



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİTRİK OKSİT DONÖRÜ SNAP VE GUANİLAT
SİKLAZ AKTİVATÖRÜ YC-1'İN NORMAL VE
PERİTONİTLİ SIÇAN BARSAGINDA PERİSTALTİK
HAREKETLER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

AYKUT IŞIK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

SİVAS-2012

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİTRİK OKSİT DONÖRÜ SNAP VE GUANİLAT SİKLAZ
AKTİVATÖRÜ YC-1'İN NORMAL VE PERİTONİTLİ SIÇAN
BARSAĞINDA PERİSTALTİK HAREKETLER ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

AYKUT IŞIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. M. KEMAL YILDIRIM**

SİVAS - 2012

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ _____

Üye Prof. Dr. Sinan GÜRSOY _____

Üye (Danışman) Prof. Dr. Mustafa Kemal YILDIRIM _____

ONAY

Bu tez çalışması 09 / 02 / 2012 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ali Altuğ BIÇAKCI
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı kararı ile kabul edilen Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET

NİTRİK OKSİT DONÖRÜ SNAP VE GUANİLAT SIKLAZ AKTİVATÖRÜ YC-1'İN NORMAL VE PERİTONİTLİ SIÇAN BARSAGINDA PERİSTALTİK HAREKETLER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Aykut IŞIK

Yüksek Lisans Tezi, Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. M. Kemal YILDIRIM

2012, 72 sayfa

Bu deneysel çalışmada, nitrik oksit donörü SNAP ve guanilat siklaz aktivatörü YC-1'in kontrol ve peritonit gruplarında sıçan kolon motilitesi üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda 16 adet erkek Wistar-Albino türü sıçan her birinde sekiz adet olacak şekilde iki gruba bölündü. Sham cerrahi kontrol grubuna peritonit grubuyla aynı cerrahi prosedür uygulandı. İkinci gruptaki sıçanlara çekal bağlama ve delme yöntemi uygulandı. Yirmi dört saat sonraki ikinci laparatomide sıçanlar sodyum tiyopental enjeksiyonu ile öldürüldü. Karınları orta hat kesisiyle açıldı, proksimal ve distal kolon dokuları çıkarılarak daha önceden gazlandırılmış (%95 O₂ ve %5 CO₂) Krebs Bikarbonat solüsyonu içerisine konuldu. 1 cm kalınlığındaki proksimal ve distal kolon segmentleri daha önceden gazlandırılmış 37°C'deki Krebs Bikarbonat solüsyonu ile doldurulmuş 10 ml'lik organ banyoları içerisine sirküler şekilde asıldı. Bu yolla KCl kasılma cevaplarının ardından, spontan kasılma cevapları ile SNAP ve YC-1'in spontan kasılmalar üzerindeki inhibitör etkileri değerlendirildi.

Çalışmamızda kontrol ve peritonit grupları arasında 80 mmol/L KCl ile indüklenen kasılmalar bakımından fark bulunamadı. Proksimal kolonun spontan kasılmalarının amplitüdü distal kolonunkinden daha yüksekti. Ayrıca peritonit grubunun spontan kasılmalarının amplitüdü kontrol grubunkinden daha yüksekti. SNAP ve YC-1 proksimal ve distal kolon dokularında hem kontrol hem peritonit durumlarında spontan kasılmaları inhibe etti. Bu inhibitör etki kontrol grubunda daha belirgindi. Tüm grup ve dokularda kolon motilitesi üzerindeki inhibitör etki bakımından daha güçlü olan ajan SNAP'dı.

Bu bulgular özellikle kontrol grubunda SNAP'ın spontan kasılmaların inhibisyonunda daha etkili olduğunu, bu iki ilacın, özellikle de SNAP'ın peritonitli hastalarda kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: SNAP, YC-1, Peritonit, Spontan kasılmalar

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE INHIBITOR EFFECTS OF SNAP, NITRIC OXIDE DONOR, AND YC-1, GUANYLATE CYCLASE ACTIVATOR, ON RAT COLON MOTILITY IN CONTROL AND PERITONITIS GROUPS

Aykut IŞIK

Master of Science Thesis, Department of Pharmacology

Supervisor: Prof. Dr. M. Kemal YILDIRIM

2012, 72 pages

In this experimental study, the inhibitor effects of SNAP, a nitric oxide donor, and YC-1, a guanylate cyclase activator, on rat colon motility in control and peritonitis groups were investigated.

Sixteen male Wistar-Albino rats were divided in two groups (eight in each) in this study. The first group consisted of sham surgical controls that underwent the same surgical procedure as the peritonitis group. Rats in the second group underwent cecal ligation and puncture procedure. At the second laparotomy, 24 h later, the rats were killed by thiopental sodium injection. The abdomen was opened with a midline incision and proximal and distal colon tissues were removed and placed in previously aerated (%95 O₂ and %5 CO₂) Krebs Bicarbonate solution. Proximal and distal colon segments with 1 cm thickness were placed in circular direction in 10 mL tissue baths, filled with pre-aerated Krebs Bicarbonate solution (KBS) at 37°C. By this way, after KCl contraction responses; spontaneous contraction responses and inhibitor effects of SNAP and YC-1 on spontaneous contractions were evaluated.

In our study, contractions induced by 80 mmol/L KCl were not significantly different between the peritonitis group and the control group. The amplitude of spontaneous contractions of proximal colon was higher than distal colon. Also the amplitude of spontaneous contractions of peritonitis group was higher than control group. SNAP and YC-1 inhibited spontaneous contractions of colon strips in both peritonitis and control groups. This inhibitor effect was prominent in control group. In case of inhibitor effect on colon motility, in all groups and tissues, the more powerful drug was SNAP.

These results suggest that SNAP is more effective in inhibition of spontaneous contractions, especially in control groups and these two drugs, especially SNAP, may be used for the patients with peritonitis.

Key Words: SNAP, YC-1, Peritonitis, Spontaneous contractions.

TEŞEKKÜR

Danışmanım Prof. Dr. M. Kemal YILDIRIM' a tez boyunca yaptığı katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Çalışma boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ, Prof. Dr. İhsan BAĞCIVAN, Yrd. Doç. Dr. Bülent SARAÇ ve Yrd. Doç. Dr. Ahmet ALTUN'a müteşekkirim.

Tezin laboratuvar çalışmaları aşamasında yardımcı olan ve imkân sağlayan Vet. Dr. Yücel YALMAN' a teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımcı olan Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm Öğretim Üyeleri ve Öğretim elemanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Barsak Anatomisi.....	3
2.1.1 İnce Barsaklar.....	3
2.1.2 Kalın Barsaklar.....	4
2.2 Gastrointestinal Motilitenin Kontrolü.....	5
2.2.1 Gastrointestinal Motilitenin Hormonal Kontrolü.....	5
2.2.2 Gastrointestinal Motilitenin Sinirsel Kontrolü.....	6
2.2.3 Peristaltizm.....	8
2.3 Periton.....	9
2.4 Peritonit.....	10
2.4.1 Primer Peritonitler.....	15
2.4.2 Sekonder Peritonitler.....	16
2.4.3 Tersiyer Peritonitler.....	17
2.4.4 Karın İçi Abseler.....	17
2.5 İnflamasyon.....	17
2.5.1 Akut İnflamasyon.....	17
2.5.2 Kronik İnflamasyon.....	18
2.5.3 İnflamasyonun Kimyasal Mediatorleri.....	18
2.6 Nitrik Oksit.....	19
2.6.1 Nitrik Oksit'in Fizyolojik Önemi.....	23
2.6.2 Patofizyolojik Süreçlerde Nitrik Oksit'in Rolü.....	24
2.6.3 İnflamasyon ve Sepsiste Nitrik Oksit'in Rolü.....	25
2.6.4 Bakteriyel Peritonitte Nitrik Oksit.....	28
3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1 Deney Hayvanlarının Seçimi.....	30
3.2 Cerrahi İşlem.....	30
3.3 Hayvanların Dokularının Alınması ve Deneyle Hazırlanışı.....	32
3.4 Deneyle Kullanılan Besleyici Solüsyon ve İlaçlar.....	33
3.5 Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler.....	33
4 BULGULAR.....	34
4.1 KCl Kasılma Yanıtları.....	34
4.2 Spontan Kasılma Yanıtları.....	34
4.2.1 Amplitüd.....	35
4.2.2 Frekans.....	35
4.3 YC-1 ve SNAP'ın Spontan Kasılma Amplitüdü Üzerindeki İnhibitör Etkileri.....	36
4.3.1 Proksimal Kolon.....	36

4.3.2 Distal Kolon.....	38
4.4 YC-1 ve SNAP'ın Spontan Kasılma Frekansı Üzerindeki İnhibitör Etkileri.....	40
4.4.1 Proksimal Kolon.....	40
4.4.2 Distal Kolon.....	42
5 TARTIŞMA.....	45
6 KAYNAKLAR.....	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Nitrik oksidin NOS enzimi etkisiyle L-arginin amino asidinden sentezlenmesi.....	19
Şekil 2.2 Nitro bileşiklerinin endotel ve düz kas hücrelerinde NO'e dönüşümü.....	20
Şekil 2.3 Beyin dokusunda Arjinin-NO yolu.....	21
Şekil 2.4 Makrofaj kaynaklı NO, bakteri, parazit ve tümör hücrelerinde çeşitli enzimlerin fonksiyonunu etkileyerek sitotoksik etki yapmaktadır.....	23
Şekil 2.5 Kırmızı kan hücrelerinin toksik radikal formasyonu oluşumundaki rolleri.....	29
Şekil 4.1 Sıçan proksimal ve distal kolonunda kontrol ve peritonit gruplarından alınmış dokulardaki 80 mM KCl kasılma yanıtları.....	34
Şekil 4.2 Sıçan proksimal ve distal kolonunda kontrol ve peritonit gruplarından alınmış dokulardaki spontan kasılma amplitüd yanıtları.....	35
Şekil 4.3 Sıçan proksimal ve distal kolonunda kontrol ve peritonit gruplarından alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları.....	36
Şekil 4.4 Sıçan proksimal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	37
Şekil 4.5 Sıçan proksimal kolon peritonit grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	38
Şekil 4.6 Sıçan distal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	39
Şekil 4.7 Sıçan distal kolon peritonit grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	40
Şekil 4.8 Sıçan proksimal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	41
Şekil 4.9 Sıçan proksimal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	42
Şekil 4.10 Sıçan distal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	43
Şekil 4.11 Sıçan distal kolon peritonit grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.....	44

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 3.1 Çekum ligasyonu
Resim 3.2 Çekum perforasyonu
Resim 3.3 Çekumun manüplasyonu

KISALTMALAR DİZİNİ

Ach	Asetilkolin
APC	Antijen Presenting Cells
ATP	Adenozin Trifosfat
BH4	Tetrahidrobiopterin
c-GMP	Siklik Guanozin Monofosfat
CLP	Cecal Ligation and Puncture
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDRF	Endothelium-derived Relaxing Factor
eNOS	Endotelial Nitric Oxide Synthase
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
GALT	Gut-Associated Lymphoid Tissue
IgA	İmmünglobulin A
IP3	İnositol Trifosfat
iNOS	İndüklenebilir Nitric Oxide Synthase
L-NAME	NG-nitro-L-argininemethylester
L-NMA	L-NG-Monomethyl Arginine
L-NNA	N ^G -nitro-L-arginine
MALT	Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
MODS	Multipl Organ Disfonksiyonu sendromu
NANC	Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik
nNOS	Nöronal Nitric Oxide Synthase
NO	Nitric Oxide
NOS	Nitric Oxide Synthase
PP	Peyer Plakları
RBC	Red Blood Cell
sGC	Soluble Guanylate Cyclase
SIRS	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SNAP	S-Nitroso-N-Acetyl-D,L-Penicillamine
SOD	Superoksit Dismutaz
TLR	Toll Like Receptor
VIP	Vazoaktif İntestinal Polipeptit
YC-1	3-(5'-Hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, enfeksiyon ve inflamasyona bağlı gelişen sistemik bir yanıttır. Sepsis ve sonucunda gelişen sepsis sendromu, agresif cerrahi tedavi, özgül antibiyotik ve diğer farmakolojik ajanların kullanılmasına rağmen halen mortalitenin en önemli sebeplerinden birini oluşturmaktadır [1]. Perioperatif intraabdominal apse ve peritonitler tedavisi zor, mortalite ve morbiditesi yüksek olan septik komplikasyonlardır. Bu nedenle bu komplikasyonların gelişimini engellemek, gelişmesi halinde ise erken tanı ve tedavi önemlidir [2-4].

Peritonit gelişimi tüm sistemleri etkilediği gibi barsakları ve barsak motilitesini de etkilemektedir. Peritonit sonrası barsaklarda gelişen motilite değişiklikleri artma ya da azalma şeklinde görülebilmekte, bu da kendisini ishal ya da konstipasyon şeklinde gösterebilmektedir. Yıldız T. ve arkadaşları [5] 2007 yılında yapmış oldukları bir çalışmada peritonit modeli oluşturulan ratlarda proksimal ve distal kolon motilitesinin arttığını, bunun da “peritonit ishali” olarak adlandırılan tablo ile sonuçlandığını göstermişlerdir.

Bakterilerin lipopolisakkarit yapısındaki endotoksinleri makrofajları aktive ederek proinflamatuvar sitokinleri salgılatmakta ve sistemik inflamatuvar yanıtın oluşmasında anahtar rolü oynamaktadır [1]. İnflamatuvar cevaptan sorumlu mediatörlerin bir grubu da serbest oksijen radikalleridir [2]. Bunlar lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre membranını bozmakta, mitokondrilerde adenosin trifosfat (ATP) sentezini inhibe etmekte, deoksiribonükleik asit (DNA) ve proteinlere oksidatif hasar vermektedir [3].

Bir azot ve bir oksijen atomu içeren esterleşmemiş bir elektrona sahip olan nitrik oksit (NO), renksiz gaz yapısında, küçük, yüksüz ve lipofil bir moleküldür. Bilinen en düşük moleküler ağırlıklı, memeli hücresi sekresyon ürünüdür. Dayanıksız bir moleküldür. 3–5 saniye gibi çok kısa bir yarı ömre sahiptir. Biyolojik membranlardan çok kolay difüze olabilir [6-8]. Lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda erir [9,10]. Düşük konsantrasyonlarda iken toksik değildir ve birçok önemli fizyolojik işlevin gerçekleşmesinde rol alır.

NO, endotel hücresi tarafından sentezlendikten sonra difüzyonla düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklazı aktive edip siklik guanozin monofosfat (cGMP) seviyesini artırır. cGMP düz kas hücresi içindeki cGMP bağımlı protein kinazı aktive eder. Bunun sonucunda potasyum kanalları fosforile, Ca^{+2} kanalları hiperpolarize olur. Hücre içi Ca^{+2} miktarı azalır ve bu da düz kas hücresinde gevşemeye yol açar. NO, cGMP yolundan başka sodyum ve potasyum kanallarını doğrudan aktive ederek de vazodilatasyona katkıda bulunur [11-13].

NO gastrointestinal sistemin önemli bir inhibitör nörotransmitteridir [14]. Yutkunma sırasında özofagus alt sfinkterinin gevşemesine NO'nun aracılık ettiği gösterilmiştir [15]. Ayrıca NO'nun kolonik gevşeme yaparak transit zamanını uzattığı iddia edilmektedir [16]. NO barsaklarda nitreerjik nöronlarda üretilmekte ve salınmaktadır. NO inhibitörleri olan N^G -nitro-L-arginine (L-NNA) ya da NG-nitro-L-argininemethylester (L-NAME) uygulaması kas kontraksiyonlarını artırmaktadır [17]. Bu da NO'nun barsaklarda NANC (non-adrenerjik non-kolinerjik) nöronlarından salındığı hipotezini desteklemektedir [17,18].

Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda nitrik oksit donörü olan (S)-Nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) ve guanilat siklaz aktivatörü olan 3-(5'-Hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole (YC-1)'in normal ve peritonit koşullarında proksimal ve distal kolon motilitesi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda peritonit oluşturmak için, daha önce Baker ve arkadaşları (1997) tarafından tanımlanan, çekum ligasyonu ve perforasyonu modeli kullanıldı [19]. Bu model 24 saat içinde sepsise neden olan, hiperdinamik ve normotansif peritonit modelidir ve hayvanlarda deneysel amaçlı peritonit oluşturmak için en yaygın kullanılan metottur. Kolonik sirküler düz kaslar spontan fazik kasılmalar gösterir. Önceki çalışmalar inflamasyon ve peritonitin sirküler düz kas spontan kasılmalarında değişikliklere neden olduğunu göstermiştir [5,20]. Peritonit proksimal ve distal kolondaki spontan kasılmaları hem amplitüd hem de frekans olarak artırır [5].

Bu çalışma ile peritonit durumunda yeni ve daha spesifik nitrik oksit donörlerinin barsak motilitesi üzerindeki etkileri ve etki mekanizmaları araştırılacak, tedavide etkin bir seçenek olup olamayacakları değerlendirilecektir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Barsak Anatomisi

2.1.1 İnce Barsaklar

İnce barsaklar, sindirim kanalının mide ile kolon arasında uzanan parçasıdır. Kanalin en uzun bölümü olup pilor ile mideden, ileoçekal valf ile kolondan ayrılır. Uzunluğu taze kadavrada 6-7 m, canlılarda kas tonusu nedeniyle 5 m kadardır. Çapı başlangıçtan sona doğru yavaş yavaş azalır. İnce barsaklar, genellikle abdomenin orta ve alt kısımlarında bulunurlar. Duodenum, jejenum ve ileum olmak üzere üç kısımdan oluşur.

Duodenum; ince barsağın en kısa, en geniş ve en az hareketli kısmıdır. Mezenteri yoktur ve kısmen periton ile örtülüdür. Pilordan başlar, duodenojejunal fleksura suspensor ligament (Trietz) kadar uzanır. Trietz ligamenti, fibromuskuler bir bant olup duodenumu tespit eder. Duodenum üst, inen, alt ve çıkan kısım olmak üzere dört bölümden oluşmuştur.

Jejenum; ortalama 4 cm çapında olup ileuma göre kanlanması daha fazla ve villusları daha büyüktür. Jejenumun büyük bir bölümü umbilikal bölgede bulunur. İlk jejenum kısmı transvers mezokolonun sol parçası ile sol böbreğin ön yüzü arasındaki çıkmazda yer alır.

İleum; yaklaşık 3.5 cm çapındadır. Duvarı jejenumdan daha incedir. Büyük bir kısmı hipogastrik ve pelvik bölgelerde bulunur. Terminal parçası pelviste yer alır. Sağ psoas kasının ve sağ iliak damarların üzerinden yukarıya doğru yükselir ve sağ iliak fossada çıkan kolon ile çekumun birleşme yerinin medial tarafına açılır. Lenf follikülleri, jejenumdakilere göre daha fazla sayıda ve daha geniştir. İnce barsakları saran peritona mezenter denir. Mezenter, ince barsakları sardıktan sonra batın arka duvarına tutunur. Jejenum ve ileum duvarları seroza, muskuler tabaka, submukoza ve mukoza olmak üzere dört tabakadan oluşur. Mukozada sirküler plikalar, villuslar, lenf follikülleri ve bezler bulunur. Kas tabakası dışta longitudinal, içte sirküler olmak üzere iki tabakadan oluşur. Jejenum ve ileum, arterlerini superior mezenterik arterden alırlar. Jejunal ve ileal arter dalları, mezenterin iki yaprağı arasında mezenterik kenardan barsağa dik olarak girerler, muskuler tabakayı geçerek submukozada pleksuslar

oluştururlar. Venleri de arterlere benzer. Lenf damarları, iki grup halinde, mukozada ve muskuler tabakada bulunurlar. Villusların lenf damarları bu oluşumlardan başlar. Mukoza ve submukozada karışık bir pleksus yaparlar. Lenfatik follikül tabanında lenf damarları ile birleşirler. Muskuler tabakanın lenf damarları ise, iki kas tabakası arasında bulunur ve burada pleksus yaparlar. Mukozadan gelen lenf damarları ile birleştikten sonra barsakların mezenterik kenarında daha geniş damarlara açılırlar.

İnce barsakların parasempatik sinirleri vagusta, sempatikleri ise splanknik sinirlerden, çöliak ganglion ve superior mezenterik arter yoluyla barsağa gelirler. Sinir lifleri, kas tabakaları arasında (myenterik pleksus) ve submukozada (Meissner pleksusu) olmak üzere iki sinir ağı oluştururlar [21].

2.1.2 Kalın Barsaklar

Kalın barsaklar ileumun son kısmından anüse kadar uzanır. Ortalama uzunluğu 120-200 cm arasında değişmektedir. Tüm gastrointestinal sistemin yaklaşık 1/5' ini teşkil eder ve başlangıçtan itibaren sırasıyla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur. İnce barsaklardan, haustra koli denilen boğumlarıyla ve dış tabakasında yer alan apendiks epiptoika denilen yağ kesecikleri ile ayrılır. Kolonun longitudinal kas lifleri bir araya toplanarak tenya denilen 3 bant meydana getirir [22].

Çekum; terminal ileum, çekumun posteromedialinde kolon içine girerek iki dudaktan oluşan anatomik bir sfinkter olan ileoçekal valvi (Bauchini kapağı) oluşturur. İleoçekal valv sayesinde intestinal içeriğin çekumdan ileuma geri kaçışı önlenir. Çekum, çıkan kolonun antimezenterik tarafındadır ve mezenteri yoktur. Üzeri tümüyle periton ile örtülmüştür. 6 cm uzunluğunda 7.5-8.5 cm çapında olan çekum kolonun en geniş yeridir. Çekumdan itibaren kolonun çapı daralmaya başlar. Tenia koliler apendiks vermiformisin çekuma yapıştığı arka iç yüzünden başlayarak rektosigmoid bölgeye kadar uzanır [23].

Çıkan kolon; kolonun çekum sonrası karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanıp burada sola ve bir miktar öne doğru kıvrılarak hepatik fleksurayı yapan bölümüdür. 15-20 cm uzunluğunda olup ön ve yan yüzleri periton ile örtülüdür. Çıkan kolonu besleyen kan damarları kolon duvarının medialinden girerek sağ parakolik mesafe boyunca çıkan kolonun mobilizasyonuna imkan verir. Sağ üreter ve böbreğe, duodenuma yakın komşuluğu vardır [24].

Transvers kolon; kolonun hepatik fleksura sonrası 35-50 cm uzunluğundaki, dalağın alt ucu altında aşağıya doğru kıvrılarak splenik fleksurayı oluşturan bölümüdür. Transvers kolon, transvers mezokolon tarafından karın arka duvarına asılıdır. Transvers kolon sağ ucu, duodenum ikinci kısmı ve pankreas baş kısmına tutunmuştur. Pankreas baş kısmından itibaren tamamen periton ile örtülüdür. Transvers mezokolona yapışan omentum majusda transvers kolonu önden örter [23].

İnen kolon; kolonun splenik fleksuradan sol iliak fossaya kadar uzanan ortalama 25 cm uzunluğunda olan kısmıdır. Küçük pelvis girişinde sigmoid kolonla sonlanır. Arka yüzü gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına yapışıktır. Yan ve ön yüzleri peritonla örtülmüştür. İnen kolonu besleyen kan damarları kolon duvarının medialinden girerek sol parakolik mesafe boyunca inen kolonun mobilizasyonuna imkan verir. Sol testiküler (ovaryan) arter ve sinir, sol eksternal iliak arter ve lomber arter inen kolonu arkadan çaprazlar [24].

Sigmoid kolon; kolonun minör pelvis girişinde psoas major kasının medial kenarından başlayıp üçüncü sakral vertebra hizasında rektumla sonlanan kısmıdır. Ortalama 40 cm uzunluğundadır. Sigmoid kolonu karın arka duvarına asan sigmoid mezokolonun uzunluğu değişkenlik gösterir, bu yapısı ile de volvulus açısından risk oluşturur. Çekumdan itibaren kolonun çapı daralmaya başlar ve sigmoid kolonda en dar yeri oluşur. Sigmoid kolon genişliği yaklaşık 2.5 cm kadardır. 'S' harfi şeklinde kıvrım yapan sigmoid kolon lateralinde eksternal iliak damarlar, obturator sinir, duktus deferens veya overler ile arkada ureter, internal iliak damar ve sakral pleksus ile komşuluk halindedir [25].

Rektum; kolonun üçüncü sakral vertebra hizasında sigmoid kolonun bitmesi ile başlayıp anüste pectinate çizgiye (dentate line) kadar uzanan son kısmını oluşturur [26]. Ortalama 12 cm uzunluğundadır. Haustraları, mezenteri, epiploik çıkıntıları ve teniaları yoktur. Rektumun proksimal üçte bir bölümü periton ile örtülüdür [25].

2.2 Gastrointestinal Motilitenin Kontrolü

2.2.1 Gastrointestinal Motilitenin Hormonal Kontrolü

Gastrointestinal sistem vücuttaki en büyük endokrin organ olup içerdiği endokrin hücreleri, enterik endokrin sistem olarak adlandırılır. Sindirim fonksiyonlarının endokrin kontrolü, enterik endokrin sistem tarafından salgılanan hormonal mediatörler aracılığı ile sağlanır. Bu hormonların birçoğu aynı zamanda gastrointestinal kanalın bazı

bölemlerinde motiliteyi de etkilemektedirler. Bu etkiler hormonların salgı faaliyetine oranla daha az olmakla birlikte önemli olanları şunlardır:

Kolesistokinin; barsak lümeninde yağlı maddelerin bulunması ile jejunum mukozasından salınan bu hormon safra kesesinde kontraksiyona neden olan çok güçlü bir etkiye sahiptir. Safra barsağı akarak yağlı gıdaları emülsiyona uğratar ve sindirilip emilmelerini kolaylaştırır. Aynı zamanda mide motilitesini de bir dereceye kadar inhibe eder. Böylece kolesistokinin, safra kesesini kontrakte edip safranın barsağı akmasını sağlarken, mide motilitesini azaltıp mide içeriğinin barsağı geçişini azaltarak barsak lümenindeki yağların sindirimi için zaman kazandırır.

Sekretin; mideden asidik kimusun pilor yoluyla duodenuma geçmesi sonucunda duodenum mukozasından salınır. Gastrointestinal sistemin hemen tamamında inhibitör etki gösterir.

Gastrik inhibe edici peptit; incebarsakların proksimal kesiminde yağ ve karbonhidrat bulunmasına cevap olarak barsak mukozasından salınır. Mide motilitesini inhibe ederek barsak lümeni proksimalde dolu iken mide boşalmasını yavaşlatır [21].

2.2.2 Gastrointestinal Motilitenin Sinirsel Kontrolü

Gastrointestinal sistemin sinirsel kontrolü, enterik (intrinsik) ve otonom (ekstrinsik) sinir sistemi olarak iki ayrı sisteme sahiptir.

Enterik Sinir Sistemi (İntrinsik İnnervasyon): Gastrointestinal sistem, özofagustan başlayıp anüse kadar devam eden intrinsik sinir sistemine sahiptir ve enterik (intramural) sinir sistemi olarak adlandırılır. Bu sistem tamamen barsak duvarında yer alır. Başlıca iki nöron tabakası ve aralarındaki bağlayıcı liflerden oluşur. Longitudinal ve sirküler kas tabakası arasında seyreden myenterik (Auerbach), submukozada yer alan ise submukozal (Meissner) pleksus olarak adlandırılır. Myenterik pleksus başlıca gastrointestinal hareketleri kontrol ederken, submukozal pleksus salgı ve kan akımını kontrol eder.

Myenterik pleksus, genel olarak gastrointestinal kanalın tümü boyunca uzanan, birbiri ile ilişkili nöronların zincir şeklinde sıralanması ile meydana gelir ve muskuler tabakada yer aldığı için, temel olarak barsak boyunca oluşan motor aktivitenin kontrolü ile ilgilidir. Myenterik pleksusun uyarılması, barsağın motor aktivitesini arttıran başlıca dört etki yapar: Tonik kontraksiyonları ya da barsak duvarının tonusunu, ritmik kontraksiyonların şiddetini, ritmik kontraksiyonların frekansını ve peristaltik dalgaların hızlanmasına neden olan uyarıcı dalgaların ileti hızını arttırır. Eksitator liflerin büyük

kısmı kolinerjik olup asetilkolin (Ach) salgırlar [27]. Bununla birlikte bazı myenterik pleksus lifleri vazoaktif intestinal polipeptit (VIP), NO, ATP gibi nörotransmitterler salgılayarak inhibitör etki gösterir. Bu inhibitör transmitterler, pilor sfinkteri gibi midenin boşalmasını, ileoçekal valf gibi incebarsağın kolona boşalmasını kontrol eder.

Submukozal pleksus ise, her bir küçük barsak segmentinin iç duvarındaki kontrolden sorumludur. Birçok duyusal sinyal gastrointestinal epitelden salgılanır ve daha sonra submukozal pleksusta toplanarak lokal intestinal sekresyon, absorpsiyon ve mide mukozasının çeşitli derecelerde katlanmasına neden olan submukozal kasın lokal kontraksiyonuna neden olur [27,28].

Otonom Sinir Sistemi (Ekstrinsik İnnervasyon): Enterik sinir sistemi her ne kadar kendi kendine fonksiyon görse de, sindirim fonksiyonu enterik sinir sistemi ile santral sinir sistemi arasında iletişim gerektirir. Gerekli iletişim, santral sinir sistemini enterik sinir sistemine ve de santral sinir sistemini doğrudan sindirim kanalına bağlayan sempatik ve parasempatik sinir lifleri tarafından sağlanır. Gastrointestinal sistem, barsakların tümünü ya da özel bölgelerin aktivitesini değıştirecek kadar geniş parasempatik ve sempatik innervasyon taşır. Böylece gastrointestinal sistem santral sinir sistemine duyusal bilgiler sağlarken, santral sinir sistemi de gastrointestinal fonksiyonu etkiler. Sempatik stimölasyon, gastrointestinal sekresyon ve motor aktiviteyi inhibe eder, sfinkterlerin ve kan damarlarının kontraksiyonuna yol açar. Parasempatik stimölasyon ise, sindirim aktivitesini uyarır [27-29].

Parasempatik innervasyonda; splenik fleksuraya kadar mide ve barsakların parasempatik innervasyonu vagus siniri tarafından, splenik fleksuradan sonraki barsak segmentlerinin parasempatik innervasyonu ise spinal kordun 2, 3 ve 4. sakral segmentinden köken alan parasempatik liflerden sağlanır. Parasempatik sistemin preganglionik lifleri myenterik ve submukozal pleksusta sonlanır. Postganglionik lifler düz kasları ve salgı bezlerini innerve eder, peristaltizmi ve sekresyonu uyarırken, sfinkterleri gevşetir [27-29].

Sempatik innervasyonda; medulla spinaliste T8 ile L2 arasındaki segmentlerden kaynaklanan preganglionik sempatik lifler, çöliak ve mezenterik ganglionlarda sonlanırlar. Postganglioner nöron hücrelerinin bulunduğu bu ganglionlardan başlayan postganglioner lifler, kan damarlarıyla birlikte barsakların tüm bölümlerine gidip enterik sinir sistemindeki nöronlarda sonlanırlar. Sempatik sinir uçlarından norepinefrin salgılanır. Sempatik sistemin stimölasyonu gastrointestinal sistemin aktivitesini inhibe

eder. Norepinefrinin düz kaslar üzerine doğrudan inhibitör etkisi ve yine norepinefrinin enterik sinir sistemi nöronları üzerindeki geniş inhibitör etkisiyle gastrointestinal sistem aktivitesi inhibe olur [29]. Gastrointestinal sistem, barsak duvarı ve mukozasındaki reseptörler aracılığı ile algılanan uyarıları, santral sinir sistemine ileten vagal ve splanknik afferent sinirler ile zengin bir şekilde innerve edilmiştir. Afferent sinirler üç gruba ayrılabilir.

a) Hücre gövdeleri enterik sinir sistemi içinde olup yine enterik sinir sistemi içinde sonlananlar: Mukozanın irritasyonu, gastrointestinal sistemin distansiyonu veya lümen içindeki spesifik kimyasal maddelerin varlığı ile uyarılırlar. Bu lifler aracılığı ile iletilen sinyaller, intestinal motilitenin ve sekresyonun uyarılmasına ve inhibe edilmesine neden olurlar.

b) Hücre gövdeleri enterik sinir sistemi içinde olup aksonları ekstrinsik sinirler yoluyla prevertebral parasempatik ganglionlarda (çöliak, hipogastrik, mezenterik) sonlananlar.

c) Hücre gövdeleri spinal kordun dorsal kök ganglionlarında ya da kranial sinirlerin ganglionlarında bulunanlar: Bu lifler sempatik ve parasempatik sinir trunkusları ile beraber ilerleyerek sinyallerini doğrudan spinal korda ya da beyin sapına iletirler ve bu sinyaller gastrointestinal sisteme geri dönen ve fonksiyonlarını kontrol eden birçok afferent motor sinyaller oluşturur [27-29].

2.2.3 Peristaltizm

Peristaltizm, gastrointestinal sistemin temel ilerletici hareketi olup lümen içeriği tarafından barsak duvarının gerilmesi ile başlayan refleks bir yanıttır ve sindirim kanalının bütün bölgelerinde oluşur. Peristaltizmi başlatan diğer uyarılar, barsak yüzey epitelinin irritasyonu ve ekstrinsik sinir sinyalleridir. İntestinal kanalda bir segment, gerilme yoluyla uyarıldığı zaman peristaltik hareket başlarken, gerilen barsak segmentinin kranial tarafında kontraktıl halka ortaya çıkar; sonra gerilmiş segmente doğru ilerleyerek barsak içeriğini kaudal yöne doğru iter. Aynı zamanda, barsak kaudal yönde birkaç santimetre boyunca gevşer. Reseptif gevşeme adı verilen bu mekanizma, kimusun kranial yönden kaudal yöne daha kolay olarak ilerlemesini sağlar. Bu sırada lümen içeriği yaklaşık 2-2,5 cm/sn hızla kaudale doğru ilerletilir [27].

Peristaltik etkinlik, barsaktaki otonomik girdi ile azaltılabilir veya arttırılabilir, ancak dış innervasyondan bağımsızdır. Peristaltizm, enterik sinir sisteminin bütünleşmiş etkinliği için iyi bir örnektir. Lokal gerilme ile seratonin salınır, bu da myenterik

pleksusu etkinleştirecek duyuşal nöronları aktifler. Bu pleksusta retrograd yönde giden kolinerjik nöronlar, P maddesi ve Ach salgılayan nöronları aktifleyerek düz kasın kasılmasına neden olur. Aynı anda antegrad yönde giden kolinerjik nöronlar NO, VIP ve ATP salgılayan nöronları etkileyerek uyarının ön tarafında gevşemeye neden olurlar. Myenterik pleksus bulunmazsa, gerilme noktasının gerisinde kasılma, ilerisinde gevşeme ile karakterize komplike model ortaya çıkmaz. Bu nedenle bu komplekse genellikle myenterik (peristaltik) refleks adı verilir. Peristaltik refleks ve peristaltik hareketin kaudal yönde ilerlemesine barsak yasası denir [27,28].

Paralitik ileus, barsakların atonik halidir. Gastrointestinal traktusun normal peristaltizmini yapamaması sonucu gelişir. İtici peristaltizm tamamen kaybolmuştur. Sebepleri arasında peritonit, metabolik bozukluklar, abdominal cerrahi girişimler, ganglion bloke edici ajanlar ve sempatik refleks yer alır [30-31]. İleus sonrası, barsak lümeninde staza bağı bakteriyel aşırı çoğalma, barsak distansiyonuna sekonder mukozal iskemi, mukozal bariyer bozulması ve permeabilite artışı gibi faktörlerle gelişen bakteriyel translokasyon gerçekleşir. Sonuçta gelişen bakteriyemi sepsis patofizyolojisine katkıda bulunur.

2.3 Periton

Peritoneal boşluk vücuttaki en geniş damar dışı alanı oluşturur. İki kısmı vardır: Paryetal periton ve viseral periton. Karın duvarının iç yüzünü örten parietal periton transversalis fasyanın devamı olan endoabdominal fasya ile desteklenmektedir. İç organları örten bölüme viseral periton denir. Viseral periton parietal peritondan daha incedir, parankimal organlarda kapsül ve içi boş organlarda seroza olarak adlandırılır. Viseral periton karaciğer, safra kesesi, dalak, mide, uterus, over ve ince barsakları tamamen; pankreas, mesane ve kolonu kısmen sarar [32].

Peritoneal boşluk kadınlarda fallop tüplerinin açıklığı dışında tamamen kapalı olup küçük ve büyük omentum boşlukları olarak ikiye ayrılır. Küçük omentum boşluğu midenin arkasında yer alır ve bursa omentalis olarak adlandırılır. Her iki boşluk Winslow açıklığı sayesinde birbiri ile ilişkilidir [32].

Peritonun iki büyük kıvrımı vardır: İlki mezenter olarak adlandırılır ve arka parietal peritondan ince barsaklara uzanır. Yelpeze şeklindeki bu oluşum, ince barsakları karın arka duvarına bağlar ve her iki yaprağı arasında ince barsaklara ait arter, ven, lenfatikler ve sinirler yer alır. İkincisi ise omentum majustur. Mide ve transvers kolona tutunan viseral peritonun kendi üstüne kıvrılması sonucu meydana gelmiştir ve

bir önlük gibi barsakları örter. Büyük omentum fazla miktarda yağ depolar ve lenf ganglionları içerir. Karın içi enfeksiyonları sınırlamaya ve parietal peritona geçmesini engellemeye çalışır [33].

Periton yüzeyi tek sıra yassı mezotelyal hücrelerden oluşur. Kalınlığı ortalama 1 mm' dir. Parietal periton hem somatik hem otonom innervasyon alırken viseral periton sadece otonom innervasyon alır. Her iki periton yaprağında ağrılı uyarana duyarlılık açısından bölgesel farklılıklar söz konusudur [32].

Erişkinde periton yüzeyi tüm beden deri yüzeyine yakındır. Normalde parietal peritonla viseral periton arasında kayganlığı sağlayan yaklaşık 50 ml berrak, transüda karakterinde bir sıvı mevcuttur. Bu sıvıdaki hücrelerin antibakteriyel özelliği vardır. Normalde periton boşluğu sterildir [34].

Tüm periton yüzeyi su ve suda çözünen düşük molekül ağırlıklı maddelerin difüzyonuna katılırken partiküllerin emilimi sadece diafragmatik lenfatikler aracılığıyla olur. Diafragmanın alt yüzündeki özel lenfatik kanallar (lakunalar), mezotelyal hücreler arasındaki küçük delikler (stomata) aracılığıyla peritoneal boşluğa açılır. Buradan torasik kanal yoluyla subklavyen vene boşalır [33].

Karın zarı deliklerinin büyüklüğü 8-12 μm ' dir. Daha büyük partiküller ancak omentumdan emilir. Bakterilerin ortalama çapı 0,5-2 μm arasında olduğu için kolaylıkla karın boşluğundan temizlenirler [32].

Peritonun yaralanma ve enfeksiyona cevabı hızlıdır. Hasar 4 saat içinde yuvarlak hücreler tarafından kaplanır, tam iyileşme 1 haftayı bulur. Mezotelyal hücreler plasminojen aktivatörlerinden zengindir, dolayısıyla periton boşluğunda toplanan kan pıhtılaşmaz. Bu fibrinolitik etki peritonitte önemli rol oynar [32].

Peritoneal boşluğun bakteriler ile kontamine olması akut inflamatuvar cevabı tetikler. Bu cevapta en az 4 ana hücre tipi önemli rol oynar: Makrofajlar, mezotelyal hücreler, kapiller endotel hücreleri ve nötrofiller. Ayrıca trombositler, damar düz kas hücreleri ve fibroblastlar da inflamatuvar cevapta rol oynar [34].

2.4 Peritonit

Gelişmelere rağmen intraabdominal enfeksiyonların mortalitesi halen kabul edilemeyecek kadar yüksektir. Bu yüzyılın başında, intraabdominal enfeksiyonlar cerrahi olmayan yöntemlerle tedavi edildiğinde gözlenen mortalite %90 civarındayken, standart cerrahi yöntemlerin kullanılmaya başlandığı 1920'li yıllarda %40-50, antibiyotik kullanımıyla birlikte 1970'li yıllarda %30-70 olarak bildirilmiştir.

Antibiyotiklerin bu hastalardaki başarısızlığının nedenleri, peritonitin bakteriyolojik etyolojisi ve antibiyotiklerin farmakodinamisi ile ilgili yanlış bilgiler, altta yatan patofizyolojik olayların anlaşılabilmesi ve hastalığın tanımlanmasındaki zorluklar şeklinde yorumlanmıştır. 1970'lerden sonra sorunlar anlaşılmaya başlanmış ve gelişmeler sonucunda mortalite oranı %10-20 düzeyine inmiştir. Peritonit, peritonun bir kısmı ya da tamamının inflamasyonudur. Periton boşluğu normalde sterildir. Ancak herhangi bir kontaminasyon halinde inflamatuvar yanıt başlar ve peritoneal makrofajlar, mast hücreleri sitokinleri ve vazoaktif maddeleri üretmeye başlar. Bunlar da periton sıvısının kemotaksinler, opsoninler ve komplemanlar bakımından zenginleşmesini sağlar. Ardından biyokimyasal değişikliklerle birlikte periton ve subepitelyal bağ dokusunda masif sıvı birikimi olur. Bakteriler, lenfatikler tarafından hızlıca uzaklaştırılır ve sistemik dolaşıma geçerek sistemik savunma mekanizmaları ile karşı karşıya kalırlar.

Erken inflamasyon döneminde, hasarlanan damar endotelinden plazma ve fibrin eksüdasyonu olur. Yüzey prokoagulan aktivitesi aracılığıyla peritoneal makrofajlar, fibrin birikimini artırıp peritoneal yüzeye hücre agregasyonu ve adherensini sağlarlar. Enfeksiyon ilerledikçe olay periferik doğru ilerler ve makrofajlar ile fibrin birikimi, enfeksiyonu sınırlamaya çalışır. Piyojenik bir membran oluşturarak abseleşebilir. Doku hasarı ve bakteri yoğunluğu, konakçı savunmasının enfeksiyonu ortadan kaldırma kapasitesini aştığı zaman, abse oluşması efektif savunma olduğunu gösterir [35].

Peritonitte, peritonda lokalize inflamatuvar olay, üçüncü boşluklara sıvı kaybı ile hipovolemik şoka neden olabilir. Parolitik ileus, bakteriyel aşırı çoğalma ve bunların sonucunda gelişen bakteriyel translokasyon ile erken dönemde endotoksinler sistemik dolaşıma geçebilir. Bakteriemi, endotoksemi ve şok ciddi sistemik inflamatuvar cevabı aktive edebilirler. Dolaşımdaki serbest bakteriyel ekzotoksinler ve endotoksinler birçok organ fonksiyonunu olumsuz yönde etkiler. Sonuçta sepsis ve multiorgan yetmezliği tabloları gelişebilir. Organizmanın ani olarak endotoksinlerle yüklenmesi septik şoka neden olur. Başlangıçtaki hiperdinamik faz, hücrelerin oksijeni kullanamaması ve sirkülatuar sistemin bunu kompanse etmeye çalışması ile açıklanır. Son aşama organizmanın tükenmesine bağlı hipodinamik fazdır [35].

Sepsis; organizmanın patojenlere veya salgıladığı maddelere karşı verdiği sistemik yanıt olarak tanımlanabilir [36]. Bakteriyeminin sepsis tanısında şart olduğunu ilk kez 1980 yılında Krager ileri sürmüştü, ancak daha sonraki çalışmalarda konağın pasif

olmadığı, nonenfeksiyöz tetiklenmelerle de aynı yanıtın ortaya çıkabildiği ve enfeksiyon eradike edilse bile klinik yanıtın sürebildiği ortaya konmuştur [37]. Sepsis kriterleri içinde tanımlanan hasta grubunun tedaviye aynı şekilde yanıt vermeyen, heterojen bir grup olduğu sonucuna yıllar içinde varılmış ve genetik polimorfizmlerin mortaliteyle ilişkileri ortaya konmaya başlanmıştır [26,38,39]. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) ise, enfeksiyöz veya nonenfeksiyöz bir tetikleme mekanizmasıyla, organizmada ortaya çıkabilecek abartılı sistemik inflamatuvar yanıttır. Neden ne olursa olsun organizmanın yanıtı ilk olarak SIRS tablosudur [40,41].

1991 yılındaki konsensus toplantısında varılan ve “American College of Chest Physicians” ve “Society of Critical Care Medicine”da yayınlanan sonuçlara göre; sepsisli hastalarda inflamatuvar yanıtın aşamaları belirlenmiş ve kanıtlanmış enfeksiyon odağı ile birlikte sistemik inflamatuvar reaksiyon sendromunun bulunmasını sepsis, uygun sıvı resusitasyonuna rağmen hipotansiyon, organ yetmezliği ve hipoperfüzyon olmasını ise septik şok olarak tanımlanmıştır [42].

Sepsis, vücuttaki bir enfeksiyon odağından, bakteri veya diğer patojenlerin kan dolaşımına geçmesi sonucu gelişen sistemik bir cevaptır. Sepsiste enfeksiyonun klinik belirtisi ile birlikte enfeksiyona karşı sistemik cevabın bir belirtisi olan aşağıdaki özelliklerin de bulunması gerekmektedir;

-Vücut ısısı $>38^{\circ}\text{C}$ veya $<36^{\circ}\text{C}$

-Kalp hızı >90 atım/dk.

-Solunum hızı >20 /dk. veya $\text{PaCO}_2 <32$ mmHg.

-Beyaz küre >12000 , <4000 veya $\%10 >$ genç (çomak) hücrelerin olması

Şiddetli sepsis, sepsisle birlikte yetersiz organ perfüzyonu belirtilerinden bir ya da daha fazlasının bir arada bulunması durumudur. Bu belirtiler:

-Mental değişiklikler

-Hipoksemi

-Oligüri

-Plazma laktat düzeyinde artma

-Hipotansiyon

-Koagülopati şeklinde olabilir.

Septik şok, sepsiste uygun ve yeterli sıvı tedavisine rağmen hipotansiyonun diğer nedenleri olmaksızın sistolik kan basıncının 90 mmHg'dan küçük olması veya önceki düzeyden 40 mmHg'dan fazla düşmesi ile ortaya çıkan ve perfüzyon bozukluğu ile

seyreden klinik tablodur. Eğer hipotansiyon, sıvı ve vazopressör tedaviye 1 saat içinde cevap verirse erken septik şok, vermezse dirençli (refrakter) şok olarak adlandırılır [36]. Multipl organ disfonksiyonu sendromu (MODS), genellikle sepsis ve septik şokun ileri dönemlerinde karşılaştığımız, organ sistemlerinde homeostazın müdahale olmaksızın sürdürülmesine imkan vermeyen bozuklukların olmasıyla karakterize, mortalitesi çok yüksek bir klinik durumdur. İlk kez 1969 yılında Shillman tarafından yoğun bakım hastalarında eroziv gastritten sonra gelişen, sepsis ve sarılıkla karakterize bir tablo tarif edilmiştir. 1973'te Tinlen ve Bailey rüptüre aort anevrizması onarımını takiben ortaya çıkan organ-sistem yetmezliğini vurgulamışlardır. MODS tanısı için; 1989'da Knaus tarafından ortaya konulan 5 organ/sisteme ait yetmezlik bulguları şematize edilecek olursa, şu bulgulardan en az ikisinin 24 saatten fazla bulunması gereklidir [36].

Kardiovaksüler sistem:

- Kalp hızı <54/dk.
- Ortalama arterial basınç <49 mmHg
- Ventriküler taşikardi veya fibrilasyon

Respiratuar sistem:

- Solunum hızı <5/dk. veya >49/dk
- pH <7,24 ve PaCO₂ >49 mmHg veya PaO₂ <50 mmHg
- Ventilatöre bağımlılık

Renal sistem:

- İdrar çıkışı <479 ml/24 h
- Serum BUN >100 mg/dl
- Serum kreatinin >3,5 mg/dl

Hematolojik:

- Lökosit sayısı <1000/mm³
- Trombosit sayısı <20000/mm³
- Hct <%20

Nörolojik:

- Glasgow koma skoru <6

Sepsiste, inflamatuvar olaylardan etkilenen sistemlerden biri de barsaklardır. İntestinal immüneyi sağlayan, mukoza ilişkili lenfoid dokunun (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) bir parçası olan barsak ilişkili lenfoid doku (gut-associated lymphoid tissue, GALT) bu etkilenmenin asıl sorumlusudur. GALT'nun üç komponenti

vardır. Peyer plakları (PP), intraepitelyal lenfositler ve lamina propriada yer alan lenfoid hücreler (plazma hücreleri, B ve T lenfositler, diğer mononükleer hücreler). PP, distal ileumda bulunan lenfoid folliküllerden oluşur [43]. Plazma hücrelerinden salınan sekretuar immünglobulin A (IgA) bağladığı antijeni, follikülle ilişkili epitel içinde yer alan ve antijen bağlamak için özelleşmiş M hücrelerine iletir. PP'nın subepitelyal kısmına ulaşan sekretuar IgA, kemik iliği kaynaklı antijen sunulan hücrelere (APC) (dendritik hücreler, CD4+ T hücreleri ve B hücreleri) bağlanır. Dendritik hücrelerin matüritesi, farklı sitokin yanıtlarından sorumludur. İmmatür dendritik hücreler besinlerdeki proteinlere karşı yanıt oluştururken, matür dendritik hücreler sistemik inflamatuvar olaylarla aktiflenir [44]. Sistemik inflamasyonda rol alan nötrofillerin yüzeyinde, mikroorganizmaları ve ürünleri tanımasında aracılık eden, hücreler arası sinyal iletiminde rol oynayan ve doğal immun yanıtı başlatan, transmembran domainine sahip, iletici yüzey proteini olan Toll like reseptörler (TLR) tanımlanmıştır. TLR ile aktive olan dendritik hücreler inflamatuvar sitokinleri salgılar [45]. İntestinal muskularis propriada, proinflamatuvar sitokinlerin indüklenmesiyle inflamatuvar lökositler muskuler tabakaya ekstravaze olur. Salınan sitokinlerin çoğu, intestinal düz kasların kontraktilitesini doğrudan inhibe ederek ileusa neden olur [46,47].

İdiyopatik veya spontan peritonit olarak adlandırılan primer peritonit, periton boşluğunun karın içi organlardan kaynaklanmayan bakteriyel enfeksiyonudur. Bakterilerin periton boşluğuna ulaşması %50 olguda kan, diğer olgularda ise transdiyafragmatik lenfatikler yoluyla, diyaliz kateteri, ventriküloperitoneal şantlar gibi yabancı cisimler, genital, üriner ve sindirim sisteminden translokasyonla veya direk yayılımla olur. Çoğunlukla batın içi organların inflamasyonu, perforasyonu veya delici karın yaralanmaları sırasında ortaya çıkan tablo sekonder peritonittir [35]. Tersiyer peritonit ise; peritonit ve sepsisi olan hastalarda, tedavide cerrahi girişim uygulananlarda ve başarılı antibiyotik tedavisi uygulananlarda gelişir. Konakçı defans yetmezliği söz konusudur. Bu hastalarda tanımlanmış bir enfeksiyon odağı olmaksızın sepsisin klinik bulgusu vardır ve genellikle rekürren veya rezidüel enfekte sıvıların drenajı için gereksiz laparatomiler uygulanmıştır. Sıklıkla hiçbir patojen yoktur veya düşük patojenitesi olan koagulaz negatif stafilokok ve mantarların neden olduğu bir tablo söz konusudur [35].

Neden ne olursa olsun batın içi enfeksiyon periton, barsaklar ve onu takiben sekonder endokrin, kardiak, respiratuvar, renal ve metabolik olaylara yol açan sıvı

kompartmentini ilgilendiren lokal ve sistemik cevap olarak ortaya çıkar. Bu patofizyolojik cevap, klinik olarak görülen belirti ve bulguları açıklar.

Klinikte genellikle karın ağrısı vardır. Başlangıçta, ağrı otonom sinir sistemi irritasyonuna bağlı olarak özgül olmayabilir ve çoğunlukla peritoneal inflamasyonun en fazla olduğu bölgededir. Ağrı şiddetinin zamanla azalması inflamatuvar olayın lokalize olduğunu, artması ise yaygın peritonit geliştiğini düşündürür.

Hemen her zaman iştahsızlık, bulantı vardır, bazen kusma eşlik eder. Susuzluk hissi, titreme ile yükselen ateş (38-40°C) vardır. Karın ağrısı nedeni ile yüzeysel solunum mevcuttur. Batın distansiyonu vardır. Batında hassasiyet, defans, rebound mevcuttur. Erken dönemde ishal olabilir ve barsak sesleri duyulabilirken, inflamasyon yayıldıkça parolitik ileus yerleşir ve barsak sesleri duyulamaz. Taşikardi ve zayıf periferik nabız hipovolemiyi gösterir. Hipovolemi ilerledikçe şok tablosu yerleşir.

Lökositoz sık görülür, ancak masif peritoneal inflamasyon bölgeye lökosit mobilizasyonuna yol açarak periferik lökopeniye neden olabilir. Lökositozun 25000/mm³' ün üzerinde veya lökopeninin 4000/mm³' ün altında olması ile mortalite artar [35].

Tedavide amaç mortalite ve morbiditenin azaltılmasıdır. Patojenlerin daha iyi tanımlanmaları, bunlara etkin antimikrobiyal tedavinin kullanımı, erken cerrahi prensiplerinin uygulanması ve cerrahi tekniklerindeki gelişmeler ile mortalite son yıllarda %30'un altına inmiştir. Erken cerrahi tedavi prensipleri;

- a) Enfeksiyon kaynağının kontrolü ve ortadan kaldırılması,
- b) Bakteri, toksin ve nekrotik materyalin konsantrasyonunun azaltılması veya ortadan kaldırılması,
- c) Rezidüel bakterilerin ilaçla tedavisi,
- d) Organ fonksiyon bozukluklarının düzeltilmesi

Cerrahi tedavide ise amaç, batın içindeki pürülan ve nekrotik materyali temizlemek, enfeksiyöz odağı ortadan kaldırmaktır [35].

Karın içi enfeksiyonlar şu şekilde sınıflandırılmıştır:

2.4.1 Primer Peritonitler

- a) Spontan peritonitler: Primer peritonit genellikle karın dışı odaktan kaynaklanan bir enfeksiyonun hematogen yayılımı sonucu olur. Çocuklarda üriner veya respiratuar sistemdeki pnömokok enfeksiyonları, nefrotik sendrom ve lupus eritematozus gibi başlıklar en sık sebep iken, erişkinde siroz ve bazı immün yetmezlik durumları en sık

görülen sebeplerdir. Primer peritonit olduğu kesinleşmiş ise etken olan mikroorganizmaya yönelik antibiyoterapi başlanmalıdır [33].

b) Periton içi protezlere bağlı peritonitler: Bu başlık altında peritoneal diyaliz, peritoneovenöz şant ve ventriküloperitoneal şant kaynaklı peritonitler kastedilmektedir. Tedavide amaç kaynağın ortadan kaldırılması ve uygun antibiyoterapidir [32].

c) Granülomatöz peritonitler: Tüberküloz peritoniti, actinomyces peritoniti, candida peritoniti ve amip peritoniti bu başlık altında incelenir [32].

2.4.2 Sekonder Peritonitler

a) Perforasyona bağlı peritonitler: Sekonder peritonitlerin % 80'ini oluşturur. Mide ve duodenum perforasyonlarında başlangıçta peritonit kimyasal özellikteyken, daha sonra translokasyon nedeniyle bakteriyel peritonite dönüşür. Tüm peritonitlerin % 22'si kolon perforasyonlarına bağlıdır. Solid organlardaki abselerin rüptürü de sekonder peritonit yapar. Nekrotizan pankreatitteki bakteriyel peritonitin sebebi gastrointestinal sistemden bakteri translokasyonudur [32].

b) Postoperatif sekonder peritonitler: Sekonder peritonitlerin % 10-20'sini oluşturur. Genellikle 4-7. gün arası anastomoz bölgesinden olan kaçağa bağlıdır.

c) Posttravmatik sekonder peritonitler: Künt veya penetran travma sonrası içi boş organ rüptürleri olabilir. Künt travmalarda perforasyon bazen geç dönemde oluşabilir, bu yüzden tanı yöntemlerinden gerektiğince faydalanılmalıdır. Penetran yaralanmalarda erken dönemde karın içi enfeksiyon olarak kabul edilmez. Amerika ve Avrupa cerrahi enfeksiyon dernekleri 24 saatten az zaman geçmiş gastrointestinal traktus perforasyonlarını karın içi enfeksiyon olarak kabul etmemektedir [32]. Karın içi enfeksiyonlar polimikrobial olmasına rağmen belli organizmaların daha fazla ürettiği gözlenmiştir. Gram negatif basiller özellikle E. coli en sık görülen aerob bakteridir. Anaeroblardan ise en sık Gram negatif bacteroidesler (özellikle B. fragilis) daha sonra da clostridia ve peptokoklar üremiştir. Peritoneal inflamatuvar cevabın iki önemli parçası olan peritoneal sıvı ve fibrin fazla miktarda olduğu zaman enfeksiyonu artırıcı rol oynar. Deney hayvanlarında E. coli ile beraber izotonik verildiğinde sıvı miktarı ile doğru orantılı olarak enfeksiyon şiddetlenmektedir. Sıvının opsonize edici proteinleri seyrelttiği ve fagositozu engellediği öne sürülmektedir. Deney hayvanlarında periton içine dışkı konarak oluşturulan peritonitlerde iki evre izlenir.

Birinci haftadaki peritonit evresinde mortalite yüksektir ve peritoneal sıvı kültürlerinde E. coli ürer. Daha sonra abse evresi takip eder, bu dönemde mortalite pek

olmaz ve hemokültürde üreme beklenmez. Abse içeriğinin kültüründe ise zorunlu anaeroblar ürer. Sekonder peritonitli hastalarda ameliyat öncesi ve sonrası yeterli destek tedavisi verilmeli, uygun ve geniş spektrumlu antibiyoterapi sağlanmalıdır. Cerrahi tedavi ise asıl sebebi yok etmeye yönelik olmalıdır.

2.4.3 Tersiyer Peritonitler

Karın içi enfeksiyonlarda konakçı defans yetersizliği sonucu oluşur. Akut süpüratif peritonitlerin çoğu cerrahi ve antibiyoterapi ile tedavi edilirken bazen enfeksiyon sınırlı bir odakta (abse) devam edebilir. Daha nadir olarak da enfeksiyon bulguları olduğu halde belirli bir odak bulunamaz. Klinik olarak hiperdinamik kardiyovasküler bulgular, lökositoz ve hipermetabolik bir tablo vardır. Multisistem organ yetmezliği gelişebilir. Tedavide amaç multisistem organ yetmezliğini önlemektir. Destek tedavisi, antibiyotik tedavisi ve gerekirse cerrahi ile kombine edilebilir.

2.4.4 Karın İçi Abseler

Çevre dokudan fibröz bir kapsül ile ayrılmış pürülan sıvı koleksiyonlarıdır. Genellikle nekrotik doku ve bakteri içerdikleri halde bazen steril olabilirler. Abselerin sekonder peritonitlerden sonra gelişmesi daha sıktır. Abse oluşumu başarılı bir peritoneal savunma mekanizmasının göstergesidir. Patojenler sınırlandırıldığından diffüz peritonitlere oranla prognoz daha iyidir [34].

2.5 İnflamasyon

Organizmanın, hücre hasarı oluşturacak uyarılara karşı vaskülarize konnektif dokuda verdiği koruyucu yanıtıdır. Amaç, organizmayı hücre hasarı oluşturan uyarandan ve bu hasarın sonucunda oluşan nekrotik materyal ve dokulardan temizlemektir. İnflamatuvar yanıt konnektif doku, plazma, dolaşan hücreler ve kan damarlarını içerir. İki tip inflamasyon mevcuttur. Akut inflamasyon, nisbeten kısa süreli, birkaç dakika ila birkaç gün arasında olup esas özellikleri plazma protein ve sıvısının eksudasyonu, lökositlerin migrasyonudur. Kronik inflamasyon ise, daha uzun sürelidir ve histolojik olarak lenfositler ve makrofajların bulunuşu, kan damarları proliferasyonu ve konnektif dokunun mevcudiyeti ile birliktedir [48].

2.5.1 Akut İnflamasyon

Organizmanın hücre hasarı oluşturacak uyarana karşı verdiği ani ve erken yanıtıdır. Üç majör komponenti vardır. Kan akışında artışa neden olan damar çapındaki değişiklikler, plazma protein ve lökositlerinin sirkülasyondan dışarı çıkmasına yol açan

mikrosirkülasyondaki striktürel değişiklikler, mikrosirkülasyondan lökositlerin migrasyonu ve hasar bölgesinde toplanması.

Hasarlı bölgede artan kan akışı ile karakterize vasküler olay, arteriolar dilatasyon ve kapiller yatağın açılmasıyla meydana gelir. Artan vasküler permeabilite, proteinden zengin ekstrasvasküler sıvı birikimine neden olur ve eksudayı meydana getirir. Plazma proteinleri, damarları ya venüllerin genişlemiş intraendotelyal hücre bileşkelerinden veya doğrudan endotelyal hücre incinmesiyle terk eder. Başlıca nötrofiller olmak üzere lökositler, önce adezyon molekülleriyle endotele yapışır, sonra mikrosirkülasyonu terk eder ve kemotaktik ajanların etkisi ile hasarlı bölgeye doğru göç ederler. Bunu, hasar oluşturan etkenin fagositozu takip eder ve bu da mikroorganizmanın ölümüne yol açabilir. Kemotaksis ve fagositoz esnasında aktive lökositler toksik metabolitleri ve proteazları ekstrasellüler olarak açığa çıkarabilir ve bu da endotelyal ve doku hasarına yol açabilir [48].

2.5.2 Kronik İnflamasyon

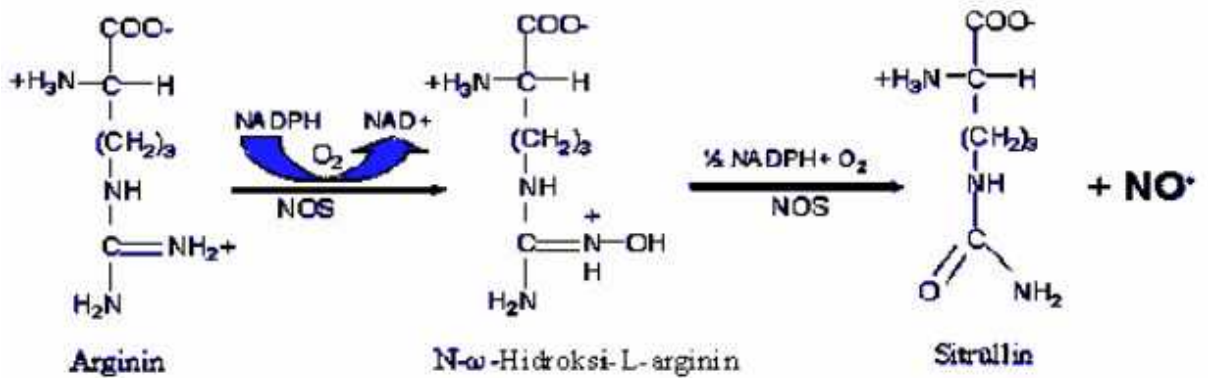
Akut inflamasyonu takiben gelişebilir veya hasarlanmanın başından itibaren kronik olabilir. Akut inflamatuvar yanıt, hücre hasarı oluşturan uyarının devam etmesi halinde ya da normal iyileşmedeki bazı bozukluklarda kronik hale geçebilir. Çoğu durumlarda kronik inflamasyon primer olay olarak başlar. Genellikle, akut inflamasyona yol açan uyarılara göre daha az toksik ajanlara maruziyet söz konusudur. Düşük toksisiteli intrasellüler mikroorganizmalarla gelişen persistan enfeksiyonlar, parçalanamayan cansız materyale (silika inhalasyonu) uzun süre maruz kalma veya bazı otoimmün reaksiyonlar kronik inflamasyona yol açar. Kronik inflamasyon makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerini, doku detruksiyonunu ve fibrozisi içeren özellik taşıyır [48].

2.5.3 İnflamasyonun Kimyasal Mediatörleri

İnflamasyonun vasküler ve sellüler yanıtları, plazma ve hücrelerden çıkan ve inflamatuvar stimulusla meydana gelen kimyasal faktörlerle ortaya çıkmaktadır. Bu kimyasal mediatörler ve sitokinler, bir arada veya sırayla etki yaparak inflamatuvar yanıtı oluştururlar. Mediatörler, aktive edilince veya hücreden salınıncaya çoğu bozulur veya inaktive olur. Bu şekilde, mediatör etkilerinin ayarlanmasında kontrol ve denge sistemi vardır. Hemen tüm mediatörler, hedef hücredeki spesifik reseptöre bağlanarak biyolojik aktivitelerini meydana getirirler. Nitrik oksit, sitokin aktivasyonunun bir mediatörü olarak sepsis ve inflamatuvar olaylarda temel rol oynar [48].

2.6 Nitrik Oksit

Seksenli yıllarda Furchgoit ve Zmadvzki organ banyosunda izole arter preparatlarında, asetilkolinin (Ach) oluşturduğu gevşemenin endotelyuma bağımlı olduğunu ve bu etkinin labil bir madde salınımı ile sağlandığını göstermişlerdir. Bu faktör “endothelium-derived relaxing factor (endotel kaynaklı gevşetici faktör)” (EDRF) olarak adlandırılmıştır [49]. Yapılan çalışmalarda EDRF olarak isimlendirilen bu maddenin NO olduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir [50]. NO kimyasal stabilitesi olmayan, reseptöre bağımlı olmadan kolayca difüze olabilen ve düşük moleküler ağırlıklı oldukça lipofilik bir maddedir. NO, L-arjinin'den Nitrik Oksit Sentaz (NOS) olarak adlandırılan 3 enzim tarafından sentezlenir ve salıverilir. NO sentezi için gerekli olan L-arjinin önemli oranda organizmada protein sentezi ve metabolizmasıyla elde edilmektedir. L-arjinin'in hücre içine geçişi endotelyum hücresi içinde yer alan γ^+ sistemi ile sağlanmaktadır. Bu sistem fizyolojik konsantrasyonlarda L-arjinin'in önemli bir miktarının membranlardan geçişini sağlayan yoldur [51]. Sitokrom p-450 redüktaz homoloğu olan NOS enzimi, L- arjinin'den NO sentezinde NADPH, kalmodulin, oksijen, 'heme', flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), tetrahidrobiyopterin (BH4) gibi çeşitli kofaktörleri kullanmaktadır.

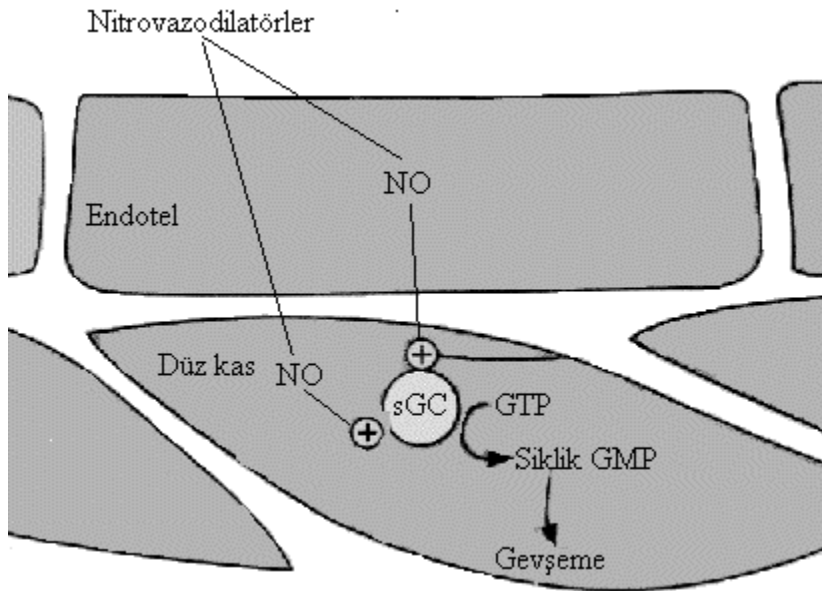


Şekil 2.1 Nitrik oksidin NOS enzimi etkisiyle L-arginin amino asidinden sentezlenmesi

L-arjinin'den NO sentezini katalizleyen üç NOS izoenzimi vardır [52]. Bunlardan ikisi endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) kalsiyum bağımlıdır ve yapısal enzimler olarak adlandırılırlar. Yapısal NOS enzimlerince üretilen NO'nun bazal bir salınımı vardır. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

(iNOS) enzimi ise kalsiyumdan bağımsız olup, sitokin ve endotoksinler tarafından indüklenir, patolojik durumlarda aktive olur [53]. Bu enzimler eNOS, nNOS, iNOS sırasıyla 7, 12 ve 17. kromozomlar üzerinde üç farklı gen tarafından kodlanmaktadır [52].

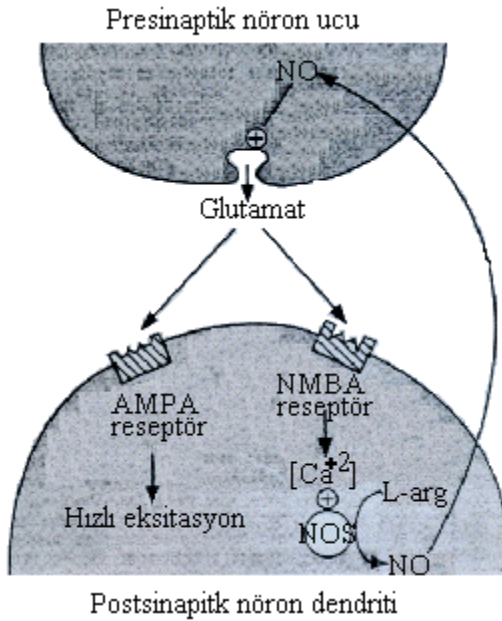
Endotelial NOS (eNOS) : Aynı zamanda isoform 3 olarak ta isimlendirilir, ilk olarak vasküler endotelium hücrelerinde yapısal olarak tanımlanmıştır. Daha sonraları endotelium hücreleri dışında nöronlarda olmak üzere birçok hücrede bulunduğu gösterilmiştir. Endotelial NOS enzimi tarafından NO üretilebilmesi için; heme grubu ve NADPH 6(R)-5, 6, 7, 8'in, (BH₄) -flavin adenin nükleotid ve -flavin mononükleotid ile birleşmesi gerekmektedir. BH₄ ile eNOS birleştiğinde enzim kararlı hale gelirken ortamda L-arjinin varlığı bu kompleksi daha kararlı bir hale getirir. Enzimin fosforile olmasını takiben sinyal yolları ile sinyal transdüksiyonu olur. G proteini aktifleşerek glikoprotein ile birleşir ve burada inozitoltrifosfat (IP₃) üretilir. Üretilen IP₃ tarafından Ca⁺², un hücre içine geçişi ve böylece hücre içindeki miktarı artar. Hücre içinde artmış Ca⁺² miktarı kalmodulinin aktive olmasına yol açar. Böylece protein kinaz özelliği gösteren bir protein aktifleşir [51]. NOS enziminin aktivasyonu ile L-arjinin'den NO sentezlenir. Oluşan NO endotel hücrelerinden düz kas hücrelerine difüze olur, burada solubl guanilil siklazı aktive ederek cGMP' yi artırır ve gevşemeye yol açar [52].



Şekil 2.2 Nitro bileşiklerinin endotel ve düz kas hücrelerinde NO' e dönüşümü

Endotelial NOS'un damar endoteliumu, iskelet kasları, kardiyak myozitler, plateletler gibi birçok hücrede varlığı gösterilmiştir. Endotelium dışında nöronlar, epidermal keratinositler, fibroblastlar, eraktör pili kası ve apokrin gland hücrelerinde mevcuttur. eNOS vasküler tonusun düzenlenmesi, lökositlerin endoteliuma adezyonu, platelet agregasyonunun ve damar düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi, renal oksijen tüketimi ve anjiyogeneziste rol almaktadır. Kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını doğrudan aktive ederek vasküler düz kaslarda endotelium bağımlı hiperpolarizasyona yol açmaktadır [52].

Nöronal NOS (nNOS) : nNOS enzimi isoform 1 olarak ta isimlendirilir. İlk olarak sinir dokularında yapısal olarak var olduğu gösterilmiştir. nNOS hem nöronal hem de epiteliyal hücrelerde mevcut olup non-adrenerjik non-kolinerjik sinir uçlarından salınmaktadır. NO sentezinde eNOS enziminden farklı olarak nNOS enzimi monomerler yapılarından "heme" ve demir gruplarının bağlanmasıyla gevşek bir şekilde dimer yapılar oluşturur. "Heme"'in bağlanması ile birlikte hücre içi Ca^{+2} seviyesi artmaya başlar [54].

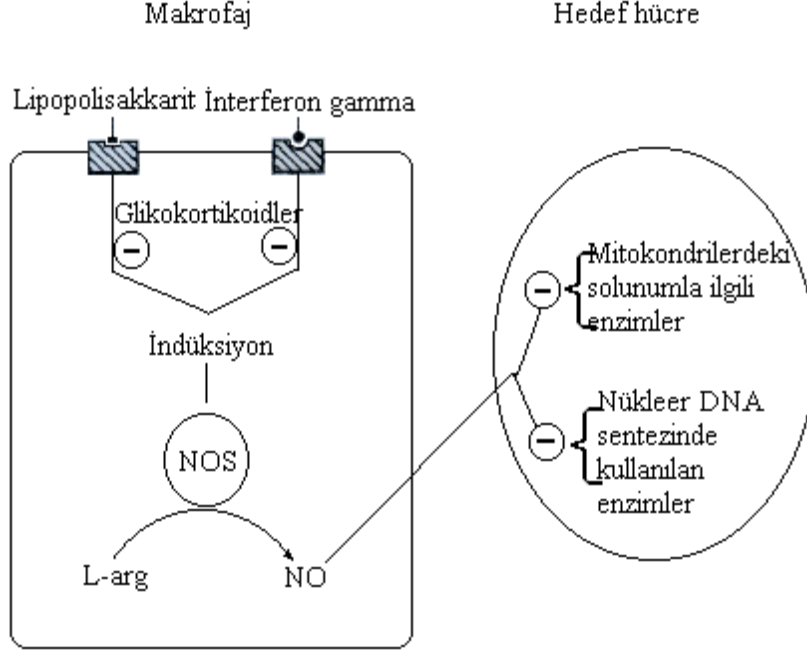


Şekil 2.3 Beyin dokusunda Arjinin-NO yolu

Nöronal NOS beyindeki serebellum, olfaktor bulbus, hipotalamus, orta beyin, corpus striatum, hipokampus ve medulla oblongata gibi dokulardaki nöron popülasyonundan salınır ve nörotransmisyon için NO üretir, ayrıca nöronal plastisite ve

ağrı duyusunu dzenler. nNOS esas olarak nronlarda sentezlenirse de vucutta birçok dokuda varlığı gösterilmiştir. alışmalar gstermiştir ki nNOS iskelet kasında dominant NOS isoformudur ve nromuskuler sonplak bglgesinde grece daha yoğundur. İskelet kas liflerinde mitokondri, sitoplazma ve sarkolemmada mevcuttur. Özellikle iskelet kas sisteminde tip I liflerinde ve tip II liflerine ggre daha yoğun bulunur. Pilorik sfinkter kasında grece daha yoğun olmakla birlikte hem gastrik hem intestinal dız kaslarda vardır. Akciğerlerde havayolu epitel hcrelerinde olmamakla birlikte kapiller endotelial hcrelerinde varlığı saptanmıştır. Burada muhtemelen kapiller permeabilitenin dzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bbbreklerde en fazla makula densa olmak uzere glomeroller, damar yatakları ve birçok tbbul segmentlerinde bulunur. Medoller nNOS aktivitesi korteksten daha fazladır [52].

İnduklenebilir NOS (iNOS) : İsoform 2 olarak ta adlandırılan bu enzim vucutta yapısal olarak bulunmaz. Kalmoduline çok sıkı bağlandığı için bu enzim kalsiyum bağımlı değildir. iNOS proinflamatuvar sitokinler ve bakteriyal urunlere ait çeşitli sinyal molekulleriyle induklenebilir [52,55]. İnflamasyona maruz kalan iNOS enziminin uyarılması genel olarak 3-4 saat sonra meydana gelir ve enzim bir defa uyarıldığında 24-48 saat boyunca NO uretilir [56]. İlk olarak makrofajlarda tariflenmiştir [57]. Bununla birlikte bugun notrofiller, hepatositler, vaskuler dız kas hcreleri, endotelial hcreler ve kardiyomiyositler gibi diğer hcrelerde de bulunduğu gsterilmiştir [58-61]. iNOS tarafından uretilen NO duzeyinin artritis, greft reddi, diabet, ateroskleroz ve septik şokta gorulen doku yıkımındaki immunolojik cevaplarla ilgili olduğu gsterilmiştir [62-66].



Şekil 2.4 Makrofaj kaynaklı NO, bakteri, parazit ve tümör hücrelerinde çeşitli enzimlerin fonksiyonunu etkileyerek sitotoksik etki yapmaktadır.

2.6.1 Nitrik Oksit'in Fizyolojik Önemi

NO büyük arterlerden en küçük kapiller damarlara kadar bütün endotelial dokularda bulunmakta ve sağlam damar endotelinden bazal bir hızda üretilmektedir. Vasküler endotelyumdan düşük düzeylerde salınan NO damar tonusunun ve arteriyel kan basıncının ve lokal kan akımının düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. NO, cGMP üzerinden vasküler düz kaslarda gevşemeye yol açarak vazodilatasyonu sağlamakta ve NO salınımındaki azalma kan basıncının yükselmesine neden olmaktadır [67, 68]. Damar sürtünme stresi, artmış lümen içi basınç ve kan basıncı gibi farklı mekanik faktörler damarlarda NO üretimi için fizyolojik bir tetikleyicilerdir [69, 70]. NO sentezi için gerekli olan L-arjinin ve/veya kofaktör düzeyinde eksiklik gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak NO biyoyararlanımında azalma meydana gelebilir. NO, endotelyum hücresi ve düz kas hücre proliferasyonunu önleyerek vasküler büyümenin modülasyonunu sağlar. NO vasküler düz kas hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu inhibe eder [71, 72]. NO vasküler tonusun düzenlenmesi yanında platelet inhibisyonu, nötrofil agregasyon ve adezyonunun inhibisyonunu sağlar [73, 74]. Aynı zamanda NO endotelyum yüzeyinde antitrombotik etkinliğe sahiptir, böylece damar duvarında platelet agregasyonu ve adezyonunu inhibe eder.

NOS inhibisyonu mikrovasküler geçirgenliği artırarak lökositlerin göçünü ve adezyonunu artırmaktadır. Buna göre NO lökosit adezyonunu, aktivasyonunu ve agregasyonunu azaltır [74]. Damarlarda monosit ve granüositlerin adezyonu yapısal NOS enzimlerinin stimülasyonunu takiben azalmaktadır [75]. NOS inhibitörü olan L-NAME ile platelet ve lökosit adezyonu artmaktadır [76].

Tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki demir-sülfür taşıyan enzimler makrofaj hücrelerinde sentezlenen NO tarafından nitrolize edilir, böylece NO antimikrobiyal, antitümöral, sitotoksik ve sitostatik etkiler gösterir. Bu özellik NO'ya vasküler, immün ve nöronal sinyal molekülü olmasının yanı sıra antibakteriyal, antiviral etkinlik kazandırır [77].

NO santral ve periferik sinir sisteminde non-adrenerjik non-kolinerjik sinirlerde bir nörotransmitter olarak etkinlik gösterir. Santral ve periferik sinirlerde NO katekolaminlerin salgılanmasından sorumludur [78,79]. Sempatik uyarıya beyin sapında nükleuslarının aktivitesini ve sempatik uyarıya kardiyak cevapları zayıflatır [80,81]. NO tek başına hem peroksinitrit oluşturarak hem de süperoksit ile kombine olarak transmitter salınımındaki artışı etkileyebilir [82]. Özellikle santral motor nöronların aktivitesini ve vagal stimülasyona kardiyak cevabı artırır [80,81,83].

NO gastrointestinal sistem, mesane sfinkter fonksiyonları ve penil ereksiyonun sağlanmasında rol oynamaktadır [84]. Barsakta splanik kan akımını, barsak hareketlerini ve iyon transportunu düzenler [85, 86].

Böbrek dokularında sentezlenen NO, glomerüler filtrasyon hızını, total renal ve medüller kan akımını, basınç natriürezini, epiteliyal Na⁺ transportunu ve renin gibi vazoaaktif ajanların sentezini düzenlemektedir [87, 88].

2.6.2 Patofizyolojik Süreçlerde Nitrik Oksit'in Rolü

NO vasküler tonusun düzenlenmesinde, nöronal iletişimde ve vücut savunması gibi birçok fizyolojik süreçte anahtar bir sinyal molekülüdür. NO aynı zamanda esansiyel bir molekül olup, her zaman faydalı değildir. NO insan vücudunda doz bağımlı bir şekilde etki göstermektedir. Örneğin kan basıncı dolaşımdaki NO seviyesinin fizyolojik sınırlarda dengeli bir biçimde sürdürülmesiyle ayarlanmaktadır. Bunun yanında endotoksik şokta görüldüğü gibi çok büyük miktarda NO salgısı ölüme götüren dolaşım yetmezliğine yol açabilmektedir. NO başta antiaterojenik, antiproliferatif ve antitrombotik olmak üzere çok çeşitli etkilere sahiptir. Bu nedenle aterosklerozis için risk faktörleri olan hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diabetes ve sigara kullanımı gibi

farklı patolojik durumların fizyopatolojisinde NO üretiminin ve/veya biyoaktivitesinin kaybı önemli bir rol oynamaktadır. Esansiyel hipertansiyonlu hastaların damarlarında ve plateletlerinde NO oluşumunda azalma vardır. Esansiyel hipertansiyon koroner arter hastalığı için bir risk faktörü kabul edilmektedir. Koroner aterosklerozlu hastalarda koroner arterlerden NO salınımı ile hipertansiyon ve bozulmuş Ach gevşemesi arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Aynı araştırmacılar hiperkolesterolemik hayvanlara ve insanlara L-arjinin verildiğinde bozulmuş olan endotelial NO üretiminin düzeldiğini ve ilişkili vasküler lezyonların azaldığını bildirmişlerdir [89]. Özellikle tip I diabeti olan hastalarda bazal NO salınımının yetersiz olması hastalığın belirgin özelliği olan trombotik mikroangiopatiye katkıda bulunabilmektedir [90]. Septik şokta ise aktive olan hücrelerden aşırı miktarda NO salınımı ağır hipotansiyona yol açmaktadır [66]. NO ve/veya metabolitlerinin birçok hastalıkta arttığı ya da azaldığı gösterilmiştir. Özellikle inflamasyon ve infeksiyon durumlarında NO ve/veya metabolitlerinin arttığı bildirilmiştir. İnflamatuar barsak hastalığı olan kişilerde ve gut hastalığının hayvan modellerinde NO ve metabolitleri artmaktadır [91,92]. Dizanterili hastaların kolonik mukozasının epitelial hücre yüzeyinde iNOS ve eNOS genlerinin ekspresyonu özellikle akut dönemde belirgin olarak artmıştır [93]. Ek olarak kolerada da, özellikle akut dönemde NO_2^- ve NO_3^- konsantrasyonunda da anlamlı bir artma bulunmuştur [94].

Serebral iskemi veya epilepside aşırı NO üretimi nörotoksositeye yol açmaktadır. Ortamdaki yüksek miktardaki NO ile aşırı derecede uyarılma sinir hücrelerinin tahribine yol açar. Beyin hasarı olan hastalarda serebrospinal sıvıda NO_x düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte plazma ve idrar NO_x düzeylerinin intratekal NO üretiminin belirleyicisi olarak kullanılamayacağı gösterilmiştir [95].

2.6.3 İnflamasyon ve Sepsiste Nitrik Oksit'in Rolü

Nitrik oksidin akut ve kronik inflamasyon, sistemik inflamatuvar yanıt ve sepsiste rol oynadığını gösteren çok sayıda çalışma vardır. Nitrik oksit vazodilatasyonu artırır, ödem oluşturur ve hassas sinir uçlarını etkiler [96]. Tüm bu etkiler inflamatuvar yanıtın önemli göstergelerindedir. Glukokortikoid ve NOS inhibitörleri ile yapılan tedaviler inflamasyonun şiddetinin azaltılmasında etkili olmaktadır. Bakteriyel endotoksinler iNOS' u uyarır ve kardiyomiyositlerde, endokardiyumda ve düz kas hücrelerinde NO sentezini artırarak venlerde kan birikmesine ve kardiyak fonksiyonlarının bozulmasına (sepsise bağlı dilate kardiyomyopati) yol açar. Septik şok, sitokinlere bağlı olarak gelişen birçok olay sonucunda hipoperfüzyon ve organ fonksiyon bozukluğu ile

seyreder. Hayvan modelinde yapılan bir çalışmada, NOS aktivitesinin engellenmesi, uygulamanın dozuna bağlı olarak farklı sonuçlar vermiştir. Bir NOS inhibitörü olan L-nitromonometilarginin 30 mg/kg dozunda uygulandığında endotoksik şok engellenirken, 300 mg/kg düzeyindeki uygulama bulguları şiddetlendirmiştir [96]. Nitrik oksidin inflamasyon ve endotoksemideki etkinliği ile ilgili birçok çalışmada genellikle non-selektif NOS inhibitörleri kullanılmıştır. Bu durum, NO hem dokuda lokal hem de sistemik olarak bazı etkiler gösterdiğinden, kesin bir yorum yapılmasını engellemiştir. Bu nedenle çalışmalarda selektif NO inhibitörlerinin kullanılması ve hatta bunların da sistemik değil lokal olarak ilgili yere uygulanması önerilmiştir. Nitekim bir çalışmada endotoksemi sırasında non-selektif iNOS inhibisyonunun karaciğere toksik olduğu; selektif iNOS inhibisyonunun ise karaciğerde bir etki oluşturmadığı gösterilmiştir [97].

Nitrik oksidin intestinal mukozal kan akımını, mukozal devamlılığı ve mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da defansı sağlayan madde olduğuna inanılır [98]. Nitrik oksidin bakteriyel translokasyonun patofizyolojisinde rolü olduğunu gösteren deneysel çalışmalar vardır [99]. Ayrıca, NO inhibitörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda endotoksine bağlı intestinal hasarın ve plazmaya geçişin arttığı da gösterilmiştir [100]. Öte yandan, sıçanlarda endotoksemi modelinde yapılan bir çalışmada spesifik iNOS inhibitörü olan aminoguanidin uygulamasının bakteriyel translokasyonu azalttığı gösterilmiştir [101]. Bu konuyla ilgili çalışmaların bazıları NO inhibisyonu ile bakteriyel translokasyonun azaldığını; bazıları ise arttığını ileri sürmüşlerdir. Bu durum, metodolojideki ve kullanılan inhibitör ajanlarındaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Septik hastaların incebarsak epitel hücrelerindeki yüksek interferon konsantrasyonlarının NO sentezini tetiklediği, bunun da mukozal geçirgenliğe katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür [102]. Özellikle 1990 yılı sonrasında, barsak inflamasyonunda NO'nun etkileri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu araştırmaların bazılarında NO inhibisyonu dokularda fonksiyon bozukluğu ve hasara neden olurken, bir kısmında da yararlı etkiler göstermiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi, elde edilen farklı sonuçlar NO'nun süperoksiti inaktive eden bir antioksidan olmasının yanı sıra peroksinitrit gibi radikaller üretmesinden kaynaklanmaktadır [98].

Biyolojik sistemlerde üretilen yüksek konsantrasyonlardaki NO'nun zararlı etkileri üç mekanizma ile gerçekleşir. Bunlardan ilki, NO'nun oksijene benzer şekilde

hücre içine geçerek, paylaşılmamış elektronu bulunan bir molekül olduğu için hücre içinde proteinlerin yapısında bulunan demir gibi geçiş metallerine bağlanması ve ortama serbest demir salınmasına neden olmaktadır. İkincisi, otooksidasyon ile N-nitroso bileşiklerini oluşturarak DNA'ya zarar veren N_2O_3 oluşturmasıdır. Son olarak da nitrik oksit, oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek DNA, proteinler ve hücre membran lipidlerini okside eden peroksinitrit üretir [103]. Sepsis gibi patolojik durumlarda mitokondride oksijen kullanımı ve DNA sentezinin değiştiği bilinmektedir [104,105].

Endotoksin uygulamasını izleyen ilk saatlerde NO sentezi inhibe edildiğinde, incebarsaklar üzerinde olumsuz etkiler görülürken; dördüncü saatte uygulanan NOS inhibitörleri, endotoksin hasarına karşı koruyucu etki göstermektedir [106]. Hayvanlarda endotoksemi oluşturulmadan önce NO sentezi inhibe edildiğinde ani ölümler ve akut respiratuar stres sendromuna benzer bulgular görülmüştür [107].

Makrofajlarda NO sentezlenmesi, bakteriyel enfeksiyonlara ilk yanıttır. Sıçanlara periton içine artan dozlarda Salmonella enteritis lipopolisakkariti uygulandığında organizmada üretilen NO'nun bir göstergesi olan idrarla nitrat atımı 10 kat artmıştır. Enfekte sıçanlarda idrarla atılan nitrat miktarı ile mezenterik lenf nodlarının ağırlığı ve feçeste görülen Salmonella düzeyleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [108]. Benzer bir çalışmada sepsis oluşturulduktan sonra dört, altı ve sekizinci saatlerde idrar nitrat konsantrasyonları artarken, plazma arjinin konsantrasyonları azalmıştır [109]. Yoğun bakım hastalarında, ameliyat sonrası dönemde plazma NO konsantrasyonlarının artışı ile morbidite ilişkili bulunmuştur [110]. Nitrit düzeyi endotoksin düzeyi ile yakından ilişkilidir; artmış nitrit kötü prognozu göstermektedir. Güler ve ark. [111] yaptığı deneysel çalışmada, portal venöz kandaki endotoksin miktarı ile hepatik hasar incelenmiş; nitrik oksit biyosentezi total protein sentezinin supresyonu ile ilişkili bulunmuş ve karaciğerde hasar meydana geldiğinde protein sentezinin inhibe olduğu gösterilmiştir.

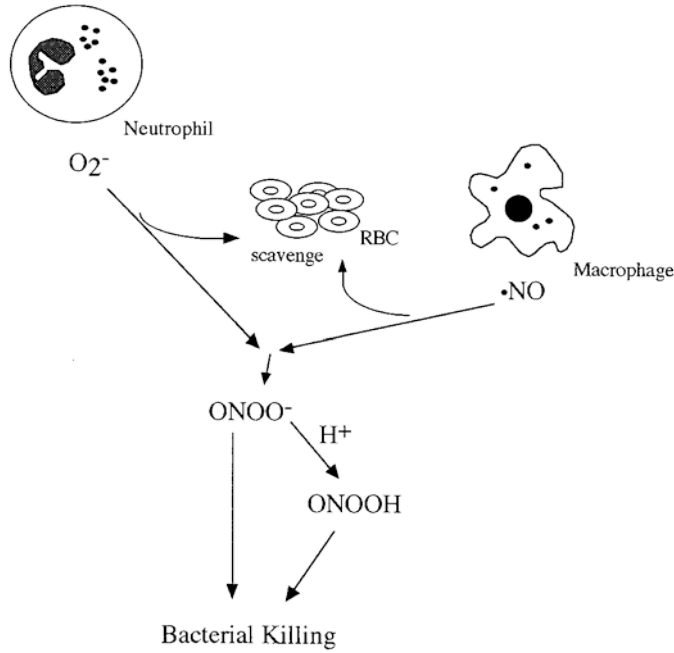
Vos ve ark. [97] selektif iNOS inhibisyonunun hepatoselüler nekrozu artırmadığını, endotoksemi sırasında karaciğerde iNOS' un aşırı dağılımının olduğunu göstermişlerdir. Selektif iNOS inhibisyonu için aminoguanidin ya da NG-L (iminoethyl)-lysine'in portal venden sürekli infüzyonu, endotoksemide hepatoselüler nekrozu artırmamıştır. Ayrıca, selektif iNOS inhibitörleri hemorajik şokta da hepatik hasarda azalmaya neden olmuştur [112].

Çoklu organ yetmezliği ağır sepsisin bir özelliğidir. Etyolojide doku hipoksisinin rol oynadığı düşünülmekle birlikte kesin mekanizma henüz bilinmemektedir. Nitrik oksit tek başına veya serbest oksijen radikalleriyle birlikte sitotoksik olabilir ve çoklu organ yetmezliğinde rol oynayabilir [113].

MODS konusunda birçok çalışmacı tarafından çok çeşitli tedavi yöntemleri denenmiştir. Bu çalışmalar arasında en yaygın kullanılan NO'dur. Nitrik oksit damar endotelinden salgılanan vazodilatör bir ajandır. Sistemik uygulanan vazodilatör ajanlar yaygın vazodilatasyon ve hipotansiyon yapmakla birlikte hipoksik pulmoner vazokonstrüksiyonu engelleyerek gaz değişiminin daha da bozulmasına ve dokulara oksijen sunumunun azalmasına neden olur. Solunum yolu ile uygulanan NO'nun sistemik etkileri olmadığı, havalanan alveollere ulaşarak kapillerlerin genişlemesini sağladığı ve şanti azalttığı bildirilmiştir. Bunun üzerine NO, almitrin ve pron pozisyon gibi diğer tedavi yöntemleri ile birleştirildiğinde oksijenasyonun daha belirgin olarak düzeltilebileceği ileri sürülmüştür. Ancak, son yıllarda NO tedavisi ile elde edilen olumlu sonucun kısa süreli olduğu ve uygulamadan 48-72 saat sonra etkisinin kalmadığı öne sürülmüştür [114-117].

2.6.4 Bakteriyel Peritonitte Nitrik Oksit

Cerrahi dünyası, eritrositlerin (RBC'ler) ve hemoglobinin deneysel bakteriyel peritonitteki mortalite üzerine ortaklaşa etkisinin uzun zaman önce farkına varmış olmasına rağmen bu gözleme ait mekanizmaları yıllardır netleştirememiştir [118,119]. Eritrositler; SOD, katalaz, glutatyon, glutatyon redüktaz ve hem içeren muhtelif antioksidan sistemlere sahiptirler. RBC'ler süperoksit üreten sistemlerde oksidatif bakterisidal mekanizmayı engelleyebilirler [120,121]. Eritrofagositoz makrofaj antibakteriyel fonksiyonu ve oksidatif bakterisidal mekanizmaları engelleyebilir [122,123]. RBC'ler ve hemoglobin ayrıca in vitro ve in vivo ortamda NO temizlenmesine dahil olmaktadır [124,125]. Tüm bu noktalar göstermektedir ki eritrositler reaktif oksijen araçlarını ve NO'yu temizleyerek, böylece bu grupların mikrobisidal özelliklerini gidererek, peritonitle ilişkili mortaliteyi artırmaktadır.



Şekil 2.5 Kırmızı kan hücrelerinin toksik radikal formasyonu oluşumundaki rolleri

Kırmızı kan hücreleri intraperitoneal sepsise karşı inflamatuvar yanıt olarak üretilen sitotoksik oksijen ve nitrojen radikallerini süpürerek bakteriyel ölümü azaltmaktadır [128].

Bu hipotez bir grup araştırmacı tarafından kısa süre önce doğrulanmıştır [126]. Peritoneal canlı bakteri (*E.coli*) injeksiyonu yüksek düzeyde O_2 ve NO üretimi ile sonuçlanmıştır. Bu enfeksiyona cevaben peritoneal boşluğa giren lökositlerde iNOS fazlaca sentezlenmektedir. RBC'ler veya subletal dozda canlı bakteri ile SOD, katalaz ve L-NMMA kombinasyonu kullanımı NO , O_2 ve $ONOO^-$ oluşumunu azaltırken intraperitoneal bakteri sayısını ve mortaliteyi anlamlı şekilde artırmaktadır. Bu nedenle RBC'ler hücreleri ve dokuları hasardan koruyabileceği halde peritoneal kontaminasyon peritoneal boşluktaki O_2 ve NO 'i temizleyerek bakterileri konakçı savunma sisteminin oksidatif bakterisidal aktivitesinden korumaktadır.

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra (Tarih: 01.04.2010 No:37) Haziran 2010-Ocak 2011 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı ve Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

3.1 Deney Hayvanlarının Seçimi

Çalışmamızda Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı koşullarında bakımı yapılan, ağırlıkları 250-350 gr arasında olan, 16 adet (8 tanesi kontrol ve 8 tanesi peritonit grubu için) erişkin Wistar-Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Peritonitli gruptaki sıçanların dokuları alınmadan 24 saat önce cecal ligation and puncture (CLP) ile peritonit oluşturuldu [127] ve kontrol grubu sıçanların dokuları alınmadan 24 saat önce ise sham operasyonu yapıldı. Hayvanların operasyondan önce istedikleri kadar yemelerine ve su içmelerine izin verildi.

3.2 Cerrahi İşlem

Çalışmamızda peritonit oluşturmak için, daha önce Baker ve arkadaşları (1997) tarafından tanımlanan, çekum ligasyonu ve perforasyonu modeli kullanıldı. Bu model 24 saat içinde sepsise neden olan, hiperdinamik ve normotansif peritonit modelidir. Bu modelde sıçanlara anestezi ajan olarak 3 mg/kg i.m xylazine ve 90 mg/kg i.m ketamin verildi. Daha sonra sıçanlar supin pozisyonunda yatırıldı ve 2 cm'lik bir abdominal insizyon ile karın açıldı. Peritonitli gruptaki hayvanların (n=8) çekumu açılıp, ileoçekal valvin üstünden 4/0 ipek ile bağlandı ve böylece intestinal devamlılık kesildi (Resim 3.1). Sonra 18 numaralı iğne ile çekum 1 cm aralıklarla antimezenterik yüzden 3 yerden delindi (Resim 3.2). Delinen çekumdan feçesin dışarı çıkması için hafifçe sıkıldı (Resim 3.3). İşlem sona erdikten sonra çekum tekrar karın boşluğuna yerleştirildi ve insizyon 2 tabaka olarak dikildi [127]. Kontrol grubuna ise (n=8) aynı şekilde anestezi uygulandı, laparotomi yapıldı ve çekum manüple edildi fakat ligasyon ve delme yapılmadı, bu işlemler sonunda çekum karına yerleştirilip 2 tabaka olarak dikildi. Her iki gruptaki

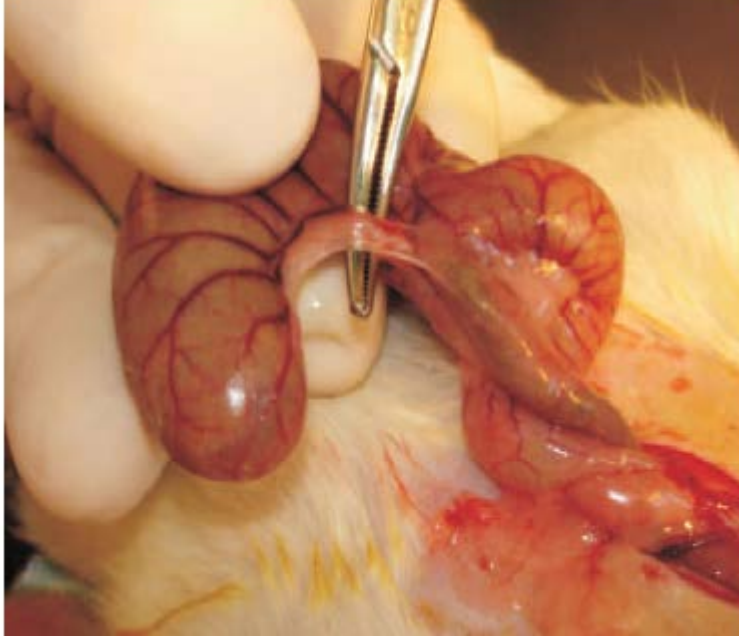
hayvanlara da operasyonlardan sonra analjezik amaçlı 4 mg/kg dozunda subkütan carprofen verildi. Operasyondan sonra hayvanların dokuları alınana kadar yiyecek ve suya ulaşmalarına izin verildi.



Resim 3.1 Çekum ligasyonu



Resim 3.2 Çekum perforasyonu



Resim 3.3 Çekumun manüplasyonu

3.3 Hayvanların Dokularının Alınması ve Deneylere Hazırlanışı

Operasyonlardan 24 saat sonra sıçanlar yüksek doz (200 mg/kg) intraperitoneal tiyopental enjeksiyonu ile öldürülerek karınları midline insizyon ile açıldı. Proksimal ve distal kolon dokuları alınıp önceden gazlandırılmış Krebs Bikarbonat solüsyonu içinde çevre dokular ve barsak içeriklerinden temizlendi ve 1 cm'lik tüm kat preparatlar halinde kesildi. Kesilen bu preparatlar ilaçların denenmesi için solüsyon içeren 37°C ısıtılan ve %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan 10 ml'lik organ banyosuna karşılıklı 2 uçtan çapraz olarak klipslere asıldı ve alttaki klips organ banyosunun dibine ve üstteki klips de 4/0 ipek ile Force Displacement Transdüsörüne asıldı. Dokulara 1,5 gram öngerilim verildi ve dokular her 15 dakikada bir taze solüsyon ile yıkanarak 1 saatlik dengelenme periyoduna bırakıldı. Doku hareketleri Grass FT 03 poligraf, Quincy, MA ile kaydedildi. Dengelenme periyodunun ardından spontan kasılmaların amplitüdlerini değerlendirmek amacıyla dokulara 80 mM KCl verildi. Kasılmalar platoya ulaşıktan sonra yıkandı. 30 dakikalık dengelenme periyodundan sonra SNAP ve YC-1'in spontan peristaltik hareketler üzerine konsantrasyona bağlı inhibitör etkilerine bakıldı. KCl kasılma yanıtları mg olarak grafikleildi. Proksimal ve distal kolonun spontan hareketleri amplitüd ve frekans olarak grafikleendirildi. Amplitüdüler KCl kasılmalarına göre % olarak, frekanslar ise sayı/10 dakika olarak grafikleendirildi. İlaçların spontan

kontraksiyonların amplitüd ve frekansları üzerindeki inhibitör etkileri % inhibisyon olarak grafiklendirildi.

3.4 Deneylerde Kullanılan Besleyici Solüsyon ve İlaçlar

Deneylerde kullanılan besleyici Krebs Bikarbonat solüsyonunun içeriği; NaCl: 120 mM, KCl: 4,6 mM, CaCl₂: 2,5 mM, MgCl₂: 1,2 mM, NaHCO₃: 22 mM, NaH₂PO₄: 11,5 mM ve Glukoz: 11,5 mM'dir.

Deneylerde kullanılan ilaçlar:

SNAP (Sigma, St Louis, USA)

YC-1 (Sigma, St Louis, USA)

Ketamin HCl (Ketalar flakon, Pfizer İlaçları Ltd. Şti.)

Xylazine (Rompun flakon, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti.)

Carprofen (Rimadyl tablet, Pfizer İlaçları Ltd. Şti.)

Tüm ilaçlar suda çözüldü ve her deney için günlük hazırlandı.

3.5 Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler

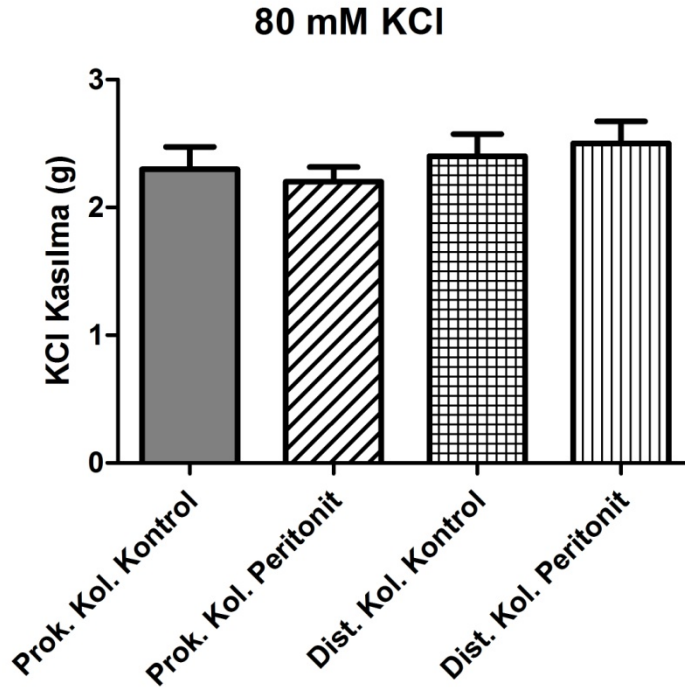
Bu çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 16.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Tüm verilerin ortalaması ve standart hatası hesaplanarak veriler ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak sunuldu. Gruplar arasında fark olup olmadığı ANOVA testi ile grup içi fark olup olmadığı ise scheffe F testi ile araştırıldı. P değerinin 0,05'den küçük olması durumunda fark anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 KCl Kasılma Yanıtları

Her iki dokuda, kontrol ve peritonit gruplarında 80 mM KCl ile kasılma yanıtları elde edildi. Hem proksimal kolonda hem de distal kolonda her iki gruptaki (kontrol ve peritonit) 80 mM KCl ile yapılan kasılma yanıtları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$) (Şekil 4.1).



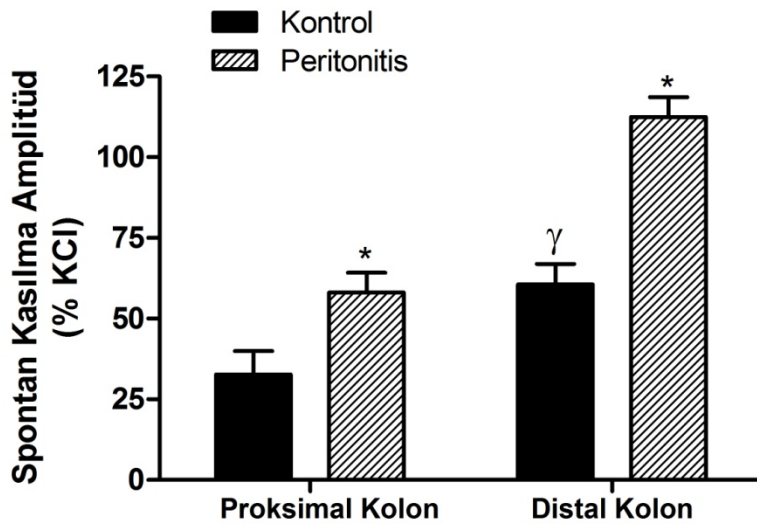
Şekil 4.1 Sıçan proksimal ve distal kolonunda kontrol ve peritonit gruplarından alınmış dokulardaki 80 mM KCl kasılma yanıtları.

4.2 Spontan Kasılma Yanıtları

Her iki dokuda kontrol ve peritonit gruplarında spontan kasılma yanıtları hem amplitüd hem de frekans açısından incelendi. Spontan kasılmaların amplitüdüleri KCl'e göre % olarak hesaplandı. Spontan kasılmaların frekansları ise on dakikadaki kasılma sayısı olarak hesaplandı.

4.2.1 Amplitüd

Hem kontrol grubunda hem de peritonit grubunda distal kolonun spontan kasılmalarının amplitüdüleri proksimal kolondakilere göre anlamlı olarak daha fazlaydı ($p<0,05$). Aynı zamanda her iki dokunun da (proksimal ve distal kolonun) peritonitli gruplarındaki kasılmaların amplitüdüleri kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha fazlaydı ($p<0,05$) (Şekil 4.2).



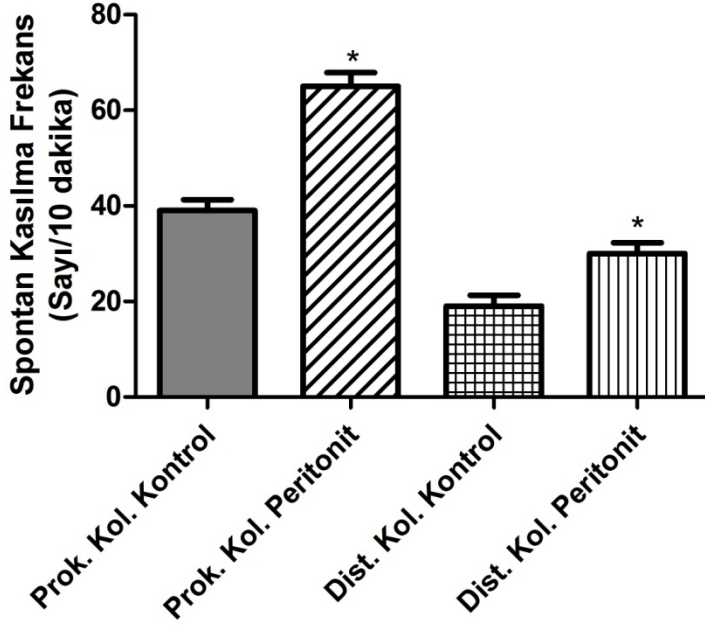
Şekil 4.2 Sıçan proksimal ve distal kolonunda kontrol ve peritonit gruplarından alınmış dokulardaki spontan kasılma amplitüd yanıtları.

* Kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p<0.05$.

^γ Proksimal kolon kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p<0.05$.

4.2.2 Frekans

Hem kontrol grubunda hem de peritonit grubunda proksimal kolonun spontan kasılmalarının frekansları distal kolondakilere göre anlamlı olarak daha fazlaydı ($p<0,05$). Aynı zamanda her iki dokunun da (proksimal ve distal kolon) peritonitli gruplarındaki kasılmaların frekansları kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha fazlaydı ($p<0,05$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Sıçan proksimal ve distal kolonunda kontrol ve peritonit gruplarından alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

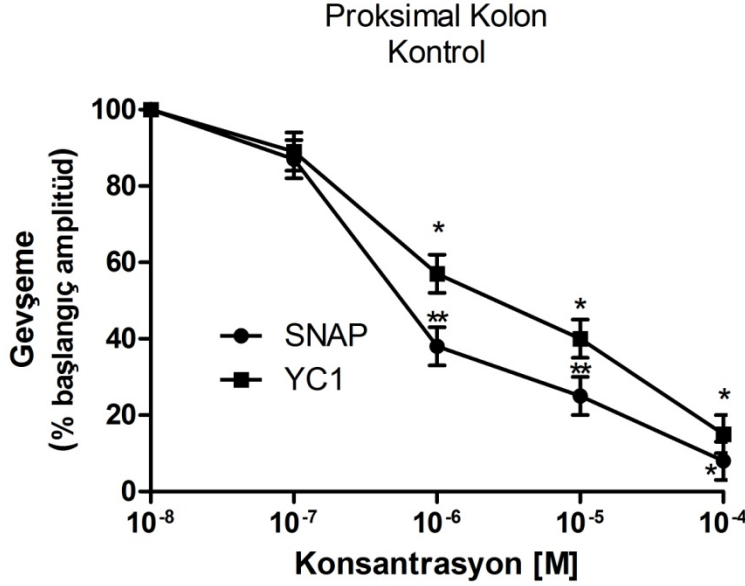
Her iki ilacın proksimal ve distal kolon dokusunda, kontrol ve peritonit gruplarında spontan kasılmalar üzerine inhibitör etkileri hem amplitüd hem de frekans açısından incelendi. Spontan kasılmalar üzerinde ilaçların yaptığı inhibisyon, amplitüdüler açısından başlangıç durumunun %'si olarak hesaplandı. Spontan kasılmalar üzerinde ilaçların yaptığı inhibisyon, frekanslar açısından ise on dakikadaki kasılma sayısı (kasılma/10 dakika) olarak hesaplandı. Her iki ilaç da kontrol ve peritonit grubunda, her iki dokuda da (proksimal kolon ve distal kolon) konsantrasyona bağlı gevşemeler yaptılar. Her iki ilaca bağlı inhibitör etkiler hem proksimal kolon hem de distal kolon dokusunda, kontrol grubunda peritonit grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı ($p < 0,05$).

4.3 YC-1 ve SNAP'ın Spontan Kasılma Amplitüdüleri Üzerindeki İnhibitör Etkileri

4.3.1 Proksimal Kolon

Her iki ilaç kontrol ve peritonit gruplarında proksimal kolonda spontan kasılma amplitüdüleri üzerinde konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptılar. Kontrol grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar, konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi ($p < 0.05$). Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan

itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon, YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p<0,05$) (Şekil 4.4).

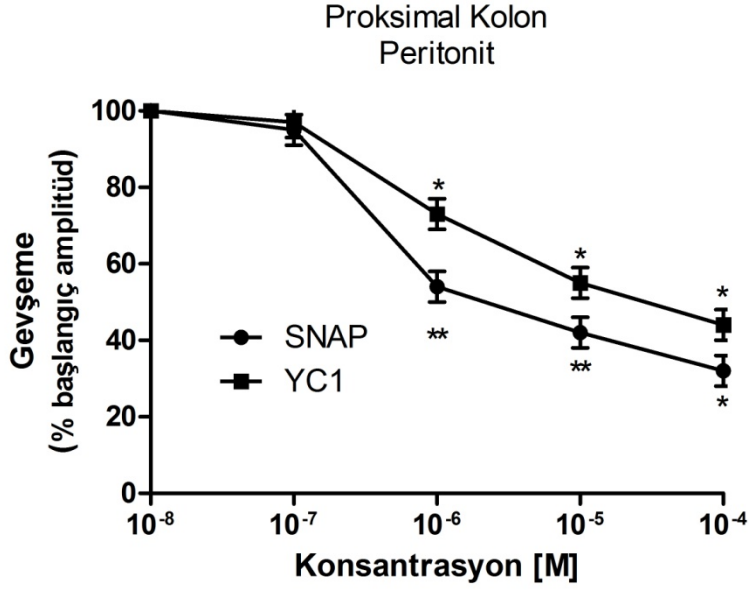


Şekil 4.4 Sıçan proksimal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p<0.05$.

** Hem kontrole hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p<0.05$).

Peritonit grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar, konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi. Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p<0,05$) (Şekil 4.5). SNAP ve YC-1'in yaptıkları inhibisyon kontrol ve peritonit grupları arasında karşılaştırıldığı zaman bu iki ajanın kontrol dokularının spontan kasılma amplitüdü üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkinin, peritonit dokularının spontan kasılma amplitüdü üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkiden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



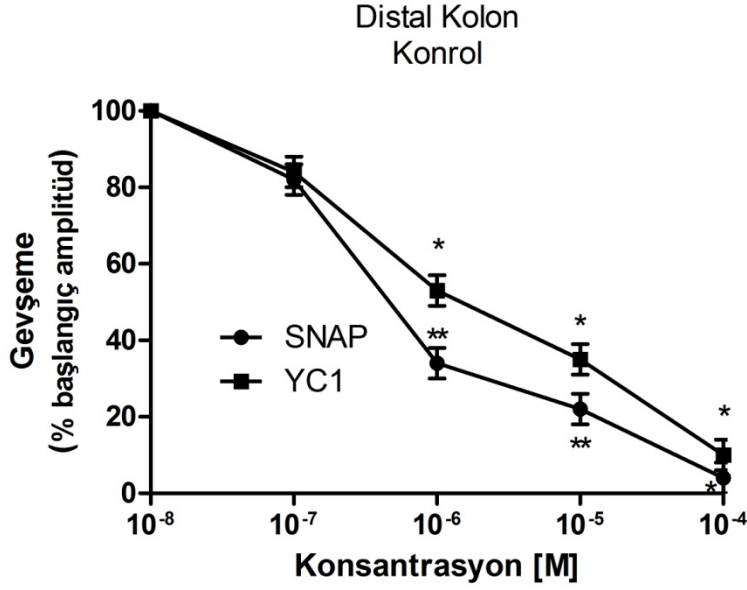
Şekil 4.5 Sıçan proksimal kolon peritonit grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

4.3.2 Distal Kolon

Her iki ilaç kontrol ve peritonit gruplarında distal kolonda spontan kasılmalar üzerinde konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptılar. Kontrol grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi. Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p < 0,05$). (Şekil 4.6).

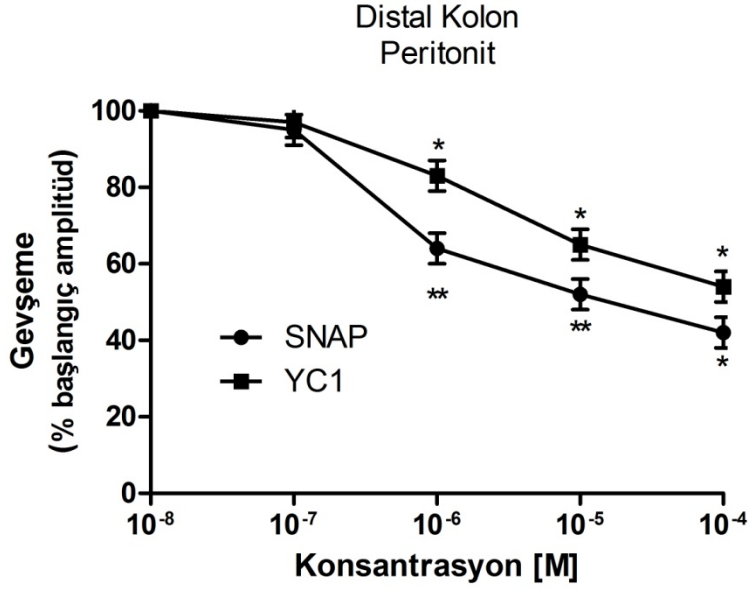


Şekil 4.6 Sıçan distal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

Peritonit grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi. Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p < 0,05$) (Şekil 4.7). SNAP ve YC-1'in yaptıkları inhibisyon kontrol ve peritonit grupları arasında karşılaştırıldığı zaman bu iki ajanın kontrol dokularının spontan kasılma amplitüdüleri üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkinin peritonit dokularının spontan kasılma amplitüdüleri üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkiden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).



Şekil 4.7 Sıçan distal kolon peritonit grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

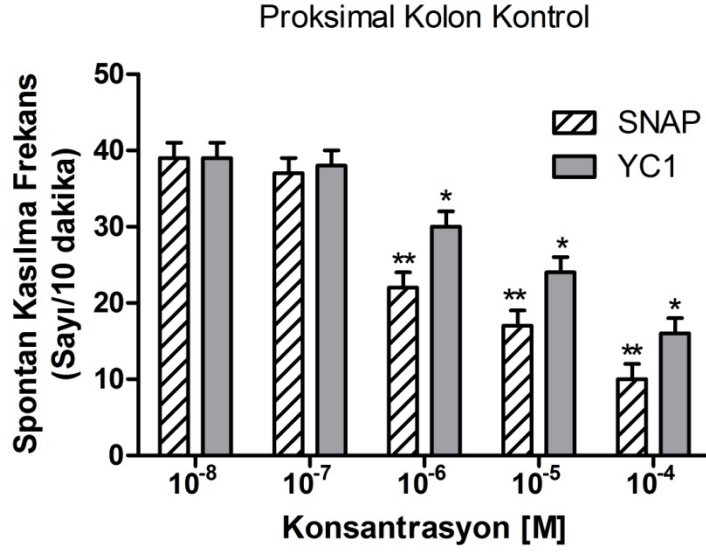
* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

4.4 YC-1 ve SNAP'ın Spontan Kasılma Frekansı Üzerindeki İnhibitör Etkileri

4.4.1 Proksimal Kolon

Her iki ilaç kontrol ve peritonit gruplarında proksimal kolonda spontan kasılma frekansları üzerinde konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptılar. Kontrol grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi ($p < 0.05$). Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon, YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p < 0,05$). (Şekil 4.8).

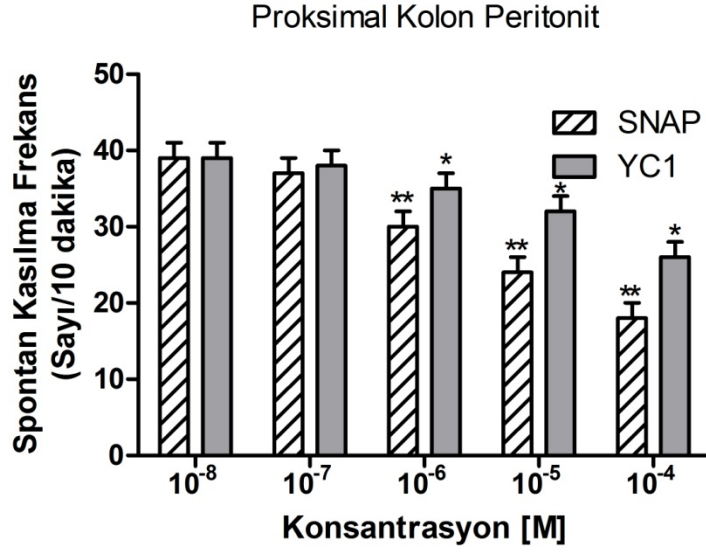


Şekil 4.8 Sıçan proksimal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

Peritonit grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar, konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi. Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p < 0,05$) (Şekil 4.9). SNAP ve YC-1'in yaptıkları inhibisyon kontrol ve peritonit grupları arasında karşılaştırıldığı zaman bu iki ajanın kontrol dokularının spontan kasılma frekansları üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkinin, peritonit dokularının spontan kasılma frekansları üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkiden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).



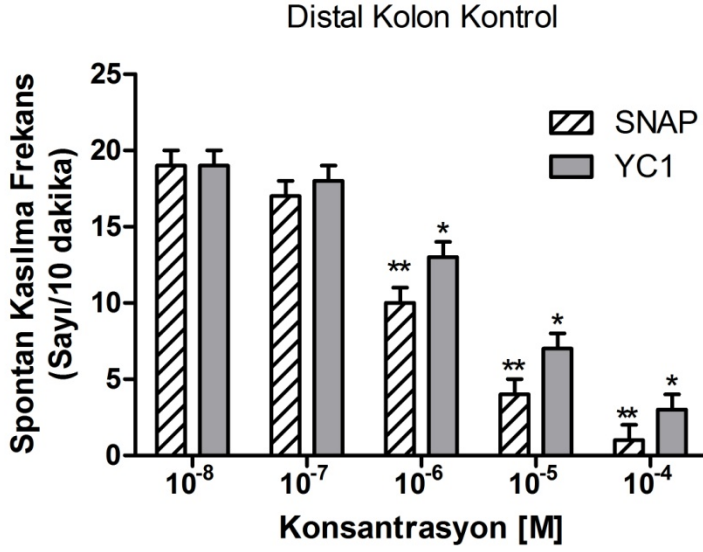
Şekil 4.9 Sıçan proksimal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

4.4.2 Distal Kolon

Her iki ilaç kontrol ve peritonit gruplarında distal kolonda spontan kasılma frekansları üzerinde konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptılar. Kontrol grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar, konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi. Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p < 0,05$). (Şekil 4.10).

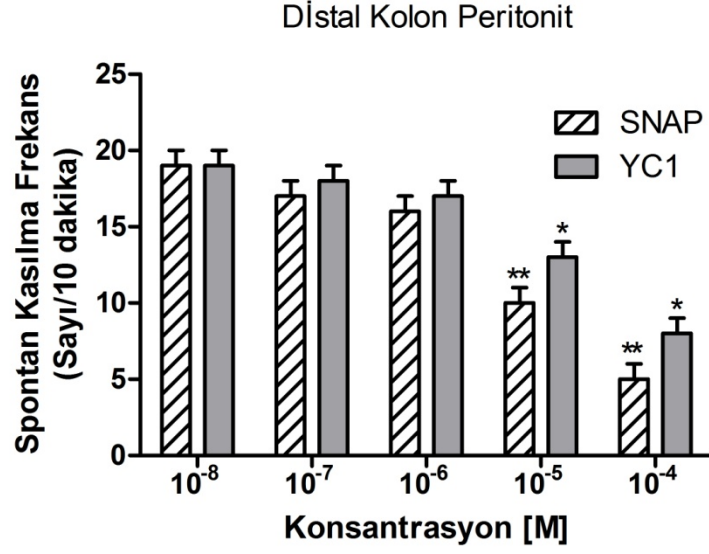


Şekil 4.10 Sıçan distal kolon kontrol grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı $p < 0.05$.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

Peritonit grubunda hem SNAP hem de YC-1 10^{-7} M konsantrasyondan başlayarak 10^{-4} M konsantrasyona kadar, konsantrasyona bağlı inhibisyon yaptı. SNAP ve YC-1'in bu inhibitör etkisi 10^{-6} M'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale geldi. Ayrıca 10^{-6} M konsantrasyondan itibaren SNAP'ın yapmış olduğu inhibisyon YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p < 0,05$) (Şekil 4.11). SNAP ve YC-1'in yaptıkları inhibisyon kontrol ve peritonit grupları arasında karşılaştırıldığı zaman bu iki ajanın kontrol dokularının spontan kasılma frekansları üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkinin peritonit dokularının spontan kasılma frekansları üzerinde yapmış oldukları inhibitör etkiden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).



Şekil 4.11. Sıçan distal kolon peritonit grubundan alınmış dokulardaki spontan kasılma frekans yanıtları üzerine SNAP ve YC-1'in etkileri.

* Kontrolle göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı p<0.05.

** Hem kontrolle hem de aynı konsantrasyonda YC-1'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı (p<0.05).

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Sepsis yıllarca tıp dünyasının tedavisi güç ve mortalitesi yüksek sorunlarından biri olmuştur. Sepsis ve septik şok acil tedavi edilmesi gereken, günümüzde hala önemli ölçüde mortalite ve morbiditeye sahip klinik bir tablodur; mortalite oranı ortalama olarak %40'ın üzerindedir [129]. Yakın zamanlarda hücre biyolojisinde gerçekleşen ilerlemeler sayesinde sepsisin fizyolojisi iyi anlaşılabilir hale gelmiş, olayda rol alan mediatörler ve sitokinler tanımlanarak bunların etki mekanizmaları ve vücutta zincirleme gelişen fizyolojik ve metabolik değişimler belirlenmiştir [130]. Sepsis tablosu; bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitlerden kaynaklanabildiği gibi ağır travma veya pankreatit gibi non enfeksiyöz olaylarla da gelişebilmektedir [131].

Günümüzde kabul edilen görüşe göre ve patolojik olarak kendini gösteriş biçimi açısından bakıldığında kontrol dışı bir inflamatuvar yanıt [132] ya da enfeksiyon sırasında ortaya çıkan “sistemik inflamatuvar yanıt sendromu” (SIRS) olarak tanımlanabilmektedir [133, 134]. Bu yanıtın oluşmasında rol oynayan çeşitli endojen moleküllerin etkileri ve birbirleriyle etkileşimleri sonucu ortaya çıkan karmaşık hastalık tablosu her olguda aynı olmayabilir. Gelişen olaylar dizisi pozitif bir feedback etkiyle devam eder ve hastanın hızla kötüleşmesine yol açar [135,136].

Bir sepsis nedeni olarak peritonit, abdominal kavitenin ve bölgede yerleşmiş olan organları sınırlandıran serozal membranların inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Genelde rüptüre olmuş bir appendix vermiformis ya da kolon divertikülü ya da barsak perforasyonu sonucu, steril peritoneal ortamın enfeksiyonu sonucunda meydana gelmektedir [137]. Peritonit, cerrahi ve enfeksiyon bilimleri açısından bir enfeksiyon nedeni olarak önemini hala korumaktadır. Peritoneal kavite, büyük bir alana ve hacme sahip olduğundan iltihabi durumu da bu büyüklüğü yansıtacak şiddettedir. Peritonit geliştiğinde enfeksiyonun yayılmasını önleme amacıyla, konak apse formasyonu oluşturmaya çalışmaktadır. Ancak bu durum enfeksiyonun kalıcı olmasına ya da sepsis oluşumuna yol açabilmektedir. Konak, enfeksiyona yol açan ajanı temizleyemediği takdirde kompartıman oluşturarak yayılmasını önlemeye gayret etmektedir [138,139]. Peritonitte, gastrointestinal sistemin hangi bölgesinin olaya katıldığı, bakteri miktarını

ve enfeksiyon oluşturma yeteneğini etkilemektedir [140]. Altta yatan neden açısından peritonit, steril (kimyasal, mekanik) ya da enfeksiyöz olabilmekte ve tedavi yaklaşımı farklı peritonit tiplerinde farklı olabilmektedir [141].

Gastrointestinal sistem düz kas kontraksiyonları hücre içindeki elektriksel olayların sonucudur. Gastrointestinal traktın düz kas hücreleri ekstrasellüler kompartmana göre negatif bir intrasellüler membran potansiyeline sahiptirler. Bu membran potansiyeli ki -40 ile -70 mV kadardır, katyonik sodyum ve potasyum tuzlarının, ATP bağımlı çalışan sodyum-potasyum elektrojenik pompası tarafından oluşturulan gradyenti ile sağlanır [142].

Gastrointestinal düz kaslarda meydana gelen kasılmalar “yavaş dalgalar” zemininde meydana gelir [143, 144]. Yavaş dalgalardaki depolarizasyon süreci gastrointestinal sistemde hangi bölgede olduğuna ve voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ile kalsiyum bağımlı potasyum kanalları arasındaki dengeye bağlıdır [145]. Ortamda potasyum iyon yoğunluğunun artması hücre içine potasyum girişini artırmakta, bu olay sırasında hücre içerisine kalsiyum girişi de artmaktadır. Böylece potasyum iyon yoğunluğundaki artış reseptör bağımsız bir düz kas kasılması ile sonuçlanır.

Çalışmamızın ilk aşamasında bütün gruplardan alınan proksimal ve distal kolon doku örneklerinde KCl kasılma cevaplarına bakıldı. Cevaplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Alınan bütün örneklerdeki düz kas yapısının KCl'ye benzer cevaplar vermesi doku bütünlüğünün ve Ca^{+2} kanalları üzerinden işleyen KCl kasılma mekanizmasının sağlam olduğunu göstermektedir [146].

Kolon düz kası spontan kasılmalarının değerlendirilmesinde kontrol grubunda, proksimal kolon amplitüdü, distal kolon ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha az bulundu. Yıldız T. ve arkadaşlarının [5] 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada çalışmamızdakine benzer şekilde proksimal ve distal kolon spontan kasılma amplitüd ve frekanslarının peritonit durumunda anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu durum distal kolon spontan kasılma amplitüdünün oluşmasında, tonik inhibitör kontrolün daha az etkin olduğunu veya tonik eksitator etkinin daha baskın olduğunu göstermektedir. Bu sonuç Takahashi T. ve arkadaşlarının [147] ileri sürdüğü, distal kolonun proksimal kolondan daha az nitrik oksit sentaz içeren sinirler içerdiği bulgusu ile uyumlu bir sonuçtur. Çünkü bilindiği üzere NO, gastrointestinal sistemde gevşetici etkiye sahip bir nöromediatördür. Distal kolonda NO'nun az olması amplitüdlere yüksek olma sebebinin

açıklamaktadır. Ayrıca bu durum proksimal kolonun gayta için rezervuar görevi yapması, distal kolonun ise daha çok atım fonksiyonu için kullanılması amacına uygundur [146].

Düz kaslar memeli organ ve sistemlerinin önemli bir parçasıdır. Düz kasların kontraktilesi; vasküler tonusun düzenlenmesi, kan basıncının regüle edilmesi, doğumla sonlanan uterin kontraksiyonlar, sindirim ile ilişkili intestinal motilite ve benzeri birçok fizyolojik süreç için önemli bir unsurdur. Düz kasların kasılması ve gevşemesi intraselüler birçok molekül ve bunların ikinci habercileri tarafından düzenlenmektedir. Bu moleküller düz kas gevşemesini kontraktil agonistlerin sentezlenmesinin engellenmesi, düz kas kasılması yapan ajanların reseptörlerinin inhibisyonu ve plazma membranındaki kalsiyum kanallarının kapatılması gibi birçok yolla inhibe edebilmektedirler [142].

Düz kas kasılması sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonunun artışı ile başlar. Bu artış kontraktil proteinler ile aktin ve miyozinin etkileşime girmesine neden olur. Düz kas gevşemesi ise intraselüler kalsiyumun azalması veya kontraktil uyarının ortadan kalkması sonucu kendiliğinden meydana gelen bir durum olarak tanımlanır. Bunun yanında düz kas gevşemesi kalsiyumun aktif olarak hücre dışına atılması ve kontraktil sistemin kalsiyuma olan duyarlılığının azaltılması ile de sağlanabilir [144].

Non-adrenerjik non-kolinerjik sistemin barsaktaki en önemli nörotransmitteri olan nitrik oksit, barsaktaki gevşetici etkisini soluble guanilat siklaz enzimini aktive ederek ve cGMP seviyesini artırarak gösterir. cGMP'nin majör hedefi düz kas tonusunu miyozin hafif zincir kinaz ile etkileşerek ayarlayan protein kinaz G'dir. Bu mekanizma çok önemli olmasına rağmen, NO/cGMP yolağı üzerinde daha önce yapılan çalışmalar NO'nin kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalları gibi cGMP bağımsız mekanizmalarla da düz kas gevşemesi yapabileceğini göstermiştir [153-158].

García-Pascual A. ve ark.'nın 1999 yılında yapmış oldukları çalışmada SNAP'ın koyun üretral düz kaslarında cGMP aracılı mekanizmalar yoluyla anlamlı bir gevşeme yaptığını ortaya koymuşlardır [148]. Takakura K ve Muramatsu I. mide fundusu ve aort düz kaslarında yapmış oldukları çalışmada SNAP'ın guanilat siklaz ve cGMP üzerinden anlamlı bir düz kas gevşemesi yaptığını göstermişlerdir [149].

Aydin C. ve ark. 2008 yılında kobay safrakesesi düz kası üzerinde yapmış oldukları çalışmada YC-1'in konsantrasyona bağımlı şekilde güçlü bir düz kas gevşemesi meydana getirdiğini, bu gevşemede guanilat siklaz enziminin anahtar rol oynadığını göstermişlerdir [150]. Kalsi JS. Ve ark. 2003 yılında tavşan korpus kavernozum düz kasında yapmış oldukları çalışmada YC-1'in güçlü bir gevşetici etkisi olduğunu göstermişlerdir [151].

Nimmegeers S. ve ark. 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada SNAP ve YC-1'in gevşetici etkilerini sGC α_1 alt ünitesi bulunan ve bulunmayan sıçanların aortik halkalarında araştırmışlardır. SNAP'ın sGC $\alpha_1^{-/-}$ dokularda düz kas gevşemesi meydana getirmediğini, sGC $\alpha_1^{+/+}$ dokularda anlamlı bir düz kas gevşemesi meydana getirdiğini göstermişlerdir. YC-1'in ise hem sGC $\alpha_1^{-/-}$ hem de sGC $\alpha_1^{+/+}$ dokularda gevşeme yaptığı, fakat bu gevşemenin sGC $\alpha_1^{+/+}$ dokularda anlamlı şekilde daha fazla olduğu gösterilmiştir [152]. Guanilat siklazın hasarlı olduğu bu durumda SNAP'ın guanilat siklaz üzerinden etkinlik gösterememesi doğaldır. Asıl akılda soru işareti oluşturan durum SNAP'ın guanilat siklaz aracılıksız doğrudan etki de gösterememiş olmasıdır. Bu durum da nitrik oksit donörlerinin doğrudan etkilerinin, guanilat siklaz aracılıklı etkileri gösterdikleri konsantrasyonlardan çok daha yüksek konsantrasyonda meydana geliyor olması ile açıklanabilir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bizim çalışmamız ile birebir ilişkili ve paralel olmamakla birlikte değişik patolojik durumlarda guanilat siklaz enziminde meydana gelebilecek bir defektin nitrik oksit donörleri ile guanilat siklaz aktivatörlerinin etkilerinde anlamlı değişikliklere neden olabileceğini göstermesi bakımından çalışma oldukça önemlidir.

NO; çeşitli biyolojik ve fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol alan anahtar mesajcı moleküllerden birisidir. Pekçok deneysel ve klinik kanıt NO'nun aktivitesini temel olarak iki mekanizma ile gösterdiğine işaret etmektedir: 1) NO aracılı cGMP bağımlı; 2) cGMP bağımsız mekanizmalar. Yapılan çalışmalar NO'nun düz kas gevşemesini iki moleküler mekanizmayı da aktive ederek başlattığını göstermektedir [153-157].

Takakura K. ve Muramatsu I. mide fundusu ve aort düz kaslarında yapmış oldukları çalışmada, nitrik oksit donörü olan SNAP'ın hem guanilat siklaz ve cGMP üzerinden hem de cGMP-bağımsız mekanizmalar aracılığıyla düz kas gevşemesi yaptığını göstermişlerdir [149].

S-nitrosotiyoller olarak adlandırılan SNAP ve benzeri nitrik oksit donörlerinin, düz kas gevşemesi üzerindeki cGMP bağımsız etkilerini intraselüler proteinlerin sistein rezidülerinin tiyol yan zincirlerinin geri dönüşlü oksidasyonu ile gerçekleştirdiği [156] ve bu etkilerin, sGC enziminin aktivasyonu için gerekenden daha yüksek NO konsantrasyonlarında ve daha yavaş kinetikle meydana geldiği gösterilmiştir [158].

sGC enziminin aktivasyonu süreci nitrik oksit molekülünün enzimin prostetik hem grubuna yüksek afiniteli bağlanmasıyla başlar [159]. Endojen NO'ya ek olarak farmakolojik NO donörleri ve YC-1 gibi ajanlar da sGC'yi stimule ederler. Sonuç olarak artan cGMP konsantrasyonu, intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunu azaltarak ve kontraktil sistemi Ca^{+2} a duyarsızlaştırarak düz kas gevşemesi sağlar [152]. YC-1, sGC enzimini NO'dan bağımsız olarak stimule eder ancak bu etkisi NO'ya benzer şekilde sGC enziminin indirgenmiş prostetik hem grubunun varlığına bağlıdır. Bu grubun çıkarılması veya oksidasyonu YC-1 aracılı sGC aktivitesini fiilen ortadan kaldırmaktadır [160].

Yukarıda belirtilen çalışmalar ile paralel şekilde biz de çalışmamızda nitrik oksit donörü olan SNAP'ın peritonit durumunda guanilat siklaz aktivatörü olan YC-1'den daha güçlü bir düz kas gevşetici etkisi olduğunu bulduk. Bu durum daha önceden de belirtildiği üzere SNAP'ın guanilat siklaz aracısız mekanizma ile doğrudan düz kas gevşemesi yapması yanında guanilat siklaz enzimini aktive ederek cGMP seviyelerini artırması ve protein kinaz G aktivasyonu yapması ile ikişekli olabilir. YC-1'in peritonit durumunda gevşetici etkisinin anlamlı şekilde azalması ise peritonitte guanilat siklaz enziminde bir patoloji meydana gelmiş olabileceğini düşündürmektedir. Guanilat siklazdan başka etki yolları olan SNAP'ın YC-1'den daha etkili olması bu düşüncüyü desteklemektedir. YC-1 guanilat siklaz enziminin yapısında bulunan 'heme' grubu üzerinden etkinlik gösteren bir ajandır. Eğer peritonit durumunda guanilat siklaz enziminde bir bozulma meydana gelmişse bu bozulmanın 'heme' grubu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak, hem SNAP hem de YC-1 normal ve peritonit durumlarında gastrointestinal düz kas gevşemesi yapmışlardır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar peritonit durumunda guanilat siklaz enziminde bir defekt olabileceğini ve peritonit durumunda guanilat siklaz aktivatörlerinin etkinliğinin düşük olabileceğini göstermektedir. Bu durumda direkt etkili nitrik oksit donörlerinin kullanılması daha

mantıklı gibi görünse de nitrik oksitin diğerk biyolojik moleküllerle spesifik olmayan etkileşimleri ve bu donörlere karşı çok çabuk tolerans gelişiyor olması, kullanım alanlarını ciddi şekilde kısıtlamaktadır. Şartlar düşünöldüğünde guanilat siklaz enzimindeki defektin tespit edilip, bu defekti ortadan kaldıracak yaklaşımların daha yararlı olabileceğı söylenebilir. Peritonit durumunda düz kas fizyopatolojisindeki değışikliklerin tespit edilmesi ve guanilat siklaz enzimindeki defektin ortaya konup tedavi edilmesine yönelik yaklaşımların geliştirilmesi için ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

BÖLÜM 6

KAYNAKLAR

- [1] Anderson RW, Vaslef SN. Shock in Texbook of Surgery. Fifteenth Edition, pp (68-91) Ed Sabiston DC Jr. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1997.
- [2] Goode HF, Webster NR. Crit Care Med. 1993 Nov; 21(11):1770-6
- [3] Zimmerman JJ. Oxyradical pathophysiology. Adv Pediatr. 1995; 42:243-302.
- [4] Koperna T, Schulz F. Relaparotomy in peritonitis: prognosis and treatment of patients with persisting intraabdominal infection. World J Surg. 2000 Jan; 24(1):32-7.
- [5] Yildiz T, Koyluoglu G, Bagcivan I, Kaya T, Karadas B, Saraç B, Cankorkmaz L. Alterations in spontaneous contractions of rat proximal and distal colon after peritonitis. J Pediatr Surg. 2007 Jul; 42(7):1215-20.
- [6] Bayındır O. Nitrik oksid'in reaktivitesi, sentezi ve analiz metodları. Koşay S (ed). Nitrik Oksid'in Patolojik Olaylardaki Rolü. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1996; 7-25.
- [7] Moncada S, Higgs EA. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993; 30: 2002-2012.
- [8] Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. Lancet 1994; 343: 1199-1206.
- [9]. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: A pathway for the regulation of cell function and communication. Biochem Pharmacol. 1989; 38: 1709-1715.
- [10] Palmer RMJ, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 1989; 158: 348-352.
- [11] Lüscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. Clin Cardiol 1997; 20 (suppl II): II-3-II-10.
- [12] Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Palme yayıncılık 2003.
- [13] Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. Am J Cardiol 2002; 90(suppl): 40-48.
- [14] Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van Maercke YM, Herman AG. Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. Nature 345:346-347, 1990
- [15] Yamato S, Saha JK, Goyal RK. Role of nitric oxide in lower esophageal sphincter relaxation to swallowing. Life Sci 50:1263-1272, 1992.
- [16] Mizuta Y, Takahashi T, Owyang C. Nitrogenic regulation of colonic transit in rats. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 277:G275-G279, 1999.
- [17] Keef KD, Du C, Ward SM, Mc Gregor B, Sanders KM. Enteric inhibitory neural regulation of human colon circular muscle: role of nitric oxide. Gastroenterology 105:1009-1016, 1993
- [18] Gallego D, Hernandez P, Clave P, Jimenez M. P2Y1 receptors mediate inhibitory purinergic neuromuscular transmission in the human colon Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 291:G584-G594, 2006.

- [19] Kaya TT, Koyluoglu G, Soydan SA, Arpacik M, Karadas B. Effects of nimesulide and pentoxifylline on decreased contractile responses in rat ileum with peritonitis. *Eur J Pharmacol*: 442 (2002) 147-153.
- [20] Koyluoglu G, Bagcivan İ, Karadas B, Guney C, Durmus N, Altun A, Kaya T. Alterations in spontaneous contractions of rat ileum and jejunum after peritonitis. *Eur J Pharmacol*: 580 (2008) 250-255.
- [21] Sayek İ. *Temel Cerrahi*, 2. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 1996:899-901.
- [22] Buğra D. Kolon, Rektum, Anal Bölge Anatomisi. *Türkiye Klinikleri Cerrahi*. 2004; 9:1-11.
- [23] *Gastrointestinal Sistem Anatomisi*. Sayek I. *Temel Cerrahi*. Melisa Matbaacılık, İstanbul, 1996; 901- 906.
- [24] Monson H. Anatomy of colon in: Nyhus M L, Baker R j. (eds): *Mastery of surgery*, Little Brown and Company. Boston, 1997;113:896-898.
- [25] Zeren Z. *Sistemik İnsan Anatomisi*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1971:340- 341
- [26] Freeman BD, Buchman TG. Gene in a haystack: tumor necrosis factor polymorphisms and outcome in sepsis. *Crit Care Med* 2000; 28: 3090-1.
- [27] Guyton AC. *Tıbbi Fizyoloji*, 7. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi,1986:1088-1129.
- [28] Berna RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. *Gastrointestinal regulation an motility*. Physiology 5.ed. Philadelphia: Mosby; 2004: 539-65.
- [29] Randlich A, Tyler WJ, Cox JE. Responses of celiac and cervical vagal afferents to infusions of lipids in the jejunum or ileum of the rat. *Am J Regul Integr Comp Physiol*. 2000;278 (1):34-43.
- [30] Watkin DFL: *Brit. J. Surg.* 57:142. 1970.
- [31] Brooke BN. : *Metabolic rearrangements in GIS surgery*. Springfield III. Thomas 1967.
- [32] Ertekin C.Karın İçi Enfeksiyonların Kalaycı G. Eds. *Genel Cerrahi*. İstanbul Nobel Tıp,2002:I,217-243
- [33] Solomkin JS, Wittman W,West MA, Barie PS. Intraabdominal Infections. In Schwartz IS (Eds)*Principles of Surgery*.7th ed.Vol.2.1515-1551,New York,1999.
- [34] Wittman DW. *Abdominal enfeksiyonlar*. Editör; Sayek İ.Temel Cerrahi.2.baskı 1408-1436,Güneş Kitabevi, Ankara,1998.
- [35] Sayek İ. *Temel Cerrahi*, 2. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 1996:1408-33
- [36] Balk RA. Severe sepsis and septic shock: definitions, epidemiology, and clinical manifestations *Crit Care Clin* 2000; 16:179–192.
- [37] Bone RC: Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med*. 24: 163-72, 1996.
- [38] Van Deventer SJ. Cytokine and cytokine receptor polymorphisms in infectious disease. *Intens Care Med* 2000; 26: Suppl 1: S98-102.
- [39] Matzinger P. An innate sense of danger. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 961: 341-2.
- [40] Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS): a prospective study. *JAMA* 1995; 273:117–123.
- [41] Vincent JL, Abraham E, Annane D, Bernard G, Rivers E, Berghe GV; Report on a roundtable meeting 4th International Conference on Sepsis in ICU, London. *J Crit Care Forum* Volume 6: Suppl. 3, 2002.
- [42] Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM Concensus Conference on sepsis and organ failure. *Chest* 101:1481-2,1992.

- [43] Sayek İ. Temel Cerrahi, 2. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 1996:920-2.
- [44] Smith DW, Nagler-Anderson C. Preventing intolerance: The induction of nonresponsiveness to dietary and microbial antigens in the intestinal mucosa. *J Immunol.* 2005;1:174(7):3851-7
- [45] Cinel İ. Sepsis patofizyolojisi
- [46] Overhaus M, Togel S, Pezzone MA, Bauer AJ. Mechanism of polymicrobial sepsis-induced ileus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004;287(3):G685-94.
- [47] Harada T, Moore BA, Yang R. Ethyl pyruvate ameliorates ileus induced by bowel manipulation in mice. *Surgery.* 2005;138(3):530-7.
- [48] Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji, 5. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1995:25-47.
- [49] Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
- [50] Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1988;12:365-372.
- [51] Maxwell AJ: Mechanisms of dysfunction of the nitric oxide pathway in vascular diseases. *Nitric Oxide* 2002;6:101-124.
- [52] Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG: Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;357:593-615.
- [53] Dinerman JL, Lowenstein CJ, Snyder SH: Molecular mechanisms of nitric oxide regulation. Potential relevance to cardiovascular disease. *Circ Res* 1993;73:217222.
- [54] Dawson VL, Dawson TM: Nitric oxide neurotoxicity. *J Chem Neuroanat* 1996;10:179-190.
- [55] Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142.
- [56] Stefano GB, Salzet M, Magazine HI, Bilfinger TV: Antagonism of LPS and IFN-gamma induction of iNOS in human saphenous vein endothelium by morphine and anandamide by nitric oxide inhibition of adenylate cyclase. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31:813-820.
- [57] Hibbs JB, Jr. Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM: Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;157:8794.
- [58] Brady AJ, Warren JB, Poole-Wilson PA, Williams TJ, Harding SE: Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction. *Am J Physiol* 1993;265:H176-182.
- [59] Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ, Hofmann K, Simmons RL: Hepatocytes produce nitrogen oxides from L-arginine in response to inflammatory products of Kupffer cells. *J Exp Med* 1989;170:1769-1774.
- [60] Knowles RG, Merrett M, Salter M, Moncada S: Differential induction of brain, lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in the rat. *Biochem J* 1990;270:833-836.
- [61] Marletta MA: Nitric oxide synthase: function and mechanism. *Adv Exp Med Biol* 1993;338:281-284.
- [62] Langrehr JM, Murase N, Markus PM, Cai X, Neuhaus P, Schraut W, Simmons RL, Hoffman RA: Nitric oxide production in host-versus-graft and graft-versus-host reactions in the rat. *J Clin Invest* 1992;90:679-683.
- [63] Nathan C: Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb J* 1992;6:3051-3064.

- [64] Niemann A, Bjorklund A, Eizirik DL: Studies on the molecular regulation of the inducible form of nitric oxide synthase (iNOS) in insulin-producing cells. *Mol Cell Endocrinol* 1994;106:151-155.
- [65] Rojas J, Paya M, Devesa I, Dominguez JN, Ferrandiz ML: Therapeutic administration of 3,4,5-trimethoxy-4'-fluorochalcone, a selective inhibitor of iNOS expression, attenuates the development of adjuvant-induced arthritis in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2003;368:225-233.
- [66] Tsukahara Y, Morisaki T, Kojima M, Uchiyama A, Tanaka M: iNOS expression by activated neutrophils from patients with sepsis. *ANZ J Surg* 2001;71:15-20.
- [67] Cooke JP, Dzau VJ: Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med* 1997;48:489-509.
- [68] Zoghi M, Nalbantgil I: [Hypertension and endothelial dysfunction]. *Anadolu Kardiyol Derg* 2002;2:142-147, AXVIII.
- [69] Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignarro LJ: Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991;17:187-193.
- [70] Posch K, Schmidt K, Graier WF: Selective stimulation of L-arginine uptake contributes to shear stress-induced formation of nitric oxide. *Life Sci* 1999;64:663-670.
- [71] Cornwell TL, Arnold E, Boerth NJ, Lincoln TM: Inhibition of smooth muscle cell growth by nitric oxide and activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP. *Am J Physiol* 1994;267:C1405-1413.
- [72] Janssens S, Flaherty D, Nong Z, Varenne O, van Pelt N, Haustermans C, Zoldhelyi P, Gerard R, Collen D: Human endothelial nitric oxide synthase gene transfer inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation after balloon injury in rats. *Circulation* 1998;97:1274-1281.
- [73] Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:4651-4655.
- [74] Lefer DJ, Jones SP, Girod WG, Baines A, Grisham MB, Cockrell AS, Huang PL, Scalia R: Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol* 1999;276:H1943-1950.
- [75] Wong D, Prameya R, Wu V, Dorovini-Zis K, Vincent SR: Nitric oxide reduces T lymphocyte adhesion to human brain microvessel endothelial cells via a cGMP dependent pathway. *Eur J Pharmacol* 2005;514:91-98.
- [76] Nabah YN, Mateo T, Cerda-Nicolas M, Alvarez A, Martinez M, Issekutz AC, Sanz MJ: L-NAME induces direct arteriolar leukocyte adhesion, which is mainly mediated by angiotensin-II. *Microcirculation* 2005;12:443-453.
- [77] Wink DA, Miranda KM, Espey MG: Cytotoxicity related to oxidative and nitrosative stress by nitric oxide. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226:621-623.
- [78] Deutsch DG, Goligorsky MS, Schmid PC, Krebsbach RJ, Schmid HH, Das SK, Dey SK, Arreaza G, Thorup C, Stefano G, Moore LC: Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 1997;100:1538-1546.
- [79] Buxton IL, Cheek DJ, Eckman D, Westfall DP, Sanders KM, Keef KD: NG-nitro Larginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Circ Res* 1993;72:387-395.88
- [80] Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, Ross HF, Coote JH, Townend JN: Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. *Hypertension* 2000;36:264-269.

- [81] Ma S, Abboud FM, Felder RB: Effects of L-arginine-derived nitric oxide synthesis on neuronal activity in nucleus tractus solitarius. *Am J Physiol* 1995;268:R487-491.
- [82] Kieffer BL, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Hirth CG: The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:12048-12052.
- [83] Tagawa T, Imaizumi T, Harada S, Endo T, Shiramoto M, Hirooka Y, Takeshita A: Nitric oxide influences neuronal activity in the nucleus tractus solitarius of rat brainstem slices. *Circ Res* 1994;75:70-76.
- [84] Jung HC, Mun KH, Park TC, Lee YC, Park JM, Huh K, Seong DH, Suh JK: Role of nitric oxide in penile erection. *Yonsei Med J* 1997;38:261-269.
- [85] Holzer P, Livingston EH, Saria A, Guth PH: Sensory neurons mediate protective vasodilatation in rat gastric mucosa. *Am J Physiol* 1991;260:G363-370.
- [86] Rao RK, Riviere PJ, Pascaud X, Junien JL, Porreca F: Tonic regulation of Mouse ileal ion transport by nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;269:626-631.
- [87] Ito S: Nitric oxide in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995;4:23-30.
- [88] Zatz R, Baylis C: Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension* 1998;32:958-964.
- [89] Busse R, Fleming I, Schini VB: Nitric oxide formation in the vascular wall: regulation and functional implications. *Curr Top Microbiol Immunol* 1995;196:7-18.
- [90] Lindsay RM, Peet RS, Wilkie GS, Rossiter SP, Smith W, Baird JD, Williams BC: In vivo and in vitro evidence of altered nitric oxide metabolism in the spontaneously diabetic, insulin-dependent BB/Edinburgh rat. *Br J Pharmacol* 1997;120:1-6.
- [91] Kimura H, Hokari R, Miura S, Shigematsu T, Hirokawa M, Akiba Y, Kurose I, Higuchi H, Fujimori H, Tsuzuki Y, Serizawa H, Ishii H: Increased expression of an inducible isoform of nitric oxide synthase and the formation of peroxynitrite in colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis. *Gut* 1998;42:180-187.
- [92] Miller MJ, Sadowska-Krowicka H, Chotinaruemol S, Kakkis JL, Clark DA: Amelioration of chronic ileitis by nitric oxide synthase inhibition. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;264:11-16.
- [93] Islam D, Veress B, Bardhan PK, Lindberg AA, Christensson B: In situ characterization of inflammatory responses in the rectal mucosae of patients with shigellosis. *Infect Immun* 1997;65:739-749.
- [94] Rabbani GH, Islam S, Chowdhury AK, Mitra AK, Miller MJ, Fuchs G: Increased nitrite and nitrate concentrations in sera and urine of patients with cholera or shigellosis. *Am J Gastroenterol* 2001;96:467-472.
- [95] Rejdak K, Petzold A, Sharpe MA, Smith M, Keir G, Stelmasiak Z, Thompson EJ, Giovannoni G: Serum and urine nitrate and nitrite are not reliable indicators of intrathecal nitric oxide production in acute brain injury. *J Neurol Sci* 2003;208:1-7.
- [96] Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg* 1995;82:1598-610.
- [97] Vos TA, Gouw AS, Klok PA, Havinga R, van Goor H, Huitema S, et al. Differential effects of nitric oxide synthase inhibitors on endotoxin-induced liver damage in rats. *Gastroenterology* 1997;113:1323-33.
- [98] Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 1995;221:220-35.

- [99] Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Heliadis N, Herodotou A, Hatjopoulou E, Petridou E, et al. The implication of nitric oxide in the process of bacterial translocation. *Int Surg* 2000;85:23-6.
- [100] Hutcheson IR, Whittle BJ, Boughton-Smith NK. Role of nitric oxide in maintaining vascular integrity in endotoxin induced acute intestinal damage in the rat. *Br J Pharmacol* 1990;101:815-20.
- [101] Kavuklu B, Agalar C, Guc MO, Sayek I. Evidence that aminoguanidine inhibits endotoxin-induced bacterial translocation. *Br J Surg* 1998;85:1103-6.
- [102] Unno N, Menconi MJ, Smith M, Fink MP. Nitric oxide mediates interferon-gamma induced hyperpermeability in cultured human intestinal epithelial monolayers. *Crit Care Med* 1995;23:1170-6.
- [103] Tamir S, Tannenbaum SR. The role of nitric oxide (NO) in the carcinogenic process. *Biochim Biophys Acta* 1996;1288:F31-6.
- [104] Taylor DE, Kantrow SP, Piantadosi CA. Mitochondrial respiration after sepsis and prolonged hypoxia. *Am J Physiol* 1998;275(1 Pt 1):L139-44.
- [105] Lai YK, Lee WC, Hu CH, Hammond GL. The mitochondria are recognition organelles of cell stress. *J Surg Res* 1996;62:90-4.
- [106] Kubes P, McCafferty DM. Nitric oxide and intestinal inflammation. *Am J Med* 2000;109:150-8.
- [107] Gryglewski RJ, Wolkow PP, Uracz W, Janowska E, Bartus JB, Balbatun O, et al. Protective role of pulmonary nitric oxide in the acute phase of endotoxemia in rats. *Circ Res* 1998;82:819-27.
- [108] Oudenhoven IM, Klaasen HL, Lapre JA, Weerkamp AH, Van der Meer R. Nitric oxide-derived urinary nitrate as a marker of intestinal bacterial translocation in rats. *Gastroenterology* 1994;107:47-53.
- [109] Komarov AM, Reddy MN. Effect of septic shock on nitrate, free amino acids, and urea in murine plasma and urine. *Clin Biochem* 1998;31:107-11.
- [110] Van Dissel JT, Groeneveld PH, Maes B, van Furth R, Frolich M, Feuth HD. Nitric oxide: a predictor of morbidity in postoperative patients? *Lancet* 1994;343:1579-80.
- [111] Guler O, Ugras S, Aydin M, Dilek FH, Dilek ON, Karaayvaz M. The effect of lymphatic blockage on the amount of endotoxin in portal circulation, nitric oxide synthesis, and the liver in dogs with peritonitis. *Surg Today* 1999;29:735-40.
- [112] Billiar TR, Harbrecht BG. Resolving the nitric oxide paradox in acute tissue damage. *Gastroenterology* 1997;113:1405-7.
- [113] Vallance P, Moncada S. Role of endogenous nitric oxide in septic shock. *New Horiz* 1993;1:77-86.
- [114] Skimming JW, Banner MJ, Spalding HK, Jaeger MJ, Burchfield DJ, Davenport PW. Nitric oxide inhalation increases alveolar gas exchange by decreasing deadspace Volume. *Crit Care Med* 2001;29:1195-200.
- [115] Koh Y, Kang JL, Park W, Pack IS, Lee HS, Kim MJ, Lim CM. Inhaled nitric oxide down-regulates intrapulmonary nitric oxide production in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Crit Care Med* 2001;29:1169-74.
- [116] Johannigman JA, Davis K Jr, Miller SL, Campbell RS, Luchette FA, Frame SB, et al. Prone positioning and inhaled nitric oxide: synergistic therapies for acute respiratory distress syndrome. *J Trauma* 2001;50:589-95.
- [117] Cuthbertson BH, Galley HF, Webster NR. Effect of inhaled nitric oxide on key mediators of the inflammatory response in patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 2000;28:1736-41.

- [118] Dunn, D.L, Nelson, R.D, Condie, R.M, Simmons, R.L: Mechanisms of the adjuvant effect of hemoglobin in experimental peritonitis. VI. Effects of stroma-free hemoglobin and red blood cell stroma on mortality and neutrophil function. *Surgery* 93:653, 1983
- [119] Hau, T, Hoffman, R, Simmons, R.L: Mechanism of the adjuvant effect of hemoglobin in experimental peritonitis. I. In vivo inhibition of peritoneal leukocytosis. *Surgery* 83:223, 1978
- [120] Hand, W.L: Inhibition of cell-free oxidative bactericidal activity by erythrocytes and hemoglobin. *Infect. Immun.*40:917,1984
- [121] Kim, Y.M, Yamazaki, I, Piette, L.H: The effect of hemoglobin, hematin, and iron on neutrophil inactivation in superoxide generating systems. *Arch. Biochem. Biophys.* 309:308, 1994
- [122] Hand, W.L, King-Thompson, N.L: Effect of erythrocyte ingestion on macrophage antibacterial function. *Infect. Immun.*40:917,1983
- [123] Commins, L.M, Loegering, D.J,Gudewicz, P.W: Effect of phagocytosis of erythrocytes and erythrocyte ghosts on macrophage function and hydrogen peroxide production. *Inflammation* 14:705,1990
- [124] Lancaster, J.R, Jr: Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*91:8137,1994
- [125] Rioux, F, Petitclerc, E, Audet, R, Drapeau, G, Fielding, R.M.,Marceau, F.: Recombinant human hemoglobin inhibits both constitutive and cytokine-induced nitric oxide-mediated relaxation of rabbit isolated aortic rings. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 24:229, 1994
- [126] Kim, Y.M, Hong, S.J, Billiar, T.R, Simmons, R.L: Counterproductive effect of erythrocytes in experimental bacterial peritonitis is due to scavenging of nitric oxide and reactive oxygen intermediates. *Infect. Immun.* 64:3074, 1996
- [127] Streeten DHP. :*Brit. J. Med.*2:587,1952.
- [128] Mark L. Johnson, M.D, Timothy R. Billiar, M.D. Roles of Nitric Oxide in Surgical Infection and Sepsis. *World J. Surg.* 22, 187–196, 1998
- [129] Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *JAMA* 1995;273:117-23.
- [130] Durum SK, Muege K. Cytokines linking the immune and inflammatory systems. In: Schwartz BD, ed. *Clinical immunology principles and practice*. Mosby.1995.
- [131] Başak M, Coşansel S, Çankır Z, Keskin O, Yazgan Y, Koçak N ve ark. Sepsis, septik şok ve tedavide son yaklaşımlar. *Sendrom* 1998; 10: 54-61.
- [132] Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115: 457-69.
- [133] Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England Journal of Medicine* 2003;348:138-51.
- [134] Lopez-Bojorquez LN, Dehesa AZ, Reyes-Teran G. Molecular Mechanisms Involved in the pathogenesis of septic shock. *Archives of Medical Research* 2004; 35: 465-79.
- [135] Young LS, Proctor RA, Beutler B, McCabe WR, Sheagren JN. University of California/Davis Interdepartmental Conference on Gram-Negative Septicemia. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 666-87.
- [136] Lugtenberg B, Van Alphen A. Molecular architecture and function of the outer membran of Escheria coli and other gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta* 1983; 737: 51-115.
- [137] Bloom SR (ed). *Toohey's Medicine*. Elsevier Health Sciences; 1994.169.

- [138] Hung KY, Tsai TJ, Chen WY. Peritoneal fibrosis and its prevention. *Nephrology* 2002; 7: 227-32.
- [139] van Goor H, de Graaf JS, Grond J. Fibrinolytic activity in the abdominal cavity of rats with faecal peritonitis. *Br J Surg* 1994; 81: 1046-9.
- [140] Perdue PW, Kazarian KK, Nevola J, Low WR, Williams T. The use of local and systemic antibiotics in rat faecal peritonitis. *J Surg Res* 1994; 57: 360-5.
- [141] Thanopoulou AC, Koskinas JS, Hadziyannis SJ. Spontaneous bacterial peritonitis (SBP): Clinical, laboratory, and prognostic features. A single center experience. *Eur J Intern Med* 2002; 13: 194-8.
- [142] James M. Becker: Motility of the Gastrointestinal Tract. *The Surgical Clinics of North America Vol:73 Dec 1993*
- [143] Hara Y, Kubota M. and Szurszewski J. H. (1986) *J. Physiol.* 372, 501–520.
- [144] Makhlouf G. M. (1994) *Physiology of the Gastrointestinal Tract* (Johnson L. R, Ed.) pp. 977–990. Raven Press, New York.
- [145] Makhlouf GM, Murthy KS. Signal transduction in gastrointestinal smooth muscle. *Cell Signal.* 1997 May-Jun; 9(3-4):269-76. Review. PubMed PMID: 9218127.
- [146] Arslan M.Ş. Prokinetik ajanların proksimal-distal kolon motilitesi üzerine etkilerinin olup olmadığının deneysel olarak çalışılması. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi Sivas, 2009.
- [147] Takahashi T, Owyang C. Regional differences in the nitrenergic innervation between proximal and distal colon in rats. *Gastroenterology.* 1998;115:1504–1512
- [148] García-Pascual A, Costa G, Labadía A, Jimenez E, Triguero D. Differential mechanisms of urethral smooth muscle relaxation by several NO donors and nitric oxide. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1999 Jul;360(1):80-91
- [149] Takakura K, Muramatsu I. Pharmacological comparison between the nitrenergic responses produced by intramural nerve stimulation and exogenous NO-donors in rat gastric fundus. *Jpn J Pharmacol.* 1999 Jun;80(2):155-61.
- [150] Aydin C, Bagcivan I, Yildirim S, Koyuncu A, Topcu O, Soyly S, Ozer H. Effect of nitric oxide/cyclic guanosine mono-phosphate pathway on gallbladder relaxant response in bile duct-ligated guinea pigs. *Eur Surg Res.* 2009;42(3):189-94.
- [151] Kalsi JS, Rees RW, Hobbs AJ, Royle M, Kell PD, Ralph DJ, Moncada S, Cellek S. BAY41-2272, a novel nitric oxide independent soluble guanylate cyclase activator, relaxes human and rabbit corpus cavernosum in vitro. *J Urol.* 2003 Feb;169(2):761-6.
- [152] Nimmegeers S, Sips P, Buys E, Brouckaert P, Van de Voorde J. Functional role of the soluble guanylyl cyclase alpha(1) subunit in vascular smooth muscle relaxation. *Cardiovasc Res.* 2007 Oct 1;76(1):149-59.
- [153] Ward JK, Barnes PJ, Tadjkarimi S, Yacoub MH, Belvisi MG. Evidence for the involvement of cGMP in neural bronchodilator responses in humal trachea. *J Physiol.* 1995 Mar 1;483 (Pt 2):525-36.
- [154] Gaston B, Drazen JM, Jansen A, Sugarbaker DA, Loscalzo J, Richards W, Stamler JS. Relaxation of human bronchial smooth muscle by S-nitrosothiols in vitro. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994 Feb;268(2):978-84.
- [155] Janssen LJ, Premji M, Lu-Chao H, Cox G, Keshavjee S. NO(+) but not NO radical relaxes airway smooth muscle via cGMP-independent release of internal Ca(2+). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 May;278(5):L899-905.

- [156] Perkins WJ, Pabelick C, Warner DO, Jones KA. cGMP-independent mechanism of airway smooth muscle relaxation induced by S-nitrosoglutathione. *Am J Physiol.* 1998 Aug;275(2 Pt 1):C468-74.
- [157] Thompson DC, Altieri RJ. Differential susceptibility of tracheal contraction to nonadrenergic noncholinergic relaxation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998 Jan;284(1):19-24.
- [158] Ahern GP, Klyachko VA, Jackson MB. cGMP and S-nitrosylation: two routes for modulation of neuronal excitability by NO. *Trends Neurosci.* 2002 Oct;25(10):510-7.)
- [159] Friebe A, Koesling D. Mechanism of YC-1-induced activation of soluble guanylyl cyclase. *Mol Pharmacol.* 1998 Jan;53(1):123-7
- [160] Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM, Haskó G, Schmidt HH, Stasch JP. NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2006 Sep;5(9):755-68.