



T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL NEKROTİZAN ENTEROKOLİT
MODELİNDE BİR RHOKİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ
OLAN Y-27632 İLE TEDAVİNİN BARSAK HASARI
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül BALLYEMEZ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ercan SİVASLI

TEMMUZ-2010

T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL NEKROTİZAN ENTEROKOLİT
MODELİNDE BİR RHOKİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ
OLAN Y-27632 İLE TEDAVİNİN BARSAK HASARI
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül BALLYEMEZ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ercan SİVASLI

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından TF.10.01 proje numarası ile desteklenmiştir.

I. ÖNSÖZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalıştığım süre boyunca eğitimimde emeği geçen, her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen, bu çalışmayı yapmamda sonsuz katkısı olan ve her zaman yol gösteren tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ercan Sivaslı'ya, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, başta Gaziantep Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Yavuz Coşkun, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayşe Balat ve Anabilim Dalındaki diğer öğretim üyelerime şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmalarım döneminde yardımlarından dolayı; Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Haluk Ceylan'a ve araştırma görevlisi arkadaşım Dr. Ahmet Gözen'e, histopatolojik değerlendirmede destek ve yardımları için Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Ediz Tutar ve Dr. Şule Ekiz'e, biyokimyasal değerlendirmede yardımlarını esirgemeyen Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Mehmet Tarakçıoğlu ve Sayın Doç. Dr. Seyithan Taysı'ya, tezimin istatistik analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek'e teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne kadar varlıklarıyla bana hep destek olan, hayatımı paylaştığım eşim Orhan'a, yaşama sevincim oğlum Enes Murat'a, ayrıca aileme teşekkür ederim.

Dr. Gül BALLYEMEZ
Gaziantep-2010

II. İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
KISALTMALAR.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
RESİMLER LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Barsakların Embriyolojisi.....	3
2.2. Barsakların Anatomisi.....	5
2.2.1. İnce Barsaklar.....	5
2.2.2. Kalın Barsaklar.....	12
2.3. Nekrotizan Enterokolit.....	18
2.3.1. Tarihçe.....	18
2.3.2. İnsidans.....	18
2.3.3. Patogenez.....	19
2.3.3.1. Prematürite.....	19
2.3.3.2. İntestinal İskemi/ Asfiksi.....	20
2.3.3.3. Enteral Beslenme.....	23
2.3.3.4. Bakteriyel Kolonizasyon ve Sepsis.....	24
2.3.3.5. İlaçlar.....	25
2.3.4. Patoloji.....	25
2.3.5. Klinik.....	26
2.3.6. Laboratuvar Bulguları.....	28
2.3.7. Radyolojik Bulguları.....	28
2.3.8. Tanı.....	29
2.3.9. Tedavi.....	30
2.3.9.1. Medikal Tedavi Basamakları.....	30

2.3.9.2. Cerrahi Tedavi.....	30
2.3.10. Prognoz.....	31
2.3.11. Korunma.....	31
2.4. Rhokinaz Sistemi Ve İnhibitörleri.....	32
2.4.1. Rho/Rhokinaz Yolağı.....	32
2.4.2. Rho/Rhokinaz Aktivitesinin Düzenlenmesi.....	32
2.4.3. Rhokinaz İnhibitörleri.....	33
2.4.4. Rho/Rhokinaz Yolağının Fonksiyonları.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. Deney Hayvanları.....	37
3.2. Deney Protokolü.....	37
3.3. Histopatolojik İncelemeler.....	38
3.4. Biyokimyasal İncelemeler.....	39
3.4.1. Doku MDA Düzeyi Tayini.....	39
3.4.2. Doku NO Düzeyi Tayini.....	39
3.5. İstatiksel Değerlendirmeler.....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	40
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	42
4.2.1. MDA.....	42
4.2.2. NO.....	42
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR.....	51
7. KAYNAKLAR.....	52
8. EKLER.....	65

III. ÖZET

DENEYSEL NEKROTİZAN ENTEROKOLİT MODELİNDE BİR RHO KİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ OLAN Y-27632 İLE TEDAVİNİN BARSAK HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Dr. Gül BALLYEMEZ

Uzmanlık Tezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez danışmanı: Doç. Dr. Ercan SİVASLI

Temmuz 2010, 67 sayfa

Nekrotizan enterokolit (NEK) yenidoğan periyodunda en sık hayatı tehdit eden gastrointestinal sistem acilidir. İnsidansı yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde % 1-10'dur. Azalan doğum ağırlığı ve gestasyonel yaşla hastalığın hem insidansı hem de vaka ölüm oranı artmaktadır. Nekrotizan enterokolit için en büyük risk faktörü prematüritedir. Nekrotizan enterokolit patogeneziindeki en önemli faktörün mezenter iskemisi olduğu ileri sürülmektedir. İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikallerinin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da artırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdıkları düşünülmektedir.

Bu tezin amacı, deneysel nekrotizan enterokolit modelinde Y-27632 ile tedavinin barsak hasarı üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde 2009-2010 yılları arasında yapılan deneysel bir çalışmadır. Etik Kurul onayı almıştır. Her birinde 10 adet denek bulunan 4 grup oluşturuldu. Grup 1: Hiçbir işlem ve tedavi uygulanmayan grup (sham grubu) , Grup 2: H/R oluşturulan sıçan yavrularına 5 gün süreyle her gün intraperitoneal yoldan (i.p) % 0.9 NaCl verildi (kontrol grubu), Grup 3: H/R sonrasında 5 gün süreyle her gün i.p yoldan 0.3 mg/kg/gün Y-27632 verildi, Grup 4: H/R sonrasında sıçan yavrularına i.p yoldan 5 gün süreyle 3 mg/kg/gün Y-27632 verildi. Sıçan yavruları deney protokolünün tamamlanmasından bir gün sonra dekapitasyon ile öldürüldü ve çıkarılan barsak dokusu üzerinde histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler yapıldı. Deney süresince ölen sıçan yavruları çalışmaya dahil edilmedi. Grup 1'de yer alan sıçan yavrularından alınan dokularda patolojik bulgu saptanmadı. Grup 2'de histopatolojik grade en yüksek saptanıp tedavi verilen Grup 3 ve Grup 4'de histopatolojik skor anlamlı olarak düşük bulundu. Grup 2'de MDA düzeyi en yüksek bulunup diğer gruplarda düşük bulundu. Grup 2'de NO düzeyi en düşük olup Grup 3 ve Grup 4'de Grup 2'ye göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Bu deneysel çalışmada Y-27632'nin sıçan yavrularında hipoksi reoksijenizasyon sonrası oluşan barsak hasarındaki iyileştirici etkisi histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Y-27632, Nekrotizan enterokolit, Rho kinaz

IV. ABSTRACT

EFFECTS OF RHO KINASE ENZYME INHIBITOR Y-27632 TREATMENT TO THE BOWEL DAMAGE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF NECROTIZING ENTEROCOLITIS

Dr. Gül Balyemez

Residency thesis, Department of Pediatrics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ercan Sivasli

July 2010, 67 pages

NEC is the most common life threatening gastrointestinal urgent in the neonatal period. The incidence in the neonatal intensive care units is %1-10. Both the incidence and the case fatality increases with low birth weight and gestational age. The greatest risk factor for NEC is prematurity. Mesenteric ischemia is suggested the most important factor in the NEC pathogenesis. In the reperfusion phase after ischemia, increasing production of free oxygen radicals increase the damage of intestinal mucosa and causes ulceration and necrosis.

The aim of this thesis is to investigate the effects of Y-27632 treatment to the bowel damage in an experimental model of necrotizing enterocolitis. This is an experimental study made between the years 2009-2010 in Gaziantep University, Faculty of Medicine, Neonatal Intensive Care Unit. Ethics Committee approval has been received. Four groups each having 10 subjects were created. Group 1: Sham group which received no treatment, Group 2: %0.9 NaCl was given via intraperitoneal way (i.p) to the H/R created newborn rats every day for 5 days (control group), Group 3: After H/R 0.3 mg/kg/day Y-27632 was given via i.p way to the newborn rats for 5 days, Group 4: After H/R 3 mg/kg/day Y-27632 was given via i.p way to the newborn rats for 5 days. Newborn rats were killed via decapitation after the completion of the experimental protocol and histopathological and biochemical investigations were performed on the extracted intestinal tissue. The newborn rats which died during the study were not included. In Group 1, there was no pathological finding in tissues taken from young rats. The highest histopathological grade was detected in Group 2. The histopathological scores were significantly low in treated Groups 3 and 4. MDA level was highest in Group 2. NO level was lowest in Group 2, and it was significantly higher in Groups 3 and 4 when compared to Group 2.

Intestinal injury occurs in young rats after hypoxia reoxygenation. In this experimental study, the intestinal healing effect of Y-27632 is shown with histopathological and biochemical parameters.

Key words: Y-27632, Necrotizing enterocolitis, Rho kinase

V. KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
DİK	: Yaygın damar içi pıhtılaşma
eNOS	: Endotelyal nitrik oksid sentaz
GGK	: Gaytada gizli kan
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GAP	: GTP'az aktive edici protein
H/R	: Hipoksi/ reoksijenizasyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
Ig A	: İmmünglobulin A
IL-1	: İnterlökin-1
IL-3	: İnterlökin-3
IL-6	: İnterlökin-6
IUBG	: İntrauterin büyüme geriliği
sIg A	: Sekretuar immünglobulin A
LTB ₄	: Lökotrien B ₄
LTC ₄	: Lökotrien C ₄
MDA	: Malondialdehit
MLC	: Myozin hafif zincir fosfatazı
MPO	: Myeloperoksidaz
NEK	: Nekrotizan enterokolit
NO	: Nitrik oksit
NO ₂	: Nitrit
NO ₃	: Nitsıçan
O ⁻	: Süperoksit anyonu
OH	: Hidroksil anyonu
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PAH-AH	: PAF-spesifik asetil-hidrolaz
SCFA	: Kısa zincirli yağ asitleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Thiobarbituric asit

TLR	: Toll-like reseptörleri
TNF- α	: Tümör nekrotizan faktör-alfa
XO	: Ksantin oksidaz
YYBÜ	: Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Nekrotizan Enterokolit'teki Klinik Bulgular.....	27
Tablo 2. Nekrotizan Enterokolitte Modifiye Bell Evrelemesi.....	28
Tablo 3. Çalışmaya alınan gruplardaki sıçan yavrularının barsaklarının histopatolojik değerlendirme (grade) skorları.....	41
Tablo 4. Çalışma gruplarındaki sıçan yavrularının barsaklarındaki ($\mu\text{mol}/\text{gram}$ doku) malondialdehid (MDA) düzeyleri.....	54
Tablo 5. Çalışma gruplarındaki sıçan yavrularının barsaklarındaki ($\mu\text{mol}/\text{miligram}$ doku) nitrik oksid (NO) düzeyleri.....	55

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin hücre düzeyindeki zararlı etkileri.....	22
Şekil 2. Y-27632 yapısal formülü	34
Şekil 3. Rho kinaz inhibitörlerinin tedavi hedefleri	37
Şekil 4. MDA düzeyi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları	43
Şekil 5. NO sonuçları ve istatistiksel değerlendirme sonuçları.....	44

VIII. RESİM LİSTESİ

Resim 1. A. 270°'lik saatin tersi yönüne dönüşten sonra barsakların önden görünüşü. Karın sağ üst kadranında ince barsakların kıvrılması ve çekal tomurcuğun bulunması. B. Barsakların son pozisyonu. Çekum ve appendixin yer değiştirerek karının sağ alt kadranına inmesi.....	7
Resim 2. İnce barsağın proksimal kısımlarından enine kesit.....	10
Resim 3. İnce barsak duvardaki tabakaları basamak halinde prepare edilmiş; lup büyütmesi.....	10
Resim 4. Kör barsak, Çekum; apendix vermiformis: İnce barsağın son bölümü. Pars terminalis ilei; arkadan görünüş.....	15
Resim 5. Kalın barsak, Kolon; duvar tabakaları basamak tarzında açılmış; lup büyütmesi ile görünüş.....	17
Resim 6, 7. Hava geçirmez kapalı bir ortamda H/R yöntemi uygulaması.....	38
Resim 8. NEK modeli oluşturulan ve tedavi verilmeyen sıçan yavrusu barsaklarının makroskopik görünümü.....	39
Resim 9. Kontrol grubu. Normal histoloji, grade 0.....	42
Resim 10. Villus tepesinde nekroz, grade 1.....	42
Resim 11. Villus tepe nekrozu ve mukozal ve submukozal yapının bozulması, grade 2.....	42
Resim 12. Müsküler tabakaya kadar uzanan nekroz, grade 3.....	42

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Nekrotizan enterokolit (NEK) yenidoğan döneminde en sık görülen gastrointestinal problemdir (1). Nekrotizan enterokolit, özellikle 1960'lı yıllardan itibaren yenidoğan ve prematüre bakım olanaklarının gelişmesi sonucunda gestasyonel yaşı düşük veya düşük doğum ağırlıklı bebeklerin sağ kalım oranlarındaki artma ile paralel olarak giderek daha fazla karşılaşılan bir hastalık olmuştur (2). İnsidansı ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye değişmekle birlikte çok merkezli çalışmalarda 100 canlı doğumda 0.3 ile 2.4 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerin yaklaşık %1-10'unda gelişmektedir. Esas olarak prematüre bebeklerde görülmekle birlikte, NEK gelişen bebeklerin %10'unu zamanında doğan bebekler oluşturmaktadır (1).

Cinsiyet ile NEK insidansı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Her iki cinsten de eşit oranda görülmektedir. Bazı çalışmalarda siyah ırkta beyazlara göre daha fazla oranda görüldüğü bildirilmekle birlikte, ırksal farklılık olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Sosyoekonomik durum ve mevsimlerle de arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (1).

Hastalığın başlama zamanı bir gün ile üç ay arasında değişmekte olup sıklıkla ikinci haftadadır. Ayrıca hastalığın ortaya çıkışı, gebelik ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır; prematürelerde daha matür bebeklere kıyasla, daha geç görülmektedir. Hastalığın başlangıç zamanı 30 hafta ve daha küçük bebeklerde ortalama 20.2 gün olarak saptanırken, 31-33 gestasyon haftasında 13.8 gün, 34 gestasyon haftasında veya daha büyük bebeklerde 5.4 gün olarak tespit edilmiştir. Otuzaltı gestasyon haftası veya daha büyük bütün bebeklerde ise 7 gün olarak bulunmuştur (1).

Mortalitesi %10-50 arasında değişmekle birlikte son yıllarda erken tanı, ciddi takip ve tedavi ile bu rakamın %28'lere indirilebildiğini belirten merkezler de vardır. Gebelik yaşı küçüldükçe mortalitenin arttığı bildirilmektedir (1).

Nekrotizan enterokolitin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamakla birlikte NEK ile ilişkili en yaygın risk faktörleri prematürite ve enteral beslenmedir. Prematürelerde oluşan intestinal iskemi, ince barsaklarda bakteriyel kolonizasyon, immünolojik immatürite diğer önemli risk faktörleridir. Nekrotizan enterokolitte karakteristik olarak intestinal dokuda değişik derecelerde mukozal ve transmural nekroz mevcuttur (3).

İskemik dokuda reperfüzyon sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri hücresel yapılara son derece toksiktir. Hücre zarı, lizozom ve mitokondri gibi hücre yapılarını tahrib eder. Kısa süreli iskemiyi takib eden reperfüzyon durumunda bile mukoza bariyeri değişebilmekte, öyle ki mukozal permeabilite belirgin şekilde artmaktadır. Bu artışa başta serbest oksijen radikalleri olmak üzere, eikosanoidler, Prostoglandin-E₂ ve nötrofiller yol açar (4). Rho proteinleri, başlıca hücre iskeleti kontrolünden, stres liflerinin yapılanmasından, fibroblastların fokal adezyonundan ve düz kas kasılmasında Ca⁺² duyarlılığının düzenlenmesinden sorumludurlar (5). Ayrıca aktin iskeletinin yapılanmasını sağlayarak hücrenin şekli, motilitesi, adezyonu, göçü, kasılması ve sitokinezis gibi birçok hücresel fonksiyonda önemli rol oynarlar (6).

Y-27632, ROCK (Rho-associated coiled coil-forming protein serine/threonine kinase) ailesinin bir selektif sentetik inhibitörüdür. Molekülün formülü C₁₄H₂₁N₃O.2HCl.3/4H₂O(Trans-4-[(1R)-1-Aminoethyl]-N-4 pyridinylcyclohexanecarboxamide dihydrochloride)'dür ve molekül ağırlığı 333.77 daltondur (7).

Y-27632'nin düz kas gevşemesi, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, anyon kanallarının aktivasyonu, nötrofil kemotaksisinin inhibisyonu, tümör invazyonunun inhibisyonu ve hücre transformasyonunun inhibisyonuna neden olduğu yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (8-10).

Bu çalışmada amacımız; özellikle prematür yenidoğanlarda görülen nekrotizan enterokolit patogenezinde hipoksi-reoksijenizasyonun etkisini araştırmak ve bir rho kinaz enzim inhibitörü olan Y-27632 ile tedavisi sonucunda barsak hasarındaki etkisini görmek, doz açısından düşük ve yüksek doz alan grupları karşılaştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

Nekrotizan enterokolit (NEK), barsakların kısmi veya tam iskemisi ile karakterli önemli bir gastrointestinal hastalıktır. Nekrotizan enterokolit yenidoğan periyodunda en sık görülen gastrointestinal problemidir. Tutulum bölgesi sıklıkla terminal ileumdur. İntestinal iskeminin başlamasında tetiği çeken üç önemli faktör hipoksi, hipertonic mamalarla erken enteral beslenme ve enfeksiyondur ancak faktörlerin ulaştığı ortak yol intestinal iskemidir. İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar mediatörlerin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da arttırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdıkları düşünülmektedir (11-13).

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerin yaklaşık %1-10'unda gelişmektedir. Esas olarak prematüre bebeklerde görülmekle birlikte, NEK gelişen bebeklerin %10'unu zamanında doğan bebekler oluşturmaktadır. Nekrotizan enterokolit insidansı azalan doğum ağırlığı ve azalan gestasyon yaş ile orantılı olarak artmaktadır. En yüksek oranlar 1000 gramın altındaki bebeklerdedir (%42). Doğum ağırlığı 1000–1500 gram arasındaki bebeklerde %39,0, 1500-2000 gram arasındaki grupta %3,8, 2500 gramın üstündeki bebeklerde ise %0.11 oranında NEK görülmektedir (12-16). Son yıllarda yapılan çalışmalarda rhokinaz enzim inhibitörü olan Y-27632'nin yara iyileşmesi ve enfeksiyon üzerindeki olumlu etkisinin gösterilmesi, bize hasarlanmış ve enfekte olmuş barsak dokusunun (NEK) tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürdü.

2.1. Barsakların Embriyolojisi

Barsaklar, embriyolojik gelişimin 4. haftasının başında embriyonun baş-kuyruk ve lateral yönde katlanmasıyla endoderm ile döşeli vitellus kesesinin bir bölümünün embriyonun içine alınarak, ilkel barsak kanalını oluşturmasıyla gelişmeye başlar.

İlkel barsak kanalının sefalik bölümü ön barsağı, kaudal bölümü ise son barsağı yapar. Bu iki bölüm arasında kalan kısım ise orta barsaktır. Gelişimin bu evresinde orta barsak vitellin kanal (omfalomezenterik kanal) aracılığı ile vitellus kesesi ile olan bağlantısını geçici olarak sürdürür. İlkel barsak kanalı; kranial uçta bukkofaringeal zar (orofaringeal zar) ile kaudalde ise kloaka zarı ile kapatılmıştır. Bukkofaringeal zar gelişimin yaklaşık 4.haftasında yırtılır. Böylece ilkel barsak ve amniyon boşluğu arasında açık bir ilişki kurulur. Kloaka zarının da 7. haftada yırtılmasıyla anüs oluşur. Gelişimin ilerleyen evrelerinde vitellin kanalın kapanmasıyla ilkel barsağın orta bölümü vitellus kesesi ile ilişkisini yitirir ve karın boşluğu içinde yer alır. Barsak kanalı epiteli endodermden; barsak duvarının kas, bağ dokusu ve peritoneal yapıları ise splanknik mezodermden gelişir (17,18).

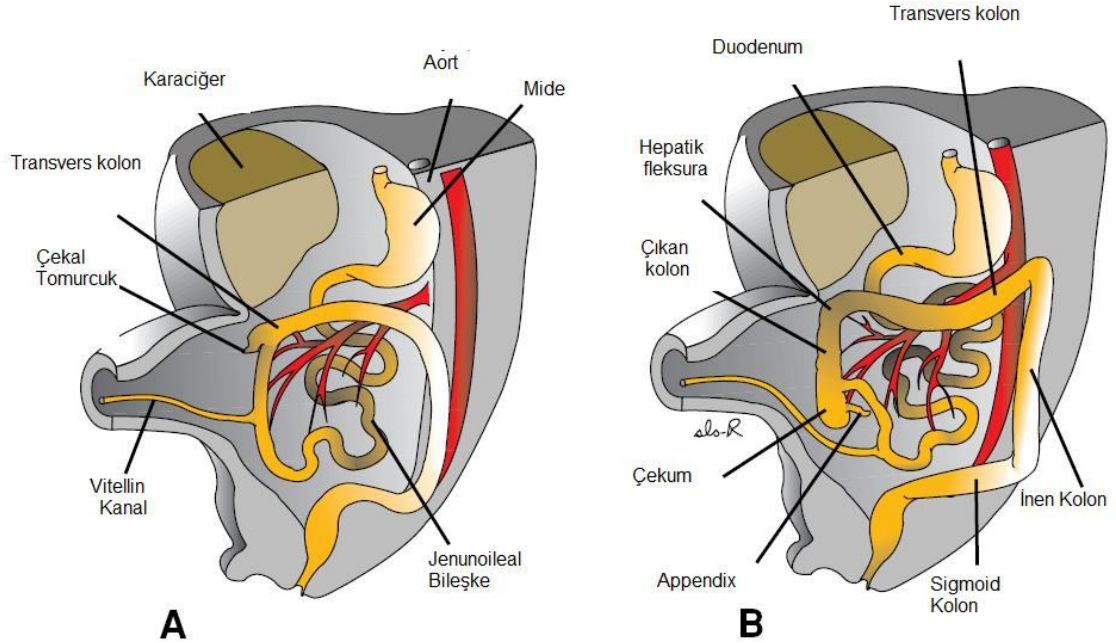
İlkel barsaktan gelişen yapılar 4 kısımda incelenir:

- 1.Bukkofaringeal zardan trakeobronşial divertiküle kadar uzanan farinks.
- 2.Farinks'in kaudalinden karaciğer tomurcuğuna uzanan ön barsak (Foregut).
- 3.Karaciğer tomurcuğunun kaudalinden başlayan ve transvers kolon'un 2/3 proksimal ve distal parçasının birleşim yerine kadar süren orta barsak (Midgut).
- 4.Transvers kolon'un 1/3 distal parçasından kloakal zara değin uzanan son barsak (Hindgut) .

Gelişimin ilerleyen evrelerinde ön barsaktan; özefagus, mide, duodenum'un 1/3' lük proksimal bölümü, karaciğer, safra kesesi ve pankreas oluşur. Orta barsaktan ise duodenum'un 2/3'lük distal kısmı ve transvers (enine) kolon'un 2/3'lük proksimali gelişir. Son barsaktan ise transvers kolon'un 1/3'lük distalinden başlayarak inen kolon, sigmoid, rektum ve anal kanal'ın üst bölümü oluşur (17,18).

Barsağın gelişimle birlikte hızla uzaması primer barsak halkasının oluşumuna neden olur. Primer barsak halkası tam tepe noktasından vitellin kanal yoluyla vitellus kesesi ile bağlantıdadır. Barsak halkasının sefalik bölümünden jejunum ve ileum'un proksimali, kaudalinden ileum'un distali, çekum, appendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3'lük proksimal kısmı gelişir (17). Gelişimin 6. haftasının başında; primer barsak halkasının sefalik bölgesindeki hızlı uzama ve karaciğerdeki hızlı büyüme nedeniyle barsaklar karın boşluğuna sığamaz. Bunun sonucunda da barsak halkaları geçici bir süre için göbek kordonu içerisindeki ekstraembriyonik kölom boşluğuna girerler. Bu olaya fizyolojik göbek fıtığı (umbilikal herniasyon) denir. İlkel barsak

halkası gelişimini burada da sürdürür. Aynı zamanda orta barsak; kanlanmasını sağlayan superior mezenterik arter çevresinde saat yönünün aksine 90°'lik bir dönüş yapar ve bunun sonucunda da jejunum ve ileum kıvrıntılı bir görünüm alırken, kalın barsaklarda kıvrıntılı bir yapı gözlenmez (17,18).



Resim 1. A. 270°'lik saatin tersi yönüne dönüşten sonra barsakların önden görünüşü. Karın sağ üst kadranında ince barsakların kıvrılması ve çekal tomurcuğun bulunması. **B.** Barsakların son pozisyonu. Çekum ve appendixin yer değiştirerek karının sağ alt kadranına inmesi (17).

Gelişimin 10.haftasından başlayarak; karaciğer'in büyüme hızı azalır, mezonefrik böbrekler geriler ve karın boşluğu yeterli büyüklüğe eriştiğinden, barsaklar karın boşluğuna geri dönmeye başlarlar. Bu geri dönüş sırasında da superior mezenterik arter çevresinde 180°'lik bir dönüş daha yaparlar. Böylece barsaklar toplamda 270°'lik bir dönüş yapmış olurlar (Resim 1). Karın boşluğuna ilk olarak jejunum'un proksimal parçası, son olarak da çekum döner (17,18).

2.2.Barsakların Anatomisi

2.2.1.İnce Barsak (İntestinum Tenue)

İnce barsaklar midenin ostium pyloricus'tan başlayıp valva ileocaecalise kadar devam eder. İnce barsaklar sindirim kanalının, besin maddelerinin sindirimi ve emiliminin gerçekleştiği bölümüdür.

İnce barsakların uzunluğu erişkin bir insanda kasların kasılı olmasına bağlı olarak 5-6 m, ölümden sonra kas tonusu kaybına bağlı olarak 6-7 m kadardır. Çap mideye yakın kısımda 4-5 cm kadar iken kalın bağırsaklara doğru 2-2.5 cm'ye düşer. İnce barsaklar karın ön duvarı açıldığında önden omentum majus ile örtülüdür (Resim 2). İntestinum tenue yukarıdan aşağıya duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölüme ayrılır (19-21).

Duodenum

Duodenum mideyi jejunum'a birleştiren yaklaşık 25 cm uzunluğunda 'C' harfi şeklinde bir borudur. Safra ve pankreas kanallarının buraya açılması nedeniyle çok önemli bir organdır. Duodenum pankreas başını çevrelemektedir. Duodenumun ilk 2.5 cm'lik kısmının ön ve arka yüzlerinin peritonla kaplı olması, üst kenarına tutunan omentum minus'a ve alt kenarına tutunan omentum majus'a sahip olması ile mideye benzemektedir; bursa omentalis bu kısa duodenum parçasının arkasında yer alır. Yalnız kısmen periton tarafından örtülen duodenumun geri kalan kısmı retroperitonealdir (19-21).

Epigastrik ve umblikal bölgede yerleşen duodenum 4 bölümden oluşur.

1) Pars Superior Doudenii: Duodenumun ilk bölümü 5 cm uzunluktadır. Bu bölüm pylorus'dan başlar ve 1. lumbal vertebranın sağ tarafından yukarıya ve arkaya doğru uzanır. Böylece 1. bölüm planum transpyloricum üzerinde yer alır. Önde ve yukarıda karaciğerin lobus quadratus'u ve safra kesesi boynu ile komşudur. Yukarı arkada foramen bursa omentalis ile arkada a. gastroduodenalis, ductus choledochus ve v. portae hepatis ile aşağıda arkada caput ve collum pancreatis ile komşuluk yapar.

2) Pars Descendens Doudenii: 8 cm uzunluktadır. Duodenumun 2. parçası sağ hilum renale'nin önünde, 2. ve 3. lumbal vartebaların sağ tarafında yukarıdan aşağıya vertical olarak seyreder. Duodenumun medial kenarının yaklaşık olarak ortasında, ductus choledochus ve ductus pancreaticus major duodenum duvarını delerek girer. Bu iki kanal papilla duodeni major'un tepesine açılan ampulla hepatopancreatica'yı oluşturmak üzere birleşirler. Eğer varsa ductus pancreaticus minor bu deliğin biraz üstünde papilla duodeni minor üzerinden duodenuma açılır. Pars descendens doudeninin önünde fundus vesicae biliaris, karaciğerin lobus dexter'i, colon transversum ve ince

barsak kangalları, arkada sağ hilum renale ve sağ üreter, dış yanda colon ascendens, flexura coli dextra ve karaciğerin lobus dexter'i, iç yanda caput pancreatis, ductus choledochus ve ductus pancreaticus major bulunmaktadır (19-21).

3) Pars Horizontalis Duodeni: 8 cm uzunluktadır. Bu bölüm columna vertebralis önünden geçip, pankreas başının alt kenarını izleyerek subkostal düzlem üzerinde horizontal şekilde sola doğru ilerler. Pars horizontalis duodeni önünde radix mesenterii ve bunun içindeki a. ve v. mesenterica superior, jejunum kangalları, arkada sağ üreter, sağ m.psoas, v. cava inferior ve aorta abdominalis, yukarıda caput pancreatis, aşağıda jejunum kangalları bulunur.

4) Pars Ascendens Duodeni: 5 cm uzunluktadır. Pars ascendens, flexura duodeni, jejunalis'e doğru yukarıya ve sola seyreder. Diaphragmanın crus dextrumuna tutunan Treitz bağı adlı periton plikası aracılığıyla flexura yerinde tutmaktadır. Pars ascendens duodeninin önünde peritoneum aracılığı ile ince barsak kıvrımları, radix mesenterii, mesocolon transversum, arkasında truncus sympathicus, sol m. psoas major, sol böbrek, a. testicularis ve v. testicularis ve v. mesenterica inferior, sol tarafında sol böbrek ve üreter, sağ tarafında radix mesenterii, yukarıda corpus pancreatis ile komşudur.

Mukoza Tabakası ve Duodenum'daki Papillalar

Duodenum mukozası kalındır. Duodenum'un birinci bölümündeki mukoza düzdür. Duodenum'un kalan bölümünde mukoza plicae circulares adında sayısız sirküler katlantılar oluşturur. Ductus choledochus ve ductus pancreaticus major'un pars descendens duodeni'nin iç duvarını deldiği yerde, papilla duodeni major denen küçük yuvarlak bir mukoza kabartısı bulunur. Eğer ductus pancreaticus minor var ise, bu duodenuma papilla duodeni major'un yaklaşık 1.9 cm kadar yukarısında daha küçük bir papillaya (papilla duodeni minor) açılır (19-21).

Arteriyal ve Venöz Dolaşım

Duodenum duvarları damar desteği açısından oldukça zengindir. Duodenumun üst yarısı a. gastroduodenalis'in dalı a. pancreaticoduodenalis superior, alt yarısı ise a. mesenterica superior'un a. pancreaticoduodenalis inferior dalı tarafından beslenir.

Ayrıca a. gastrica dextra, a. supraduodenalis, a. gastroepiploica dextra'dan da duodenum duvarına dallar gelir.

Lenf Drenajı

Duodenumun lenf drenajı arterleri izlerler ve yukarıya doğru gidenler nodi lymphatici pancreaticoduodenales superiores aracılığı ile nodi lymphatici gastroduodenales'e ve oradan da nodi lymphatici coeliaci'ye; aşağıya doğru gidenler ise nodi pancreaticoduodenales inferiores üzerinden a. mesenterica superior çıkışının çevresindeki nodi lymphatici mesenterici superiores'e dökülürler.

Sinirsel İnnervasyonu

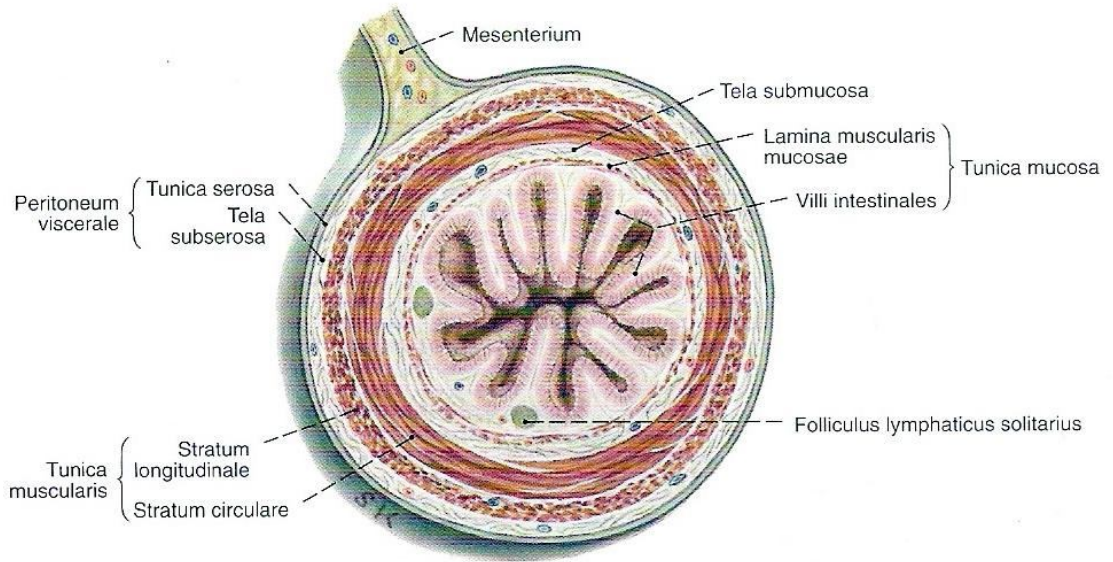
Duodenumun sinirleri plexus coeliacus ve plexus mesentericus superior'dan çıkan sempatik ve parasempatik (n.vagus) liflerden gelir (19-21).

Jejunum

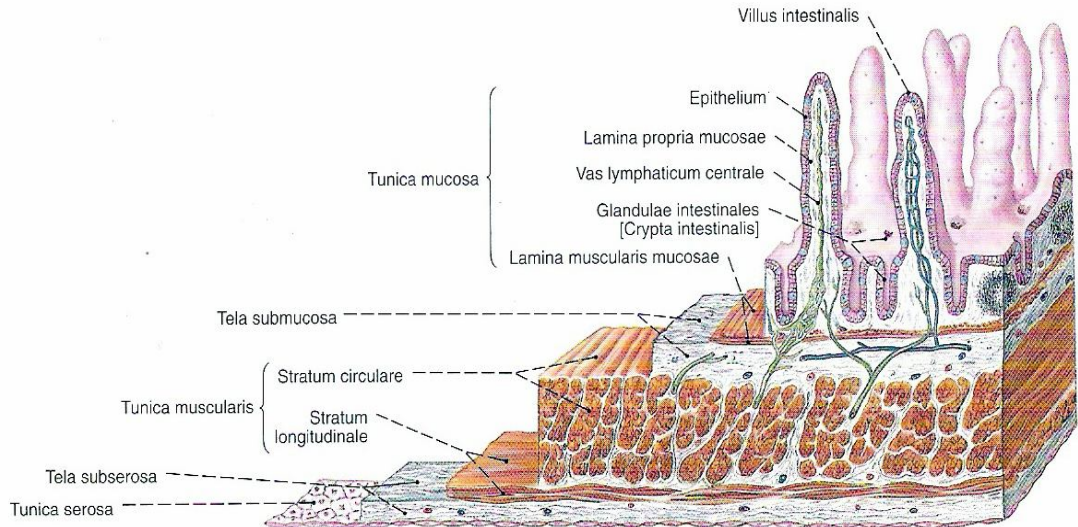
İnce barsağın duodenum'dan sonra gelen bölümleri jejunum ve ileum'dur. Jejunum ve ileum; ikinci bel omuru seviyesinde bulunan flexura duodenojejunalis'ten valva ileocaecalis'e kadar uzanır. Normalde duodenum'dan sonraki ince barsak bölümünün 2/5'lik proksimal kısmını jejunum, 3/5'lik distal kısmını ise ileum oluşturur. İnce barsağın bu iki bölümü yaklaşık 6-7 m uzunluktadır. Jejunum ve ileum, mesenterium adı verilen yelpaze şeklindeki iki katlı peritoneum yaprağı ile karın arka duvarına asılıdır. Mesenterium'un uzun olan serbest kenarını hareketli ince barsaklar kuşatır. Bu yüzden hareketli olan jejunum ve ileum karın boşluğu içinde kıvrımlar yaparak yerleşir. İleum ve jejunum arasındaki kesin bir sınır olmamakla birlikte, yapı ve dış görünüşleri incelendiğinde birbirinden farklı olduğu saptanır.

Jejunum'un çapı yaklaşık 4 cm'dir. Duvarı kalın ve damar desteği daha fazladır. Dolayısı ile rengi ileum'a göre daha kırmızıdır. Jejunum mukozasındaki plicae circulares daha büyük ve kalındır. Başlangıçta daha yüksek olan bu plikaların boyları gittikçe alçalır. Bu plikalar elle hissedilebilir. Villi intestinalis'ler de daha büyük ve kalındır. Tela submucosa tabakasında tekli lenf düğümlerinin oluşturduğu yapıya noduli lymphoidei solitarii adı verilir. Bu yapılar, özellikle jejunum'un üst kısımlarında sık görülürken, yoğun lenf folliküllerinin oluşturduğu kümeler olan noduli lymphoidei

aggregati'ye pek rastlanmaz. Noduli lympoidei aggregati yapıları jejunum'un alt bölümlerinde ve ileumda kümeler oluşturur. Jejunum karın boşluğu içinde regio umbilicalis'te yerleşim gösterir (19-21)..



Resim 2. İnce barsağın proksimal kısımlarından enine kesit (20).



Resim 3. İnce barsak duvarındaki tabakalar basamak halinde prepare edilmiş; lup büyütmesi (20).

İleum

Duedonum'dan sonraki ince barsak bölümünün 3/5'lik distal kısmını ileum oluşturur. Çapı başlangıçta 3-3.5 cm iken, distale doğru 2-2.5 cm'ye iner. Duvarı ince

ve damarlanması daha zayıftır. Bu nedenle mukoza daha soluk görülür. Mukozasındaki plicae circulares yapıları daha seyrek, daha ince ve daha belirsizdir. Tunica submucosa'sında lenf follikülleri kümeler oluşturur. Noduli lymphoidei aggregati veya Peyer plakları adı verilen bu yapıların sayısı tüm ileum'da 25-30 tane olup çapları 2-12 cm arasında değişebilir. İnsanda yaklaşık 30 tane Peyer plağı vardır (19-21).

İleum'un büyük bölümü karın boşluğu içinde regio publica ve pelvis boşluğunda yerleşim gösterir. İleum'un son bölümü ise pelvis boşluğunda bulunur. İleum sağ fossa iliaca'da, çekum'un medial duvarına valvula ileocaecalis ile açılarak sonlanır (19-21).

Jejunum ve İleum Arasındaki Farklar

Jejunum ve ileum arasında kesin bir sınır olmamasına rağmen, iki bölümün morfolojisinde bazı farklar vardır.

Buna göre sınıflandırılırsa:

- 1) Jejunum kıvrımları karın boşluğunun sol üst kısmında, ileum kıvrımları ise alt kısmında ve pelvis boşluğunda yerleşim gösterir.
- 2) Jejunum ileum'dan daha geniş lümenli, duvarları daha kalın, damar desteği daha iyi olduğundan, rengi daha kırmızıdır. İleum'un çapı dar, duvar yapısı ince ve damarlanması ise daha zayıf olduğundan soluk görülür.
- 3) Jejunum mukozasındaki plicae circulares'ler ileum mukozasındakinden daha sık, daha uzun ve birbirine yakın yerleşim gösterir. Bu yüzden jejunum'un duvarı daha kalındır. Plicae circularis'lere ileum'un üst kısımlarında daha seyrek rastlanmasının yanında boyları daha kısadır. Plicae circularis'lerin farklılığı nedeniyle ileum mukozası daha incedir. İleum'un alt kısımlarında plicae circularis yapıları bulunmamaktadır.
- 4) Jejunum'u, karın duvarına asan mesenterium, karın arka duvarında pars abdominalis aortae'nin sol üst kısmına tutunur. İleum'u asan mesenterium ise, karın arka duvarının sağ alt kısmına tutunur.

- 5) Jejunum'un arterleri mesenterium içinde bir veya iki arter kavsini oluşturdudan sonra uzun damarlar şeklinde arteriae recti adıyla kavislerden çıkarak barsak duvarına ulaşırlar. A. recti, jejunum'dan daha uzun, düzgün ve daha fazla sayıdadır. İleum'da ise damarlar mesenterium içinde dört veya beş ya da daha fazla arter kavsi oluşturarak kısa dallar aracılığı ile barsak duvarına ulaşırlar.
- 6) Jejunum ve ileum mesenterium'unun iki yaprağı arasında yağ dokusu bulunur. Jejunum mesenterium'u daha az yağ dokusu içerirken, ileum mesenterium'u daha fazla yağ dokusu içerir. Yağ dokusu özellikle radix mesenterii çevresinde yerleşirken ince barsak duvarında daha azdır.
- 7) Jejunum mukozasında noduli lymphoidei solitarii adı verilen lenfoid oluşumlar bulunurken ileum mukozasında noduli lymphoidei aggregati yapıları dikkat çeker.

Jejunum ve İleum'un kanlanması

Jejunum ve ileum'un arteriyel beslenmesi a. mesenterica superior'un dalları ile olur. Barsak dalları a. mesenterica superior'un sol tarafından çıkar ve barsağa ulaşmak için mesenterium içinde seyreder. Bir sıra kemer oluşturmak için barsak dalları birbiri ile anastomozlar yaparlar. Ayrıca ileum'un en alt bölümü a. ileocolica ile de beslenir.

Jejunum ve ileum'un venleri a. mesenterica superior'un dallarına eşlik ederler ve v. mesenterica superior'a dökülürler.

Lenf drenajı

Jejunum ve ileum'un lenf damarları çok sayıdaki intermediat mesenterik lenf düğümlerine gider ve sonuçta a. mesenterica superior'un çıkış yerinin çevresine yerleşmiş olan nodi lymphatici mesenterici superiores'e ulaşır. İleum'un son bölümünün lenfatikleri nodi lymphatici ileocolici'ye açılırlar. Bütün bu bölgeden çıkan lenf damarları birleşerek truncus intestinalis'i oluşturur. Truncus intestinalis L1 vertebra seviyesinde cisterna chyli'ye dökülür (19-21).

Jejunum ve ileum'un Sinirsel İnnervasyonu

Otonom sinir sistemine ait lifler mesenterium'un iki yaprağı arasında ve arterlerin çevresinde barsak duvarına ulaşırlar. Parasempatik sinir lifleri n.vagus'tan, sempatik sinir lifleri ise n. splanchnicus'lardan gelirler. Sempatik ve parasempatik sinir lifleri önce plexus coeliacus, daha sonra plexus mesentericus superior aracılığı ile barsak duvarına ulaşırlar. Kas tabakaları arasında plexus myentericus'u (Auerbach), tela submucosa'da plexus submucosus'u (Meissner) oluştururlar. Genellikle plexus myentericus barsağın düz kasları, plexus submucosus ise bez dokusunda etkilidir. Sempatik etki barsak hareketlerini baskımlarken sfinkterleri kasar. Parasempatik etki ise peristaltik hareketleri ve bezlerin salgısını artırırken sfinkterleri gevşetir (19-21).

2.2.2 Kalın Barsaklar (İntestinum Crassum)

Sindirim kanalının valva ileocaecalis ile anüs arasındaki bölümüdür. Erişkin bir insanda yaklaşık 130-150 cm uzunluğunda olup çapı bölümlerine göre 2-8 cm arasında değişir.

Kalın barsağın karın boşluğundaki yerleşimi

Sağ fossa iliaca'dan başlayan kalın barsaklar, ince barsakların etrafında bir çerçeve yaparak, pelvis boşluğu içinde rectum'un çıkış deliği olan anüste sonlanır. Kalın barsaklar fossa iliaca dextra'dan başlar ve karın boşluğunun sağ yanında yukarıya doğru çıkarak, karaciğer'in altına gelir. Flexura coli dextra adı verilen bir bükümle kıvrılarak sola doğru ilerler. Konveksliği aşağıya ve öne bakan bir kavisle, yatay olarak regio hypochondrica sinistra'ya ulaşır. Dalağın altında flexura coli sinistra'yı yaparak karın boşluğunun sol kenarı boyunca aşağıya iner. Bu inen bölüm, yükselen bölüme oranla daha derinde olduğundan ince barsak kıvrımları ile örtülüdür. Sol fossa iliaca'ya gelince pelvis içine "S" harfi şeklinde kıvrılır. Pelvis boşluğunda sacrum'un ön yüzü ile komşuluk yaparak, os coccygis'in 2-3 cm önünde anus'le sonlanır. Böylece kalın barsak bölümleri, karın boşluğunda sağ yan, üst, sol yan ve pelvis boşluğunda yerleşim gösterirler. Kalın barsakların görevi barsak içeriğinin suyunu emerek su ve elektrolit dengesinde rol oynamaktır. Ayrıca feçes olarak vücut dışına atılana kadar besin maddelerini depolar (19-21).

Bölmömleri:

1. Çekum
2. Kolon (Colon ascendens, Colon transversum, Colon descendens, Colon sigmoideum)
3. Rektum

Çekum

Çekum kalın barsak ile ileum'un birleşme düzeyinin distalinde yer alan bir kalın barsak bölümüdür. Bu bölüm sağ fossa iliaca'da yerleşmiş olan kör uçla sonlanan bir kesedir. Yaklaşık 6 cm uzunluğundadır ve komple peritonla kaplıdır. Mesenterisi olmamasına karşın oldukça hareketliliğe sahiptir. Appendix vermiformis arka iç yüzüne tutunur. Çekum çevresindeki katlantılarının varlığı, recessus ileocaecalis superior, recessus ileocaecalis inferior ve recessus retrocaecalis adı verilen çukurları oluşturur (19-21).

Kolonda olduğu gibi teniae coli olarak adlandırılan 3 belirgin yassı demet halindeki longitudinal seyirli kas lifleri, appendix vermiformis'in tabanında toplanarak komple longitudinal muskuler bir tabaka yaratırlar. Çekum, gaz nedeni ile gergin durumdadır ve canlıda karın ön duvarı boyunca palpe edilebilir.

İleum'un son kısmı, çekum ile colon ascendens' in birleştiği yerde kalın barsağa girer. Açıklık valva ileocaecalis'i oluşturan iki tane dudak veya plika ile sağlanır. Appendix vermiformis ostium ileale' nin alt arkasında bulunan açıklık ile caecum boşluğu ile bağlantılıdır.

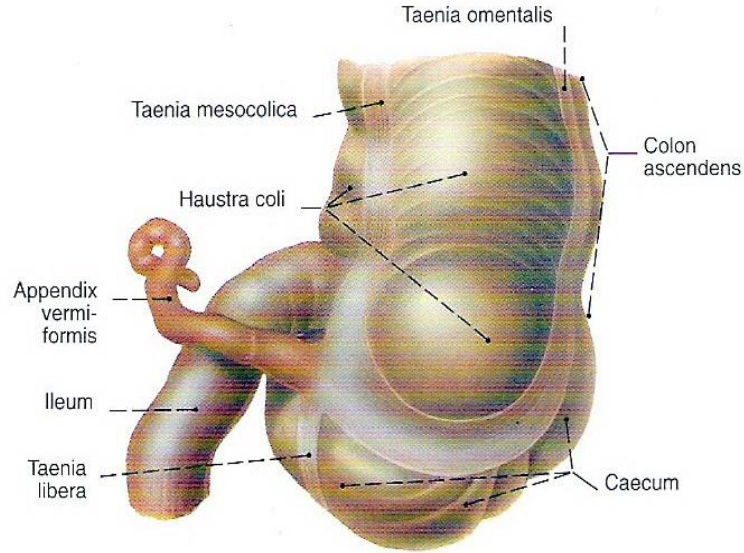
Çekum'un arteryel beslenmesi, a. mesenterica superior'un bir dalı olan a. ileocolica'nın dalları a. caecalis anterior ve a. caecalis posterior ile sağlanır. Venleri, arterlerine eşlik eder ve v. mesenterica superior'a dökülürler.

Çekum'un sinirleri plexus mesentericus superior'dan ayrılan sempatik ve parasempatik (n.vagus) sinirlerle gelen dallardır (19-21).

Valva ileocaecalis

Rudimenter bir yapı olan valva ileocaecalis, ostium ileale'nin etrafında çıkıntı yapan iki horizontal mukozal plikadan ibarettir. Bu kapak çekum içeriğinin ileum'a geri dönmesini engellemede az rol oynar veya hiç rol oynamaz. İleum alt ucundaki sirküler

kas bir sfinkter gibi çalışır ve ileum'dan kolona barsak içeriğinin akışını kontrol eder. Düz kas tonusu, çekum aşırı gerildiği zaman refleks olarak artar; mide tarafından salgılanan gastrin hormonu kas tonusunun gevşemesine neden olur (19-21).



Resim 4. Kör barsak, Ceacum; appendix vermiformis: İnce barsağın son bölümü. Pars terminalis ilei; arkadan görünüş (20).

Appendix vermiformis

Appendix vermiformis, bol miktarda lenfoid doku içeren dar, müsküler bir borucuktur (Resim 5). Bu yapının uzunluğu 8-13 cm arasında değişir. Tabanı valva ileocaecalis'in yaklaşık 2.5 cm aşağısında çekum'un arka-iç yan yüzüne tutunur. Appendix vermiformis'in geri kalan bölümü serbesttir. Appendix vermiformis kendine ait kısa bir mesenter ile ince barsak mesenterium'unun alt tabakasına tutunan mesoappendix adında komple peritoneal bir örtüye sahiptir. Mesoappendix, appendiküler damar ve sinirleri içermektedir.

Appendix vermiformis sağ fossa iliaca'da yer alır ve karın öndüvarı ile komşudur, tabanı spina iliaca anterior superior dextra ile umbilicus'u birleştiren hattın 1/3 alt noktasında bulunur (Mc Burney noktası). Appendix vermiformis'in karın içindeki tabanı çekum'un taenia coli'sini belirleyerek ve kesintisiz bir longitudinal kas örtüsü oluşturmak üzere birleştiği yer olan appendix vermiformis'in tabanına doğru bunları izleyerek kolayca bulunabilir (19-21).

Colon Ascendens

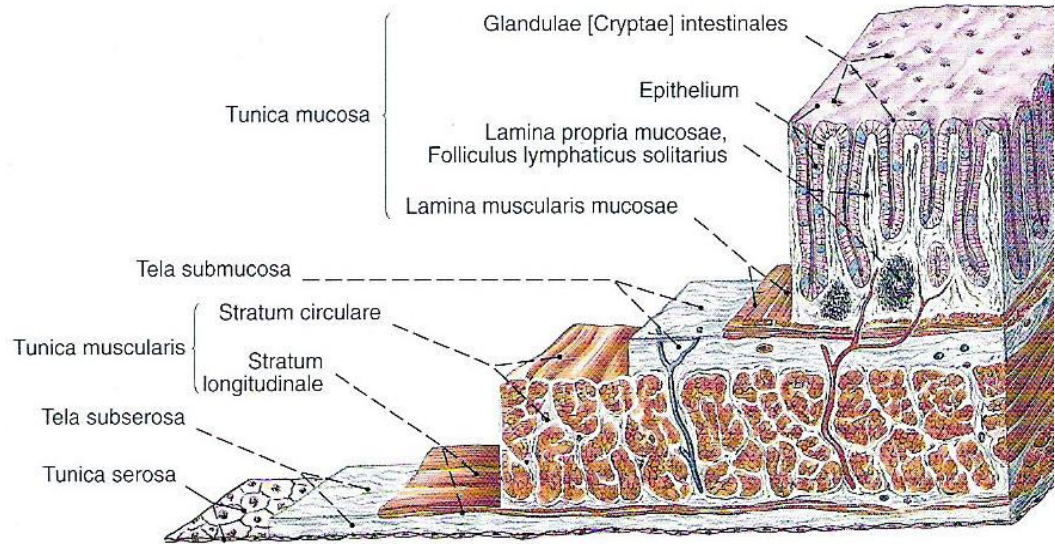
Çekum'un üst kenarından başlayan colon ascendens, karın boşluğunun yan bölümünde yukarıya ve arkaya doğru yükselerek karaciğerin alt yüzüne gelir. Karaciğerin sağ lobunun alt yüzünde flexura coli dextra'yı yaparak sola kıvrılır ve colon transversum ile devam eder. Flexura coli dextra, karaciğerin sağ lobunun alt yüzünde impressio colica denilen izi oluşturur. Kolon ascendens 12-15 cm boyunda, 5-6 cm çapındadır. İnen kolonun önünde ince barsak kangalları, omentum majus ve karın ön duvarı bulunur. Arkada m.iliacus, crista iliaca, m.quadratus lumborum, m.transversus abdominis'in başlangıç yeri ve sağ böbreğin alt kutbu bulunmaktadır. N.iliohypogastricus ve n.ilioinguinalis kolon ascendens'i arkadan çaprazlarlar. Kolon ascendens a. mesenterica superior'un dalları olan a. colica dextra ve a. ileocolica'dan beslenir. Venleri arterlerle aynı ismi alıp arterlerle birlikte seyrederek ve v. mesenterica superior'a dökülürler. İnervasyonu plexus mesentericus superior'dan gelen sempatik ve parasempatik dallar (n.vagus) tarafından sağlanır (19-21).

Colon Transversum

Karaciğerin sağ lobunun altında flexura coli dextra'dan başlayıp sola doğru uzanarak dalağın alt yüzüne gelen colon transversum, flexura coli sinistra'yı oluşturur. Aşağıya kıvrılarak colon descendens olarak devam eder. Kolon transversum 40-60 cm uzunluğunda, 4 cm çapındadır. Flexura coli dextra ve flexura coli sinistra arasında uzaklık 30 cm olması nedeniyle colon transversum, karın boşluğunda açıklığı yukarı bakan bir kavis yapar. Kolon transversumun önünde omentum majus ve karın ön duvarı, arkasındada pars descendens duodeni, caput pancreatis ile jejunum ve ileum kangalları bulunur. A.colica media colon transversum'un esas arteridir. Kolon transversum'un sağ ucu a.colica dextra'dan, sol ucu ise a.colica sinistra'dan dallar alır. A. colica media ve a. colica dextra, a. mesenterica superior'un; a.colica sinistra ise a.mesenterica inferior'un dalıdır. Venler, arterlerine eşlik ederler ve v. mesenterica superior ile v. mesenterica inferior'a dökülürler. Kolon transversumun proximal 2/3'ü plexus mesentericus superior'dan gelen sempatik sinirler ve n.vagus ile innerve edilir; distal 1/3'ü ise plexus mesentericus inferior yolu ile sempatik ve nn. Pelvici splanchnici (nn. erigentes) adlı parasempatik sinirlerle innerve edilmektedir (19-21).

Colon Descendens

Flexura coli sinistra'dan başlayan colon descendens sol crista iliaca'ya kadar aşağıya doğru uzanır. Kolon descendens dış yan, ön ve iç yandan peritoneum ile örtülü olup arka yüzü peritonsuz karın arka duvarına yapışıktır. Retroperitoneal konumlu olarak 20-25 cm boyunda, 3 cm çapındadır. Kolon descendens, kolon ascendens'den daha derin planda bulunur. Kolon descendens'in dış görünümünde taeniae coli ve haustra coli oluşumları görülür. Kolon descendens'in önünde ince barsak kangalları, omentum majus ve karın ön duvarı bulunmaktadır. Arkada sol böbreğin dış yan kenarı, m. transversus abdominis'in başlangıç yeri, m. quadratus lumborum, crista iliaca, m. iliacus ve m. psoas major. Ayrıca arka tarafta n. iliohypogastricus, n. ilioinguinalis, n. cutaneus femoris lateralis ve n. femoralis bulunur. Kolon descendens'in beslenmesi a. mesenterica inferior'un dalları tarafından sağlanır. Organın büyük bölümü a. colica sinistra'dan, aşağıda kalan son kısmı ise a. sigmoidea'dan kanlanır. Venleri aynı isimle arterleri takip ederler ve v. mesenterica inferior'a dökülürler. Kolon descendens'i innerve eden sinirler, plexus mesentericus inferior aracılığı ile sempatik ve nn. splanchnici pelvici'den gelirler (19-21).



Resim 5. Kalın barsak, Colon; duvar tabakaları basamak tarzında açılmış; lup büyütmesi ile görünüş (20).

Colon Sigmoides

Kolon descendens'in sol crista iliaca seviyesinde pelvise doğru kıvrılması ile başlar. Kolon sigmoides, sacrum'un ön yüzünde S3 seviyesinde rectum ile devam eder. "S" harfi şeklinde kıvrım gösteren colon sigmoides'un uzunluğu 30-40 cm, çapı 5-6 cm'dir.

Kolon sigmoides'un her tarafı peritoneum ile örtülü olup yelpaze şeklindeki mesocolon sigmoides aracılığı ile karın arka duvarına asılıdır. İntraperitoneal yerleşimli olduğundan hareketlidir. Kolon sigmoides'un karın arka duvarına tutunma yeri ters "V" harfi şeklindedir. Mesocolon sigmoides'un baş ve son kısmında kısa, orta kısmında ise uzundur. Kolon sigmoides'un orta kısmı oldukça hareketlidir. Kolon sigmoides'un iki kolu arasında açıklığı aşağıya bakan çıkmaza recessus intersigmoides denir. Burada peritoneum'un hemen altında sol üreter bulunur. Kolon sigmoides'un dış görünüşünde taenia coli yapılarının sayısı ikiye iner ve silikleşir. Kolon sigmoides'un dış tarafında a. iliaca externa ve v. iliaca externa, n. obturatorius, kadınlarda ovarium, erkeklerde ductus deferens ve pelvisin lateral duvarı bulunmaktadır. Arkasında a. iliaca interna ve v. iliaca interna, üreter, m. piriformis ve plexus sacralis ile komşudur. Aşağıda kadında uterus ve mesane, erkekte ise mesane üzerine oturmuş durumdadır. Kolon sigmoides a. mesenterica inferior'un dalı a. sigmoidea tarafından beslenir. Venleri aynı isimle arterleri takip ederek portal ven sistemine dökülürler. İnervasyonu plexus hypogastricus inferior'dan gelen sempatik ve parasempatik sinir lifleri tarafından yapılmaktadır (19-21).

Rectum

Kalın barsağın son bölümü olan rektum, S3 vertebra seviyesinden başlayıp sacrum ön yüzündeki eğriliği takip ederek os coccygis'in 3-4 cm aşağısında anus ile sonlanır. Kalın barsağın son kısmını oluşturduğu için rectum'a intestinum terminale de denir. Uzunluğu 15-16 cm olup çapı dolu ve boş oluşuna göre değişir. Rectum'un üst 1/3'lük bölümünde ön ve yan yüzler peritoneum ile örtülü iken, orta 1/3'lük bölümde sadece ön duvarı peritoneum ile örtülüdür. Alt 1/3'lük kısmı ise tamamen peritonsuzdur (19-21).

2.3. Nekrotizan Enterokolit (NEK)

Nekrotizan enterokolit, intestinal inflamasyon ve nekroz ile karakterize, özellikle prematüre yenidoğanları etkileyen, yenidoğan döneminde morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biridir(22). Yenidoğan alanında son yıllardaki bilimsel araştırmalara rağmen NEK'in etyolojisi hala tam olarak anlaşılabilmiş değildir.

Prematüre bebeklerin başlıca sorunlarından biri olan NEK hastalık olmaktan çok bir sendromdur. Ortak patogeneze barsak nekrozudur (23). Radyolojik olarak başlangıçta barsak dilatasyonu, ileus, pnömotosis intestinalis gibi bulgular saptanırken, ileri dönemde barsak perforasyonu sonucu pnömoperitoneum ve portal vende gaz gözlemlenebilir (24-26).

2.3.1. Tarihçe

Yaklaşık 150 yıldır literatürde benzer klinik tablolarla seyreden hastalıklar bildirilmesine rağmen, 1960 öncesi hastalık ile ilgili literatür yok denebilecek kadar azdır. 1800'lü yılların başlarından itibaren literatürde NEK'e benzer olgular tanımlanmış olmasına rağmen bunların önemli bir kısmının NEK olup olmadığı kuşkuludur (27). Nekrotizan enterokolitle ilgili ilk yayınlar 1888 ve 1891 yıllarında Paltauf ve Generisch tarafından rapor edilmiştir. Başarılı tedavi ilk olarak 1943 yılında, lokalize NEK'li bir yenidoğanda gelişen distansiyona bağlı ileal perforasyona primer sütür konularak gerçekleştirildi (28,29). Bu hastalığa nekrotizan enterokolit adı ilk kez 1953'de Schmid ve Quasier tarafından verilmiştir (30).

2.3.2. İnsidans

Nekrotizan enterokolitli hastaların görülme sıklığını tahmin etmek zordur. Bu durum, bölgelere göre farklılıklar olması, kurumlardaki kayıtların güvenilirliği ve kayıt dışı doğumlara bağlıdır (30). Amerika Birleşik Devletleri'nde NEK insidansı 1000 canlı doğumda 1-3, yenidoğan yoğun bakım ünitelerine yatan yenidoğanlarda da % 0,8- 8, (ortalama % 2-4) oranında görülür ve her yıl 3000-5000 yenidoğan etkilenir (27,30). Çok düşük doğum ağırlıklı (ÇDDA) (<1500 gr) yenidoğanların bazı ülkelerdeki NEK insidansları: Japonyada % 1-2, Avusturya'da % 7, Yunanistan'da % 10, Arjantin'de % 14 ve Hong Kong'da % 28 olarak bildirilmiştir (27).

Kızlarda ve erkeklerde aynı oranda görülür. Irk ve sosyoekonomi arasındaki farklılığın, NEK'in görülme sıklığı üzerine etkisi gösterilememiştir. Nekrotizan

enterokolit yenidoğanların % 90'ından fazlası 2000, % 48-58'i 1500 gr altındadır. Vücut ağırlığı 1500 gramın altında olan bebeklerde NEK görülme sıklığı daha yüksektir (% 10- 15) (31).

2.3.3. Patogenezi

Patogenezi tam olarak halen aydınlatılamayan bu hastalıkta, prematürite, enteral besleme, intestinal iskemi/asfiksi, bakteriyel kolonizasyon gibi birçok durum temel risk faktörleri olarak kabul edilirken; ortak son yol barsak nekrozudur (22).

2.3.3.1. Prematürite

Nekrotizan enterokolitli olguların %90'dan fazlası prematüredir. Gebelik yaşı ve doğum ağırlığı düştükçe NEK riskinde artış gözlenir (22,32-34). Esas olarak prematüre bebeklerde görülmekle birlikte, NEK gelişen bebeklerin %10'unu zamanında doğan bebekler oluşturmaktadır (1). Bu term bebeklerin hemen hepsinde asfiksi, intrauterin büyüme geriliği (IUBG), polisitemi/hiperviskosite, kan değişimi, göbek kateteri, gastroşizis, konjenital kalp hastalığı veya miyelomeningosel gibi risk faktörleri bulunur (22,35).

Prematürelerde, intestinal mukozanın, antioksidan sistemler ve bağışıklık sisteminin immatür özellikler taşıması ve yetersiz dolaşım dinamikleri nedeniyle, NEK gelişimi daha kolaydır. Mide pH'sının yüksekliği, intestinal motilitenin azalması, absorpsiyon fonksiyonunun yetersizliği, immatür epitelyal yapının bakteriyel translokasyonu kolaylaştırması, immünglobulin A (IgA) sekresyonunun yetersizliği, koruyucu mukus düzeylerindeki düşüklük ve rejeneratif kapasitenin azalması gibi birçok faktör prematürelerdeki barsak immatüritesinde rol oynar. Bu nedenlerle diğer predispozan ve tetikleyici faktörlerle birlikte prematürelerde NEK gelişimi matür olgulara göre daha sıktır (22,24,25,36,37). Prematürelerde herhangi bir nedenle oluşan hipoksi-reoksijenizasyon (H/R) sürecinde gelişebilecek olan intestinal mukoza hasarlanmasından koruyucu antioksidan sistemler yetersizdir. Hipoksi-reoksijenizasyon sonrası yoğun olarak ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri intestinal doku hasarından sorumlu temel faktörlerdir (22,24,36-38). Bu radikaller, olayın meydana geldiği organda toksik etki göstererek doku hasarı ve apoptozise neden olur. Antioksidan sistemler, serbest oksijen radikalleri (O_2^- , OH^- , H_2O_2) ile ilişkili doku hasarında serbest oksijen

radikallerini ortadan kaldırarak koruyucu etki gösterir. Glutasyon metabolizması antioksidatif defans sisteminin en önemlilerinden birisidir (39).

Hayvan çalışmalarında, prematürelerde barsaklarda antioksidatif enzimlerden katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin çok düşük olduğu ve yaş arttıkça SOD ve GSH-Px enzim düzeylerinin arttığı saptanmıştır (40,41). Ayrıca, H/R modeli ile NEK oluşturulmuş deneysel çalışmalarda, önceden SOD ve CAT gibi antioksidanların verilmesi ile NEK şiddetinin belirgin derecede azaltılabildiği gösterilmiştir (42,43).

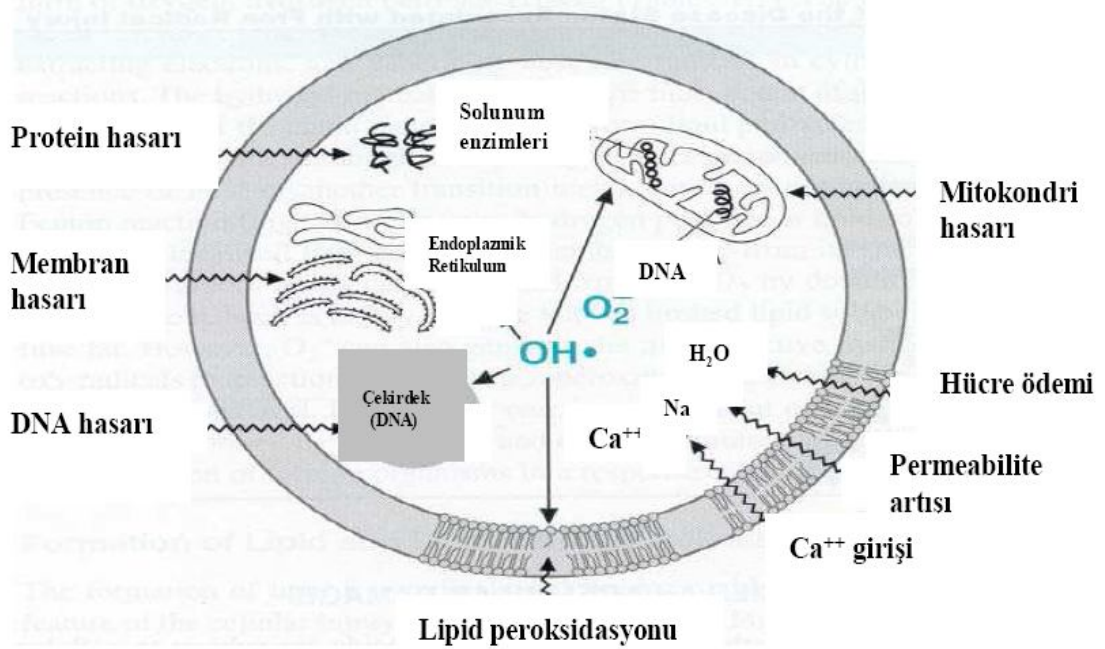
Prematüre bebeklerde mide pH'sının yüksekliği, intestinal motilitenin azlığı ve immatür epitelyal yapının intestinal translokasyonu kolaylaştırması nedeniyle intestinal sistemde bakteri kolonizasyonu riski artar. Nekrotizan enterokolit, sıklıkla intestinal sistemin terminal ileum ve proksimal kolon bölgesinde gelişir. İntestinal immun direnci sağlayan lenf foliküllerinin çoğu (Peyer plakları) bu bölgelerde yer alır. Prematürelerde intestinal sekretuar immunglobulin A (sIgA) düzeyleri, T ve B lenfosit sayı ve fonksiyonları, antikor yanıtları yetersizdir (22,24,25,37). Prematüre yenidoğanlarda intestinal T ve B lenfosit sayılarının, sIgA düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmış ve prematür yenidoğanlara oral olarak immunglobulin verilmesinin NEK şiddetini azalttığı gösterilmiştir (44). İntestinal immunitenin immatüritesi bakteriyel translokasyon ve kolonizasyona neden olarak bakteriyemi ve sepsis gelişimine yol açabilir.

2.3.3.2. İntestinal İskemi / Asfiksi

İntestinal vasküler dolaşım ve hipoksiye vasküler cevap NEK gelişiminde önemli bir faktördür. Çeşitli nedenlerle fetüsün oksijen ihtiyacının sağlanamaması asfiksi ile sonuçlanır. Hipoksik stres durumunda kan akımı splanknik yataktan beyin, kalp ve adrenal bezler gibi hayati organlara yönelir (redistribisyon). Bunun sonucu çeşitli organlarda iskemik hasar gelişir (22,45). Hayvan çalışmalarında intestinal iskemiyi takiben reperfüzyon sonucu barsak nekrozu geliştiği gösterilmiştir (46-48).

Hipoksi/Reoksijenizasyon sonrası intestinal zedelenme ortamdaki serbest oksijen radikalleri aracılığıyla gelişir. Ksantin oksidaz (XO) barsaktaki serbest oksijen radikallerinin ana kaynağıdır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O^-) ve hidroksil anyonu (OH^-) hasardan sorumlu en önemli serbest oksijen radikalleri olarak bilinirler. Bu serbest oksijen radikalleri lokal hasar gelişiminden ve sistemik bulgulardan sorumlu

tutulmaktadır. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, nötrofil aktivasyonu ve deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarı oluşturarak hücre ölümüne neden olurlar (Şekil 1) (24,25,41,48,49).



Şekil 1. Serbest oksijen radikallerinin hücre düzeyindeki zararlı etkileri.

Deneyisel çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ya da etkisini önleyen maddeler verildiğinde intestinal hasar ve NEK gelişiminin azaldığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (42,43,48,50). Hipoksi/Reoksijenizasyon ile gelişen intestinal hasarlanma sonucu, epitelyal hücreler ve aktive nötrofillerden ortama çeşitli inflamatuvar mediatörler salınır. Bu inflamatuvar mediyatörlerin başlıcaları trombosit aktive edici faktör (PAF), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), nitrik oksit (NO), interlökin-6 (IL-6)'dır. Yapılan birçok çalışma ile NEK'de bu sitokinlerin lokal ve sistemik olarak arttığı ve doku hasarında önemli rol oynadığı saptanmıştır (22,24,25,37,38,49,51). Trombosit aktive edici faktör, fosfolipaz A2 aracılığı ile kapiller endotel, makrofaj, nötrofil, hepatosit, glial hücre, keratinosit ve intestinal epitelyal hücreler gibi birçok hücreden salınan endojen bir fosfolipiddir. Vazokonstriksiyon, kapiller geçirgenliğin artması, pulmoner hipertansiyon, nötrofil-trombosit agregasyonu, degranülasyon, bronkokonstrüksiyon ve iskemik barsak nekrozu gibi birçok biyolojik etkilere sahiptir. İnaktif metaboliti olan lyso-PAF formuna dönüşümü PAF-spesifik asetil-hidrolaz (PAF-AH) enzimi ile katalize edilen PAF'ın, NEK patogeneğinde etkili

temel inflamatuvar mediatör olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (22,37,52-57). Trombosit aktive edici faktör antagonisti verilen farelerde, intestinal nekrozun azaldığı gözlenmiştir (56). Trombosit aktive edici faktör, bilinen en güçlü mezenterik vazokonstrüktör maddedir. Trombosit aktive edici faktör, bu güçlü vazokonstrüktör etkisi ile intestinal iskemi sonucu mukoza hasarına ve NEK'e neden olabilirken; sekonder olarak serbest oksijen radikalleri, TNF- α , lökotrien B4 (LTB4), lökotrien C4 (LTC4) gibi inflamatuvar mediatörlerin üretim ve salınımını arttırarak da NEK'e neden olabilmektedir. Deneysel çalışmalarda PAF uygulandıktan sonra TNF- α , LTB4, LTC4, noradrenalin, prostoglandin ve serbest oksijen radikallerinin artışı gösterilmiştir (37,43,57,58).

Nekrotizan enterokolit patogenezinde TNF- α 'nın da önemli bir role sahip olduğu çalışmalarda saptanmıştır (51,57,58). Caplan ve arkadaşlarının çalışmasında NEK'li prematüre yenidoğanlarda yüksek plazma TNF- α düzeyleri saptanmış; sonraki çalışmalarda TNF- α ve lipopolisakkarid ilişkili intestinal hasarın PAF antagonistleri verilerek azaltılabildiği gösterilmiştir (45,59,60). Prematürelerde PAF yıkımından sorumlu enzim olan PAF-asetilhidrolaz düzeyleri düşüktür ve normal düzeylerine ancak altıncı haftada ulaştığı ve deneysel olarak PAF asetilhidrolaz verildiğinde intestinal hasarın azaldığı saptanmıştır (61).

Lökotrien B4, nötrofil kemotaksisi ve agregasyonunu sağlayarak, LTC4 ise intestinal iskemi ve sonuçta intestinal inflamasyona yol açarak NEK patogenezinde etkili olmaktadır (54,55). Lökotrien B4, nötrofil kemotaksisi ve agregasyonu için en güçlü inflamatuvar mediyatördür. İntestinal sistemde gelişen iskemi sırasında LTB4 ve kompleman sistemi aracılığı ile nötrofillerin hasarlı bölgeye göçü ve agregasyonu gerçekleşir. Ayrıca intestinal iskemi sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin etkisi ile de nötrofiller aktive olur, hasarlı bölgeye migrasyonları sağlanır. Yine PAF ve lipopolisakkarit ile oluşturulan deneysel NEK modelinde nötrofil aktivasyonun önemli rol oynadığı gösterilmiştir (62). Çeşitli nedenlerle gelişen nötrofillerin aktivasyonu sonucu myeloperoksidase (MPO) gibi enzimlerin üretimi ve salınımı gerçekleşir. Dokuda MPO aktivitesinin ölçümü ile nötrofil aktivasyonu indirekt olarak saptanabilir (63,64).

Deneysel çalışmalarda H/R sonrası, oksidatif strese bağlı barsak doku hasarlanmasında lipid peroksidasyonunun önemli olduğu ve bu durumun da lipid

peroksidasyonunun son ürünü olan malonildialdehit (MDA) ölçümü ile saptanabildiği gösterilmiştir (48,65-67).

2.3.3.3. Enteral Beslenme

Nekrotizan enterokolitli olguların %90'dan fazlası enteral olarak beslenen bebeklerdir. Enteral besleme ile NEK arasındaki ilişki tam olarak bilinmese de; hiperosmolar formula, yüksek volümlü ve hızlı beslemenin, özellikle prematüre bebeklerde kısa zincirli yağ asitleri ile beslemenin NEK riskini arttırdığı bildirilmektedir (22). Özellikle yüksek volümlü agresiv beslemenin mide distansiyonu yaratarak splanknik dolaşımı bozacağı ve intestinal iskemiye yol açabileceği belirtilmektedir (22). Berseth ve arkadaşlarının (68) çalışmasında, minimal enteral beslenenler ve volüm artışı yavaş yapılanlarda, hızlı volüm arttırılanlara göre daha az NEK geliştiği gösterilmiştir.

Hayvan çalışmalarında kısa zincirli yağ asitleri ile beslemenin barsaklara zarar verdiği gösterilmiş ve bu durumun özellikle prematürelere belki de laktaz ve diğer barsak enzim aktivitelerinin yetersizliği nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (22). İnsan ve hayvan çalışmalarında ise anne sütü ile beslemenin NEK insidansını azalttığı gösterilmiştir. Anne sütü, içerdiği sIgA, lökosit, laktoferrin, lizozim, musin, sitokin, growth faktör (epidermal growth faktör), enzimler, oligosakkarid, poliansatüre yağ asitleri ve PAF-AH gibi birçok madde ile antibakteriyel, anti-inflamatuvar ve mukoza koruyucu etkilere sahiptir (22,61).

Prematürelere tek başına enteral beslenme ile NEK patogenezinde önemli rol oynayan PAF'ın plazma düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (69). Amer ve arkadaşlarının (70) çalışmasında prematüre ve term yenidoğanlarda enteral beslenmeden sonraki ilk mekonyum ile 14. gün dışkılarında PAF ve PAF-AH düzeyleri ve bunların NEK ile ilişkisi araştırılmış; sonuç olarak 14. gün dışkısında, mekonyuma göre PAF düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Nekrotizan enterokolit gelişen yenidoğanların dışkı PAF düzeylerinin, sağlıklı yenidoğanlara göre belirgin yüksek olduğu gösterilmiştir. Trombosit aktive edici faktör-spesifik asetil-hidrolaz düzeyleri arasında ise gruplar arasında belirgin bir fark saptanmamıştır. Sonuç olarak; enteral beslenmenin, intestinal dokuda lokal PAF üretimini artırarak NEK gelişiminde etkili olabileceği öne sürülmüştür (70).

2.3.3.4.Bakteriyel Kolonizasyon ve Sepsis

Steril bir barsak ortamıyla doğan bebeklerde, intrauterin bir NEK olgusu şimdiye kadar tanımlanmamıştır (22). Ancak, NEK'in patofizyolojisinde infeksiyöz ajanların da rol aldığı bilinmektedir (71). Bu hastalıkta intestinal bakteri kolonizasyonu ve intestinal bakteri invazyonu önemlidir; ancak bakteri invazyonunun intestinal mukoza hasarlanmasına ikincil geliştiği düşünülmektedir (22,37,72).

Anne sütü ile beslenen bebeklerde barsak Bifidobacteria ve Lactobacilli ile kolonize olurken, formula ile beslenenler koliform, enterokok ve bacteriodes cinsi bakterilerle kolonize olmaktadır. Prematüre bebeklerin barsak florası maternal flora ile ilişkinin azlığına, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve nazokomiyal patojenlere bağlı olarak term bebeklere kıyasla belirgin farklılıklar göstermektedir. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve enteral beslemenin geciktirilmesi anormal kolonizasyona neden olmaktadır (22,37,71).

Nekrotizan enterokolitte en sık *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella* gibi gram negatif bakteriler saptanırken; *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Clostridium butyricum*, koagülaz negatif stafilokoklar gibi gram pozitif bakteriler, mantarlar ve corona virüs, rota virüs ve enterovirüsler de saptanabilir (22,37,71). Nekrotizan enterokolitli olguların sadece %20-30'unun kan kültüründe üreme saptanabilirken, bakteriyemi oranının daha sık olabileceği belirtilmektedir (22,37).

Lipopolisakkarit, lipoteikoik asit ve endotoksin gibi bakteri hücre duvarı komponentlerinin barsak epitelinde bulunan Toll-like reseptörlerini (TLR) aktive ettiği ve bunun da inflamatuvar kaskadı uyarak intestinal hasarlanmada rol aldığı belirtilmektedir (22,37,52). Lipopolisakkaridler (LPS) güçlü PAF sekretuarlarıdır ve LPS aracılı intestinal hasarlanmada önemli rolleri vardır. PAF antagonistleri bu hasarlanmayı önlemektedir. Toll-like reseptörlerinin aktivasyonu sitokin cevabına ve belki de PAF'ın etkinliğini artırarak NEK gelişimine katkıda bulunmaktadır (52).

Bakteriler ayrıca endotoksinleri yoluyla da NEK patogenezinde rol oynarlar. Çalışmalarda bakteriyel endotoksinlerin intestinal sistemdeki PAF, TNF ve IL-1 üretimini aktive ederek inflamatuvar kaskadı uyardıkları ve intestinal hasar gelişimini sağladıkları gösterilmiştir (54). Enteropatojen kolonizasyonunu önleyen ve intestinal olarak yararlı etkileri saptanan *Bifidobacterium infantis* verilen yenidoğan farelerde

NEK insidansının azaldığı gösterilmiştir (73). Başka bir çalışmada yavru farelere oral olarak probiyotik bir ajan olan *Saccharomyces boulardi* verilmiş, kontrol grubuna göre bu farelerde intestinal hasarın daha az olduğu, intestinal hasarda major rol oynayan PAF düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır (74).

Barsağın anaerobik ortamında, bakteriler beslenme ile alınan karbonhidratları hızla hidrojen, karbondioksit ve metan gibi gazlara ve asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerine (short chain fattyacids “SCFA”) fermente eder (75). Pnömotosis intestinalis bu gazların oluşumu neticesinde gelişmektedir. Barsaklarda SCFA artışı bakterilerin aşırı çoğalmasına ve intestinal mukoza hasarlanmasına neden olabilir (75,76). Savunma mekanizmaları ve laktaz gibi bazı enzim sistemleri yetersiz olan prematürelerde, laktozlu besin alımı SCFA üretimine, aşırı SCFA üretiminin ise NEK patogenezinde anahtar bir rol oynayabileceği belirtilmektedir (77).

2.3.3.5.İlaçlar

Nekrotizan enterokolit oluşumunda etkili olabilecek birçok ilaç ve madde vardır. Örneğin prematürelerde retinopati profilaksisinde kullanılan oral vitamin E ve mekonyum ileusu tedavisinde kullanılan hiperosmolar kontrast maddeler ile oluşmuş NEK olguları bildirilmiştir (78). Patent duktus arteriyosus kapanmasını hızlandırmada kullanılan indometazin, prostaglandin sentetazı bloke ederek vazokonstrüksiyona neden olan bir ajandır ve mezenterik kan akımını azaltarak prematürelerde NEK’e yol açabileceği bildirilmiştir (78,79). Yine prematürelerde apne tedavisinde kullanılan metilksantin türevleri olan aminofilin ve teofilin barsak hareketlerini yavaşlatıp toksik radikaller oluşturarak eritrosit hasarına ve bakteriyel kolonizasyona yol açar (80). Gebelik döneminde kokain kullanan anne bebeklerinde de vazokonstrüktif etkiye bağlı NEK olduğu bildirilmiştir (81).

2.3.4. Patoloji

Nekrotizan enterokolit, yenidoğanlarda barsağın bir veya birden çok bölümünü yada tamamını tutabilen, en sık koagülasyon nekrozu ve inflamasyonla karakterize bir hastalıktır. En sık ileum (%86), daha sonra kolon (%74), daha az olarak da jejunum (%28) tutulur. Olguların %44’ünde hem ince barsaklar hem kolon tutulur (2,63).

Barsağın %75'inden fazlasının tutulduğu NEK tablosu ise “PAN-NEK”, “fulminan NEK” ya da “NEC-totalis” olarak isimlendirilir. Nekrotizan enterokolitte perforasyonlar barsağın daha ziyade antimezenterik yüzünde ve çoğunlukla terminal ileumda olur (27).

Makroskopik olarak barsak şiş ve ödemli görünür. Serozal yüzey, fibrinöz eksuda nedeniyle kırmızı-gri ya da gangren olmuşsa siyah renktedir. Mikroskopik olarak ise en sık koagülasyon nekrozu ve inflamasyon, daha az olarak da ülserasyon, hemoraji ve pnömotozis intestinalis görülür (22,82).

Nekrotizan enterokolit perforasyona kadar ilerlemezse 3. günden sonra hızlı bir epitelizeasyonla iyileşmeye başlar. Fibroblastik proliferasyon 8.-9. günde belirginleşir. İyileşme sırasında darlık ortaya çıkabilir (27).

2.3.5. Klinik

Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi (YYBÜ) bakım koşullarındaki bilimsel ve teknolojik gelişmelere rağmen, %10-30 gibi yüksek mortalite oranı bildirilen NEK, çok çeşitli semptom ve bulgular ile karşımıza çıkabilir. Gastrik rezidü, abdominal distansiyon, kusma, abdominal hassasiyet, abdominal duvar renk değişikliği, hemotokezya, letarji, apne ve bradikardi, taşikardi, nötropeni, trombositopeni, metabolik asidoz, solunum sıkıntısı ve dolaşım bozukluğu gibi bir çok sistemi ilgilendiren semptom ve bulgular ile kliniğe yansır (Tablo 1) (22). İlerlemiş olgularda ise asidoz, şok, bakteriyemi, sepsis ve dissemine intravasküler koagülasyon gelişebilir. Gaytada gizli kan (GGK) pozitifliği, nazogastrik (N/G) tüp ile beslenen prematüre bebeklerin %60-75'inde görülebildiği için NEK tanısında yeri kısıtlıdır (22).

Tablo 1. Nekrotizan Enterokolit'teki Klinik Bulgular.

Gastrointestinal Bulgular	Sistemik Bulgular
Karın çevresinde artma	Letarji
Karında hassasiyet	Vücut ısısında düzensizlik
Beslenme intoleransı	Metabolik asidoz
Mide boşalımında gecikme	Apne –Solunum düzensizlikleri
Gaitada gizli/aşık kan	Hipo/hiperglisemi
Diyare	Periferik dolaşımda bozulma
Karında kitle	Yaygın damar içi pıhtılaşma (DİK)
Karın duvarında ödem ve eritem	Dolaşım kollapsı

Bell ve arkadaşları (83) tarafından NEK'li hastaları klinik ve radyolojik olarak sınıflandıran kriterler yayınlanmış, bu kriterler Walsh ve Kleigman (36) tarafından 1986 yılında modifiye edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Nekrotizan Enterokolitte Modifiye Bell Evrelemesi

Sınıflama	Klinik Bulgular	Radyolojik Bulgular
I (Şüpheli NEK)	Abdominal distansiyon GGK+ Kusma /Gastrik rezidü Apne/letarji	İleus/dilatasyon
II (Kesin NEK)	Evre I'e ek olarak Abdominal hassasiyet ± Metabolik asidoz Trombositopeni	Pnömotosis intestinalis ve/veya Portal vende gaz
III (Ağır NEK)	Evre II'ye ek olarak Hipotansiyon Belirgin asidoz DİK Nötropeni	Evre II'ye ek olarak Pnömoperitoneum

Spesifik tedavisi olmamakla birlikte, enteral beslemenin kesilerek nazogastrik tüp ile mide dekompresyonu, sıvı-elektrolit desteği, asidoz, anemi ve trombositopeninin düzeltilmesi gibi destek tedavileri uygulanır. Nekrotizan enterokolitli olguların ancak %30'unda kan kültürü pozitifliği saptanırken, intestinal mukoza bariyer bozukluğu sonucu enterik kökenli bakteriyel translokasyon gelişebileceği için, bu hastalara antibiyoterapi önerilmektedir. Antibiyotik olarak genellikle ampisilin ve aminoglikozit veya 3. kuşak sefalosporin önerilmekle birlikte, intestinal perforasyon şüphesi varsa anti-anaerobik bir ilaç da sıklıkla tedaviye eklenir (22).

İntestinal perforasyon cerrahi müdahale için bir endikasyon olup, NEK olgularının %30 ile %50 kadarında cerrahi müdahale gerekmektedir (22). Ancak, son zamanlarda intestinal perforasyonu olan NEK'li olgularda, basit peritoneal drenaj yöntemi ile laparatomik cerrahi müdahale arasında benzer sonuçlar alındığı rapor edilmiştir (84).

Nekrotizan enterokolit, erken dönemde yara enfeksiyonu, sepsis, intestinal perforasyon, dissemine intravasküler koagülasyon, çoklu organ yetmezliği gibi birçok

ciddi fatal olaya sebep olurken, nekroz ve uygulanan cerrahi sonrası uzun dönemde intestinal yapışıklık ve kısa barsak sendromuna yol açabilir. Hem erken hem de geç dönemde gelişen komplikasyonlar hastanın hayatını ciddi şekilde tehdit ederken, yüksek maddi kayıplara da neden olur. Cerrahi müdahale sonrası mortalite %60-80 gibi yüksek oranlara çıkabilmektedir (22,24,85).

2.3.6. Laboratuvar Bulguları

Nekrotizan enterokolitli hastalarda laboratuvar bulguları sepsisi destekler niteliktedir. Lökosit sayısında artma ve daha sıklıkla da lökopeni olabilir. Vakaların yaklaşık %37'sinde beyaz küre sayısı $<1500 \text{ mm}^3$ olarak bulunmuştur. Bazı çalışmalarda lökopeni gelişen NEK'li hastalarda, gram negatif etkenlerin daha sıklıkta olduğu gösterilmiştir (62,86,87).

Hastaların %87'sinde trombositopeni bulunmaktadır (86,87). Koagülasyon bozuklukları, hipo-hiperglisemi, metabolik asidoz ve elektrolit bozuklukları olabilir. Metabolik asidoz sıklıkla şokun bir bulgusudur. Bazı hastalarda C-reaktif protein düzeyinde artma görülür. Tekrarlayan apneler ve abdominal distansiyona bağlı diaframanın yukarı itilmesi sonucu hipoksi, hiperkarbi gelişebilir (11,13).

Hastaların yaklaşık %10-30'unda kan veya peritoneal sıvıda pozitif kültür tespit edilir. Dışkı kültüründe üretilen mikroorganizma, kan veya periton sıvısı kültüründe üreyenle aynı olduğu zaman anlamlı kabul edilmelidir. Sorumlu bakteriler yıllar ve merkezler arasında farklılık göstermesine rağmen, en sık saptanan etkenler, E. coli, Klebsiella spp, Enterobakter spp, koagülaz negatif stafilokok, Clostridium spp, Pseudomonas aeruginosa ve Candida albicans'tır (12,26,34).

2.3.7. Radyolojik Bulguları

Nekrotizan enterokolit şüphesi olan vakalarda mutlaka radyolojik değerlendirme yapılmalıdır. En sık erken bulgu intestinal ileustur. Diğer erken dönem bulguları barsak anslarında dilatasyon, incelmeye ve hava-sıvı seviyesidir. Barsak duvarı içinde gaz görünümü (pnömatozis intestinalis) NEK'in patognomonik radyolojik bulgusudur. Gaz subseroza ile muskularis tabakası arasındadır ve patojen bakteriler tarafından üretilen hidrojene bağlı olarak oluşur. Pnömatozisin iki radyografik paterni tanımlanmıştır. Kistik patern, submukozadaki hava kabarcıklarından kaynaklanmakta olup, kalın

barsaktaki fekal materyali taklit edebilir. Lineer patern ise hava kabarcıkları tarafından oluşturulup, barsak lümenine paralel seyrederek (13).

İntestinal nekroz ve perforasyon NEK'in en ciddi komplikasyonudur ve hastaların üçte birinde görülür. Batın grafisinde serbest hava varlığı ile karakterizedir. Lateral horizontal grafi ile anterior koleksiyonlar daha iyi görülebilirken, karaciğer ve diafragma arasındaki serbest hava en iyi supin pozisyonundaki grafi ile değerlendirilir. Nekrotizan enterokolitli bazı hastalarda perforasyon ve nekrozisin radyolojik bulguları çok açık olmayabilir. Radyolojik olarak serbest hava varlığı sadece cerrahi girişim için endikasyondur, fakat diğer bulguların varlığında da cerrahi müdahale düşünülebilir. İntramural hava mezenterik venöz dolaşım tarafından absorbe edildiği zaman, portal venöz gaz fenomeni ile sonuçlanır. Portal gaz fenomeni karaciğer altında ince, lineer hava dansitesi şeklinde görülür (13).

Ultrasonografi, kontrast radyografi ve manyetik rezonans görüntüleme, kullanılabilen diğer tanı yöntemleridir. Abdominal ultrasonografi hasta başında uygulanabilmesi, noninvasiv olması nedeniyle tercih edilir. Abdominal ve portal hava (şampanya belirtisi), kitle ve asit varlığını değerlendirir. Aynı zamanda major splanik vaskülaritenin değerlendirilmesi, çöliak ve süperior mezenterik arterin artmış kan akımının, artmış pik akım hızı tanıda yardımcıdır (88,89).

2.3.8. Tanı

Nekrotizan enterokolit tanısı klinik ve laboratuvar bulgularına dayanarak konulur. Özgül gastrointestinal semptomların varlığında, direkt batın grafisinde pnömatozis intestinalis görüntüsü NEK tanısını koydurur. Pnömoperitoneum intestinal perforasyonu gösterir. Bazı bebeklerde bu özgül radyolojik bulgular olmayabilir. Tekrarlanan grafilerde büyük distandü sabit barsak lümeni görülmesi barsaklarda nekroz olduğunu gösterir. Gazsız abdomen perforasyon ve peritoniti gösterir (11,13).

Portal venöz sistemde hava, 2400 gram altındaki prematüre bebeklerde daha sıklıkla görülür ve hızla ilerlemeye eğilim gösterir. Anlamli derecede cerrahi girişime ihtiyaç gösterir, sıklıkla tamamen yakın intestinal nekrozis ile birlikte ve hem cerrahi hem de medikal tedavi verilen bebeklerde anlamli derecede yüksek mortalite ile birlikte. Nekrotizan enterokolit gastrointestinal sistemin tüm bölümlerini etkileyebilir fakat özellikle ileum ve kolon etkilenir (11,13).

2.3.9. Tedavi

Nekrotizan enterokolitin tedavisi medikal ve cerrahi tedavi olmak üzere iki şekilde yapılır. Nekrotizan enterokolit şüphesinde veya varlığında tedaviye erken başlanılmalıdır. Nekrotizan enterokolit vakalarının çoğunda medikal tedavi yeterli olmaktadır. Tıbbi tedavinin temel amacı, barsakları dinlendirerek hastalığın ileri evrelere geçişini önlemek, enfeksiyonu kontrol etmek, metabolik dengeyi sağlamaktır (11-13).

2.3.9.1. Medikal Tedavi Basamakları

Enteral beslenme kesilir ve abdominal distansiyonu azaltmak için nazogastrik drenaj uygulanır. Umbilikal kateter varsa çekilir. Isı, oksijen saturasyonu, solunum sayısı, aldığı çıkardığı ve batın çevresi yakından takip edilir. Semptomlar devam ettiği sürece 6-12 saat arayla radyolojik değerlendirme yapılır. Sıvı elektrolit dengesi sağlanır, metabolik asidoz varsa tedavi edilir. Kan, trombosit, plazma desteği sağlanır.

Ampirik olarak antibiyotik tedavisi başlanmalı ve 10-14 gün sürdürülmelidir. Önerilen genellikle ampisilin, aminoglikozit ve anaerobik bakterileri kapsayan metronidazol veya klindamisin şeklinde üçlü antibiyotik tedavisidir (12,90). Bebek stabilize edildikten sonra total parenteral nütrisyon başlanmalıdır. Batın grafileri, batın muayenesi ve gastrointestinal fonksiyonlar normale döndükten sonra, en az 5 gün geçmeden enteral beslenmeye başlanmamalıdır (genellikle hastalığın başlangıcından itibaren 10-14 gün) (13).

2.3.9.2. Cerrahi Tedavi

Medikal tedaviye rağmen NEK vakalarının %34–50'sinde cerrahi tedaviye ihtiyaç olmaktadır (13). Acil cerrahi tedavi gerektiren en temel endikasyon, intestinal perforasyondur ve en sık terminal ileumda görülmektedir (11).

Perfore olmuş bebeklerde cerrahi mortalitenin daha yüksek olması nedeniyle bazı merkezler, genel durumu giderek bozulan, derin metabolik asidozu, düzeltilemeyen nötropenisi ve trombositopenisi olan bebeklerin, 8–12 saat arayla tekrarlanan grafilerinde sabit barsak ansları görülmesi durumunda beklemeden cerrahi girişim yapmaktadır (58,59). Ayrıca karın duvarında eritem, abdominal kitle, portal venöz gaz varlığında cerrahi tedavi endikasyonlarındandır (91,92).

Cerrahi tedavi iki girişim yapmayı gerektirir. İlk operasyonda nekrotik bağırsak bölgesi rezeke edilerek proksimal kısım dışarı ağızlaştırılır ve bebeğin genel durumu düzeldikten sonra ikinci ameliyatla reanastomoz yapılır (11).

Çok düşük doğum ağırlıklı ya da genel durumu cerrahiye alınamayacak kadar kötü olan hastalarda, laparotomi öncesi bir süre peritoneal drenaj uygulanması ve izlemde gerekirse laparotomi yapılması önerilmektedir (93,94).

2.3.10. Prognoz

Nekrotizan enterokolitin mortalitesi %30–40 arasında değişmektedir. Cerrahi tedavi gerektiren vakalarda ise bu oran %60'lara yükselmektedir. Cerrahi veya medikal tedaviden sonra yaşayanların %25-35'inde bağırsaklarda yapışıklık gelişmektedir. Perfore olmayan barsak bölgesinde skar gelişimi nedeniyle oluşur. Çoğunlukla akut dönemde semptomatik olmasına rağmen bazı yapışıklıklar 6 ay gibi uzun bir süre semptom vermeyebilir. Bu hastalarda beslenme problemleri, diyare veya bağırsak obstrüksiyonu şeklinde bulgulara yol açabilmektedir (13). Nekrotizan enterokolitin en sık geç komplikasyonları yapışıklık, fistül, abse, rekürren NEK, kısa barsak sendromu, malabsorbsiyon, kolestaz ve enterokist gelişimidir (13).

2.3.11. Korunma

Küçük prematüre bebeklerde enteral beslenmeye başlanmadan hipovoleminin ve hipervizkozitenin düzeltilmesi, homeostatik mekanizmanın maturasyonunu tamamlaması için bebeğe zaman tanınması riski azaltıcı rol oynar. Çok küçük prematürelere ve perinatal asfiksi ile doğan bebeklerde, enteral beslenmeye küçük miktarlarla başlanmalı ve anne sütü ile beslenme tercih edilmelidir. Mama ile beslenme zorunluluğu olan durumlarda mama önceleri dilüe edilerek osmolaritesi düşürülmeli, giderek konsantrasyonu arttırılmalıdır. Tüm bebekler beslenmelerinin arttırıldığı dönemlerde, vital fonksiyonlar, gastrik rezidü, abdominal distansiyon, beslenme intoleransı ve dışkıda gizli kan pozitifliği açısından yakından izlenmelidir (11).

2.4. Rho-kinaz Sistemi ve İnhibitörleri

2.4.1. Rho/Rho-kinaz Yolağı

Rho, Ras, Rab, Sar1/Arf ve Ran gibi küçük G proteinleri mayalardan insanlara kadar bütün ökaryot hücrelerde bulunan ve 100'den fazla üyeye sahip büyük bir aileyi oluştururlar (95). Rho ailesinin üyeleri RhoA, RhoB, RhoC, Rac1, Rac2, ve Cdc42'dir. RhoA, RhoB, RhoC proteinlerinin efektör bölgelerinin aynı aminoasit dizilişleri vardır ve benzer hücresel fonksiyonları bulunmaktadır (5). RhoA, vücutta en bol bulunan ve eksprese edilen ve en çok çalışılan Rho proteini alt tipidir. Rho, sitoplazmada bulunan GDP/GTP-bağlayıcı bir proteindir ve GTP-az aktivitesi içerir. Rho proteinleri, başlıca hücre iskeleti kontrolünden, stres liflerinin yapılanmasından, fibroblastların fokal adezyonundan ve düz kas kasılmasında Ca^{+2} duyarlılığının düzenlenmesinden sorumludurlar (6). Ayrıca aktin iskeletinin yapılanmasını sağlayarak hücrenin şekli, motilitesi, adezyonu, göçü, kasılması ve sitokinezis gibi birçok hücresel fonksiyonda önemli rol oynarlar (5).

Rho-kinaz yolu NO düzeyleri ile regüle edilmektedir (96). Rho-kinaz, RhoA adı verilen bir G protein ile aktive olmakta ve bunun alfa1 adrenoseptörlere bağlanarak düz kas hücresindeki myozin hafif zincir fosfatazı (MLC) inhibe ettiği düşünülmektedir (97). Bu şekilde bazal MLC kinaz aktivitesi ile MLC fosforilasyonunda artış olmakta ve sarkoplazmik kalsiyum miktarlarında bir değişme olmaksızın düz kas kasılması gerçekleşmektedir (97). Sonuç olarak çalışmalar GTP bağlayıcı protein olan Rho'nun agonist aracılı Ca^{+2} duyarlılığında yer aldığını ortaya çıkarmıştır. Daha da önemlisi sabit bir Ca^{+2} konsantrasyonunda artmış kasılmaların, aktive edilmiş Rho ile MLC fosforilasyon oranındaki artıştan ziyade, defosforilasyon oranındaki azalmadan kaynaklandığı düşünülmüştür (5).

2.4.2. Rho/Rho-kinaz Aktivitesinin Düzenlenmesi

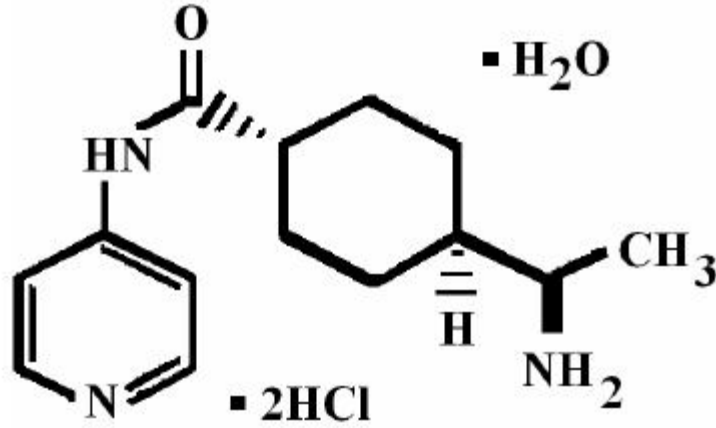
Rho'nun aktivitesi siklik olarak düzenlenir. Rho aktivitesinin GTP'az aktive edici protein (GAP) ve GTP'az ayrıştırıcı inhibitör (GDI) olmak üzere iki negatif ve guanin nükleotid değiştirici faktör (GEF) olmak üzere bir pozitif düzenleyicisi vardır. İstirahattaki hücrelerde Rho-GDP disosiyasyon inhibitörü (Rho-GDI), GDP-Rho'ya bağlanır ve onu membrandan sökerek sitozole getirir. Hücreler bazı agonistlerle stimüle edilirse Rho spesifik GEF'ler, GDP ayrışmasını ve bunu izleyerek GTP bağlanmasını

başlatarak Rho'nun aktivasyonunu arttırmaları. Bundan sonra GTP-Rho C-terminali geranil-geranillenmiş kuyruğuyla hücre membranına hedeflenir ve spesifik hedefleriyle etkileşir. GTP'az aktive edici proteinler Rho'nun intrinsik GTPaz aktivitesini hızlandırarak ve onu inaktif GDP-Rho'ya dönüştürerek negatif regülatörler gibi çalışırlar (98). GTP'az aktive edici protein, Rho'nun intrinsik GTP'az aktivitesini arttırarak GTP bağlı aktif formunu inhibe eder. Bu GDP/GTP dönüşüm reaksiyonunun hız kısıtlayıcı basamağı GDP-bağlı form'dan GDP'nin ayrılmasıdır. Bu reaksiyon oldukça yavaştır ve GEF tarafından stimüle edilir (99).

Rho'nun aktivitesi G12 ve G13 proteinleri ile düzenlenir. G12 ve G13 küçük molekül ağırlıklı GTP bağlayıcı Rho proteinini aktive eder. G12/G13 aynı zamanda, hücre iskeleti olaylarını da düzenleyebilen Na^+/H^+ değiş-tokuş proteinini de stimüle eder (100). Rho-kinaz'ın iki major izoformu Rho-kinaz α /ROCK-2 ve Rho-kinaz β /ROCK-1'dir. İnsanda ROCK-1 ve ROCK-2 genleri sırasıyla 18. kromozom (18q11.1) ve 2. kromozomda (2p24) lokalize olmuştur. ROCK1 her yerde olan yüksek oranda bulunduğu, ROCK2 ise öncelikle kalp ve beyin dokusunda olduğu gösterilmiştir (101,102). Myozin II'nin fosforilasyonu düz kas ve hücre kasılması, hücre hareketi, yapışması, hücre iskeleti yapısı, sitokinezis, trombosit aktivasyonu ve çeşitli iyon kanallarının etkileri gibi birçok hücresel fonksiyonlar için önemlidir. Myozin fosfataz vasküler tonus, kan basıncı kontrolü, gastrointestinal motilite, havayolu direnci, erektil fonksiyon, uterin kasılmalar gibi pekçok düz kas fonksiyonlarını düzenler (103). ROCK aktivasyonu endotelial nitrik oksid sentazın (eNOS) ekspresyonunu azaltır. Rho'nun veya Rho-kinazın inhibisyonu eNOS'un downregüle olmasını önler (104).

2.4.3. Rho-kinaz İnhibitörleri

Bütün ROCK inhibitörleri ATP bağlanma alanları ile yarışır (105). Bilinen Rho-kinaz inhibitörleri şunlardır; GSK269962A, HA1077 (fasudil oral alındığında aktif metaboliti hidroksifasudile dönüşür), H1152P, SB772077B, Wf536, Y-27632, Y-39983, Slx2119 (selektif ROCK-2 inhibitör) (106). Y-27632 gibi selektif Rho kinaz inhibitörleri ROCK1 ve ROCK2 izoformlarına nonselektif uyum göstermektedir (107). Bir piridin derivesi olan Y-27632'nin etki mekanizmasının, Rho-kinaz üzerindeki ATP bağlanma sahalarını meşgul ederek MLC fosfatazca fosforile edilmesini önlediği düşünülmektedir (107).



Şekil 2. Y-27632 yapısal formülü

2.4.4. Rho/Rho-kinaz Yolağının Fonksiyonları

Rho/Rho-kinaz aracılı hücre içi sinyal yolağı noradrenalin, trombin, anjiyotensin II, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve serotonin gibi çeşitli vazoaaktif ajanlar tarafından aktive edilir (35). Rho-kinaz düz kas kontraksiyonu, aktin sitoskeleton organizasyonu, hücre büyümesi, migrasyonu, adhezyonu, motilite, gen ekspresyonu ve apoptosis gibi farklı hücresel fonksiyonlara sahiptir (101,102).

Çalışmalar Rho-kinaz vazospastik angina, iskemik stroke ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda önemli rol oynabildiği gösterilmiştir. Son günlerde Rho kinaz inhibitörlerinin anestezi altındaki sıçanlarda iskemik önkoşullamayı teklit eden etkilerini ve biyokimyasal parametrelerini, infarkt büyüklüğünü, aritmilere karşı miyokardiyumda kardiyoprotektif etkileri oluşabildiği gösterilmiştir(108). Vazospastik anjinalı hastalarda Rho kinaz inhibitörü uygulamasının, asetilkolin ile oluşan koroner arter spazmını azalttığı, EKG'deki iskemik değişimleri ve göğüs ağrısını önlediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar, Rho-kinazın hipertansiyon ve koroner arter spazmları gibi hastalıklarda rolü olduğunu göstermiştir (108). Anestezi altındaki köpekte "pacing" ile indüklenen efor anjinasında, Rho kinaz inhibitörleri ST segment depresyonunu önlemiş ve koroner kan akımını artırmıştır (95). Yapılan araştırmalar, Rho/Rho-kinaz yolağının kardiyovasküler sistem (KVS) fizyolojisi ve patofizyolojisinde yeri olduğunu göstermektedir. Rho-kinaz, vasküler düz kas hücrelerinin adhezyonu, migrasyonu ve proliferasyonunda önemli rol oynar. Aterosklerozun patogenezinde de yer aldığı

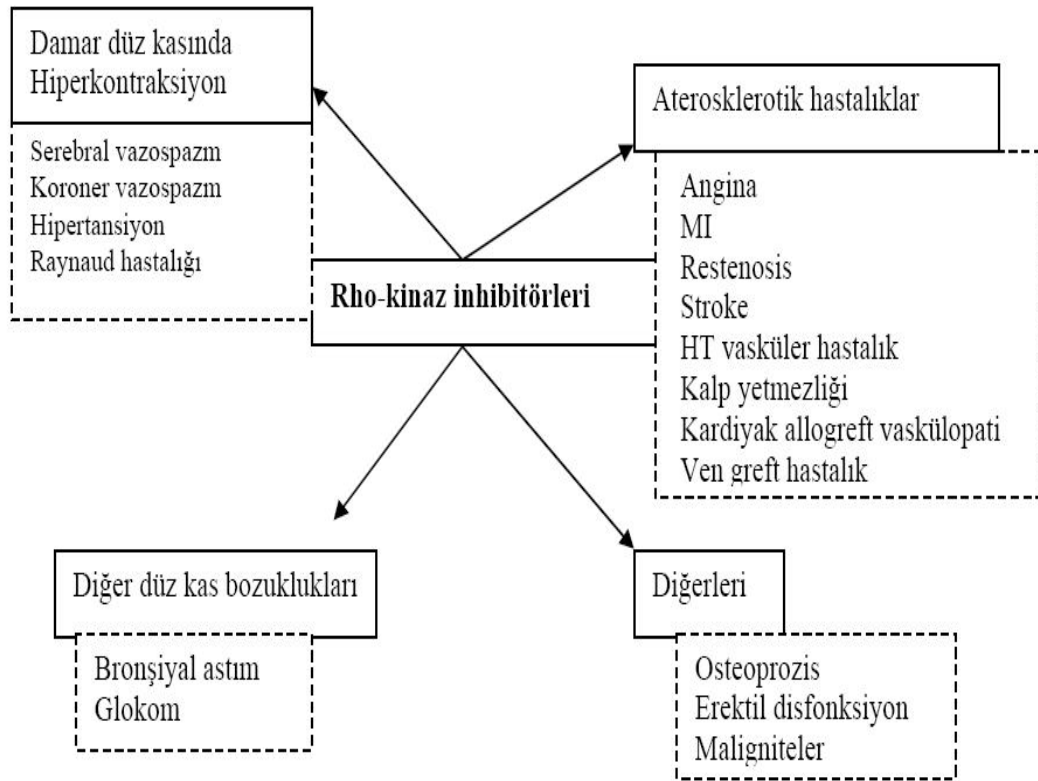
gösterilmiştir. Son çalışmalar, Rho-kinazın kardiyovasküler yeniden yapılanma (remodeling) patogeneğinde rolü olduğunu ortaya koymuştur (106). Rho/Rho-kinaz yolunun önemi pulmoner vazokonstriksiyonda, sıçanlardaki mineralokortikoid kaynaklı hipertansiyonda, artan vasküler reaktivitede ve serebral vazospazmda gösterilmiştir. Rho/Rhokinaz sinyali vasküler direncin kontrolünde rol oynayabilir ve Rho-kinaz inhibitörleri, hipertansiyon, vazospazm ve ateroskleroz gibi bazı kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde etkili olabilir (5). Son zamanlarda yapılan bir çalışma iskemi-reperfüzyonun kalpte RhoA yapımını artırdığını ve miyokardiyal Rho-kinaz aktivitesini yükselttiğini göstermiştir (109).

Kas olmayan hücrelerde Rho/Rho kinaz yolağı; endotelial kontraktile ve kapiller permabilite artışı, trombosit agregasyonu, nötrofil kemotaksisi ve hücre membranı şekil değişikliği, makrofaj fagositozu, mast hücrelerinin salgılama fonksiyonunu ve tümör metastazında rol oynayabilirler. Rho kinaz inhibitörleri tümör metastaz ve invazyonunu önleyebilirler. Genel olarak Rho/Rho kinaz yolağının karıştığı başlıca durumlar, vasküler ve nonvasküler düz kas kasılması, düz kas hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu, adezyonu ve sitokinaz, membran şekil değişikliği, fagositoz, hücre farklılaşması, aksonal uzama ve nörit çekilmesi, nörotransmitter salıverilmesi, hücre bölünmesi ve büyümesidir (95,101). Rho-kinaz enzim inhibitörlerinin tedavi hedefleri birçok sistem üzerinde denenmektedir (Şekil 3).

Çeşitli hastalıklara sekonder gelişen erektil disfonksiyonda Rho kinaz sinyal yolağının katkısının olduğu öne sürülmüştür. Pelvik ateroskleroz ve endotelial hasarlanma ile birlikte vaskülojenik erektil disfonksiyon oluşturulan sıçan modelinde kavernozaal Rho-kinaz aktivitesinin arttığı, eNOS enzim ekspresyonunun azaldığı ve erektil fonksiyonun bozulduğu, Rho-kinaz inhibitörü fasudilin kronik oral uygulanmasının erektil fonksiyonları, kavernozaal Rho-kinaz aktivitesini ve total eNOS ekspresyonlarını normalize ettiği bildirilmiştir (97). İnsan ve tavşan korpus kavernoza dokularında noradrenerjik sinir stimülasyonu ve fenilefrinle oluşturulan kontraksiyonların, Rho-kinaz inhibitörü Y-27632 ile konsantrasyon bağımlı olarak inhibe olduğu gözlenmiştir (97).

Çeşitli çalışmalarda ROCK inhibitörlerinin spinal kord yaralanmasının hayvan modelinde, Alzheimer hastalığı, multipl skleroz, nöropatik ağrı, diğer nörolojik hastalıklarda potansiyel nörodejeneratif tedavi edici ajan olabileceği öne sürülmüştür

(105). Rho-bağımlı sinyal yolağının, vasküler ve vasküler olmayan düz kas kasılması dışında, hücre iskeletinin aktinini etkileyerek sitokinez, hücre morfolojisi ve hücre göçünü de içeren farklı hücresel fonksiyonları, aynı zamanda nöronal fonksiyonları düzenlediği bildirilmiştir (5). Ayrıca kas olmayan hücrelerden sinir hücrelerinde de Rho GTP'azların, sinaps oluşumu, akson göçü, dendrit girintileri ve şekillenmesi, aksonun büyümesi, polaritesi gibi olaylarda fonksiyonu olduğu bildirilmiştir (110). İskemik beyinde ROCK-2'nin belirgin olarak arttığı gösterilmiştir. Serebral infarkt esnasında aksonlarda, ROCK'un aktive olduğu, bunun fasudil ile önlendiği bildirilmiştir. Nöropatik ağrıda rol oynayabilir. Rho kinaz inhibisyonu, spinal kord hasarlanması sonrası gelişen ekstremitte fonksiyonlarının yeniden kazanılmasını sağlayabilir (105).



Şekil 3. Rhokinaz inhibitörlerinin tedavi hedefleri (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu izni alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Deneyler 20-24°C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık döngülü ortamda tutulan, standart laboratuvar yemi ve musluk suyu ile beslenen Wistar-albino türü anne sıçanların 1 günlük yavruları üzerinde gerçekleştirildi.

3.2. Deney Protokolü

H/R, hava yalıtımlı bir ortam içerisine yerleştirilen sıçan yavrularının, önce 10 dakika süreyle %95 azot + %5 karbondioksit gaz karışımı ve hemen ardından 10 dakika süreyle %100 oksijen ile solutulmasıyla gerçekleştirilmiştir (Resim 6, 7) (111).



Resim 6, 7. Hava geçirmez kapalı bir ortamda H/R yöntemi uygulanışı.

Deneysel nekrotizan enterokolit modelinde yara iyileşmesi sürecinde rho-kinaz enzim inhibitörü olan Y-27632'nin etkisini araştırmak üzere bu çalışma planlandı. Çalışma Wistar-albino türü sıçanların bir günlük yavruları üzerinde gerçekleştirildi. Her birinde ortalama 10 adet denek bulunan 4 grup oluşturuldu.

Grup 1 (n=10): Hiçbir işlem ve tedavi uygulanmayan grup (sham grubu).

Grup 2 (n=11): H/R oluşturulan sıçan yavrularına 5 gün süreyle her gün intraperitoneal yoldan (i.p) % 0.9 NaCl tek doz şeklinde uygulan grup (kontrol grubu).

Grup 3 (n=10): H/R sonrasında 5 gün süreyle her gün i.p yoldan 0.3 mg/kg/gün Y-27632 tek doz şeklinde uygulanan grup.

Grup 4 (n=9): H/R sonrasında sıçan yavrularına i.p yoldan 5 gün süreyle 3 mg/kg/gün Y-27632 tek doz şeklinde uygulanan grup.



Resim 8. NEK modeli oluşturulan ve tedavi verilmeyen sıçan yavrusu barsaklarının makroskopik görünümü.

Sıçan yavruları deney protokolünün tamamlanmasından bir gün sonra dekapitasyon ile öldürüldü. Laparotomi yapılarak ince ve kalın barsakların tamamı çıkarıldı (Resim 8). Proksimal jejunum, distal ileum ve proksimal kolondan alınan herbiri 1 cm uzunluktaki doku örnekleri %10'luk formol solüsyonunda tesbit edildi. Kalan barsaklar doku MDA, doku hidroksiprolin ve doku nitrik oksit düzeyleri ölçülmek üzere -80°C'de saklandı.

Deney süresince ölen sıçan yavruları çalışmaya dahil edilmedi.

3.3. Histopatolojik İncelemeler

Alınan örnekler ışık mikroskopunda incelendi. Elde edilen histolojik kesitler Clark ve ark.'ın (112) tanımladığı skorum sistemine göre 0-4 puan arasında (Derece 0:

Sağlam villus yapısı; derece 1: Villus tepesinde nekroz, kriptalar sağlam; Derece 2: Villus tepe nekrozu ve mukozal ve submukozal yapının bozulması; Derece 3: Müsküler tabakaya kadar uzanan nekroz; Derece 4: Tam kat nekroz) skorlandı. İstatistiksel incelemeler için her bir sıçan yavrusundan alınan üç adet doku örneğinin skor toplamının aritmetik ortalaması kullanıldı.

3.4. Biyokimyasal İncelemeler

Alınan barsak doku örnekleri sıvı nitrojen ile dondurularak saklama kabında MDA ve NO analizi için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında bir biyokimya uzmanı tarafından değerlendirilinceye kadar -80 °C’de saklandı.

3.4.1. Doku Malondialdehit Düzeyi Tayini

Doku malondialdehit düzeyi 90-100°C’de Thiobarbituric asit (TBA) kullanılmasına dayanan bir reaksiyon yöntemi ile saptandı (113) .

3.4.2. Doku NO Ölçümü

Doku nitrit (NO₂) ve nitrat (NO₃) seviyeleri nitrik oksit (NO) üretim indeksine göre tanımlanır. Örnekler Somogyi reaktanı kullanılarak deproteinize edilir. Total nitrit miktarı (nitrit+nitrat) Ph’ın 9.7 olduğu glisin nötralize ortamında kadmiyum granüllerinde bakır sayesinde nitratın nitrite indirgenmesi ile ölçüldü (114).

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi ve ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Anlamlılık varsa ANOVA sonrasında karşılaştırmalarda PostANOVA (Student-Newman-Keuls) testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi histolojik skorlar arasındaki anlamlı farkları tespit etmek için kullanıldı. Kruskal-Wallis testi ile anlamlı farklar tespit edilince, bireysel grup puanları Dunn’s çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırıldı. $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

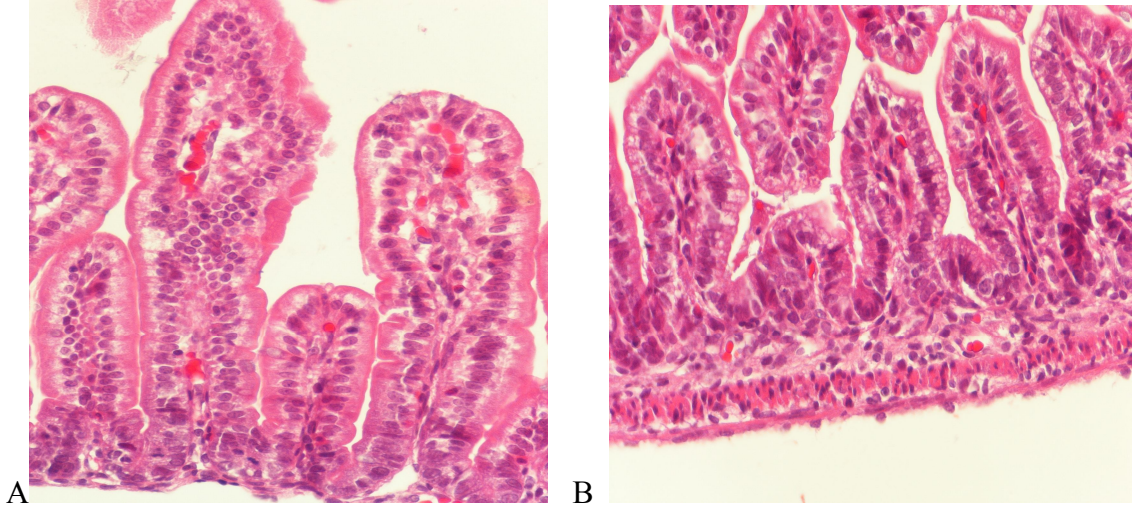
4.BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

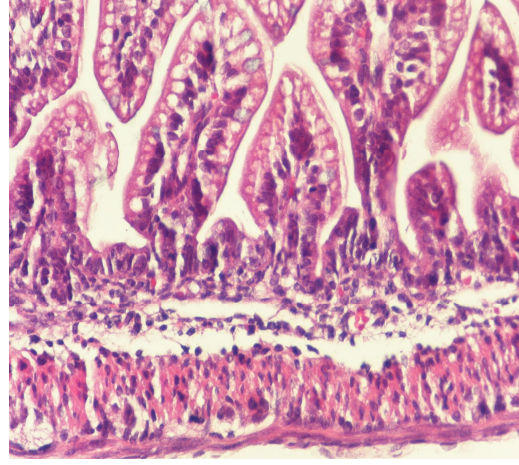
Grupların histopatolojik inceleme skorları Tablo 3’de verilmiştir. Grup 1’de (bazal değer grubu) yer alan yavru sıçanlarda belirgin bir histopatolojik lezyon görülmezken (Resim 9), Grup 2’de (H/R grubu) villus tepe nekrozundan, barsak duvarı hasarına kadar farklı şiddette histopatolojik lezyonlar saptandı (Resim 10, 11). Grup 2’de saptanan histopatolojik inceleme skorları Grup 1’e göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Düşük ve yüksek doz Y-27632 verilen Grup 3 ve Grup 4’de barsak yaralanması skorları H/R grubuna göre (Grup 2) istatistiksel yönden anlamlı olarak düşük bulundu. Grup 3 ve Grup 4 kendi arasında karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık saptanmadı. Bu bulgular ile H/R yöntemiyle sıçan yavrularının barsaklarında histopatolojik olarak grade 3 hasarlanma meydana geldiği (Resim 12) görüldü.

Tablo 3. Çalışmaya alınan gruplardaki sıçan yavrularının barsaklarının histopatolojik değerlendirme (*grade*) skorları.

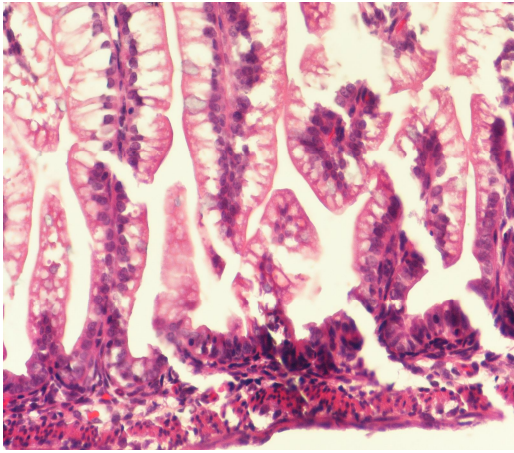
Gruplar	n	Histolojik skor	p
Grup 1 (sham)	10	0.66±0.14	
Grup 2 (H/R+SF)	11	20.97±0.47	<0.0001
Grup 3 (H/R+0.3 mg/kg/gün Y-27632)	10	3.64±0.33	<0.01
Grup 4 (H/R+3 mg/kg/gün Y-27632)	9	4.30±0.34	<0.05



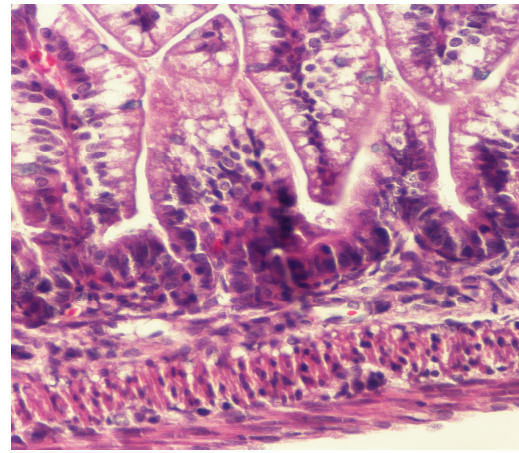
Resim 9. Kontrol grubu.A, B. Normal histoloji, *grade 0*.



Resim 10. Villus tepesinde nekroz, *grade 1*.



Resim 11. Villus tepe nekrozu ve mukozal ve submukozal yapının bozulması, *grade 2*.

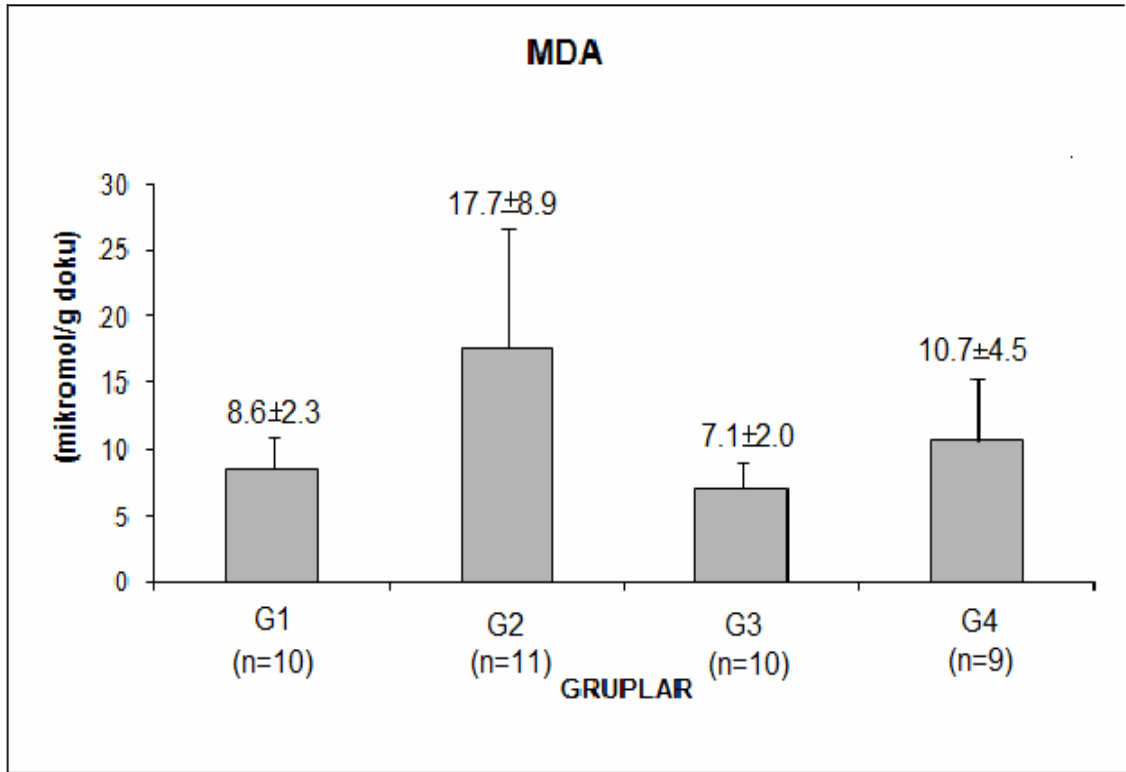


Resim 12. Müsküler tabakaya kadar uzanan nekroz, *grade 3*.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Malondialdehid (MDA)

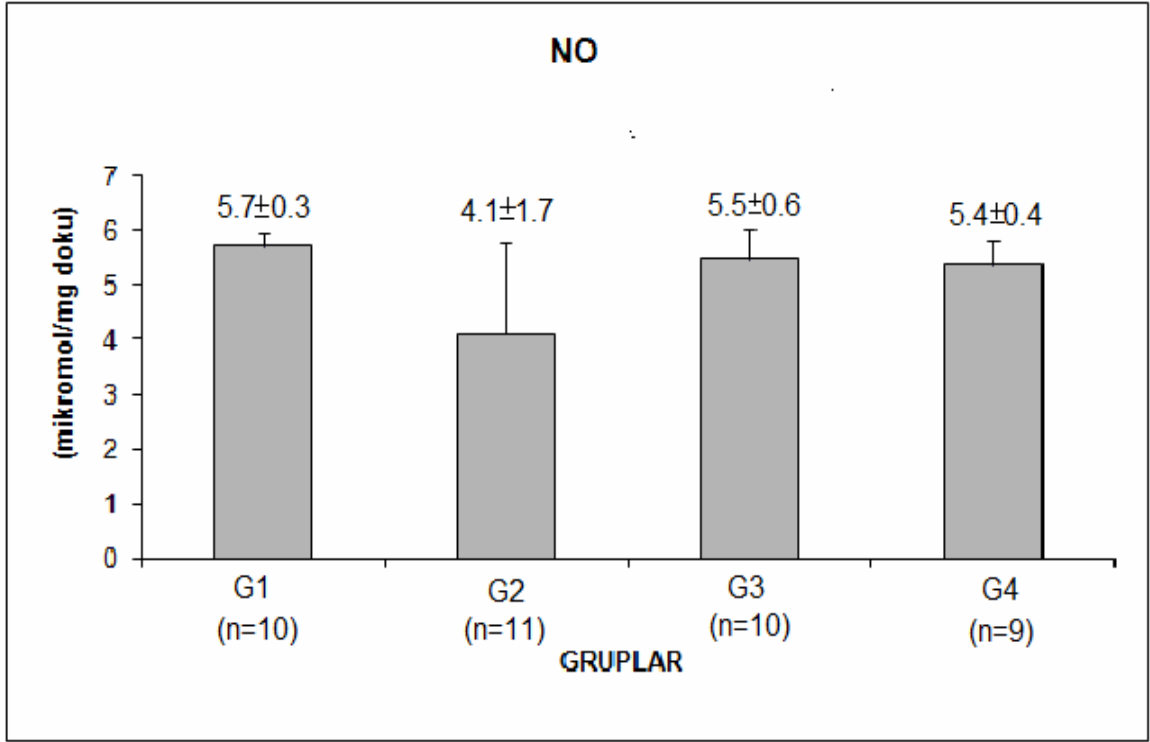
Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın barsak doku düzeyi değerlendirildiğinde, en yüksek MDA düzeyi grup 2'de, en düşük MDA düzeyi ise grup 3'de saptandı. Gruplar arası MDA düzeyleri karşılaştırıldığında MDA düzeyi Grup 2'de diğer gruplara göre istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 4'de saptanan MDA düzeyi anlamlı olarak düşük bulundu. Düşük ve yüksek doz Y-27632 verilen Grup 3 ve Grup 4 arasında MDA düzeyi açısından istatistiksel fark saptanmadı.



Şekil 4. MDA düzeyi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları (Gruplar arası p değerleri G1-G2: <0.01 , G2-G3: <0.001 , G2-G4: <0.05 , Diğerleri: >0.05)

4.2.2. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit barsak doku düzeyleri incelendiğinde, en düşük NO düzeyinin grup 2'de olduğu görüldü. Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2'de saptanan NO düzeyi anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$). Grup 3 ve Grup 4'de saptanan yüksek NO düzeyi Grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0.05$). Grup 3 ile Grup 4 arasında doku NO düzeyi açısından istatistiksel fark tespit edilmedi.



Şekil 5. NO sonuçları ve istatistiksel değerlendirme sonuçları. (Gruplar arası p değerleri G1-G2: < 0.01 G2-G3: < 0.01 G2-G4: < 0.05 Diğerleri: >0.05)

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada H/R yöntemiyle NEK modeli oluşturulan sıçan yavrularına, H/R sonrası tedavi olarak Y-27632 0.3 mg/kg/gün ve 3 mg/kg/gün i.p yolla uygulanarak, bu ilacın histopatolojik ve biyokimyasal olarak NEK'e karşı koruyucu etkinliği olup olmadığı araştırıldı. Şu anki bilgilerimize göre Y-27632'nin NEK'teki etkinliğini araştıran bir çalışma literatürde bulunamamıştır.

Nekrotizan enterokolit, yenidoğan döneminde, sıklıkla prematüre yenidoğanları etkileyen önemli bir gastrointestinal acil sorundur. Son yıllarda YYBÜ bakım koşullarındaki bilimsel ve teknolojik gelişmelere rağmen, NEK'de mortalite oranlarının düzelmediği, bu oranın %10 ile %30 arasında olduğu rapor edilmiştir (22). YYBÜ'ndeki gelişmeler ve prematüre bebeklerin daha uzun süre yaşatılabilmesi nedeniyle NEK sıklığı artış göstermiştir. Nekrotizan enterokolit insidansı %1-10 arasında değişmekte ve olguların %90'nını prematüreler oluşturmaktadır (22,85). Neonatolojideki son birkaç 10 yıldaki gelişmeler çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşama şansını artırmıştır. Sonuç olarak NEK olabilecek hasta sayısı da artmıştır. Respiratuar distres sendromundaki ölüm oranlarının azalması ile tahminlere göre NEK prematür infantlarda önemli bir ölüm sebebi olacaktır. Nekrotizan enterokolit insidansı artmaktadır ve bununla doğru orantılı NEK'e bağlı ölüm ve uzun dönem komplikasyonlarda artış görülmektedir. Bu nedenle NEK'in önlenmesi ve tedavisine odaklanmak gerektiği açıkça görülmektedir. Nekrotizan enterokolit, patogenezi halen tam olarak anlaşılamamış kompleks bir sendromdur. Ancak, patogenezden, prematüre doğum ile birlikte hipoksik-iskemik hasar, hipertonic enteral besleme, beslenme volümünün hızlı arttırılması, bakteri kolonizasyonu ve sepsis gibi birçok predispozan faktör sorumlu tutulmaktadır. Bu faktörler eşliğinde serbest oksijen radikalleri, aktive lökositler, lökotrienler, PAF, TNF- α gibi inflamatuvar mediatörler aracılığıyla NEK'te ortak son yol olan barsak nekrozu gelişmektedir (22,37,43,48,52-57).

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki teknolojik gelişmelere rağmen NEK’te yüksek mortalite oranı, uzun dönemde ciddi komplikasyonları ve hastane masraflarının fazla olması nedeniyle, NEK patofizyolojisinin anlaşılmasına ve hastalığın tedavisine yönelik çalışmalara ne kadar ihtiyaç olduğunu açıklamaktadır.

Nekrotizan enterokolit çoğunlukla prematür bebeklerin hastalığıdır. Deneysel çalışmalarda yedi günlük ve daha büyük sıçan yavrularının santral sinir sistemi matürasyonunun term insan yavrularının beyin gelişimine denk geldiği, yedi günden küçük sıçan yavrularının preterm bebeklere denk geldiği, hatta üç günlük sıçanların 28-32 haftalık fetusa karşılık geldiği belirtilmektedir (115). Bu nedenle çalışmamıza prematüre fetusa karşılık gelen postnatal 1-6 günlük sıçan yavruları alınmış ve hipoksiye maruz bırakılmışlardır.

Hipoksik stres durumunda kan akımı splanknik yataktan beyin, kalp ve adrenal bezler gibi hayati organlara yönelir. Bunun sonucu çeşitli organlarda iskemik hasar gelişir (22,45). Hayvan çalışmalarında intestinal iskemiye takiben reperfüzyon sonucu barsak nekrozu geliştiği gösterilmiştir (46-48). Bir çok deneysel çalışmada hipoksi reoksijenizasyon yöntemi uygulanmış ve histopatolojik ve biyokimyasal olarak insanlardaki NEK’e benzer barsak doku hasarlanmasının meydana geldiği gösterilmiştir (48,65-67). Hipoksi ve reperfüzyon sonrası intestinal zedelenmenin ortamdaki hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O^-) ve hidroksil anyonu (OH^-) gibi serbest oksijen radikalleri aracılığıyla geliştiği, bu radikallere bağlı olarak nötrofil aktivasyonu, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı meydana geldiği ve hücre ölümünün gerçekleştiği belirtilmektedir (24,25,41,48,49). Çalışmamızda hipoksi-reoksijenizasyon uygulanarak sıçan yavrularında NEK modeli oluşturulmuştur.

Nekrotizan enterokolitte makroskopik olarak barsak şiş ve ödemli görünür. Serozal yüzey, fibrinöz eksuda nedeniyle kırmızı-gri ya da gangren olmuşsa siyah renktedir. Mikroskopik olarak ise en sık koagülasyon nekrozu ve inflamasyon, daha az olarak da ülserasyon, hemoraji ve pnömotozis intestinalis görülür (22,116). Alınan barsak doku örnekleri hemotoksilen eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Grup 1’de yer alan yavru sıçanlarda belirgin bir histopatolojik lezyon görülmezken Grup 2’de değişik derecelerde histopatolojik lezyonlar saptandı. Grup 2’nin histopatolojik skor sonuçları Grup 1 ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek

bulundu. Bu sonuç bize hipoksi reoksijenizasyon uygulanan sıçan yavrularının barsağında nekroz geliştiğini göstermiştir.

Canpolat ve arkadaşları (3), yenidoğan sıçanlarda hipoksi reoksijenizasyon yöntemi ile NEK oluşturdıkları çalışmalarında, rekombinant insan insan granülosit koloni uyarıcı faktörünün, intestinal hasara karşı koruyucu etki yaptığını göstermişlerdir. Çalışmalarında H/R grubundaki histopatolojik skor kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Okur ve arkadaşlarının (48), yaptığı çalışmada yine hipoksi reoksijenizasyon yöntemi ile nekrotizan enterokolit oluşturulan sıçan yavrularında lipid peroksidasyonunun rolü ve i.p yolla verilen Vitamin E'nin etkisi araştırılmıştır. Hipoksi reoksijenizasyon uygulanan grupta yüzeysel epitelyal hasardan transmural nekroza kadar değişik derecelerde intestinal hasarlanma saptanmış, Vitamin E verilen grupta ise H/R grubuna göre histopatolojik olarak iyileşme saptanmıştır. Kabaroğlu ve arkadaşları (50) hipoksi reoksijenizasyon yöntemi ile NEK geliştirip tedavi olarak farelerde L-arginin ve L-carnitin uygulamışlardır. Hipoksi reoksijenizasyon uygulanan grupta histopatolojik skor kontrol grubuna göre yüksek bulunup, L-arginin ve L-carnitin verilen grupta ise histopatolojik skor sonuçları kontrol grubu ile benzer bulunmuş.

Y-27632 selektif bir Rho-kinaz enzim inhibitörüdür. Bu bileşik, agoniste bağlı düz kas kontraksiyonunu kalsiyum sensitizasyonunu engelleyerek inhibe eder. Y-27632'nin düz kas gevşemesi, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, anyon kanallarının aktivasyonu, nötrofil kemotaksisinin inhibisyonu, tümör invazyonunun inhibisyonu ve hücre transformasyonunun inhibisyonuna neden olduğu bilinmektedir. Güncel literatürde Y-27632 ile yapılan çalışmaların tümü hayvan deneylerine dayanmaktadır. Literatürde yer alan yayınlar incelendiğinde, yapılan deneylerde farklı dozlarda Y-27632 kullanıldığı gözlenmiştir (117,118). Çalışmamızda Y-27632'nin iki farklı dozunun etkileri araştırıldı. Grup 3'de düşük doz (0.3 mg/kg/gün) Grup 4'de ise yüksek doz (3 mg/kg/gün) Y-27632 uygulandı. Düşük ve yüksek doz Y-27632 verilen Grup 3 ve Grup 4'ün düşük histopatolojik skorları Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Tedavi amacı ile H/R sonrası i.p yolla verilen Y-27632 barsak iyileşmesi üzerine olumlu etki göstermiştir. Gerek düşük doz (Grup 3) ve gerekse yüksek doz (Grup 4) Y-27632 ile 5 gün tedavi edilen sıçan yavrularında histopatolojik skorlar karşılaştırıldığında düşük doz Y-27632 uygulanan grupta skorlar daha düşük

bulunmakla birlikte iki farklı doz grubu arasında bulunan bu fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Y-27632'nin barsak hasarı üzerindeki olumlu etkisi çalışmamızda kullanılan iki değişik doz grubunda farklılık göstermemiştir. Histopatolojik değerlendirmede bulgularımız, uyguladığımız H/R modeli ile yapılan birçok deneysel çalışmadaki NEK grubu barsak histopatolojik bulguları ile benzerdi (3,48,50,65-67). Y-27632'nin yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizması hakkında değişik görüşler vardır. Gates ve ark.(119) Y-27632'nin yara iyileşmesinde fibroblastları düzenleyerek kontraksiyon oluşmasını önlediğini göstermişlerdir. Tomasek ve ark. (120) yaptıkları bir çalışmada Y-27632'nin granülasyon dokusu oluşurken miyofibroblastların kontraksiyonunu önleyerek yara iyileşmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamız hipoksi/reoksijenizasyonun NEK patogenezinde önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Ayrıca Y-27632 tedavisinin deneysel modelde NEK'te görülen histopatolojik değişiklikleri belirgin şekilde düzelttiğini göstermektedir. Y-27632 maddesinin dozunun artırılmasının histopatolojik olarak faydasının olmadığı tespit edilmiştir.

MDA düzeyi artışı hücre hasarını gösteren önemli bir parametredir. Hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleriyle peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Oluşan bir dizi reaksiyonu takiben son ürün olarak MDA ve hidroproksit oluşur. Dolayısıyla dokuda MDA artışı saptanması doku hasarının açık bir kanıtıdır (121).

Hipoksi reoksijenizasyon yöntemiyle NEK modeli oluşturulan sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda MDA düzeylerinin NEK grubunda belirgin olarak yüksek saptandığı pek çok kez rapor edilmiştir (48,50,65-67). Okur ve arkadaşlarının (48) yaptığı çalışmada H/R yöntemi ile NEK oluşturulan sıçan yavrularında Vitamin E tedavisi verilip ölçülen doku MDA düzeyleri, H/R grubunda tedavi ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuş olup H/R sonucu oluşan lipid peroksidasyonunu göstermektedir. Bıçakçı ve arkadaşlarının (65) yaptığı çalışmada yine H/R yöntemi ile deneysel NEK oluşturulan sıçan yavrularında tedavi olarak gentamisin ve omeprazol verilmiş. Toplam 70 adet sıçan yavrusu çalışmaya alınmış ve 7 grup oluşturulmuş. Ölçülen doku MDA düzeyleri H/R grubunda en yüksek saptanıp diğer bütün gruplar ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş. Gentamisin ve

omeprazol tedavisi ile barsak hasarlanmasının azaldığı biyokimyasal ve histopatolojik olarak ortaya konmuş.

Yapıcı ve arkadaşlarının (122) deneysel kimyasal özefagus yanık modelinde düşük (0.3 mg/kg/gün) ve yüksek doz (3 mg/kg/gün) i.p yolla Y-27632 kullanarak yaptığı çalışmada tedavi verilen her iki grupta MDA ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş. Doku MDA düzeyinde elde edilen düşük sonuçlar, Y-27632'nin yanık özefagus duvarında hücre harabiyetini engelleyerek lümen darlığı oluşmasını engellediğini düşündürmüştür. İki farklı doz grubu MDA düzeyleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel fark saptanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada düşük ve yüksek doz Y-27632 grupları arasında MDA düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı. Akısu ve ark. (49) H/R yöntemi ile bir günlük sıçan yavrularında deneysel nekrotizan enterokolit oluşturup i.p yolla Rekombinan İnsan Eritropoetini vermişlerdir. Barsak dokusunda ölçülen MDA düzeyi H/R grubunda en yüksek ölçülüp H/R+eritropoetin uygulanan grupta istatistiksel olarak düşük bulunmuştur. Demiryürek ve ark. (108) tarafından yapılan çalışmada koroner arter oklüzyonu ile hipoksiye maruz bırakılmış erişkin sıçanlarda iskemik önkoşullama yapılan ve yapılmayan gruplarda Y-27632 tedavisi uygulanıp serum MDA seviyeleri ölçülmüş. Kontrol grubunda serum MDA düzeyi en yüksek bulunmuş iskemik önkoşullama yapılan grupta ise endüşük düzey saptanmıştır. Y-27632 tedavisi verilen grupta MDA düzeyi kontrol grubuna göre düşük düzeyde saptanmış fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış. Çalışmada düşük düzeyde saptanan MDA sonucu iskemik önkoşullamanın lipid peroksidasyonunu inhibe ederek infarktın derecesini azalttığı yönünde yorumlanmıştır. Yapılan bu çalışmada Y-27632 tek doz şeklinde kullanılmıştır. Tüm bu çalışmalar ve bizim çalışmamız hipoksi/reoksijenizasyonun barsak dokusu hasarlanmasında serbest oksijen radikallerinin hücresel ve mitokondrial membranda yer alan doymamış lipidlerin peroksidasyonuna yol açarak etkili olduğunu ve bunun göstergesinde ise H/R sonrası dokuda ölçülen MDA düzeylerindeki anlamlı artış olduğunu göstermektedir. Sunduğumuz çalışmada doku MDA düzeyi ölçülerek hasarlı barsak parçasındaki doku hasarı ve deneyde kullanılan farmakolojik ajanın bu hasara etkisi araştırıldı. Kontrol grubunda bulunan MDA ortalamaları sham grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu. Her iki farklı doz Y-27632 tedavi gruplarında elde edilen ortalama MDA değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu.

Diğer yandan Y-27632 tedavi gruplarıyla sham grubunda saptanan MDA düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı. 0,3 mg/kg/gün Y-27632 ile tedavi edilen grupta bulunan MDA ortalaması, 3 mg/kg/gün doz ile tedavi edilen gruba göre düşük bulunmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Bu sonuçlar Y-27632'nin doku hasarını biyokimyasal olarak azalttığını göstermektedir. MDA sonuçları açısından bakıldığında uygulanan iki farklı dozun yara iyileşmesi yönünden birbirine üstünlük göstermediği saptanmıştır. Düşük ve yüksek doz Y-27632 grupları arasında anlamlı fark bulunmaması, elde edilen bu olumlu etkinin çalışmada kullanılan dozlardan bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

Nitrik oksit (NO), siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden etki gösteren güçlü bir çevresel düz kas gevşeticisidir (123). NO hem hücre içi hem de hücre dışında düzenleyici işlev gören küçük, reaktif bir serbest radikal moleküldür. Birçok hücrel işlemler NO tarafından düzenlenmektedir. Makrofajlar, endotelial hücreler, bazı nöronlar, damar düz kas hücreleri ve kupffer hücreleri NO sentezleme yeteneğine sahiptirler. NO hücre zarından serbestçe geçen bir nörotransmitterdir. Nitrik oksitin damar tonusunun düzenlenmesi, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, düz kas hücrelerinin çoğalmasında rol aldığı ve kollajen sentezini engellediği gösterilmiştir (123,124). Nitrik oksit sentaz (NOS) arjininden sitrulin oluşumunu uyarır ve bu reaksiyon sırasında NO oluşur. Nitrik oksit sentazın üç farklı şekli vardır (123). Nöronal (nNOS), indüklenebilir (iNOS) ve endotelial (eNOS). Üç NOS izoformu aminoasit dizilişi bakımından %50 benzerlik gösterir.

Çalışmamızda Grup 2'de NO düzeyi düşük bulunurken, düşük ve yüksek doz Y-27632 verilen gruplarda ise NO düzeyini artmış bulduk. Grup 1 (sham) ile karşılaştırıldığında Grup 2'de saptanan düşük NO düzeyi istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Grup 3 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Daha önce yapılan çalışmalarda NO düzeyinin neden, ne zaman azaldığı ya da arttığı tam bir açıklık kazanamamıştır. İskemi sonrası barsakta NO üretiminin nasıl etkilendiğinin araştırıldığı çalışmalarda, süperior mezenterik arterin 20 dakika süreyle tıkanması ve takip eden reperfüzyonunda nitrit/nitrat düzeylerinde bir düşme olduğu ve bunun da NOS inhibisyonu veya inaktivasyonu nedeniyle olduğu savunulmuştur (125). Cintra ve ark. (126) tarafından yapılan çalışmada H/R yöntemi ile NEK oluşturulan sıçanlarda NO prokürsörü olan L-Arginin tedavisi uygulanıp ileum ve

kolon barsak dokusunda NO seviyesi ölçülmüş. Hem ileum hemde kolonda ölçülen NO düzeyi H/R grubunda düşük L-Arginin grubunda yüksek tespit edilip aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş. Bir NO prokürsörü olan L-Arginin ile yapılan uygulamada doku NO seviyesi yükselmiş ve bu yükseliş barsak hasarının iyileşmesinde olumlu yönde etkili olduğunu düşündürmüştür. Kumral ve ark.(127) sıçan yavrularında H/R yöntemi ile NEK oluşturup H/R öncesi bir gruba Rekombinan İnsan Eritropoetini i.p yolla uygulayıp doku NO seviyesi ölçmüşlerdir. Doku NO seviyesi H/R uygulanan grupta diğer gruplara göre anlamlı düşük bulunmuş ve barsak hasarının iyileşmesi histopatolojik olarakda kanıtlanmıştır. Shah ve arkadaşları (128) retrospektif olarak yaptıkları geniş tabanlı bir çalışmada prematüre infantlarda Arginin desteğinin istatistiksel olarak NEC gelişme riskini plasebo grubuna göre anlamlı derecede azalttığını tespit etmişlerdir.

NO'nın yarılanma süresi çok kısadır. Bu yarılanma süresinin kısalığındaki temel faktörün de süperoksit ile olan etkileşme olduğu düşünülmüştür. İskemi/reperfüzyon, doku NO düzeylerini hem NOS inaktivasyonu ile hem de süperoksit tarafından meydana getirilen NO inaktivasyonu ile belirgin şekilde azaltmaktadır. NO'nun endojen üretim ve kullanımının reoksijenizasyon sonrası azalması nedeniyle koruyucu etkisinden faydalanabilmek amacıyla dokuya dışardan NO sağlanabilmektedir (129). Sunulan bu çalışmada, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük ve yüksek doz Y-27632 verilen gruplarda saptadığımız daha yüksek NO düzeyi, bu molekülün hipoksi reoksijenizasyon hasarında olumlu etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak literatürde ilk olan bu çalışmamızda deneysel nekrotizan enterokolit modelinde Y-27632'nin barsak hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Y-27632 NEK'te histopatolojik ve biyokimyasal olarak yara iyileşmesinde doku hasarını düzelten, yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunan bir farmakolojik ajan olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuçlar, Rho-kinaz inhibitörlerinin klinik uygulamada nekrotizan enterokolit tedavisinde yeri olabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇLAR

1. NEK etyopatogenezinde iskemi-reperfüzyon hasarı rol oynar.
2. Genel vücut hipoksi ve reoksijenizasyonu, yavru sıçan barsağında NEK benzeri yaralanmaya yol açar.
3. Y-27632 NEK'de tedavide kullanılabilecek etkili bir ajandır.
4. Yüksek doz Y-27632 kullanılması, tedavideki iyileşmeyi artırmamaktadır.

7.KAYNAKLAR

1. Cetinkaya M, Koksall N. Nekrotizan enterokolit. Gncel Pediatri. 2004;2:146-151.
2. Kliegman RM. Neonatal necrotizing enterocolitis: Implication for an infectious disease. *Pediatr Clin North Am*. 1979;26:327-334.
3. Canpolat FE, Yurdakok M, zsoy Œ, Hazıroglu R, Korkmaz A. Protective effects of recombinant human granulocyte colony stimulating factor in a rat model of necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg Int*. 2006;22:719-723.
4. Park DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery*. 1983;94:415.
5. Fukata Y, Amano M, Kaibuchi K. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol Sci*. 2001;22:32-39.
6. Hirata K, Kikuchi A, Sasaki T, Kuroda S. Involvement of rho p21 in the GTP enhanced calcium ion sensitivity of smooth muscle contraction. *J Biol Chem*. 1992;267:8719-8722.
7. Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, Ono T, Kawahara T, Morishita T, et al. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature*. 1997;389:990-994.
8. Masumoto A, Hirooka Y, Shimokawa H, Hironaga K, Setoguchi S, Takeshita A. Possible involvement of Rho-kinase in the pathogenesis of hypertension in humans. *Hypertension*. 2001;38:1307-1310.
9. Iizuka K, Shimizu Y, Tsukagoshi H, Yoshii A, Harada T, Dobashi K, et al. Evaluation of Y-27632, a rho-kinase inhibitor, as a bronchodilator in guinea pigs. *Eur J Pharmacol*. 2000;406:273-279.
10. Robertson TP, Dipp M, Ward JP, Aaronson PI, Evans AM. Inhibition of sustained hypoxic vasoconstriction by Y-27632 in isolated intrapulmonary arteries and perfused lung of the rat. *Br J Pharmacol*. 2000;131:5-9.

11. Oygür N. Nekrotizan Enterokolit. Yurdakök M, Erdem G (eds). Neonatoloji (2th ed). Ankara, Alp Ofset I, 2004:552-556.
12. Jane S Lee, Richard A Polin. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Seminars in Neonatology*. 2003;8:449-59.
13. Dimmit R.A., Lawrance R. Clinical management of necrotizing enterocolitis. *American Academy of Pediatrics*. 2001;2:110-117.
14. The Canadian Neonatal Network. Variations in Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Canadian Neonatal Intensive Care Units. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 2004;39:366-372.
15. Henry M.C., Moss R.L. Current issues in the management of necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol*. 2004;28:221-233.
16. Maayan-Metzger A, Itzhak A, Mazkereth R, Kuint J. Necrotizing enterocolitis in full-term infants: case-control study and review of the literature. *J Perinatol*. 2004;24:494-499.
17. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji (9th ed). Ankara, Palme Yayıncılık, 2005:277-311.
18. Moore K L, Persaud T V N. İnsan Embriyolojisi (6th ed). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:271-303.
19. Yıldırım M. Topografik Anatomi (1th ed). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2000:244-251.
20. Putz R, Pabst R, Arıncı K. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası (4th ed). 2. Cilt, İstanbul, BETA Basın Yayın Dağıtım, 1994:135-138.
21. Gökmen FG. Sistemik Anatomi (1th ed). İzmir, Güven Kitabevi, 2003:487-505.
22. Caplan M. Neonatal necrotizing enterocolitis. In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh M (eds). *Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine Diseases of the Fetus and Infant*. Philadelphia, Mosby Elsevier, 2006:1403-1417.

23. Hsueh W, Caplan MS, Qu XW, Tan XD, De Plaen IG, Crussı FG. Neonatal necrotizing enterocolitis: Clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatric and Developmental Pathology*. 2002;6:6-23.
24. Neu J. Necrotizing enterocolitis. *Pediatr Clin North Am*. 1996;43:409-432.
25. Stoll BJ, Kleigman RM. Necrotizing enterocolitis. *Clinics in Perinatology*. 1994;21:205-457.
26. Kleigman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis. *N Eng J Med* 1984;310:1093-1112.
27. Can Başaklar. Yenidoğanlarda gastrointestinal kanama. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve ürolojik hastalıkları*. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006;35:757-783.
28. Agerty HA, Ziserman AJ, Sollenberger CL. A case of perforation of the ileum in a newborn infant with operation and recovery. *J Pediatr*. 1943;22:233.
29. Stephen S. Kim and Craig T. Albanese. Necrotizing Enterocolitis. In: Jay L.Grosfeld, MD, James A, O'Neill, Jr., MD, Arnold G.Coran, Eric W.Fonkalsrud, Antony A. Caldamone (eds). *Pediatric Surgery* (6th ed). 2006:1427-1452.
30. Rowe MI, Albanese CT. Necrotizing enterocolitis. In: O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG (eds). *Pediatric Surgery*. St. Louis, Mosby, Year Book Medical Publisher, 1998:1297-1320.
31. Rangel SJ, Moss RL. Necrotizing enterocolitis. In: Oldham KT, Colombani PM, Foglia RP, Skinner MA (eds). *Principles and Practice of Pediatric Surgery*. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2005:1251-1267.
32. Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *Lancet*. 1990;336:1519.
33. Ryder RW, Shelton JD, Guinan ME. Necrotizing enterocolitis: a prospective multicenter investigation. *Am J Epidemiol*. 1980;112:113-123.

34. Uauy RD, Fanaroff AA, Korones SB, Phillips EA, Phillips JB, Wright LL. Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: biodemographic and clinical correlates. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr*. 1991;119:630-638.
35. Wiswell TE, Robertson CF, Jones TA, Tuttle DJ. Necrotizing enterocolitis in full-term infants. A case-control study. *Am J Dis Child*. 1988;142:532-535.
36. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: Treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am*. 1986;33:179-201.
37. Yurdakök M. What next in necrotizing enterocolitis?. *Turk J Pediatr*. 2008;50: 1-11.
38. Hsueh W, Caplan MS, Tan X, MacKendrick W, Crussi FG. Necrotizing enterocolitis of the newborn: Pathogenic concepts in perspective. *Pediatric and Developmental Pathology*. 1998;1:2-16.
39. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jügens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med*. 1992;13:341-390.
40. Crissinger KD, Granger DN. Mucosal injury induced by ischemia and reperfusion in the piglet intestine: Influences of age and feeding. *Gastroenterology*. 1989;97: 920-926.
41. Crissinger KD, Grisham MB, Granger DN. Developmental biology of oxidant-producing enzymes and antioxidants in the piglet intestine. *Pediatr Res*. 1989;25:612-616.
42. Miller MJS, McNeill H, Mullane KM. SOD prevents damage and attenuates eicosanoid release in a rabbit model of necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol*. 1988;255:556-565.
43. Cueva JP, Hsueh W. Role of oxygen derived free radicals in platelet activating factor induced bowel necrosis. *Gut*. 1988;29:1207-1212.
44. Eibl MM, Wolf HM, Furnkranz H. Prevention of necrotizing enterocolitis in low-birth weight infants by IgA-IgG feeding. *N Eng J Med*. 1988;319:1-8.

45. Karna P, Senagore A, Chou CC. Comprasion of the effect of asphyxia, hypoxia and acidosis on the intestinal blood flow and oxygen uptake in newborn piglets. *Pediatr Res.* 1986;20:929-932.
46. Crissinger KD. Animal models of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1995;20:17-22.
47. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med.* 1993;21:1376-1386.
48. Okur H, Küçükaydın M, Köse K, Kontas O, Dogan P, Kazez A. Hipoxia induced necrotizing enterocolitis in the immature rat: the role of lipid peroxidation and managemant by vitamin E. *J Pediatr Surg.* 1995;30:1416-1419.
49. Akısü M, Girgin FK, Baka M, Hüseyinov A, Kültürsay N. Role of recombinant erythropoetin in lipid peroxidation and platelet-activating factor generation in a rat model of necrotizing enterocolitis. *Eur J Pediatr Surg.* 2001;11:167-172.
50. Kabaroğlu C, Akisu M, Habıf S, Mutaf I, Turgan N, Parıldar Z, et al. Effects of L-arginine and L-carnitine in hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *Pediatrics International.* 2005;47:10-14.
51. Travadı J, Patole S, Charles A, Dvorak B, Doherty D, Simmer K. Pentoxifylline reduces the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat model. *Pediatr Res.* 2006;60:185-189.
52. Caplan MS, Simon D, Jilling T. The role of PAF, TLR, and the inflammatory response in neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 2005;14:145- 151.
53. Caplan MS, Sun XM, Hsueh W, Hageman JR. Role of platelet-activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr.* 1990;116:960-964.
54. Caplan MS, MacKendrick W. Inflammatory mediators and intestinal injury. *Clin Perinatol.* 1994;21:235-246.

55. Ford H, Watkins S, Reblock K, Rowe M. The rol of inflammatory cytokines and nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg.* 1997; 32:275-282.
56. Gonzalez-Crussi F, Hsueh W. Experimental model of ischeamic bowel necrosis: The rol of platelet-activating factor and endotoxin. *Am J Pathol.* 1983;112:127-135.
57. Sun XM, Hsueh W. Boewel necrosis induced by tumour necrosis factor in rats is mediated by platelet-activating factor. *J Clin Invest.* 1988;81:1328-1333.
58. Valone FH, Ruis NM. Stimulation of tumuor necrosis factor release bycytotoxic analogues of platelet-activating factor. *Immunology.* 1992;76:24-28.
59. Caplan MS, Kelly A, Hsueh W. Endotoxin and hypoxia-induced intestinal necrosis in rats: the role of platelet activating factor. *Pediatr Res.* 1992;31:428-432.
60. Souza DG, Pinho V, Soares AC, Shimizu T, Ishii S, Teixeira MM. Role of PAF receptors during intestinal ischemia and reperfusion injury. A comparative study between PAF receptor-deficient mice and PAF receptor antagonist treatment. *Br J Pharmacol.* 2003;139:733-740.
61. Caplan MS, Hsueh W, Kelly A, Donovan M. Serum PAF acetylhydrolase during neonatal maturation. *Prostaglandins.* 1990;39:705-713.
62. Musemeche C, Caplan MS, Hsueh W, Sun X, Kelly A. Experimental necrotizing enterocolitis: the role of polymorphonuclear neutrophils. *J Pediatr Surg.* 1991;26: 1047-1049.
63. Sener G, Satiroglu H, Sehirli AÖ, Kaçmaz A. Protective effect of aqueus garlic extract against oxidative organ damage in rat model of thermal injury. *Life Sciences.* 2003;73:81-91.
64. Sener G, Akgün Ü, Satiroğlu H, Topaloğlu Ü, Uysal MK. The effect of pentoxifylline on intestinal ischemia/reperfusion injury. *Fundomental and Clinical Pharmacology.* 2001;15:19-22.
65. Biçakçı Ü, Tander B, Aritürk E, Aydın BK, Aydın O, Rizalar R, et al. Effects of omeprazole and gentamicin on the biochemical and hisyopathological alterations of the

hypoxia/reoxygenation induced intestinal injury in newborn rats. *Pediatr Surg Int.* 2005;21:800-805.

66. Öztürk H, Dokucu AD, Ögün C, Büyükbayram H. Protective effects of human interleukin-10 on intestines of hypoxia-induced necrotizing enterocolitis in immature rats. *J Pediatr Surg.* 2002;37:1330-1333.

67. Kazez A, Küçükaydın N, Küçükaydın M, Kontas O, Okur H, Dogan P. A model of hypoxia-induced necrotizing enterocolitis: the role of distension. *J Pediatr Surg.* 1997;32:1466-1469.

68. Bersth CL, Bisquera JA, Pale VU. Prolonging small feeding volumes early in life decreases the incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics.* 2003;111:529-534.

69. MacKendrick W, Hill N, Hsueh W, Caplan M. Increase in plasma platelet activating factor levels in enterally fed preterm infants. *Biol Neonate.* 1993;64:89-95.

70. Amer MD, Hedlund E, Rochester J, Caplan MS. Platelet-activating factor concentration in the stool of human newborn: effect of enteral feeding and neonatal necrotizing enterocolitis. *Biol Neonate.* 2004;85:159-166.

71. Gibbs K, Lin J, Holzman IR. Necrotizing enterocolitis: the state of the science. *Indian J Pediatr.* 2007;74:67-72.

72. Hartman GE, Boyajian MJ, Choi SS, Eichelberger MR, Newman KD, Powell DM. Surgical care of conditions presenting in the newborn. In: MacDonald MG, Mullet MD, Seshia MMK (eds). *Avery's Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn.* Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2005:1097-1134.

73. Caplan MS, Miller-Catchpole R, Kaup S. Bifidobacterial supplementantion reduces the incidence of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat model. *Gastroenterology.* 1999;116:960-964.

74. Akısü M, Baka M, Yalaz M, Hüseyinov A, Kültürsay N. Supplementation with *Saccharomyces boulardii* ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced necrotizing enterocolitis in young mice. *Eur J Pediatr Surg.* 2003;13:319-323.

75. Lin J. Too much short chain fatty acids cause neonatal necrotizing enterocolitis. *Medical Hypotheses*. 2004;62:291-293.
76. Lin J, Nafday S, Chauvin S, Mgid MS, Pabbatireddy S, Holzman IR, et al. Variable effects of short chain fatty acids and lactic acid in inducing intestinal mucosal injury in newborn rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;35:545-550.
77. Nafday SM, Chen W, Peng L, Babyatsky MW, Holzman IR, Lin J. Shortchain fatty acids induce colonic mucosal injury in rats with various postnatal ages. *Pediatr Res*. 2005;57:201-204.
78. Tuladhar R, Daftary A, Patole SK, Whitehall JS. Oral gastrografin in neonates: a note of caution. *Int J clin Pract*. 1999;53:565.
79. Fujii AM, Brown E, Mirochnick M, O'Brien S, Kaufman G. Neonatal necrotizing enterocolitis with intestinal perforation in extremely premature infants receiving early indomethacin treatment for patent ductus arteriosus. *J Perinatol*. 2002 ;22: 535-540.
80. Nowicki PT, Oh W. Methylxanthines and necrotizing enterocolitis revisited. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1989;9:137-138.
81. Kiliç N, Buyukunal C, Dervişoğlu S, et al. Maternal cocaine abuse resulting in necrotizing enterocolitis. An experimental study in a rat model. II. Results of perfusion studies. *Pediatr Surg Int*. 2000;16:176-178.
82. Albanese CT, Rowe MI. Necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg*. 1995;4: 200-206.
83. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal enterocolitis: Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*. 1978;187:1-7.
84. Dimmitt RA, Meier AH, Skarsgard ED, Halamek LP, Smith BM, Moss RL. Salvage laparotomy for failure of peritoneal drainage in necrotizing enterocolitis in infants with extremely low birth weight. *J Pediatr Surg*. 2000;35:856-859.

85. Piazza AJ, Stoll BJ. Digestive system disorders. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007:753-766.
86. Wang Y.J., Shian W.J., Chang W.T., Chen H.C., Chi C.S. Clinical observation of neonatal gastrointestinal perforation. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 1994;53: 215-219.
87. Hutter J.J Jr, Hathaway W.E., Wayne E.R. Hematologic Abnormalities In severe neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr*. 1976;88:1026-1031.
88. Morrison S.C., Reid J.R., Harrison M, Golz S. Systemic Arterial pneumatosis in a neonate with necrotizing enterocolitis. *Radiol*. 2004;34:337-339.
89. Hormann M, Pumberger W, Puig S, Kreuzer S, Metz V. Necrotizing enterocolitis NEC in the newborn. *Radiologe*. 2000;40:58-62.
90. Foglia R.P. Necrotizing enterocolitis. *Curr Probl Surg*. 1995;32:757-823.
91. Cass DL, Wesson DE. Advances in fetal and Neonatal surgery for gastrointestinal anomalies and disease. *Clin Perinatol*. 2002;29:23-39.
92. Butter A, Flageole H, Laberge J.M. The changing face of surgical indications for necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg*. 2002;37:49.
93. Michel J.L, Harper Alessadri J.L, Jacquemot L, De Napoli-Cocci S, Pilorget H, Samperiz S. Peritoneal needle suction for intestinal perforation in the preterm neonate. *Eur J Pediatr Surg*. 2004;14:85-88.
94. Sharma R, Tepas J.J 3rd, Mollitt D.L., Pieper P, Wludyka P. Surgical management of bowel perforations and outcome in very low birth weight infants (or =1,200 g). *J Pediatr Surg*. 2004;39:190-194.
95. Shimokawa H, Seto M, Katsumata n, Amano M, Kozai T, Yamawaki T, et al. Rho-kinase-mediated pathway induces enhanced myosin light chain phosphorylations in a swine model of coronary artery spasm. *Cardiovasc Res*. 1999;43:1029-1039.

96. Mc Vary K. Lower urinary tract symptoms and sexual dysfunction: epidemiology and pathophysiology. *BJU-Int.* 2006;96:23-28.
97. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non smooth muscle myosin II. *J Physiol.* 2000;522:177-185.
98. Casey PJ, Seabra MC. Protein prenyl transferases. *J Biol Chem.* 1996;271: 5289-5292.
99. Ark M, Yılmaz N, Yazıcı G, Kubat H, Aktaş S. Rho-associated protein kinase-II (rock-II) expression in normal and preeclamptic human placentas. *Placenta.* 2005;26: 81-84.
100. Dhanasekaran N, Dermott JM. Signaling by the G12 class of G proteins. *Cell Signal.* 1996;8:235-245.
101. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290:661-668.
102. Shi J, Wei L. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2007;55:61-75.
103. Ito M, Nakano T, Erdodi F, Hartshorne DJ. Myosin phosphatase: Structure, regulation and function. *Mol Cell Biochem.* 2004;259:197-209.
104. Takemoto M, Sun J, Hiroki J, Shimokawa H, Liao JK. Rho-kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2002;106:57-62.
105. Mueller BK, Mack H, Teusch N. Rho-kinase, a promising drug target for neurological disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;4:387-398.
106. Shimokawa H, Rashid M. Development of Rho-kinase inhibitors for cardiovascular medicine. *Trends Pharmacol Sci.* 2007;28:296-302.

107. Mills TM, Lewis RW, Wingard CJ, Linder AE, Jin L, Webb RC. Vasoconstriction, RhoA/Rho-kinase and the erectile response. *Int J Impot Res.* 2003;15:20-24.
108. Demiryurek S, Kara AF, Celik A, Tarakcioglu M, Bagci C, Demiryurek AT. Effects of Y-27632, a selective Rho-kinase inhibitor, on myocardial preconditioning in anesthetized rats. *Biochem Pharmacol.* 2005;69:49-58.
109. Bao W, Hu E, Tao L, Boyce R, Mirabile R, Thudium DT, et al. Inhibition of Rho-kinase protects the heart against ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2004;61:548-558.
110. Nikolic M. The role of Rho GTPases and associated kinases in regulating neurite outgrowth. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002;34:731-745.
111. Ceylan H, Yuncu M, Gurel A, Armutcu F, Gergerlioglu HS, Bagci C, et al. Effects of whole-body hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury in newborn rats. *Eur J Pediatr Surg.* 2005;15:325-332.
112. Clark DA, Fornabaio DM, McNeill H, Mullane KM, Caravella SJ, Miller MJ. Contribution of oxygen-derived free radicals to experimental necrotizing enterocolitis. *Am J Pathol.* 1988;130:537-542.
113. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990;186:407-421.
114. Totan Y, Cekic O, Borazan M, Uz E, Sogut S, Akyol O. Plasma malondialdehyde and nitric oxide levels in age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:1426-1428.
115. Yossuck P, Kraszpulski M, Salm AK. Perinatal corticosteroid effect on amygdala and hippocampus volume during brain development in the rat model. *Early Hum Dev.* 2006;82:267-272.
116. Albanese CT, Rowe MI. Necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 1995;4:200-206.

117. Brest P, Turchi L, Le'Negrate G, Berto F, Moreilhon C, Mari B, et al. Escherichia coli cytotoxic necrotizing factor 1 inhibits intestinal epithelial wound healing in vitro after mechanical injury. *Infect Immun*. 2004;72:5733-5740.
118. Höltje M, Hoffmann A, Hofmann F, Mucke C, Grosse G, Van Rooijen N, et al. Role of Rho GTPase in astrocyte morphology and migratory response during in vitro wound healing. *J Neurochem*. 2005;95:1237-1248.
119. Gates DH, Lee JS, Hultman CS, Cairns BA. Inhibition of rho-kinase impairs fibroblast stress fiber formation, confluence, and contractility in vitro. *J Burn Care Res*. 2007;28:507-513.
120. Tomasek JJ, Vaughan MB, Kropp BP, Gabbiani G, Martin MD, Haaksma CJ, et al. Contraction of myofibroblasts in granulation tissue is dependent on Rho/Rho kinase/myosin light chain phosphatase activity. *Wound Repair Regen*. 2006;14:313-320.
121. Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Aydin M, Karaman A, Gultek A, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion in rats. *J Pediatr Surg*. 1999;34:1458-1462.
122. Yapici S: Deneysel kimyasal özefagus yanık modelinde Dekspantenol ve bir Rhokinaz enzim inhibitörü olan Y-27632 ile tedavinin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri. Uzmanlık tezi, Gaziantep Üniv. Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı. Gaziantep 2008 (yayınlanmamış), s.51-53.
123. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*. 1987;2:1057-1058.
124. Garg U, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8- bromocyclic guanosine monophosphate inhibits mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1989;83:1774-1777.
125. Payne D, Kubes P. Nitric oxide donors reduce the rise in reperfusion induced intestinal mucosal permeability. *Am J Physiol*. 1993;265:189-195.
126. Cintra AE, Martins JL, Patricio FR, Higa EM, Montero EF. Nitric oxide levels in the intestines of mice submitted to ischemia and reperfusion: L-arginine effects. *Transplant Proc*. 2008;40:830-835.

127. Kumral A, Baskin H, Duman N, Yilmaz O, Tatli M, Ozer E, Gökmen N, Genc S, Ozkan H. Erythropoietin protects against necrotizing enterocolitis of newborn rats by the inhibiting nitric oxide formation. *Biol Neonate*. 2003;84:325-329.
128. Shah P, Shah V. Arginine supplementation for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;18:4339.
129. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Synder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994;120:227-237

8. EKLER

EK-1

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
UNIVERSITY OF GAZİANTEP, ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHICS COMMITTEE
GAZİANTEP-TÜRKİYE

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL NO	2009/11				
	ARAŞTIRMA ADI	Deneyel nekrotizan enterokolit modelinde bir rho kinaz enzim inhibitörü olan Y-27632 ile tedavinin barsak hasarı üzerindeki etkileri				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI/ADI/BİRİMİ	- Doç.Dr.Ercan SİVASLI G.Ü.Tıp Fak.,Çoc.Sağ.ve Hast.A.D. - Prof.Dr.Mehmet TARAKÇIOĞLU G.Ü.Tıp Fak.,Biyokimya .A.D. - Prof.Dr.A.Tuncay DEMİRYÜREK G.Ü.Tıp Fak.,Farmakoloji.A.D.				
	DİĞER ARAŞTIRICILARIN UNVANI/ADI/BİRİMİ	- Doç.Dr.Haluk CEYLAN G.Ü.Tıp Fak.,Çocuk Cerrahisi A.D. - Yrd.Doç.Dr.Ediz TUTAR G.Ü.Tıp Fak.,Patoloji A.D. - Dr.Gül Balyemez G.Ü.Tıp Fak.,Çoc.Sağ.ve Hast.A.D. - M.Tuğba TEMEL G.Ü.Tıp Fak.,Çoc.Sağ.ve Hast.A.D.				
	KOORDİNATÖR MERKEZ DESTEKLEYİCİ					
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarih				
	DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	Var/ 27.06.2007				
	BAŞVURU TAAHHÜTNAMESİ	Var/ 25.08.2009				
ÇALIŞMA ESASI	İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI KLAVUZU					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 09.2009- 11 Tarih: 14.09.2009					
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında yapılması planlanan ve yukarıda adı geçen hayvan deneyleri araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 14.09.2009 tarihli Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın yapılmasının uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı /Adı/ Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**) ☐ E ☐ H	İmza
Prof.Dr.Celalettin CAMCI Başkan	Tıbbi Onkoloji	Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Tuncay DEMİRYÜREK Başkan Yardımcısı	Farmakoloji	Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr.Şükran YAĞCI YÜCEL Üye	Biyoloji	Fen-Ed.Fak. Biyoloji Bölümü	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr.Ahmet ERBAĞCI Üye	Üroloji	Tıp Fakültesi Üroloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd.Doç.Dr.Neşe KIZILKAN Üye/Eğitim Sorumlusu	Anatomi	Tıp Fakültesi Anatomi A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd.Doç.Dr.Ayhan ERALP Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd.Doç.Dr.Oral SÖKÜCÜ Üye/Raportör	Diş Hekimliği	Diş Hekimliği Fakültesi	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Avukat Murat GÜNERİ Üye	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	Katılmadı
M.Celal ÖZSÖYLER Üye	Veteriner Hekim	Sivil Üye	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

EK-2

Tablo 4: Çalışma gruplarındaki sıçan yavrularının barsaklarındaki ($\mu\text{mol/gram}$ doku) malondialdehid (MDA) düzeyleri.

Rat No	Grup 0	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)
1	8.69	24.86	21.67	5.72	11.66
2	8.8	17.49	30.47	7.59	10.56
3	11.99	20.57	15.84	8.8	21.56
4	12.21	12.43	8.36	4.95	6.16
5	7.26	41.69	11.55	6.82	10.67
6	10.01	27.72	7.59	5.17	9.24
7	5.73	18.7	7.7	8.47	7.26
8	8.58	11.22	10.78	8.14	7.7
9	7.15	10.23	8.14	4.62	11.55
10	5.61	17.6	25.74	10.56	
11			66.44		

EK-3

Tablo 5: Çalışma gruplarındaki sıçan yavrularının barsaklarındaki ($\mu\text{mol/miligram}$ doku) nitrik oksid (NO) düzeyleri.

Rat No	Grup 0	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
	NO	NO	NO	NO	NO
	($\mu\text{mol/mg}$)	($\mu\text{mol/mg}$)	($\mu\text{mol/mg}$)	($\mu\text{mol/mg}$)	($\mu\text{mol/mg}$)
1	5.9774	5.2382	4.7696	5.7992	5.753
2	5.8432	1.617	4.0172	5.1722	5.687
3	5.3504	2.7654	5.9884	5.6298	5.9444
4	5.5968	5.5066	2.1758	6.0346	5.0138
5	5.1722	1	6.0214	6.1226	5.742
6	5.9994	5.665	5.5748	6.3096	5.049
7	5.665	3.2128	2.0042	5.049	4.9478
8	5.8102	5.4516	6.4592	4.8246	4.7454
9	5.731	3.4804	5.5286	4.8466	5.4956
10	5.775	5.6078	5.4846	5.0248	
11			5.7882		