çalışmamızdakine benzer şekilde bir fosfodiesteraz inhibitörü tarpidil verilerek yapılan çalışma ile karşılaştırırsak sonuçların genel olarak benzerlik arz ettiğini tesbit ettik (111)

Sonuçları bütün parametreler ile değerlendirirsek amrinon verilen grupta biyokimyasal bazı parametreler ve histopatolojik parametreler kontrol grubuna göre daha iyi olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Biz bu farkın ilacın dozunun ayarlanması ve verilmiş şeklinin infüzyon tarzında değiştirilmesi ile ortadan kalkacağı kanısındayız. Sildenafil sitrat ve amrinonun beraber verildiği tedavi grubun sonuçlarının sadece sildenafil verilen gruptan daha kötü olmasını ise iki ilacın kendi arasında parsiyel antagonist olabileceği kanısına vardık. Her iki ilacın tek başına kullanılmasının iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmada daha etkin olabileceği kanısındayız.

Sonuç olarak ratlarda akut mezenterik iskemi-reperfüzyon hasarından sonra serbest oksijen radikallerinin arttığı, bakteriyel translokasyon meydana geldiği ve İnce barsaklarda hücresel hasar meydana geldiği gözlemlendi. Amrinon ve sildenafil sitrat ile tedavi edilen gruplarda bakteriyel translokasyonun azaldığı gözlemlendi. Artan serbest oksijen radikallerinin oluşumunun önlenmesinde amrinon ve sildenafil sitratın güçlü bir antioksidan olduğu tesbit edildi. Sildenafil sitrat ve amrinon ile tedavi edilen gruplarda hücresel hasarın azaldığı gösterildi.

## VII-KAYNAKLAR

- 1-Behrens RH, Szaz KF, Nothrop C, Elia M, Neale G: Radionucleide tests For The assessment of intestinal permeability. Eur J Clin Invest 1987 ; 17: 100-5.
- 2-Grogaard B, Parks DA, Granger DN, Mc Cord JM,Forsberg JO: Effects of ischemia and oxygen radicals on mucosal albumin clearance in intestine. Am J Physiol 1982 ; 242: G448-54.
- 3-Boros M, Takaichi S, Hatanaka K: İschemic time-dependent microvascular changes and reperfusion injury the rat small intestine . J Surg Res 1995 ; 59: 311-20.
- 4-Parks DA, Granger DN: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation .Am J Physiol 1986 ; 250: G740-53.
- 5-Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM: Superoxide radicals in Feline intestinal ischemia. Gastroenterology 1981; 81: 22-9.
- 6-Langer JC, Sohal S, Riddell RH: Mucosal permeability To CrEDTA Following subclinical intestinal ischemia-reperfusion injury in the weanling rat. Pediatr Surg 1993; 28: 601-5.
- 7-Otamiri T: Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophils infiltration after small intestinal ischemia and reperfusion . Surgery 1989 ; 105: 593-7.
- 8-Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, McCord JM: İschemic injury in the cat small intestine role of superoxide radicals. Gastroenterology 1982 ; 82 :9-15.
- 9-Parks DA, Granger DN: İschemia-induced vasculer changes : role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals: Am J Physiol 1983; 245: G285-9.

- 10-Savaş Ç, Aras T, Çakmak M, Bilgehan A, Türközkan N, Ataoğlu Ö, Özgüner F, et al: Pentoxphiline inhibits overflow and reduces intestinal perfusion: J Pediatrics 1997; 72: 905-910.
- 11-Takashi Kobayashi, Yasuhiko Sugawara, Takao Ohkuba, Hiroshi Imamura, Masatoshi Makuuchi: Effects Of amrinone on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Journal of Hepatology 2002 ; 37: 31-38
- 12-Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, Gepi-Atte S, Muirhead GJ, Naylor AM , Osterloh IH,et al: Sildenafil: an orally active typ 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. Int J Import Res 1996; 8 : 47-52
- 13-Granger DN, Richardson PD, Kvietys PR, Mortillaro NA: Intestinal blood Flow. Gastroenterology 1980; 78: 873-63.
- 14-Wang WZ, Anderson G, Fleming JT, Peter FW, Franken RJ, Acland RD, Barker J: Lack of nitric oxide contributes to vasospasm during ischemia-reperfusion injury. Plas Reconstr Surg 1997 ; 99: 1099-1108.
- 15-Parks DA, Jacobson ED: Physiology of the splanchnic circulation Arch Intern Med 1985 ; 145 : 1278-81
- 16- Carden DL, Granger DN : Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury . J Pathol 2000: 190: 225-66
- 17-Shackelford's Mesenteric circulations. Surgery of alimentary tract.W.B Saunders Company 1996.
- 18-Jamieson WG: Acute intestinal ischemia. Can J Surg 1988; 31: 157-8.
- 19-Grogaard B, Parks DA, Granger DN: Comparison of partial and complete arterial occlusion models for studying intestinal ischemia. Surgery 1981; 92: 896-901

- 20-Scott B, Lawrence J, Robert J: The history of mesenteric ischemia. *Surg Clin North Am* 1997.
- 21-Gregory M, Swank M.D, Edwin A, Deitch M.D: Role of the Gut in Multiple Organ Failure: Bacterial Translocation and Permeability Changes. *World J Surg* 1996; 20:411-417.
- 22- Van der Waaij D, Berghuis-den Vries J.M, Lekkerkerk-van der Wees, J.E.C: Colonization of the digestive tract in conventional and antibiotic treated mice. *J.Hyg.* 1971; 69: 405.
- 23- Roze KR, Cooper D, Lam K, Costerton JW: Microbial flora of the mouse ileum mucous layer and epithelial cell surface: *Appl Environ.Microbiol* 1982; 43: 1451-63.
- 24-Deitch E.A: Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch Surg* 1989; 124 : 699-701.
- 25-Ko T.C, Beauchamp R.D, Townsend CM, Thompson JC: Glutamine is essential for epidermal growth factor-stimulated intestinal cell proliferation. *Surgery* 1993; 114: 147.
- 26-Antonsson J.B, Fiddian-Green R.G: The role of the gut in shock and multiple system organ failure. *Eur J Surg* 1991; 157: 3.
- 27- Whitehead R: The pathology of ischemia of intestines. *Pathol Annu* 1976;11: 1-52.
- 28- Bounous G: Acute necrosis of the intestinal mucosa. *Gasrtoenterology* 1982; 82: 1457.
- 29- Lelli J.L, Pradhan S, Cobb L.M: Prevention of postischemic injury in immature intestine by deferoxamine. *J Surg Res* 1993;54: 34.
- 30-Halliwel B: Free radicals antioxidants and human disease,curioty cause or consequence. *The Lancet* 1994; 344: 721-724.

- 31-Bertok L: Physico-chemical defense of vertebrate organisms: the role of bile acids in defense against bacterial endotoxin. *Perspect Biol.Med* 1977; 21: 70.
- 32- Jacob AI, Goldberg PK, Bloom N, Degenstein GA, Kozinn PJ: Endotoxin and bacteria in portal blood. *Gastroenterology* 1977 ;72: 1268-70.
- 33- Cahil CJ, Pain JA, Bailey ME: Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 165: 519-22.
- 34-Cabeza J, Motilva V, Martin MJ, De la Lastra CA: Mechanisms involved in gastric protection of melatonin against oxidant stress by ischemia-reperfusion in rats. *Life Sci* 2001; 68: 1405-15
- 35-Slavikova H, Lojek A, Hamar J, Duskova M, Kubala L: Total antioxidant capacity of serum increased in early but not late period after intestinal ischemia in rats. *Free Radic Biol Med* 1998: 25: 9-18
- 36- Chervura A, Homsher E, Moore WS, Quinones-Baldrich WJ. Differential recovery of skeletal muscle and peripheral nerve function after ischemia and perfusion. *J Surg Res* 1989; 47: 12-9.
- 37-Grace PA: Ischemia-reperfusion injury. *Brit J Surg* 1994; 81: 634-47.
- 38- Aktan S, Aykut C, Yegen BÇ, Özkutlu TD, Okar I ,Ercan S: Prostaglandin E2 and leukotriene C4 levels following different reperfusion periods in rat brain correlated with morphological changes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1992; 46: 287-90.
- 39-A.Özdemir AKTAN, A.Süha YALÇIN: Ischemia-Reperfusion injury, Reactive Oxygen Metabolites and the Surgeon. *Turk J Med Sci* 1998; 28: 1-5
- 40-Schoenberg MH, Berger HG: Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-86.

- 41-Sileri P, Sica GS, Gentileschi P, Venza M,. Benavoli D, Jarzembowski T, Manzelli A and Gaspari AL: Melatonin Reduces Bacterial Translocation After Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury. *Transplantation Proceedings* 2004 ; 36 : 2944.
- 42- Hamar J, Racz I, Cız M,Lojek A, Pallinger E, Füresz J. Time Course of Leukocyte Response and Free Radical Release in an Early Reperfusion Injury of the Superior Mesenteric artery. *Physiol Res* 2003; 52: 417-23.
- 43-İşlek H, İşlekel S, Güner G: Biochemical mechanism and tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. *J Neurol Sci* 2000;72: 1984-2000
- 44-Liu TZ, Stern A: Assessment of the role oxidative stress in human diseases. *J Biomed Lab Sci*1998;10: 12-28
- 45-Gözükara EM: *Biyokimya cilt-2*, Ankara, Nobel Tıp.Kitabevleri 2000; 923-941
- 46-Mc Cord: Oxygen-derived Free Radicals in Postischemic Tissue Injury.P.159-163.Ed.F.H.Epstein .In (Mechanism of disease): *The New England Journal of Medicine* 1985:17
- 47- Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS and Valeri CR: Pathophysiology of ischemia reperfusion Injury, central Role of the neutrophil. *Br J Surg* 1997 ;78: 651-5
- 48-İlhan N: Deneysel olarak karaciger iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan kobaylarda oksidan ve antioksidan sistemin incelenmesi. Doktora tezi, Elazığ 1998:14
- 49-Jurate W, Paulo W: Oxygen radicals lipid peroxidation and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1993 ;74: 1515-1520.
- 50- Maxwell SR, Lip GY: Reperfusion injury:A review of the pathophysiology,clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997; 58: 95-117
- 51- Toyokuni S: Reactive Oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999; 49; 91-102

- 52- Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL: Complement activation Following Oxidative stres. *Mol immunol* 1999;36: 941-8
- 53-Panes J, Perry M, Granger DN: Leukocyte -endothelial cell adhesion: Avenues for therapeutic intervention. *Br Pharmacol* 1999;126: 537-50
- 54-Charles D, Collard MD, Simon GelmanMD, Ph D: Pathophysiology, Clinical Manifestations and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001;94: 1133-8
- 55-Kong SE, Blennerhasset LR, Heel KA, McCauleyn RD, Hall JC: Ischemia-reperfusion injury to the intestine. *Aust NZ J Surg* 1998;68: 544-61
- 56-Neary P, Redmond HP: ischamia-reperfusion injury and systemic inflammatory response syndrome, ischemia-reperfusion injury. *Blackwell Science* 1999;123-36
- 57- Barry MC, Grace PA: Ischemia reperfusion injury. *Surgery* 1997; 15: 68-72.
- 58-Dietch EA, Berg R, Specian R: Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg* 1987 ;122: 185-90
- 59-Edmiston CE, Condon RE: Bacterial translocation. *Surg Gynecol Obstet* 1991; 173:73-83
- 60-Jerome SN, Akimitsu T, Gute DC, Korthuis RJ: Ischemic Preconditioning attenuates capillary no-reflow induced by prolonged ischemia and reperfusion. *Am Y Physiol* 1995; 268: H2063-7
- 61- Wang NP, Bufkin BL, Nakamura M, Zhao ZO, Wilcox JN, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, et al: Ischemic preconditioning reduce neutrophil accumulation and myocardial apopitosis. *Ann thorac Surg* 1999;67: 1689-95



- 62-Marzi I, Buhren V, Schuttler A, Trentz O: Value of superoxide dismutase for prevention of multiple organ failure after multiple trauma: J Trauma 1993;35: 110-9:discussion 119-20
- 63-Welsmann HF, Bartow T, Leppo MK, Marsh HCJR, Carson GR, Concino MF, Boyle MP, et al: Soluble human complement receptor type 1:in vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis. Science 1990: 249: 146-51
- 64-Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD, Dewar M, Hines R, et al: pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. Circulation 1999: 100: 2499-506
- 65- Chiang N, Gronert K, Clish CB, O'Brien JA, Freeman MW, Serhan CN: Leukotriene B4 receptor transgenic mice reveal novel protective roles for lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in reperfusion. J Clin Invest 1999; 104: 309-16
- 66-Haglund U: Gut ischemia. Gut 1994; 1: 73-76.
- 67-Benjamin E, Oropello JM, Iberti TJ: Acute mesenteric ischemia: pathophysiology, diagnosis and treatment. Dis Mon 1993; 39: 131-210
- 68-Hebra A, Hong J, McGowan KL: Bacterial translocation in mesenteric ischemia-reperfusion injury: Is dysfunctional motility the link: J pediatr Surg 1994;29: 280-287.44
- 69-Kubes P: Ischemia-reperfusion in feline small intestine, a role for nitric oxide. Am J Physiol 1993;264: G143-149
- 70- Köse K, Dogan P: Lipid peroksidasyonu. Erciyes tıp Dergisi 1992;1: 340-350.
- 71- Seven A, Candan G: Antioksidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 1996; 27: 41-50.

- 72-Akkuş İ: Serbest Radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları Konya 1995: 3-95.
- 73-Çakmakçı M: Nitrit oksit .Hacettepe Tıp Degisi 1996; 27: 79-84.
- 74- Barry MC, Grace PA: Ischemia reperfusion injury. Surgery 1997;15: 68-72.
- 75-Granger DN.: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol 1998; 225: H1269-H1275
- 76-Kurose I, Granger DN: Evidence implicating xanthine oxidase and neutrophils in reperfusion-induced microvascular dysfunction. Annals of the New York Academy of Sciences 1994 ; 723: 165-184.
- 76- Czyrko C, Steigman C, Turley DL, Drott HR, Ziegler MM: The role of reperfusion injury in occlusive intestinal ischemia of the neonate, Malonaldehyde derived fluorescent products and corelation of histology: J Surg Res 1991; 51:1-4.
- 77-Erdem M: Serbest radikaller .Türkiye Kli Tıp Bilimler Dergisi 1992;12: 201-207,19
- 78-Cody R, Müler F, Hıbo S, Howart R, Leonard D: Identification of direct vasodilatory Effect of milrinone with on isolated limb small intestine and the effect of trifluoperazina on the conversion. J Pediatr Surg 1997; 28: 597-600.
- 79-Shigero I, Tashi M, Yuko S, Mashiro S, Akira K, Kiyonori H: Amrinone selective PDE-III İnhibition improves microcirculation flap. J Surg Res 1998;75: 42-48.
- 80-Evans DB: Overview of cardiovascular physiologic and pharmcologic aspect of selective PDE İnhibition. Am J Cardiol 1989; 63(2): 9A-11A.
- 81-Hardmans J: Cyclic nucleotides and regulation of vascular smooth muscle. J Cardiovascular Pharmacol 1983; 6: 639-645.
- 82-Robert B, Levly M: Cyclic nücleotides. Principles of physiology The C.V Mosby Company 1990.

83-Thierry H, Le Jemtel R, Scotchini D, Levit B, Edward H: Effects of phosphodiesterase inhibition on skeletal muscle vasculature. Am J Cardiol 1989; 63: 27A-30A.

84-Werner Schmidt, Marco Tinelli, Andreas Secchi, Martha-Maria Gebhard, Eike Martin and Heinfried Schmid: Influence of Amrinone on intestinal Villus Blood Flow During Endotoxemia. Journal of Critical Care 2000;15:97-102

85-Vincent JL, Domb M, Van der Linden P: Amrinone administration in endotoxin shock. Circ Shock 1988 ; 25: 75-83.

86-Ichioka S, Nakatsuka T, Sato Y: Amrinone, a selective phosphodiesterase III inhibitor, improves microcirculation and flap survival: A comparative study with prostaglandin E1. J Surg Res 1998;75: 42-48.

87-Hoffmann P and Schockenhoff B: Amrinon beim katecholaminerefraktären Herzversagen im septischen Schock. Anesthesist 1985; 34: 663.

88-Fretschner R, Kloss T, Birkenhauer U: Amrinone for cardiovascular therapy in hypodynamic septic patients?. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 1992 ;27:166-70.

89-M.Grossmann, Braune Ulrike Ebert W. Kirch: Dilatory effects of phosphodiesterase inhibitors on human hand veins in vivo. Eur J Clin Pharmacol 1988;54:35-39

90-Einzig S, Rao GH, Pierpont ME, White JG: Acute effects of amrinone on regional myocardial and systemic blood flow distribution in the dog. Can J Physiol Pharmacol 1982; 60: 811-8

91- Nemeth ZH, Hasko G, Szabo C: amrinone and theophylline differentially regulate cytokine and nitric oxide production in endotoxemic mice. Shock 1997; 7:371-375.

- 92-Le Jemtel TH, Scortichini D, Levitt B: Effects of phosphodiesterase inhibition on skeletal muscle vasculature. *Am J Cardiol* 1989 ; 63: 27A-30A
- 93-Colle I, De Vriese, Van Vlierberghe H, Lameire NH, De Vos M: .Systemic and splanchnic haemodynamic effects of sildenafil in an in vivo animal model of cirrhosis support for arisk in cirrhotic patients. *Liver International* 2004: 24:63-68
- 94-Raifer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ: Nitric oxide as a mediator of relaxation the corpu cavernosum in response to adrenarjik, noncholerjik neurotransmission. *N Engle J Med* 1992 ;326(2): 90-94
- 95-Waldman SA, Murad F: Biochenical mechanisms underlying vascular smooth muscle relaxation:the guanylate cyclase-cyclic GMP system. *J Cardivas Pharmacol* 1988;12:115-118
- 96-Jackie D, Corbin H, Sharron H: Cyclic GMP Phosphodiesterase -5:Target of sildenafil. *J biol Chem* 1992;274: 13729-13712.
- 97- Gudmundsdottir IJ, McRobbie SJ, Robinson SD, Newby DE, Megson IL : Sildenafil potentiates nitric oxide mediated inhibition of human platelet aggregation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005; 337:382-385
- 98-Rakes C, Kukreja, Fadi salloum, Anindita Das, Ramzi Ockaili, Chang Yin, Yvonne A,Bremer, et al: Pharmacological preconditioning With sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications. *Vascular Pharmacology* 2005;42:219-232
- 99-Nedim Sarifakioglu, Serdar Gokrem, Levent Ateş ,Unzile B, Akbuga, Gürcan A: The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats:an experimental study. *The British Association of Plastic Surgeons* 2004;57:769-772
- 100-Satoh K: Serum Lipid Peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin. Chim Acta* 1978:90:37-43

- 101-Yagi, K: Assay of blood plasma or serum. *Methods in enzymology* 1984;105:328-331.
- 102-Cortas NK, Wakid NW: Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chim* 1990; 36:1440-3.
- 103-Paglia DE, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 1967; 70:158-169.
- 104-Wei H, Frenkel K: In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter treated mouse skin. *Cancer Res* 1991;51:4443-9
- 105- Chiue CJ, Mc Ardle AH, Brown R : Intestinal mucosal lesions in low-flow states. *Arc Surg* 1970,101:478.
- 106-Tjarnsrtom J, Wikstorm T, Bagge U: Effects of hyperbaric oxygen treatment on neutrophil activation and pulmonary sequestration in intestinal ischemia-reperfusion in rats .*Eur Surg Res* ,1999,31: 147.
- 107-Yetkin G, Uludağ M, Akgün İ: Karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında hiperbarik oksijen ve allopurinolün etkileri. *Çağdaş Cerrahi Derg*,2003,17: 67.
- 108-Horton JW, Walker PB: Oxygen radicals,lipid peroxidation,and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol*,1993, 74:515
- 109-Friedl HP, Trentz O: Multiple trauma: definition, shock, multiple organ failure . *Unfallchirurgie* 1992;18:64.
- 110-Poggetti RS, Moore FA, Moore EE, Bensard DD, Anderson BO, Banerjee A: Simultaneous Liver and Lung injury Following gut ischemia is mediated by xanthine oxidase. *J Trauma* 1992 ; 32: 723.

111-Çolak T, Öztürk C, Polat A, Bağdatoglu O, Kanik A, Turkmenoglu O, Aydın S: Effects of Trapidil Mucosal Barrier Function and Bacterial translocation After Intestinal Ischemia and Reperfusion in an Experimental rat model. Current Therapeutic Research. June 2003;64:6.

112-Gülşen E, Sönmez K, Özen O, Demiroğulları B, Karabulut R : Effect of amrinone on mucosal permeability in experimental intestinal ischaemia/reperfusion injury. ANZ J.Surg 2005;75: 608-613

113- Senzaki H, Smith CJ, Juang GJ, Isoda T, Mayer SP, Ohler A, Paolucci N, et al: Cardiac phosphodiesterase 5(cGMP-specific) modulates beta-adrenergic signaling in vivo and is down-regulated in heart failure. FASEB 2001;15:1718-1726.

114-Vary T.C: Amrinone prevents the inhibition of muscle pyruvate dehydrogenase complex activity during sepsis. Shock 1996; 5: 229.

115-R.Orii, Y.Sugawara, M.Hayashida, Y.Yamada, K.Chang, T.Takayama, M.Makuuchi, et al: Effect of amrinone on ischaemia-reperfusion injury in cirrhotic patients undergoing hepatectomy: a comparative study with prostaglandin E<sub>1</sub>. British Journal of Anaesthesia 2000; 85: 389-95.

116-Garry R, Larry W. Free Radicals in Biology and Medicine. Spring 2003;7: 222

117-Çağlayan F, Çağlayan O, Günel E, Çakmak M: İntestinal İskemi-Reperfüzyon sonrası diğer organlardaki oksidan stresin araştırılması. Türk Biyokimya Dergisi:2000, Cilt 25, Sayı:3

118-Kuyumcu A, Polat Düzgün A, Özmen M.M, Besler H.T: Travma ve Enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. Ulusal Travma Derg 2004;10: 149-159

119-Maddaus MA, Wells CL, Platt JL: Effect of cell modulation on the translocation of bacteria from the gut and mesenteric lymph node. Annals of surgery 1988; 207: 387-389

120-Wang XD, Parsson H, Anderson R: Bacterial translocation, intestinal ultrastructure and cell membrane permeability early after major liver resection in the rat. Br J Surg 1994;81:597-584

121-Deitch EA, Ma WJ, Ma L: Endotoxin-induced bacterial translocation. Surgery 1989;106: 292-300

122-Zimmermann BJ, Granger DN: Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992;72:65-83

## VIII-ÖZGEÇMİŞ

1972 yılı Sivas doğumluyum. İlk ,orta ve lise eğitimimi Malatya'da tamamladım. 1987 yılında Malatya Ş.K.Ö Endüstiri Meslek Lisesi motor bölümünden mezun olduktan sonra, Malatya Meslek Yüksek Okulu motor bölümünü kazandım ve buradan 1989 yılında tekniker olarak mezun oldum. 1990 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım, 1996 yılında mezun oldum. 1997 yılında pratisyen hekim olarak Muş Kızılağaç, Yaygın ve 1 nolu sağlık ocaklarında 2,5 yıl görev yaptıktan sonra.1999 yılında İçel Çay mahallesi Sağlık Ocağında ve İçel 112 acil servisinde 2 yıl çalıştıktan sonra askerlik görevimi Bursa Gemlik'de yaptım. 2001 Nisan TUS'unda Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi bölümünü kazandım. Halen burada araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Yabancı dilim ingilizce olup, evli ve iki çocuk babasıyım.



