



T.C.
GAZİOSMAN PAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PULSLU MANYETİK ALANIN SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARIN KARACİĞER DOKULARINDAKİ TEDAVİ EDİCİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

EVALUATION OF THE THERAPEUTIC EFFECTS OF PULSED
MAGNETIC FIELD IN THE RAT LIVER TISSUES WITH SEPSIS
MODEL

SERKAN YELLİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. FİKRET GEVREK

TOKAT-2016



T.C.
GAZİOSMAN PAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PULSLU MANYETİK ALANIN SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARIN KARACİĞER DOKULARINDAKİ TEDAVİ EDİCİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

EVALUATION OF THE THERAPEUTIC EFFECTS OF PULSED
MAGNETIC FIELD IN THE RAT LIVER TISSUES WITH SEPSIS
MODEL

SERKAN YELLİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. FİKRET GEVREK

TOKAT-2016

ONAY SAYFASI



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(.....2016)

Serkan YELLİ

İmzası

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi ve tez çalışması süresince değerli bilgi ve yardımlarıyla bana destek olup beniyönlendiren başta danışmanhocam Sayın, Yrd. Doç. Dr. Fikret GEVREK'e

ÇalışmadaPulsu Manyetik Alan cihazını kullanma imkânını sağlayıp bu konuda bizimle değerli bilgi ve deneyimlerini paylaşarak her türlü desteği sağlayan Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın, Yrd. Doç.Dr. Serkan GÜRGÜL hocamıza,

Ayrıca çalışmalarım boyunca olumlu desteklerinden dolayı mesai arkadaşlarıma ve özellikle de göstermiş olduğu sabırdan dolayı eşim Elif YELLİ ile biricik oğlum Tuna YELLİ'ye, yetişmemde ve bugünlere gelmemde desteğini ve dualarını esirgemeyen anneme ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Sepsis infeksiyonlara karşı konak reaksiyonudur ve sistemik inflamatuvar yanıt ile karakterize edilmektedir. Sepsiste, organ fonksiyonu kaybindan ölüme kadar varabilen ciddi durumlar görülebilmektedir. En önemli etkileri akciğer, böbrek ve karaciğer gibi organlarda gözlemlenmektedir. Pulsu manyetik alan (PMA) çeşitli infeksiyonlarda adjuvan tedavi olarak kullanıldığından sepsisin karaciğerde oluşturduğu hasara PMA'nın etkilerini araştırmayı amaçladık.

Wistar albino cinsi yetişkin 28 adet sıçan 7'şerli Sham (kontrol), sepsis, 7.5 Hz PMA tedavi, 15 Hz PMA tedavi olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar çekal ligasyon perferasyon yöntemi (ÇLP) ile sepsis yapıldı. Sepsisten beş saat sonrasında tedavi gruplarına 24 saat süre ile PMA uygulandı. Deney sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek karaciğer dokuları alındı. Rutin doku tespit ve takibi işlemlerinden sonra hematoksilen eozin, üçlü boyama, tunel boyama ve immünohistokimyasal boyamalar sonrası mikroskobik analizler gerçekleştirildi.

Hematoksilen eosin ve üçlü boyama analizlerde sepsis grubunda biraz soluk boyanma ve doku hasarı görünümü mevcuttu. Tunel boyamada hepatosit apoptik indeksin sepsiste arttığı, tedavi gruplarında ise sepsise göre azaldığı tespit edildi ($p<0.05$). İmmünohistokimyasal analizlerde ise Bax, Acas-3 ekspresyonları sepsise göre azalmıştı. Bcl-2'nin ise sadece 7.5 Hz tedavi grubunda kontrolle benzerdi.

Sonuçlara göre PMA uygulamasının sepsis kaynaklı karaciğer hasarı tedavisinde faydalı olabileceği söylenebilir. Ancak üst düzey ileri çalışmalar ile desteklendikten sonra kesin kararların verilmesi daha uygun olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, Karaciğer, PMA, Sepsis, Sıçan

ABSTRACT

Sepsis is the hosts' reaction to infection and is characterized by a systemic inflammatory response. Severe cases from loss of organ function to death of organism can be seen in sepsis. Its most serious effects were observed in organs like lung, kidney and liver. Since pulsed magnetic field (PMA) is used as an adjuvant treatment in some infections, we aimed to investigate the effect of PMA in sepsis induced histological damage of liver.

28 adult Wistar albino rats were divided into 4 groups as Sham (control), Sepsis, 7.5 Hz PMA and 15 Hz PMA treatments, 7 rats in each. The rats were rendered sepsis experimentally with cecal ligation and perforation (CLP). After five hours, the treatment groups were exposed to PMA for 24 hours. At the end the rats were sacrificed and livers were removed. After the routine tissue fixation and processing, Hematoxylin-eosin, Triple, TUNEL and Immunohistochemical stainings were made then, microscopic analysis was performed.

In hematoxylin-eosin and triple staining analysis faint staining and tissue damages were exist in sepsis. In TUNEL, apoptotic index increased in sepsis but decreased in treated group respect to sepsis ($p < 0.05$). Interestingly immunopositivity of Bax, Caspase-3 increased in treated groups with respect to sepsis while Bcl-2 expression was similar to control only in 7.5 Hz PMA group.

According to this finding we can state that PMA administration is able to go to be useful in tissue damages of liver. This effect has occurred as if via Bcl-2 pathway. But after supporting with high level studies it is more suitable for precise decisions.

Key Words: Apoptosis, Liver, PMF, Sepsis, Rat

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
KISALTMALAR VE SEMBOLLER	xix
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Sepsis	4
2.1.1. Sepsisle İlgili Tanımlar	4
2.1.1.1. İnfeksiyon.....	5
2.1.1.2. Bakteriyemi	5
2.1.1.3.Sistemik İnflamatuvarReaksiyon Sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS)	5
2.1.1.4.Sepsis	6
2.1.1.5. Ağır Sepsis	6
2.1.1.6.Çoklu Organ Yetmezliği (ÇOY) (MODS-Multiple Organ Dysfunction Syndrome)	7
2.1.2. Sepsis Etiyolojisi	8
2.1.3.Epidemiyoloji ve İnsidans.....	9
2.1.4. Sepsisin Patofizyolojisi	10
2.1.5. Sepsisin Organlar Üzerine Etkileri.....	12
2.1.6. Sepsiste Tedavi.....	16
2.2. Apoptozis	17
2.2.1. Apoptozisin Tanımı ve Tarihçesi	17
2.2.2. Apoptozisin Regülasyonu	18
2.2.2.1. p53'ün Rolü.....	19
2.2.2.2. Bcl-2/Bax	19
2.2.2.3. Kaspazlar.....	21
2.2.3. Apoptozisin Sitotoksik Regülasyonu	23
2.2.3.1. Granzim veya Perforin Sistemi	23
2.2.3.2.Fas - Fas Ligandı (CD95 Yolu).....	23
2.2.4. Apoptozis Uyarıcı Faktör (AUF)	24
2.2.5. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler	25

2.3.Karaciğer.....	26
2.3.1.Karaciğer Histolojisi	26
2.3.2.Karaciğer Anatomisi	29
2.3.3.Karaciğerin Fizyolojisi.....	31
2.3.3.1.Karaciğerin Karbonhidrat Metabolizmasındaki Rolü	31
2.3.3.2. Karaciğerin Yağ Metabolizmasındaki Rolü.....	32
2.3.3.3. Karaciğerin Protein Metabolizmasındaki Rolü	33
2.3.3.4. Karaciğerde Vitaminlerin Depo Edilmesi	34
2.3.3.5.Karaciğerde Demirin Ferritin Şeklinde Depolaması	35
2.3.3.6. Karaciğerin Kanın Pıhtılaşmasındaki Görevi.....	35
2.3.3.7.Karaciğerin İlaçların ve Toksik Maddelerin Vücuttan Atılmasındaki Rolü	36
2.3.3.8.Karaciğerin Hormonlar Üzerindeki Etkisi	36
2.3.3.9. Karaciğerin Kan Depo İşlevi.....	37
2.3.3.10. Karaciğerin Kan Temizleme İşlevi (Karaciğerin Makrofaj Sistemi)	37
2.3.3.11. Karaciğerin Safra Üretimi	37
2.3.3.12.Karaciğerin Bilirubin Oluşumundaki Görevi.....	38
2.3.3.13. Karaciğerin Yenilenmesi (Rejenerasyon)	39
2.4. Elektromanyetik Alan ve Pulsu (Darbeli) Manyetik Alan	40
2.4.1.Elektromanyetik Alanların Canlı Üzerinde Etkileri.....	40
2.5.Sepsiste Deneysel Modeller	44
2.5.1.Lipopolisakkarid Verilerek Oluşturulan Septik Şok Modelleri	44
2.5.2.Çekum Bağlama ve Delme Modeli [Cecal Ligation And Puncture (ÇLP)].....	44
2.5.3. Damar Veya Periton İçine Canlı Bakteri Uygulanması	45
3. YÖNTEM.....	46
3.1. Hayvan Deneyi Uygulamaları.....	46
3.1.1. Grup Sham (Serum fizyolojik) :.....	47
3.1.2. Grup (sepsis modeli oluşturulan sıçanlar):.....	49
3.1.3. Grup tedavi1 (7.5 Hz Manyetik Alan +Sepsis):.....	52
3.1.4. Grup Tedavi2 (15 Hz Manyetik Alan+Sepsis):.....	54
3.2.Histolojik İncelemeler:.....	55
3.2.1.Doku Takibi ve Bloklama:	55
3.2.2.Kesitlerin Elde Edilmesi	56
3.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar.....	56
3.3.1. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü.....	56

3.3.2. İmmün Boyamada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	57
3.3.2.1. Primer (poliklonal) Antikor.....	57
3.3.2.2. Sekonder Antikor	58
3.3.2.3. PBS Solüsyonu.....	58
3.3.2.4. Sitrik Asit Solüsyonu	58
3.3.2.5. Hidrojen Peroksit Solüsyonu (%3).....	58
3.3.2.6. Kromojen	59
3.3.2.7. Zıt Boyama İçin Hematoksilen Hazırlanması	59
3.3.3. Tunel Boyama	59
3.3.4 Üçlü Boyama.....	61
3.3.4.1. Üçlü Boyama Solüsyonlarının Hazırlanması	62
3.3.4.1.1. Asit Fuksin-Oranj G solusyonu.....	62
3.3.4.1.2. Weigert'in Hematoksilen Solusyonu	62
3.3.4.1.3. Fosfotungostik Asit solusyonu	63
3.3.4.1.4. Asetik Asit solusyonu	63
3.3.5. Hematoksilen-Eozin Boyaması.....	63
3.3.6. İmmünohistokimyasal Boyanma Skorlaması.....	64
3.3.7. Semiquantitative H-Skor Sistemi	64
3.3.8. Apoptotik İndeks Analizi	65
3.3.9. İstatistiksel Analiz.....	65
4-BULGULAR.....	66
4.1. Sıçan Ağırlıkları Ölçüm Değerleri	66
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	67
4.3. Tunel Boyaması Bulguları	76
4.4. Histopatolojik Sonuçlar	79
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	84
6-KAYNAKLAR.....	93
7. ÖZGEÇMİŞ	101

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Apoptotik Genler	19
Tablo 3.2.1. Doku Takibi Protokolü	56
Tablo 3.2.2. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü.....	58
Tablo 3.3.1. Tunel Boyama Protokolü.....	62
Tablo 3.3.4.1 Üçlü Boyama Protokolü.....	62
Tablo 3.3.5.1 Hemotoksilen Eozin Boyama Protokolü.....	65
Tablo 4.1.1 Sıçanların Ağırlık Ölçümü Sonuçları.....	67
Tablo 4.2.1. Karaciğer Hücrelerinde Bax, Bcl-2, Acas-3 Proteinlerinin İmmünohistokimyasal Boyanma Şiddetleri Skorları Ortalama Değerleri.....	68
Tablo 4.2.2. Karaciğer Hücrelerinin Bcl-2 ve Bax Proteinleri İmmünohistokimyasal Boyanma Şiddetleri Skorları Oranlarının Grup Ortalama Değerleri.....	69
Tablo 4.3.1. Grupların Apoptotik İndekslerinin Ortalama Değerleri.....	77

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil. 2.3.1. Karaciğer Damarlar, Kupffer Hücreleri ve Sinüzoid Görüntüsü	26
Şekil 2.3.2.Karaciğer Damarları	29
Şekil 2.3.3.Karaciğerin önden ve arkadan görünüşü	30
Şekil 3. 1. Batını açılan sıçanın görünümü	48
Şekil 3.2. Çekumu dışarı çıkartılmış sıçanın görünümü.....	49
Şekil 3. 3. Çekumu batın bölgesine geri konmuş sıçanın görünümü	49
Şekil 3. 4.Sepsis yapmak için operasyona hazır hale getirilmiş sıçan.....	50
Şekil 3.5.Sıçanın batın bölgesinin kesilmiş halinin görünümü	51
Şekil 3.6.Çekumun bağlanması	51
Şekil 3.7. Çekumun iğne ile delinmesinin görüntüsü.....	52
Şekil 3. 8. Çekumun batın bölgesine geri yerleştirilmesi ve batın bölgesinin dikilmesi	52
Şekil 3. 9 Sepsis olmuş sıçanın iç organlarının görüntüsü	53
Şekil 3.10. PMA düzeneği	54
Şekil 4.2.1 Karaciğer hücrelerinde Bax, Bcl-2, Acas-3 proteinlerinin İmmünohistokimyasal boyanma şiddetleri H-Skorları Ortalama Değerlerinin karşılaştırılmalı olarak grafiksel görünümü.....	69
Şekil 4.2.2. Karaciğer hücrelerinin ölüm yaşam marker proteinleri imminohistokimyasal boyanma şiddetleri skorları ortalama değerleri oranlarının karşılaştırılmalı grafiksel görünümleri.....	70
Şekil 4.2.3 Sham Grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Acas-3 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu	71
Şekil 4.2.4. Sham Grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.....	71
Şekil 4.2.5 Sham Grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bcl-2	

proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	72
Şekil 4.2.6. Sepsis Grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Acas-3 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	72
Şekil 4.2.7. Sepsis grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	73
Şekil 4.2.8. Sepsis grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	73
Şekil 4.2.9. 7.5 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Acas-3 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	74
Şekil 4.2.10. 7.5Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	74
Şekil 4.2.11. 7.5Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	75
Şekil 4.2.12. 15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	75
Şekil 4.2.13. 15Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	76
Şekil 4.2.14. 15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde Bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu.	76
Şekil 4.3.1. Grup apoptotik indekslerin ortalama değerlerinin karşılaştırılması olarak gösterilmesi.	77
Şekil 4.3.2. Sham grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde apoptotik hücrelerin ekspresyonu.	78
Şekil 4.3.3. Sepsis Grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde apoptotik hücrelerin ekspresyonu.	78
Şekil 4.3.4. 7.5 Hz tedavi grubu karaciğer dokusunda apoptotik hücrelerin mikroskopik görüntüsü.	79

Şekil 4.3.5. 15 Hz tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde apoptotik hücrelerin ekspresyonu	79
Şekil 4.4.1. Sham grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü	81
Şekil 4.4.2. Sepsis grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü	81
Şekil 4.4.3. 7.5 Hz tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü	82
Şekil 4.4.4. 15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü	82
Şekil 4.4.5. Sham grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilin-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü	83
Şekil 4.4.6. Sepsis grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilin-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü	83
Şekil 4.4.7. 7.5 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilin-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü	84
Şekil 4.4.8. 15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun Hematoksilin eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü	84

KISALTMALAR VE SEMBOLLER

AA: Alternatif akım

Acas: Active caspaze

AEC: Aminoetil karbazol

ARDS: Akut akciğer ve akut solunum sıkıntısı sendromu

AUF: Apoptozis uyarıcı faktörler

Bax: Bcl-2 associated x protein

Bcl-2: B- cell lymphoma 2

BrdU: 5-bromo-2-deoksiüridin

BSA: Boin serum albumin

Cdk: Siklin bağımlı kinazmezliği

ÇOY: Çoklu organ yetmezliği

ÇLP: Çekal ligasyon ve perforasyon

DA: Doğru akım

EMA: Elektromanyetik alan

ER: Endoplazma retikulumu

FSH: Folikül stimülan hormon

IFN- γ : İnterferon-gama

IL: İnterlökin

IL-1ra: IL-1 reseptör agonisti

i-NOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

LH: Lüteinizan hormon

LPS: Lipopolisakkarit

MCP-1: Monosit kemotaktik protein-1

NLS: Nukleus lokalizasyon sinyali

PBS: Fosfat tamponlu serum fizyolojik

PKC alfa: Protein Kinaz C alfa

PMA: Pulsu manyetik alan

SE: Standart hata

SIRS: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu

STZ: Streptozotosin

TLR: Toll-benzeri reseptör

TNF- α : Tümör nekroz faktör-alfa

YDP: Yaygın damar pıhtılaşması

WHO :Dünya sağlık örgütü

1.GİRİŞ

Sepsis, toksin maddelerinin ve mikroorganizmaların kan dolaşımına girmeleri ve oluşan inflamasyona konak hücrelerin vermiş olduğu tepkiler ile birlikte oluşturulan durumdur (Bone,1992). Sepsis, günümüzde halen yüksek mortalite ile seyreden tedavisi güçbir klinik tablodur. Oluşan bu sepsis durumunda septik şok, organ disfonksiyonları ve organizma ölümlerine kadar sebebiyet veren çoklu organ yetmezlikleri (ÇOY) gibi ciddi durumlar ortaya çıkmaktadır. Sepsiste birçok tedavi yöntemi uygulansa da yoğun bakım ünitelerinde halen ölüm oranının çok yüksek olduğu bilinmektedir. Sepsiste oluşan hücre hipoksisi ve sepsiste oluşan apoptoz, organ disfonksiyonlarının ve ölümün en büyük iki nedenidir (Bahar,2006).Ölümü getiren en önemli faktörlerden biri çoklu organ tutulumu olupbu organların başında karaciğer, böbrek ve karaciğerler gelmektedir.

Karaciğerin, dolaşımda büyük damarları içinde barındırdığı, heterojen hücre çeşitliliği, karbonhidrat metabolizması, yağ metabolizması, kanın temizlenmesi ve kan hücrelerinin bazılarının yenilenmesi, kan depo edilmesi, vitaminlerin depo edilmesi, demirin ferritin olarak depo edilmesi, canlı organizmaya alınan ilaçların ve toksinlerin detoksifikasyonu, toksik maddelerin atılmasına aracılık etmesi, bilirubin ve safra üretimi ve canlı organizmanın savunmasında rol aldığı bilinmektedir. Karaciğerin bahsedilen bu görevleri bu organı organizma için hayati önem taşıyan en önemliorganlardan biri haline getirir. Karaciğerin sepsisinde bütün bu sayılan karaciğer fonksiyonlarını kesintiye uğramakta ve canlıyı ölüme götürebilmektedir. Sepsisli karaciğerde, portal mononükleer hücre infiltrasyonları, Kupffer hücre hiperplazisi, steatoz, fokal hepatosit değişiklikleri ve intrahepatik kolestazgibi histopatolojik bulgulara çok sık rastlanıldığı bildirilmektedir (Kurt,2000).Karaciğerdeki normal

histolojik yapının bozulması doğal olarak karaciğeri etkilemekle kalmayacak organizmanın geneli de olumsuz bir şekilde etkilenecektir. Bu nedenlerle sepsiste ortaya çıkan karaciğer hasarının geri dönüşümsüz hale gelmeden zamanında ve etkin tedavi yöntemleri uygulanması sadece karaciğeri korumakta kalmayacak aynı zamanda tüm organizmanın iyileşmesini ve dolayısıyla sağ kalımını sağlayacaktır.

Bir elektrik yükünün başka bir elektrik yükü üzerinde oluşturduğu itme veya çekme kuvveti etkisine elektrik alanı denir. Her bir elektrik yükleri bir elektrik alan oluştururlar. Sonuç olarak elektrik alanın sebebi elektrik yüklerinin olmasıdır. Yani devreye bağlı bir lamba, içinden akım geçerse ve yanmasa bile elektrik alanı yaratır. Elektrik yükleri yer değiştirdiğinde bir elektrik akımı döngüsü oluştuğunda manyetik alan, meydana gelir. Devreye bağlı lamba yandığında, elektrik alanı oluşur ve beslemeden lambaya kadar gelen akımın sirkülasyonu sayesinde de manyetik alanın varlığından söz edilebilir (Rubik ve ark, 1996).

İnsan gözü ile görülemeyen elektromanyetik alanlar ölçülebilir ve elektrik alanı ile manyetik alanların bileşiminden oluşurlar. Bu alanlar doğru akım (DA) veya alternatif akım (AA) tabiatında olabilirler. Darbeli yani pulslu (atımlı) manyetik alanlar (PMA) ise ne tam değişen ne de tam salınan özellik gösteren belirli bir frekansta atımlar içeren dalga şekillerinin genel adıdır. PMA genelde iskelet kas sistem bozukluklarında tedavi yöntemi olarak önerilmektedir (Rubik ve ark, 1996). Elektromanyetik alanların tedavi edici etkileri 1812 yılında kırılmış kemik yakınındaki dokulara batırılan iğneden geçen akım vasıtasıyla kırığın tedavi edilmesi ile başlamıştır. 1850 yıllarında yine kemik kırıklarının iyileştirilmesi için DA alanların uygulandığı bilinmektedir (Furse ve Durney, 1996). Organizmadaki her hücre ve dolayısıyla her dokunun içerisinde bulunan iyonlar biyokimyasal faaliyetleri sırasında etrafındaki

elektromanyetik alan değişiminden etkilenmektedirler. PMA taşıdığı enerji seviyesinin düşüklüğü nedeniyle yan etkileri zararlı olmayan elektromanyetik uyarım olarak kabul edilir. Aynı zamanda dokulardaki iyonik aktiviteler ile kan dolaşımını hızlandırıcı etki yaparak tedaviye yardımcı oldukları kabul edilmektedir (Braun ve Lemons, 1987).

Literatürde sepsisli veya sepsis oluşturulmuş olan bir organizmanın karaciğer dokusunun PMA ile tedavi edilmesi amacıyla yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Elektromanyetik alanların canlı sistemler üzerindeki tedavi edici etkileri yukarıda bahsedilen çalışmalarda görülmüştür. Ayrıca elektromanyetik alanlara maruz kalan canlılarda hücre bölünme hızı, mRNA ve protein sentez seviyeleri, hücre membranı permeabilitesi ve Ca^{+2} , Na^{+} , K^{+} iyon transferlerindeki değişimleri, hücre yüzeyinde veya uzantılarında meydana gelen iyon/ligand bağlanmasındaki değişiklikler, yara iyileşmesi, kan dolaşım hızının artması gibi metabolik faaliyetleri olumlu yönde etkilenmesi de PMA'ların tedavi edici veya tedaviyi hızlandırıcı özelliklerinin olduğunu göstermektedir. Bu nedenle biz de PMA'nın sepsis oluşturulmuş olan karaciğer dokusunda koruyucu ve tedavi edici özelliklerinin olabileceği hipotezini ileri sürdük.

Bu hipotezden yola çıkarak sepsis oluşturulan sıçanlarda sepsisin karaciğer dokusunda oluşturacağı hasarın PMA ile azaltılabileceğini ve dolayısıyla iyileşmenin kısa sürede olmasına katkı sağlayacağını histolojik yöntemlerle deneysel olarak göstermeyi amaçladık. Yapacağımız çalışma neticesinde elde edeceğimiz tedaviyi destekleyici sonuçlar almamız durumunda; sepsiste PMA uygulaması ile vücuttaki infeksiyonun engellenerek durdurulması ve immun sistemin aktif hale getirilip tedaviye yardımcı olabilecek destekleyici alternatif bir yöntem olarak uygulanabilirliği gündeme gelecektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Sepsis

Sepsis, kökeni yunanca bir kelime olup çürüme anlamına gelmektedir. Eski zamanlardayarakın hava ile temas etmesinden sonra çürümesi ve bu çürüyen oluşumun kan akımına katılması ile ölümün meydana geldiğine inanılırdı. İnfeksiyon ile ilgili çalışmalarının ardından sepsis konusunda ilk bilgileri veren Koch, Pasteur, Semmelweis ve Lister olmuştur. 19. yüzyıldan sonra 1914 yılında Schottmueller yapmış olduğu çalışmalarda sepsisin bakteri infeksiyonuna bağlı olduğu kabul görmeye başlamıştı. Sepsis günümüzde, toksin maddelerinin ve mikroorganizmaların kan dolaşımına girmeleri ve oluşan inflamasyona konak hücrelerin vermiş olduğu tepkiler ile birlikte olması durumudur (Bone,1992). Son yıllarda patofizyolojisi daha iyi aydınlanmasına; uygun antibiyotik kullanımı, hemodinamik ve ventilatör desteği içeren yoğun bakım tedavilerine rağmen, sepsis sepsik şok ve ÇOY ile beraber olduğunda yüksek ölüm oranına sahip bir tablodur (Angus ve ark., 2001; Wichmann ve ark., 2000).

2.1.1. Sepsisle İlgili Tanımlar

Sepsis ile ilgili durumların klinikte ifadesinde; septik sok bakteriyemi, sepsis, sepsis sendromu, septisemi, gibi farklı isimlerle adlandırılmıştır. Sepsisin tanımında farklı adlandırılmaların kullanılması, tedavi protokollerinin karşılaştırılması, araştırmave sonuçların yorumlanmasında karışıklıklara neden olmuştur. Bu nedenle 1992 yılında yapılan toplantıda (American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine), sepsis ile ilgili tanımları gözden geçirerek yeniden

belirlemişlerdir. Bu uzlaşma toplantısında kabul edilen tanımlamalar aşağıdaki şekildedir (Bone ve ark. 1992).

2.1.1.1. İnfeksiyon

Mikroorganizmaların steril olan konak dokularında bulunmasına karşı vücudun geliştirdiği inflamatuvar cevapla oluşan mikrobiyal bir oluşumdur. Semptomatik, asemptomatik olabileceği gibi subklinik de olabilir (Bone ve ark. 1992).

2.1.1.2. Bakteriyemi

Bakterinin canlı olarak kanda bulunmasına bakteriyemi denir (viremi, fungemi, parazitemi vb.). Ancak bu olay endokardit (bakterilerin kalpte yerleşmesi) ya da birkaç intravasküler infeksiyon dışında geçici bir süreçtir (Bone ve ark. 1992). Uygun dönemde yapılan kan idrar kültürleri ile tanı doğrulanabilir.

2.1.1.3. Sistemik İnflamatuvar Reaksiyon Sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS)

SIRS (Sistemik İnflamatuvar Reaksiyon Sendromu) ağır klinik durumlara inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmıştır. Bulaşıcı (enfeksiyöz) veya bulaşıcı olmayan (yanık, travma, pankreatit, hemoraji, iskemi, immünolojik doku zedelenmesi gibi) nedenlere bağlı gelişebilir ve aşağıdaki durumların ikisi veya daha fazlasının bulunması durumunda SIRS (Sistemik İnflamatuvar Reaksiyon Sendromu) tanısından bahsedilir. İnfeksiyonların SIRS'nun öncelikli nedeni olduğu ve hedef organ reseptörlerini

makrofaj kaynaklı sitokinlerin uyarılması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Bone ve ark., 1992).

1- 38 °C den yüksek veya 36 °C den vücut ısısının düşük olması,

2- 90/dk'dan kalp hızının daha fazla olması,

3- Solunum sayısının 20/dk'dan daha fazla veya arteriyel CO₂ basıncının 32 mm

Hg'dan daha düşük olması,

4- Beyaz kan hücrelerinin (lökosit) sayısının 12000/mm³den yüksek veya

4000/mm³'den daha düşük olması veya genç hücre formunun % 10'dan fazla bulunması

2.1.1.4.Sepsis

Canlı organizmada oluşan infeksiyonla birlikte sistemik inflamatuvar reaksiyon sendromu (SIRS) varlığıdır. 2001 yılında yapılan uzlaşma toplantısında infeksiyon; normalde steril olan bir doku, sıvı veya vücut kavitesinin patojenik veya potansiyel olarak patojenik mikroorganizmaların yayılması olarak tanımlanmıştır (Yorgancı ve Sayek, 2005).

2.1.1.5. Ağır Sepsis

Organizmanın sepsis sonrası organ yetmezliği veya organ disfonksiyon ile seyreden durumdur. Ciddi sepsis diye adlandırılan ağır sepsis sadece koroner yoğun bakım ünitelerinde yüksek ölüm oranına sahip değildir. Bunun dışındaki yoğun bakım ünitelerinde de görülen sık ölüm nedenlerindedir (Yorgancı ve Sayek, 2005).

2.1.1.6.Çoklu Organ Yetmezliği (ÇOY) (MODS-Multiple Organ Dysfunction Syndrome)

Sepsis hastalarında buldukları durum ağırlaştıkça organlarışlevlerini kaybederler. Başka bir söylemle organ yetmezlikleri gelişir. Eğer birden fazla organ sistemi işlevlerini kendiliğinden yerine getiremiyorsa ÇOY'dan bahsedilir (Yorgancı ve Sayek, 2005).

Primer ve Sekonder ÇOY olmak üzere şiddetine göre ikiye ayrılır. Primer ÇOY konağa direk hasar veren etkene bağlı olarak gelişirken, sekonder ÇOY doğrudan yanıt vermekten çok konağın anormal olarak sistemik yanıtlarına bağlı olarak gelişir. Sekonder ÇOY inflamatuvar cevabına ve organizmanın ölüme giden son basamağıdır (Baue,2000-Matot, 2001).

2001 yılında yapılan ACCP/SCCM konferansında sepsisli hastalara uygulanması için PIRO evrelendirme sistemi önerilmiştir. (Baue, 2006).

P (Predisposition-Yatkınlık): Önceden var olan risk faktörleri hastada incelenir. Hastanın önceki sağlık durumu,kullandığı ilaçlar sepsisin seyrini etkilemektedir.Yapılan çalışmalarda genetik yapısında sepsiste prognozu azımsanmayacak ölçüde etkilediğini göstermiştir (Levy ve ark., 2003).

I (Infection-İnfeksiyon): Canlı organizmada infeksiyonun varlığının ve ne kadar yaygın olduğunun belirlenmesidir.(İskit, 2009).

R (response): Sepsise karşı hastanın vermiş olduğu cevapların önemini ifade etmektedir.

O (organ disfonksiyonu): Skorlama sistemleri ile sepsiseyakalananorgan fonksiyon veya organ sayısı kaybınıgösterilmesidir (Angus ve ark., 2003).

2.1.2. Sepsis Etiyolojisi

Sepsis etiolojisine bakıldığında enfeksiyöz olabildiği gibi (bakteriler, virusler, funguslar) nonenfeksiyöz etkenlerde (ağır travma, Yanık, Pankreatit) neden olabilmektedir. Sepsis olan hastaların yaklaşık olarak % 50'nde herhangi bir etken belirlenememiş olup, oluşturulan grupların antibiyotik tedavisine cevap vermeleri, etkenin bakteri olduğunu göstermektedir (Mizuta ve ark., 2006). Sepsise neden olan mikroorganizmaların hangi sıklıkta sepsise neden oldukları, hastane içi ya da hastane dışından gelmiş olmalarına göre farklılık gösterir. Sepsis hastalarında çoğunlukla görülen etken organizmalar Escherichia Coli (%22), Streptococcus pneumoniae (%16) ve Staphylococcus aureus (%12) olarak gözlemlenmiştir (Mizuta ve ark., 2006).

İnfeksiyon kaynağı ise toplum ve hastane kaynaklı olarak değişebilmektedir. Deri ve yumuşak doku infeksiyonları, menenjit, kolanjit, endokardit, kolesistit, pnomoni çoğunlukla görülen toplum kaynaklı sepsisler, ürineronda, ventilatörle ilişkili pnomoni, karın içi infeksiyon, yabancı cisim infeksiyonları da hastane kaynaklı sepsislere örnek verilebilir (Kurt, 2006). Hastane kaynaklı sepsislerde, yaklaşık % 20'sinde ise polimikrobiyal sepsis görülmektedir (Zarakolu, 2005).

Hastane odaklı sepsise neden olan mikroorganizmalar yıllara göre bazı değişiklikler göstermiştir. Staphylococcus aureus ve Streptococcus pyogenes gram pozitif bakteriler olup 1950'li yıllarda etken olarak sıklıkla görülmekteydi. Antibiyotikler bu gram pozitif bakterilerin neden olduğu hastalıkları tedavi edebilir hale gelmiş ve 1960-1980'li yıllarda gram negatif bakteriler olguların % 50'sinden fazlasında etken rol oynamıştır. Son yıllarda ise gram negatif bakterilere bağlı sepsis vakalarında yükseliş gözlenmektedir (Başak ve ark., 1998). Üçüncü kuşak

sefalosporinler ve kinolonlar gibi antibiyotiklerin hızlı bir şekilde kullanıma girmesi gram negatif bakterilerde çok etkili olması, değişik vücut içi protezlerin kullanılması (kalça, diz, eklem) ve uzun süreli beta-laktam antibiyotiklerinin kullanılması bunun sebepleri olarak sayılabilir (Zarakolu, 2005). Sepsisli hastalardan izole edilen *Bacteroides fragilis* ve *fusobacterium* türleri anaerob bakteriler olup tüm sepsis vakalarının % 5-15 oluşturmaktadır (Zarakolu, 2005). Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda *Candida* türlerinde sepsis vakalarının % 5'ini oluşturduğu anlaşılmaktadır.

2.1.3.Epidemiyoloji ve İnsidans

Sepsis olgularına bakıldığında çoğunlukla altta yatan başka hastalıklar olduğu ve klinik bulgulardan sepsis kadar bu hastalıklarında sorumlu olabileceğinden dolayı sepsis tanısı koymak güç olup, insidansı hesaplanırken de bu zorluklar aynı şekilde yaşanmaktadır (Angus ve Wax, 2001). Sepsis, septik şok organ yetmezliği gibi tabloların klinik bulgularında tek bir görüş üzerinde durmaması ve karşıt görüşlere yol açması, sepsisin bildirilmesi zorunlu olmayan bir vaka olmasına rağmen dünya üzerindeki bildirilen sepsis vakalarında büyük bir artış gözlemlenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde sepsis insidansı her yıl artmaktadır. ABD'de yayınlanan çalışmada 1979 yılında 100.000'de 73,6 iken, 1987 yılında 100.000'de 175,9 olarak verilmiştir. ABD' de sepsis insidansı erkeklerde kadınlara göre ve beyaz olmayanlarda beyazlara göre daha sık saptanmıştır (Angus ve Wax, 2001). Sepsis en çok yeni doğanlarda etkili olmaktadır ve bu oran 500/100.000 olarak bildirilmektedir (Angus ve Wax, 2001).

Hollanda’da yapılan çalışmada, hastaneye yatırılan her 1000 hastanın 13,6’sında sepsis sendromu gözlenmiştir (Angus ve Wax, 2001).

Ülkemizde yapılan sepsis ile ilgili en geniş çalışmada, 1983-1989 yılları arasındaki yedi yıllık dönemdeki gram negatif bakteriyemi olguları değerlendirilmiş, yatan hastalar arasında insidansı 4.2/1000 ve mortalitesi % 45 olarak gözlemlenmiştir (Kurt, 2006). Bunların sadece gram negatif bakterilerle gelişen sepsis olduğu düşünülürse, gram pozitif bakterilerle gelişen sepsislerde eklenirse bu oran yaklaşık 8/1000 olarak ifade edilebilir (Uzun ve ark., 1992).

Sepsis vakalarının çoğu hastane kaynaklı olarak gelişmektedir. Gelişen tıp alanında kullanılan her türlü tanı tedavi amaçlı teknikler, cihazlar kullanılan aletler dış ortama duyarlı dokular için zedeleyici ortam oluşturmakta ve sepsis için ortam hazırlamaktadır. Bu sebebledir ki infeksiyon riski taşıyan her türlü teknik tedavi tanı sepsis riskinde taşımaktadır. Yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastalarda en sık rastlanan ölüm nedenleri arasında sepsis öne çıkmaktadır (Niederman ve Fein, 1990).

2.1.4. Sepsisin Patofizyolojisi

Fizyopatoloji sepsiste bir takım basamaklardan oluşur ve oldukça karmaşıktır. Konakçı mikroorganizma ile karşılaştığında, immün sistemde humarol ve hücrel reaksiyonlar başlar. Konakçı dolaşımındaki mononukleer fagositler, endotel hücreleri ve diğer savunmada rol oynayan hücrelerden sitokinlerin salınımını bakteri hücre duvarında yer alan birçok antijen yapı ve toksinler, başlatır (Yorgancı, 2005).

Bu sitokinler, proinflamatuvar sitokinler (Tumor nekroz faktörü- α (TNF $-\alpha$) ve IL-1, IL-6), lipopolisakkaride bağlı septik şok tablosunun oluşmasında oldukça önemlidir

(Landman ve ark., 1995). Sepsiste arasidonik asit metabolitleride önemli rol oynar. Siklooksijenaz yolla prostoglandinler ve tromboksan A2, lipooksijenaz yola ise lokotrienler açığa çıkar. Endotoksin ve TNF- α , IL-1 gibi mediatorler arasidonik asit metabolitlerinin açığa çıkmasını ve sentezini aktive eder. Araşidonik asit metabolitleri, ateş, taşikardi, takipne, ventilasyonperfüzyonbozukluğu ve laktik asidoz oluşumunda da rol alırlar (TNF - α ve IL-1 sepsiste ateş, hipotansiyon ve şok patogenezinde rol oynayan en önemli sitokinlerdir (Wheeler ve Bernard, 1999).

Sitokinlerin salınımdan sonra sepsis fizyopatolojisinde etkisi büyük olan birde koagülasyon kaskatısı vardır. Sitokinlerin salınımı koagülasyonu tetikler. Bu tür hastalarda koagülasyon bozuklukları sık gözlemlenir ve hastaların %30-50'sinde yaygın damar içi pıhtılaşma (YDP) gibi ileri koagülasyon bozukluklarına rastlanır (Levi, 1999). Doku faktörü daha sonra bir dizi proteolitik kaskadı aktive eder ve protrombin trombine sonrasında fibrojenden fibrin oluşmasını sağlar. Eş zamanlı olarak normal fibrinolitik mekanizmalarda da bir yetmezlik söz konusudur. Bu olaylar sonucunda fibrin yapımında net bir artış ve yıkımında azalma belirir. Böylece küçük kan damarlarında fibrin yığımları oluşur ve bu fibrinler damarları tıkarlar. Damarların tıkanmasından dolayıda doku perfüzyonunun yetersiz olması ve organ yetmezliği gelişir (Doğanay ve ark., 1996).

Sepsiste etki eden bütün mediatörlerin damarlar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Endotoksin, TNF- α , IL-1, platelet aktive edici faktör (PAF), lökotrienler ve tromboksan A2 (TXA2) endotel permeabilitesini artırır. Kompleman kaskadının aktivasyonu da endotel hasarı yapar (Doğanay ve ark., 1996).

Komplemanın aktivasyonu damar permeabilitesini direkt veya nötrofilleri aktive ederek indirek yolla bozar. Ayrıca degranülasyon esnasında nötrofillerden toksik

oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler açığa çıkar. Bunlar entotel permeabilitesini artırır. Damar permeabilitesinin artması ve endotel hasarı, mikrotrombüslerin oluşumunu kolaylaştırır. Sepsiste vazoaktif mediatorlerin uyarılması ile damar direnci azalır ve bunların sonucunda dokulara giden kan akımı azalır ve doku hipoperfuzyonu ve çoklu organ yetmezliği gelişir. Hasar kontrol altına alınamazsa metabolik tüketim gelişir ve hasta ölür. Sepsiste çoğunlukla rastlanan organ yetmezliği; akciğer, böbrek, karaciğer ve kalp olduğu bilinmektedir (Doğanay ve ark., 1996).

Serbest oksijen radikallerinin de konakçıda aşırı üretilmesi ve dokudan uzaklaştırılmaması biyolojik membranların yapısını bozar. Sepsiste aktive olan nötrofiller, NADPH oksidaz yoluyla superoksit oluşturabilirler. Ayrıca peroksinitrit üretmek için süperoksitle reaksiyona girebilen serbest radikal nitrik oksit (NO) de üretebilirler. NO güçlü bir oksidandır (Basile ve ark., 2004). Serbest oksijen radikalleri, sepsiste gerçekleşen immun ve inflamatuvar olaylardan sorumlu olduğu bilinmektedir (Spapen ve ark., 1998). Sepsis ve endotoksemi sonucunda gelişen serbest oksijen radikalleri, sepsisle ilişkili akut inflamatuvar cevapta, proinflamatuvar sitokinlerin salınmasında çok önemlidir (Spapen ve ark.,1998).

2.1.5. Sepsisin Organlar Üzerine Etkileri

ÇOY, sepsiste görülsede buna sebep olan sepsis etkeni mikroorganizma değil, konakçının verdiği aşırı tepkisi ve yaygın inflamasyondur. Hemostatik balans bozukluğu, endotel disfonksiyonu, kardiyovasküler bozukluklar, hücre içi hemostazda bozulmalar sepsis ile karakterize edilir. Sepsiste oluşan apoptoz ve hücre hipoksisi, organ disfonksiyonundan ve ölümden sorumludur (Öz, 2006).

Organ yetmezliğinin her bir organ için ölüm riski % 15–20 oranında artmaktadır. Ağır sepsisteki iki organ yetmezliğinde bu oran % 30–40 civarındadır (Öz, 2006). Sepsiste solunum yetmezliği erken dönemde görülen disfonksiyonlardan biridir. Diğer organ disfonksiyonlarından koagülasyon sistemi, karaciğer santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve böbrek yetmezliği sepsiste çoğunlukla görülebilen ve ölüm oranını artıran etkenlerdir. Sepsiste olan intravasküler sistemin, periferik vazodilatasyon, miyokardiyal depresyon ve mikrovasküler dolaşımın dağılımının bozulması ile doku oksijen dağılımı ve tüketimi arasında bir dengesizlik oluşur. Bu dengesizlik sonucunda global doku hipoksisi oluşur. Bu doku hipoksisinin giderilmesi ölüm oranının azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Öz, 2006).

Hastanede tedavi gören hastaların % 5-7'sinde akut böbrek yetmezliği (ABY), görülmektedir. Akut böbrek yetmezliği görülme sıklığı, sepsiste % 20, ağır sepsiste % 23, septik şokta ise % 51'dir. Sepsis hasta grubunda mortaliteyi ve morbiditeyi etkileyen en önemli faktörlerden biri yine Akut böbrek yetmezliğidir. Akut böbrek yetmezliği gelişen sepsisli hastalarda mortalite % 74,5 iken böbrek yetmezliği olmayan septik hastalarda ise bu oran % 45,2 olarak bildirilmiştir. Akut böbrek yetmezliği, sıklıkla çoklu organ yetmezliğinin bir parçasıdır. Patogenezinde başlıca renal hipoperfüzyon ve iskemi, sistemik ve lokal mediyatörler, nötrofil endotel etkileşimleri ve mikrovasküler trombozların neden olduğu düşünülmektedir (Mete, 2006).

Sepsiste akciğer patolojilerinin en önemlileri akut akciğer hasarı ve akut solunum sıkıntısı sendromudur (ARDS). ARDS ve hipotansiyonun sepsis hastalarının % 25-42'sinde olduğu gösterilmiştir. ARDS mortalitesi giderek azalmakla birlikte % 40 civarında olduğu bilinmektedir. Mortalite solunum yetmezliğinden çok sepsis ve ÇOY'a

bağlıdır. Sepsis eğer akciğer kaynaklı ise akciğer dışı kaynaklı sepsise göre ARDS riski çok daha fazladır (Öz, 2006).

Sepsiste en önemli rölü organ olarak karaciğer oynamaktadır. Karaciğer hem sepsise neden olan bakterilerin, endotoksinlerin, sepsis sırasında oluşan vazoaktif maddelerin klirensini, detoksifikasyonunu sağlamakta, hemde konak savunmasında yer alan hücrelerin aktivitelerini düzenlemektedir. Karaciğerin içinde olduğu iki karşıt durum sepsiste yer almaktadır. Karaciğer, hem inflamatuvar mediyatörlerin kaynağı olup, hem de bu mediyatörlerden etkilenen hedef organ olmaktadır, yani hem bir aktör hem de bir mağdurdur (Mete, 2006). Karaciğerin bu ikili rolünü açıklayan iki mekanizma vardır. Birinci mekanizma toplam debinin % 25'ini alan karaciğer kanlanmasıdır. Bu akımı sağlayan portalkan akımı splaknomezenterik alandan kaynaklanır ve bu bölge sepsiste oluşan vazokonstriksiyon ve bakteriyel translokasyondan en çok etkilenen bölgedir. İkinci mekanizma ise karaciğerin heterojen hücreli yapısı olup; bu yapı kupper hücreleri, hepatositler ve endotelial sinuzoidal hücrelerden oluşur. Bu hücrelerin hepsi bağışıklık, antienfeksiyöz ve metabolik rollerde baş göstermektedirler (Mete, 2006). Karaciğer yapısında bulunan çok sayıda makrofajlar ile endotoksin ve bakterileri kandan temizleyerek sistemik inflamatuvar yanıtı başlatabilmesi ile ağır infeksiyonda sistemik tepkide önemli pay sahibi olduğunu gösterir (Mete, 2006).

Sepsis karaciğerde incelendiğinde, primer disfonksiyon ve sekonder disfonksiyon olmak üzere ikiye ayrılabilir.

Karaciğerin primer disfonksiyonu, septik şok ve resüsitasyon sonrası gelişir ve sistemik veya mikrosirkülatuar bozuklukla ilişkili olarak ortaya çıkar. Sepsiste kompansatuvar olarak meydana gelen splenomezenterik vazokonstriksiyon nedeniyle

karaciğer hipoperfüzyonu gelişir. Hipoperfüzyon ve endotoksemi primer karaciğer hasarına neden olur. Ancak tek nedenin perfüzyon bozukluğu olmadığını düşündüren kanıtlar da vardır. Örneğin; TNF α ve endotoksin infüzyonu perfüzyonda değişikliğe yol açmaksızın hepatik hücrel disfonksiyonuna yol açmaktadır. Dolaşım bozukluğunun ilk saatlerinde primer karaciğer hasarı başlar. Bunun sonucunda sıklıkla hepatik laktat ve aminoasit klirensinde, glikoneogeneze ve glikojenolizde azalma ve bunları izleyen hipoglisemi oluşur. Hepatositlerdeki akut hücrel ve mitokondriyal hasar, serum aminotransferaz enzimlerinde artışla kendini belli eder. Erken dönemde sıvı replasmanı ile karaciğer hasarı kontrol altına alınabilir ancak tablo ilerlerse kanama, akut fulminan karaciğer yetmezliği gibi komplikasyonlar gelişir (Sungur, 2005).

Sekonder karaciğer fonksiyon bozukluğunun ise bakteri ya da endotoksinin tetiklediği inflamatuvar sitokinlerin aktifleşmesi sonucunda geliştiği düşünülmektedir. Endotoksinler dolaşıma sıklıkla karaciğer dışı primer infeksiyon bölgesinden geçerler. Hatta bakteriyemi ve sepsis olmadan da makrofajlardan sitokin salınımı yoluyla kolestaz gelişebilir. Kupfer hücreleri, polimorfonükleer hücreler, eozinofiller, trombositler ve eksfoliyeye olmuş endotel hücrelerinin agregasyonu sinüzoid lümeninin obstrüksiyonuna neden olur. Sinüzoidlerin hipoperfüzyonuna neden olan bu durum, Disse aralığını genişletir. Diğer taraftan kemotaktik faktörlere ek olarak lipopolisakkaritin indüklemesiyle hepatosit ve kuffer hücrelerinden nötrofil kemotaksisine neden olan IL-8 salınımı olur. Bunun sonucunda adezyon moleküllerinde artış yoluyla nötrofil marjinasyonu ve adezyonu gerçekleşir. Bunu takiben serbest oksijen radikallerinde, proteazlarda artış ve hepatosit hasarı ortaya çıkar (Kurt, 2004).

Sepsiste oluşan karaciğer disfonksiyonu çoklu organ yetmezliğine neden olabilir veya onu daha da kötüleştirebilir. Sepsise bağlı karaciğer yetmezliğinin organ

perfuziyonunda bozulma, endotoksinin direkt hasarı, oluşan parankimal inflamasyon ve salınan sitokinlere bağlı olduğu bilinmektedir (Noyan, 1996; Aksoy, 1997).

2.1.6. Sepsiste Tedavi

Sepsis ve septik şok patogenezi hakkında bilgilerin artmasıyla, etkene yönelik tedavi girişimleri ortaya konmuştur. Bu tedavi mekanizmaları şu şekilde sıralanabilir.

1-Antibiyotik tedavisi ve cerrahi drenajla infeksiyonun ortadan kaldırılması

2-Kardiyovasküler ve metabolik değişikliklerin monitorizasyonu ve farmakolojik tedavi

3-Sepsis mediyatörlerinin inhibisyonu (Yorgancı, 2005).

Antimikrobiyal tedaviye, etken mikroorganizma belirlenene kadar, ampirik olarak başlanır. Antibiyotik verilmeden önce uygun kültürler alınır. Septik şok belirti ve bulguları ortaya çıktıktan sonra ilk altı saat prognoz açısından oldukça önemlidir. Bundan dolayı antimikrobiyal tedaviye kültürler alındıktan hemen sonra, geciktirilmeden başlanmalıdır (Yorgancı, 2005).

Septik şokta sıvı açığı ve replasmanı tedavinin en önemli unsurlarındandır. Septik şok tedavisinde, kan ve plazma hacmi artırılarak, kardiyak debi yükseltilmelidir (Yorgancı, 2005).

Sepsis tedavisinde ölüm riskini azalttığı gösterilen, diğer önemli ajan kortikosteroidlerdir. Yayınlanan sepsis kılavuzlarında, vazopresor gerektiren septik şok tablosunda hastalara kortikosteroid tedavi önerilmektedir (Yorgancı, 2005). Ancak bütün bu tedaviler sonucunda bile sepsis mortalitede en yüksek payı almaktadır ve gelişen tıp dünyasında yeni tedavi seçenekleri aranmaktadır.

2.2. Apoptozis

2.2.1. Apoptozisin Tanımı ve Tarihçesi

Fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptoz; biyoloji alanında olduğu kadar temel ve klinik tıp bilimlerinde de ilgi çeken bir konudur. Apoptozis birçok gen ile ilişkili aktif bir sistem olup, Yunancada apo (= ayrı) ve ptosis (= düşen) kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşmuş sonbaharda yaprak dökümünü tanımlayan bir kelimedir (Özvaran, 2004).

İlk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından “fizyolojik hücre ölümü” ifadesi tanımlandıktan sonra Wyllie ve Kerr tarafından deneysel bir çalışma ile gösterilmiştir (Hızel, 1997). Programlı hücre ölümünün moleküler mekanizması tam olarak çözülememiştir. Hücrelerin genetik olarak belleklerinde var olan intihar programının çeşitli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi olaylarla aktive olmasıyla başladığı tahmin edilmektedir (Hızel, 1997). Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik ilaçlar ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler de hafif dozlarda apoptozis meydana getirirler (Hızel, 1997).

Apoptozisde, hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de, bazen apoptozis dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersine nekroz apoptozis gelişmesine yol açabilir (Hampton, 1998).

Günümüzde, biyokimyasal ve genetik komponentlerin apoptozis sürecinde rolü vardır. Bunların ortaya çıkmasıyla apoptozisin aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yönelik çalışmalar; kanser, AIDS (Acquired İmmüne Deficiency Syndrome) ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi imkanları üzerinde çalışılmaktadır (Hampton, 1998).

1993 yılında Cohen yüksek dozda kullanılan steroidlerin timus hücreleri üzerine etkilerini araştırmıştır. Sonuçta timus hücrelerinin direkt olarak apoptozisi seçmediğini, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturarak hücreleri apoptozise sürüklediğini bulmuştur. Böylece apoptozisin genler tarafından düzenlenen bir hücre ölümü olduğu saptanmıştır (Büyükgebiz, 2001).

Apoptozis canlıların bazı doku ve hücrelerinde sürekli olmakta ve ömür boyu devam etmektedir. Günde yaklaşık bir milyon hücre apoptozize uğrayarak ölür ve yerine yeni hücreler yapılır (Estaquier ve ark.,1994). Bu hızda bir hücre ölümü ve yeniden yapımı bir insanın vücut ağırlığının her 24 aydabir yenilenmesi anlamına gelir (Hengartner, 2000).

2.2.2. Apoptozisin Regülasyonu

Apoptozisin regülasyonu, nematodlardan insana kadar gen kontrol süreci ile oldukça sıkı bir biçimde korunmaktadır. Ölüm sinyali, gen ekspresyonu ile regüle edilir. Bu süreç genotoksik hasar (kemoterapi, radyasyon vb) veya sitokinlerin olmaması gibi (eritroprotein vb) farklı uyarılarla hareketlenebilir. DNA tek veya çift iplik parçaları ve nükleotit azlığı ve DNA-bağlı transkripsiyon faktör p53 ile başlar. Bundan sonra bir dizi olay aktive olur ve hücre apoptotik yola girer (Chao, 1998). Organizmada apoptozisi uyarıcı ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır (Öktem ve Özhan,2001). (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Apoptotik Genler

Apoptozisi Baskılayan Genler	Apoptozisi İndükleyen Genler
Bcl-2 grubundan; BHRL-1, Bcl-xl, Bcl-w, Bfl-1, Brag-1, mcl-1, A1	Bad, Bax, Bak, Bcl-Xs, bid, bik, Hrk-1
c-abl geni	c-myc
Ras onkogeni	P53, p21
Çözünebilir fas	Fas (CD95/APO1) FADD, MORT, RIP, FAST
p35	İnterlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE)
A20	LOH (MTS1/CDK41)

2.2.2.1. p53'ün Rolü

İnsanda apoptozisin düzenlenmesi, p53 ile başlayan ve kaspazlara kadar devam eden bir olaylar zinciridir. Bir tümör süpresör gen olarak çalışan p53 mutasyona uğradığı ya da bulunmadığı zaman hücre yaşamı uzamaktadır. Genotoksik olaylarla oluşan hücre hasarı p53'ü aktive eder. p53 protein ürünü, DNA'ya doğrudan bağlanarak hasarı tanıdıktan sonra, G1'de hücre siklusunun durmasını uyararak tamir için gerekli zamanı elde eder. Diğer bir taraftan hasar fazlaysa hücreyi apoptozise sevkeder. Ayrıca p53'ün Bax/Bax, Bax/Bcl-2 ve Bcl- 2/Bcl-2 gruplarının oranlarını düzenlediği sanılmaktadır (Chao, 1998).

2.2.2.2. Bcl-2/Bax

Bcl-2/Bax gen ailesi apoptozisin regülasyonundan sorumludur (Öktem ve Özhan, 2001). Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır; bunlardan bazıları Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Boo, Mcl-1 gibi apoptozis inhibitörüdür, bazıları ise apoptozisi indükler ve proapoptotik genler olarak adlandırılır (Chao, 1998). Proapoptotik genlerin Bax (Bax, Bak ve Bok) ve

BH3 (Bik, Blk, Hrk, BNIP3, Bad, Bid gibi) olmak üzere iki alt ailesi vardır (Chao, 1998). Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanı sıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de bulunurlar ve homodimer ya da heterodimerler şeklinde kompleks oluşturarak işlerini görürler (Chao, 1998). Örneğin; Bcl-2'nin Bax ile olan etkileşiminde Bcl-2'nin oranının daha yüksek olması halinde hücre yaşamına devam eder. Bax'ın daha fazla olması halinde ise hücre ölür (Öktem ve Özhan, 2001).

Son yıllarda, hücrenin yaşamı ya da ölümü konusundaki araştırmalar dikkatleri mitokondri üzerine çekmiştir (Behnia ve ark., 2000). Mitokondriler çift zarlı organellerdir. Bcl-2, 24-26 kDa'luk protein kodlayan bir proto-onkogendir ve ürettiği protein, mitokondrinin sitoplazmaya dönük dış zarı üzerinde ve endoplazmik retikulumun bir bölümü olan çekirdek zarında yerleşmiştir (Behnia ve ark., 2000). Bu proteinler, iyon alışverişini düzenler ve zarın parçalanmasına karşı koruyucu etkileri vardır. Özellikle antiapoptotik genler içinde yer alan Bcl-xL'nin, mitokondriyal hasarı engelleyerek mitokondriyi koruduğu öngörülmektedir. Bu sayede apoptozis inhibisyonu oluşmaktadır (Chao, 1998). Bax proteinleri sitoplazmada da vardır. Apoptotik sinyal alındıktan sonra Bax proteinleri, mitokondri zarının "permeabilite geçiş poru"na doğru ilerleyip, buraya tutunurlar. Bu bağlanma, seçici iyon geçirgenliğini azaltabilir. Zardaki bu değişiklikler nedeniyle sitokrom-c ve AIF (Apoptosis Inducing Factor) gibi mitokondri zarı içinde yer alan faktörler sitoplazmaya aktarılırlar. AIF, çekirdeğe doğru yönelirken, sitoplazmadaki sitokrom c apoptozisin en son basamağında görev alır. Sitokrom c, bir sitoplazma proteini olan Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor 1)'in aktivatörüdür (Renahan ve ark., 2001). Sitokrom c'nin Apaf-1'e bağlanması prokaspaz-9'u aktive eder ve oluşan bu kompleks "apoptosom" olarak adlandırılır

(Budihardjo ve ark., 1999). Prokaspaz-9'un aktivasyonu, bir seri kaspaz aktivasyonuna neden olur (Chao, 1998). Apaf-1 aynı zamanda ATP'ye de bağlanır. Bu olay apoptozisin neden enerji gereksinimi duyduğunun bir kanıtıdır (Hetts, 1999).

2.2.2.3. Kaspazlar

Apoptozis mekanizmasında kaspazlar üç temel grupta rol alırlar.

- 1- Ölüm reseptörleri
- 2- Adaptör proteinler
- 3- Proteolitik enzimlerdir (kaspazlar) (Hetts, 1999)

Ölüm reseptörleri; TNF (Tumour Necrosis Factor) reseptör gen ailesine aittir. Bu reseptör polipeptidlerin sitoplazmik bölümleri, ölüm alanı (Death Domain) adı verilen, adaptör proteinlere bağlanan bir aminoasit dizisinden oluşur (Hetts, 1999). Bilinen altı tane ölüm reseptörü olup, CD95 (APO-1/Fas), TRAIL (TNF Related Apoptosis-Inducing Ligand)-R1, TRAILR2, TNF-R1 (TNF reseptörü-1), DR3 ve DR6 vardır (Hetts, 1999). Reseptörle gelen sinyal sonucunda adaptör proteinler kaspazlara bağlanarak onları aktive ederler. Bu reseptörlerin en çok bilinenleri TNF-R1 ve Fas (CD95) karaciğerde çok miktarda mevcuttur. Fas'ın etkisiyle kaspaz dizisi aktive olur ve kaspazla aktive olan DNaz (CAD: caspase activated DNase;) aracılığı ile DNA yıkımından sorumludur (Hetts, 1999). Memeli hücrelerindeki kaspazların aktif merkezinde sistein vardır. Bu moleküller sitoplazmada inaktif prokürsörler olarak yer almaktadır. Bu grup, proteaz aktivasyon dizisini başlatarak sitoplazmik proteinlerin yıkımında bazı görevleri vardır. Ayrıca nükleazlar da aktive olarak DNA parçalanması ve RNA degradasyonu meydana gelmektedir (Behnia ve ark., 2000) . Sitokrom c'nin

sitoplâzma içine salınması ile apoptozisin son basamaklarından sorumlu olan kaspazlar aktifleşir. İnflamasyonu uyaran ve ilk kez bir proteaz olarak tanımlanan ICE (Interleukin-1 β -Converting Enzyme), prokaspaz-1 olarak adlandırmıştır. Kaspazlar bir seri olaylar dizisinde diğer prokaspazları aktive ederler. Kaspazlar; sitokin üretimine katkıda bulunanlar (kaspaz 1, 4, 5, 13), proteolizisin "başlatıcıları" (kaspaz 2, 8- 10) ya da "uygulayıcıları" (kaspaz 3, 6, 7) olarak sınıflara ayrılırlar (Hetts, 1999) . Ölüm sinyali veren başlatıcı kaspazlar, adaptöre bağlanarak ölüme yön verirler. Fakat ölümü gerçekleştirmezler, bunu yapacak olanları aktifleştirirler. Ölüme neden olanlar ise uygulayıcı (effektör) kaspazlardır. Uygulayıcı kaspazlar, başlatıcı kaspazların akışını aktive ederler (Hetts, 1999).

Apoptotik programın merkezi bileşeni kaspazlardır (Hetts, 1999). Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin IAP (Inhibitors of Apoptosis) efektör kaspazları baskılayarak apoptozisi inhibe ettiği gözlenmiştir (Hetts, 1999). Ayrıca IAP ailesinin kaspazlardan farklı olarak, transkripsiyon faktörlerin modülasyonu ve hücre siklusunun kontrolüne katkıda bulunarak apoptozisi inhibe ettiği bilinen bir gerçektir. Bu inhibitörler malign hücrelerde bol miktarda bulunur (Budihardjo ve ark., 1999). Kaspazlar, proteinleri yalnızca aspartik asit bulunan bölgelerden keser, bundan dolayı c-asp-ases adını alırlar. Böylece kaspazların kısıtlı proteolizisi nedeniyle, hücrede lizis şekillenmez ve apoptotik cisimcikler meydana gelir (Budihardjo ve ark., 1999).

2.2.3. Apoptozisin Sitotoksik Regülasyonu

2.2.3.1. Granzim veya Perforin Sistemi

Bu salgısal apoptotik yol, patojenle infekte hücreler ve tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında görevlidir. Granzim ve Perforinler, sitotoksik T lenfositler 18 (CTL) ve Naturel Killer (NK) hücrelerinin sitoplazmik salgı granülleri içindeki proteinlerin en önemlileridir. CTL reseptörü hedef hücreye bağlandığında, perforinler salgılanır ve bunlar hedef hücre üzerinde dairesel bir por meydana getirirler. Bu perforin poru, hücre içi kalsiyumda hızlı bir artışa neden olur. Granzim B, reseptör aracılığı ile bir vezikül içinde açılan delikten hedef hücreye girer. Perforin proteini hücre içine girdikten sonra vezikülden granzim B'nin serbest kalmasına sebep olur. Bu andan itibaren granzim B, DNA parçalanmasını ve apoptozis ile birlikte prokaspaz aktivasyonunu başlatır. Bununla birlikte granzim A da, perforinle sinerjik olarak kaspaz bağımsız yolda apoptozisde görev üstlenir (Budihardjo ve ark., 1999).

2.2.3.2. Fas - Fas Ligandı (CD95 Yolu)

Apoptozisin salgıdan bağımsız mekanizması, hücre zarı üzerinde bulunan "ölüm reseptörlerinin" aktivasyonu ile bağlantılıdır. Hücre yüzey reseptörü olan Fas (CD95), tümör nekroz faktörü grubundandır. Fas apoptotik işaretin uyarıcısıdır ve birçok hücre tipinde bulunmaktadır. TNF ailesinin bir üyesi olan Fas ligandı (FasL) ise, sitotoksik T hücreleri ve NK hücreleri üzerinde mevcuttur. FasL'nin Fas reseptörüne bağlanması sonucu apoptotik süreç başlar. Bu mekanizma ile oluşan bazı olayların başlıcaları; bir immün tepki sonunda aktive olmuş T hücrelerinin uzaklaştırılması, virüs infekte hedef

hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi ve birçok patolojik durumdaki hücrelerin uzaklaştırılması gibi olaylar sayılabilir. TNF'nin TNFR-1'e bağlanmasıyla da benzer olaylar şekillenir. Fas ve TNFR-1'in sitoplazmik uzantısı, bir ölüm alanını kapsamaktadır. Fas'ın sitoplazmik bölümü FADD (Fas Associating protein with a Death Domain protein) ve RIP (Receptör Interacting Protein) ile etkileşim halindedir. Ölüm alanlarını içeren bu TRADD ve RIP proteinleri, prokaspaz-8'in aktivasyonu ile apoptozisi doğrudan indüklerler. Aktive olan kaspaz-8 de diğer uygulayıcı kaspazları aktive etmektedir (Eichhorst ve Kramer, 2001).

2.2.4. Apoptozis Uyarıcı Faktör (AUF)

Apoptozis nükleer parçalanma, kromatin yoğunlaşmasını içeren birkaç morfolojik nükleer değişikliklerle meydana gelmektedir. Bu değişiklikler membranöz kaspaz ailesi, kaspaz DNaz aktivitesi ve birkaç yeni protein aktivasyonu ile başlamaktadır. Kromatin yoğunlaşması ve DNA kırılmasına neden olan bu yeni genyakin zamanda keşfedilmiş, daha sonra klonlanmış ve AIF olarak adlandırılmıştır. AIF, apoptotik kaspaz-9 ve sitokrom c gibi mitokondride yerleşiktir. AIF, kaspaz bağımsız DNA kırılması ve kromatin yoğunlaşması ile apoptozisi başlatır (Eichhorst ve Kramer, 2001). Kanseri hücreleri, kanser gelişim ve ilerlemesi sürecinde, hücre ölümü uyarısından kendilerini korumaları nedeniyle apoptozisten kurtulma yeteneği kazanırlar. AIF, NADH oksidaz aktivitesi ile kolon kanserine neden olur (Eichhorst ve Kramer, 2001).

2.2.5. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

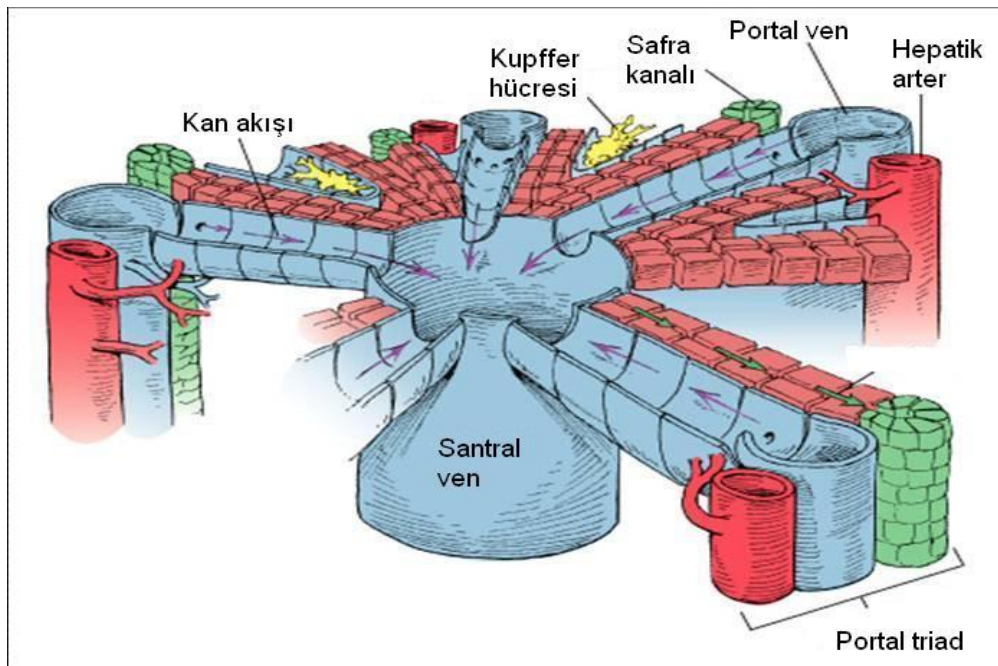
Apoptozisi tespit etmek için çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. 1972 yılında, apoptozis terimi ilk kez kullanıldığında hücrenin morfolojik görünümüne göre karar verilmişti. Oysa günümüzde, morfolojik değerlendirmenin yanında apoptozise özgü olduğu bilinen bazı aktivasyonların (örneğin aktif kaspaz-3 tayini) moleküler düzeyde belirlenmesiyle de tespit edilebilmektedir. İlk kez morfolojik kriterlere göre belirlenen apoptozis, 1980'li yılların sonuna doğru DNA kırıklarının oluştuğunun ortaya konulmasıyla birlikte bu kırıkların saptanmasına yönelik yöntemlerle belirlenmeye başlanmıştır. 1990'ların ortalarında ise apoptotik hücrelerde kaspazların aktifleştiği bulunmuştur. Böylece, kaspaz aktivasyonlarının belirlenmesine yönelik metodlarla saptanabilen apoptozis, 1990'ların sonuna doğru fosfatidilserin translokasyonunu belirleyen yöntemlerle de saptanmaya başlanmıştır. 2000'li yılların başlarında, sadece apoptotik epitelyal hücrelerde kaspaz aktivitesiyle kırılan bir protein olan keratin 18'in, kırıldıktan sonraki özgün formunu saptayan antikolar kullanılmıştır. Böylece apoptozis daha spesifik olarak saptanmıştır (Ulukaya, 2003). Bazı yöntemler apoptozisin belirlenmesinde kullanılır;

- 1.Morfolojik görüntüleme yöntemi
- 2.İmmünohistokimyasal yöntem
- 3.Biyokimyasal yöntemler
- 4.Moleküler biyoloji yöntemleri olarak sıralanır (Akşit ve Bildik,2008).

2.3.Karaciğer

2.3.1.Karaciğer Histolojisi

Karaciğer, vücudun hemen bütün sistemleriyle ilişkisi bulunan, önemli fonksiyonlara sahip olan karmaşık bir bezdir. Deriden sonra vücudun en büyük organıdır. Karaciğer vücut ağırlığının yaklaşık 1/50'ini kapsamaktadır (Sielaff ve Curley, 2004). Erişkinde vücut ağırlığının % 2'si, yeni doğanlarda ise % 5'i kadardır. Bu nedenle çocukların karnı biraz daha şiş görünür. Kırmızımtırak kahverengi bir rengi olan karaciğer, sağlam ve elastiki olmasına rağmen, gevrek ve kolaylıkla parçalanabilen bir yapıya sahiptir. Çok damarlı olması nedeniyle yaralanmaları büyük kanamalara neden olur (Arıncı ve Elhan, 1997; Dere, 1994). Karaciğer; plazma proteinlerinin sentezi, karbonhidratların depolanması, safra yapımı, keton bileşiklerinin yapımı, üre yapımı, metabolizmalarının kontrolü, yağ metabolizması, bazı hormonların inaktivasyonu, gibi fonksiyonlara sahiptir (Arıncı ve Elhan, 1997-Dere, 1994).



Şekil. 2.3.1. Karaciğer Damarlar, Kupffer Hücreleri ve Sinüzoid Görüntüsü(Ross.2006)

Karaciğerin temel yapısal elemanı karaciğer hücresi adı verilen hepatositlerdir. Hepatositler 6 veya daha fazla yüzeyli polihedral, 20-30 mikron çapta hücrelerdir. Genellikle bir; bazen de iki çekirdekli, soluk pembe sitoplâzmaya sahiptirler. Sitoplazmalarında lobülün orta kısmında daha belirgin olmak üzere ince kahverengi granüller halinde lipofuksin pigmenti ve yağ vakuelleri bulunabilir. Hepatositler; lobül içinde periferden merkeze doğru kordonlaroluşturur. Bu kordonlar birbirleriyle serbest anastomozlar yaparak labirent şeklinde yapılar oluşturur (Aksoy, 1977). Hepatositler, epitelyal hücreler olup birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde kümeler oluşturmuşlardır (Şekil 2.3.1).

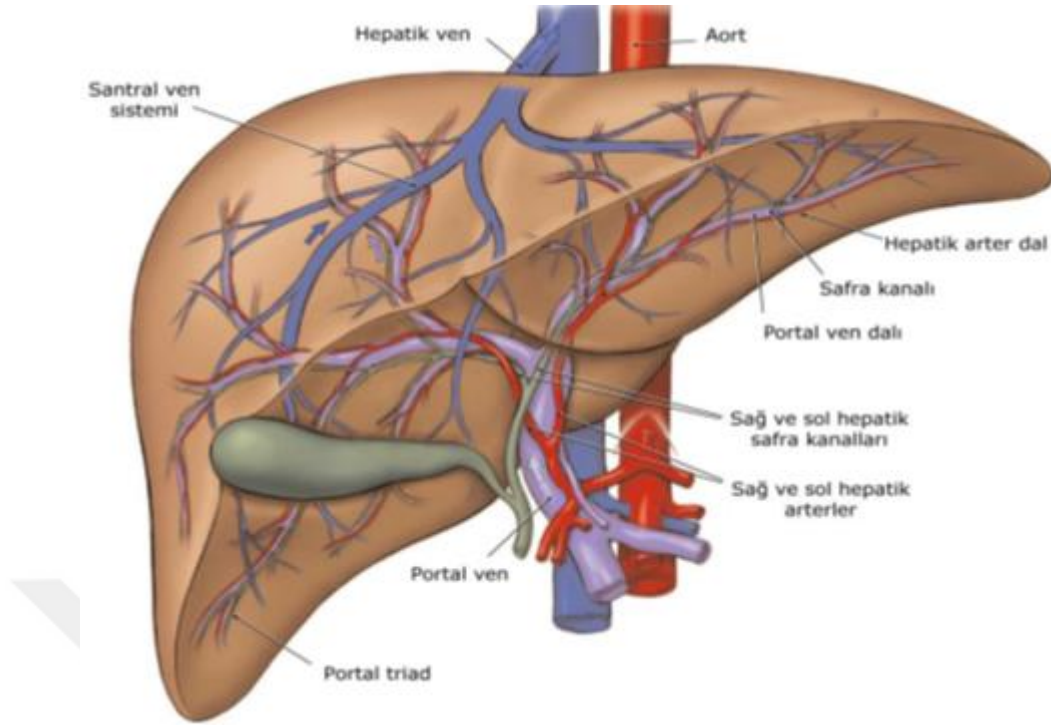
Karaciğer hücre plakları arasında sinuzoidler bulunur. Sinuzoidler, lobulus içi kan dolaşım ağını oluştururlar. Venulae perilobularislerden, V. centralis yönünde akan kan, sinuzoid duvarı aracılığı ile karaciğer metabolizmasına katılır. Sinuzoid duvarında iki tip hücre vardır. Biri, endotel hücresi; diğeri de retikulo endotel sisteme (RES) ait olan “Kupffer” yıldız hücreleridir. Kupffer tanımlamasına göre, “yıldız şekilli” hücreler diye anılmaktadırlar. İleri derecede fagositoz kabiliyetleri olup, sabit makrofajlar grubundan sayılırlar. Kupffer hücreleri sitoplazmalarında fagositoz vakuelleri, kalıntı cisimcikler ve lizozomlar bulunur (Aksoy, 1977).

Karaciğer atar damarına hepatik arter denir ve görevi ana atar damar olan aorttan aldığı oksijence zengin kanı karaciğere taşımaktır. Kapı toplardamar (portal ven) vücudun diğeri büyük damarıdır ve özellikle ince bağırsak da sindirilmiş besinleri karaciğere taşır. Bu kan damarları karaciğer içinde çok sayıda dallara ayrılır ve kapiller adı verilen kılcal damarlar halinde sonlanırlar (Özvaran, 2004)

Karaciğer, kardiyak atımın yaklaşık % 25'ini alır, böylece 1500 ml/dk kanla sulanır. Bukan, karaciğerin beden fonksiyonlarını sağlamada ciddi rol oynayan venöz

akım kaynağı portal ven ve biliyer sistemi besleyen ve karaciğer oksijenizasyonunda temel rol alan hepatik arter olmak üzere iki ana sistem tarafından sağlanır. Karaciğer içinde portal venüllere ve oradan da sinüzoidlere boşalır. Bundan sonra santral vene ulaşan kan akımı, hepatik ven dallarına nihayetinde inferiyor vena cava'ya ulaşarak karaciğeri terkeder (Hampton, 1998). Portal kan akımı tüm ince barsakların venöz drenajını sağlar. Böylece incebağırsakta besin değeri zengin maddeleri ve beraberinde ilaçları ve zehirli maddeleri karaciğere taşır (Şilomikronlar haric).Pankreatik drenajda karaciğere girmeden önce sağlar. Hepatik arter karaciğere gelen kanın yaklaşık olarak % 25'ini sağlayan çölyak arterin bir koludur. Hepatik arter dallanarak interlobüler arterleri oluşturur. Kan klasik olarak karaciğer lobülünün çevresinden merkeze doğru akar (Hampton, 1998).

Karaciğer vücudun en büyük lenf kaynaklarından birisidir ve total lenf hacminin yaklaşık % 15-20'sini oluşturur. Sinüzoidal endotelial hücrelerden "Disse mesafesi" portal sistemden ve hepatik ven çevresinden oluşan karaciğer lenfası yüzeysel ve derin lenf yolları ile lenf düğümlerine taşınır. Yüzeysel lenfa yollarının bir kısmı ligamentum falsiform içindedir. Bu lenfa diyafragmayı geçerek mediasten lenf düğümlerine ulaşır. Diğer bir kısmı ise göğüs içinde inferiyor vena cava'yla buradaki lenf düğümlerinde sonlanır. Derin lenfa yolları ise portal alanlardadır, bunlar hilus civarındaki lenf düğümlerine gelir. Buradan da sisterna şili yolu ile duktus torasikusa aktarılır (Scherlock ve Dooley, 2002).



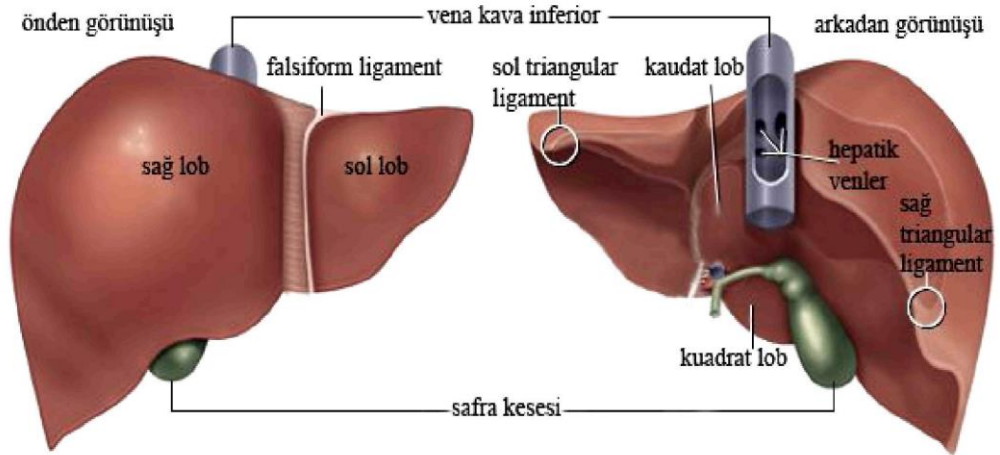
Şekil 2.3.2.Karaciğer Damarları(Ross 2006)

2.3.2.Karaciğer Anatomisi

Karın boşluğunu dolduran en büyük organ karaciğerdir. Vücut ağırlığımızın yaklaşık % 2'sini oluşturur. Normal ağırlığı erişkin erkeklerde ortalama 1400-1600 gr, erişkin bayanda ortalama 1200-1400 gr civarındadır (Arıncı ve Elhan, 2001). Karaciğer, hepatik venleri içeren hatlarla ayrılan seri segmentlerin birleşmesiyle oluşur. Karaciğer, içinde orta hepatik venin seyrettiği anahepatik fissür ile 2 sektöre ayrılır. Temelde karaciğer 3 ana hepatik ven tarafından 4 segmente ayrılır. Sağ ve sol karaciğer arasındaki anatomik bölünme çizgisi Cantlie çizgisi adını alır, safra kesesi yatağının medial kenarından inferior vena cavanın posteriorunun soluna doğru olan bir plan boyunca uzanmaktadır (Arıncı ve Elhan, 2001).

Karaciğerin yüzeyi, glisson kapsülü denilen periton tarafından örtülür. Bu periton, karaciğerin sadece arka-alt bölümünde inferior vena cava ve hepatic venlere yakın bir kısmı örtmez. Karaciğerin visseral ve diafragmatik olmak üzere iki yüzü vardır. Karaciğerin üst yüzü diyafram ile alt yüzü karın organları ile komşudur (Snell, 1995).

Karaciğer; falsiform ve teres hepatis ligamanları ile karın ön duvarına ve diyaframa bağlanır. Karaciğeri örten periton (glisson kapsülü), iki yaprak halinde diyaframa yapışır. Bu iki ligamente anterior ve posterior koroner ligamentler denir. Bu ligamentler, sağda ve solda trianguler ligamentleri oluştururlar. Ayrıca önde birleşerek falsiform ligamenti meydana getirirler. Falsiform ligament içinde, sol umbilikal ven kalıntısının oluşturduğu ligamentum teres hepatis vardır. Falsiform ligament ve ligamentum teres hepatis karaciğeri kabaca sağ vesol iki loba ayırır (Moore ve Dalley, 1997).



Şekil 2.3.3.Karaciğerin önden ve arkadan görünüşü (Ross 2006).

Karaciğer biri büyük; lobus hepatis dexter, diğeri küçük; lobus hepatis sinister olmak üzere iki lobdan oluşur. Ligament falciforme hepatis ön ve üst yüzde bu iki lobu birbirinden ayırır. Visseral yüzde lobları birbirinden ayıran yapılar daha belirgindir. Yüzde bulunan H harfi şeklindeki oluklar, karaciğerin visseral yüzünü dört loba ayırır.

Sulcus sagittalis dextra'nın sağ tarafında kalan bölüme lobus hepatis dexter, fissura sagittalis sinistra'nın solunda kalan bölüme ise lobus hepatis sinister denir. Bu iki oluk arasında ve porta hepatis'in önünde kalan kısım lobus quadratus, arkasında kalan kısım ise lobus caudatus adı verilir (Ozan, 2004).

2.3.3.Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğer, organizmada aralıksız olarak sürdürülen metabolik faaliyetlerin merkezidir. Çünkü özofagusun abdominalparçasından itibaren, mide duodenum-jejunum-ileum, kalın bağırsakların tümü ve hatta dalak ve pankreasın tüm venöz kanı, içindekilerle beraber kalbe dönmeden önce işlenmek üzere karaciğerden geçmek zorundadır. Karaciğerin organizmada üstlendiği fonksiyonları ve bunların organizma için ne kadar vazgeçilmez işlevler olduğunun anlaşılabilmesi için, kanlanmasına ve genel dolaşım içerisinde yerleştigi stratejik konumunu incelenmesi yeterli olacaktır (Karaöz, 2002).

2.3.3.1.Karaciğerin Karbonhidrat Metabolizmasındaki Rolü

Karaciğerin karbonhidrat metabolizmasındaki üstlenmiş olduğu görevler;

- 1) Vücuttaki fazla glikozu glikojen olarak depolama
- 2) Galaktoz ve fruktozu glikoza dönüştürme
- 3) Karbonhidrat metabolizmasında oluşan ara ürünlerden çok önemli bazı kimyasal maddeleri oluşturma
- 4) Glikoneogenez

Karaciğerin tamponlama fonksiyonu sayesinde kandaki glikoz seviyesi normal olarak seyrederek. Glikoz seviyesi normalin altına düştüğünde karaciğer kana glikoz verir. Tam tersi olarak da kandaki glikoz seviyesi arttığı zamanda kandaki glikozu kendi bünyesine alır (Bollen ve ark., 1998).

Glikoneogenez'de kanda glikozun normal düzeyde kalması sağlanır. Glikoz konsantrasyonu normal seviyenin altına düşmeye başladığında çok miktarda amino grup asidin glikoza çevrilmesi ile glikoz konsantrasyonunun normale dönüşmesine katkıda bulunur (Guyton ve Hall, 2007).

2.3.3.2. Karaciğerin Yağ Metabolizmasındaki Rolü

Vücudun hemen hemen tüm hücrelerinde yağ metabolizması kısmen de olsa yürütülmektedir. Yağ metabolizmasında karaciğer başlıca;

1. Vücut fonksiyonlarına enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu
2. Büyük miktarda kolesterol, fosfolipid ve lipoprotein sentezi
3. Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi, görevlerini yerine getirmektedir

(Guyton ve Hall, 2007).

Nötral yağlar öncelikle gliserol ve yağ asitlerine enerji elde etmek için ayrılır. Yağ asitleri daha sonra beta oksidasyonla 2 karbonlu asetil köklerine ayrılır. Bu kökler Asetil Coenzim A (Asetil CoA)'yı oluşturur. Asetil CoA'nın sitrik asit döngüsüne girerek okside olmasıyla büyük ölçüde enerji açığa çıkar. Beta oksidasyon vücutta tüm hücrelerde yapılmaktadır ancak karaciğer hücrelerinde bu olay özellikle daha hızlıdır. Ancak karaciğer, oluşan Asetil CoA'nın hepsini kullanamaz ve Asetil CoA moleküllerini ikişer ikişer birleştirerek asetoasetik asidi oluşturur ve ekstrasellüler

sıvılara verir. Dokular tarafından kolayca absorbe edilen asetoasetik asit ise tekrar Asetil CoA'ya dönüştürülerek normal yoldan okside edilir. Bu sebeble karaciğer, yağ metabolizmasından sorumlu organdır (Guyton ve Hall,2007).

Kolesterol karaciğerde sentezlenir ve yaklaşık % 80'i safra tuzlarına çevrildikten sonra safraya salgılanır (Özvaran, 2004). Geri kalanı lipoproteinler içinde vücudun tüm dokularına taşınır. Fosfolipidler de karaciğerde benzer şekilde sentezlenerek başlıca lipoproteinler içinde taşınırlar. Kolesterol ve fosfolipidler hücrelerde membran, hücre içi yapıların oluşumunda ve önemli kimyasalların sentezinde yer alırlar. Vücutta proteinlerden ve karbonhidratlardan yağ sentezi önemli ölçüde karaciğerde gerçekleşir. Yağlar karaciğerde sentezlendikten sonra lipoproteinler içinde yağ dokusuna taşınarak orada depolanır (Harrison ve Diehl, 2000).

Açlık, diyabet gibi bazı durumlarda karaciğer trigliseridlerinde artış gözlenir. Böyle bir durumda yağ dokusundan serbestleşen serbest yağ asitleri karaciğerde tekrar depo edilirler. Karaciğer hücreleri trigliseridlerden başka bol miktarda fosfolipid ve kolesterol içerir (Bederman ve ark., 2004).

Doymamış yağ asitleri bütün hücrelerde birçok yapı elemanı tarafından kullanılır.Doymamış yağ asitlerinin de başlıca kaynağı karaciğerdir (Bederman ve ark., 2004). Bu doymamış hale getirme olayı karaciğer hücrelerinde bulunan dehidrogenaz enzimi ile yürütülür (Bederman ve ark., 2004).

2.3.3.3. Karaciğerin Protein Metabolizmasındaki Rolü

Karaciğerin protein metabolizmasındaki görevlerini 4 ana başlıkta toplayabiliriz.

1. Kan plazmasında bulunan proteinlerin oluşumu

2. Metabolik önemli amino asitlerin ve öteki maddelerin vücuttaki birbirlerine dönüşümü

3. Amino grup asitlerin vücutta deaminasyonu

4. Metabolik artık olan üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması

Vücut hücrelerinde bir takım kimyasal işlemler sonucu oluşan amonyak ve barsakta yer alan bakterilerin sürekli yaptıkları amonyak maddesinin üreye çevrilmesi için yapılan deaminasyon işlemlerinin hepsi karaciğer tarafından yapılmaktadır. Enerji için kullanılmayan amino asitlerin, karbonhidrat veya yağlara çevrilmeden önce deaminasyonu gerekmektedir. Gama globülinlerin bir bölümü dışında diğer bütün plazma proteinleri (albümin günde yaklaşık 13 mg.) ve kan pıhtılaşmasında görevli fibrinojen, protrombin ve faktör III, immünglobulinler, transferin gibi önemli proteinlerde karaciğerde üretilir (Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

2.3.3.4. Karaciğerde Vitaminlerin Depo Edilmesi

Karaciğerde depo edilen vitaminlerin başında A vitamini gelir. A vitamini (retinol) görmede kullanılan önemli bir proteindir. Karaciğer ito hücrelerinde A vitamini depo edilmektedir. Kandaki A vitamini düzeyi düştüğü zaman karaciğer kana A vitaminin salınmasını sağlar. A vitamini retinol bağlayıcı protein (RBP) ile dolaşıma salınır. Karaciğer RBP nin sentezinde yapmaktadır (Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

A vitamininden farklı olarak, D vitamini karaciğerde depolanmaz, fakat iskelet kaslarına ve yağ dokusuna dağılır. Karaciğer, D vitamini metabolizmasında önemli bir rol oynar. D3 vitaminini 25-hidroksikolekalsiferole dönüştürür. Bu formu, dolaşan D

vitamininin yaygın şeklidir. Böbrekte, daha ileri çevirim aşaması gerçekleşir ve 1,25-hidroksikolekalsiferole dönüşür. D3 vitamininden 10 kat daha fazla aktiftir. D3 vitamini, iskelet sistemi ve dişlerin gelişimi ve büyümesi için temel bir vitamindir (Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Protrombin ve çeşitli diğer pıhtılaşma faktörlerinin karaciğerde sentezi için K vitamini önemlidir. Vücuda diyetel olarak alınır ve ince barsaktaki bakteriyel flora tarafından sentezlenir. K vitamini, şilomikronlarla karaciğere taşınır. Burada hızlı bir şekilde absorbe edilip, daha sonra VLDL ile salgılanır. K vitamini eksikliği, hipoprotrombinemi ve kanama bozuklukları ile beraberdir (Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

2.3.3.5. Karaciğerde Demirin Ferritin Şeklinde Depolaması

Karaciğer kan demirinin tamponu işlevini de yürütür. İnsan vücudundaki kanda bulunan hemoglobulinde bulunan demir dışında demirin büyük bir bölümü karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir. Demir ile birleşen bir protein olan apoferriten karaciğerde bolca bulunur. Kanda demir miktarı arttığında apoferriten ile birleşerek karaciğerde ferriten olarak depo edilir (Bederman ve ark., 2004).

2.3.3.6. Karaciğerin Kanın Pıhtılaşmasındaki Görevi

Kanın pıhtılaşmasında görev alan bazı protein ve faktörler de karaciğerde üretilmektedir. Bunlar fibrinojen, protrombin, akselerator, globülin, faktör VII, IX ve X olarak sayılabilir (Bederman ve ark., 2004).

2.3.3.7.Karaciğerin İlaçların ve Toksik Maddelerin Vücuttan Atılmasındaki Rolü

Çoğu ilaç ve toksinler hidrofilik değildir, dolayısıyla böbrekler vasıtasıyla dolaşımdan etkili bir şekilde elemine edilemezler. Hepatositler ilaçların, toksinlerin ve vücuda yabancı diğer proteinlerin indirgenmesinde önemli rol oynamaktadır. Karaciğer hepatositeri bu maddeleri daha çözünebilir bir forma dönüştürür. Hepatositlerin endoplazmik retikulumu ve mitokondriyonunda hidroksilasyon (OH eklenmesi) ve karboksilasyon (COOH eklenmesi) gerçekleşir. Böylece suda eriyebilir hale getirerek böbrekler tarafından ortadan kaldırılmasına yardımcı olur (Harrison ve Diehl, 2000).

2.3.3.8.Karaciğerin Hormonlar Üzerindeki Etkisi

Karaciğerde pek çok hormonun yapı ve fonksiyonu düzenlenir (Guyton ve Hall,2007). Büyüme hormon, hipofiz bezi tarafından sentezlenen bir hormondur. GH'un işlevleri, karaciğer tarafından üretilen büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) tarafından düzenlenir ve gastrointestinal kanalın enteroendokrin hücreleri tarafından sentezlenen somatostatin ile inhibe edilir.

İnsülin ve glukagon, pankreatik hormonlardır ve karaciğer ve böbrek en önemli indirgenme bölgeleridir (Guyton ve Hall, 2007).

Tiroksin, tiroit bezi tarafından tetrayodotironin olarak sentezlenir. Karaciğerde deiyodinasyon ile biyolojik olarak aktif formu olan triiyodotironine dönüştürülür (Guyton ve Hall, 2007).

2.3.3.9. Karaciğerin Kan Depo İşlevi

Karaciğer kan deposu olarak görev yapabilen büyük, genişleyebilen bir venöz organdır ki. kan hacmi azaldığında ek kan sağlama yeteneği olan ve kan hacmi aşırı şekilde arttığında ise depo edebilen bir özelliğe sahiptir. Karaciğer kendi kan damarlarında bol miktarda kan depolama özelliğine sahiptir ve bundan dolayı genişleyebilen bir organdır. Hepatik venlerdeki ve hepatik sinüslerdeki kan ile birlikte karaciğerin normal kan volümü 450 mililitre yani yaklaşık vücudun toplam kan hacminin % 10'u kadardır. Basınç sağ atriyumda yükseldiğinde karaciğerde de basınç yükselir ve karaciğer genişleyerek 0,5 ile 1 litre daha fazla kan hepatik venler ve sinüslerde depo edilir (Guyton ve Hall, 2007).

2.3.3.10. Karaciğerin Kan Temizleme İşlevi (Karaciğerin Makrofaj Sistemi)

Karaciğerin yapısında yer alan kuffer hücrelerinin fagositoz yapma özellikleri vardır. Barsak kapiller damarlarından gelen kan barsaklardan birçok bakteriyi de beraberinde götürür. Hepatik sinüslerde bulunan Kuffer hücreleri kanı bakterilerden fagositoz yaparak temizler (Guyton ve Hall, 2007).

2.3.3.11. Karaciğerin Safra Üretimi

Safra, birbirine komşu hepatositler arasında hücre dışı bir kanal olan safra kanalikülü ile taşınan bir hepatosit ürünüdür (Hetts, 1998). Karaciğerin önemli fonksiyonlarından biri de safrayı salgılamaktır. Normal düzeyi 600-1000 ml/gün olan

safranın iki önemli işlevi vardır. Bunlardan ilki, yağların sindirimi ve emilimi, diğeri ise kandan önemli yıkım ürünlerinin atılmasıdır. Hemoglobinin parçalanma ürünü olan bilirubin ve karaciğer hücrelerinde sentezlenen kolesterol bu yıkım ürünlerinin en önemlileridir. Safranın görevlerini sıralandıracak olursak;

- 1).Kolesterol, fosfolipidler, safra tuzları, konjüge bilirubin ve elektrolitlerin atılımı.
- 2) Bağırsak lümeninde yağların emilimine katkıda bulunur.
- 3) Enterohepatik dolaşım ile disse aralığında üretilen IgA' yı bağırsak mukozasına taşır.
- 4) İlaçların ve ağır metallerin hepatositte işleme tabi tutulması sonrası oluşan metabolik ürünlerin atılımı.

Hepatositten safranın ve diğeri organik maddelerin safra kanalikülün lümenine taşınması için ATP harcanmaktadır (Moore ve Dalley, 1997).

2.3.3.12.Karaciğerin Bilirubin Oluşumundaki Görevi

Bilirubin hem (demir) metabolizmasının son ürünü olup, karaciğer ve dalakta yıkılan yaşlı kırmızı kan hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Hemoglobin hem ve globinden oluşur. Globin genel protein havuzuna dâhil olurken, hem'den demirin ayrılmasıyla da bilirubin oluşur. Daha sonra ayrılan bu demir tekrar kullanılır. Bilirubinün yaklaşık % 80'i mononükleer fagositik sistem de hem'in yıkılmasıyla oluşurken, geri kalan kısmı da olgunlaşmamış kırmızı kan hücrelerinden, miyoglobulin ve sitokromlardan kaynaklanır (Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Bilirubin lipofiliktir ve salınmadan önce hepatik enzimlerle konjüge hale gelmelidir. Serbest bilirubin plazmada proteine, başlıca albumine bağlı olarak taşınır.

İndirekt bilirubin olasılıkla karaciğer hücrelerinin membranlarındaki reseptöre bağlandıktan sonra hücre içine alınır (Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

2.3.3.13. Karaciğerin Yenilenmesi (Rejenerasyon)

Karaciğer olağanüstü bir yenilenme yeteneğine sahiptir. Karaciğer dokusunun cerrahi yolla çıkarılmasından ya da hepatotoksik maddelerin (CCl₄, kloroform) verilmesinden kısa bir süre geçtikten sonra karaciğer normal ağırlığını yeniden kazanır (Moore ve Dalley,1997). Sıçanların karaciğerlerinin yaklaşık %75'i çıkarılırsa bir ay gibi kısa bir süre içinde kaybedilen dokunun yerine tekrardan konduğu görülür. İnsan karaciğerinde bu yenilenme biraz daha sınırlıdır (Moore ve Dalley,1997). Karaciğer rejenerasyonu geride kalan karaciğer hücreleri olan hepatositlerin mitozu ve büyümeleri ile sağlanır. Yenilenen karaciğerde parankimal hücrelerin normalde olması gerekenden büyük olduğu ve binükleer hücrelerin sayıca çoğaldığı görülür. Hepatositlerde meydana gelen mitoz şalon (Chalon) denen kanda dolaşan mitoz inhibitörü maddelerle kontrol edilir. Karaciğerin bir parçasının çıkarılmasıyla ya da doku hasarında mitoz baskısı kalktığından (kandaki şalon miktarı düşer) hızlı bir mitoz görülür. Rejenerasyon ilerledikçe, karaciğer hücreleri kendilerini yeniledikçe yapılan şalon miktarı artar ve dolayısıyla mitoz giderek azalır (Moore ve Dalley,1997).

Karaciğer hasarlarının sürekli ve tekrarlanan karaciğer hücre rejenerasyonu ile birlikte bağ dokusu artımı da hızlandığından, karaciğer bağ dokusunun giderek artmasına ve siroz denen patolojik bir durum ortaya çıkmasına sebep olur (Moore ve Dalley,1997).

2.4. Elektromanyetik Alan ve Pulsu (Darbeli) Manyetik Alan

Elektromanyetik alanlar görünmeyen ancak ölçülebilen elektrik alanı ile manyetik alanların bileşimidir. İçerisinden elektrik akımı geçen bir iletkenin etrafında elektromanyetik alan (EMA) meydana gelir. Radarlar, radyo mobil telefonlar ve televizyon vericileri, tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda kullanılan çeşitli aletler, yüksek gerilim hatları, elektrikli ev aletleri mikrodalga fırınlar EMA oluşturan kaynaklar arasında sayılmaktadır. Bu alanlar doğru akım (DC) veya alternatif akım (AC) karakteristikte olabilirler. Madde içine nüfuz eden EMA'lar cisim oluşturan atom ya da moleküllerden elektron koparabilme kabiliyetlerine göre iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan veya şiddeti zamanla değişmiyorsa DC manyetik alan, değişiyorsa AC manyetik alan olarak tanımlanabilir. (Elmas, 2007). EMA'nın birimi gauss (G) veya tesla (T). EMA'lar 0 Hz ile 1022 Hz arasında çok geniş bir frekans aralığına sahiptir. Bu geniş spektrum aralığındaki EMA'nın sadece 0 ile 300 Hz arasındaki çok düşük şiddetteki (ELF: Extremely Low Frequencies) EMA'lar tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bu tür çalışmalarda genellikle puls trenleri şeklinde (akımın şiddeti ve süresi ayarlanmak suretiyle) EMA uygulanmaktadır (t-PEMA). Bu özelliklere sahip PMA'lar içinde demir çekirdek olan bobinler, solenoidler veya bir çift Helmholtz halkasından AC akım geçirilerek deneysel olarak meydana getirilir (Elmas,2007).

2.4.1. Elektromanyetik Alanların Canlı Üzerinde Etkileri

Elektromanyetik alanların (EMA) canlı organizmalarda olumlu ve olumsuz etkilerinin görülmesi, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) çalışmalarını da hızlandırmıştır. Elektromanyetik alanların canlılar üzerindeki etkileri, frekanslarına, şiddetlerine,

canlıların vücut ölçülerine, vücudun elektriksel özelliklerine, mesafelere ve en önemlisi de etki sürelerine göre değişmektedir (Engström, 1997). Epidemilojik çalışmalar çok düşük elektromanyetik alanlara uzun süre maruz kalma ve kanser riskinin artması arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir (Forssen ve ark., 2002). Ülkemizde yapılan bazı araştırmalarda yüksek gerilim hatlarının yakınında yaşayan 55 yaşın altındaki bireylerde sinir sistemi, uterus, göğüs ve lenfoma tipi kanserlerde artış, morfolojik olarak kısırlaşma ve hamile kadınların düşük oranında artma ve çocuklarda lösemi tanısında artış görülmüştür (Daşdağ ve ark., 1993).

Elektromanyetik alanların biyolojik sistemlere etkileri ortaya atılan birçok hipotez ile açıklanılmaya çalışılmıştır. Balcavage ve arkadaşları manyetik alanlarının oluşturduğu “hall” etkisini ve katyon kanallarını araştırmışlar. Katyon kanallarının (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) açık kalma süresini, bir iyonun geçmesi için gerekli süreyi ve 50-60 Hz frekansında 100 μT şiddetinde manyetik alan biyolojik sistemlere uygulandığı zaman katyon kanallarının açık kalma süresini matematiksel olarak hesaplamışlar. Uygulanan manyetik alanların katyonlar ve katyon kanal proteinleri arasındaki elektrostatik kuvveti etkilediğini ve hücrenin değişen fizyolojik durumuna bağlı olarak kanal proteinlerinde konformasyonel değişikliğe sebep olduğunu savunmuşlardır (Balcavage ve ark., 1996). Koch ve arkadaşları da düşük frekanslı manyetik alanların hücre zarındaki iyonları ve kanallarını etkilediğini söylemişlerdir (Koch ve ark., 2003).

İntrasellüler messenger olan Ca^{2+} iyonu hücresel homeostatisde en önemli rolü oynar. Bu yüzden daha önce yapılan çalışmalarda zayıf elektromanyetik alanların kemik matriksi, bitki hücre duvarı ve stabilize zarlardaki Ca^{2+} metabolizması üzerine etkileri araştırılmaya önem verilmiştir (Koch ve ark., 2003).

Bellossi ve arkadaşları ağırlıkları 250-350 g arasında değişen sıçanlara günde 24 saat olmak üzere 6 ay boyunca, 12, 50, 100, 300, 460 Hz frekanslarında, 6 mT şiddetinde PMA uyguladıkları zaman; (a)- 6 mT şiddetinde 12 Hz frekansında ve 24 saat boyunca uygulanan PMA'nın en etkili manyetik alan parametreleri olduğunu, (b)- günde 24 saat olmak üzere 6 ay boyunca 12 Hz frekansında 6 mT şiddetindeki PMA'nın etkisine bırakılan sıçanların, kan plazma glukoz, kolesterol ve trigliserit seviyelerinin kontrol değerlerine göre düştüğünü bulmuşlardır (Bellossi ve ark., 1998). Yaptıkları diğer çalışmada da sağlıklı sıçanlar, toplam 0, 3, 4, 6, 8, 16, 24, 48, 72, 96 saat, 12 Hz frekansında, 6 mT şiddetindeki PMA etkisine bıraktıklarında 12 Hz frekansında, 6 mT şiddetinde ve 60-120 dakika süreyle uygulanan PMA'nın en etkili olduğunu; sıçanların karaciğerlerinin ağırlığının vücut kitle indeksine göre arttığını ve kan plazma glukoz, total kolesterol ve trigliserit seviyelerinin azaldığını gözlemişlerdir (Bellossi ve ark., 1996)

PMA tedavisi ülkemizde de son günlerde yaygın olarak kullanılmaya başlandı. PMA'ların kan akışını artırarak gerek oksijen gerekse iyon alışverişini kolaylaştırıp hücre homeostazisini düzenleyen bir sistem olması özelliği savunularak, birçok hastalıkta özellikle kronik hastalıklarda tedavi edici etkilerinden faydalanılmaktadır (Mooney, 1990).

Hücre yıkımını yavaşlatan vücudun savunma sistemini güçlendiren, hücre yenilenmesini hızlandıran ve bu sayede vücudun kendi kendini iyileştirmesini sağlayan pulslu manyetik rezonans stimülasyon (manyetoterapi) bir tedavi yöntemi olarak da kullanılmaktadır (Mandronero, 1990).Manyetoterapi, hücrelerin yaşam kaynağı olan besin ve oksijenin karşılanmasına, hücreler üzerinde toksik etkisi yapan karbondioksit ve metabolizma atıklarının temizlenmesine yardımcı olarak, hücrelerin dejenere

olmalarını yavaşlatıp rejenere olmalarını hızlandırmaktadır. Pulsu manyetik rezonans stimülasyonunun, savunma sistemimizi güçlendirdiği ve vücuttaki enerjiyi dengeleyerek vücudun kendi kendisini onarması için uygun doğal bir ortam oluşturduğu da düşünülmektedir (Mooney, 1990).

PMA genelde iskelet kas sistem bozukluklarında tedavi yöntemi olarak önerilmektedir (Blank ve Goodman, 2004). Elektromanyetik alanların tedavi edici etkileri kırılmış kemik yakınındaki dokulara batırılan iğneden geçen akım ile tedavi yöntemi 1812 yılından başlamaktadır. 1850 yıllarında yine kemik kırıklarının iyileştirilmesi için DC alanların uygulandığı bilinmektedir (Navratil ve ark., 1993).

Organizmadaki her hücre ve dolayısıyla her dokunun içerisinde bulunan iyonlar biyokimyasal faaliyetleri sırasında etrafındaki elektromanyetik alan değişiminden etkilenmektedirler (Bassett, 1989) .

PMA taşıdığı enerji seviyesinin düşüklüğü nedeniyle yan etkileri zararlı olmayan elektromanyetik uyarım olarak kabul edilir. Aynı zamanda dokulardaki iyonik aktiviteler ile kan dolaşımını hızlandırıcı etki yaparak tedaviye yardımcı oldukları kabul edilmektedir (Basett, 1986).

Eritrositlerin zar potansiyelini arttırması ile dokulara gelen oksijen miktarını artırıcı etkide bulunduğu ve dokularda yerel sıcaklığı arttırmadan ağrıyı azaltmakta olduğu vurgulanmıştır (Paul ve ark., 1978).

1990'larda American İlaç Birliği (FDA) darbeli elektromanyetik dalgaların yumuşak dokulardaki yüzeysel ödemlerin tedavisinde ve acılarının azaltılmasında kullanılmasına izin vermiştir.

2.5.Sepsiste Deneysel Modeller

2.5.1.Lipopolisakkarid Verilerek Oluşturulan Septik Şok Modelleri

Lipopolisakkarid (LPS) gram-negatif bakterilerin hücre duvarından elde edilen, deneysel hayvan septik Şok modellerinde kullanılan, glikolipid yapıdaki maddeler grubudur. Saf glikolipid yapıda olan LPS'nin toksitesi çoğunlukla içerdiği lipid A yapıdan kaynaklanır. Genelde liyofilize toz halinde ticari olarak LPS temin edilir. Fiyatı uygun olması, bulunabilirliğinin ve deney sonrasında yaşatılabilirliğinin nispeten kolay olması fare, sıçan gibi küçük hayvanları köpek, domuz, koyun gibi daha büyük türlere üstün kılmaktadır. Sağkalım çalışmalarında özellikle kk türlere tercih edilmektedir (İskit 2001).

2.5.2.Çekum Bağlama ve Delme Modeli [Cecal Ligation And Puncture (LP)]

Sıçanlarda tarif edilmesine rağmen fare ve koyunlarda da uygulanmıştır. Anestezik madde ile uyurultulmuş hayvanlarda bağırsak düzenini bozmaksızın çekumun standart bir iplik ile bağlanması ve bağlanan kısmın standart ldeki bir enjektör iğnesi ile bir veya iki kez delinmesi sonucu oluşturulur. Daha sonrasında karın boşluğu kapatılarak hayvanlara ağırlıklarına göre cilt altına kuruma olmaması için sıvı (resüsitasyon) verilir (Baker ve ark., 1983).

2.5.3. Damar Veya Periton İçine Canlı Bakteri Uygulanması

Özellikle E. Colinin intravenöz ile oluşturulmuş modelleri literatürde mevcuttur. Damar içi 10^8 - 10^9 - 10^{10} bakteri/kg uygulaması ile sıçanlarda iki saat içerisinde hiperdinamik faz oluşmaktadır. Bakteriler tek seferde verilebilir. İntravenöz ile oluşturulan sepsis modeline en büyük eleştir olarak, insan septik şok tablosunda bu kadar kısa süre içinde yüksek miktarda bakteri ile karşılaşılmamasıdır. (Pass ve ark., 1984)



3. YÖNTEM

Çalışmamıza HADYEK'in 15.08.2014 tarihli ve 2014 HAYDEK-46 nolu etik kurulu onayı alındıktan sonra başlanmıştır. Çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Biriminden (DETAP) temin edilen yetişkin Wistar albino cinsi sıçanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hayvanların bakımı ve tüm cerrahi müdahaleleri ve deney sonrası sakrifikasyon işlemleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi DETAP laboratuvarlarında yapılmıştır. Deneyin Pulslu Manyetik Alan uygulama kısmı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalı Laboratuvarında yer alan PMA cihazında yapılmıştır. Alınan numunelerin doku takipleri, histopatolojik ve immünohistokimyasal uygulama ve incelemeleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hayvan Deneyi Uygulamaları

Hayvanların temin edilmesinden sonra her bir hayvanın ağırlıkları hassas bir terazi ile tartılarak kaydedildi (Tablo 4.1.1.). Ortalama vücut ağırlıkları 174-290 gr arasında olan bu sıçanlar gruplar arası homojenliğin sağlanması için rastgele her grupta 7 adet olacak şekilde aşağıdaki gibi 4 gruba ayrıldılar.

1. Grup Sham (Serum fizyolojik),
2. Grup Sepsis modeli oluşturulan sıçanlar,
3. Grup Tedavi-1 (7,5 Hz Manyetik Alan +Sepsis).
4. Grup Tedavi-2 (15 Hz Manyetik Alan+Sepsis).

3.1.1. Grup Sham (Serum fizyolojik) :Bu gruptaki hayvanlar DETAP laboratuvarından dışarı çıkartılmamış ve yaklaşık olarak bir hafta boyunca uygun oda koşullarında normal bir kafesin içinde bekletilmiştir. Hayvanlar kafese konmadan önce 5 mg/kg ksilazin ve 30 mg/kg ketamin uygulanarak anestezisi altında batın duvarı açıldı, çekum açığa çıkarıldı ve tekrar batına geri yerleştirildikten sonra herhangi bir ek cerrahi işlem yapılmaksızın batın duvarı kapatıldı. Batın duvarı tekrar dikilen sıçanlar normal oda sıcaklığına alındı ve 24 saat bekletildi. Bu bekleme süresince sıçanlara herhangi bir işlem yapılmadı. 24 saatin sonunda sıçanlar DETAP ameliyathanesinde 5 mg/kg ksilazin ve 30 mg/kg ketamin uygulanarak anestezi altında karaciğerleri alındı ve % 10 'luk tampedilmiş nötral formalin çözeltisi içerisinde fiske olması için konuldu.



Şekil 3. 1. Batını açılan sıçanın görünümü



Şekil 3.2. Çekumu dışarı çıkartılmış sıçanın görünümü



Şekil 3. 3. Çekumu batin bölgesine geri konmuş sıçanın görünümü

3.1.2. Grup (sepsis modeli oluşturulan sıçanlar):Bu gruptaki sıçanlara 5 mg/kg ksilazin ve 30 mg/kg ketamin uygulanarak anestezisi altında batın duvarları açıldı, çekum açığa çıkarıldı, çekumun alt kısmı iple sıkıca bağlandı, sıçanların çekum bölgelerinden 2 cc lik enjektör iğnesi ile açılan bir delikten çekum içinde bulunan fecesin bir miktar dışarı çıkması sağlandı ve çekalligasyonperferasyon yöntemi (ÇLP) ile genel bilgiler kısmında detaylı olarak anlatıldığı şekilde deneysel sepsis modeli oluşturulmuştur (şekil 3.4.- 3.5.- 3.6.- 3.7.- 3.8.- 3.9.).



Şekil 3.4.Sepsis yapmak için operasyona hazır hale getirilmiş sıçan



Şekil 3.5.Sıçanın batım bölgesinin kesilmiş halinin görünümü



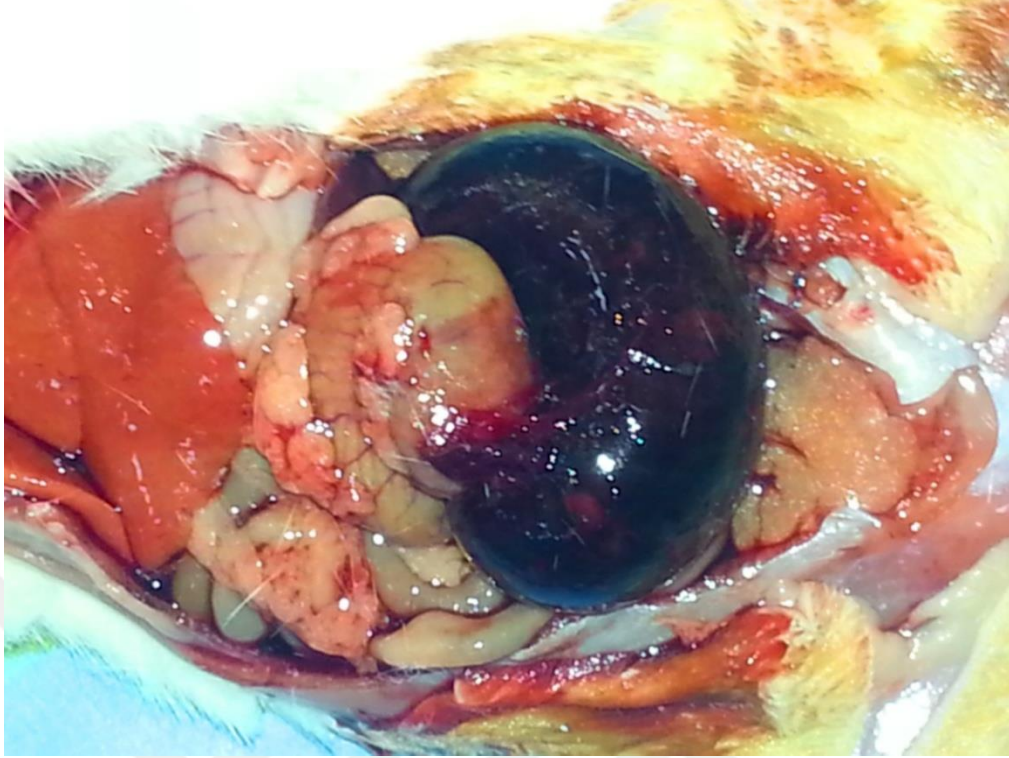
Şekil 3.6.Çekumun bağlanması



Şekil 3.7. Çekumun iğne ile delinmesinin görüntüsü



Şekil 3. 8. Çekumun batın bölgesine geri yerleştirilmesi ve batın bölgesinin dikilmesi

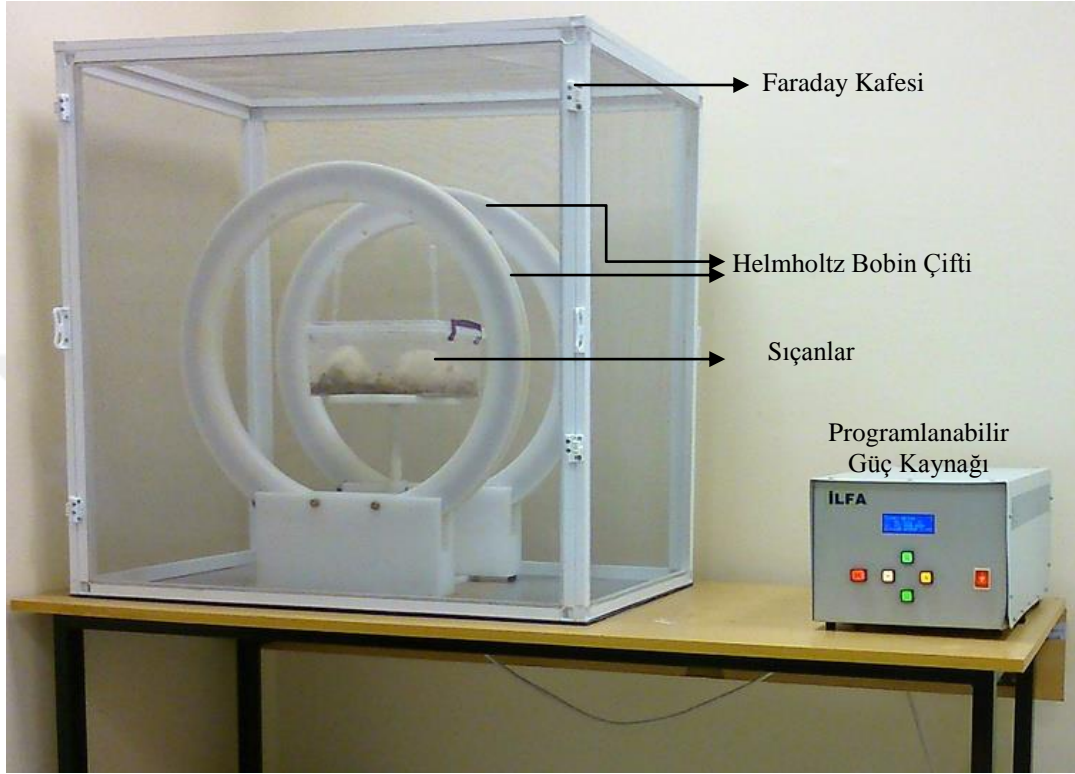


Şekil 3. 9 Sepsis olmuş sıçanın iç organlarının görüntüsü

Sepsis modeli oluşturulan sıçanlar beş saat bekleddikten sonra Biyofizik Ana Bilim Dalı laboratuvarında bulunan PMA için yapılmış faraday kafesinin içerisine yerleştirildi. Bu grup faraday kafesine konulurken iki kısma ayrıldı ve önce 4 sıçan daha sonraki günde 3 sıçan faraday kafesine konuldu. Kafesin üzerinden su ve yem sıçanların beslenmesi için kafesin üzerine bırakıldı. Bu gruba PMA verilmedi. Beklemeye alınan sıçanlardan bir tanesi 12 saat sonra ex oldu. Geri kalan 6 sıçan ortalama 18 saat sonra DETAP ameliyathanesine götürülüp 5 mg/kg ksilazinve 30 mg/kg ketamin uygulanarak anestezi altında karaciğerleri alındı ve % 10 'luk formalin çözeltisi içerisine fikse olması için konuldu.

3.1.3. Grup tedavi 1 (7.5 Hz Manyetik Alan +Sepsis):Bu gruptaki sıçanlarda ikinci gruptaki sıçanlar gibi ÇLP yöntemi ile sepsis modeli oluşturuldu. Sepsis modeli oluşturulan sıçanlar beş saat bekleddikten sonra Biyofizik Ana Bilim Dalı

laboratuvarında bulunan PMA için yapılmış faraday kafesinin içerisine yerleştirildi. Pulsu manyetik alan faraday kafesine monte edilmiş olan Helmholtz bobin sistemi yardımı ile oluşturuldu.



Şekil 3.10. PMA şiddeti 1 mT(mili tesla) (Uluslararası Non-iyonize Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICNIRP), Amerikan Endüstri Hijyenistleri Derneği (ACGIH), Avrupa Birliği (EU)'nce uygun görülen doz.

Bu gruptaki sıçanlarda kendi aralarında rastgele olarak iki gruba ayrıldı ve faraday kafesinin içerisindeki hayvanların rahat edebileceği plastik kaba 4 sıçan ve 3 sıçan ayrı ayrı konuldu. Bu plastik kaptaki Helmholtz bobin sisteminin merkezine yerleştirildi. Bu gruptaki sıçanlara 1mT 7.5 Hz manyetik alan 24 saat boyunca uygulandı. Faraday kafesinin içerisindeki plastik kap sıçanların su içebileceği şekilde üst kısımdan delindi. Bu deliklerden plastik pipet ile su ve yem bırakıldı. PMA'da sıçanlar indüklenmemesi için kullanılan bütün malzemeler plastik olmasına dikkat

edildi. PMA uygulaması; deney hayvanlarını, sistemi ve çalışanları herhangi bir olası etkileşimden korumak amacıyla ayrı bir odada ve uygun ortam şartlarında yapıldı.

7.5 Hz manyetik alan 1 mT 24 saat boyunca tedavi amaçlı uygulanan sıçanlar 24 saat sonra DETAP ameliyathanesine götürülüp 5 mg/kg ksilazinve 30 mg/kg ketamin uygulanarak anestezi altında karaciğerleri alındı ve % 10 'luk formalin çözeltisi içerisine fikse olması için konuldu.

3.1.4. Grup Tedavi 2 (15 Hz Manyetik Alan+Sepsis):Bu gruptaki sıçanlarda ikinci gruptaki sıçanlar gibi ÇLP yöntemi ile sepsis modeli oluşturuldu. Sepsis modeli oluşturulan sıçanlar beş saat bekledikten sonra Biyofizik Ana Bilim Dalı fizyoloji laboratuvarında bulunan PMA için yapılmış faraday kafesinin içerisine konuldu. PMA faraday kafesine monte edilmiş olan Helmholtz bobin sistemi yardımı ile oluşturuldu. Tedavi 1 grubu ile aynı işlemler uygulandı. Sıçanlardan bir tanesi istenilen saate kadar dayanamamış ve 14 saat sonra ex olmuştur.

15 Hz 1 mT şiddetindeki PMA'ya 24 saat boyunca uygulanan sıçanların geri kalanları 24 saat sonra DETAP ameliyathanesine götürülüp 5 mg/kg ksilazinve 30 mg/kg ketamin uygulanarak anestezi altında karaciğerleri alındı ve % 10 'luk formalin çözeltisi içerisine fikse olması için konuldu.

3.2.Histolojik İncelemeler:

3.2.1.Doku Takibi ve Bloklama:

Deney sonrası sıçanlardan alınan karaciğer dokuları küçük parçalar halinde %10'luk formaldehit solüsyonu içine atıldı. Zaman zaman fiksatifin içerisinde bulunan dokular kontrol edildi ve fiksatif sıvısı belli bir aralıklarla değiştirildi. Yaklaşık bir hafta fikse edildikten sonra fiksatifinuzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandı. Akarsu altında yıkanan dokular dehidratasyonu için 1 gece % 70'lik alkolde bekletildi. Daha sonra sırasıyla, % 80 , % 96, % 96, % 99,5 ve % 99,5'lik alkol serilerinde 1 er saat bekletildi. Ardından şeffaflaştırmak için 30'ar dakika iki farklı Ksilene tabi tutuldu. Şeffaflaştırılan karaciğer dokuları daha sonra 1 gece oda sıcaklığında paraplastta bekletildi. Daha sonra 2 saat 60 °C paraplastda ve sonra 3 saat yine başka bir paraplastta bekletildi. Daha sonra hazırlanan bloklara sıvı hale gelmiş olan parafin dökülerek karaciğer dokuları gömüldü.

Tablo 3.2.1. Doku Takibi Protokolü

1.	Akar suda yıkama	24 saat
2.	% 70'lik Alkol	1 gece
3.	% 80'lik Alkol	1 saat
4.	% 96'luk Alkol	1 saat
5.	% 96'luk Alkol	1 saat
6.	% 99,5'luk Alkol	1 saat
7.	% 99,5'luk Alkol	1 saat
8.	Ksilen	½ saat
9.	Ksilen	½ saat
10.	Paraplast	1 gece (oda sıcaklığı)
11.	Paraplast	2 saat (60 °C)
12.	Paraplast	3 saat (60 °C)
13.	Bloklama işlemi	

3.2.2.Kesitlerin Elde Edilmesi

Çalışmaya dahil edilen doku örnekleri tespit edilip yukarıda belirtilen rutin histolojik doku takibinden geçirildikten sonra bloklanıp rotarymikrotom (Leica SM 2000R) ile 4-5 µm kalındığında seri kesitler alındı. Dokuların iyice açılması için alınan seri kesitler sıcak su havuzuna (45-55⁰C) konuldu. Daha sonra önceden Poly-L-Lizin ile kaplanmış olan lamlara, jelâtinle kaplanmış lamlara ve normal lamlara en az üçer doku gelecek şekilde alındı.

3.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar

3.3.1. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü

Kontrol amacıyla, her poliklonal antikor için birkaç kesit primer antikor basamağı atlanarak (dokulara PBS damlatıldı), izleyen basamaklara geçildi.

İmmünohistokimyasal boyamaya başlamadan önce kesitlerin çevreleri “dakopen” kalem (hidrofobik kalem) ile sınırlandırıldı. Bundaki amaç, hem aynı lam üzerindeki birden fazla kesitin farklı monoklonal ve/veya poliklonal antikorlar ile boyanmasını sağlamak, hem de kimyasalların (antikor, AEC gibi) ekonomik kullanılmasını sağlamaktır.

Tablo 3.2.2. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü

1	Lamlara alınmış olan parafin kesitler (4-5µm) 45 ⁰ C etüvde 24saat bekletildi.
2	Ertesi gün 55 ⁰ C etüvde 1 saat bekletildi.
3	Sırasıyla ksilen ve alkol seviyelerinden geçirilip distile su ile yıkandı.
4	Sitrik asit içerisinde dokularda 5 dak. mikrodalga (Med High) uygulandı
5	20 dak. deep freze (derin dondurucu) de dokular soğutuldu
6	Tekrar mikrodalgada kaynatıldı
7	20 dak. dışarıda soğutuldu.
8	Dekapen ile çevrelenen dokulara nemli ortamda %3' lük H ₂ O ₂ uygulandı.
9	PBS' de 3x5 dak. yıkama yapıldı.
10	Blocking serum (nonimmün serum) 15 dak. süreyle uygulandı.
11	1saat süreyle oda ısısında primer antikor ile nemli ortamda inkübe edildi.
12	PBS' de 3x5 dak. yıkama yapıldı.
13	Sekonder antikor ile inkübasyon yapıldı.
14	PBS' de 3x5 dakika yıkama yapıp streptavidin damlatıldı.
15	Kesitler üzerine AEC damlatılıp hematoksilin ile zıt boyama yapıldı.
16	Boyanan preparatlar musluk suyu ile yıkandı.
17	Distile su ile yıkandı.
18	Dehidratasyon için %80, %96, %100'lük alkollerde 5'er dak. bekletildi.
19	2x5 dak. ksilolde şeffaflaştırıldı.
20	AqueousMount (Biyogen) ile kapama işlemi yapıldı.

3.3.2.İmmün Boyamada Kullanılan Kimyasal Maddeler

3.3.2.1.Primer (poliklonal) Antikor

Rabbit poliklonal IgG (A-20) (SantaCruz. Cat; sc-842).

Dilüsyon solüsyonu olarak PBS kullanılmıştır. Bu solüsyonun hazırlanışı ayrıntılı olarak aşağıda belirtilmiştir.

3.3.2.2. Sekonder Antikor

Sekonder antikor olarak Biotinle işaretlenmiş anti-rabbitIgG kullanılmıştır.

3.3.2.3. PBS Solüsyonu

Sodiumdihydrogenphosphatemonohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; K.N:3090, Merck)	1,37gr
Sodiumdihydrogenphosphatedihydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; K.N: 6345, Merck)	1,56gr
Sodiumchloride(NaCl ; K.N: 6048, Merck)	8,76gr
Distile su	1000ml

3.3.2.4. Sitrik Asit Solüsyonu

Sitrik asit	2,1gr
Distile su	1 lt

Belirtilen miktarlardaki sitrik asit distile su içerisinde eritilip karıştırıldı. pH:6 olacak şekilde 2 M NaOH ilave edildi.

3.3.2.5. Hidrojen Peroksit Solüsyonu (%3)

Stok Hidrojen Peroksit (%30 H_2O_2)	10 cc
Distile su	90 cc

Belirtilen miktardaki distile su stok hidrojen peroksit karıştırıldı.

3.3.2.6. Kromojen

Kromojen olarak AEC SubstrateSystem (3-Amino-9-Ethylcarbazole) kullanıldı. Bu madde, sekonder antikor olarak kullanılan Horseradish-peroksidaz enziminin substratı olarak görev yapmıştır.

3.3.2.7. Zıt Boyama İçin Hematoksilen Hazırlanması

Zıt boyamadaki amaç dokudaki antijenik olmayan hücre ve hücre yapılarını boyamaktır.

Mayer's Haemalum:	
Aluminiumpotassiumsulphate (K.N: 7167, Sigma)	50 gr
Haemotoxylin (K.N:H 9627, Sigma)	1,0 gr
Sodiumiodate (NaIO ₃ ; K.N:S 407, Sigma)	0,2 gr
ChloralHydrate (C ₂ H ₃ Cl ₃ O ₂ ; K.N:C 8383, Sigma)	50 gr
Distile su	1000 ml
Sitrik asit (monohydrate) (K.N:C 7129, Sigma)	1,0 gr

1 gr. Hematoksilen 1000 ml, distile suda eritildi, 0,2 gr. sodyum iyodit ilave edildi. Bu karışım, 50 gr. Alüminyum potasyum sülfat ile manyetik karıştırıcıda tamamen eriyinceye kadar karıştırıldı. Daha sonra kloral hidrat ve sitrik asit ilave edildi.

3.3.3. Tunel Boyama

Formalin ile fikse edilmiş parafine gömülü karaciğer dokulardan alınan ince kesitler, standart kit (In Situ Cell DeathDetection Kit, AP; Roche) protokolüne göre 60

⁰C etüvde bekletilip ardında üç değişim ksilene uygulaması ile deparafinize ve ethanol (absolü, % 95, % 90, % 80, % 70, iki değişim distile su) serilerinden geçirilerek rehidrate edildiler. Sonrasında slaytlar 200 ml 0.1M sitrat tamponu (pH6) içeren plastik jara yerleştirildiler. Mikrodalga fırına konarak 5 dakika 350 W'lık bir mikrodalga irritasyonuna maruz bırakıldılar. Sonrasında jara 80 ml oda ısındaki distile sudan ilave edilerek ani olarak soğutuldu ve dokular oda ısısındaki PBS içersine alındılar. 30 dakika kadar Tris-HCl içersinde bekletildikten sonra iki kez PBS içersine daldırıldılar. Fazla sıvı uzaklaştırılarak kesitlerin etrafı hidrofobik pappen kalem (Liquid Blocker, Japan) ile çizilerek sınırlandırıldı ve üzerine 50µl standart kit protokolüne göre hazırlanan Tunel reaction mixture (1:9, vial1+vial2) ilave edilerek karanlıkta nemli ortam içersinde 37⁰C de 60 dakika inkubasyona bırakıldıktan sonra 3 kez 5'er dakika PBS de yıkandılar. Örneklerin etrafı kurulandıktan sonra üzerlerine 50 µl vial3 (Converted AP) damlatıldı ve oda ısısında 10 dakika inkübe edilip 3 kez PBS den geçirildiler. Hazırlanan fastred kromojen solüsyonu kesitler üzerine damlatılıp ışık mikroskobu altında spesifik renk oluşumu için yaklaşık 5 dakika (mikroskop ile kontrol edilerek) inkübe edildikten sonra reaksiyon PBS ile durduruldu. Kesitler distile suya alındıktan sonra hematoksilen solüsyonu ile zıt boyama işlemine tabi tutuldular. Fazla boyanın uzaklaştırılmasından sonra su bazlı kapama solüsyonu (Aqueous-Mount, İnvitrogen) kesitler üzerine damlatılarak lamel ile kapatıldı. Negatif kontrol amacı ile Tunelmixture damlatılması aşamasında preparatlardan bazılarında enzim solüsyonu (vial1) damlatılmayıp sadece labeling solüsyon (vial2) damlatıldı, diğer tüm aşamalar anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu altında apoptotik indeksler açısından değerlendirildiler. Negatif kontrol kesitlerinde hiçbir pozitif işaretleme olmadı.

Tablo 3.3.1. Tunel Boyama Protokolu

1.	Ksilen	15'X2
2.	% 100, %90,%80,%70 Alkol	5'
3.	Distile su	5'
4.	Sitrik asitte 600W	2' (1 kez)
5.	Kaynama bitince 80 ml distile su (oda sıcaklığında) sitrik asidin üzerine dökülür. (Ani soğutma)	
6.	Daha sonra PBS'e alınır (3X5').	
7.	30' BSA(Boin serum albumin) (oda sıcaklığında) Bloklama ağırları (zorunda değil).	
8.	Daha sonra Vial1+Vial2 doku üzerine damlatılır. (1:9)	45'37°C etüvde
9.	PBS	3 kez yıka.
10.	Vial 3	30'37°C etüvde
11.	PBS	3 kez yıka
12.	FastRed (Tablet yada sıvı) Buffer ile sulandırılır.	(1-75 oranında)
13.	H.E. zıt boyama ve kapama.	

3.3.4 Üçlü Boyama

Tablo 3.3.4.1 Üçlü Boyama Protokolu

1	Ksilen	5dk (3 değişim)
2	%100 Alkol	4dk (2 değişim)
3.	%96 Alkol	
4	%80 Alkol	3-5dk
5	%70 Alkol	3-5dk
6.	İyot solüsyonu	3 dk
7	Sodyum tiyosülfat	30sn-1dk (kırmızılık gidene kadar)
8.	Akan suda yıka	5dk
9.	Weigertematoksilen	8-10dk
10.	Akan suda	5 dk
11.	Distile suya daldır	
12.	Asit fuksin	1dk
13.	Distile suya daldır	2 kez
14.	Fosfotungstik asit	10 dk(bağ doku beyazlaşana kadar)
15.	Distile suya daldır	2 kez
16.	Anilin mavisi	1 dk
17.	Distile suya daldı	
18.	%80 Alkol daldır	
19.	%96 Alkol daldır	
20.	%100 Alkol	5dk
21.	%100 Alkol	10dk (ksilene girmeden biraz beklet)
22.	Ksilen	5dk
23.	Ksilen	5-10dk
24.	Ksilen	1 saat
25.	Entallan ile kaplama	

5 µm kalınlığında parafin bloklardan alınan kesitler lamlara alındı. Üçlü boyama protokolu olduğu gibi kesitlere uygulandı

3.3.4.1. Üçlü Boyama Solüsyonlarının Hazırlanması

3.3.4.1.1. Asit Fuksin-Oranj G solusyonu

Asit fuksin	0,7 g
Oranj G	0,3 g
Distile su	200 cc
Timol	0,13 g
Asetik asit	2 cc

Proteinlerin bazik gruplarına, orange G ve asit fuksin gibi sülfonlanmış boyaların, kuvvetli affinitesi vardır. Güçlü bağlar oluşturarak kuvvetli differansiyasyon isteyen proteinlerle bağlanırlar.

3.3.4.1.2. Weigert'in Hematoksilen Solusyonu

Solusyon A

Hematoksilen kristal	1 g
% 95 Alkol	100 cc

Solusyon B

Demir III klorür	1 g
Hidroklorik Asit	1 cc
Distile su	99 cc

.

3.3.4.1.3. Fosfotungostik Asit solusyonu

FosfotungstikAsit 3 g

Distile su 100 cc

3.3.4.1.4. Asetik Asit solusyonu

Asetik Asit 2 cc

Distile su 100 cc

3.3.5. Hematoksilen-Eozin Boyaması

Rotarymikrotom (Leica SM 2000R) aracılığı ile alınan 5 µ'luk parafin kesitlerde parafinizasyon işlemi için 60 °C'lik etüvde 1 gece bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika ara ile iki kez değişimli ksilene maruz bırakıldı. Ardından rehidrasyon işlemi için % 100'den % 70'a azalan oranlarda alkollerden geçirilen kesitler 5 dakika distile suya daldırıldı. Distile suyun ardından 2 dk hemotoksilenile boyamaya bırakıldı. Daha sonra fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dk akar suda yıkama yapıldı. Yıkama sonrasında kesitler eosin boyasına daldırıldı ve 1 dakika bekletildikten sonra distile suya alındı ve biraz bekletildi. Daha sonra kesitler sırasıyla % 80 ve % 95'lik alkol serilerinde geçirildi. Şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dk iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellanile kapatıldı.

Tablo 3.3.5.1 Hemotoksilen Eozin Boyama Protokolü

	İşlem	Madde	Süre
1	Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
2	Deparafinizasyon	Ksilen	30 dakika
3		Ksilen	30 dakika
4	Rehidratasyon	% 100 alkol	2 dakika
5		% 90 alkol	2 dakika
6		% 80 alkol	2 dakika
7		% 70 alkol	2 dakika
8	Yıkama	Distile su	5 dakika
9	Boyama	Hematoksilen	2 dakika
10	Yıkama	Akar su	5 dakika
11	Boyama	Eosin	1 dakika
12	Yıkama	Distile su	5 dakika
13		% 80 alkol	1 dakika
14		% 95 alkol	1 dakika
15	Seffaflastırma	Ksilen	1 saat
16	Kapama	Entellan	

3.3.6. İmmünohistokimyasal Boyanma Skorlaması

Anlatmış olduğumuz immünohistokimyasal protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilen çalışma sonunda elde edilen preparatlar anabilim dalımız mikroskopi laboratuvarında araştırma mikroskobu (Leica DM2500, Nussloch, Almanya) ile 40x objektif altında iki ayrı araştırmacı tarafından analiz edildi.

(-- -) : Herhangi bir boyanma yok (---): Belirgin boyanma var

(--+) : Zayıf boyanma var (+++): Yoğun boyanma var

3.3.7. Semi-quantitative H-Skor Sistemi

Hem pozitif reaksiyon gösteren hücrelerin sayısı hemde bu hücrelerin immün reaksiyon aktivite yoğunluk dereceleri ile boyanan / boyanmayan tüm hücreler göz önünde tutularak immün boyanma şiddet değerleri $[\sum P_i(i+1)]$ formülü kullanılarak H-

Skorlama sistemine dönüştürüldü. Bu formülde i boyanma yoğunluğu skorunu, P_i boyanan hücrelerin yüzdesini göstermektedir. Gözlemler sonunda hesaplanan skorların ortalamaları alındı.

3.3.8. Apoptotik İndeks Analizi

Bloklanan karaciğer dokularının 5 μ kalınlığındaki ince kesitler polilizinli lamlara alınarak etüvde deparafinize edildiler. Sonrasında tunel boyama prosedüründeki aşamalardan geçirilerek apoptotik olan hepatositler kırmızı renkte işaretlenerek görünür hale getirildi. Hazırlanan bu preparatlar araştırma amaçlı kullanılan ışık mikroskobunda değerlendirildi. Apoptotik hücre indekslerini hesaplamak için her gruptaki her bir sıçana ait ortalama 5 preparat, her preparatta 5 farklı rastgele alanlarda ki hepatosit hücreleri normal ve apoptotik hücreler ayrı ayrı sayıldı. Herbir bireyde toplamda 500 hücre sayılarak yüzde apoptotik indeksleri hesap edildi.

3.3.9. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 20 Windows İstatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm veriler ortalama \pm standart sapma / standart error mean olarak ifade edildi. Verilerin gruplar arası çoklu karşılaştırmaları One-way ANOVA sonrası post hoc çoklu karşılaştırma testlerinden TUKEY HSD, LSD testleri ile yapıldı. İmmunohistokimyasal verilen karşılaştırılması Tukey HSD, apoptotik indekslerin karşılaştırılması ise LSD testleri ile karşılaştırıldı. İstatistiksel analizler sonucunda p değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4-BULGULAR

4.1.Sıçan Ağırlıkları Ölçüm Değerleri

Deney için DETAP laboratuvarlarından alınan 28 adet Wistar albino cinsi sıçanlar homejen bir dağılım olması için rastgele olarak her birinde 7 adet olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldılar. Deneye başlarken bu sıçanların hassas terazi ile tartımları sonucunda elde edilen değerler tablo 4.1.1 de verilmiştir.

Tablo 4.1.1 Sıçanların Ağırlık Ölçümü Sonuçları

Sıçan sayısı	Sıçan ağırlıkları	Ortalama Ağırlık
1	210,00	
2	249,11	
3	191,77	
4	272,75	
5	263,20	
6	202,10	
7	214,50	
8	264,70	
9	192,00	
10	274,30	
11	240,20	
12	206,00	
13	254,20	
14	192,50	
15	264,10	
16	201,20	
17	196,30	
18	206,40	
19	226,20	
20	202,40	
21	210,40	
22	250,20	
23	202,00	
24	290,30	
25	210,00	
26	212,00	
27	264,50	
28	172,00	226,26

4.2.İmmünohistokimyasal Bulgular

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda gruplara ait Bax, Bcl-2 ve Acas-3 proteinlerinin ortalamaları Tablo 4.2.1,2’de grafiksel gösterimleri ise Şekil 4.2.1,2’de verilmiştir. Ayrıca her bir gruptan örnek immünohistokimya boyaması yapılmış preparatlardan NIS-Elements programı aracılığı ile araştırma mikroskobuna monte edilmiş kamera ile fotoğraflar çekilerek Şekil 4.2.3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14’de gösterilmiştir.

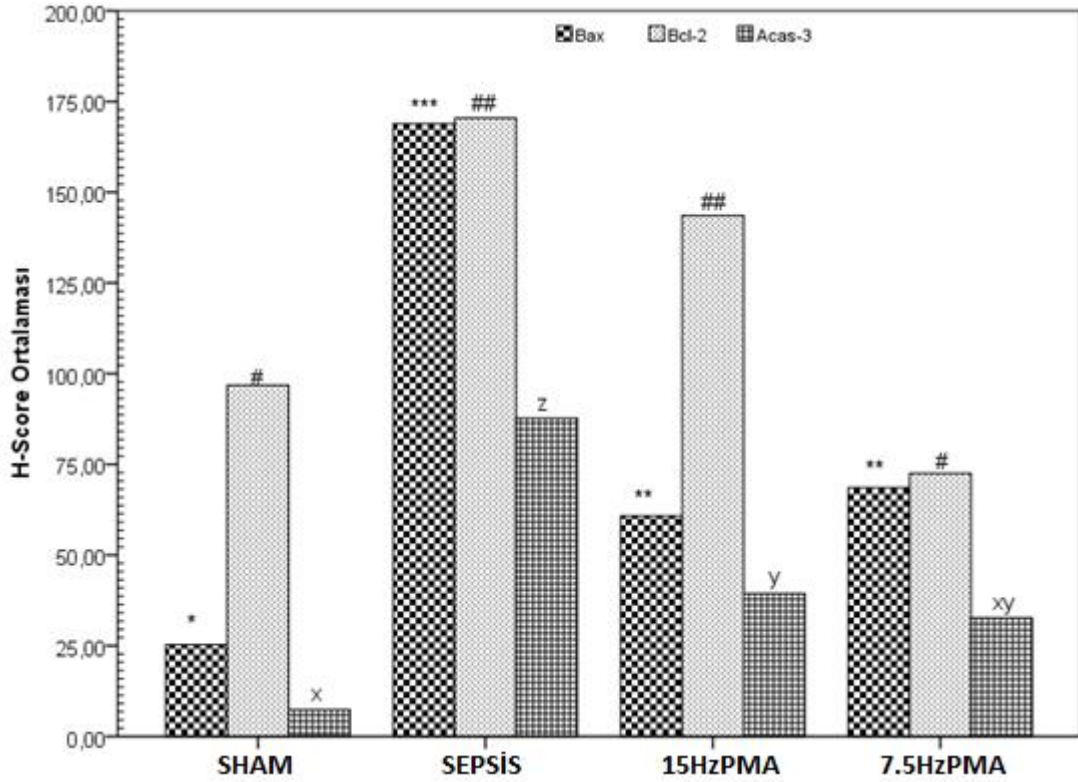
Tablo 4.2.1.Karaciğer Hücrelerinde Bax, Bcl-2, Acas-3 Proteinlerinin İmmünohistokimyasal Boyanma Şiddetleri Skorları Ortalama Değerleri. Veriler üzerindeki her bir harf ve karakter istatistiksel olarak anlamlılık ve benzerlikleri ifade eder.(±: SEM)

	GRUPLAR				
	SHAM	SEPSİS	15HKC	7,5HKC	P (Tukey HSD)
Bax	25.29± 9.18 ^a	168.88± 4.77 ^b	60.76± 5.89 ^c	68.52±9.93 ^c	^b <0.001, ^c < 0.01
Bcl-2	96.78 ±11.38 ^A	170.41± 15.62 ^B	143.55± 10.03 ^B	72.49±7.31 ^A	^A <0.05, ^B > 0.05
Acas-3	7.33±1.77 ^x	87.70± 10.18 ^z	39.40± 5.86 ^y	32.68±5.86 ^{xy}	^{x,y} <0.01, ^{xy} >0.05

C: Sham ve sepsise göre kıyaslanmıştır. y.xy: Sepsise göre kıyaslanmıştır

A: Shame göre kıyaslanmıştır.

Y: Sepsis ve shame göre kıyaslanmıştır

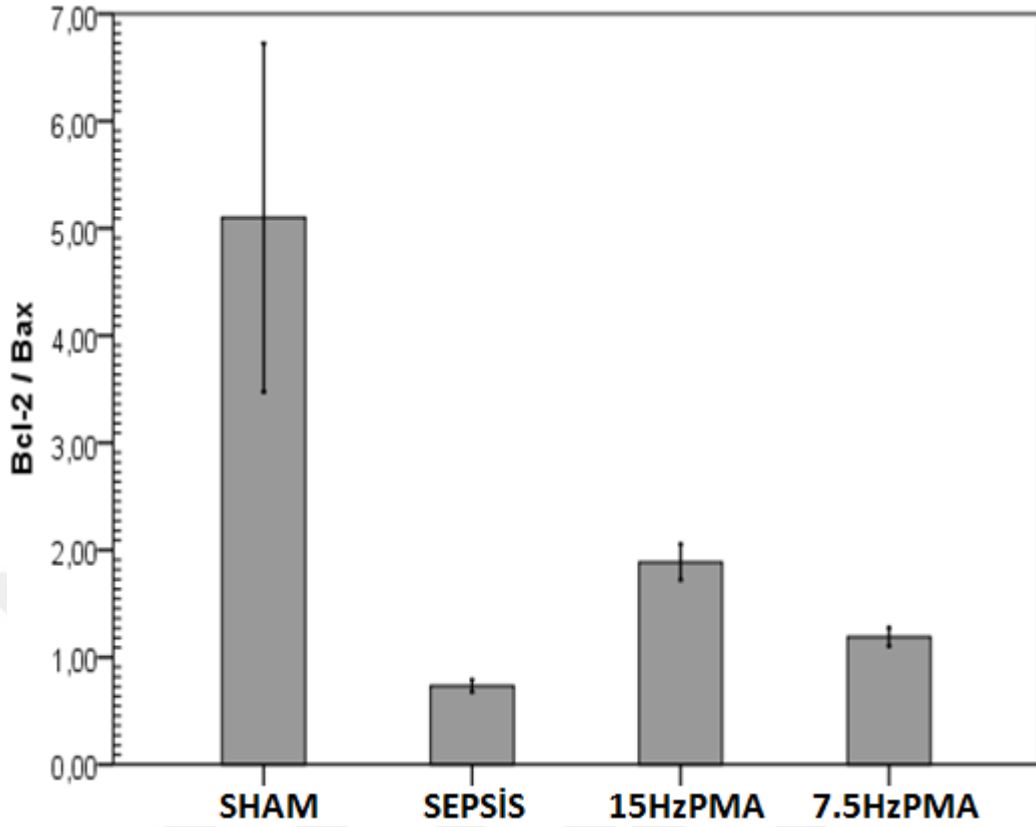


Şekil. 4.2.1 Karaciğer Hücrelerinde Bax, Bcl-2, Acas-3 Proteinlerinin İmmünohistokimyasal Boyanma Şiddetleri H-Skorları Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılmalı Olarak Grafikselsel Görünümü. Barlar üzerindeki harf ve karakterler istatistiksel farklılık ve benzerlikleri gösterir.

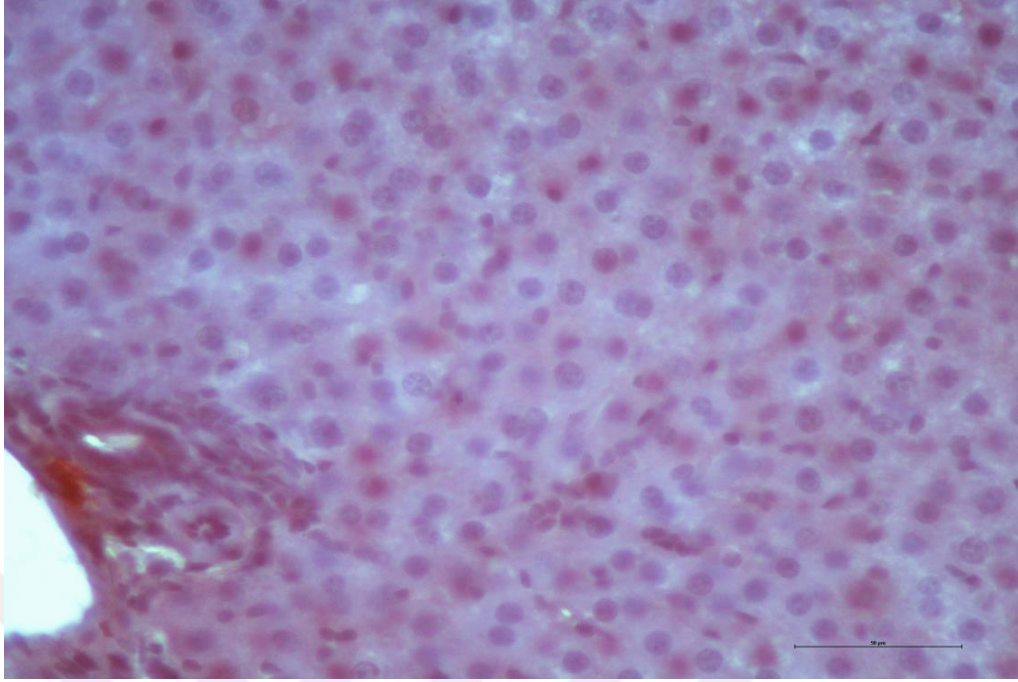
Tablo 4.2.2. Karaciğer Hücrelerinin Bcl-2 ve Bax Proteinleri İmmünohistokimyasal Boyanma Şiddetleri Skorları Oranlarının Grup Ortalama Değerleri. Veriler üzerindeki sayılar istatistiksel olarak anlamlılık ve benzerlikleri ifade eder. (\pm : SEM).

	GRUP			
	SHAM	SEPSİS	15HKC	7,5HKC
BCL2/BAX	5,10 \pm 1,62 ¹	0,73 \pm 0,06 ²	1,89 \pm 0,17 ²	1,19 \pm 0,08 ²

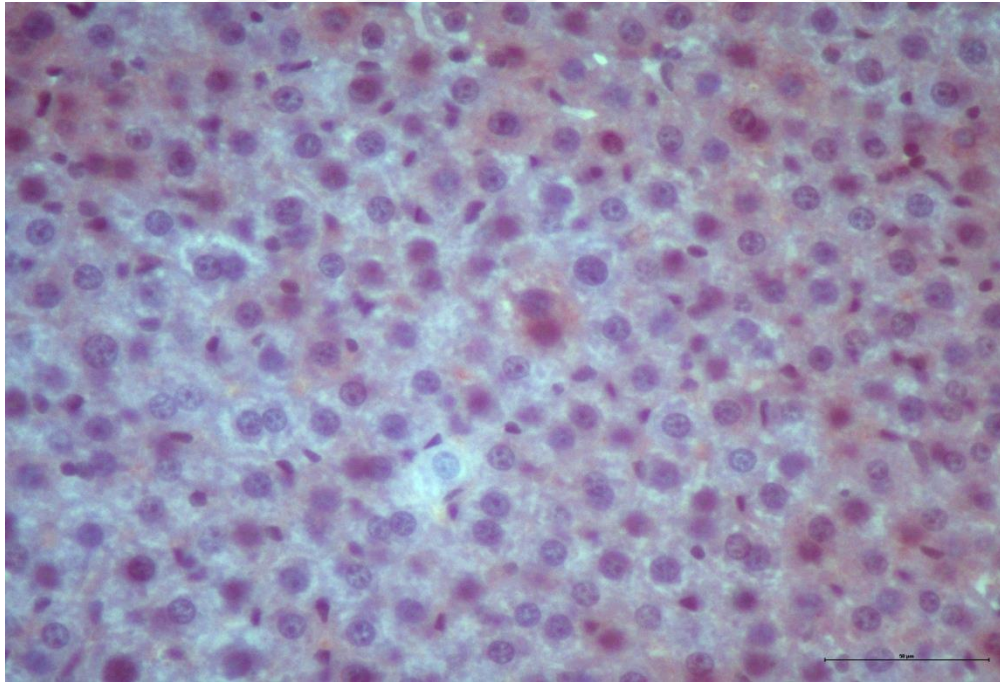
2: P<0.005 shame ile kıyaslandığında



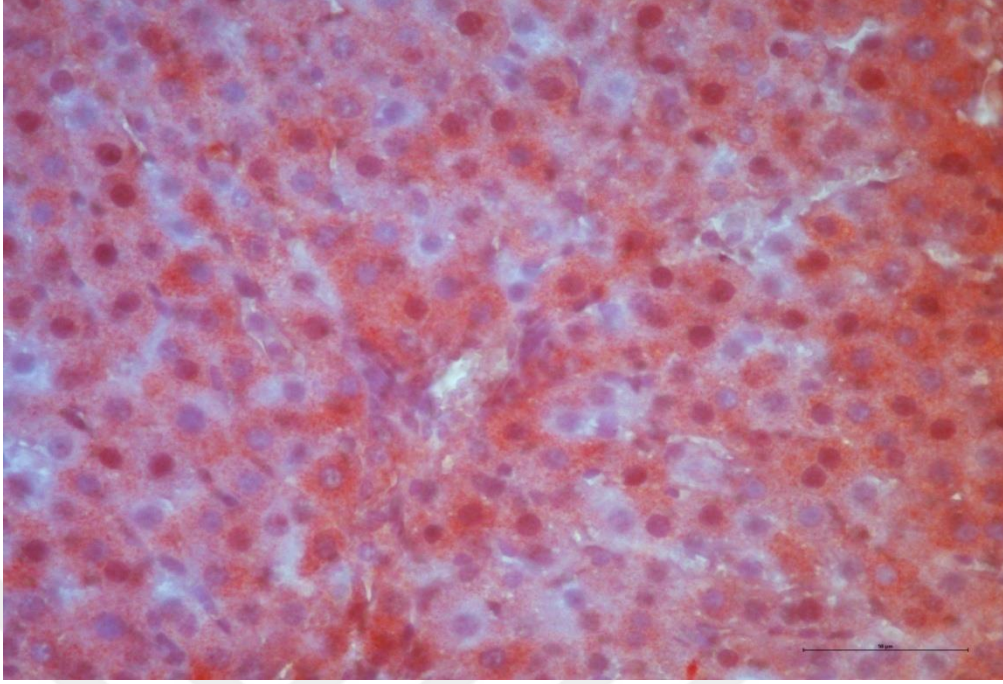
Şekil 4.2.2. Karaciğer Hücrelerinin Ölüm Yaşam Marker Proteinleri İmmünohistokimyasal Boyanma Şiddetleri Skorları Ortalama Değerleri Oranlarının Karşılaştırılmalı Grafikselleştirilmiş Görünümleri. ±: SEM



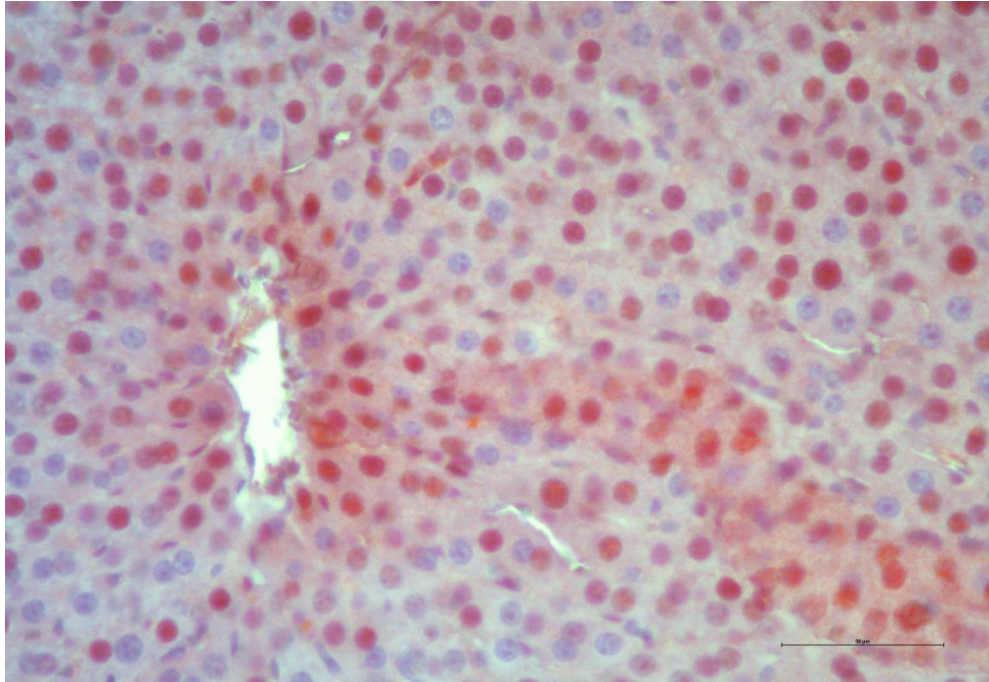
Şekil 4.2.3.Sham grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde **acas-3** proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Zayıf bir immünreaktivite olduğu görünmektedir (bar: 50 μ m)



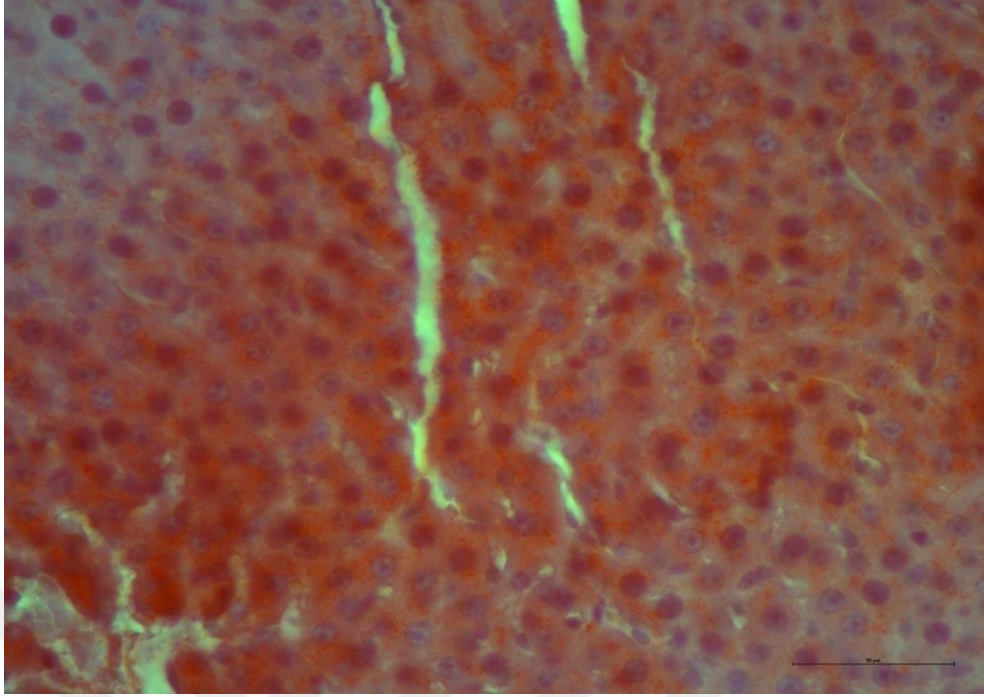
Şekil 4.2.4.Sham grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Zayıf bir immünreaktivite olduğu görünmektedir. (bar: 50 μ m)



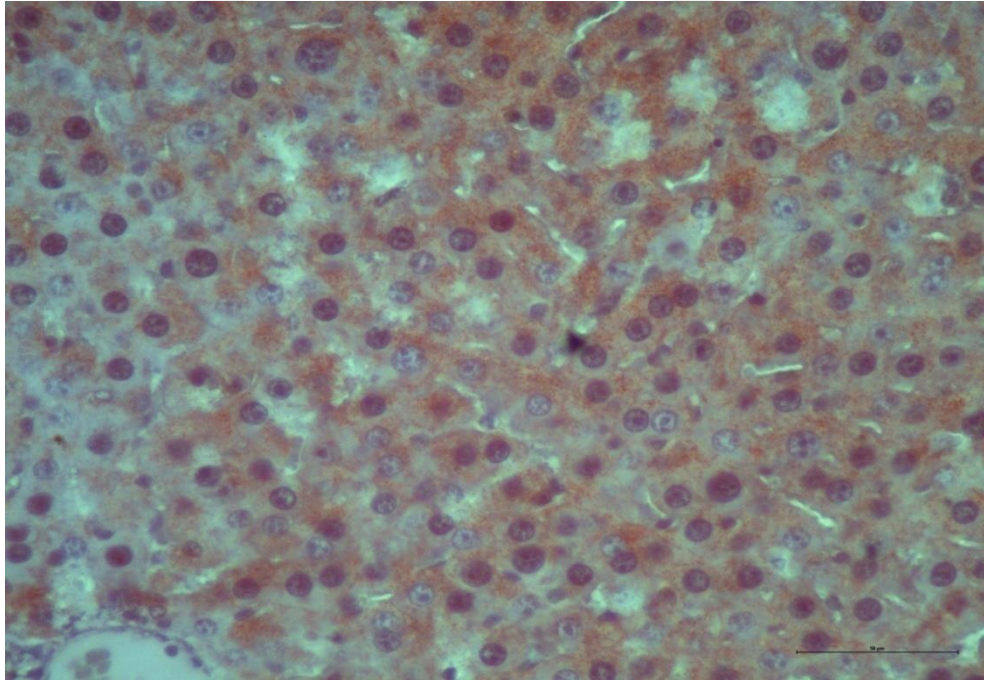
Şekil 4.2.5.Sham grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yoğun bir immünreaktivite olduğu görünmektedir (bar: 50 μ m).



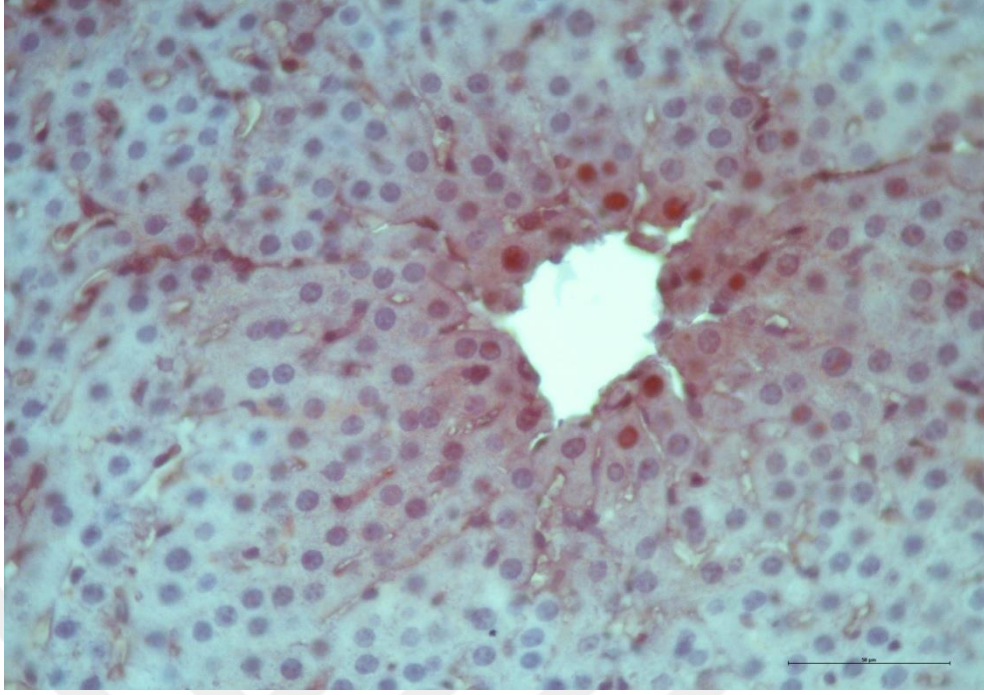
Şekil 4.2.6.Sepsis grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde acas-3 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Zayıf bir immünreaktivite olduğu görünmektedir (bar: 50 μ m)



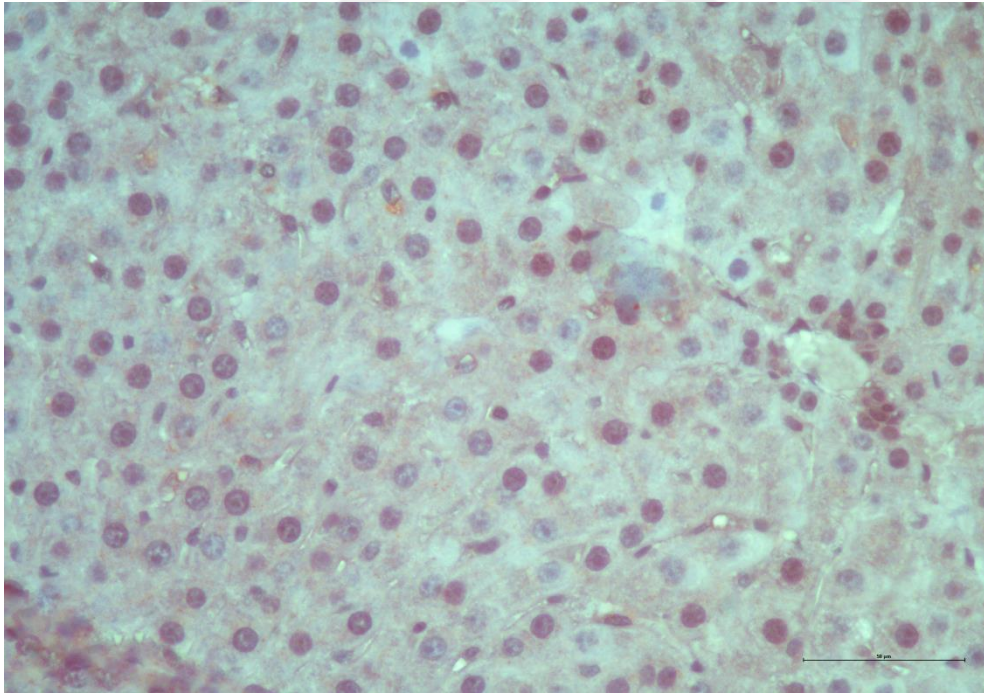
Şekil 4.2.7.Sepsis grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yoğun bir immünreaktivite olduğu görünmektedir (bar: 50 μ m).



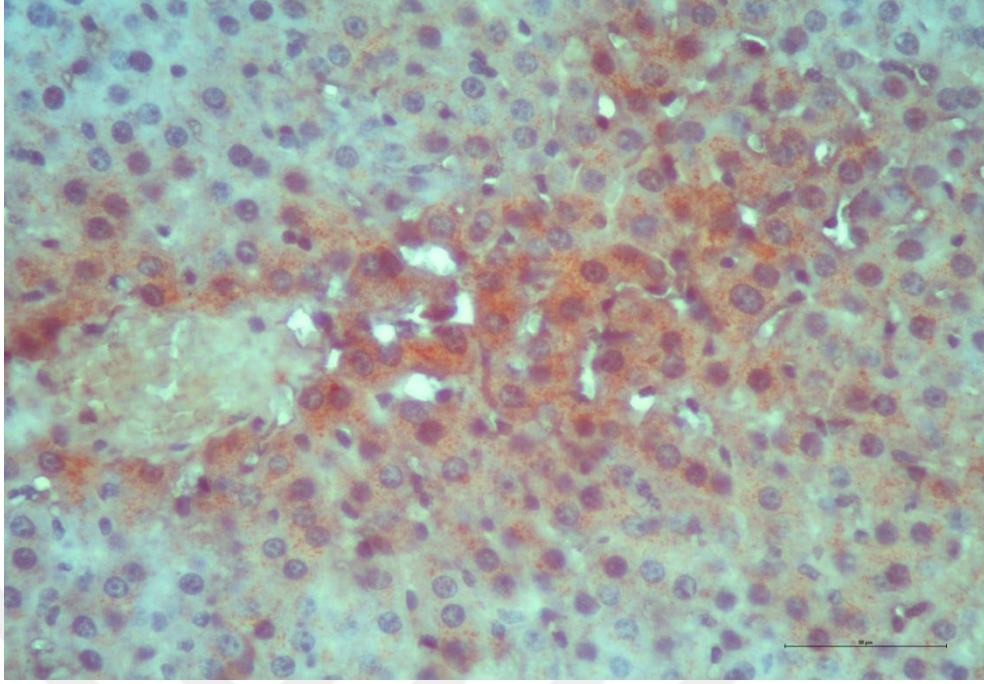
Şekil 4.2.8.Sepsis grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yoğun bir immünreaktivite olduğu görünmektedir (bar: 50 μ m).



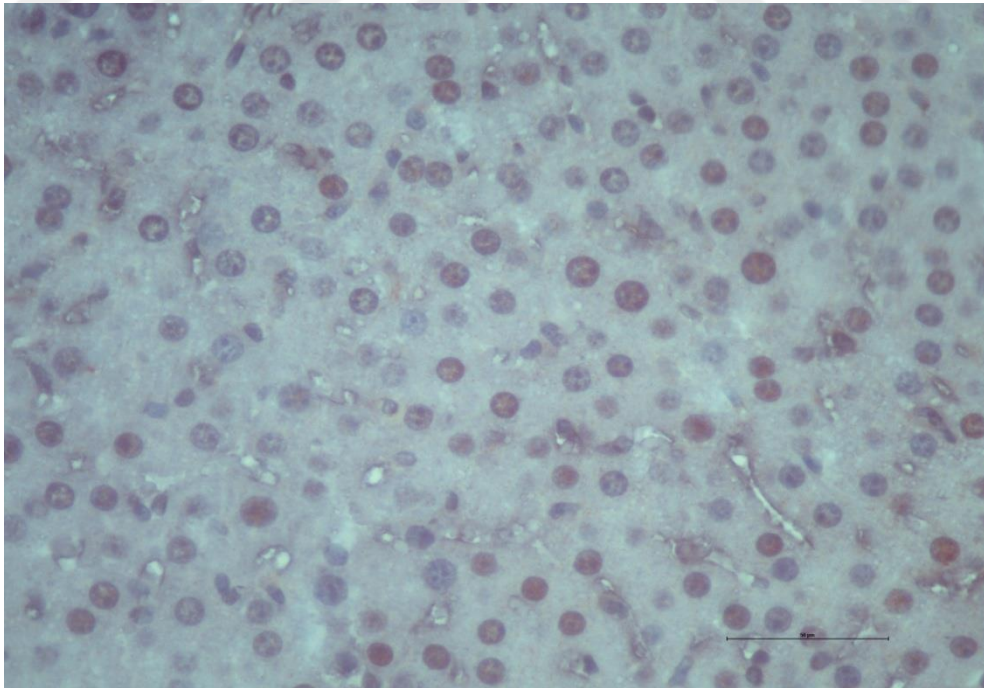
Şekil 4.2.9.7.5 HzPMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde acas-3 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yer yer yoğun bir immünreaktivite olduğu görülmektedir (bar: 50 μ m).



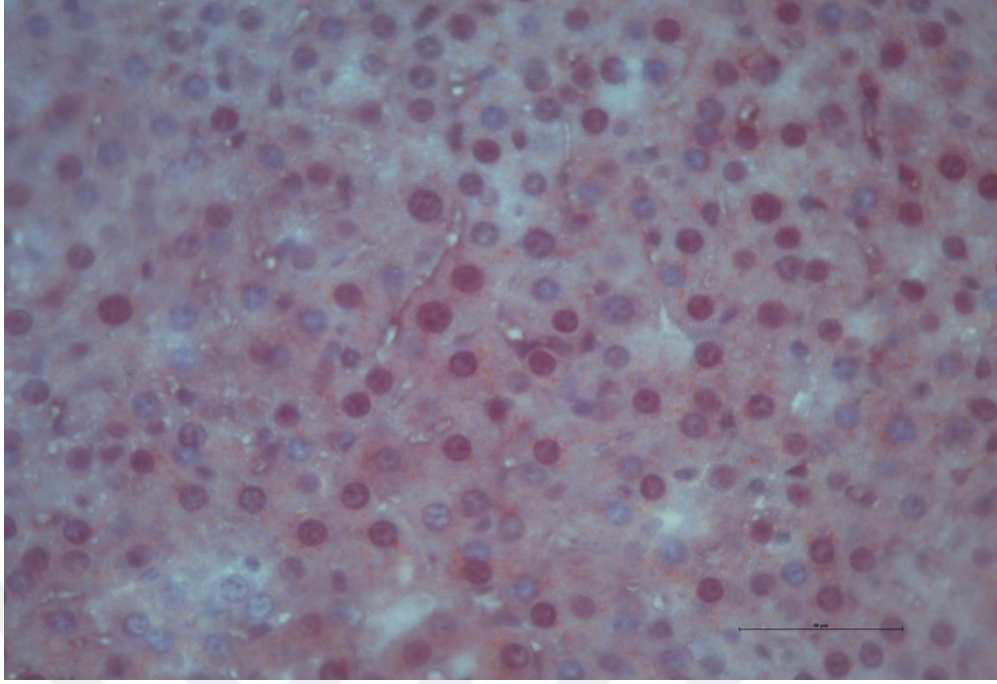
Şekil 4.2.10.7.5 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yer yer yoğun bir immünreaktivite olduğu görülmektedir (bar: 50 μ m).



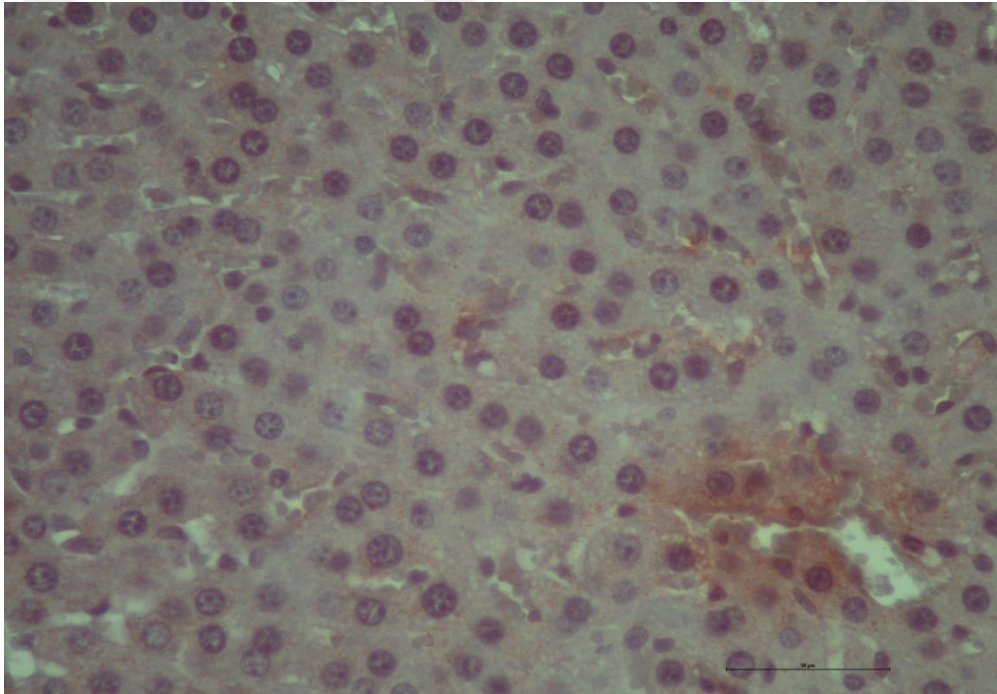
Şekil 4.2.11.7.5Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yoğun bir immünreaktivite olduğu görülmektedir (bar: 50 μ m)



Şekil 4.2.12.15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Zayıf bir immünreaktivite olduğu görülmektedir (bar: 50 μ m)



Şekil 4.2.13.15Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bax proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Yoğun bir immünreaktivite olduğu görünmektedir. (bar: 50 μ m)



Şekil 4.2.14.15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde bcl-2 proteininin immünohistokimyasal ekspresyonu. Zayıf bir immünreaktivite olduğu görünmektedir (bar: 50 μ m).

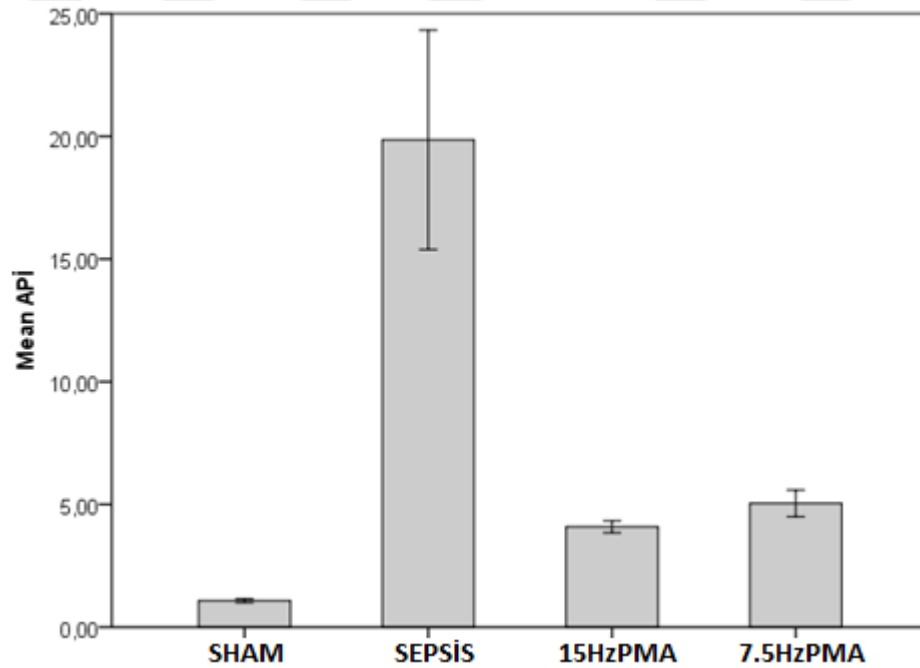
4.3.Tunel Boyaması Bulguları

Materyal metotta anlatılan protekole uygun olarak gerçekleştirilen tunel boyama sonucunda elde edilen veriler aşağıdaki grafik ve tablolarda gösterilmiştir. Gruplardaki apoptotik sayım yapılan alanlardan her gruptan birer örnek çekilerek şekil 4.3.2,3,4,5’de fotoğraf olarak gösterilmiştir.

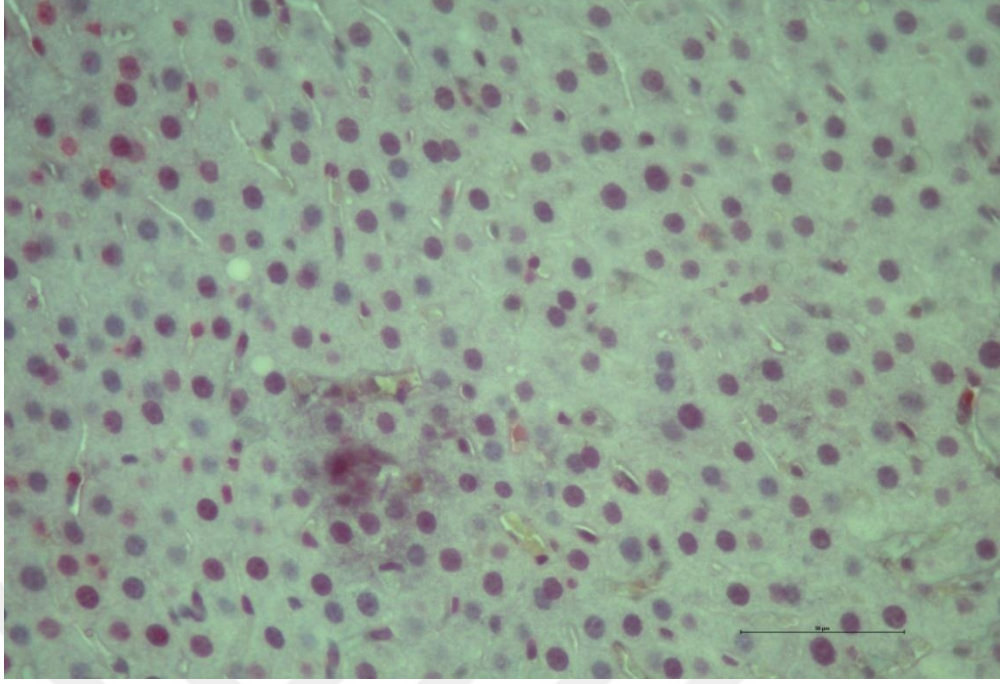
Tablo 4.3.1. Grupların apoptotik indekslerinin ortalama değerleri.Veriler üzerindeki karakterler istatistiksel olarak anlamlılık ve benzerlikleri ifade eder.(APİ: Apoptotik İndeks, ±:SEM).

	GRUPLAR				
	SHAM	SEPSİS	15HzPMA	7,5HzPMA	P (Tukey HSD)
APİ	1,08±0,08 ^s	19,86±4,47 [#]	4,09±0,24 ^s	5,04±0,54 ^s	# <0.001,

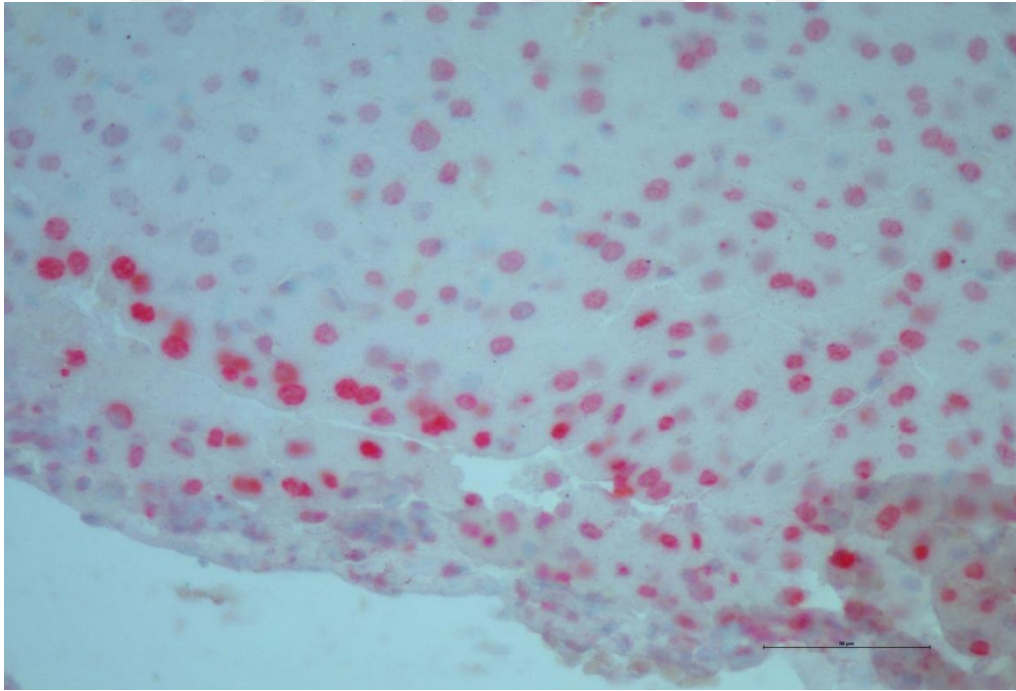
#<0.001 (Diğer gruplarla kıyaslandığında)



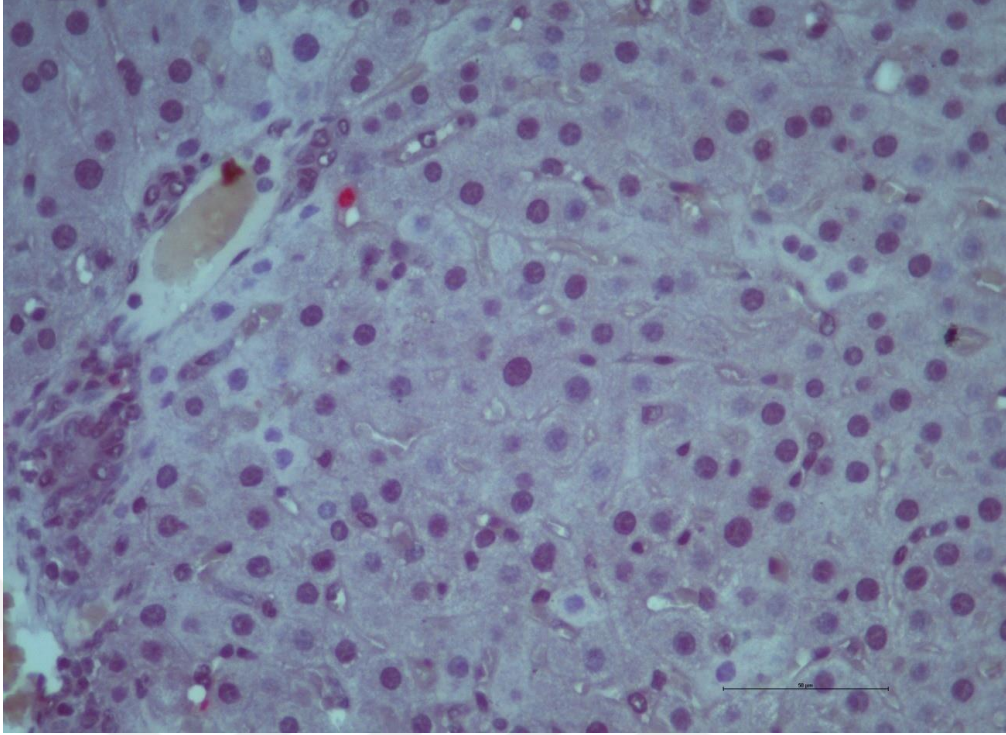
Şekil 4.3.1 Grup apoptotik indekslerin ortalama değerlerinin karşılaştırılmalı olarak gösterilmesi.



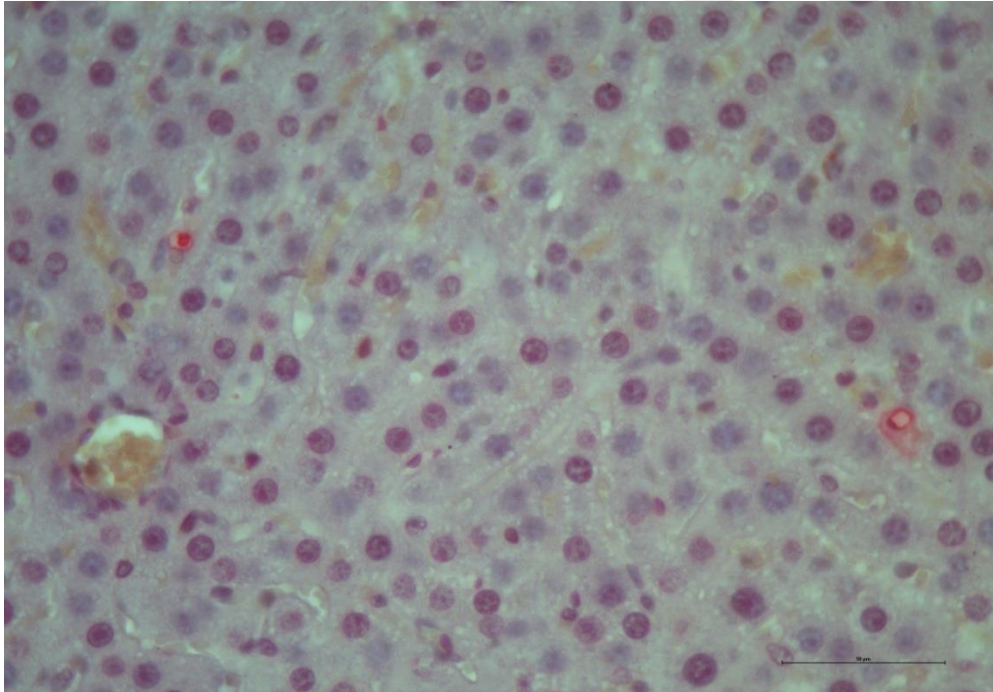
Şekil 4.3.2.Sham grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde apoptotik hücrelerin ekspresyonu.
(bar: 50 µm)



Şekil 4.3.3.Sepsis grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde apoptotik hücrelerin ekspresyonu.
(bar: 50 µm)



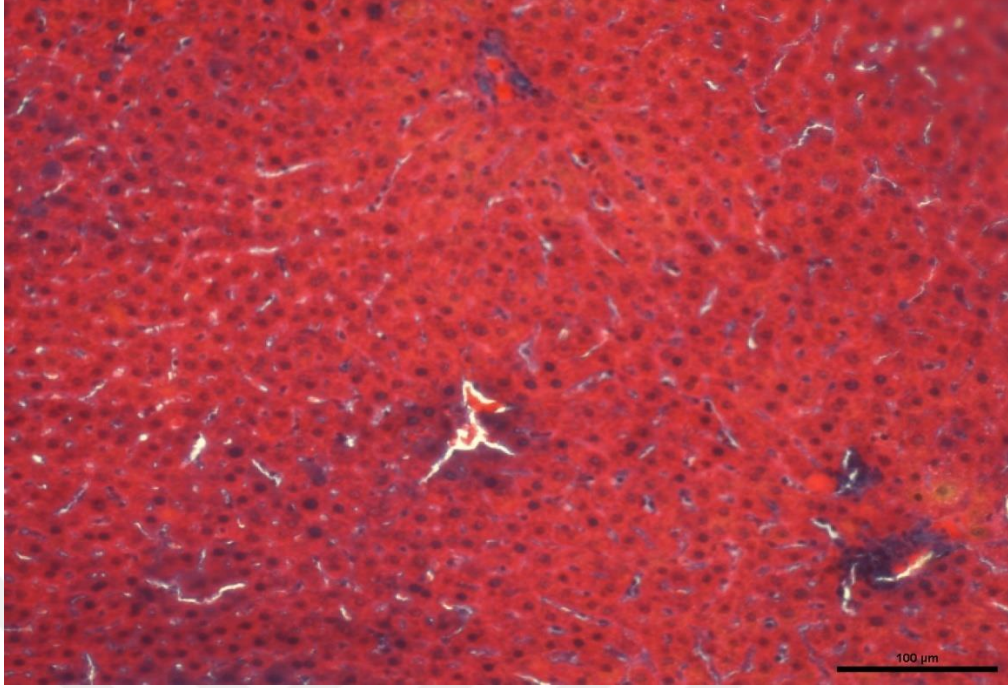
Şekil 4.3.4.7.5 Hz PMA tedavi grubu karaciğer dokusunda apoptotik hücrelerin mikroskopik görüntüsü (tunel boyama, bar: 50 μ m).



Şekil 4.3.5. 15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusu hücrelerinde apoptotik hücrelerin ekspresyonu (bar: 50 μ m).

4.4. Histopatolojik Sonuçlar

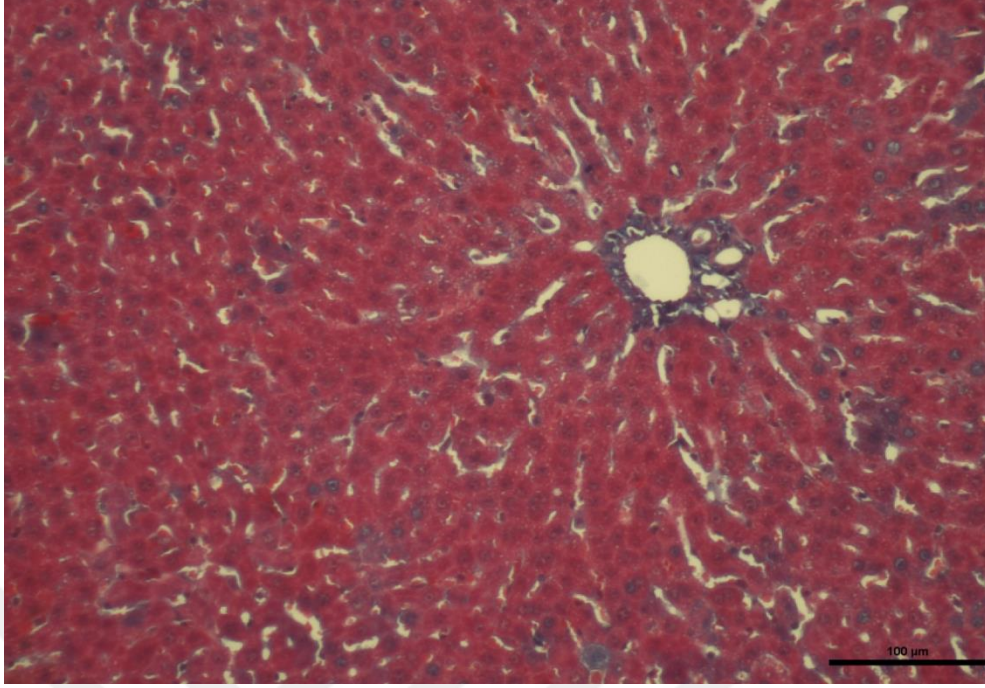
Materyal metotta anlatılan protokole uygun olarak gerçekleştirilen Üçlü boyama ve Hematoksilen Eozin Boyanan karaciğer dokusu peperatların mikroskopik analizlerinde kontrol grubunun preperasyon artefakatlari haricinde normal karaciğer dokusu görüntüsünde oldukları tespit edildi. Sepsis grubunda belirginbir histolojik hasar mevcuttu. Histolojik hasar özellikle sinüzoidal ve vasküler konjesyon ve hemorajik alanlar ile inflamatuvar hücre infiltrasyonları, nekrotik ve piknotik çekirdekle karakterize apoptotik hücrelerin mevcudiyeti şeklinde olup hepatositlerin kordonsu dizilimleri yer yer bozulmuştu. Her iki boyamada da dokunun soluk bir şekilde boyandıkları görüldü. Her iki tedavi grubunda da aralarında belirgin bir fark olamayacak şekilde bu histolojik hasarların bir miktar azalmış oldukları görüldü. Her iki boyanmada da dokunun kontrol grubundaki tonlara yakın şekilde boyandıkları dikkati çekmekteydi (Şekil 4.4.1,2,3,4,5,6,7,8).



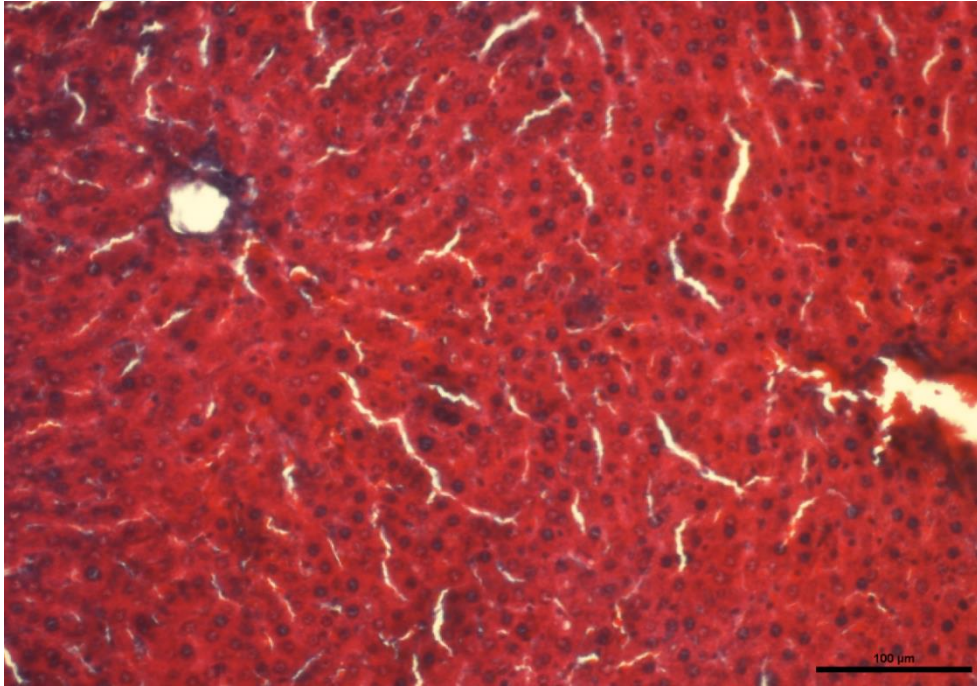
Şekil 4.4.1. Sham grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 μm)



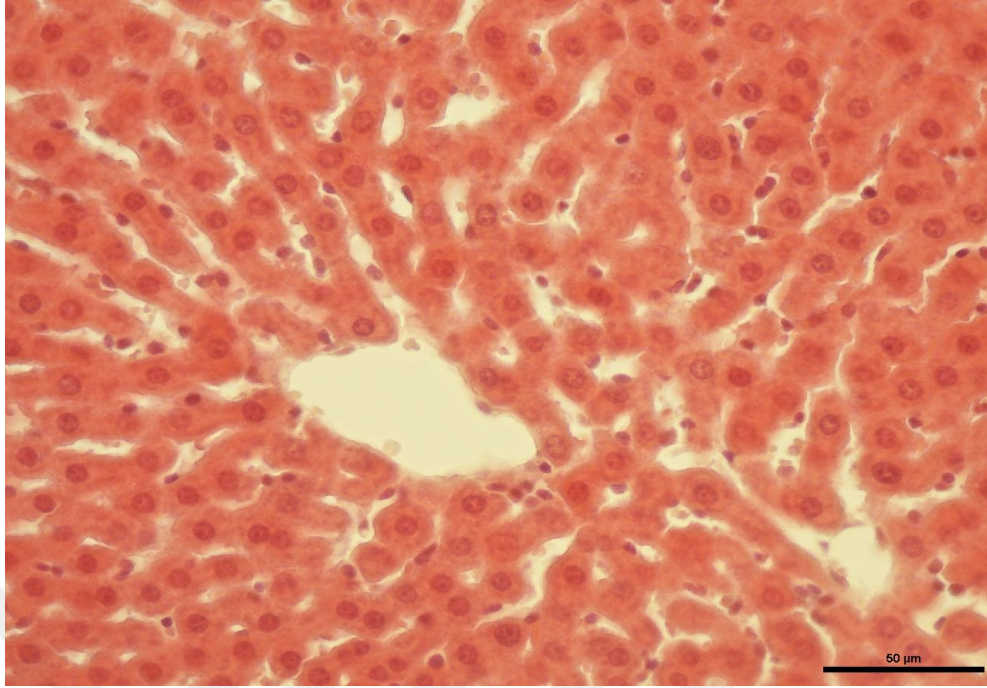
Şekil 4.4.2. Sepsis grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 μm).



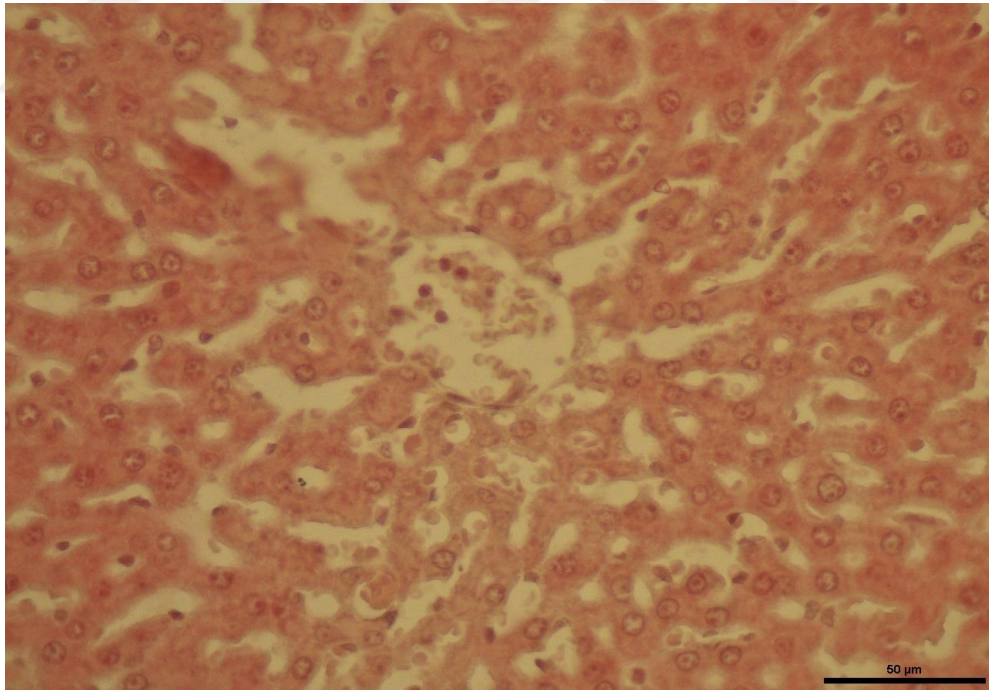
Şekil 4.4.3. .7.5 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü(bar: 100 µm)



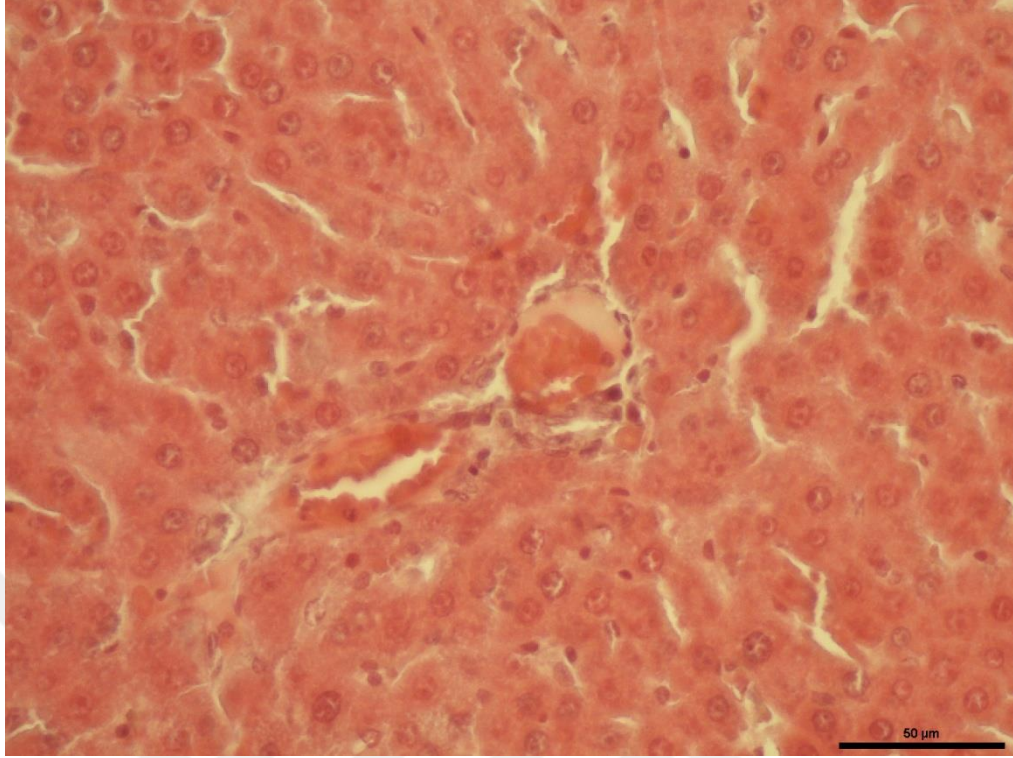
Şekil 4.4.4.15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun üçlü boyaması mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 µm).



Şekil 4.4.5. Sham grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilen-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 μm).



Şekil 4.4.6. Sepsis grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilen-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 μm).



Şekil 4.4.7. 7.5 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilen-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 μm).



Şekil4.4.8. 15 Hz PMA tedavi grubuna ait karaciğer dokusunun hematoksilen-eozin boyamasının mikroskopik görüntüsü (Bar: 100 μm).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Vücutta bir infeksiyon odağına karşı gelişen sistemik inflamatuvar yanıt ile karakterize klinik bir tablo olan sepsiste bakteriyel toksinler ile sitokinler, orantısız bir aktivasyon gösterirler (Bone ve ark., 1992). Bu sitokinler özellikle de tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökinler (IL-1, IL-6, IL-10) ve kompleman sisteminin etkisiyle sistemik inflamasyondan septik şoka kadar varabilen değişik şiddetlerde seyreden hasarlara yol açabilmektedir (Bahar, 2006). Bu süreçte homeostatik dengenin bozulması ile endotel disfonksiyonuna bağlı olarak kardiyovasküler sistem fonksiyonları bozulmaktadır. Hücrenin normal fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalarının bozulmasına bağlı olarak hücre içi dengeler de bozulmaktadır (Bahar, 2006). Deneysel sepsis modellerinde, karaciğer, akciğer, böbrek ve sindirim sistemi organlarının parankimal dokularında serbest radikaller, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin artışına bağlı olarak daha çok mitokondrial yolakla ilişkili apoptotik hücre ölümlerinin artışı bildirilmiştir (Bone ve ark., 1992).

Sepsiste organizmanın ölümüne kadar ciddi sonuçlara yol açabilen ÇOY ise daha çok karaciğer, böbrek ve akciğer gibi primer hayati öneme sahip olan organlarda gerçekleşmektedir (Kurt,2000). Sepsiste organ düzeyinde en önemli rolü karaciğer oynamaktadır. Karaciğer hem sepsise neden olan bakterilerin, endotoksinlerin, sepsis sırasında oluşan vazoaktif maddelerin klirensini, detoksifikasyonunu sağlamakta hemde konak savunmasında yer alan hücrelerin aktivitelerini düzenlemektedir. Karaciğer, hem inflamatuvar mediyatörlerin kaynağı olup, hem de bu mediyatörlerden etkilenen hedef organdır (Mete, 2006). Sepsisli karaciğerde histopatolojik olarak çoğunlukla saptanan bulgular; intrahepatik kolestaz, Kupffer hücre hiperplazisi, portal mononükleer hücre

infiltrasyonları, fokal hepatosit değişiklikleri ve steatozdur (Kurt,2000). Bizim çalışmamızda da yer yer buna benzer bulgular görüldü. Üçlü boyama ve hematoksilen eozin boyanan karaciğer dokusu preperatların mikroskopik analizlerinde kontrol grubunun minimal preperasyon artefakatlari haricinde normal karaciğer dokusu görüntüsünde oldukları tespit edildi. Sepsis grubunda belirgin bir histolojik hasar mevcuttu. Bu histolojik hasar özellikle sinüzoidal ve vasküler konjesyon, hemorajik alanlar ile inflamatuvar hücre infiltrasyonları, nekrotik ve piknotik çekirdekle karakterize apoptotik hücrelerin mevcudiyeti şeklinde olup hepatositlerin kordonsu dizilimleri yer yer bozulmuştu. Her iki boyamada da dokunun soluk bir şekilde boyandıkları dikkat çekmekteydi. Tedavi grupları arasında belirgin bir fark olamayacak şekilde bu histolojik hasarların bir miktar azalmış oldukları görüldü. Her iki boyanmada da dokunun kontrol grubundaki tonlara yakın şekilde boyandıkları görüldü. Ancak bu bulguların gruplar arası karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak bir farklılığın olmadığı tespit edildi. Bunun sebebi sepsis süresinin tipik semptomların oluşması için yeterli olmamasından kaynaklanmış olabilir.

Sepsis yoğun bakım ünitelerinde ölüm sebeplerinin en önemli etkeni olduğu göz önüne alındığında, bu hastalığa karşı etkin tedavi yöntemlerini geliştirmek büyük önem arz etmektedir. Organizmadaki her hücre ve dolayısıyla dokuların içerisinde bulunan iyonlar hücrelerin biyokimyasal faaliyetleri sırasında mikro çevrelerindeki elektromanyetik değişimlerden etkilenmektedirler (Rubik ve ark.,1996). PMA sahip olduğu düşük enerji seviyeleri nedeniyle organizmaya zarar verici yan etkileri olmayan elektromanyetik uyarım olarak bilinmektedir Aynı zamanda dokulardaki iyonik aktiviteler ile kan dolaşımını hızlandırıcı etki yaparak tedaviye yardımcı oldukları kabul edilmektedir (Rubik ve ark., 1996).

Literatürde tedavi maksatlı PMA uygulaması genelde iskelet kas sistem bozukluklarında daha çok kullanıldığı görülmektedir. Bununla birlikte sinir dokunun yenilenmesinde, yaraların iyileşmesinde, diyabet, miyokardiyal ve serebral iskemi gibi rahatsızlıkların düzeltilmesinde ikincil destekleyici tedavi seçeneği olarak kullanılmış olup olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Andrew, 1993).

Sepsis çok ciddi sonuçlara yol açabilen bir durum olması sebebiyle literatürde sepsisin tedavisine yönelik yapılan pek çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar daha çok sepsisin dokularda oluşturduğu hasarların ilaç ve benzeri kimyasal maddeler ve anti oksidan ajanlar ile tedavisine yöneliktir. Mesela bir örnek verecek olursak; çalışmamızda da olduğu gibi ÇLP ile sepsis oluşturulan sıçanlarda antibiyotiklerin karaciğer bakteriyel translokasyonuna engel olup doku hasarını iyileştirdiği tespit edilmiştir (Mert ve ark., 2014).

Araştırmalar incelendiğinde sepsisten en çok etkilenen organlardan biri olan karaciğer ile ilgili çalışmaların yetersiz olduğu hatta PMA'nın sepsis olmuş karaciğerde etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak PMA ile ilgili son yıllarda yapılan bir çok çalışma mevcuttur. Mesela bir çalışmada Wistar cinsi sıçanların arka pençeleri karragenan (CAR) ile indüklenerek ağrı ve infeksiyon oluşturulup tedavi amacı ile PMA uygulandıktan sonra hiperaljezi, allodinili ödem, oksidatif stres ile ilişkili çeşitli biyokimyasal parametreler bakımından inflamasyon ve ağrı indeksleri incelenmiştir. Deney sonucunda gruplardan alınan verilerde, PMA ile tedavi edilen gruplarda ödemin azalarak inflamasyonun iyileştiği, termal hiperaljezi ve oksidatif stresin hafiflediği görülmüştür. Sonuçlar istatistiksel olarakda anlamlı bulunmuş ve PMA uygulamasının inflamasyonu iyileştirdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile

PMA'nın inflamasyonda terapötik bir strateji olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Mert ve ark., 2014).

Yine günümüzde yapılan bir çalışmada Wistar cinsi sıçanlarda diyabet ve diyabet kaynaklı nöropatik ağrıyı tedavi etmek için STZ (Streptozotosin) ile deneysel diyabet oluşturulmuş ve PMA uygulanmıştır. Yapılan bu çalışma ile diyabetik nöropati semptomlarını iyileştirmede PMA'nın etkinliğini saptanmıştır. Çalışma sonunda PMA tedavisinin etkisi; termal gecikmeleri, mekanik eşik, kan glikoz seviyeleri ve vücut ağırlıkları bakımından diyabetik sıçanlar ile karşılaştırılmıştır. STZ uygulanan sıçanların kan şekerleri seviyelerine ilaveten vücut ağırlıklarının da yükseldiği tespit edilmiştir. PMA tedavisinin vücut ağırlıklarını etkilemediği ancak farelerde kan glikoz seviyelerini düşürdüğü saptanmıştır. Ayrıca acı hissinin alındığı mekanik eşik değerleri ve termal gecikmelerin de düştüğü görülmüştür. Alınan bu sonuçlara dayanarak PMA uygulamasının hiperglisemi, hiperaljezi ve ağrıya karşı olumlu sonuçlar verdiği kararına varılmıştır (Mert ve ark., 2010).

PMA ile yapılan başka bir çalışmada da, erkek sıçanlar 6 mT 12 Hz PMA bir saat süre ile maruz bırakılmış sonra birer saat dinlendirilmiştir. Bu şekilde toplam 96 saat uygulanan PMA'dan sonra, sıçanların kolestorel ve trigliserid oranlarının kontrol grubu sıçanlarından düşük olduğunu saptamışlardır (Bellossi ve ark., 1996).

PMA'nın etkilerini böbrek üzerinde göstermek amacı ile yapılan çalışmada 50 Hz 0.80 mT gücünde sinüzoidal manyetik alan uygulanarak in vivo koşullarda sıçan böbrek dokusunda yapabileceği histopatolojik düzeydeki değişiklikleri araştırma amaçlanmış ve kontrol grubu sıçanlarda herhangi bir değişiklik olmazken deney grubu sıçanlarda manyetik alan etkisiyle böbrek proksimal tubul epitel hücresi sitoplazmalarında belirgin vakuolizasyon izlenmiştir (Ketani ve ark., 2000).

PMA'nın kan hücrelerindeki etkilerinin olup olmadığı ile ilgili çalışmada 16 adet sağlıklı 150-200 g ağırlığında erkek Wistar sıçanları rast gele iki gruba ayrılmış 10 gün boyunca bir grubu PMA maruz bırakılmış, kontrol grubunu ise PMA'dan uzak tutulmuştur. Her iki grupta dalökositler, kırmızı kan hücreleri, hemoglobin, hematokrit ve platelet parametreleri ölçmüştür. Çalışma kapsamında hematolojik parametrelerden bazıları her iki grupta da benzer çıkmıştır. Ancak lökosit hücre oranlarında PMA'a maruz kalan sıçanlarda önemli bir artışın olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar PMA'nın hematolojik parametreler üzerinde olumlu etkinliğinin olduğunu ortaya koymuştur (Coşkun ve Çömlekçi,2013).

Xie ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 24 adet Yeni Zellanda tavşanlarını rast gele gruplandırmış ve birinci grup kontrol grubu, ikinci grup tedavi grubu, üçüncü grup sham grubu olmak üzere üç gruba ayırmışlardır. Tedavi grubu tavşanların ön diz çapraz bağlarını enine keserek zarar vermişlerdir. Kontrol grubun tavşanları sağlıklı tavşanlar olup hiçbir işleme tabi tutulmamıştır. Sham grubu tavşanlarının da ön çapraz bağlarına zarar vermişler. Gruplardan sadece tedavi grubuna iki hafta boyunca pulslu elektromanyetik alan tedavisi uygulamışlar. Çalışma sonunda PMA alan tavşanların apoptotik indekslerin ve acas-3 seviyelerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. PMA'ın kondrosit apoptozunun inhibisyonu ile tedavi edici etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlarla bağlantılı olarak PMA alan tavşanların iyileşme oranlarından yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Xie ve ark., 2014).

Greenoug yaptığı bir çalışmada PMA'ların kulak kepçesi kan damarlarının gelişmesinde etkisinin olup olmadığını araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda, PMA'nın doku iyileşmesinde gözlenen etkilerini vasküler büyümeyi etkilenmesi aracılığı ile de olabileceği sonucuna varmıştır (Greenoug, 1992). PMA'nın etkilerine yönelik yapılan

diğer bir çalışmada sıçan omuz manşet kaslarının iltihabı tedavisinde PMA kullanılmış ve 29 vakanın 19'unda belirgin bir iyileşme görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre PMA'nın infeksiyon tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Binder ve ark.,1984).

PMA'nın periferik sinir sistemi üzerindeki etkilerinin araştırılması amacı ile yapılan bir çalışmada Wistar türü sıçanların sağ siyatik sinirleri ezilerek travmatik mononöropati modeli oluşturmuş ve PMA'nın sinir iyileşmesine etkileri incelemiştir. Ayrıca, bu çalışmada PMA uygulamasının makrofaj aracılı etkileri de belirlenmiş ve diğer gruplarla karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda PMA'nın periferik sinir hasarı sonrası yeniden miyelin oluşması sürecinde fonksiyonel iyileştirici etkisi olabileceği gösterilmiştir. Makrofajlar dejenerasyon sürecinin en önemli elemanlarından biridir. Makrofajların önemli iki temel fonksiyonu vardır; birincisi dejenerasyona uğramış miyelin yapıyı fagosite etmek, diğeri ise nörotropik faktörleri ve sitokinleri üretmektir. PMA makrofajları stimüle ederek miyelin yapımını ve aksonal büyümeyi destekleyen bir faktör salgılanmasını sağlayarak, sinir iyileşmesi ve rejenerasyon sürecini hızlandırabileceği sonucuna varılmış, PMA'nın periferik sinir hasarı sonrası fonksiyonel iyileşme için potansiyel tedavi edici etkisinin olabileceği saptanmıştır (Kahraman, 2010).

Apoptotik hücre ölümlerinin sepsiste karakteristik bir olgu olduğunu ve mediyatörler ve proteinler ile ilişkilerini saptamak için yapılan çalışmada, domuz endotel hücre kültüründe endotoksin ile oluşturulan sepsiste, apoptozisin karakteristik özelliği olan DNA parçalanması ile hücre ölümü tanımlanmıştır. Lipopolisakkarid ile indüklenen sepsiste ısı şok yanıtının Bcl-2 gibi apoptozu inhibe eden genlerin ekspresyonunu önleyerek endotel hücrelerinde apoptoza yol açabileceği ileri sürülmüştür

(Buchman ve ark., 1993). Sepsis ile yapılan başka çalışmada ise, sepsisten ölen yoğun bakım hastalarında karaciğerde gelişen histopatolojik değişiklikler incelemiş ve çalışmaya dahil 15 hastadan 10'unda hepatosellüler apoptozis olduğu saptanmıştır (Koskinas ve ark.,2008).

ÇOY tanısı alan 20 hasta üzerinde yapılan postmortem çalışmada, lenfosit ve gastrointestinal epitel hücresinde apoptozisin arttığı; ayrıca bu dokularda Bcl-2 ekspresyonunun azaldığı ve aktive kaspaz-3'ün arttığı gösterilmiştir. Buna karşın septik olmayan nedenlerden ölen hastalarda hem apoptozis, hemde kaspaz-3 aktivitesinde artış gösterilememiştir (Hotchkiss ve ark.,1999).

Kobayashi ve arkadaşları sıçanlarda endotoksin ile oluşturdukları sepsiste hepatosellüler apoptozisde Bcl-2 ve Bax dağılımını incelemişler. Septik sıçanlarda hepatik parankimal hücrelerde apoptozisin arttığını, Bcl- 2'nin azaldığını ve Bax'ın da göreceli olarak arttığını ortaya koymuşlardır (Kobayashi ve ark.,2002)

Yapılan bir diğer çalışmada ÇLP ile oluşturdukları polimikrobiyal sepsiste, karaciğerde geç sepsis döneminde Bcl-2 ve Bcl-xL ekspresyonunun azaldığını, Bax ekspresyonunun arttığını, ağır DNA fragmantasyonunun olduğunu ve erken ve geç sepsis de hepatik apoptotik hücre sayısının arttığını, erken ve geç sepsiste PKC alfa (Protein Kinaz C alfa) ekspresyonunun azaldığını tespit etmişler. Sonuçta sepsis sırasında hepatik apoptozisin düzenlenmesinde PKC alfanın önemli rolü olduğu ve Bcl-2 protein ailesindeki değişikliklerin apoptozis ile yakından ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (Jao ve ark.,2001)

Septik sıçanlarda karaciğerde ÇLP'den sonra kaspaz 3 aktivitesinin arttığını araştırmacılar yapılan çalışma ile göstermişlerdir (Maitra ve ark.,2005). Bir başka çalışmada da sıçanlarda LPS enjeksiyonundan sonra karaciğer dokusunda apoptotik

hücre sayısı ve kaspaz 3 aktivitesi incelenmiş, sonuçta kaspaz 3 aktivitesinin ve apoptotik hücre sayısının arttığı gösterilmiştir (Hamada ve ark.,1999)

Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmanın sonuçları da literatür sonuçları ile genel olarak uyumlu bulunmuştur. Çalışmamızda apoptotik hücre indekslerinin ve apoptotik hücre proteinleri ekspresyonlarının kontrol grubu sıçanların ortalamalarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösterdiği, ayrıca antiapoptotik hücre proteinleri ekspresyonlarının ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar sıçanların ÇLP ile deneysel olarak sepsis hale gelmiş olduklarını ortaya koymaktadır. Sıçanlar sepsis hale geldikten sonra 24 saat süre ile tedavi maksatlı 7.5 Hz ve 15 Hz mT şiddetinde iki ayrı PMA uygulaması yapıldı. Bu gruplarda yapılan analizlerde hepatosit apoptotik indeksler ile Bax, Acas-3 proteinlerinin immünohistokimyasal ekspresyonlarının kontrol lehinde azaldığı, Bcl-2 immünohistokimyasal ekspresyonunun ise kontrol lehinde arttığı tespit edilmiş olması PMA'nın sepsisin karaciğer dokularındaki hücre hasarlarına karşı iyileştirici etki yapabileceğinin bir göstergesi olabilir.

Literatür çalışmaları ve çalışmamız sonuçlarına dayanarak uygulanan PMA bu iyileştirici etkilerini; kan dolaşımını indükleyerek lölositleri ve/veya makrofajların uyarılmasını etkileyerek (Coşkun ve Çömlekçi,2013) makrofaj aracılı hücre içi sinyalleri yavaşlattığı ve Bax ekspresyonunu azaltıp Bax/Bcl-2 oranını değiştirmiş (Chao,1998) olabileceği ve dolayısıyla sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazma dışına çıkmasını engelleyip, apoptosom oluşumu engellenip kaspazların aktivasyonu inhibe edilerek (Renehan ve ark.,2001) mitokondriyal yolak üzerinde etkili olarak apoptozisi engellemiş olabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak literatür taramasında örnekleri verilen çalışma sonuçları ile bizim yaptığımız bu çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinden PMA uygulamalarının sepsin neden olduğu karaciğer doku hasarlarına karşı tedavi edici etki gösterebileceğini söyleyebiliriz. Çalışmamız her ne kadar deneysel hayvan çalışması olsa da ileri üst düzey tekrarlı çalışmalar ile desteklendikten sonra kesin kararlar verilmeli ve klinik kullanımda kullanılabilirliği değerlendirilmelidir.



6-KAYNAKLAR

Abraham L, Kierszenbaum MD. Histology and Cell Biology Tercüme: Demir R, Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006: 460-5.

Aksoy F., 'Karaciğer Histolojisi', 1977, Cilt 4, Sayı 3, Sayfa 153-155

Akşit H, Bildik A. Apoptozis. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2008; 19: 55-63

Angus D, Burgner D, Wunderink R, Mira J, Gerlach H, Wiedermann J. The PIRO concept: P is for predisposition. Critical Care 2003, 7: 248-251.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med 2001;29:1303-10.

Angus DC, Wax RS. Epidemiology of sepsis: an update. Crit Care Med 2001;29:109-16.

Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. Baskı (2. Cilt), Ankara: Güneş Kitabevi, 1997: 265-72.

Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi, 2001: 223-82.

Bahar M. Sepsis Patofizyolojisi. Dikmen Y, Demirkıran O (Editörler).Güncel bilgileriışığında sepsis 2006;51:11-5.

Balcavage WX, Alvager T, Swez J, Goff CW, Fox MT, Abdulyava S and King. A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological systems. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1996; 222,374-378.

Basile M, Romeo C, Gitto E, Spitz L, Pierro A, Eaton S. Melatonin protects from, butdoes not reverse, the effects of mediators of sepsis on liver bioenergetics. Pediatr Surg Int. 2004;20:263-6.

Bassett C et al. Treatment of therapeutically resistant non-unions with bone grafts and pulsing electromagnetic fields. J Bone Joint Crawford AH 1986 Neurofibromatosis in children. Acta Orthop Scand Suppl 218:1-60.

Bassett C. Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields (PEMFs). Biomed Eng 1989;17(5):451-529.

Başak M, Coşansel S, Çankır Z, Keskin O, Yazgan Y, Koçak N. Sepsis, septik şok vetedavide son yaklaşımlar. Sendrom 1998;10:54-61

Baue AE. History of MOF and definitions of organ failure. In: Baue AE, Faist E, Fry DE(Eds.). Multiple Organ Failure: pathophysiology, Prevention, and Therapy. 1st ed. New York: Springer-Verlag; 2000:3-12.

Baue AE. MOF, MODS, and SIRS: What is in a name or an acronym? Shock 2006; 26: 438-449.

Baysal U, Temel.ÖAtımlı (Darbeli) Elektromanyetik Alanla Tedaviye Yardımcı Biyomedikal Cihaz Geliştirilmesi, Mühendis ve Makina 2009;Cilt 51 Sayı 600

Bederman IR, Kasumov T, Reszko AE, David F, Brunengraber H, Kelleher JK. In vitro modeling of fatty acid synthesis under conditions simulating the zonation of lipogenic [13C]acetyl-CoA enrichment in the liver. J Biol Chem 2004; 279: 43217-26.

Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. Chest 2000; 117: 1771-77.

Bellossi A, Pouvreau-Quillien V, Rocher C, Ruelloux M. Effect of pulsed magnetic fields on cholesterol and tryglyceride levels in rats study of field intensity and length of exposure. Z. Naturforsch, 1996; 51 c:603-606.

Bellossi A, Pouvreau-Quillien V, Rocher C, Ruelloux M. Effect of pulsed magnetic fields on triglyceride and cholesterol levels in plasma of rats. Panminerva Med, 1998; 40:276-279.

Bellossi A1, Pouvreau-Quillien V, Rocher C, Ruelloux M. Effect of pulsed magnetic fields on cholesterol and tryglyceride levels in rats study of field intensity and length of exposure. Z Naturforsch C. 1996 Jul-Aug;51(7-8):603-6

Binder A,Parr G,Hazleman B,Fitton-Jackson S.Pulsed electromagnetic feild therapy of persistent rotator cuff tendinitis. A double-blind controlled assessment. lancet,1984;31;1(8379):695-698.

Blank M, Goodman R. Initial Interaction in Electromagnetic Field-Induced Biosynthesis. Journal of Cellular Physiology, 2004; 199:359-363.

Bollen M, Keppens S, Stalmans W. Specific features of glycogen metabolism in the liver. Biochem J 1998; 336: 19-31.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Delinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions forsepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Chest1992;101:1644-55.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. American College of Critical Care Medicine Consensus Conference: definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992; 20: 864-874.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American Collage of Chest Physicans. Society of Critical Care Medicine. Chest 1992;101:1644-55.

Braun,K.A.,Lemons,J.E.1987.Effects of Electromagnetic Fields On The Recovery Of Circulation In Mature Rabbit Femoral Heads[abstract]Trans Orthop res Soc7:313.

Buchman TG, Abello PA, Smith EH, et al. Induction of heat shock response leads to apoptosis in endothelial cells previously exposed to endotoxin. Am J Physiol 1993;265 (1 Pt 2):165-70.

Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. Annu Rev Cell Dev Biol 1999; 15: 269-290.

Büyükgebiz O, Caferler JS. Apoptoz. Sendrom 2001; 13: 102-7.

C. Andrew L. Bassett Beneficial Effects of Electromagnetic Fields Bioelectric Research Center, Columbia University, Riverdale, New York 10463

Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. Annu Rev Immunol 1998; 16: 395-419.

Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. Annu Rev Immunol 1998; 16: 395-419.

Coskun O, Comlekci S. The influence of pulsed electric field on hematological parameters in rat.Toxicol Ind Sağlığı. 2013 Oct; 29 (9): 862-6.

Daşdağ S, Balcı K, Çelik MS, Batun S, Kaplan A, Bolaman Z, Tekeş S. Rf ve mikrodalgalara mesleki olarak maruz kalanlardaki nörolojik-biyokimyasal bulgular ve CD4/CD8 oranı. V. Ulusal Biyofizik Kongresi, 1993; İzmir.

Dere F. Anatomi. 3. Baskı, Adana: Okullar Pazarı Kırtasiye, 1994: 633-640.

Doğanay M, Topcu, A., Soyletir, G., Doğanay, M. İnfeksiyon Hastalıkları İstanbul: Nobel Kitabevi; 1996.

Eichhorst ST, Krammer PH. Derangement of apoptosis in cancer. The Lancet 2001; 358: 345-346.

Electromagnetic Fields, (300Hz-300GHz) WHO 1993; Cenova.

Elmas O. 50 Hz Elektromanyetik alan maruziyetinin kalp üzerine anlık etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Isparta, 2007

Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495–516.

Engström S. What is the time scale of magnetic field interaction in biological systems? *Bioelectromagnetics*, 1997; 8:244-249.

Estaquier J, Idziorek T, de Bels F, Barre-Sinoussi F, Hurtrel B, Aubertin AM, et al. Programmed cell death and AIDS: significance of T-cell apoptosis in pathogenic and nonpathogenic primate lentiviral infections. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9431-9435.

Forsen UM, Ahlbom A and Feychting M. Relative contribution of Residential and Occupational Magnetic Field Exposure Over Twenty- Four Hours Among People Living Close to and Far From a Power Line. *Bioelectromagnetics*, 2002; 23:239-244.

Frank C, Schachar N, Dittrich D, Shrive N, Phil D, Dehaas W, Edwards G. Electromagnetic stimulation of ligament healing in rabbits. *Clinical Orthopedics and Related Research*, 1983; 175: 263-272

Furse, D.A. Christensen ve C.H. Durney 2009, 'Basic Introduction to Bioelectromagnetics' CRC Press, Taylor and Francis

Greenough CG. The effects of pulsed electromagnetic field on blood vessel growth in the rabbit ear chamber. *J. Orthop Res* 1992; 10(2): 256-262

Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology* Tercüme: Çağlayan H, Çavuşoğlu B, Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Kitap Evi, 2007: 859-62.

Hamada E, Nishida T, Uchiyama Y, et al. Activation of Kupffer cells and caspase-3 involved in rat hepatocyte apoptosis induced by endotoxin. *J Hepatol* 1999; 30: 807-18

Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death. *Biofactors* 1998; 8: 1-5.

Harrison SA, Diehl AM. Fat and the liver-a molecular overview. *Gastrointest Dis* 2000; 13: 3-16.

Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 2000; 407.

Hetts SW. To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA* 1998; 279: 300-307.

Hızel N. Apoptoz (Programlanmış Hücre Ölümü). *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi* 1997; 6: 196-197.

Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999; 27(7): 1230-51.

İskit A. İnfeksiyon, inflamasyon ve çoklu organ hasarı. The ICU Book Türkçe, 3. baskı. Yorgancı K, (çeviri editörü), Ankara: Palme Yayıncılık, 2009: 737-745.

Jao HC, Yang RC, Hsu HK, et al. The decrease of PKC α is associated with hepatic apoptosis at early and late phases of polymicrobial sepsis. Shock 2001;15(2):130-4.

Kahraman I Sıçan Siyatik Sinir Rejenerasyonu Puslu Manyetik Alanın Makrofaj Aracılı Etkisinin Lokal Clodranete Uygulaması Araştırılması Doktora Tezi ADANA. 2010

Karaöz E. Sindirim Sistemi Histolojisi, In: Karaöz E. (ed) Özel Histoloji, SDÜ Basımevi, Isparta, 2002

Ketani M, Gök F, Balcı K, Uzunlar K, Sinuzoidal manyetik alanın sıçan böbrek dokusu üzerine etkileri, Türkiye Ekopatoloji Dergisi 2000;6(3-4) 113-117

Kobayashi M, Tsujitani S, Kurisu Y, et al. Bcl-2 and Bax expression for hepatocellular apoptosis in a murine endotoxin shock model. Hepatogastroenterology 2002; 49(48):1602-6.

Koch CLMB, Sommarin M, Persson BRR, Salford LG and Eberhardt JL. Interaction between weak low frequency magnetic fields and cell membranes. Bioelectromagnetics, 2003; 24: 395-402.

Koskinas J, Gomatos IP, Tiniakos DG, et al. Liver histology in ICU patients dying from sepsis: a clinico-pathological study. World J Gastroenterol 2008; 14(9):1389-93.

Kurt C. Evrelerine göre sepsiste karaciğer fonksiyon bozukluğunun değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2000

Kurt C. Evrelerine göre sepsiste karaciğer fonksiyon bozukluğunun değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2004.

Kurt C. Sepsisle ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik. In: Dikmen Y, Demirkıran O. , editor. Guncel bilgiler ışığında sepsis2006. p. 17-26.

Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, Link S, Hahn A, Glauser MP, et al. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram-negative septic shock. The Journal of infectious diseases. 1995;171:639-44.

Levi M, Cate TH. Disseminated intravascular coagulation. N Engl J Med 1999;341:586-92.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D. 2001 SCCM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. Crit Care Med 2003; 31: 1250-1256.

Madronero A. Influence of magnetic fields on calcium salts crystal formation: an explanation of the 'pulsed electromagnetic field' technique for bone healing. *A J Biomed Eng*,1990; 12(5): 410-4.

Maitra SR, Shapiro MJ, Bhaduri S, et al. Effect of chemically modified tetracycline on transforming growth factor-beta1 and caspase-3 activation in liver of septic rats. *Crit Care Med* 2005; 33 (7):1577-81.

Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27: 3-9.

Mert T , Gunay I, Ocal I . 2010. Neurobiological effects of pulsed magnetic field on diabetes-induced neuropathy . *Bioelectromagnetics* 31 : 39 – 47

Mert T , Ocal I, Cinar E , Yalcin S & GunayI Pain-relieving effects of pulsed magnetic fields in a rat model of carrageenan-induced hindpaw inflammation *International Journal of Radiation Biology*, January 2014; 90(1): 95–103

Mete B. Sepsiste böbrek ve karaciğer. Dikmen Y, Demirkıran O (Editörler). *Güncelbilgiler ışığında sepsis* 2006;51:35-43.

Mizuta M, Linkin D, Nachamkin I, Fishman N, Mark G. Identification of optimal combinations for empirical dual antimicrobial therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infection: Potential role of a combination antibiogram. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 413-415

Mooney V. A randomized double-blind prospective study of the efficacy of pulsed electromagnetic fields for interbody lumbar fusions. *Spine*, 1990; 15 (7): 708-712.

Moore KL, Dalley AF. *Clinically Oriented Anatomy*. Maryland: Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 263-72.

Navratil L, Hlavaty V, Landsingerova E. Possible therapeutic applications of pulsed magnetic fields. *Cas Lek Cesk*, 1993; 132(19): 590-4.

Niederman MS, Fein AM. Sepsis syndrome, the adult respiratory distress syndrome and nasocomical pneumonia: a common clinical sequence. *Clin Chest Med* 1990;11: 633-56.

Noyan, A., “Fizyoloji Ders Kitabı” ISBN: 975-7746-10-X, Meteksan Anonim Şirketi, Ankara, s882-s883, 1996.

Ozan H. *Ozan Anatomi*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 287-90.

Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2001; 2: 91-95.

Öz H. Sepsis ve Organ Yetersizlikleri: Koagülasyon. Dikmen Y, Demirkıran O *Güncel bilgiler ışığında sepsis* 2006;51:27-9.

- Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi* 2004; 5: 110-115.
- Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi* 2004; 5: 110-115.
- Paul,F.,Roath,S.,melville,D.1978.Differential Blood Cell Separation using a High gradient Magnetic Field,*Br J haematol* 38:273-280
- Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ* 2001; 322: 1536-1538.
- Rubik.B.Becker R.O.,Flower.R.G.,Hazlewood.CF Liboff,AR.,Walleczek,J 1996 Bioelectromagnetics.Applications in Medicine-Alternative Medicine Expanding Medical horizons.Washington DC: US Government Printing Office,pp 45-65
- Ross,M.H.,Pawlina.W..Histology a Textand Atlas. Lippincott Williams & Wikins-Baltimore2006
- Scherlock S, Dooley S. Anatomy and function. In: Scherlock S, Dooley S (eds).*Diseases of the liver and biliary system*. 11th edition, Blackwell Publishing,Milan, İtalya 2002; p.1-17.
- Sielaff TD, Curley SA. Liver. In: Bruchinardi FC, Anderson DK, Billiar TR (eds),*Schwartz's principles of surgery*. 8th ed. Mc Graw Hill; Philadelphia 2004; p.1139-1186.
- Snell RS. Tıp Fakültesi Öğrencileri için Klinik Anatomi, (çeviri editörü: Yıldırım M) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1995: 183-274.
- Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does Nacetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest*. 1998;113:1616-24.
- Sungur M. Sepsiste Organ Destek Tedavileri. *Yoğun Bakım Dergisi*. 2005;5:112-21.
- Ulukaya E. Apoptozis ders notları. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı 2003; 15-26.
- Uzun O, Akalın HE, Hayran M, Unal S. Faktors influencing prognozsis in bacteremia due to gram -negative organisms: evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital.*Clin Infect Dis* 1992;15:886-73.
- Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *The New Englandjournal of medicine*. 1999;340:207-14.
- Wichmann MW, Inthorn D, Andress HJ, et al: Incidence and mortality of severe sepsis in surgical intensive care patients: The influence of patient gender on disease process and outcome. *Intensive Care Med* 2000;26:167-72.

Wilson,D.H.,Jagadeesh,P.,Newman,P.p.,harriman D.G.1974.The Effects of Pulsed Electromagnetic Energy on Peripheral Nerve regeneration,Ann Ny acad Sci 238:575-585

Xie W, Zhou J, Luo QL, Liu HF, He CQPulsed electromagnetic field therapy inhibits chondrocyte apoptosis in rabbits with osteoarthritis .Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2014 Jan;45(1):107-10

Yorgancı K, Sayek İ. Sepsis ve ilgili tanımlamalar. Yoğun Bakım Dergisi 2005;5:75-79.

Yorgancı K. Sepsis patofizyolojisi. Yoğun Bakım Dergisi. 2005:80-1.

Zarakolu P, Akova M. Sepsiste antimikrobiyal tedavi. Yoğun Bakım Dergisi2005; 5: 103-108.



7. ÖZGEÇMİŞ

Adı:SERKAN

Soyadı: YELLİ

Dogum Yeri ve Tarihi: ÇORUM 22.08.1980

Eğitimi: 1998-2002 : Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji
Bölümü

2007-2008 : Adile Sadullah Mermerci Polis Okulu

Yabancı Dili: İngilizce

Medeni Durumu : Evli ve Bir Çocuk Babası

Meslek : Polis Memuru