

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNTESTİNAL İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE REPERFÜZYON
SONRASI UYGULANAN LEVOSİMENDANIN
ETKİLERİ**

DR. HAKAN AYGÜN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNTESTİNAL İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE REPERFÜZYON
SONRASI UYGULANAN LEVOSİMENDANIN
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HAKAN AYGÜN

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Çimen G. OLGUNER

<u>İÇİNDEKİLER:</u>	Sayfa No
TEŞEKKÜR	i
TABLO LİSTESİ	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
RESİM LİSTESİ	iv
GRAFİK LİSTESİ	v
KISALTMALAR	vi
ÖZET	1
SUMMARY	2
GİRİŞ VE AMAÇ	3
GENEL BİLGİLER	5
İskemi	5
Reperfüzyon	8
Serbest Oksijen Radikalleri	8
İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarı	11
İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Sistemik Etkileri	12
İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarını Azaltıcı Yöntemler	13
A) Doğal Endojen Antioksidanlar	13
1. Enzimler	13
Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Sistemi	13
Süperoksid Dismutaz	13
Katalaz	13
Glutasyon Peroksidaz	13
Glutasyon-S-Transferaz	14
Hidroperoksidaz	14
2. Enzim Olmayanlar	14
Lipid Fazda Bulunanlar	14
Sıvı Fazda Bulunanlar	14
3. Diğer Antioksidanlar	14

B) Ekzojen Antioksidanlar ve Diğer Yöntemler	14
Levosimendan	15
GEREÇ VE YÖNTEM	18
Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları	18
Anestezi Uygulaması	19
Kateterizasyon ve Monitörizasyon	19
Çalışma Grupları	19
Süperiyor Mezenter Arterin Gösterilmesi ve İskemi-Reperfüzyon Periyodu	21
Çalışma İlacının Uygulanması	23
Deney Sırasında Kaydedilen Veriler	23
Örneklerin Alınması ve Deneyin Tamamlanması	23
Biyokimyasal İncelemeler	23
Histopatolojik İncelemeler	24
İstatistiksel Değerlendirme	25
BULGULAR	26
Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri	26
Doku Malonildialdehid Düzeyleri	27
Histopatolojik Bulgular (Chiu Skoru)	28
TARTIŞMA	32
SONUÇ VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	37
EK: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı	46

TEŞEKKÜR:

DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD'ndaki uzmanlık eğitimim süresince hekimliğin ve anesteziğin temel ilkelerini öğrendiğim değerli hocalarım Prof.Dr. Zahide ELAR, Prof.Dr. Emel SAĞIROĞLU, Prof.Dr. Ali GÜNERLİ, Prof.Dr. Atalay ARKAN, Prof.Dr. Erol GÖKEL, Prof.Dr. Semih KÜÇÜKGÜÇLÜ, Prof.Dr. Necati GÖKMEN, Prof.Dr. Sermin ÖZTEKİN ve Prof.Dr. Bahar KUVAKİ BALKAN'a,

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi birikimini, desteğini ve anlayışını esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr. Çimen OLGUNER'e, istatistik çalışmalarında katkılarından dolayı Prof.Dr. Mustafa OLGUNER'e,

Tıp fakültesine girişimle başlayan bu zorlu süreçte ve hayatımın her aşamasında hep yanımda olup başımın hep dik durmasını sağlayan biricik aileme,

Yakın ya da uzakta olsa da varlığı, dostluğu ve içtenliğiyle her zaman yanımda olan ve hep olacak olan canım arkadaşım Uz.Dr. Duyguhan İŞGÜVEN'e ve varlıklarıyla bu zorlu süreçte yüzümü hep güldürmeyi bilen Neriman ve Karani İşgüven'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım tüm öğretim üyelerime, uzmanlarıma ve asistan arkadaşlarıma; anestezi teknikerlerine; merkezi ameliyathane, gündüz hastanesi, poliklinik, yoğun bakım ünitesi, ağrı servisi ve diğer cerrahi bölümlerde görev alan çalışma arkadaşlarıma,

Tezimde katkı ve yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji AD'ndan Doç.Dr. Bekir Uğur ERGÜR'e; Tıbbi Biyokimya AD'ndan Doç.Dr. Ali Rıza ŞİŞMAN'a, doku MDA çalışmasındaki çok değerli katkıları için Dr. Memduh BÜLBÜL'e, dokuların homejenizasyon basamağında ve tüm biyokimyasal analizlerde katkıları için Dr. Tuncay KÜME'ye,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Hakan AYGÜN

TABLO LİSTESİ:

Tablo-1. Çalışma Grupları

Sayfa No

20

Tablo-2. İnce Barsağın Histopatolojik Değerlendirilmesi, Chiu Skoru

25

SEKİL LİSTESİ:**Sayfa No**

Şekil-1.	Hücre Zedelenmesinde Sitoplazmik Kalsiyum Artışının Sebepleri ve Sonuçları	6
Şekil-2.	İskemi Sonucu Membran Hasar Mekanizmaları	7
Şekil-3.	İskemide Pürin Metabolizmasının Gelişimi ve Ksantin Dehidrogenazın Ksantin Oksidaza Çevrilmesi, Reperfüzyonda Oksijen Radikalinin Oluşumu	9
Şekil-4.	Serbest Oksijen Radikalinin Dokudaki Doğrudan ve Dolaylı Etkileri	10
Şekil-5.	Levosimendanın Kimyasal Yapısı	16
Şekil-6.	Çalışma Gruplarının Şematik Görünümü	20

RESİM LİSTESİ:

	Sayfa No
Resim-1. Araştırmada Kullanılan Ratlar	18
Resim-2. Sistemik Arteriyel Basınç Monitörizasyonu	19
Resim-3. Süperiyor Mezenter Arterin Klemplenmesi	21
Resim-4. İskemik İnce Barsak Dokusu	22
Resim-5. Reperfüzyon Sonrası İnce Barsak Dokusu	22
Resim-6. <i>Sham</i> Grubuna Ait Mikroskopik Görüntüler	29
Resim-7. İİR Grubuna Ait Mikroskopik Görüntüler	30
Resim-8. İİR+L Grubuna Ait Mikroskopik Görüntüler	31

GRAFİK LİSTESİ:

Sayfa No

Grafik-1. Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri

26

Grafik-2. İnce Barsak Dokusunda MDA Düzeyleri

27

Grafik-3. İnce Barsak Dokusunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

28

KISALTMALAR:

İİR	: İntestinal İskemi Reperfüzyon
SMA	: Süperiyor Mezenter Arter
İİR+L	: İntestinal İskemi Reperfüzyon + Levosimendan
OAB	: Ortalama Arteriyel Basınç
MDA	: Malonildialdehit
O₂	: Oksijen
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
Ca⁺⁺	: Kalsiyum
İR	: İskemi Reperfüzyon
ÇOY	: Çoklu Organ Yetersizliği
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
GLP-2	: Glukagon <i>Like</i> Peptid 2
NAS	: N-Asetil Sistein
K⁺	: Potasyum
ATP	: Adenozin Trifosfat
Na⁺	: Sodyum
CO₂	: Karbondioksit
H₂CO₃	: Karbonik Asit
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositler
ADP	: Adenozin Difosfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
KAT	: Katalaz
LP	: Lipid Peroksidasyonu
HEM	: Hemoprotein
MPO	: Miyeloperoksidaz
AMP	: Adenozin Monofosfat
İMP	: İnositol Monofosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substance</i>
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
İL-6	: İnterlökin-6

GPx	: Glutasyon Peroksidaz
İÖK	: İskemik Önkoşullama
NO	: Nitrik Oksit
PKC	: Protein Kinaz C
FÖK	: Farmakolojik Önkoşullama
α-CGRP	: <i>Alfa-Calcitonin Gene-Related Peptide</i>
TnC	: Troponin C
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
FDE	: Fosfodiesteraz
İV	: İntravenöz
NE	: Norepinefrin
İP	: İntraperitoneal
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
H&E	: Hematoksilen-Eosin

ÖZET:

DENEYSEL İNTESTİNAL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE REPERFÜZYON SONRASI UYGULANAN LEVOSİMANDANIN ETKİLERİ

Hakan AYGÜN, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İZMİR

Amaç: Barsak arteriyel kan akımının kısmen veya tamamen tıkanması sonrası intestinal iskemi; kan akımının yeniden sağlanması ile reperfüzyon ortaya çıkmaktadır. İntestinal iskemi reperfüzyon (İİR) hasarı çoklu organ yetersizliğine ve ölüme neden olabilir. Bu çalışmanın amacı İİR hasarı üzerine reperfüzyon sonrası uygulanan levosimendanın etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: DEÜTF Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 21 adet erkek Albino Wistar rat her birinde 7'şer denek olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Tüm gruplara arter ve ven kateterizasyonundan sonra laparotomi uygulanmış, süperiyor mezenter arter (SMA) disekt edilmiş, *Sham* grubuna başka bir işlem yapılmamıştır. İntestinal iskemi reperfüzyon grubunda SMA 60 dk klemplenerek iskemi oluşturulmuş ve klemp açılarak 120 dk reperfüzyon için beklenmiştir. İntestinal iskemi reperfüzyon + Levosimendan (İİR+L) grubunda İİR grubundaki işlemler aynen tekrarlanmıştır, reperfüzyon sonunda 10 dk $12 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ yükleme dozunu takiben 50 dk $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{dk}^{-1}$ levosimendan infüzyonu uygulanmıştır. Ratların 10 dakika stabilizasyon süresi sonunda, iskeminin 15, 30, 60. dk'sında, reperfüzyonun 15, 30, 60, 120. dk'sında, levosimendan yükleme dozunun sonunda ve infüzyon sonlandığında ölçülen ortalama arteriyel basınçları (OAB) kaydedilmiştir. Deney sonunda alınan ileum örneklerindeki reperfüzyon hasarının derecesi, biyokimyasal olarak doku malonildialdehit (MDA) düzeyi ölçümü ile; histopatolojik olarak Chiu skoru ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Reperfüzyon periyodunun 30. dk OAB değerleri, İİR ve İİR+L gruplarında *sham* grubuna oranla düşük bulunmuştur. İİR ve İİR+L gruplarında bazale göre reperfüzyonun 15, 30 ve 60. dk değerlerinde azalma izlenmiştir. Grupların doku MDA düzeyleri arasında fark saptanmamıştır. *Sham* grubunun Chiu skorlarının İİR ve İİR+L grubundan düşük, İİR grubunun ise İİR+L grubuna oranla yüksek olduğu saptanmıştır.

Sonuç: İntestinal İR sonrası uygulanan levosimendan infüzyonu OAB'de azalmaya neden olmamış, ince barsak hasarını azaltmış ancak lipid peroksidasyonunu etkilediği gösterilememiştir. Klinik olarak yarar sağlayabilecek bu uygulamanın deneysel olarak aydınlatılması kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İntestinal iskemi, reperfüzyon hasarı, levosimendan

SUMMARY:

EFFECTS OF LEVOSIMENDAN ADMINISTERED AFTER REPERFUSION IN EXPERIMENTAL INTESTINAL ISCHEMIA REPERFUSION MODEL

Hakan AYGUN, Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine,
Department of Anesthesiology and Reanimation, IZMIR

Objective: By partial or total occlusion of intestinal arterial blood flow intestinal ischemia; with the blood re-flow reperfusion occurs. Intestinal ischemia reperfusion (IIR) injury can cause multiple organ failure and death. The aim of this study is to investigate the effect of levosimendan administered after reperfusion on IIR injury.

Material and Method: After the approval of Local Ethics Committee for Animal Researches of Medical School of Dokuz Eylul University, 21 male Albino Wistar rats weighing 250-300 g were divided into 3 groups, each consisting of 7 subjects. Laparotomy was applied to all groups after arterial and venous catheterisation; superior mesenteric artery (SMA) was dissected. Nothing else was applied to sham group. In IIR group SMA was clamped for 60 min. to cause ischemia and declamped for 120 min. to cause reperfusion. In IIR+L group after clamping of SMA for 60 min. and declamping for 120 min., at the end of the reperfusion following intravenous $12 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of levosimendan loading dose for 10 min., $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ infusion was administered for 50 min. The measured values of mean arterial pressures (MAP) were recorded at 10 minutes after stabilisation of rats; 15th, 30th, 60th minutes of ischemia period; 15th, 30th, 60th, 120th minutes of reperfusion; after levosimendan bolus and at the end of the infusion. The grade of reperfusion injury in ileum samples collected after experiment was evaluated biochemically by tissue malondialdehyde (MDA) measurement; histopathologically by Chiu score. $p < 0.05$ was accepted as statistically significant.

Results: MAP values at the 30th min. of reperfusion period were lower in IIR and IIR+L groups than Sham group. In IIR and IIR+L groups the values at 15th, 30th and 60th min. of reperfusion were decreased compared to basal values. Group's tissue MDA levels was not any difference among groups. Chiu scores of Sham group were lower than IIR and IIR+L groups, whereas Chiu scores of IIR group were determined higher than IIR+L group.

Conclusion: Levosimendan infusion administered after intestinal IR did not cause decrease on MAP, reduced intestinal injury however, it can not be shown to affect lipid peroxidation. It is concluded that, this treatment which can be clinically beneficial should be elaborated experimentally.

Keywords: Intestinal ischemia, reperfusion injury, levosimendan

GİRİŞ VE AMAC:

Arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu, doku veya organların oksijen (O₂)’den yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku hasarı oluşturarak hücre ölümüne yol açmaktadır. Geri dönüşümsüz hücre hasarının önlenmesi için dokuya kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) gerekmektedir. Ancak iskemik dokularda gerçekleşen reperfüzyon, iskeminin dokuda oluşturduğundan daha fazla hasara yol açmaktadır (1).

Barsaklarda iskemi ve reperfüzyon periyodlarında oluşan patolojik değişiklikler, intestinal iskemi reperfüzyon (İR) hasarı olarak adlandırılmaktadır (2).

İntestinal iskemi, ciddi ve sık görülen klinik bir durum olup, barsak arteriyel kan akımının azalması veya tamamen durması sonucunda oluşur. Bu durum şiddetli yerel veya yaygın doku hasarıyla sonuçlanır (2-4).

Reperfüzyon ile birlikte sitotoksik olaylar serisi başlar. Reperfüzyon hasarının oluşmasında temel iki mekanizma söz konusudur. Bunlardan ilki serbest oksijen radikalleri (SOR)’nin açığa çıkması, diğeri ise fosfolipaz A₂’nin iskemik dönemde kalsiyum (Ca⁺⁺) etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalamasıdır (1,2,5). Reperfüzyon hasarındaki tablonun oluşmasındaki diğerk faktörler arasında; iskemik dokuda biriken nötrofiller, trombositler, araşidonik asit metabolizmasının oluşturduğu tromboksan A₂ ve lökotrienler, aktive olan kompleman sistemi, oluşan membran atak kompleksi, salınan akut faz reaktanları ve sitokinler sayılabilir (6-8).

İntestinal İR sonucu oluşan hasar sadece bu bölgede sınırlı kalmayıp, aktive olan birçok mekanizma ve ortaya çıkan toksik ürünler nedeniyle başta akciğerk olmak üzere karaciğerk, kalp, beyin, böbrekler gibi uzak organlarda hasar oluşturur ve çoklu organ yetersizliğı (ÇOY)’ne neden olabilir (5).

Literatürde Prostaglandin E₂ (PGE₂)’nin (9), glukagon like peptid 2 (GLP-2)’nin (10), trapidil’in (11), propofolün (12) ve N-asetil sistein (NAS)’in (12) de İİR hasarını azalttığına dair yayınlar bulunmaktadır.

Levosimendan, akut ve dekompanze kalp yetersizliğinin tedavisinde kullanılan kardiyovasküler bir ilaçtır. Kontraktil proteinlerin Ca⁺⁺ a duyarlılığını artırarak pozitif inotropik etki sağlarken, potasyum (K⁺) duyarlı adenosin trifosfat (ATP) kanallarını açarak vazodilatasyon ve antiiskemik etki oluşturur (13,14).

Barsaklar sistemik inflamatuvar yanıt sendromunda önemli bir rol oynadığından, splanknik perfüzyon üzerine vazoaaktif ajanların etkisi önemlidir. Bir çalışmada, domuzlarda endotoksine bağlı oluşturulan septik şok modelinde levosimendanın barsağa O₂ sunumunu artırdığı gösterilmiştir (15). Levosimendanın mikrovasküler gastrik mukozal oksijenasyonu artırmadaki etkisi, dobutamin ve milrinon gibi diğer inotropilerden üstün bulunmuştur (16). Levosimendanın, anestezi uygulanmış köpeklerde gastrik mukozal oksijenasyonu ve duodenuma kan akımını selektif olarak artırdığı, splanknik vasküler direnci azalttığı gösterilmiştir (17). Ancak, levosimendanın barsak üzerindeki etkinliğinin kardiyak debideki artışa mı yoksa rejyonal kan akımındaki selektif artışa mı bağlı olduğu tartışmalıdır (18).

Literatürde yeni bir inotropik ve vazodilatör ajan (inodilatör) olan levosimendanın medulla spinalis (19) ve renal (20) İİR hasarını iyileştirdiğine dair çalışmalar bulunmaktadır.

Ana Bilim Dalımızda, Özkaya ve ark. (21) tarafından yapılan çalışmada, rat İİR modelinde, ön tedavi olarak verilen levosimendanın İİR hasarını azalttığı saptanmıştır. İntestinal iskeminin klinik tedavisinde rutin olarak yer almayan levosimendanın erken dönem uygulanmasıyla barsak hasarının azaltılabileceğini bildiren bu çalışma, levosimendanın İİR hasarına etkisini araştıran ilk çalışmadır. Ancak literatürde İİR hasarı oluşturulduktan sonra uygulanan levosimendanın etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, deneysel rat İİR modelinde reperfüzyon evresinden sonra uygulanan levosimendanın reperfüzyon hasarı üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER:

Günlük tıbbi uygulamalar içerisinde iskemi ve reperfüzyonun rol aldığı pek çok olgu ile karşılaşılmaktadır. Şok, yanık, sepsis, pankreatit gibi olgularda ortaya çıkan hipovolemi ile iskemi ve bu durumların resüsite edilmesi ile de reperfüzyon hasarı oluşmaktadır. Serebrovasküler olaylarda, miyokard infarktüsünde, mezenterik vasküler olaylarda uygulanan trombolitik tedavi veya revaskülarizasyon ameliyatları da yine reperfüzyon hasarına neden olmaktadır. Travmalarda ve travma cerrahilerinde hipovolemi ya da kanama kontrolü nedeniyle yapılan klemp, tampon uygulamaları iskemiye neden olurken, resüsitasyon sonrası mutlak bir reperfüzyon ile yine İR hasarı oluşmaktadır. Kardiyovasküler cerrahide aortik ya da periferik arteriyel klemp uygulaması sonrası ortaya çıkan tablo İR hasarı ile karakterizedir. Transplantasyon cerrahisinde de kaçınılmaz olarak transplante edilecek organın iskemi ve reperfüzyonu söz konusu olup oluşan hasar greft fonksiyonlarını etkilemektedir. Sonuçta bütün cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve sıklıkla bunun takip eden bir reperfüzyon süreci vardır (22).

İSKEMİ

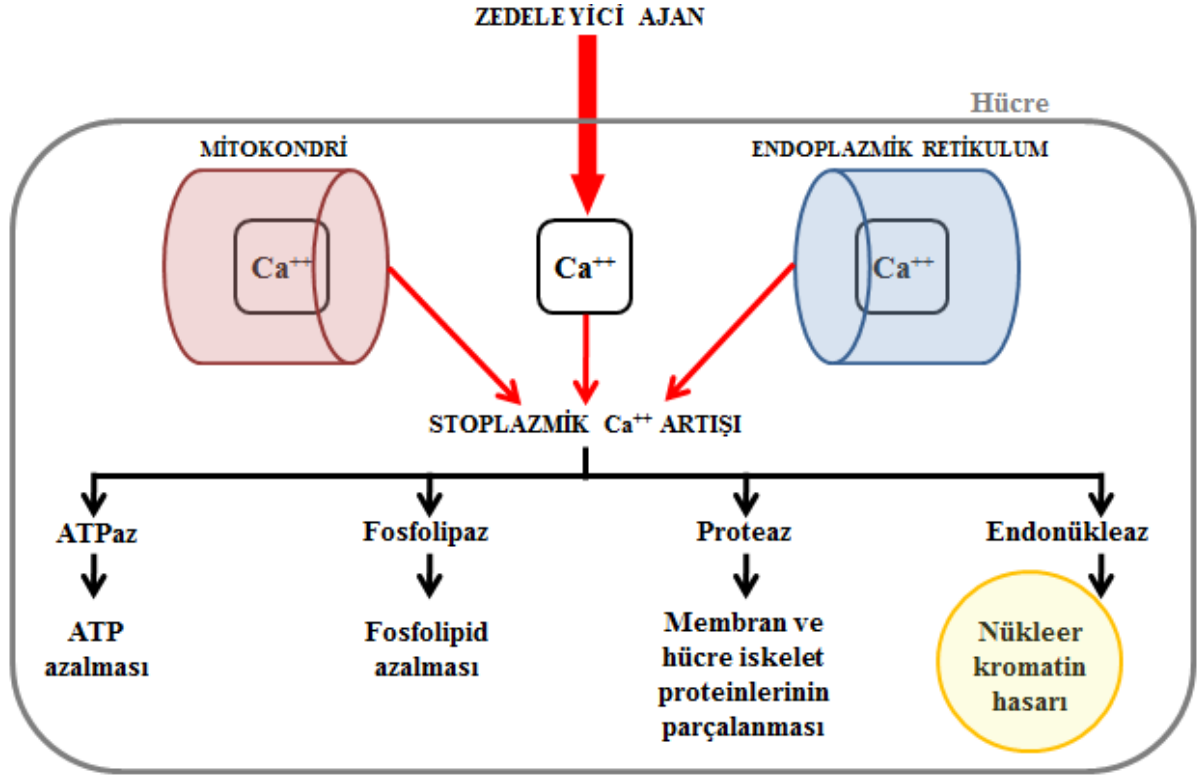
İskemi, organ veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre ve doku hasarıdır (23).

Oksijen hücre fonksiyonu için temel gereksinimdir. İskemi sonucu dokulara yeterli O₂ sağlanamaması hücre disfonksiyonuna ve sonuçta hücre ölümüne neden olan bir dizi kimyasal olayı başlatır. Oluşan bu anaerobik metabolizmaya laktik asit artışının yarattığı asidoz normal enzim kinetiğini değiştirerek yüksek enerjili bağların azalmasına ve hücre dengesinin korunması için gereken enerjinin yetersiz kalmasına sebep olur (24,25).

İskemi nedeniyle gerekli enerjinin sağlanamaması hücre membranında bulunan ATP bağımlı Na⁺/K⁺ pompasında işlev yetersizliğine yol açar. K⁺ hücre dışına çıkarken Na⁺ ve Cl⁻ iyonları hücre içine girerler. İyon dengesizliği hücre içerisinde izoozmotik su birikimine ve akut hücre şişmesine neden olur. Anaerobik glikoliz sonucu oluşan asidoz, karbondioksit (CO₂) birikimiyle oluşan karbonik asit (H₂CO₃) ile daha da derinleşir (26,27).

Adenozin trifosfat bağımlı çalışan diğer bir pompa ise ekstrasellüler ve intrasellüler Ca⁺⁺'u dengelemektedir. İntrasellüler Ca⁺⁺ artışı ile proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu araşidonik asit oluşumu ile sonuçlanır. Araşidonik asit direkt etkiyle mitokondriyal enzimleri inhibe eder ve serbest radikal oluşumunu artırır

(26,27) (Şekil-1). Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar. Hasara, mitokondrilerde şiddetli vakualizasyon ve matrikste Ca^{++} dan zengin şekilsiz yoğunluk birikimi eşlik eder (27).



Şekil-1. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının sebepleri ve sonuçları (27)

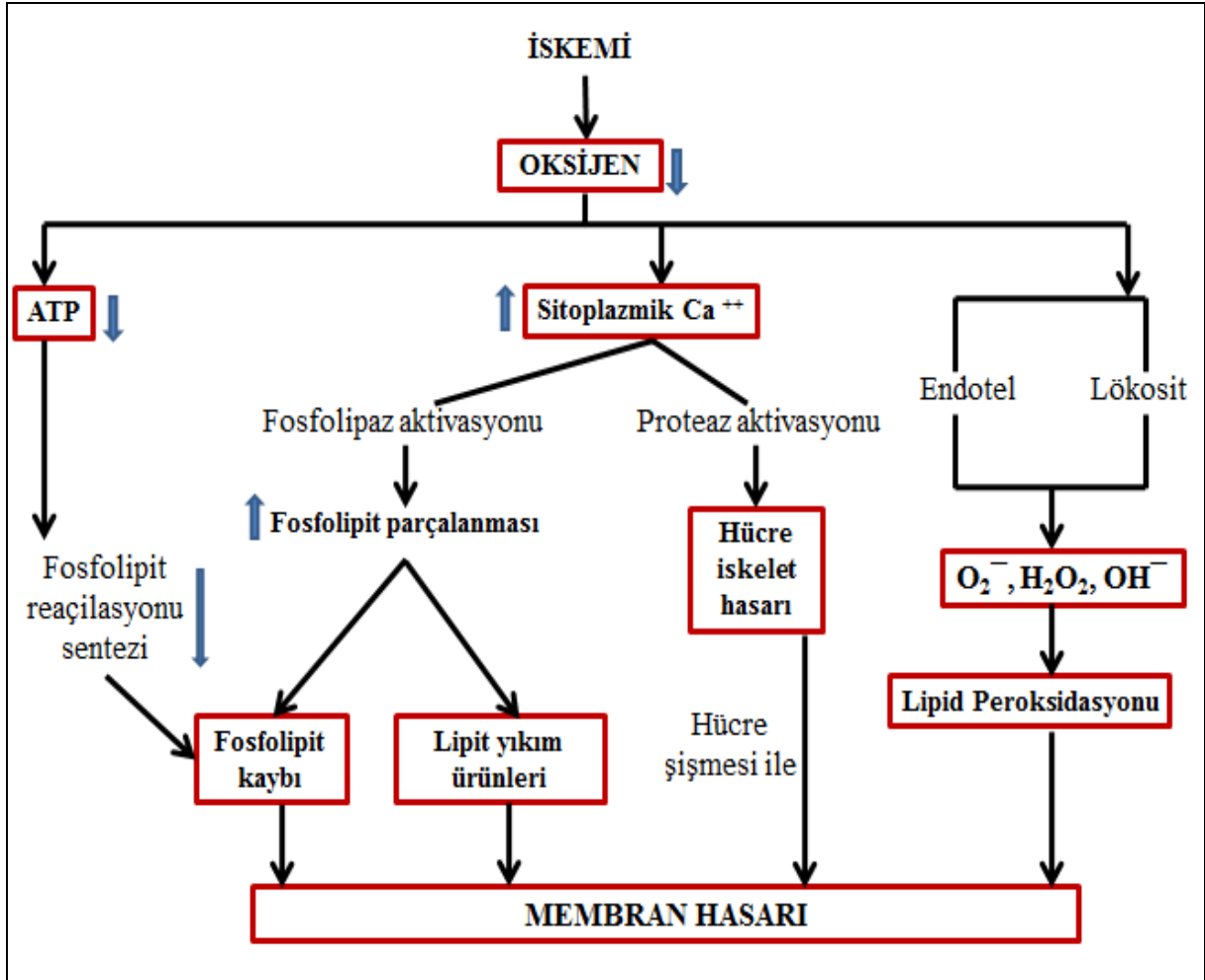
Membran hasarının potansiyel nedenleri (27) (Şekil-2):

a) **Membran fosfolipitlerinin ilerleyici kaybı:** İskemiye bağlı Ca^{++} artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonu yıkımın artmasına yol açabilir.

b) **Hücre iskelet anormallikleri:** Hücre içi Ca^{++} 'un artması ile aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilirler.

c) **Serbest oksijen radikalleri:** İndirgenmiş O_2 türevleri hücre membranına ve elemanlarına zarar verirler. Serbest oksijen radikalleri iskemik dokularda, özellikle kan akımının düzelmesinden sonra artar ve büyük ölçüde reperfüzyon sırasında zedelenme alanına gelen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.

d) **Lipid yıkım ürünleri:** Fosfolipidlerin parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu ürünler membranlar üzerinde hasar oluşturur.



Şekil-2. İskemi sonucu membran hasar mekanizmaları (24)

Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuç, yukarıda tanımlanan olaylarla Ca^{++} 'un bol miktarda hücre içine girmesidir (27) (Şekil-1).

İskemi süresince ATP üretimi kısıtlıdır. Fakat yaşamsal faaliyetlerin devamı için tüketim sürmektedir. ATP enerji üretmek için adenozin difosfat (ADP)'a daha sonra da adenozine indirgenir. Adenozin, intrasellüler alanda inozine, sonra da hipoksantine dönüşür. Hipoksantin O_2 'li ortamda ksantin oksidaza ardından ürik aside dönüştürülerek atılır. Fakat iskemik dokuda yeterli O_2 olmadığından hipoksantin dokuda birikir (28) (Şekil-3).

Michael ve ark. (29) yaptıkları çalışmada iki saat süre ile kısmi iskemi uygulanmış intestinal dokuda, iskemi sonrası ATP konsantrasyonunun iskemi öncesi konsantrasyona göre %40 azaldığını ve hipoksantin miktarının da 7,6 kat arttığını göstermişlerdir.

REPERFÜZYON

Geri dönüşümsüz hücre hasarını önleyebilmek için dokuya yeniden kan akımının sağlanması (reperfüzyon) gerekmektedir. İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanmasının, enerji gereksiniminin yeniden yapılanması ve toksik metabolitlerin ortadan kaldırılması gibi yararlı etkileri olmaktadır (24). Ancak reperfüzyonun gerçekleşmesi, iskemik dokularda iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açmaktadır. Reperfüzyon hasarı, belirli bir süre iskemiye maruz kalan dokuların tekrar perfüze olması sonucu mikrosirkülasyonda görülen tıkanmalar ve tekrar perfüze olan dokunun nekrozu ile karakterize bir yaralanma olarak tanımlanmıştır (30). İskemi ve reperfüzyon periyotlarından oluşan bu zararlı etkilerin tümü İR hasarı olarak adlandırılmaktadır (1).

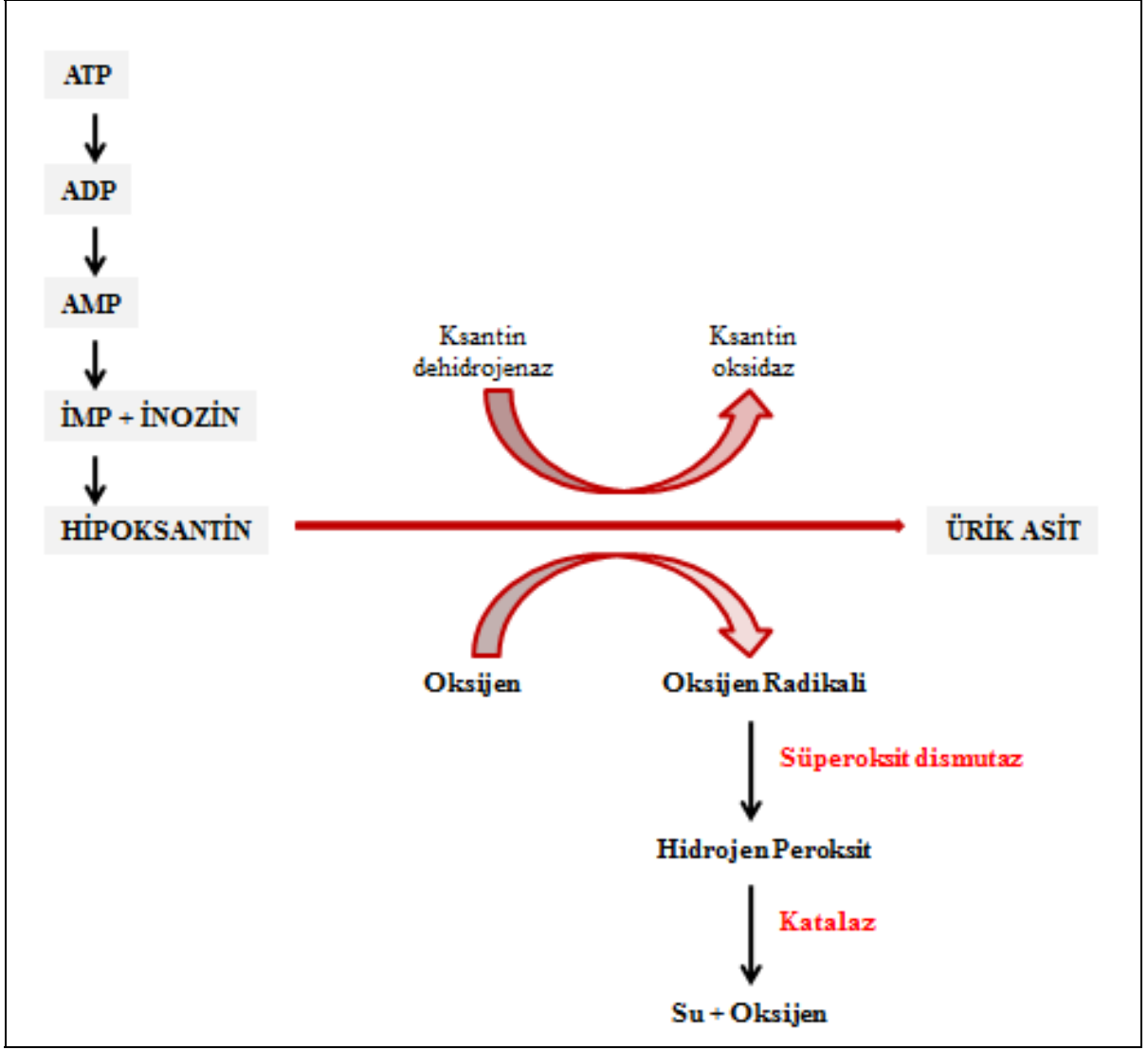
Parks ve Granger (31), yaptıkları deneysel çalışmada reperfüzyon ile oluşan hasarın iskemi ile ortaya çıkan hasardan daha fazla olduğunu göstermişlerdir.

Reperfüzyon hasarının oluşmasında iki mekanizma söz konusudur. Bunlardan ilki SOR'nin açığa çıkması, diğeri ise hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A₂'nin iskemik dönemde Ca⁺⁺ etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asidlerini parçalamasıdır (32).

Serbest Oksijen Radikalleri

Reperfüzyonun sağlanması ile birlikte sitotoksik olaylar serisi başlar. Bu olayları başlatan faktörlerin en önemlisi SOR'dir (33). Reperfüzyon sonucu dokuya kan ve O₂ sağlanır. Dokuda iskemi süresince biriken hipoksantin atılmaya çalışılır. Oksijen varlığında ksantin oksidaz enzimi aktive olarak SOR'ni oluşturur (34). Serbest oksijen radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H₂O₂) ve O₂'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise katalaz (KAT) enziminin etkisiyle su ve O₂'ye çevrilir (35) (Şekil-3). Artan SOR'un başlattığı lipid peroksidasyonu (LP) ve protein hasarı sonucu hücre fonksiyonları bozularak doku nekrozu ortaya çıkar (33).

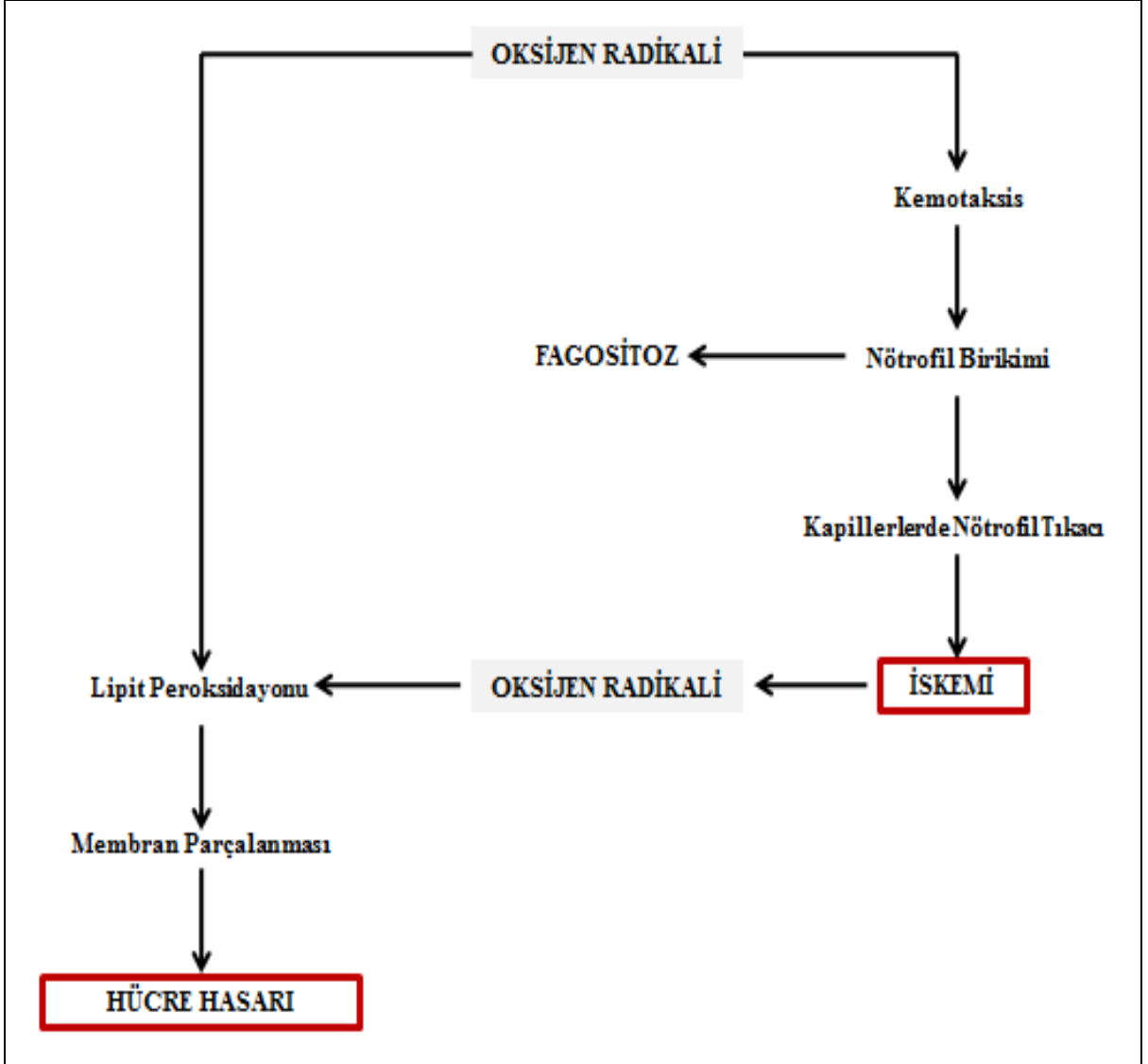
Serbest oksijen radikalleri hem dokuya doğrudan zarar vermekte hem de PMNL'lerin hasarlı dokuda birikmesine yol açar. Nötrofil ve monositler primer lizozomal granüllerinde bir hemoprotein (HEM) enzimi olan miyeloperoksidaz (MPO) içerirler. Nötrofiller dolaşımında bulunan PMNL'lerin % 90'ından fazlasını oluştururlar. Dokuya gelen aktive PMNL'ler MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler dokudaki hasarı arttırırken daha fazla radikal oluşmasına neden olurlar (35) (Şekil-4).



Şekil-3. İskemide pürin metabolizmasının gelişimi ve ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza çevrilmesi, reperfüzyonda oksijen radikalinin oluşumu (29)

Serbest oksijen radikalleri dokuda deoksiribonükleikasit (DNA), protein ve en çok da lipidlerle reaksiyona girerek yapılarını bozarlar. Lipid peroksidasyonu başladığında yeni serbest radikaller oluşturarak kısır döngüyü tetikler ve reperfüzyon hasarının diğer mediyatörü fosfolipaz A₂'yi aktive eder (28).

Fosfolipaz A₂ tarafından aktif hale getirilen lisofosfolipaz, trombosit aktive edici faktör ve araşidonic asit ile LP devam eder. Lipid peroksidasyonu sonucunda hidrokarbonlar, pentan ve LP belirleyicisi olarak da kullanılan son ürün *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) veya malonildialdehit (MDA) açığa çıkar (28).



Şekil-4. Serbest oksijen radikalinin dokudaki doğrudan ve dolaylı etkileri (29)

Diğer bir mekanizma ise hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A₂'nin iskemik dönemde Ca⁺⁺ etkisiyle aktive olarak hücre membranındaki yağ asitlerini parçalamasıdır (32). Fosfolipaz A₂'nin etkisiyle lesitinden lizolesitin, sefalinden lizosefalin, fosfatidilkolinden lizofosfatidilkolin meydana gelir (35).

Fosfolipaz A₂ ayrıca araşidonik asit mekanizmasını aktive ederek prostaglandinlerin ve lökotrienlerin üretimini de uyarır. Lizolesitin, çok sitotoksik bir maddedir. Lizofosfatidilkolin normalde iskemiden sonra görülen intestinal geçirgenliği artırır (35).

İNTESTİNAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

Barsak kan akımının genellikle arteriyel kaynaklı parsiyel veya tam obstrüksiyonu sonrası intestinal iskemi ortaya çıkar. Mezenter iskemilerinin çoğunda neden, aortadaki ateroskleroz plaklarından kaynaklanan SMA embolisidir (36). Bunun dışında miyokard infarktüsü, dissekan anevrizma, aortik rekonstrüktif cerrahiler, hiperkoagulabilite, sepsis, invaziv neoplazmlar, abdominal travma, şok, dehidratasyon, barsak rezeksiyonu, volvulus gibi birçok durum da mezenter iskemisine yol açmaktadır (27).

İntestinal iskemik hasar barsak mukozasının villus tabakasında başlar (24). Kan akımında kısa süreli azalmalarda bile villus uçlarında ağır hipoksi oluşarak iskemik doku hasarı oluşabilir. Önce kapiller ardından mukozal permeabilite artar. Yüzeysel mukozada oluşan hasarı transmukozal ve transmural hasar takip eder. Kritik ve septik hastalarda görülen intestinal iskemi, yüzeysel mukozal hasara sebep olurken strangülasyon, mezenterik vasküler oklüzyon, non-oklüziv obstrüksiyon olarak bilinen durumlar ise daha derin doku hasarına neden olurlar (37). Geçici iskemiden kaynaklanan değişiklikler yüzeysel ve lokalize olabileceği gibi transmural infarktüs veya gangren ile birlikte yaygın olabilir. Oluşan patolojik görünüm iskeminin şiddeti, süresi, olayın hızı ve kollateral dolaşımın bulunup bulunmaması gibi etkenlere bağlıdır (38).

İntestinal iskemi sırasında artan kapiller permeabiliteye birçok mekanizma katkıda bulunabilir. Mukozal kapillerlerin bakteriyel endotoksinler ve lizozomal enzimlerle karşılaşması durumunda permeabilite artışı olacağı gibi, iskemik ince barsaktan serbestleşen histamin, bradikinin, prostaglandinler gibi çeşitli vazoaaktif maddeler de bu artışın patogeneze katkıda bulunmaktadır. Mukozanın iskemik hasarı sonucunda lümenin daha fazla miktarda proteolitik enzim, bakteri ve endotoksin dolaşıma girmektedir. Bunun sonucunda kardiyodepresan faktörlerin de salınımıyla kardiyak ve respiratuvar sistemler bozulur, intestinal iskemi daha da artar (39).

İskemi reperfüzyon hasarının gerek başlatıcı gerekse ilerletici nedenlerinin başında gelen SOR, normal metabolizma sırasındaki oksidasyon redüksiyon reaksiyonları sırasında da oluşan bir üründür. Ancak inflamasyon, iskemi, radyasyon, antibiyotik ve antineoplastik ilaçların klinik uygulamalarında O₂ metabolizmasının artması sonucu artan SOR, hücresel membranlar, enzimler, polisakkaritler ve nükleik asitler üzerinde toksik etki oluşturarak doku hasarına yol açar (39,40).

İntestinal İR hasarı sonucu SOR oluşturan en önemli mekanizma, hipoksantin-ksantin oksidaz yoludur. Hipoksantin, dokunun oksijenasyonu ile ksantin dehidrojenaz aracılığıyla ürik aside dönüşür. Hipoksi halinde ise ksantin dehidrojenaz ksantin oksidaza çevrilir. Bu enzimlerin en yüksek konsantrasyonu villus uçlarında saptanmıştır (41).

Serbest oksijen radikalleri intestinal sistemde doğrudan çevredeki molekülleri etkileyerek hücre membranının yapı ve bütünlüğünü bozarlar. Serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidlerinin dolaylı etkisiyle fosfolipaz A₂ ve arasıdonik asit metabolizması aktive olur. Reaksiyon sonucu oluşan prostaglandin, tromboksan ve lökotrienler, permeabilite değişikliklerine, mikro ve makro sirkülasyonda bozukluklara aracılık ederler. İskemik dokudan açığa çıkan bazı maddeler ve nötrofiller SOR etkisiyle kapiller damar duvarına yapışarak doku içine göç ederler (42).

İntestinal mukoza villus kapillerlerinde İR sonrası görülen diğer bir olay mikrovasküler vazodilatasyona eşlik eden kapiller permeabilite artışıdır. İnterstisyel alana, barsak lümenine sıvı ve eritrositler kaçarak kapiller tıkaçlar ortaya çıkar. Sonuç olarak reperfüzyon başladıktan kısa bir süre sonra, nötrofil ve eritrosit tıkaçları doku kanlanmasıyla tekrar azalmasına yol açar ki bu olaya “*no-reflow fenomeni*” denir (42).

İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Sistemik Etkileri

İntestinal İR hasarı sonrasında başta akciğerler olmak üzere uzak organlarda oluşan hasar ÇOY’ne ve ölüme neden olabilir (43). Akciğerlerde ödem, hemoraji ve PMNL infiltrasyonu ile karakterli bir durum ortaya çıkar (44). Bu hasarı tanımlayan pek çok mekanizma olmakla birlikte, %80’inde PMNL’lerin sorumlu olduğu bildirilmiştir (7,43).

İntestinal İR hasarı, barsak mukoza engelini bozarak bakteriyel translokasyona neden olur (7,45). Endotoksin, farklı dokularda monosit ve makrofajları uyarak inflamatuvar sitokinlerin sentez ve salınımını uyarak sistemik inflamatuvar yanıt sendromunu başlatan primer mediyatördür (44,46). Makrofajlar açısından zengin olan akciğer ve karaciğer transloke olan endotoksinin ilk geçtiği organlardır (7). İntestinal İR hasarını takiben vena porta yoluyla karaciğere ve akciğere ulaşan endotoksinler, önce Kuppfer hücrelerini ve sonra alveolar makrofajları aktive ederek tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinlerin üretimini arttırırlar (7,46). TNF- α 17kDa molekül ağırlığında bir sitokindir. Aktive monosit, makrofaj, mast, endotel, T, B ve Kuppfer hücrelerinde üretilir. İntestinal İR sonrası oluşan akut akciğer hasarından sorumlu tutulan en önemli sitokin olduğu öne sürülmektedir (43). İntestinal İR hasarının böbrekler üzerinde de olumsuz etkileri

bulunmaktadır. Bir çalışmada SMA'nın bir saatlik iskemi ve bir saatlik reperfüzyonu ile böbrek kan akımında, sodyum ve inülin klirensinde belirgin düşme saptanmıştır (47). Bir diğer araştırmada ise oluşturulan İİR hasarının hepatik kan akımı, safra üretimi ve ATP düzeylerini belirgin düşürerek, karaciğer perfüzyonu ve fonksiyonlarını azalttığı gösterilmiştir (48).

İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarını Azaltıcı Yöntemler

İskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif stresi azaltmak için antioksidan mekanizmalar ve farklı ekzojen yöntemler bulunmaktadır (24).

A) Doğal (endojen) Antioksidanlar

1. Enzimler

Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi

Solumun zincirinin son enzimi sitokrom oksidaz süperoksidi detoksifiye eder. Bu işlem oksidasyon reaksiyonu ile olur ve sonuçta enerji üretimi sağlanır. Ancak süperoksit üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar bu durumda diğer antioksidanlar devreye girer (49).

Süperoksit Dismutaz

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir. SOD, süperoksit radikalini metabolize eder ve daha zararlı olan hidroksil radikalinin oluşumunu engeller. Süperoksit radikalini H_2O_2 'e ve moleküler O_2 'e dönüştürür. Tepkime ürünü olan H_2O_2 tarafından inhibisyona uğrar (50).

Katalaz

Katalaz, konsantrasyonu değişmekle birlikte tüm hücrelerde bulunan yapısında bir hemoprotein içeren enzimdir. Sitoplazmada %20, peroksizomlarda %80 oranında bulunur. H_2O_2 'nin oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyonla iki molekül H_2O_2 'yi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (51).

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon sistemi, oksidatif hasarın azaltılmasında rol oynayan, SOR'nin hücre içinde detoksifikasyonuna neden olan ve LP'nu önleyen en önemli endojen mekanizmalardandır. İntrasellüler glutasyon olarak bulunan en güçlü *thiol* bileşiğidir. GPx enzimi, glutasyondan ayırarak H_2O_2 'yi suya dönüştürür, selenyuma bağlı sitoplazmik bir enzimdir, H_2O_2 'yi detoksifiye ederek su ve okside glutasyona dönüştürür (52).

Glutasyon-S-Transferaz

Özellikle araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı Glutasyon-S-Transferazlar selenyum bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar (52).

Hidroperoksidaz

2. Enzim Olmayanlar

Lipid fazda bulunanlar: α - tokoferol ve β -karoten

Sıvı fazda bulunanlar (hücre sitozolünde veya kan plazmasında): Askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, metiyonin, albümin, bilirubin, glutasyon.

3. Diğer Antioksidanlar

Karotenoidler, melatonin, glutasyon, ürat, sistein, albümin, serüloplazmin (53).

B) Ekzojen Antioksidanlar ve diğer yöntemler

Vitamin E, vitamin C gibi vitaminler süperoksit, hidroksil ve lipid peroksit radikallerini tutma özelliğine sahiptirler. Süperoksit dismutaz, KAT, GPx gibi enzimler, allopürinol gibi metal bağlayan proteinler, dimetil sülfoksit, desferroksamin gibi birçok ajan SOR'nin oluşumunu azaltarak, radikallerin yükseltgen olmalarını engeller ya da DNA onarım mekanizmalarını arttırarak antioksidan etki gösterirler (24). Topaloğlu ve ark (9), iskemiye maruz kalan intestinal dokuda artış gösteren PGE₂'nin, rat İİR hasarı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, PGE₂'nin barsaktaki iskemik hasarı anlamlı olarak azalttığını, iskemik hasarın geri dönüşümsüz safhaya gelmesini önlediğini bildirmişler. Zhang ve ark (10) barsak epitelinin endokrin hücrelerinden salınan ve mukozal DNA tamirini arttıran GLP-2'nin rat İİR hasarı üzerine koruyucu etkilerini araştırmışlar, GLP-2'nin bakteriyel translokasyonu, SOR'nin oluşumunu, endotoksin 1 salınımını ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltarak İİR hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir.

Oxymatrine, "*sofora flavences ait*" isimli geleneksel Çin bitkisinden elde edilen ve kronik hepatit tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Farmakolojik etkileri arasında immun sistemin düzenlenmesi, antiinflamatuvar etkisi ve histamin salınımının engellenmesi bulunmaktadır. Zhao ve ark (5), rat İİR hasarına *oxymatrine*'nin etkisini araştırdıkları çalışmalarında bu ajanın LP'nu, apoptozisi ve histolojik hasarı azalttığını bildirmişlerdir. Uzun bir iskemi döneminde oluşan hücre hasarını azaltmak amacıyla iskemi öncesinde uygulanan kısa iskemi reperfüzyon periyodları iskemik önkoşullama (İÖK) olarak tanımlanır

(54). Davis ve ark. (55), rat ince barsağında, İÖK'nın lökositlerin inflamasyon alanına yönelmesinde etkili olan P-selektinin artışı ve böylece nötrofil adezyonunu önlediği bulmuşlar. İskemik önkoşullama, uzak organlardaki hasarı TNF- α aracılı P-selektin artışı (56) ve LP'nu azaltarak iyileştirmektedir (57). Tam olarak netleşmemekle birlikte İÖK'nın etki mekanizmasında en çok nitrik oksit (NO), adenozin, protein kinaz C (PKC) ve ısı şok proteinleri üzerinde durulmaktadır (58).

İskemi reperfüzyon hasarının önlenmesi için İÖK yanında farmakolojik önkoşullama (FÖK) da uygulanabilmektedir. Bu amaçla antioksidanlar, NO, glutamin, glisin, enteral beslenme tedavileri gibi birçok madde deneysel olarak uzun süredir uygulanmaktadır (59).

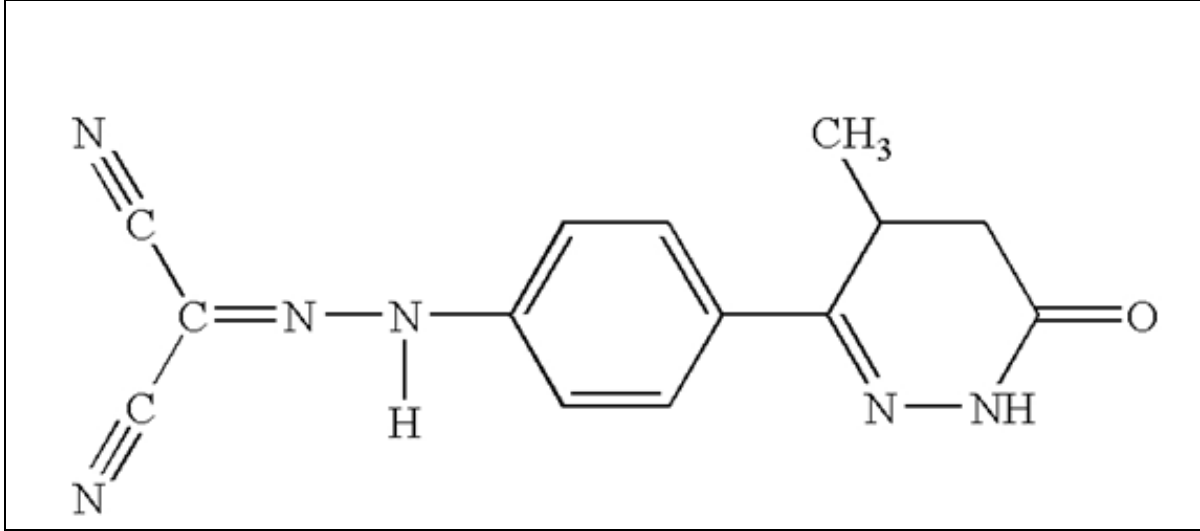
Alfa-calcitonin gene-related peptide (α -CGRP), İÖK'nın koruyucu etki mekanizmasında NO ile birlikte rol alan, gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunan kapsain duyarlı bir transmitterdir (60). Li ve ark, rat İİR hasarı üzerine nitrogliserin ile oluşturulan FÖK'nın etkilerini araştırdıkları çalışmalarında nitrogliserin verilen grupta İR grubuna göre serum α -CGRP ve NO seviyelerinin yüksek, histopatolojik skorun (Chiu skoru) düşük olduğunu bulmuşlardır (60).

LEVOSİMENDAN

Levosimendan, troponin C'ye (TnC) yüksek bağlanma afinitesi olan, (R)-[[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-okso-3-piridazinil)-fenil]hidrazono]propandinitril yapısında, kapalı formülü C₁₄H₁₂N₆O olan piridazinon-dinitril türevi kardiyovasküler bir ajandır (Şekil-5). Moleküler ağırlığı 280.3 g/mol' dür. Orta derecede lipofilik özelliktedir. Zayıf asittir (pKa=6.3). Distile su ve fosfat tamponlarında çözünürlüğü azdır. Etanoldeki çözünürlüğü yüksek olduğundan ticari infüzyon preparatlarında çözücü olarak etanol kullanılmıştır (61).

Levosimendan kalp yetersizliğinin akut alevlenmesinin kısa dönem tedavisi için geliştirilmiş, miyokardın Ca⁺⁺'a duyarlılığını arttıran ve vazodilatör etkiye sahip yeni bir inotropik ajandır. Teorik olarak bu ajan, hücre içi Ca⁺⁺ ve cAMP düzeylerini arttırmaksızın, troponin C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin Ca⁺⁺'a duyarlılığını arttırarak kardiyak performansı iyileştirirler (62). Ayrıca, levosimendan fosfodiesterazı (FDE) selektif olarak inhibe eder. Diğer Ca⁺⁺ duyarlılaştırıcıların FDE inhibisyonu terapötik dozlarda izlenirken, levosimendanın bu etkisi yalnızca terapötik düzeyin üzerindeki dozlarda izlenmektedir (63). Levosimendanın miyosit ve damar duvarlarındaki ATP bağımlı K⁺ kanallarını açarak, sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona, miyokardiyal önyük ve artyükte azalmaya neden

olmaktadır (62). Levosimendanın K^+ -ATP kanal açıcı etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (64).



Şekil 5. Levosimendanın kimyasal yapısı (61)

Sürekli sabit dozda infüzyon yapıldığında kararlı duruma 4. saatte ulaşır; ancak, daha hızlı etki istendiğinde yükleme dozu infüzyonu ile plazma doruk konsantrasyonuna 12 dk sonra ulaşılır. Levosimendan, %95-98 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Karaciğerde konjugasyonla metabolize olur, 1/3'ü idrarla, 1/3'ü feçesle atılır. Ancak, barsaktaki bakteriler feçesteki metabolitlerin bir kısmını redüksiyonla aromatik bir amin olan aktif OR-1855 metabolitine dönüştürürler. OR-1855'de reabsorpsiyon ile karaciğerde asetillenerek daha aktif metabolit olan OR-1896'ya dönüşür. Sağlıklı gönüllülerde OR-1896'nın yarılanma ömrü 60 saattir (65). Seyreltme işlemi %5 glukoz çözeltisi ve %0,9 NaCl ile yapılır, intravenöz (İV) infüzyon ile uygulanır. Önerilen tedavi dozu 10 dakikada 6-24 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ yüklemeyi takiben 24 saat boyunca 0,05-0,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ sürekli infüzyon şeklindedir (66).

Levosimendan in vitro ve in vivo olarak vazodilatasyon oluşturabilmektedir. Levosimendanın insan koroner arteri (67), insan portal veni (68) ve sıçan mezenterik arterinde (69) gevşeme oluşturduğu ve rat arteriyel myositlerinde K^+ -ATP kanallarını aktive ettiği (70) gösterilmiştir. Barsak kan akımının azalması veya kesilmesi lokal, bölgesel, sistemik anormalliklerle sonuçlanıp ÇOY'ne yol açabilir (44). Barsakların ÇOY'ndeki rolü nedeniyle birçok araştırmada vazoaktif ajanların etkisi araştırılmıştır. İnotropolar ve vazopresörler kalp hızını, kan basıncını arttırırken bölgesel kan akımı ve O_2 tüketimi üzerine yararlı veya zararlı etkiler gösterebilirler (17).

Koyunlarda İV *Escherichia coli* verilerek oluşturulan hiperdinamik sepsis modelinde norepinefrinin (NE) ortalama arteriyel basıncı (OAB) arttırdığı fakat mezenterik kan akımı üzerine etki oluşturmadığı gösterilmiş (71). Septik hastalarda yapılan bir araştırmada NE ve dopamin uygulamasının hepatosplanknik kan akımını arttırdığı, hepatik enerji balansı üzerine farklı etkiler gösterdiği saptanmıştır. Dopamin negatif hepatik enerji balansı oluşturmuştur (72). Domuzlarda fekal peritonit yöntemiyle oluşturulan sepsis modelinde dopamin mezenterik kan akımını dobutamin ve dopeksamine göre daha fazla arttırmıştır (73).

Levosimendan verilen sağlıklı köpeklerde selektif olarak duodenal kan akımında artış ve splanknik vasküler dirençte azalma oluşmuştur (74). Endotoksik şok oluşturulan domuzlarda levosimendan ön tedavisi portal ven kan akımını ve barsağa O₂ sunumunu arttırmış, ileal mukozal asidozun azalmasına katkı sağlamamıştır (15).

Sağlıklı köpeklerde yapılan bir çalışmada levosimendan, dobutamin ve milrinonun mide mukozal hemoglobin oksijenasyonu, O₂ transportu ve tüketimi üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Levosimendan verilen köpeklerde mide mukozal hemoglobin oksijenasyonu anlamlı olarak artmış, sistemik O₂ transportu hafif düzeyde artmış ve stabil O₂ tüketimi sağlanmıştır. Milrinon verilen grupta benzer O₂ transportu ve tüketimi olmuş fakat mide mukozal hemoglobin oksijenasyonunda artış olmamıştır. Dobutamin grubunda tüm analizlerde artış olmuştur. Bu sonuçlarla levosimendanın sistemik etkilerinden bağımsız olarak gastrik mukoza üzerine yararlı etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (16).

Kalp dışında, diğer organların İR hasarlarında levosimendanla yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Aortik klemp sonrası spinal İR hasarına levosimendanın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, levosimendanın nörolojik, histopatolojik ve biyokimyasal parametreleri düzelttiği bulunmuştur (19). Renal İR hasarına levosimendanın etkisinin araştırıldığı çalışmada ise levosimendanın renal tübüler nekroz ve atrofiyi azalttığı, kontrol grubuna göre TBARS değerlerinin daha düşük olduğu belirtilmiştir (20).

GEREÇ ve YÖNTEM:

Bu randomize kontrollü deneysel çalışma; DEÜTF Hayvan Deneylei Yerele Etik Kurulu izni alındıktan sonra, DEÜTF Multidisipliner Denei Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı.

Araştırmada Kullanılan Denei Hayvanları

Araştırmada, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 21 adet *Wistar Albino* tipi erişkin erkek rat kullanıldı (Resim-1). Ratlar standart rat yemi ve su ile beslendi, oda ısısında 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda tel kafeslerde yaşatıldı. Cerrahiden önceki 12 saat sadece su içmelerine izin verildi. Denei süresince hayvanların vücut sıcaklığı ısıtıcı bir lamba ile korundu.



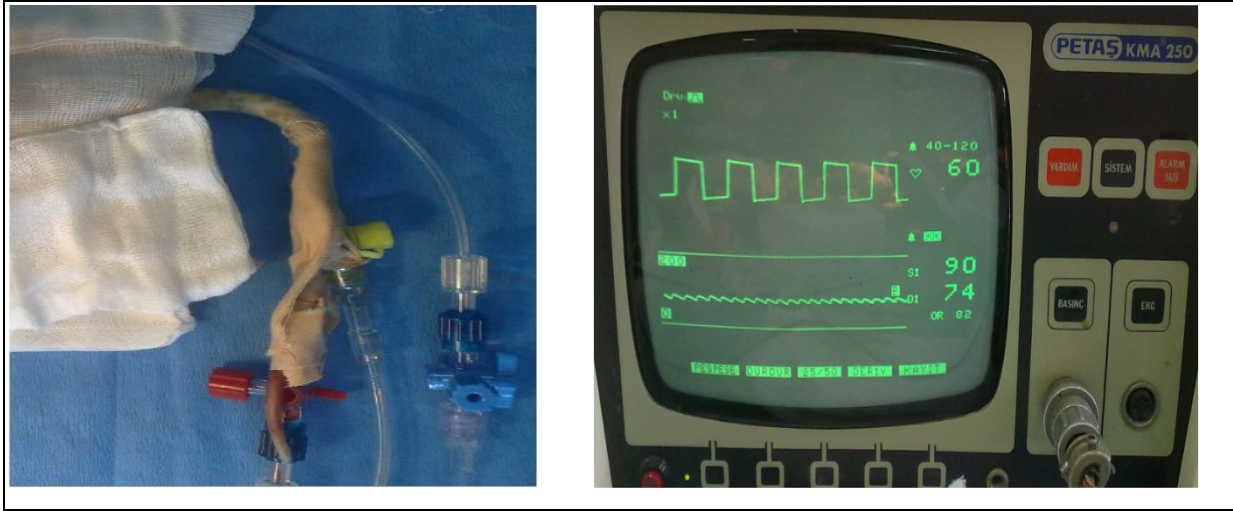
Resim-1. Araştırmada kullanılan ratlar

Anestezi Uygulaması

Anestezi, intraperitoneal (İP) 50 mg/kg ketamin (*Ketalar*®, Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg xylazine hidroklorid (*Alfazyne*®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Holland) uygulanarak sağlandı, gerektiğinde ratların hareketsizliğini sağlamak için aynı anestezi doz tekrarlandı.

Kateterizasyon ve Monitörizasyon

Anestezi altındaki ratların kuyruk ventral arterine heparinize serum fizyolojik (100 Ü/mL) ile yıkanmış 26 gauge kanül (*Becton Dickinson Infusion Therapy AB SE-251 06 Helsingborg, Sweden*) yerleştirildi. Kanülün proksimal ucu basınç transdüserine (*MLT844 Physiological Pressure Transducer, Interlab LTD, İstanbul, Türkiye*) bağlanarak sistemik arteriyel basınç ölçümleri gerçekleştirildi (Resim-2)



Resim-2. Sistemik arteriyel basınç monitörizasyonu

Sağ lateral kuyruk venine 26 gauge kanül (*Becton Dickinson Infusion Therapy AB SE-251 06 Helsingborg, Sweden*) yerleştirildi, ilaç ve sıvılar buradan uygulandı (Resim-2).

Kateterizasyon sırasındaki kan kayıplarına karşı tüm ratlara bu dönemde 2 mL salin solüsyonu İV bolus uygulandı.

Çalışma Grupları

Çalışma için 3 grup oluşturuldu (Tablo-1).

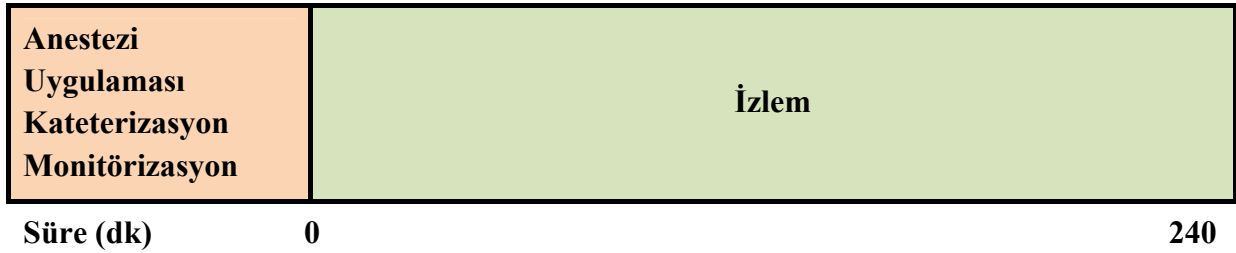
Toplam çalışma süresi tüm gruplarda aynıydı (240 dk). Çalışma gruplarının şematik görünümü Şekil-6'da gösterilmiştir.

Tablo-1. Çalışma grupları

Gruplar	Denek Sayısı (n)	Yapılan işlem
Sham grubu	7	Laparotomi sonrası süperiyor mezenterik arter (SMA) yalnızca diseke edildi
İİR grubu İntestinal İskemi Reperfüzyon	7	SMA diseke edilip, 60 dk klemlendi ve sonrasında 120 dk reperfüzyon sağlandı (21)
İİR+L grubu İntestinal İskemi Reperfüzyon +Levosimendan	7	SMA diseke edilip, 60 dk klemlendi ve sonrasında 120 dk reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyon sonrası 10 dakika içinde $12 \mu\text{g.kg}^{-1}$, takiben 50 dakika boyunca $0.2 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ levosimendan infüzyonu uygulandı (19,21)

Şekil-6. Çalışma gruplarının şematik görünümü

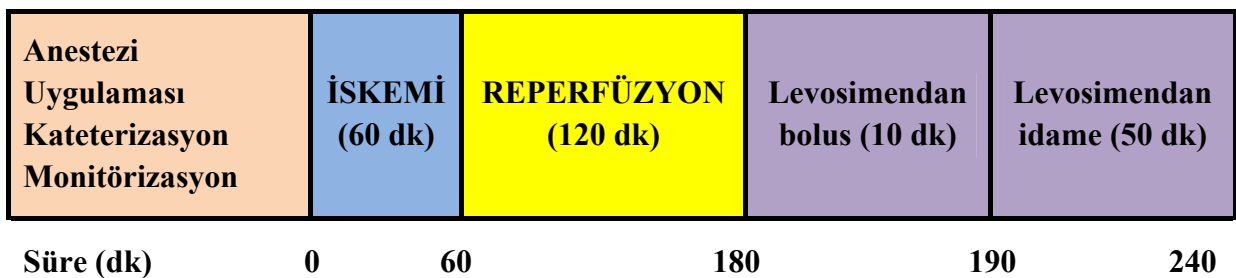
Sham Grubu



İİR Grubu



İİR+L Grubu



Süperiyor Mezenter Arterin Gösterilmesi ve İskemi-Reperfüzyon Periyodu

Anestezi, kanülasyon ve monitorizasyon uygulanıp 10 dakika stabilizasyon sağlandıktan sonra tüm gruplara 2 mL/saat salin solüsyonu infüzyonu başlandı. Takiben abdomen orta hat insizyonu ile açıldı, barsaklar vücut yüzeyine doğru çıkarıldı, *Treitz* ligamanı kesildi, SMA dikkatle diseke edildi.

Sham grubundaki ratlar SMA'nın gösterilmesinden sonra deney sonuna kadar izlendi.

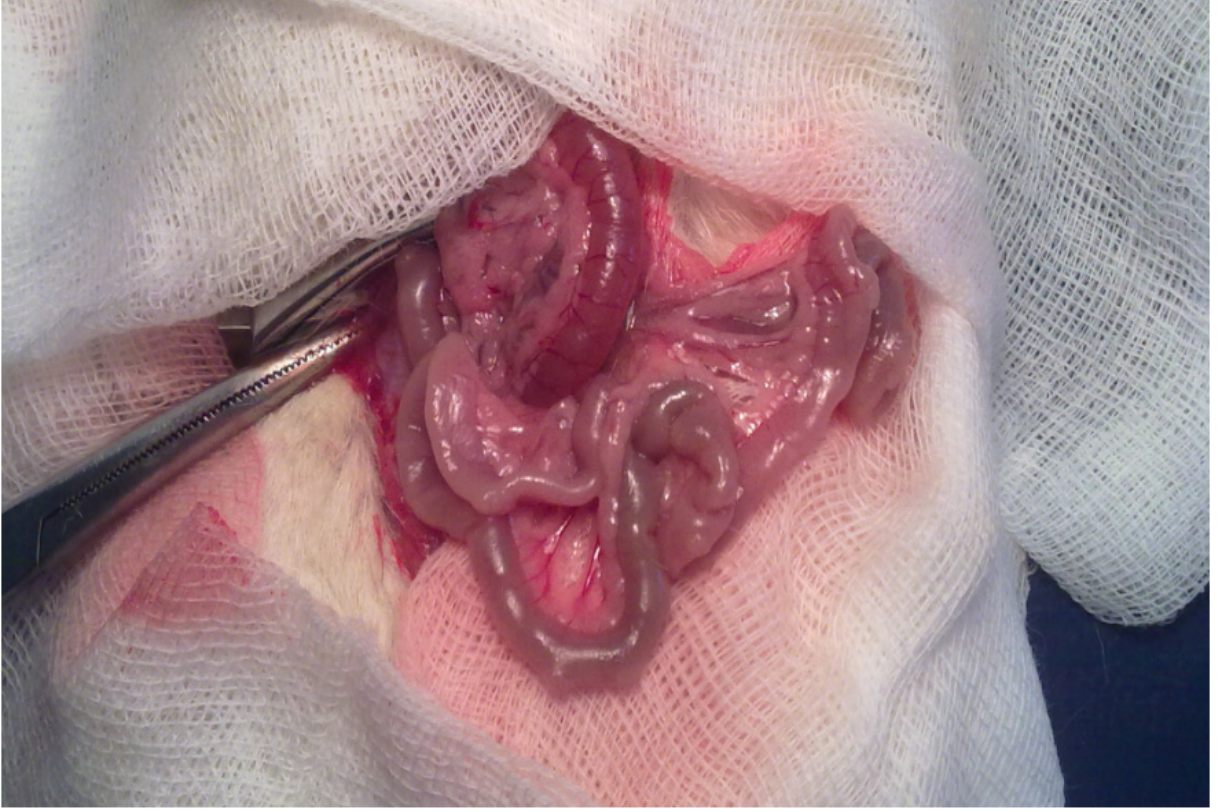
İİR ve İİR+L grubundaki ratlarda, SMA aortadan çıkış yerinden atravmatik mikrovasküler klemple sıkıştırılarak 60 dakika iskemi oluşturuldu (Resim-3).



Resim-3. Süperiyor mezenter arterin klemlenmesi

Klemp uygulanmadan önce intravasküler koagülasyonu engellemek amacıyla 50 IU/kg heparin İV uygulandı. Yeterli oklüzyon, mezenterik damarlarda pulsasyon olmaması ve solukluk oluşması ile doğrulandı (Resim-4).

60 dk sonunda klemp kaldırıldı ve 120 dakika reperfüzyon sağlandı (Resim-5) (21). Bekleme süreleri boyunca batın ıslak steril tamponlar ile kapatıldı.



Resim-4. İskemik ince barsak dokusu



Resim-5. Reperfüzyon sonrası ince barsak dokusu

Çalışma İlacının Uygulanması

Reperfüzyonun sonunda çalışma ilacı uygulamasına başlandı. İİR+L grubundaki ratlara uygulanan levosimendan (*Simdax* ® 2,5 mg/mL, *Abbott, Orionpharma*, Finlandiya) 2 µg/mL olacak şekilde hazırlandı. İntravenöz olarak 10 dk süreyle 12 µg.kg⁻¹ yükleme dozu uygulaması sonrasında, 50 dk süreyle 0,2 µg.kg⁻¹.dk⁻¹ dozunda idame infüzyon salin solüsyonu ile birlikte uygulandı (21). *Sham* ve İİR grubundaki ratlara, İİR+L grubunda uygulanan çalışma ilacıyla aynı volümde salin solüsyonu infüze edildi.

Deney Sırasında Kaydedilen Veriler

Ratların 10 dakika stabilizasyon süresi sonunda (OAB-0-bazal), iskemi periyodunun 15. (OAB-1), 30. (OAB-2), 60. (OAB-3) dk'sında, reperfüzyon periyodunun 15. (OAB-4), 30. (OAB-5), 60. (OAB-6), 120. (OAB-7) dk'sında, levosimendan bolus uygulaması sonunda (OAB-8) ve levosimendan infüzyonu sonlandığında (OAB-9) ölçülen OAB'ları kaydedildi.

Örneklerin Alınması ve Deneyin Tamamlanması

Çalışma ilacı uygulaması bittikten sonra anestezi altındaki ratlardan terminal ileumun proksimalinden 4 cm ileum çıkarıldı, çıkarılan barsak lümeni soğuk salin solüsyonu ile yıkandı. Çıkarılan ileum dokusunun 2 cm'lik parçası histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formaldehit içerisinde saklandı.

Kalan ileum dokusu cerrahi tampon ile kurulandıktan sonra biyokimyasal işlemler (MDA) için iki eşit parçaya bölünüp mikrosantrifüj (eppendorf) tüplerine yerleştirildi ve Tıbbi Biyokimya AD'nda ölçüm yapılacağı güne kadar -80°C'de derin dondurucu içinde korundu.

Örnekler alındıktan sonra ratlar İV 120 mg/kg tiyopental ile sakrifiye edildi.

Biyokimyasal İncelemeler

Doku örneklerinin homojenizasyonu: İleum dokuları, yıkama solüsyonu olan PBS ile yıkanarak kandan temizlendi. Dokular hassas terazide tartılarak eppendorf tüplerine konuldu ve homojenizasyona kadar -80 °C'de dondurularak saklandı. Tekrar çözülen doku örnekleri %10 (w/v) oranda olacak şekilde falkon tüplerine konularak soğutulmuş PBS eklendikten sonra, buz içinde ultrasonik homojenizatörde 80 amplitüdde 5 x 6 saniye pulse ile (*Vibrocell, Sonics and Materials Inc, Panbury, Conneticut, USA*) homojenize edildi. 4000 g'de 15 dk santrifügasyon sonrası üstte kalan homojenize edilmiş dokular eppendorf tüplerine konularak -80 °C'de analiz zamanına kadar dondurularak saklandı. Analiz günü homojenatlar

derin dondurucudan çıkarılarak çözüldü. Ardından aşağıda bahsedilen biyokimyasal analiz gerçekleştirildi.

Doku MDA düzeyi ölçümü: Doku homojenizatlarında MDA ölçümü, HPLC (*high performance liquid chromatography*) ile floresan deteksiyonla (*Shimadzu VP Series and RF-10AXL* floresan dedektör, *Japan*) yapıldı. Malonildialdehit ölçümü için; 40 µL doku homojenizatlarına 100 µL saf su, 20 µL 2,8 mmol/L bütillenmiş hidroksi toluen, 20 µL %8.1 sodyum dodesil sülfat, 600 µL tiyobarbitürik asit eklendikten sonra 95 °C’de 1 saat bekletildi. Soğutulduktan sonra 1000 µL 1:15 piridin bütanol eklenerek vortekslendi. Organik faz eppendorf tüplerine alınarak 15 000 g’de 15 dk santrifügasyon sonrası üstteki kısım C18 [150x4,6 cm, partikül çapı 5 µm, (*MN/EC 150/4.6 Nucleosil 100-5 C18, CatNo. 720120.46*)] kolonuna enjekte edildi. Elüsyon işlemi 0.8 mL/dakika akış hızında gerçekleştirildi. Pikler Ex.515/Em.553 dalga boylarında detekte edildi. MDA piki 3.7 dk oluştu. Örnek pikleri standart grafiği ile kantite edildi. Elde edilen MDA değerleri protein başına oranlanarak düzeltildi. Doku MDA düzeyleri µmol/g protein olarak verildi.

Histopatolojik İncelemeler

Tüm histopatolojik değerlendirmeler, grupları bilmeyen bir histolog tarafından gerçekleştirildi. İleum dokuları %10’luk tamponlu formaldehit içinde fikse edildi, 24-48 saat bekletildikten sonra rutin histolojik takip işlemlerinin ardından dokular parafin bloklar haline getirildi. Mikrotom (*Leica RM2235, Almanya*) yardımıyla ince barsak dokusundan mikrotom bıçağı (*Feather S35*) yardımıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesit örnekleri lamlara alındı ve hematoksilin-eosin (H&E) ile boyandı.

Kesitlerden elde edilen görüntülerin incelenmesinde bilgisayarlı video kamera esaslı görüntü analiz yöntemi kullanıldı (*UTHSCSA Image Tool software, for windows 3.0, Texas Univ, Amerika*). Tüm kesitler (her doku için en az 4 kesit) incelendi; sadece boyamaya bağlı belirgin artefaktları olan kesitler değerlendirme dışı tutuldu. Boyama tamamlandıktan sonra kesitler ışık mikroskopunda (*Olympus BX-51 Tokyo, Japonya*) incelendi ve görüntüler yüksek çözünürlüğe sahip kamera yardımıyla bilgisayara aktarıldı (*Olympus DP-70, Tokyo, Japonya*) Bütün incelenecek olan kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

Barsak dokusundan elde edilen kesitlerin histopatolojik değerlendirmeleri, Chiu ve ark. (9) tanımladığı barsak skorlamasına göre yapıldı, mukozal lezyonlar 0 ile 5 arasında derecelendirildi (Tablo-2).

Tablo-2. İnce barsağın histopatolojik değerlendirilmesi, Chiu skoru (9)

SKOR	BULGU
0	Normal mukozal villus
1	Kapiller konjesyonla birlikte villus üst ucunda subepitelial ayrılmalar
2	Subepitelial ayrılmaların mukoza epitelini yukarı doğru ittiği orta yoğunluktaki görünüm
3	Subepitelial ayrılmaların büyük oranda gözlenmesi, villus boyunca mukozal epitelin yoğun olarak yukarı doğru itildiği villus uçlarında deformasyonlar
4	Dilate kapillerlerle birlikte lamina propriyaya dek ulaşan villus deformasyonu
5	Lamina proprianın ülserasyonu, bütünlüğünün bozulması ve hemoraji

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

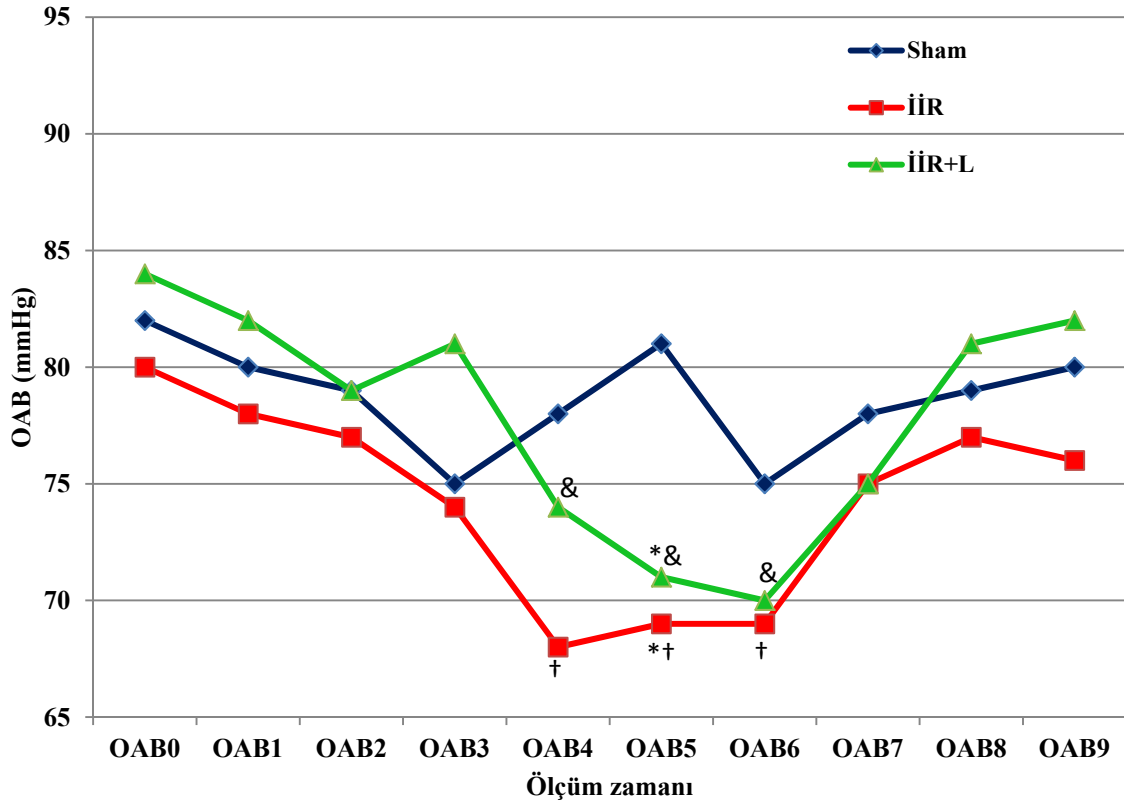
İstatistiksel değerlendirme için *Statistical Package of Social Sciences 15 (SPSS 15,0, Chicago, IL, USA)* programı kullanıldı. Verilerin analizinde *Kruskal-Wallis* varyans analizi uygulandı. Grupların ikili karşılaştırmaları için *Mann-Whitney U* testi, grup içi karşılaştırılmasında *Friedman* testi ve *Wilcoxon* testi uygulandı. Tüm değerler ortalama \pm standart sapma (ort \pm ss) olarak gösterildi. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR:

DEÜTF Multidisipliner Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen çalışmaya ortalama ağırlıkları 270 gr (250-300 gr) olan toplam 21 rat dahil edildi, tüm denekler çalışmayı tamamladı.

Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri

Üç grubun değerlendirmeye alınan OAB'leri arasında reperfüzyonun 30. dk. sı (OAB-5) dışında anlamlı fark saptanmamıştır. OAB-5, İİR ve İİR+L gruplarında *sham* grubuna oranla düşük bulunmuştur ($p=0.011$, $p=0.011$). İİR ve İİR+L grupları arasında OAB değerleri istatistiksel fark göstermemiştir. Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında, *sham* grubunda hiçbir ölçüm arasında fark saptanmazken, İİR ve İİR+L gruplarında bazale göre reperfüzyonun 15. (OAB-4), 30. (OAB-5) ve 60. dk. (OAB-6) değerlerinde azalma izlenmiştir ($p=0.000$). Bunlar dışında kalan ölçüm zamanları arasında ise fark saptanmamıştır.



Grafik-1. Ortalama arteriyel basınç değerleri

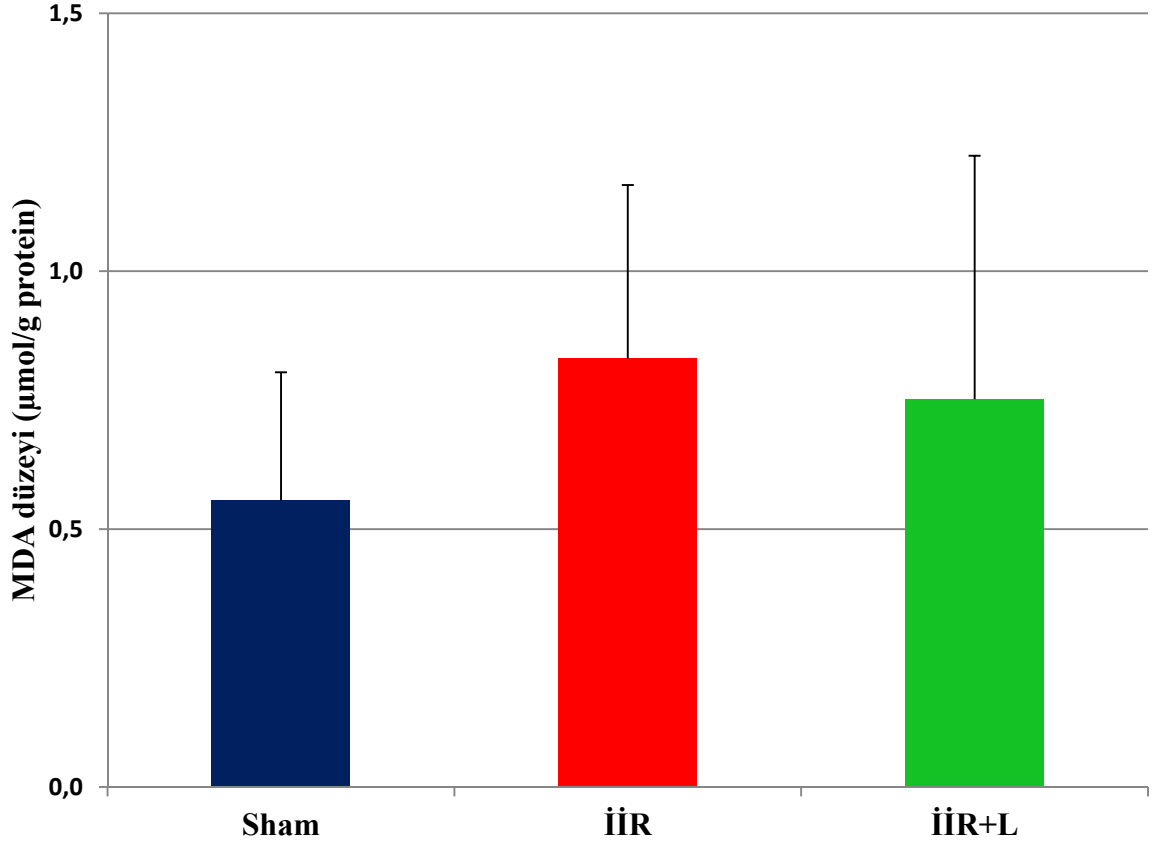
*: İİR ve İİR+L grupları ile *sham* grubu karşılaştırıldığında ($p=0.011$, $p=0.011$)

&: İİR+L grubu, grup içinde bazale göre karşılaştırıldığında ($p=0.000$)

†: İİR grubu, grup içinde bazale göre karşılaştırıldığında ($p=0.000$)

Doku Malonildialdehid (MDA) ($\mu\text{mol/g protein}$) Düzeyleri

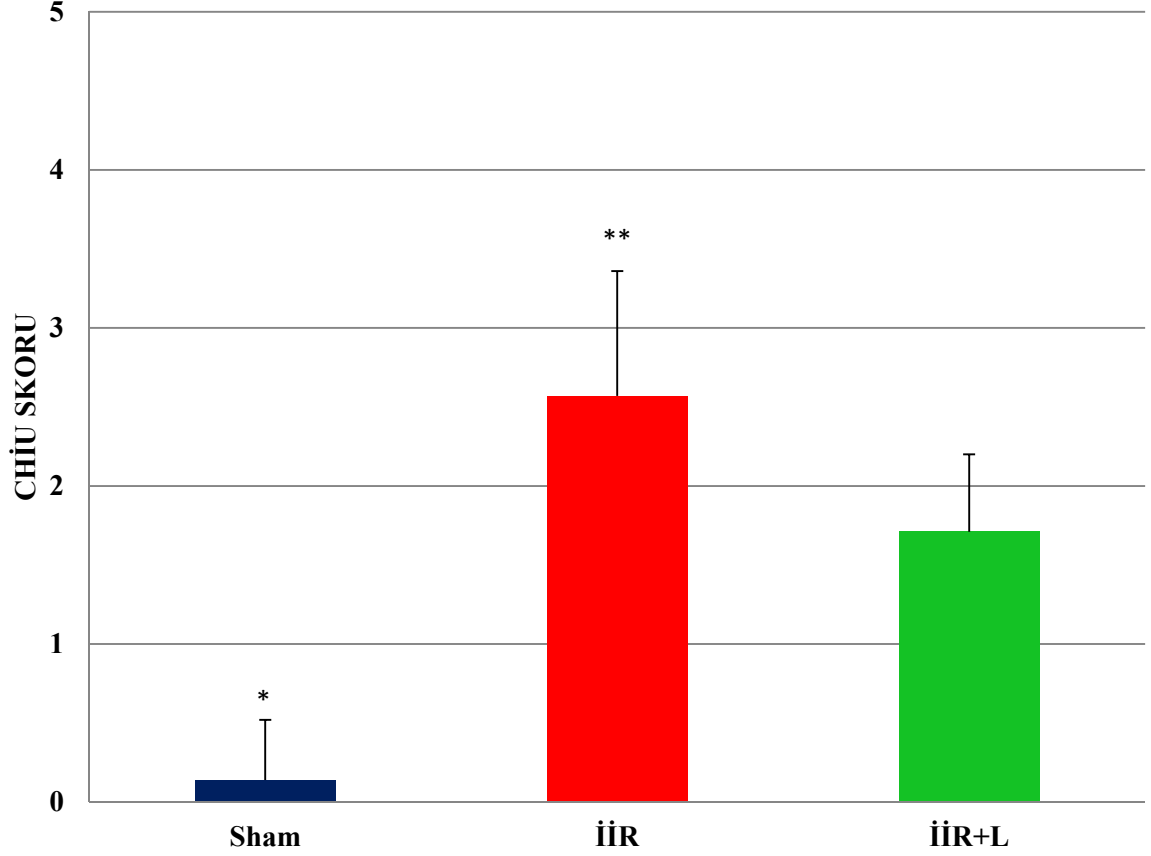
Sham ($0,555 \pm 0,249$), *İİR* ($0,83 \pm 0,338$) ve *İİR+L* ($0,752 \pm 0,472$) gruplarının MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.351$) (Grafik-2).



Grafik-2. İnce barsak dokusunda MDA düzeyleri ($p>0,05$)

Histopatolojik Bulgular (Chiu Skoru) (Tablo-2):

Grupların Chiu skorları karşılaştırıldığında *Sham* (0.14 ± 0.38) grubu skorlarının İİR (2.57 ± 0.79) ve İİR+L (1.71 ± 0.49) gruplarına göre belirgin düşük ($p=0.001$ ve $p=0.001$); İİR grubunun Chiu skorlarının ise İİR+L grubuna oranla anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.03$) (Grafik-3).

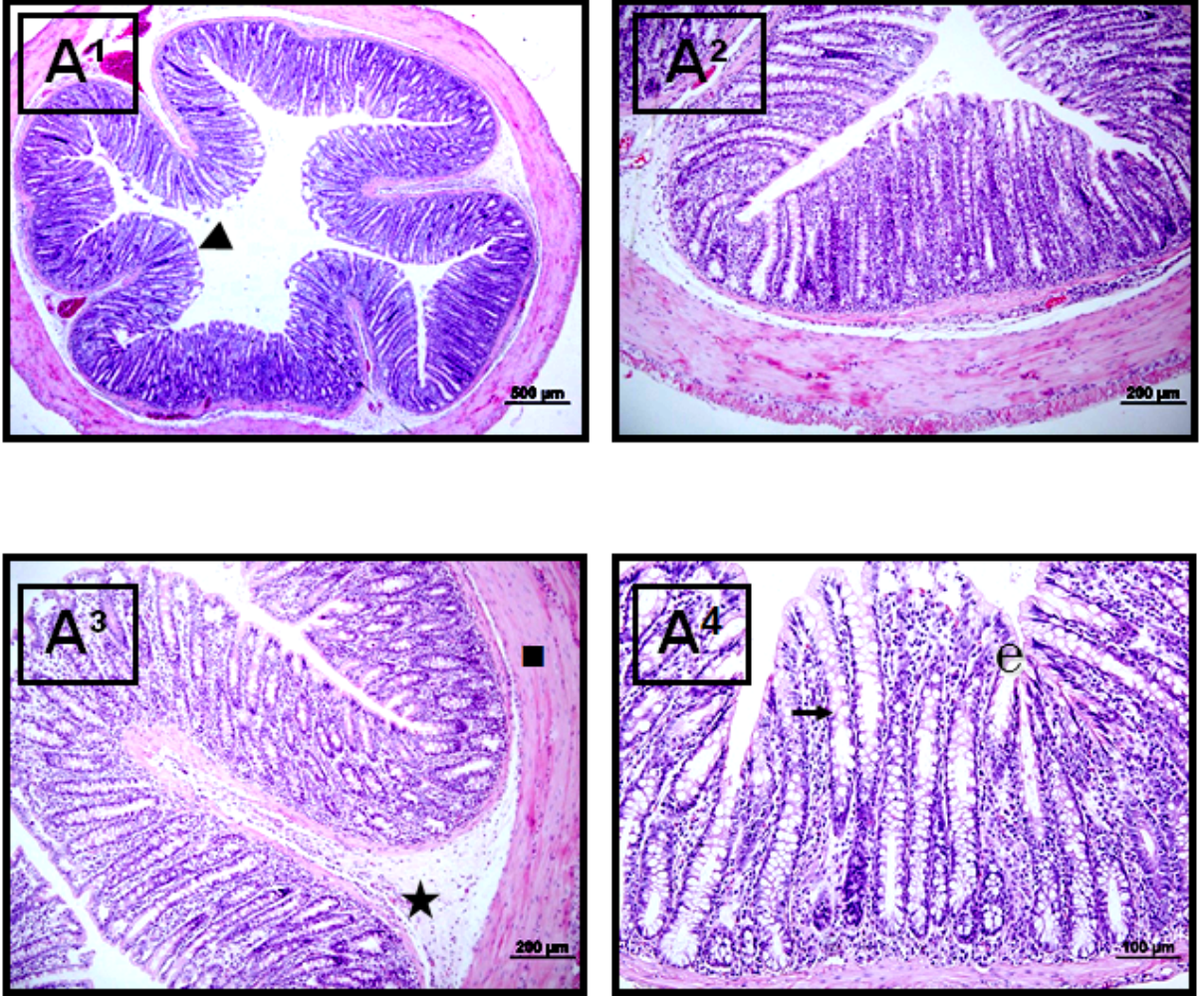


Grafik-3. İnce barsak dokusunun histopatolojik değerlendirilmesi

* *Sham* grubu ile İİR ve İİR+L grupları karşılaştırıldığında ($p=0.001$)

** İİR+L grubu ile İİR grubu karşılaştırıldığında ($p=0.03$)

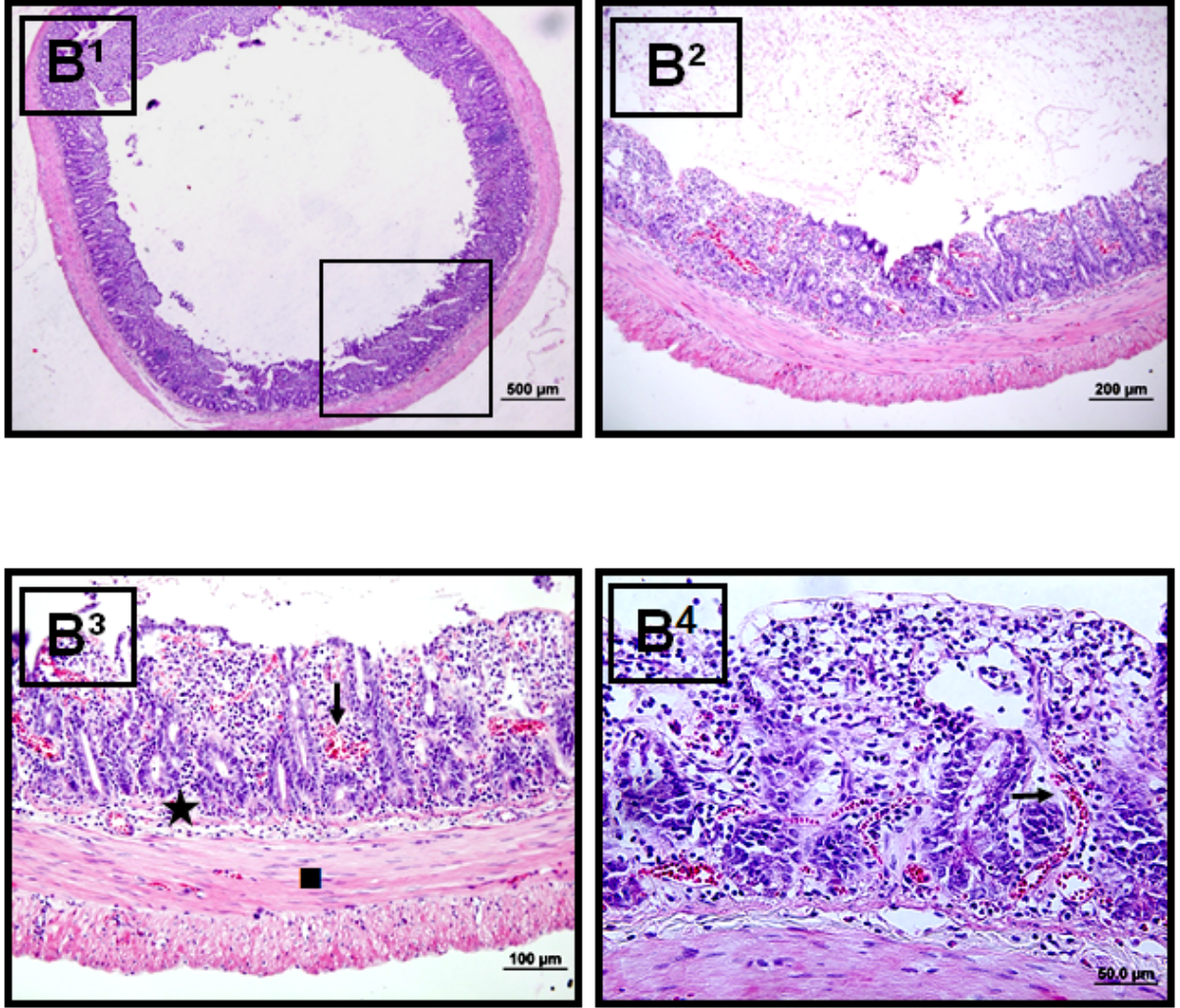
Sham grubunun ince barsak kesitlerinin mikroskopik incelenmesi sonucu, doku bütünlüğünün normal olduğu, lamina propriyada morfolojik değişikliklerin oluşmadığı ayrıca ülserasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, kapiller permeabilite artışı ve hemorajiye rastlanmadığı saptanmıştır (Resim-6).



Resim-6. *Sham* grubuna ait mikroskopik görüntüler. Normal ince barsak mukozası. (▲) plika sirkularisi, (e) epitel tabakasını, (→) goblet hücrelerini, (★) submukoza tabakasını, (■) tunika muskularisi göstermektedir. (H&E)

A1: x4, A2: x10, A3: x10, A4: x20 büyütme

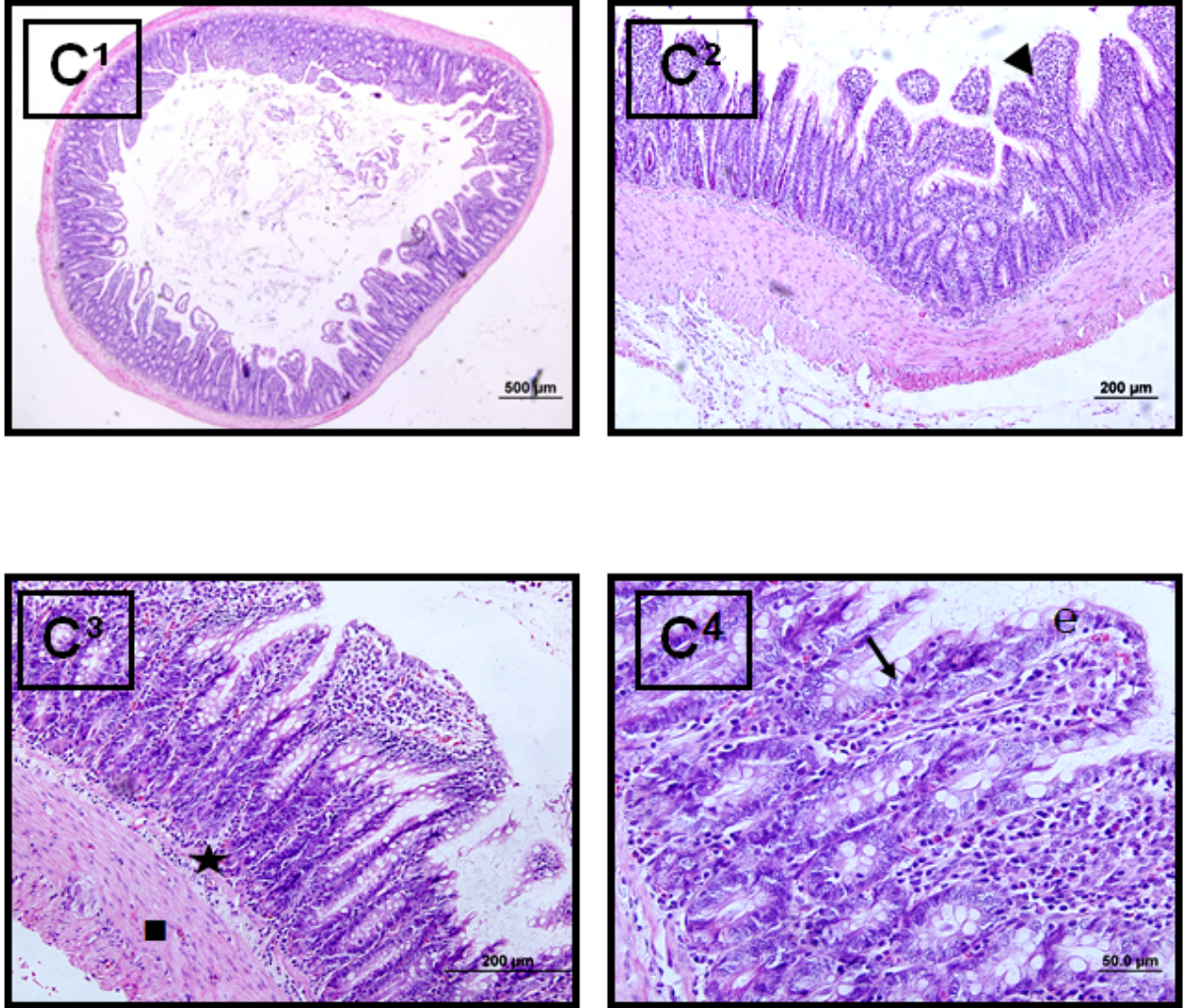
İİR grubunun ince barsak kesitlerinde villus bütünlüğünün bozulduğu, villuslarda kısalma, küntleşme ve birleşmeler olduğu, villus epitel hücrelerinde dökülmeler ve kripta sayısında azalma ile birlikte goblet hücrelerinin sayısında da azalma gözlenmiştir. Lamina propriyada, mononükleer hücre infiltrasyonu, kapiller permeabilitede artış ve hemoraji olduğu izlenmiştir (Resim-7).



Resim-7. İİR grubuna ait mikroskopik görüntüler. Villus dejenerasyonu, kapiller permeabilitede artış ve konjesyon (→), mononükleer hücre artışı, intraepitelial hemoraji ve ülser gözlenmekte, plika sirkularis ve epitel tabakasında dejenerasyon izlenmektedir. (★) submukoza tabakasını, (■) tunika muskularisi göstermektedir. (H&E)

B1: x4, B2: x10, B3: x20, B4: x40 büyütme

İİR+L grubunda ise İİR grubuna göre villus yapılarının daha iyi korunduğu, daha az miktarda mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu, lamina propriyada vasküler dilatasyon ve hemorajiye daha az miktarda rastlandığı belirlenmiştir (Resim-8).



Resim-8. İİR+L grubuna ait mikroskopik görüntüler. (e) epitel tabakasını, (★) submukoza tabakasını, (■) tunika muskularisi, (→) goblet hücrelerini göstermektedir. (H&E)

C1: x4, C2: x10, C3: x10, C4: x40 büyütme

TARTIŞMA:

İntestinal iskemi ve reperfüzyon, inflamatuvar sitokinler ve SOR'nin oluşumuna yol açmaktadır (39). Sitotoksik olaylar barsağın bariyer işlevini bozarak toksik ürünlerin sistemik dolaşıma geçmesine ve gerek bölgesel gerekse akciğer başta olmak üzere böbrek, karaciğer, kalp gibi organları etkileyerek ÇÖY'ne neden olmaktadır (43).

Çoklu organ yetersizliğinde mortalite etkilenmiş organ sayısı ile ilişkilidir. Dört veya daha fazla organ yetersizliği durumunda, yapılan tedavinin türü ve yoğunluğundan bağımsız olarak mortalite %90'ı bulmaktadır. Çoklu organ yetersizliğinde oluşan oksijen açığı ile sağ kalım doğrudan ilişkili olup dokuya oksijen sunumunu arttıran her türlü girişimin sağ kalımı olumlu etkilediği bildirilmiştir (75). İskemi reperfüzyon hasarını azaltmak ve ÇÖY gelişmesini engellemek için temel tedavi yöntemleri bulunmaktadır (76). Bu amaçla İÖK, antioksidan ajanlarla tedavi, NO uygulamaları, antikompleman terapi ve çeşitli ajanlarla oluşturulan FÖK kullanılmıştır (77). Bu çalışma, intestinal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulduktan sonra levosimendan uygulanan ve ilacın hasar üzerine etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Birçok çalışmada, deneysel İİR hasar modelini oluşturmak için farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri uygulanmıştır. Mallick ve ark. deneysel modellerini 30 dk iskemi, 120 dk reperfüzyon yaparak oluşturmuşlardır (3). Arruda ve ark. İİR hasarının bronş hiperaktivitesi ve serum TNF- α düzeyleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında hasar modelini 45 dk iskemi, 120 dk reperfüzyon şeklinde belirlemişlerdir (78). Çalışmamızda daha uzun iskemi süresi amaçlanmış, Özkaya (21) ve Zhang (10) tarafından kullanılan 60 dk iskemi, 120 dk reperfüzyon modeli uygulanmıştır.

Çalışmamızda 12 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ levosimendan yükleme dozunu takiben 0,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ levosimendan idame infüzyonu kullanılmıştır. Katircioğlu ve ark (19) tavşan spinal İİR modelinde, iskemi öncesi 12 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ 10 dk levosimendan yüklemesini takiben 30 dk iskemi süresince 0,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ infüzyon uygulayıp 24 saat reperfüzyon sağladıkları çalışmalarında, *Tarlov* skoru, TBARS ve MPO değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulmuşlardır. Ön tedavi olarak uygulanan levosimendanın rat İİR modelinde ince barsak hasarlanması üzerine etkilerini araştıran Özkaya ve ark.'nın (21) çalışmasında iskemi öncesi 12 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ levosimendan yükleme dozunu takiben 60 dk iskemi boyunca 0,2 $\mu\text{g/kg/dk}$ idame

infüzyonu kullanılmıştır. Ajanın önerilen klinik dozu 6-24 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ yükleme dozu sonrası 0,05-0,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ infüzyon olarak bildirilmiştir (79). Çalışmamızda iki deneysel araştırmada etkinliği gösterilmiş (19,21) ve kliniğe de uygun olan 12 $\mu\text{g.kg}^{-1}/10$ dk yükleme dozunu takiben 0,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ idame infüzyon dozu tercih edilmiştir.

Araştırmamızda grupların bazal OAB'leri arasında fark bulunmamış, bununla birlikte reperfüzyon döneminde İİR ve İİR+L gruplarında *sham*'a oranla reperfüzyonun 30.dk sında (OAB-5) anlamlı azalma saptanmıştır. Bu reperfüzyon sonrası için tahmin edilebilir bir sonuçtur. Ahmetova ve ark. (80) hepatic İR modelinde levosimendanın etkisini sorguladıkları çalışmalarında benzer şekilde İR grubunda reperfüzyonun 15. ve 45. dk OAB ölçümlerinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Yükleme dozunu takiben 10-30 dk içinde levosimendan etkisinin pik yaptığı, pozitif inotropik etkilerine ek olarak miyozit ve vasküler düz kas hücrelerinde ATP bağımlı K^+ kanallarını açarak sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona yol açarak hipotansiyona neden olduğu bildirilmektedir (63). Oldner ve ark. (15) endotoksinden önce başlanan levosimendan infüzyonunun sistemik vasküler direnç indeksinde % 37, ortalama arteriyel basınçta yaklaşık % 22'lik azalmaya neden olduğunu öne sürmüşlerdir. İlginç olarak çalışmamızda 10 dk 12 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ yükleme ve 50 dk 0.2 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ levosimendan infüzyonunu takiben OAB-8 ve OAB-9'da azalma olmamıştır. Bu zaman dilimlerinde her 3 grup arasında da beklenen fark ortaya çıkmamış, hatta istatistiksel anlamlılık olmamakla birlikte İİR+L grubu kan basıncı değerlerinin *sham* grubuna benzer olduğu izlenmiştir. Bu sonuç İİR'de levosimendanın kardiyak performansı artırarak (62), reperfüzyona rağmen sistemik kan basıncını koruduğunu düşündürmüştür.

İntestinal İR hasarı sonucu artan SOR ve hidrojen peroksidin, LP'nu ve protein hasarını başlatarak hücre apoptozisi ve doku nekrozuna yol açtığı bildirilmiştir. Lipid peroksidasyonu sonucu MDA, TBARS açığa çıkmaktadır (33). Çalışmamızda dokularda SOR oluşumunun göstergesi olarak lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA düzeyi ölçülmüştür. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında fark saptanmamakla birlikte MDA düzeylerinin İİR grubunda en yüksek, *sham* grubunda ise en düşük olduğu, İİR+L grubunda ise MDA'nın İİR grubundan daha az olduğu izlenmiştir. Özkaya ve ark.'nın (21) çalışmasında İR periyodundan önce levosimendan uygulanmış, doku TBARS düzeyleri İİR grubunda *sham* ve İİR+L gruplarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu sonuç ön tedavi olarak uygulanan levosimendanın barsak iskemi reperfüzyonu sonrasında ortaya çıkan lipid peroksidasyonu

azalttığını göstermektedir. Miyozit kültüründe levosimendanın oksidatif strese etkisini araştıran Maytin ve ark. (81), ilacın klinik terapötik doz aralığında K-ATP kanallarını açtığını, hidrojen peroksidin oluşturduğu apoptozisten hücreyi koruduğunu bulmuşlardır. Bu nedenle levosimendanın bir diğer etkisinin direkt antioksidan özellik göstermesi yanı sıra FÖK olabileceği düşünülmüştür. Benzer şekilde deneysel İİR'de *oxymatrine* (5) ön tedavisinin lipid peroksidaz üretimi ve apoptotik indeksi azalttığı, GLP-2 (10) ve N-metil D-aspartat antagonisti (82) ön tedavilerinin de lipid peroksidasyonunu engellediği ifade edilmiştir. Çalışmamızda levosimendanın reperfüzyondan sonra uygulanmasının, lipid peroksidasyonunu azaltmada katkı sağladığı söylenebilirse de istatistiksel olarak gösterilememiştir.

İntestinal İR hasarının histopatolojik sınıflandırmasında değişik skorlar kullanılmaktadır. Chiu skoru (9), Park's skoru (83), Hierholzer ve ark. (84) tarafından kullanılan skora örnek olarak verilebilir. Chiu ve ark tarafından tanımlanan histopatolojik sınıflama basit, kullanılabilir olması, ince barsak doku hasarını iyi göstermesi ve literatürde deneysel İİR hasar modellerinde en çok kullanılan skor olması nedeniyle seçilmiştir.

Çalışmamızda İİR grubunda ince barsaklarda villus yapısının ileri derecede bozulduğu, lamina propriada ülserasyonlar ve mononükleer hücre infiltrasyonun belirgin olarak arttığı, dolayısıyla Chiu skorunun *sham* ve İİR+L gruplarının skorlarından anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır. İİR+L grubunda *sham* grubuna göre Chiu skorunda fark olmakla birlikte ışık mikroskopik görüntüleme hemoraji varlığı, ülserasyonlar ve mononükleer hücre sayılarının *sham* grubuna çok benzediği bildirilmiştir. Benzer histopatolojik bulgulara Özkaya ve ark.'nın (21) levosimendan, Mallick ve ark.'nın (3) *pyrolidine dithiocarbamate*, Topaloğlu ve ark.'nın (9) PGE₂, Zhang ve ark.'nın (10) GLP-2 ön tedavileri uygulayıp İİR hasarı oluşturdukları çalışmalarında da rastlanmaktadır.

Levosimendan splanknik ve mezenterik kan akımını olumlu etkileyerek intestinal perfüzyon ve oksijenizasyonu artırmaktadır (62,74,85). Dopamin de levosimendan gibi mezenterik kan akımını artırmakta ancak bu etkiyi oluşturan dozlarda negatif hepatik enerji balansı ortaya çıkmaktadır. Vazopressin ve epinefrin ise splanknik kan akımını azaltmaktadır (17). Levosimendan, pimobendan ve milrinonun kalp debisinin bölgesel dağılımına etkileri deneysel olarak araştırılmış, ilaçların hemodinamik etkileri benzer bulunmakla birlikte, levosimendanın ince barsak ve karaciğer kan akımını arttırırken splanknik damarlarda direnci

düşürdüğü belirlenmiştir (74). Garcia-Septiem ve ark. (85) domuzlarda İV E.Coli ile oluşturulan septik şok modelinde levosimendan ön tedavisinin portal kan akımını, barsak mukoza oksijenasyonunu ve pulmoner fonksiyonları iyileştirdiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda Chiu skoru, levosimendan uygulanan grupta İİR grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır. Bu sonucun nedenlerinin splanknik direnç azalması bölgesel kan akımı ve mukozal oksijenasyonun artması olabileceği düşünülmüştür. Benzer şekilde Schwartz ve ark (16), herhangi bir işlem yapılmamış köpeklerde levosimendan, dobutamin ve milrinonun mide mukozal Hb oksijenasyonu, oksijen transportu ve oksijen tüketimi üzerine etkilerini karşılaştırmışlar; dobutaminin oksijen tüketiminde artışa neden olurken, milrinonun mukoza oksijenasyonunu artırmadığı, levosimendanın ise mide mukoza oksijenasyonu ve sistemik oksijen transportunu yükseltirken oksijen tüketimini stabil tuttuğunu belirlemişlerdir. Gastrik mukozal oksijenizasyonu arttırmada levosimendanın milrinon ve dobutaminden üstün olduğunu vurgulayan çalışmacılar, levosimendanın splanknik iskemi riski olan hastalarda alternatif olarak kullanılmasını önermişlerdir (16).

Bu çalışma deneysel İİR'da levosimendanın hasar sonrası uygulanmasının etkisini sorgulayan ilk çalışmadır. Özkaya ve ark'nın (21) çalışmasında iskemi öncesinde başlatılan levosimendan infüzyonu; barsaklarda nötrofil birikimini, lipid peroksidasyonunu ve Chiu skorunu azaltmıştır.

Sonuç olarak intestinal reperfüzyonun 2.saatinden itibaren bir saat boyunca uygulanan levosimendan infüzyonu; hemodinamik olumsuz etkilenme oluşturmaksızın, histolojik hasar skorunu azaltmış ancak lipid peroksidasyonunu etkilediği gösterilememiştir. Klinikte iskeminin başlangıç zamanını bilmek zor olabilir. Bununla beraber cerrahi müdahaleden sonra oluşacak reperfüzyon aşamasında bile uygulanacak levosimendanın, barsak hasarına olumlu katkı sağladığı söylenebilir. Bu çalışmada nötrofil adezyonunu gösteren miyeloperoksidaz, inflamatuvar sitokinler, adezyon molekülleri çalışılmamıştır. Araştırma sonuçlarının klinikte destek bulabilmesi için uygulamanın başlatılma zamanı ve süresini araştıran ileri deneysel çalışmalara gereksinim olduğu kanaatine varılmıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu deneysel rat İİR modelinde, reperfüzyonun 2. saatinden sonra uygulanan levosimendan infüzyonunun ince barsak dokusu üzerine etkileri, hemodinamik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Levosimendan infüzyonu OAB' de azalmaya neden olmamıştır.

Levosimendanın MDA düzeylerini etkilediği istatistiksel olarak gösterilememiştir.

İntestinal İR sonrası başlayan levosimendan, ince barsak hasarını (Chiu skoru) azaltmıştır.

Levosimendanın intestinal reperfüzyon sonrasında uygulanması klinik yarar sağlayabilir.

Bu deneysel sonucun kapsamlı biyokimyasal parametreler ve reperfüzyon sürecinden başlayan ilaç uygulaması ile desteklenmesi uygun olacaktır.

KAYNAKLAR:

1. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8.
2. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras* 2005;20:336-43.
3. Mallick IH, Yang WX, Winslet MC, Seifalian AM. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces ischemia-reperfusion injury of the small intestine. *World J Gastroenterol* 2005;11:7308-13.
4. Naito Y, Katada K, Takagi T, Tsuboi H ve ark. Rosuvastatin reduces rat intestinal ischemia-reperfusion injury associated with preservation of endothelial nitric oxide synthase protein. *World J Gastroenterol* 2006;12:2024-30.
5. Zhao J, Yu S, Tong L, Zhang F ve ark. Oxymatrine attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Surg Today* 2008;38:931-7.
6. Lucchesi BR. Complement, neutrophils and free radicals: Mediators of reperfusion injury. *Arzneimittelforschung* 1994;44:420-32. Abstract
7. Simpson R, Alon R, Kozbik L, Valeri R ve ark. Neutrophil and non neutrophil mediated injury in ischemia-reperfusion. *Ann Surg* 1993;218:444-54.
8. Seyama A. The role of oxygen derived free radicals and the effect of free radical scavengers on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *Surg Today* 1993;23:1060-7. Abstract
9. Topaloğlu Ü, G¼ran M, Odabaşı M, Karadađ N ve ark. İnce barsaklarda mezenter arter iskemisine bağlı iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine PGE2' nin etkisi. *Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi* 1997;3:258-64.
10. Zhang W, Zhu W, Zhang J, Li N ve ark. Protective effects of glucagon-like peptide 2 on intestinal ischemia-reperfusion rats. *Microsurgery*, 2008;28:285-90.

11. Colak T, Polat A, Bagdatoglu O, Kanik A ve ark. Effect of Trapidil in Ischemia/Reperfusion Injury on Rat Small Intestine. *J Invest Surg* 2003;16:167-76.
12. Azeredo MA, Azeredo LA, Eleuthério EC, Schanaider A. Propofol and N-Acetylcysteine attenuate oxidative stress induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats. Protein carbonyl detection by immunoblotting. *Acta Cir Bras* 2008;23:425-8.
13. Jamali IN, Kersten JR, Pagel PS ve ark. Intracoronary levosimendan enhances contractile function of stunned myocardium. *Anesth Analg* 1997;85:23-9.
14. De Witt BJ, Ibrahim IN, Bayer E, Fields AM ve ark. An analysis of responses to levosimendan in the pulmonary vascular bed of the cat. *Anesth Analg* 2002;94:1427-33.
15. Oldner A, Konrad D. Effects of levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:2185-93.
16. Schwarte LA, Picker O, Bornstein SR, Fournell A ve ark. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Crit Care Med* 2005;33:135-42.
17. Woolsey CA, Coopersmith CM. Vasoactive drugs and the gut: is there anything new? *Curr Opin Crit Care* 2006;12:155-9.
18. Coopersmit CM. Levosimendan and gut mucosal blood flow – Not all inotropes are created equal. *Crit Care Med* 2005;33:246-7.
19. Katircioglu F, Seren M, Parlar AI, Turan NN ve ark. Levosimendan effect on spinal cord ischemia-reperfusion injury following aortic clamping. *J Card Surg* 2008;23:44-8.
20. Yakut N, Yasa H. The influence of levosimendan and iloprost on renal ischemia-reperfusion: an experimental study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008;7:235-9.
21. Özkaya O. Ratlarda intestinal iskemi reperfüzyon hasarına levosimendanın etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD Uzmanlık Tezi 2010.

22. Kumbul K. Deneysel intestinal iskemi ve reperfüzyon modelinde *caffaic acid phenethyl ester*'in akciğer hasarını önlemedeki etkinliği. SDÜTF Genel Cerrahi AD Uzmanlık Tezi 2007.
23. Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion. J Surg Res 1996;66:143-6.
24. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. Br J Surg 1994;81:637-47.
25. Rhodes RS, DePalma RG. Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock. Surg Gynecol Obstet 1980;150:347-52 Abstract.
26. Best B. Ischemia and reperfusion injury in cryonics. www.benbest.com/cryonics/ischemia.html
27. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 6th edition 2000:P:6-10,30-36.
28. Michalik L, Wahli W. Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair. J Clin Invest. 2006;116:598-606.
29. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. Crit Care Med 1993;21:1376-86.
30. Tosa Y, Lee WP, Kollias N, Randolph MA ve ark. Monoclonal antibody to interselluler adhesion molecule 1 protects skin flaps against ischemia-reperfusion injury: an experimental study in rats. Plast Reconstr Surg 1998;101:1586-94.
31. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986;250:749-53.
32. Udassin R., Vromen A., Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. J Surg Res 1994;56:221-5 Abstract.
33. Özçelik N, Dursun V, Pekmezci S. Mezenter iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde Allopurinol, Süperoksit Dismutaz ve Dimetil sülfoksitin etkisi. Kolon rektum dergisi 1993;3:10-2.

34. Lewis MS, Whatley RE, Cain P, McIntyre TM ve ark. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet activating factor by endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion. *J. Clin. Invest.* 1988;82:2045-55.
35. Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidasyon, and neutrophil infiltration after smallintestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989;105:593-597 Abstract.
36. Kuzu MA, Tarık A, Kale T, Aşlar AK ve ark. Effects of ischemia reperfusion as a systemic phenomenon on anastomotic healing in the left colon. *World J Surg.* 2000;24:990-4.
37. Haglund U. Gut ischemia. *Gut* 1994;1;73-6.
38. Mitsudo S, Brandt LJ. Pathology of intestinal ischemia. *Surg. Clin. North Am* 1992;72:43-63 Abstract.
39. Clark ET, Gewertz BL. İntermitant ischemia potentiates intestinal reperfusion injury. *J Vasc Surg.* 1991;13(5):601-6 Abstract.
40. Erden M. Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri* 1992;12;201-7
41. McCord JM, Roy RS. The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Can J Physiol Pharmacol* 1982;60:1346-52 Abstract.
42. Akgür FM, Olguner M, Yenici O, Gökden M, ve ark. The effect of allopurinol pretreatment on intestinal hypoperfusion encountered after correction of intestinal volvulus. *J Pediatr Surg* 1996;31:1205-7.
43. Köksoy C, Kuzu MA, Kuzu I, Ergün H ve ark. Role of tumour necrosis factor in lung injury caused by intestinal ischaemia-reperfusion. *Br J Surg* 2001;88:464-8.
44. Jun-Lin Z, Guo-Hua J, Yi-Ling Y, Jun-Lan Z ve ark. Role of nitric oxide and peroxy nitrite anion in lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. *World J Gastroenterol* 2003;9:1318-22.

45. Borjesson A, Norlin A, Wang X, Andersson R ve ark. TNF- α stimulates alveolar liquid clearance during intestinal ischemiareperfusion in rats. *Am J Physiol* 2000;278:3-12.
46. Towfigh S, Heisler T, Rigberg DA, Hines OJ. Intestinal ischemia and the gut-liver axis: An in vitro model. *J Surg Res* 2000;88:160-4.
47. Avlan D, Tamer L, Ayaz L, Polat A ve ark. Effects of trapidil on renal İschemia reperfusion injury. *J Pediatr Surg.* 2006;41:1686-93.
48. Turnage RH, Kadesky KM, Myers SI, Guice KS ve ark. Hepatic hypoperfusion after intestinal reperfusion. *Surgery* 1996;119:151-60.
49. Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol Rev* 2002;54:271-84.
50. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2001;426:1-10.
51. Shah PC, Brolin RE, Amenta PS, Deshmukh DR. Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury. *Mech Ageing Dev* 1999;107:37-50.
52. Oral T. İnsan biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002:665-74.
53. Yalçın SA. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998;2:342-7.
54. Birincioğlu M. İskemi-reperfüzyon tekniklerine genel giriş. www.tfd.org.tr/gaziantep.html
55. Davis JM, Gute DC, Jones S, Krsmanovic A ve ark. Ischemic preconditioning prevents postischemic P-selectin expression in the rat small intestine. *Am J Physiol* 1999;277:2476–81.
56. Peralta C, Fern´andez L, Pan´es J, Prats N ve ark. Preconditioning protects against systemic disorders associated with hepatic ischemia-reperfusion through blockade of tumor necrosis factor–induced P-selectin up-regulation in the rat. *Hepatology* 2001;33:100-13.

57. Olguner Ç, Koca U, Kar A, Karcı A ve ark. Ischemic preconditioning attenuates the lipid peroxidation and remote lung injury in the rat model of unilateral lower limb ischemia reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:150-5.
58. Koti RS, Seifalian AM, Davidson BR. Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications. *Dig Surg* 2003;20:383-96.
59. Gao C, Chai W, Xu L, Zhang G ve ark. Protective Effects of Hyperoxygenated Solution Preconditioning on Intestinal Ischemia–Reperfusion Injury in Rabbits *J Surg Res* 2006;135:268–74.
60. Li J, Zhang M, Yang C. Nitroglycerin protects small intestine from ischemiareperfusion injury via NO-cGMP pathway and upregulation of α -CGRP. *J Gastrointest Surg* 2009;13:478-85.
61. Kivikko M, Lehtonen L. Levosimendan: a new inodilatory drug for the treatment of decompensated heart failure. *Curr Pharm Des* 2005;11:435-55.
62. Pollesello P, Papp Z. The cardioprotective effects of levosimendan: Preclinical and Clinical evidence. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;50:257-63.
63. Kivikko M, Lehtonen L, Colucci WS. Sustained hemodynamic effects of intravenous levosimendan. *Circulation* 2003;107:81-6.
64. Du Toit EF, Muller CA, McCarthy J, Opie LH. Levosimendan: effects of a calcium sensitizer on function and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia/reperfusion in the Langendorff-perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290:505-14.
65. Harjola VP, Oikarinen L, Toivonen L, Jurkko R ve ark. The hemodynamic and pharmacokinetic interactions between chronic use of oral levosimendan and digoxin in patients with NYHA Classes II-III heart failure. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2008;46:389-99.

66. Nieminen MS, Bohm M, Cowie MR, Drexler H ve ark. Executive summary of the guidelines on the diagnosis and treatment of acute heart failure: the Task Force on Acute Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;26:384-416.
67. Krassoi I, Pataricza J, Kun A Papp JG. Calcium-dependent vasorelaxant capacity of levosimendan in porcine and human epicardial coronary artery preparations. *Cardiovasc Drugs Ther* 2000;14:691-3.
68. Pataricza J, Hohn J, Petri A, Balogh A ve ark. Comparison of the vasorelaxing effect of cromakalim and the new inodilator, levosimendan, in human isolated portal vein. *J Pharm Pharmacol* 2000;52:213-7.
69. Ozdem SS, Yalcin O, Meiselman HJ, Baskurt OK ve ark. The role of potassium channels in relaxant effect of levosimendan in rat small mesenteric arteries. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006;20:123-7.
70. Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N . Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes. *Eur J Pharmacol* 1997;333:249-59.
71. Di Giantomasso D, May CN. Norepinephrine and vital organ blood flow. *Intensive Care Med* 2002;28:1804-9.
72. Guerin JP, Levraut J Samat-Long C, Leverse X ve ark. Effects of dopamine and norepinephrine on systemic and hepatosplanchnic hemodynamics, oxygen exchange and energy balance in vasoplegic septic patients. *Shock* 2005;23:18-24.
73. Hildebrand LB, Krejci V, Sigurdsson GH. Effects of dopamine, dobutamine and dopexamine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract during sepsis and anesthesia. *Anesthesiology* 2004;100:1188-97.
74. Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. Influence of levosimendan, pimobendan and milrinone on the regional distribution of cardiac output in anaesthetized dogs. *Br J Pharmacol* 1996;119:609-15.

75. Reinhart K, Bloos F, Brunkhorst: Pathophysiology of sepsis and MOF in Textbook of Crit Care 5th Ed. 2005.
76. Eriş O, Çankayalı İ, Sezer E. Ratlarda oluşturulan hemorajik şok modelinde NAsetilistein' in oksidatif stres üzerine olan etkisi. J Turk Anaesth Int Care 2009;37:208-16.
77. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM ve ark. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. Dig Dis Sci. 2004;49:1359-77.
78. de Arruda MJ, Poggetti RS, Fontes B, Younes RN ve ark. Intestinal ischemia/reperfusion induces bronchial hyperreactivity and increases serum TNF- α in rats. Clinics 2006;61:21-8.
79. Antoniadis C, Tousoulis D, Koumallos M, Marinou K ve ark. Levosimendan: Beyond its simple inotropic effects in heart failure. Pharmacol Ther 2007;114:184-97.
80. Ahmetova A. Ratlarda oluşturulan deneysel karaciğer iskemi-reperfüzyon modelinde levosimendan infüzyonunun etkilerinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD Uzmanlık Tezi 2010.
81. Maytin M, Colucci WS. Cardioprotection: a new paradigm in the management of acute heart failure syndromes. Am J Cardiol. 2005;96:26-31.
82. Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-de la Garza FJ, Alarcon-Galvan G, Cordero-Perez P ve ark. The effects of NMDA receptor antagonists over intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. Eur J Pharmacol 2009;621:78-85.
83. Stallion A, Kou TD, Latifi SQ, Miller KA ve ark. Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation. J Pediatr Surg 2005;40:470-7.
84. Hierholzer C, Kalff JC, Audolfsson G, Billiar TR ve ark. Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury. Transplantation 1999;68:1244-54.

85. Garcia-Septien J, Lorente JA, Delgado MA, de Paula M ve ark. Levosimendan increases portal blood flow and attenuates intestinal intramucosal acidosis in experimental septic shock. Shock 2010;34:275-80.

EK: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı

35340, Inciraltı, İzmir-232 4122234
http://deu.edu.tr/idenyetik/

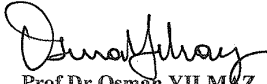
Toplantı No : 11/14/2010
Toplantı Tarihi : 16 Temmuz 2010

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

43/2010 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı Doktorlarından Dr.Hakan AYGÜN'ün yürütücüsü olduğu "**Deneyel intestinal iskemi reperfüzyon modelinde reperfüzyon sonrası uygulanan levosimendanın etkileri**" isimli projede;

- Çalışmada ilacın verilmiş zamanı önemlidir. Tekrar gözden geçirilmesi gerekmektedir. Projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı

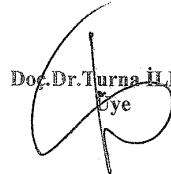

Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı


Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye

Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye(topl.katılmadı)


Prof.Dr.Selman SÖKMEN
Üye

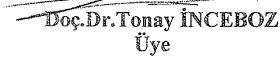
Prof.Dr.O.Neşe SARIOSMANOĞLU
Üye


Doç. Dr.Turna İLKNUR
Üye

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye

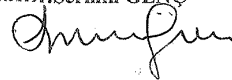
Doç.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye(topl.katılmadı)

Doç.Dr.A.Hüseyin BASKIN
Üye (topl.katılmadı)


Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye

Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye

Ayşe Nur BALIN
Üye(topl.katılmadı)

Doç.Dr.Sermin GENÇ


NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.