



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNCE BARSAK İSKEMİ  
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE  
DEXPANTENOL'ÜN KORUYUCU ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ  
DR. ÖZGE DURMAZ COŞKUN

DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Barlas Etensel

**AYDIN-2015**

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNCE BARSAK İSKEMİ  
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE  
DEXPANTENOL'ÜN KORUYUCU ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖZGE DURMAZ COŞKUN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Barlas Etensel

**AYDIN-2015**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve öncesinde yanımda olan, sevgi, saygı ve sabrını esirgemeyen, hastalığımda, sağlığımda ve her başım sıkıştığımda sürekli başucumda bulduğum hayatıma anlam katan sevgili eşim Sedat COŞKUN'a; dünya tatlısı sevgili kızım Duru COŞKUN'a; uzmanlık eğitimimin başlangıcındaki zor anlarımda desteğini hep arkamda hissettiğim fedakar babam Turgut DURMAZ'a ve annem Nurten DURMAZ'a, ayrıca kardeşim Gözde DURMAZ'a en içten sevgi, saygı ve minnettarlığımı sunarım.

Çocuk Cerrahi uzmanlık eğitimim boyunca vizyonuyla ufukumuzu açan, bilgisiyle bizi hep aydınlatan ve yanında çalışmaktan gurur duyduğum saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mesut YAZICI'ya,

Tez çalışmamda önderlik yapan ve tüm eğitim sürecimde olduğu gibi bu süreçte de bana ışık tutan, özveri ve anlayışta bulunan, asistanı olmaktan her zaman onur duyacağım saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. Barlas ETENSEL'e,

Cerrahi eğitimim boyunca bende emeği olan, başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Mesut YAZICI olmak üzere; emekli olmadan önce bizi engin bilgisinden ve tecrübelerinden faydalandıran Prof. Dr. Harun GÜRSOY'a, bana bir hoca ve bir abla gibi davranan sayın hocam Doç. Dr. Sezen ÖZKISACIK'a, Yrd. Doç. Dr. Barlas ETENSEL'e, asistanlığa başladığımda kıdemlim olan ve öz abim gibi bana yakınlık gösteren şimdiki hocam Yrd. Doç. Dr. Ali Onur ERDEM'e

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Prof.Dr.İbrahim METEOĞLU'na asistanı Dr.Özlem ERDAL, Prof Dr.Aslıhan KARUL ve asistanı Dr. Aysegül GEDİKLİYE , tez yazım sürecinde bana gerekli vakti ayırmam için yardımcı olan abim ve asistan arkadaşım Dr. Ali İlker İNCE'ye, tez deneysel model yapmamda bana yardımcı olan veterinerlik fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Erkut KARA, ve veteriner hekim Serdar AKTAŞ'a

Tüm Çocuk Cerrahi servis, poliklinik ve ameliyathane çalışanlarına; en içten teşekkürlerimi, sevgi ve saygılarımı sunarım.

**Dr. Özge Durmaz COŞKUN**

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Önsöz.....	I
İçindekiler.....	II
Tablo Dizini.....	IV
Şekiller Dizini.....	V
Resimler Dizini.....	VI
Simgeler ve Kısaltmalar .....	VII
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler .....	4
2.1. İskemi.....	4
2.2. Reperfüzyon ve Hasarı .....	5
2.3. Serbest Radikaller.....	8
2.3.1. Süper Oksit Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri .....	8
2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri.....	9
2.3.3. Antioksidanlar .....	11
2.3.4. Süperoksid Dismutaz.....	11
2.3.5. Katalaz.....	12
2.3.6. Glutasyon Redüktaz (GR).....	12
2.3.7. Glutasyon (GSH).....	13
2.3.8. Glutasyon Peroksidaz.....	13
2.3.9. İnflamatuar Yanıtta Sitokinler .....	13
2.4. Dekspantenol .....	14
2.5. Nekrotizan Enterokolit .....	17
2.5.1. Mukozal Bariyeri Etkileyen Faktörler .....	17
2.5.1.1. Hipoksi .....	17

2.5.1.2. Umbilikal Ven Kateteriyle Exchange Transfüzyon.....	18
2.5.1.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı .....	18
2.5.2. Patoloji.....	19
2.5.3. Medikal Tedavi Basamakları.....	20
2.5.4. Cerrahi Tedavi .....	20
2.5.5. Prognoz.....	20
2.5.6. Korunma .....	21
3. Gereç ve Yöntem .....	22
3.1. Deney Hayvanları .....	22
3.2. Deneysel İntestinal İskemi-Reperfüzyon Modeli .....	22
3.3. Histopatolojik İnceleme.....	23
3.4. Biyokimyasal İşlemler .....	26
3.4.1. Doku örneklerinin hazırlanması .....	26
3.4.2. Serumdaki analizler .....	26
3.4.3. Dokuda Yapılan Analizler .....	27
4. Bulgular .....	28
4.1. Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi.....	32
5. Tartışma.....	38
6. Sonuç .....	44
7. Özet .....	45
8. İngilizce Özet.....	47
Kaynaklar.....	49

## TABLO DİZİNİ

**Tablo 1:** Doku örneklerinin, biyokimyasal sonuçlarının ortalama ve standart sapma değerleri

**Tablo 2:** Histopatolojik skorlama ve evreleri

## ŞEKİLLER

**Şekil 1:** Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları

**Şekil 2:** I/R hasarında doku harabiyet mekanizmaları

**Şekil 3:** Dokularda serbest oksijen radikallerinin direkt ve indirekt etkileri

**Şekil 4:** Pantotenik asid yapısı

**Şekil 5:** Dexpanthenolün kimyasal yapısı

**Şekil 6:** Serum IL-3 seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 7:** Serum IL-6 seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 8:** Serum IL-10 seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 9:** Serum MDA seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 10:** Serum SOD seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 11:** Serum MPO seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 12:** Serum GSH-PX seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 13:** Serum Katalaz seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

**Şekil 14:** Serum Nitrat seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

## RESİMLER DİZİNİ

**Resim 1:** Batın orta hat insizyonu

**Resim 2:** Süperior mezenterik arter oklüzyonu

**Resim 3:** Süperior mezenterik arter oklüzyonu sonrası oluşan iskemi

**Resim 4:** Level 0: Normal Histoloji

**Resim 5:** Level 1: İnflamatuvar süreç ve hücresel yıkım olmamasına rağmen sub-epitelyal ayrılma

**Resim 6:** Level 2: Hücresel yıkımın varlığı, sub-epitelyal ayrılma ve villüs aralıklarında artış

**Resim 7:** Level 3: Dilate kapillerle, inflamasyonun varlığı ve serbest villüs bölümlerinin tahribatı

**Resim 8:** Level 4: Yapısal villüslerin tahribatı, inflame hücrelerin ve nekrotik materyallerin varlığı, glandüler ülserasyon ve hemorajik

**Resim 9:** Level 6: Kript katmanı yaralanması

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>ADP:</b>	Adenozin Difosfat
<b>AMP:</b>	Adenozin Monofosfat
<b>ATP:</b>	Adenozin Trifosfat
<b>CA :</b>	Katalaz
<b>DNA :</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>EDTA :</b>	Ethylenediamin Tetra Asetik Asit
<b>GSSG :</b>	Okside Glutatyon
<b>GSH :</b>	Redükte Glutatyon
<b>GSH-Px :</b>	Glutatyon Peroksidaz
<b>GR :</b>	Glutatyon Redüktaz
<b>HPETE :</b>	Hidroperoksi Eikosa Tetraenoik Asid
<b>H2O2 :</b>	Hidrojen Peroksit Radikali
<b>IL:</b>	İnterlökin
<b>İR :</b>	İskemi/Reperfüzyon
<b>LTB4 :</b>	Lökotrien B4
<b>MDA :</b>	Malonil Dialdehit
<b>MPO :</b>	Myeloperoksidaz
<b>NADP :</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NEK :</b>	Nekrotizan Enterokolit
<b>NO :</b>	Nitrik Oksit
<b>O2- :</b>	Süperoksit Radikali
<b>OH- :</b>	Hidroksil Radikali
<b>PAF :</b>	Trombosit Aktive Edici Faktör
<b>PGE2 :</b>	Prostaglandin E2
<b>PGF2 :</b>	Prostaglandin F2
<b>PMNL :</b>	Polimorfonükleer Lökosit
<b>SMA :</b>	Superior Mezenterik Arter
<b>SOD :</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>Th :</b>	T Helper
<b>TNF<math>\alpha</math> :</b>	Tümör Nekroz Faktör Alf

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İntestinal iskemi ölümcül bir hastalıktır. Erken tanı ve tedavi protokollerinin uygulandığı serilerde bile %50'ye ulaşan mortalite oranı bulunmaktadır(1-6). İskemi, hücreyi yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirmek için ihtiyaç duyduğu enerjiden yoksun bırakarak ölümüne yol açar. Reperfüzyon hasarı ise iskemik bağırsaktan salınan serbest radikallerin, endotelial faktörlerin ve nötrofillerin eşlik ettiği karmaşık bir mekanizmayla oluşmaktadır (1-3;5;6). Reperfüzyon esnasında daha önce iskemik olan dokuya çok miktarda oksijen ulaşır ve çeşitli reaksiyonlarla serbest radikallerin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,O<sub>2</sub><sup>-</sup>,OH<sup>-</sup>,NO<sup>-</sup>) oluştuğu gösterilmiştir(7;8) Serbest oksijen radikalleri intestinal mukozada hücre membranlarında lipit peroksidasyonu ile iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarına neden olur. İskemik dokulara tekrar kanlanmanın sağlanmasıyla ortama sitokinler de (IL-1,IL-3,IL-6,IL-10, TNF alfa, INF gamma) salınarak hem lokal hem de sistemik yanıtı yol açarak doku ve sistemleri hasara uğratmaktadır(2;9;10)Gastrointestinal sistem iskemi reperfüzyon hasarına karşı çok duyarlı olduğu gösterilmiştir (10;11). İnsanlar IR hasarı birçok klinik koşullarda kendini gösterir. Bunlar erişkinlerde ve çocuklarda farklılık gösterse de Akut Mezenterik iskemi, ileus, inkarsere herni dahil olmak üzere, nekrotizan enterokolit, travma ve şoktur(4;12;13). İntestinal Iskemi hastalar için acil ve çok önemli klinik durumdur, hatta bu acil durumlar ölümle bile sonuçlanabilir(1-3). Sağlıklı bir bağırsak fizyolojisinde mukozal münin ve epitel hücreleri, flora, kesintisiz bağırsak bariyer tabakası çok önemlidir. İskemi hasarı ile aynı zamanda enterositlerde ve destekleyici yapılarda sonraki reperfüzyona da hassasiyet oluşturan oksijen yoksunluğu vardır(14). Bağırsak bariyer mekanizmasındaki hasar bağırsak perforasyonuna kadar gidebilir ve bağırsak bakterilerinin translokasyonuna neden olabilir. Bu translokasyonda oluşan serbest oksijen radikalleri ve sitokinler kan yoluyla diğer organ ve sistemlere de zarar verebilir. Bu klinik olaylar zincirini sistemik inflamatuvar yanıt ve multiorgan disfonksiyonu gibi hayatı tehdit eden ciddi durumlar izlemektedir(1;3;15;16).

Yenidoğan yoğun bakımlarında bebeklerde en yaygın acil intestinal sistem patolojisi necrotizan enterekolit (NEC)tir. Nec klasik bir iskemi reperfüzyon patolojisidir (17;18).NEC çoğunlukla prematüre bebekleri etkileyen bir hastalık olsa da, hastaların % 10 term doğanlardır. Term bebeklerinde % 7 ve % 11 i 1500 gr daha düşük doğum ağırlığına sahiptirler(19;20). NEC Patofizyoloji halen daha kesin olarak anlaşılamamıştır(19;21). Çeşitli teorilerle bazı faktörler birincil ya da ikincil olarak sorumlu tutulmaktadır(22). Bunlar

olgunlaşmamış gastrointestinal sistem işlevleri, gelişmemiş bağırsak bariyeri, ek koruyucu enzimlerin eksiklikleri, antioksidan kapasitenin tam olarak gelişmemesi, prematüriteye bağlı dolaşım bozukluğu intestinal iskemi, formüle mamalarla beslenme enfeksiyonlar da ana risk faktörleri olarak düşünülmektedir(21;23;24).

İskemi reperfüzyon hasarı ciddi klinik durumlara yol açtığı için halen tedavisi için birçok çalışma yapılmaktadır(4). Araştırmalarda glucagon(25), infliximab (26), eritroprotein(12), glisin(27), guercetin(11), L-carnitin(7), N asetilsitein (28) gibi maddelerin etkinliği araştırılmıştır.

Literatüre bakıldığında iskemi reperfüzyon hasarının önlemede kullanılan diğer bir madde de dexpanthenoldür. Testis(29), böbrek(30), myokard(31), özafagus(32), deri(33), akciğer(34) ve üretra(35) gibi dokularda iskemi reperfüzyon hasarı yada yaralanmasında yapılan çalışmalarda dexpanthenol kullanımı araştırılmış ve olumlu sonuçları olduğu gösterilmiştir.

Dekspantenol, dekstro-pantotenik asidin alkol türevidir. Karaciğerde D-pantotenik aside dönüşür(36). Hücrelerde adenosin trifosfat (ATP) sentezini yani enerji üretimini artırarak redükte glutasyon (GSH) içeriğinin fazlaşmasına neden olur (37;38). Pantotenik asit, birtakım hücrel olaylarda çok önemli rol oynayan mekanizmalar için gerekli kofaktör olan koenzim A'nın bileşimine girer, sentezini artırır. Koenzim A, asetil-koenzim A şeklinde karbonhidrat metabolizmasında, asetilkolin sentezinde, kolesterol sentezinde, adrenal korteksindeki steroid hormonların sentezinde, ilaçların ve diğer ksenobiyotiklerin karaciğerde asetilasyonunda ve onların tiamin fosfatın da katıldığı oksidatif dekarboksilasyon biyotransformasyonunda, süksinil koenzim A şeklinde sitrik asid siklusunda ve hem sentezinde görev alarak önemli koruyucu etkilerde de bulunur(39;40). Literatürde pantothenik asidin deneysel olarak gama radyasyonun zararlı etkilerini dokularda azalttığı, ultraviole ile indüklenen apoptoza karşı hücreleri koruduğu ve ayrıca tümör hücrelerindeki lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir(41-43). Uzun yıllardır zaten oral, lokal veya parenteral kullanımında dexpanthenolün yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri geçmiş literatörlerde gösterilmiştir(37;40;44).

Bizim çalışmamızın amacı ratlarda yapılacak ince barsak iskemi modelinde iskemi öncesi ve esnasında uygulanan dexpanthenolün iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır Özellikle yenidoğan yoğun bakım pratiğinde ince bağırsak iskemi – reperfüzyon hasarının koruyucu önlemleri etyolojinin çok çeşitli nedenlere bağlı olması

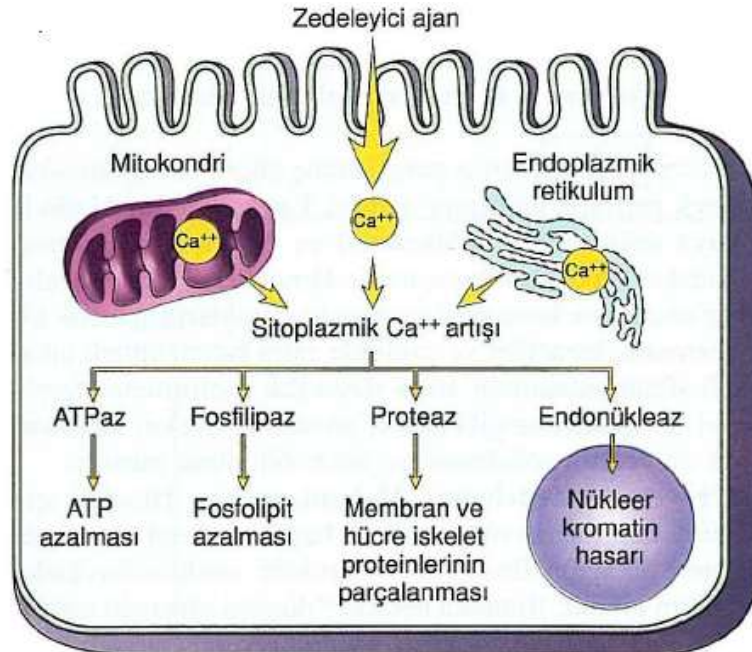
nedeniyle halen çözülememiş çok önemli bir sorundur(21;23;24). İskemi – reperfüzyon hasarı etkilediği dokularda yaptığı tahribat nedeniyle tedavisi halen araştırılmakta olan ve önlemler konusunda daha çok çalışmalara ihtiyaç duyan güncel bir sorundur. Rat testis, rat ösefagus, rat ince bağırsak, rat böbrek deneysel modellerinde oluşan iskemi – reperfüzyon hasarı ve bunun önlenmesi için çabalar halen sürmekte ve literatürde yer almaktadır(41;45). Dexpanthenol de hem kliniğimizde hem de dünyada iskemi – reperfüzyon hasarını önlenmek için çeşitli dokularda araştırılmaktadır(30;32;34;38;42). Dexpanthenolün insanlarda kullanımı açısından FDA onayı uzun yıllardır vardır(46). Değişik deneysel modellerde İskemi – reperfüzyon sonrasında dexpanthenol kullanımı ve bunun oluşan hasarı azalttığı yönünde yapılmış çalışmalar yayınlanmıştır(11;30;34;42). Fakat iskemi öncesi kullanımı ve etkisi ile ilgili çalışmalar saptanmamıştır. Bu çalışmamızda iskemi – reperfüzyon oluşmadan önce uygulanacak dexpanthenolün koruyucu etkisini ve aynı zamanda reperfüzyon sonrası oluşan hasarın azaltılması üzerindeki etkisini karşılaştırmayı da deneysel ince bağırsak modelinde ilk defa araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İSKEMİ

Bir organa gelen arteryal veya venöz kan akımının yetersiz hale gelmesi, tamamen kesilmesidir. Bunun sonucunda hücrel enerji depolarının boşalmasına ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucu doku hasarı ortaya çıkar(5;6). Hücre ölümü gerçekleşmeden hücrenin rejenerasyonunu sağlaması ve de toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için iskemik doku yeniden kanlanmasına ihtiyaç duyar. İskemik dönemde hücrede birçok metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Birbirini tetikleyen bu olaylar zinciri iskemik kaskad olarak isimlendirilir(5).

Hücrenin yaşamsal fonksiyonları bir denge içinde devam eder Hücreler normalde yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için gerekli enerjiyi Adenozin trifosfat (ATP) ile sağlarlar. (5;15).Bu dengenin sağlanması için gerekli ATP'nin iskemi sonucu eksilmesi plazma membranının sodyum-potasyum pompasını ve sodyum-kalsiyum değiş tokuşunu bozar, hücre içinde sodyum ve kalsiyum artışına, potasyumun hücre dışına difüzyonuna sebep olur. Hücre içinde Ca birikmesi iyon dengesizliğine, hücre içi osmotik dengesizliğine ve asidoz gibi durumlara neden olur. Sonrasında hücrelerde histolojik değişiklikler başlar. Bunlar kromatin kümelenmesi, piknozis, apoptozis ve nekrozis gibi bulgulardır(6;47;48)

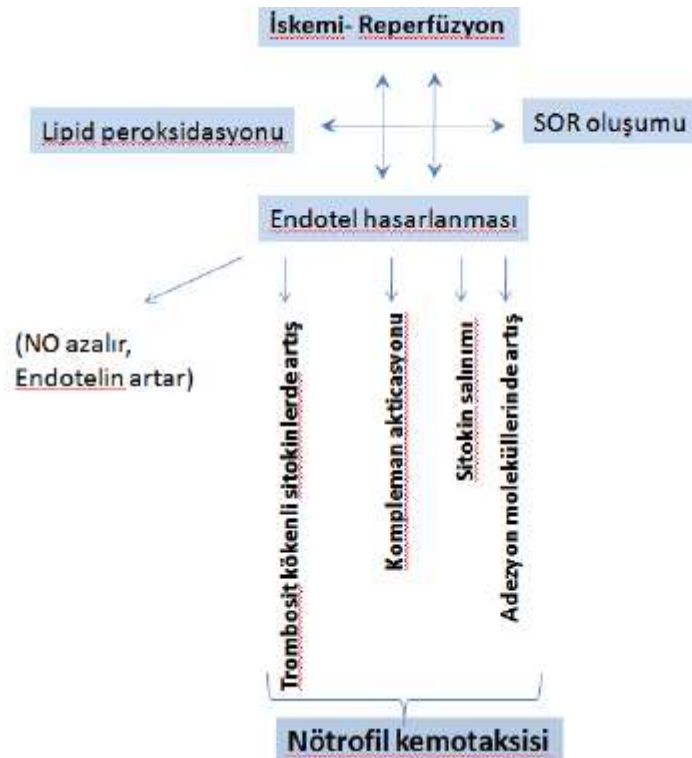


Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları(48)

## 2.2. REPERFÜZYON VE HASARI

Dokuya veya organa gelen kan akımının bozulmasına neden olan etkenin ortadan kalkarak, tekrar kanlanmaya başlama durumuna reperfüzyon denir. İskemik dokunun reperfüzyonu dokuda iskemi ile oluşan hasardan daha ciddi bir hasara yol açar.

İskemi reperfüzyon hasarı (IRH), oksijenasyonu bozulmuş dokudaki kan akımının yeniden sağlanması sonucunda oluşan, bir dizi patofizyolojik değişiklikler olarak tanımlanmıştır. Bu hasardan da hücre içine moleküler oksijen girişi ile oluşan serbest oksijen radikal türevleri inflamatuvar mediatörler başta olmak üzere birçok mekanizma sorumlu tutulmaktadır(4;6;49). Primer iskemik hasarda rolü, kan akımındaki azalma ve oksijenin yetersiz dağılımına bağlı olarak gelişen anaerobik metabolizmanın son ürünlerinin ve toksik ürünlerin birikimi oluştururken devamında gelişen reperfüzyon sürecinde karşımıza çıkan hasarda ise serbest oksijen radikalleri, doğrudan etki ile veya hücresel antioksidan sistemlerini yetersiz kılarak oluşturmaktadır(6;50). IRH ksantin oksidaz (XOD) yolu, PMNL aktivasyonu, endotelial faktörler, trombosit kaynaklı faktörler, kompleman aktivasyonu, sitokin aktivasyonu ise sorumlu tutulan diğer faktörlerdir(3;51;52).



Şekil 2: I/R hasarında doku harabiyet mekanizmaları

Dokuya gelen kan akımı azaldığında veya tamamen kesildiğinde dokunun oksijenlenmesi buna bağlı aerobik metabolizma sayesinde elde edilen enerji üretimi de bozulur. Fakat hücrenin enerji gereksinimi ve tüketimi devam etmektedir. Böylece aerobik yol inaktif olduğu için anaerobik metabolizma ile enerji üretimine gerek duyar ve sonucunda laktik asit birikir.

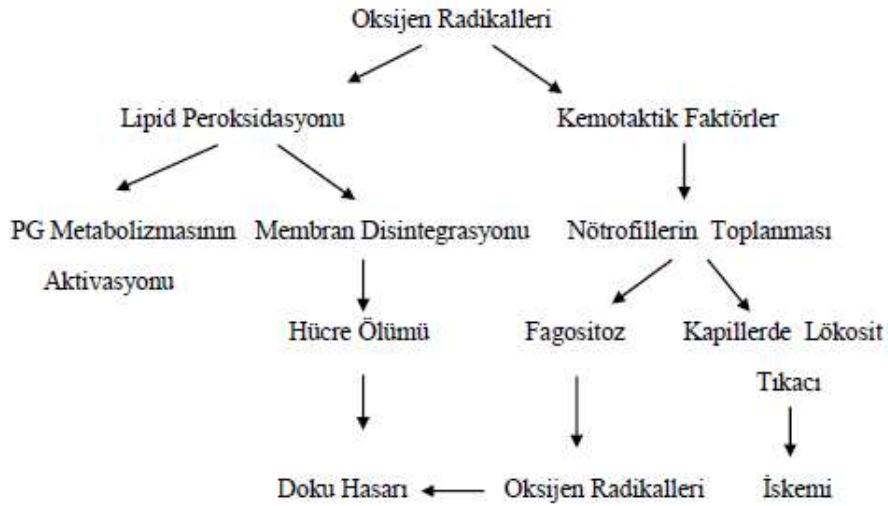
Hipoksi esnasında adenzin trifosfat (ATP) tüketimi devam ettiği halde üretimi azalır. Enerjisi fazla olan fosfatlar ATP'den adenzin monofosfata indirgenir ve sonrasında adenzine redükte edilir. Adenzin ise hücre dışı aralığa gönderilir ve hipoksantine indirgenir. Hipoksik dönemde dokuda bol miktarda hipoksantin birikir.

Kan akımının normal olduğu fizyolojik durumlarda hipoksantin, nikotinamid adeninükleotid varlığında kisansin dehidrogenaz (XD) enzimi aracılığı ile ürik asit çevrilir. Bu reaksiyonda nikotinamid adeninükleotid okside formu elektron alıcısı olarak davranır. Kan akımının azaldığı durumlarda ise hücrenin enerji metabolizması da etkilendiği için hücrenin kalsiyum ( $Ca^{++}$ ) dengesi de bozulur. Hücre içinde oluşan bu  $Ca^{++}$  fazlalığı XD'ı, kisansin oksidaz (XO) formuna dönüşmesine neden olur(3;5;53;54).

Reperfüzyon sonrasında dokuda kan akımının başlamasıyla  $O_2$  hızlıca artmaya başlar. Hipoksantin, iskemide oluşan XO nun katalizlediği bir reaksiyonla ürik aside çevrilir. Fakat bu reaksiyonda iskemik ortamda Serbest kalan elektronlar moleküler  $O_2$  aktarılır, böylece moleküler  $O_2$  süperoksid radikaline ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'e dönüşür(51;52). Endotel hücrelerinde süperoksid anyon radikali  $H_2O_2$ , hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) ve hipoklorit asit ( $HOCl$ ) gibi diğer  $O_2$  metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur(5;6;15)

Reperfüzyon sonrasında hücrede  $Ca^{++}$  girişinin artması ve endojen fosfolipaz A2 inhibitörlerinin aktive olmaması, fosfolipaz A2 'nin aktive olmasına neden olur. Fosfolipaz A2 hidrolitik bir enzimdir görevi membrandaki fosfolipitlerden yağ asitlerini ayırmaktır. Sonuç olarakta iskemi ile hasarlanmış dokular için toksik olan lesitinden lisesitin, sefalinden lizosefalin ve fosfatidilkolinden lizofosfatidilkolin oluşur. Reperfüzyon sonrası fosfolipaz aktivasyonundaki artışla bu ürünlerden lizofosfatidilkolin konsantrasyonu arasında paralellik vardır. Lizofosfatidilkolin yüksek konsantrasyonlarda oldukça sitotoksiktir ve iskemi sonrası oluşan hücre duvarı geçirgenliği aşırı artırır(47;51;52;55) Hücre içinde XD'ın XO'a dönüşümünde  $Ca^{++}$  iyonları gereklidir ve reperfüzyon sonrasında hücre içinde serbest  $Ca^{++}$  belirgin artış göstermektedir. Fosfolipaz A2'nin aktivasyonunu önemli oranda bu artışa neden olmaktadır. Fosfolipaz A2 aktivasyonu sonucunda siklooksijenaz yolundan prostoglandinler,

lipooksijenaz yolundan lökotrien B4 ve diğer araşidonik asit metaboliti olan tromboksan A2 oluşur. Tromboksan A2 ve lökotrien B4 güçlü bir kemotaktik ajanlardır. Elastaz gibi proteolitik enzimlerin artışına neden olurlar. Bu enzimlerdeki artış O<sub>2</sub> radikallerinin artışına paraleldir. Hücre bütünlüğü membran fosfolipitlerinden aktive olan fosfolipaz tarafından bozulur. Ayrıca dokunun tekrar kanlanması burda nötröfil aktivasyonuna ve birikimine neden olur(3;6) İskemi sonrasında bir dizi reaksiyon sonucunda damar endoteli hasar görür. Sonrasında nötrofil ve trombosit aktivasyonu meydana gelir. Bunun yanında iskemik alanda ortaya çıkan kemotaktik faktörlerden kompleman 3a ve kompleman 5a nötrofillerin bölgeye göç etmesini sağlar. Hasarlı dokuya gelen nötrofiller SOR üretirler. SOR antiproteazları inaktive eder. Ortaya çıkan proteolitik enzimler membran hasarı oluşturur. Nötrofiller de uyarılmaları sonucunda esnek yapılarını kaybederler ve embolizasyona neden olurlar. (26;56)



**Şekil 3:** Dokularda serbest oksijen radikallerinin direkt ve indirekt etkileri(57).

Nötrofiller, içerdikleri NADPH oksidaz ve miyeloperoksidaz (MPO) enzim sistemleri ile gittikleri iskemik dokularda oksijen radikal artışını hızlandırır. Süperoksit anyonunun oluşumuna neden olur. Oluşan süperoksit, süperoksit dismutaz ve MPO ile bir dizi reaksiyona girerek hidrojen peroksit, hidroksil radikali, hipoklorik asit ve N-kloramin gibi daha reaktif oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına sağlarlar. Bu radikallerde doku hasarının artmasına neden olur. MPO enzimi dokuda polimorfonükleer lökositlere (PMNL) özgü bir enzimdir. Nötrofil miktarıyla paralellik gösterir(5;6;58).

## 2.3. SERBEST RADİKALLER

Atomların içindeki elektronlar içerdikleri çekirdek etrafında çiftler halinde hareket ederler. Bir veya daha fazla çifti olmayan eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküle serbest radikal denir(52;59). Serbest radikaller bulduklarını eşlenmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Serbest radikaller canlı organizmalarda en fazla elektron transferi sırasında oluşurlar. Bunların elektrik yükleri pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilir. Organik veya inorganik olabilirler(52;59;60). Solunum kaynağı olarak oksijen tüketen canlılarda serbest radikallerin kaynağının oksijen türevi radikaller olduğu düşünülmektedir. Oksijenin indirgenmesi ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün, süperoksit radikali ortaya çıkarır. Kendiliğinden ya da enzimatik dismutasyon ile süperoksit dismutazdan ikinci bir ara ürün, hidrojen peroksit meydana gelir(51;59;61;62). Özellikle mitokondri içinde süperoksit radikalinin bulunduğu bir dizi reaksiyon meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu bir diğer radikal, hidroksil radikali oluşur. Normal metabolizma sırasında serbest radikaller, sürekli olarak üretilmekte olup, bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, membran proteinlerinde, karbonhidrat ve DNA moleküllerinde çeşitli hasarlar oluşmaktadır(9;51;59;63).

Reperfüzyon sonrasında, iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken, bir taraftan da iskemik dokuda oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumunu hızlandırır ve hasarın daha fazla olmasına yol açar. Oksijen türevleri hücre zedelenmesinde dört şekilde neden olur membran lipid peroksidasyonu, nonperoksidatif mitokondriyal hasar, deoksiribonükleik asit lezyonları ve proteinlerin çapraz bağları üzerine etkileri.(51;51;52;64).

### 2.3.1. Süper Oksit Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Vucudumuzda en önemli serbest radikaller  $O_2$ 'den oluşan radikallerdir.  $O_2$ ,  $O_2\cdot$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH\cdot$  ve geçiş metalleri SOR biyokimyasında anahtar rolü oynayan iyonlardır.  $O_2$ 'nin elektron dağılımında iki tanesi serbesttir.  $O_2$ 'nin bu radikal özelliği onu diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girmesine neden olur(51;59;62;65).

1-Süperoksit Radikali: Serbest  $O_2$   $O_2$ 'nin bir elektron olarak indirgenmesiyle meydana gelir. Süperoksit radikali  $H_2O_2$ 'nin kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olarak görev yapar, direkt zarar vermez. Peroksinitrit, makrofaj, nötrofil ve monositler gibi fagositoz görevi yapan hücreler tarafından enzimatik olarak üretilen  $O_2$  ve

fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu meydana gelir. Reaktif bir oksijen türevidir(2;52;59;62).

2-Hidrojen Peroksit: Süperoksitin bir elektron, moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması ile peroksit oluşur. Hidrojen peroksiti ise peroksit molekülünün iki hidrojen atomu ile birleşmesinden oluşur. Hidrojen peroksit serbest bir radikal değildir. Reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar(52;59;62;66).

3-Hidroksil Radikali: Hidroksil radikali(OH<sup>-</sup>) iki durumda orataya çıkar bunlardan biri suyun yüksek enerjili iyonize edici reaksiyona maruz kalması sonucunda diğeri ise hidrojen peroksitin geçiş metallere bulduğu ortamda indirgenmesiyle Son derece reaktif bir radikaldir, bulunduğu ortamda ciddi hasra neden olur(52;59;62;66).

4-Nitrik Oksit: NO makrofajlar, nötrofiller, hepatositler ve endotel hücreler tarafından sentezlenir. Hemostatik olaylarda ve organizmanın savunma mekanizmalarında bir araçtır. Vücudun çeşitli dokularında interlökin-1 ve sitokinlerin etkilerine paralel bir işlev görür; tümör hücrelerini, parazitleri, bakteri ve mantar hücrelerini öldürmede görev alır(8;51;61). Yüksek seviyelerde normal hücreler üzerine toksik olduğu gösterilmiştir. Serbest radikal tutucu olarak kabul edilse de uygun ortamlarda süperoksit ile birleşerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti meydana getirir. pH'ın düşük olduğu durumlarda durağan değildir. Spontan olarak parçalanır ve hidroksil radikali ile nitrojen oksit oluşturur(28;61). Süperoksit radikallerini nötralize edebilen endotel koruyucu bu ajan aynı zamanda doku harabiyetine de yol açabilir. NO'nun SOR ile etkileşimde olduğu için antioksidan özelliği çelişkilidir(61;67). Yarılanma ömrü çok kısadır. Enfeksiyonlarla savaşmak, damarları kan pıhtısı oluşumundan korumak, sinir sisteminde sinyal molekülü olarak rol almak ve organlarda kan akımını kontrol etmek gibi birçok düzenleyici görevi mevcuttur(59;61;68).

### **2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri**

Çok kısa yaşam süreli ancak yapısındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif olan bu maddeler tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği gösterirler(62;66). Membran hasarı, otooksidasyon, proteolitik enzimlerin aktivasyonu gibi nedenler hücre içinde SOR oluşumunu neden olurken, hücre dışında da çevresel ajanlar (alkol, anestezi ajanları vs), bazı viral ajanlar, toksik maddeler SOR oluşumuna neden olmaktadır(69). SOR'nin etkisi ile başlayan

lipid peroksidasyonu sonrasında oluşan MDA gibi son ürünler artmış vasküler permeabilite doku hasarından sorumludur(51;70).

1-Membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu): Serbest radikaller tüm biyolojik molekülleri etkilerler, fakat lipitler bu hasardan en fazla etkilenen biyomoleküllerdir(47). Hücre membranında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlar serbest radikallerle tepkimeye girerek peroksidasyon ürünleri meydana getirirler. Lipit peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin ve kolesterolün oksidatif hasarlanmasına denir. Bu oksidatif olayla meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipit peroksidasyonu sonucu malondialdehit oluşur ve bu madde toksik etkisini proteinlerin amino grubuna, fosfolipitlere veya nükleik asitlere bağlanarak gösterir(8;47;62). Membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyon kabiliyetini bozar. Sitotoksositeye, mutajen oluşumuna, membran yıkımına yol açar. MDA, yağ asidi oksidasyonunun özgül ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle benzerlik gösterir(59;71).

2-Proteinlere etkileri: Triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein aminoasitleri gibi çift bağ ve tiyol içeren moleküllere karşı serbest radikallerin reaktivitesi yüksektir. Bu moleküller de radikal hasarına duyarlıdır. Yapısında veya katalitik aktivitesinde bu aminoasitleri bulunduran enzimler radikal etkisi ile etkisiz hale gelirler. Bunun yanında sitoplazmik ve membran proteinlerinde çapraz bağlanmalar ve agregat oluşumu görülür. Modifikasyonlara dirençli olan prolin, lizin gibi aminoasitler, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve OH<sup>\*</sup> radikallerinin etkisi ile hidroksilasyona uğrayabilirler(51;59;72).

3-Karbonhidratlara etkileri: Serbest radikaller karbonhidratlara etkilerini monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,okzoaldehitler oluşturarak gösterirler. Okzoaldehitler, DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanarak çapraz bağ oluştururlar. Serbest radikallerin karbonhidratlara ikinci etkisi ise bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asitin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu bağ dokusunun durağanlığının bozulmasına ve sıvının akışkanlığının kaybına neden olmasıdır(59;62;72)

4-Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: İyonize edici serbest radikallerin sitotoksitesi DNA'da hem nükleobaz modifikasyonuna hem de DNA' nın çift sarmal yapısının bozulmasına neden olur. Bu da hücrede mutasyona ve ölüme yol açar(73;74).

### 2.3.3. Antioksidanlar

Hücrelerde ve ekstracellüler sıvıda SOR'nin oluşturduğu hasarı engellemek için gelişen savunma mekanizmasına antioksidan savunma denir. Endojen ve eksojen antioksidan ajanlar mevcuttur. Endojen antioksidan ajanlar; Glutatyon(GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) , katalaz ( CAT), süperoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktazdır(GR)(54;61). Bu maddeler normal biyokimyasal olaylar sırasında oluşan serbest radikalleri nötralize edebilirler. Hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşturan ksenobiyotiklere (tütün dumanı, ozon, asbest vb. gibi) maruz kalma gibi durumlarda oksidan/antioksidan dengesi bozulursa antioksidan mekanizmalar yeterli gelmemeye başlar sonuçta sitotoksik madde yoğunluğu artar Bu da hücrelerin zedelenmesi ve ölüme yol açar(59;62;75).

Antioksidan savunma mekanizmalarının etkilerini şu şekillerde gösterirler:

1) Katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon redoks siklusu enzimleri (glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz vb.) gibi enzim sistemleri reaktif oksijen radikallerini daha az toksik hale getirirler(59;61).

2) İnsanda hücre membranında oksidanın yapacağı zedelenmeyi önleyen E vitamini (alfa-tokoferol), hem ekstraselüler sıvıda hem de hücrede antioksidan etkinlik gösteren ve antiproteazların oksidanlarla inaktivasyonunu önleyen, askorbik asid (C vitamini), indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asid, beta-karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümin radikalleri yakalayıp nötralize ederler(61;74).

3) Hidrojen peroksid ve süperoksid anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonudur. Demir ve bakır iyonunu bu reaksiyonu katalize eder. Hücrede ve plazmada serbast radikaller ferritin, transferin, laktoferin ve seruloplazmin ile bağlanır. Mitokondrilerde doğal olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidazdır Bu maddeler reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını önleyen ve oluşanın yayılmasını engelleyen sistemlerdir(61;63;75).

### 2.3.4. Süperoksid Dismutaz

SOD enzimi serbest radikalleri organizmada ilk karşılayan antioksidandır. Metalloprotein yapısında bir enzimdir. Ökaryotik hücrelerde dört farklı şekli bulunur. SOD'ın

görevi O<sub>2</sub> radikalini metabolize etmek ve daha zararlı olan hidroksil radikalinin oluşumunu engellemek. Bunu da O<sub>2</sub> radikalini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye ve moleküler O<sub>2</sub>'ye dönüştürerek yapar.

Tepkime ürünü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından inhibisyona uğrar (59;65) SOD O<sub>2</sub> molekülleri ile spontan olarak dismutasyona uğrayabilir. O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> moleküllerini sulu ortamda kendiliğinden ve hızlı bir şekilde dismutasyona uğrayarak oluşturur. SOD varlığı dismutasyon hızını 10 kat artırır. Bu sayede öncelikle O<sub>2</sub> radikalinin potansiyel substratla reaksiyona girmesi önlenir. Böylece OH<sup>•</sup> gibi daha toksik ürünlerin oluşmaz SOD enzim aktivitesi arttığı durumlar organizmada oksidatif stresin arttığı ve dokuda pO<sub>2</sub>'nin arttığı durumlar olarak sıralanabilir(52;61).

Hidrojen peroksit, Fenton reaksiyonu veya Haber-Weiss reaksiyonları ile çok daha reaktif olan OH<sup>•</sup> radikaline dönüşmektedir. Burdada ikinci savunma sistemi KAT ve GPx enzimleri devreye girer(49;52).

### **2.3.5. Katalaz**

KAT, % 20 oranında sitoplazma da, %80 oranında peroksizomlarda bulunan yapısında hemoprotein içeren bir enzimdir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin oluşum hızınının yüksek olduğu durumlarda 2 molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' yi suya dönüştürerek katalitik reaksiyonla ortamdan uzaklaştırır. Her bir aktif merkezde bir hem grubu içerir ve tetramerik yapıdadır(61;71). Katalaz reaksiyon sırasında bir molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye e<sup>-</sup> vericisi, diğerini de elektron alıcısı olarak görev yapar KAT aktivitesinin artması. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretim hızı artmasıyla doğru orantılıdır. Bu da aşırı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi sırasında glutatyon kaybını önler. KAT O<sub>2</sub> tarafından inhibe edilir(52;76).

### **2.3.6. Glutatyon Redüktaz (GR)**

Hem sitoplazmik sıvıda hemde mitokondride bulunmaktadır. Okside glutatyon (GSSG) hücreyi oksidanlara karşı koruyabilme özelliği yoktur. Hücre elektron kaynağı olarak Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'ı kullanan GSH redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla GSSG tekrar indirgenmiş GSH' a çevrilerek SOR ile reaksiyona girdikleri düşünülmektedir. NO oluşumuna yol açtıkları ileri sürülmüştür (52;54;62).

### 2.3.7. Glutasyon (GSH)

Birçok hücrede bulunan GSH hücre zarında aminoasitlerin taşınmasında rol alırken aynı zamanda koenzim olarak enzim yapısına katılır Proteinlerin sülfidril yapılarını koruyarak, toksik maddelerin etkilerinin ortadan kaldırılmasını sağlar(74;77).

### 2.3.8. Glutasyon Peroksidaz

Oksidatif hasarın azaltılmasında aktif rol oynayan, lipit peroksidasyonunu önleyen ve serbest radikallerin hücre içinde detoksifikasyonuna sağlayan en önemli endojen mekanizmadır. GPx enzimi sitoplazmik bir enzimdir Bu enzim glutatyondan ayrılarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya dönüştüren, intrasellüler glutasyon olarak bulunan en güçlü tiol bileşiğidir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi detoksifiye eder sonuçta da su ve okside glutatyona dönüşür. GPx'in antioksidan aktivitesini göstermesi için ortamda yeterli konsantrasyonda glutasyon redüktaz, GSH ve nikotinamid adenin dinükleotid bulunması gerekir(51;78)

### 2.3.9. İnflamatuar Yanıtta Sitokinler

İnsan vücudunda oluşan çeşitli hastalıklar ve travmalar sonucunda hasarlanan dokuları ve mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için gelişen olaylar zincirine inflammatuar yanıt denir. Bu koruyucu olay meydana gelirken eş zamanlı olarak hasarlı doku yanında normal dokularında ortadan kaldırılması söz konusudur. Normal dokulara da zarar veren inflammatuar cevap aslında birçok immün olay ve hastalığın patojenizini oluşturmaktadır (48;79)

Sitokinler hümmoral immün mediyatörlerin önemli sınıflarından birisini oluşturmaktadır. Sitokinler glikoprotein yapısındadırlar İnflamasyonda hedef hücrenin fonksiyonunu değiştirirler (biyolojik yanıt değıştiriciler) ve tek başına hareket eden makrofaj, intestinal epitel gibi hücrelerden salınırlar. İnflamasyon alanında gereğinden fazla bulunurlar(48).

Sitokinler yapısına göre 2 tipe ayrılmaktadırlar.

**Tip 1 Sitokinler;** Reseptörleri ile yapısal benzerlikler gösteren grubudur. Hematopoetin reseptörleri olarak da isimlendirirker. Bunlar: İnterlökin-2 (IL-2), İnterlökin-3 (IL-3), İnterlökin-4 (IL-4), İnterlökin-5 (IL-5), İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-7 (IL-7), İnterlökin-9 (IL-9), İnterlökin-11 (IL-11), İnterlökin-13 (IL-13), İnterlökin-15 (IL-15), granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF) gibi proteinlerdir(48).

**Tip 2 Sitokinler;** Bu grup da reseptörleri ile yapısal benzerlikler gösterirler. Bu grupta İnterferon (IFN)- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$  ve İnterlökin-10'u (IL-10) bulunur(48).

Sitokinleri gruplandırmanın diğerk bir yolu basit CD4+ T hücrelerinin (Th hücreleri), Th 1 ve Th 2 olarak adlandırılan 2 alt T helper (Th) hücre grubuna farklılaşmasıyla tanınması olabilir.. Th 1 hücreleri potent proinflamatuvar sitokinler olan IFN- $\gamma$  ve lenfotoksin (LT)- $\alpha$  ile IL-2 üretir. Th 2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13'ü üretir. Bu nedenle Th 1 sitokinler sıklıkla proinflamatuvar, buna karşılık Th 2 sitokinler antiinflamatuvar olarak adlandırılır(48;79).

#### **2.4. Dekspantenol**

Dekspantenol, dekstro-pantotenik asidin alkol türevidir. Karaciğerde D-pantotenik aside dönüşür(36). Hücrelerde adenzin trifosfat (ATP) sentezini yani enerji üretimini artırarak redükte glutasyon (GSH) içeriğinin fazlaşmasına neden olur (37;38). Pantotenik asit, birtakım hücresele olaylarda çok önemli rol oynayan mekanizmalar için gerekli kofaktör olan koenzim A'nın bileşimine girer, sentezini artırır. Koenzim A, asetil-koenzim A şeklinde karbonhidrat metabolizmasında, asetilkolin sentezinde, kolesterol sentezinde, adrenal korteksindeki steroid hormonların sentezinde, ilaçların ve diğerk xenobiyotiklerin karaciğerde asetilasyonunda ve onların tiamin fosfatın da katıldığı oksidatif dekarboksilasyon biyotransformasyonunda, süksinil koenzim A şeklinde sitrik asit siklusunda ve hem sentezinde görev alarak önemli koruyucu etkilerde de bulunur(39;40). Literatürde pantothenik asidin deneysel olarak gama radyasyonun zararlı etkilerini dokularda azalttığı, ultraviole ile indüklenen apopitoza karşı hücreleri koruduğı ve ayrıca tümör hücrelerindeki lipid peroksidasyonunu önlediğı gösterilmiştir(41-43). Uzun yıllardır zaten oral, lokal veya parenteral kullanımında dexpanthenolün yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri geçmiş literatörlerde gösterilmiştir(37;40;44).

Dekspantenol, B kompleks vitaminlerin bir üyesi olan pantotenik asitin alkolik analogudur (36). Pantotenik asit ilk kez Williams tarafından 1933 yılında tanımlanmıştır ve mayaların gelişimi için gerekli olduğu düşünölmüştür(80). Pantotenik asit, beta-alanin ile pantoik asidin amid bağı ile birleşmesinden oluşur. En fazla bulunduğu besinler hububat türleri ve leguminosa türleri (baklagiller)dir(75).



dokulara dağılım gösterir(33;83). Pantotenik asidin sadece dekstrorotator izomeri biyolojik aktiviteye sahiptir. Dekspantenol sıvılarda pantotenik asitin en stabil olan formudur ve pH'ı 9,5 civarındadır. Dekspanthenol yağda çözünmezken, suda ve alkolde çözüldüğü görülmüştür (36;81).

Pantotenik asidin gastrointestinal sistemden emilimi kolaydır ve emilen miktarın % 70 kadar bir kısmı idrarla atılır. Pantotenik asidin insan vücudu için günlük gereksinimi tam olarak bilinmemele birlikte yetişkinler için günlük gereksinim miktarı 4 ile 7 mg arasında olduğu düşünülmektedir. Pantotenik asidin vücudumuz için kullanıldığı alanlar düşünülürse alınan miktar azdır(36). Diğer B vitaminlerinin (tiyamin ve niasin) eksikliği ile birlikte ve onların belirtileri tarafından maskelenmiş şekilde ortaya çıkabileceği düşünülmüştür. Pantotenik asid antagonisti olan omega-metilpantotenik asiddir. Pantotenik asid eksikliğini göstermek için antagonistini insana vermek suretiyle halsizlik, yorgunluk, kasların koordinasyonunda yetersizlik, flatulans, karın ağrısı, bulantı, ruhsal durumda psikoza kadar giden bozukluklar ve uykusuzluk oluştuğu gösterilmiştir. Pantotenik asidin insan vücudu için gerekliliği kanıtlanmamıştır fakat multivitamin preparatlarına gerek D-pantotenik asid rasemik şekli halinde, gerekse kalsiyum veya sodyum tuzu ya da dekstro-pantotenik asidin alkol şekli olan dekspantenol halinde 5-10 mg dozunda eklenmektedir(37;41;75;84).

Pantotenik asidin deriden emilimi iyi değildir. Tersine dekspantenol, deriden iyi emilir ve hızlıca pantotenik aside çevrilir. Kesilmiş insan derisi ile in vivo olarak yapılan çalışmalarda dekspantenolün deri yolu ile emilimi gösterilmiştir. Buna göre dekspantenol canlı epidermis içine girer. Topikal uygulama çalışmalarında insan saç, saç kökleri, tırnaklar, derinin dermis ve epidermis tabakasında pantotenik asidin artmış konsantrasyonları bulunmuştur(33;36). D'-pantenol, pantotenol ve pantotenil alkol, dekspantenolün eş anlamlarıdır. Dekspantenolün kontrendike olduğu durumlar, hemofili, mekanik obstrüksiyon kaynaklı ileus ve paraben sensitivitesi (enjeksiyonluk formu paraben içerebilir)' gibi durumlardır(33). Dekspantenol % 2-5'lik konsantrasyonlarda merhem, emülsiyon veya solüsyon formlarında deride ve mukozal lezyonlarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Avrupada topikal formülasyonlar % 5 konsantrasyonda bulunmaktadır. % 2'lik dekspantenol preparatları US Gıda ve ilaç Yönetimi tarafından çeşitli dermatozlarda veya şiddetli kaşıntıyı gidermede kullanımını onaylamaktadır. Dekspantenol sistemik olarak da erişkinlerde 250-500 mg dozlarda kullanılmaktadır(36)

Dekspantenol sıçan ve memeli canlılarda oral ya da parenteral yolla verildiğinde dokuda PA'edönüştürülür. PA, redükte glutatyon (GSH), Koenzim A (CoA)ve hücredeki ATP sentezinde artışa neden olur (40;43;44) Bu GSH ve glutatyon bağımlı peroksidazlar iskemi reperfüzyon hasarında görülen oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna karşı en önemli koruyucu sistemlerdir (38;42;85) Antiinflamatuvar sistemde etkinliğini nötrofillerden salınan myeloperoksidaz enzimini salınımını azaltarak yaptığı düşünülmektedir.Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisinin Koenzim A düzeylerindeki artışın yanında fosfolipid yapımını artırarak da göstermektedir(41;42;44;84).

## **2.5. NEKROTİZAN ENTEROKOLİT**

Nekrotizan enterokolit (NEK), bağırsakların kısmi veya tam iskemisi ile ilerleyen yenidoğan dönemindeki önemli bir gastrointestinal problemdir. Tutulum bölgesi sıklıkla terminal ileumdur. Intestinal iskeminin başlamasında üç önemli faktör bulunmaktadır bunlar hipoksi, hipertonic mamalarla erken enteral beslenme ve enfeksiyon olduğu gösterilmiştir. Bütün bu faktörlerin ortak noktası intestinal iskemidir. Hipoksi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar mediatörler intestinal mukozal zedelenmeyi daha da artırırlar böylece ülserasyon ve nekroz oluşturdukları gösterilmiştir(86-88).

NEK'in etyopatogenezi araştırıldığında birden fazla etken ortaya çıkmaktadır. Bu etkenler 3 ana başlık halinde toplanabilir:

- 1) Barsak zedelenmesine esas olarak iskemik travma
- 2) Bakteriyel kolonizasyon
- 3) Barsak lümeninde bir substratın varlığı(mama)(21;23;89)

### **2.5.1. Mukozal Bariyeri Etkileyen Faktörler**

#### **2.5.1.1. Hipoksi**

Kan akımının azaldığı durumlarda dalma (diving) refleksi olarak tanımlanan bir mekanizmayla hayatın devamlılığı için hayati organlar korunur. Hayati organları korumak için kan sindirim organları ve periferdeki organlardan daha çok kalp, beyin ve böbrek gibi organlara gider. Sindirim organları bu durumu bir süre tolere edebilir fakat bu durum

uzayacak olursa barsaklarda dolaşımın yavaşlamasına bağlı olarak kalıcı hipoksik hasar oluşur(21;23;90).

### **2.5.1.2. Umblikal Ven Kateteriyle Exchange Transfüzyon**

% 1–2 NEK gelişimi bu işlemten sonra geliştiği bildirilmiştir. Kateterin ucu umblikal ven ve duktus venozus veya portal ven ayırımına yerleştirilir. Exchange transfüzyonun injeksiyon fazında bu bölgeye olan venöz konjesyon sonucu barsakta arteriyel kan akım azalır(90).

Umblikal Arter Kateterizasyonu: NEK gelişen bebeklerde % 25–45 arasında değişen sıklıkta umblikal arter kateterizasyonu sonrasında olduğu gösterilmiştir. Kateterizasyona bağlı mezenterik tromboembolizm ile NEK arasında bir etyolojik ilişki olabileceği savunulmaktadır. Eğer beslenmeye bağlı barsakta büyük metabolik ihtiyaç varsa, kan akımında artış beklenir kan akımı yetersizliği ve multipl tromboemboli kombinasyonu intestinal nekroz ve NEK'eneden olabilir. Pratikte bunu kanıtlayacak veriler yoktur (91).

### **2.5.1.3. İskemi reperfüzyon hasarı**

İskemik dokuda reperfüzyon sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri son derece toksik maddelerdir. Hücre zarı, lizozom ve mitokondri gibi hücre yapılarını tahrip edici özellikleri mevcuttur. Kısa süreli hipoksiyi takip eden reperfüzyon durumunda bile mukoza bariyeri hasarlanmaktadır, öyle ki mukozal permeabilite de belirgin şekilde artış görülmektedir. Bu artışın nedeninin serbest oksijen radikalleri başta olmak üzere, eikosanoidler, Prostoglandin-E2 ve nötrofiller sebep olur(10;74).

Barsaktaki mukozal bariyerin görevi lümendeki bakterilerin sistemik dolaşıma geçmesini engellemektir. Barsak epiteli 10. gebelik haftasında oluşan sıkı bağlantı kompleksleriyle birleşmektedir. İntestinal epitelyal bariyer, küçük iyonlara seçici geçirgendir, besin maddelerinin emilimine ve iki yönlü sıvı akımının geçişine izin verir(92;93). Gastrointestinal bariyerin fonksiyonel elemanları mide asidi, pepsin, pankreas enzimleri, mukus, barsak motilitesidir. Fetal intestinal sekresyon ve absorpsiyon, amniotik sıvının etkisiyle, gebeliğin 26. Haftasından doğuma kadar yavaş yavaş olgunlaşmaktadır. Bu fonksiyonlar preterm bebekte tam olgunlaşmamıştır. Mide asidi ve pepsin miktarı term bebekte ancak birinci ayın sonunda erişkin düzeyinde bulunur. Pankreas ekzokrin salgıları da ancak bir yaşında yeterli miktara erişir(94;95).Mukus seviyelerinin de yeterli miktarlara

erişmeme nedeni de goblet hücreleri yeterli olgunluğa ulaşmamasıdır.. Bu nedenlerden prematürelde nec görülme oranı daha fazladır patojen ve toksinler lümen den uzaklaştırılmamaktadır(96;97).

### **2.5.2. Patoloji**

NEK, en sık terminal ileum ve proksimal kolonu tutmakla birlikte gastrointestinal sistemin herhangi bir lokalizasyonunu da etkileyebilmektedir. NEK bazen tek bir odak tutabildiği gibi bazen aralıklı olarak birden çok segmenti tutabilir(18;24;98;99). İnce barsakların tutulumu %30 olguda, kalın barsaklarla birlikte tutulumu olguların %44'ünde, yalnız ince, izole kolon tutulumu ise olguların %26'sında olduğu gösterilmiştir(98). Barsakların en az %75'inin nekroze olması durumuna pannekroz olarak ifade edilir fulminan NEK adı verilir. Fulminan NEK, cerrahi tedavi uygulanan olguların %19'unda gösterilmiştir(20).

Hastalığın başlangıcında barsak anslarında dilatasyon mevcuttur. Barsak duvarında yama tarzında incelme görülür. Periton içinde serbest sıvı artışının yanında serozal yüzeyde gri-kırmızı lekeler olması ve serozanın fibrinoz eksudayla kaplanması en önemli patolojik bulgularındandır. Mukozal yüzey, geniş epitelyal soyulmalarla birlikte ülserasyonlar görülebilir. Peritoneal sıvının hemorajik olması nekrozun, kahverengi ve bulanık sıvı perforasyonun göstergesidir Perforasyon sıklıkla antimezenterik yüzde ve çoğunlukla terminal ileumda görülür(18;97;98)

Mukozal ödem ve enflamasyon NEC'te hemen hemen tüm olgularda görülen mikroskopik bulgulardır fakat en karakteristik bulgusu, olguların %89'unda görülen yüzeysel mukozada koagülasyon nekrozu olmasıdır.(97;100;101)

Mukoza nekrozunu, submukozanın ödem ve hemorajisi izler. Pnömatosis intestinalis önce submukozada, daha sonra müsküler ve subserozal tabakalarda gösterilir. Hastalığın ileri safhalarında transmural nekroz, hyalin eosinofili ve müsküler tabakada çekirdek kaybıyla kendini gösterir(10;18;89;102).

Nekrotizan enterokolitin tedavisi medikal ve cerrahi olmak üzere ikiye ayrılır. NEK şüphesinin tedaviye erken başlanmalıdır NEK bebeklerin çoğu medikal tedaviye yanıt vermektedir. . Tedavinin amacı, gastrointestinal sistemi dinlendirerek hastalığın ileri evrelere ilerlemesini engellemek, enfeksiyonu kontrol altına alarak, metabolik dengeyi düzenlemektir(86-88).

### **2.5.3. Medikal Tedavi Basamakları**

- 1)Enteral beslenme kesilerek, nazogastrik drenaj yapılır.
- 2)Umbilikal kateter varsa çekilir.
- 3)Semptomlar devam ettiği sürece 6–12 saat arayla grafiler değerlendirilir.
- 4)Sıvı elektrolit dengesi sağlanarak metabolik asidoz varsa tedavi edilir.
- 5)Kan, trombosit, plazma verilir
- 6)Ampirik olarak antibiyotik tedavisi 10–14 gün sürdürülmelidir Önerilen genellikle ampisilin, aminoglikozit ve anaerobik bakterileri kapsayan metronidazol üçlü antibiyotik tedavidir(17).
- 7)Batın grafileri, batın muayenesi ve gastro intestinal fonksiyonlar normale döndükten sonra, en az 5 gün daha total parenteral nutrisyon tedavisine devam edilmeli, beslenmeye başlanmamalıdır(22;103).

### **2.5.4. Cerrahi Tedavi**

Medikal tedaviye rağmen NEK vakalarının %34–50' si medikal tedaviye cevap vermemektedir(86). İntestinal perforasyon acil cerrahi tedavi gerektiren en temel endikasyondur. Perforasyon en sık terminal ileumda görülür(88). Bazı merkezlerde perfore olmuş bebeklerde cerrahi mortalitenin daha yüksek olmasını göz önünde bulundurarak genel durumu giderek bozulan, derin metabolik asidozu, düzeltilemeyen nötropeni ve trombositopenisi olan bebeklerin, 8–12 saat arayla tekrarlanan grafilerinde sabit barsak devam eden bebeklerde beklemeden cerrahi tedavi yapmaktadır. Karın duvarında eritem, abdominal kitle, portal venöz gaz varlığı gibi bulgularda diğer cerrahi tedavi endikasyonlarıdır(104). Cerrahi tedavinin iki amacı vardır. Bunlardan birincisi nekrotik bağırsak bölgesi rezeke edilerek proksimal kısım dışarı ağızlaştırılır ve bebeğin yaşaması sağlanır sonrasında ise anostomoz yapılır(88;105). Doğum ağırlıkları düşük olan ve cerrahiye alınamayacak kadar kötü olan bebeklerde peritoneal drenaj uygulanması önerilmektedir, sonrasında laparotomi kararı alınabilmektedir(106-110).

### **2.5.5. Prognoz**

Nekrotizan enterokolitin mortalitesi %30–40 arasında bildirilmiştir. Bu oran cerrahi tedavi gerektiren vakalarda %60'lara kadar yükselmektedir. Nec bebeklerden tedaviden sonra yaşayanların %25-35'inde bağırsaklarda strüktür görülmektedir Bunun nedeni perfore olmayan

bağırsak bölgesinde gelişen skar dokusudur. Skar dokusuna bağlı striktür gelişen bağırsaklar çoğunlukla akut dönemde semptomatiktirler fakat bazı strüktürler 6 ay gibi uzun bir süre semptom kendini göstermeyebilir. Bağırsaklardaki striktür kendini beslenme problemleri, diyare veya bağırsak obstrüksiyonu şeklinde gösterir. Nekrotizan enterokolitln en sık geç komplikasyonları strüktür, fistül, abse, rekürren NEK, kısa bağırsak sendromu, malabsorbsiyon, kolestaz ve enterokist gelişimi olduğu gösterilmiştir(86).

#### **2.5.6. Korunma**

NEK'ten korunmada temel amaç hastanın patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen perinatal risk faktörlerini en aza indirmek ve bebeğin direncini arttırılmasına yönelik önlemlerdir. Nec koruyucu önlemlerin başında iyi bir obstetrik bakım gelir. Korunma ile ilgili, bakteri kolonizasyonu ve aşırı proliferasyonu azaltıcı enfeksiyon kontrolüdür. Enfeksiyona karşı önlemler anne sütü kullanımı, hasta premature bebeklerin yavaş beslenmesi, immunglobulin, probiyotik ve büyüme faktörlerinin kullanılmasıdır. Bakteriyel gelişimi inhibe etmek amacıyla enteral olarak kanamisin ve gentamisin gibi aminoglikozitlerin kullanılması. Gastrik bakteri kolonizasyonunu azaltmak içinse mamalar asidifikiye edilebilir (97;111).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamız, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen 36 genç sağlıklı dişi Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılarak, ADÜ Farmakoloji AD Laboratuvarı'nda, Ocak –Şubat 2015 tarihlerinde yapıldı. Sıçanlar, deney öncesi tel kafeslerde, 12 saat aydınlık 12 20 saat karanlık sirkadiyen ritimde ve sıcaklığı 20-25C olacak şekilde kontrollü odada tutularak yetiştirildiler. Sıçanlar, standart sıçan yemiyle ve suluktan serbestçe su içmeleri sağlanarak beslendiler. Deney öncesi Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak etik kurul onayı alındı.

36 adet genç sağlıklı sıçan (200-250 gr), randomize olarak altı gruba ayrılacak,

**Gruplar** Deney hayvanları randomize olarak şu şekilde gruplara bölündü

Grup I: Sham

Grup II: iskemi-reperfüzyon

Grup III: iskemiden 30. Dakika önce SF verilen sonrasında 90 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon yapılan

Grup IV: iskemiden 30. Dakika önce 500 mg/kg dekspantenol verilen sonrasında 90 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon yapılan

Grup V: 90 dakika iskemi işleminin 45. dakikasında SF verilen, iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon yapılan grup

Grup VI: 90 dakika iskemi işleminin 45. dakikasında 500 mg/kg dekspantenol verilen, iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon yapılan grup

#### 3.2. Deneysel İntestinal İskemi-Reperfüzyon Modeli

Sıçanlar üzerindeki cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. intraperitoneal yolla ksilazin ve ketamin anestezisi uygulandı. Sıçanların karın derileri antiseptik solüsyonla temizlendikten sonra, orta hat laparotomisi uygulandı. Karın boşluğuna girilerek ince barsaklara ulaşıldı. İnce barsakların geçici olarak dışarıya çıkarılmasını takiben SMA'ye ulaşıldı ve arter dikkatlice disseke edilip etraf dokulardan soyutlandı. Daha sonra SMA'ye atravmatik mikrovasküler bir klemp konularak kan akımı durduruldu İnce barsak arter pulsasyonlarının kaybolması ve ince barsak renginin giderek soluklaşması kontrol edilerek

yapılan işlemin doğruluğu teyit edildi. İskemi oluşturulmasını takiben barsaklar normal anatomik pozisyonlarına geri yerleştirildiler ve karın duvarı atravmatik 3/0 ipek ile dikilerek kapatıldı. Arter iskemisi 90 dakika boyunca sürdürüldü. Bu sürenin bitiminde tekrar laparotomi ile karın boşluğuna ulaşıldı ve atravmatik mikrovasküler klemp çıkarılarak reperfüzyon sağlandı. 60 dakikalık reperfüzyon sonrasında sıçanlara median sternotomi uygulandı. Sıçanlar göğüs boşluğuna ulaşıp aort kesisi uygulanarak sakrifiye edildiler. Sham grubundaki sıçanlara ise laparotomi uygulanarak SMA'ye ulaşıldı ancak arter iskemisi uygulanmadan karın duvarı geri dikildi. İskemi reperfüzyon grubundaki sıçanlara ise iskemi ve reperfüzyon uygulandı ancak ilaç verilmedi. Grup III de iskemiden 30 dakika önce SF verildi sonrasında 90 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon yapıldı. Grup IV de iskemiden 30 dakika önce 500 mg/kg dekspantenol verilen sonrasında 90 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon yapılan Grup V de 90 dakika iskemi işleminin 45. dakikasında SF verildi, iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon yapıldı. Grup VI da 90 dakika iskemi işleminin 45. dakikasında 500 mg/kg dekspantenol verildi, iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon yapıldı. 90 dakikalık iskemi, 60 dakikalık reperfüzyon sonrası intrakardiyak ortalama 5 cc kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen sıçanların barsakları ileum distalinden yaklaşık 0.5 cmlik 2 adet doku örneği alındı.

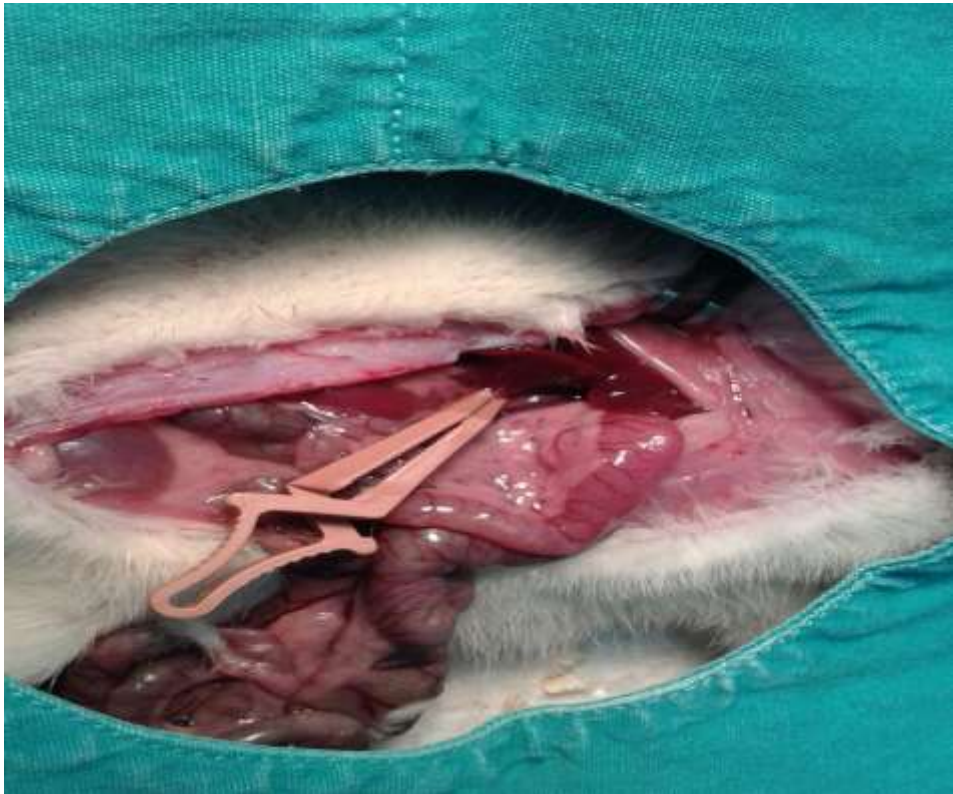
Cerrahi işlem sonrası doku örnekleri biyokimyasal parametreler için Ependorf tüplerine konularak soğuk (-40C) saklama kabında hızla biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. İntrakardiyak kan örnekleri de biyokimyasal parametreler için biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Patolojik inceleme için alınan doku örnekleri formol ile ependorf tüplerine alınıp patoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

### **3.3. Histopatolojik İnceleme**

Alınan barsak örnekleri Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında %4'lük formalin fiksasyonu sonrası rutin doku takip kesitler alınarak ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Tokyo, Japan) incelendi Tüm örnekler uzman bir patolog tarafından 1'den 5'e kadar değişen mikroskopik hasar skorlamasına göre semikantitatif olarak değerlendirildi



**Resim 1:** Batın orta hat insizyonu



**Resim 2:** Süperior mezenterik arter oklüzyonu



**Resim 3:** Süperior mezenterik arter oklüzyonu sonrası oluşan iskemi

İskemi reperfüzyon hasarı sonrası bağırsaklarda histolojik derecelendirme skalasına göre biz çalışmamızda park/chiu skorlamasını kullandık. Geriye dönük yapılan çalışmalarda ratlarda iskemi reperfüzyon hasarının histopatolojik incelenmesinde hasarlanmayı en ayrıntılı gösteren ve en iyi ifade eden kullanımı kolay olan en uygun skorlama olarak gösterilmiş (112)

**Skorlama:**

Grade 1: Normal mukoza

Grade 2: Villusların ucunda subepitelyal boşluk

Grade 3: Subepitelyal boşlukta artma

Grade 4: Villusların tabanını aşırı kaldırma ve bazı dökülmeler

Grade 5: Lamina propria parçalanması

Grade 6: Kript katmanı yaranması

Grade 7: Transmukozal enfarktüs

Grade 8: Transmural enfarktüs

Chiu

0. Normal mucosa
1. Subepithelial space at villus tips
2. Extension of subepithelial space with moderate lifting
3. Massive lifting down sides of villi, some denuded tips
4. Denuded villi, dilated capillaries
5. Disintegration of lamina propria

Park

6. Crypt layer injury
7. Transmucosal infarction
8. Transmural infarction

### 3.4. Biyokimyasal İşlemler

#### 3.4.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Doku örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0,2 M phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve 1 mM Ethylenediamin tetra acetic acid (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7,4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4C’de homojenize edildi. Homojenatlar, MPO için örnek ayrıldıktan sonra, 10.000 rpm 5 dakika santrifüje edildi ve üstteki supernatant eşit olarak endopodflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için -80 C’de donduruldu.

#### 3.4.2. Serumdaki analizler

IL-3 analizi için rat spesifik çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı, (SunRed Biotechnology Company, Shangai, Cat. No.201-11). Standart rekombinant IL-3 eğrisi kullanılarak IL-3 konsantrasyonları hesaplandı. Değerler ng/L olarak ifade edildi.

IL-6 analizi için rat spesifik çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı, (Affymetrix eBioscience Rat IL-6 Platinum ELISA BMS625 / BMS625TWO / BMS625TEN Avusturya). Standart rekombinant IL-6 eğrisi kullanılarak IL-6 konsantrasyonları hesaplandı. Değerler pg/ml olarak ifade edildi.

IL-10 analizi için rat spesifik çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı, (Affymetrix eBioscience Rat IL-10 Platinum ELISA BMS629 / BMS629TEN Avusturya). Standart rekombinant IL-6 eğrisi kullanılarak IL-10 konsantrasyonları hesaplandı. Değerler pg/ml olarak ifade edildi.

### 3.4.3 Dokuda yapılan analizler

MDA analizi için, çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı, (SunRed Biotechnology Company, Rat MDA ELISA Kit , Shangai , Cat. No.201-11-0157). Deney sonu absorbanslar 450 nm dalga boyunda okundu ve sonuçlar nmol/ ml olarak verildi.

Katalaz enzimi için rat spesifik çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı (SunRed Hotechnology Company Rat Cat ELISA Kit, Cat. No.201-11-5106 Shangai). Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi rat spesifik çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı (SunRed Biotechnology Company Rat Cat ELISA Kit, Cat. No: 201-11-5104 Shangai). Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

Süper oksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi Ksantin oksidaz enzimi kullanılarak oluşturulan superoksid radikalleri tetrazolium tuzu ile saptanmıştır (cayman chemical Superoxide Dismutase Assay Kit Item No:706002, USA). Sonuçlar mg protein başına spesifik aktivite olarak hesaplanarak ( $\mu\text{mol dk}^{-1}\text{mg}^{-1}$ ) verildi.

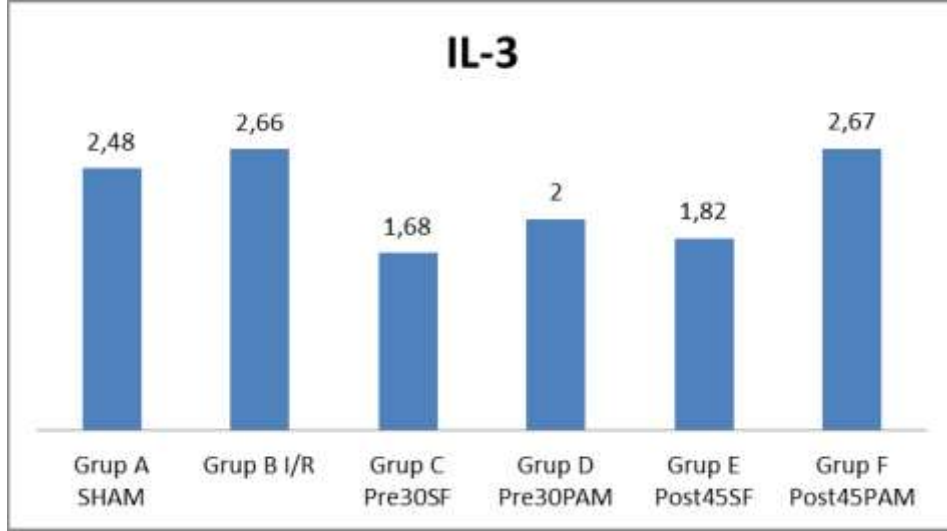
Myeloperoksidaz (MPO) enzimi için çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile çalışan ELISA kiti kullanıldı (Eastbiopharm Rat Myeloperoxidase (MPO) ELISA Kit Cat. No. CK-E30220, Yile Road/ China). Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

Nitrat/Nitrit düzeyi, nitrat redüktaz enzimi kullanılarak kolorimetrik yöntemle hazır kit kullanılarak çalışılmıştır. (cayman chemical, Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit Item No.780001, USA) Sonuçlar mg yaş doku başına NİTRAT konsantrasyonu olarak ( $\mu\text{mol/mg}$ ) olarak verildi.

Glutasyon (GSH) düzeyi, Glutation redüktaz kullanarak optimize edilmiş enzimatik dönüştürme yöntemi kullanılmıştır (cayman chemical Glutathione Assay Kit Item No.703002, USA) Çalışılan tüm doku örneklerinde glutasyon saptanamamıştır.

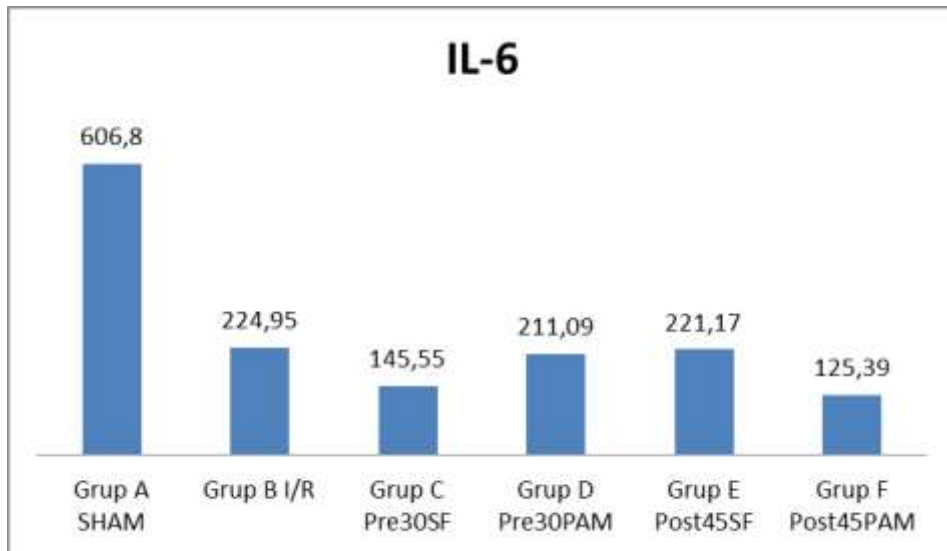
#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD deneysel cerrahi laboratuvarında üretilen ve ağırlığı ortalama 200-250 gr arasında değişen, altı adet erkek cinsiyette Wistar-Albino tipi sıçan bulunan toplam altı eşit grup bulunmaktadır. Biyokimyasal değerlerin ortalama değerleri ile histopatolojik sonuçlar aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir.



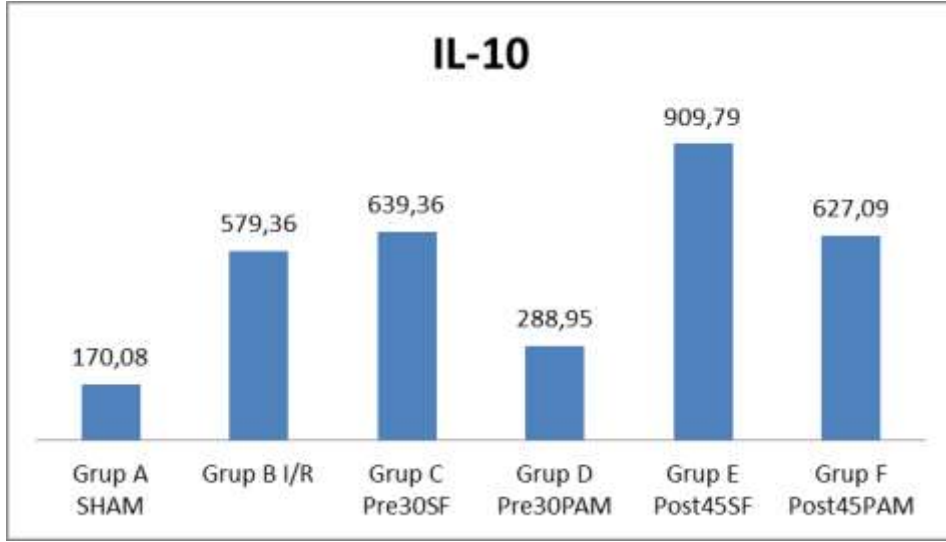
Şekil 6: Serum IL-3 seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

IL-3 değerleri açısından Grup C sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,033$ ). Grup E sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,010$ )



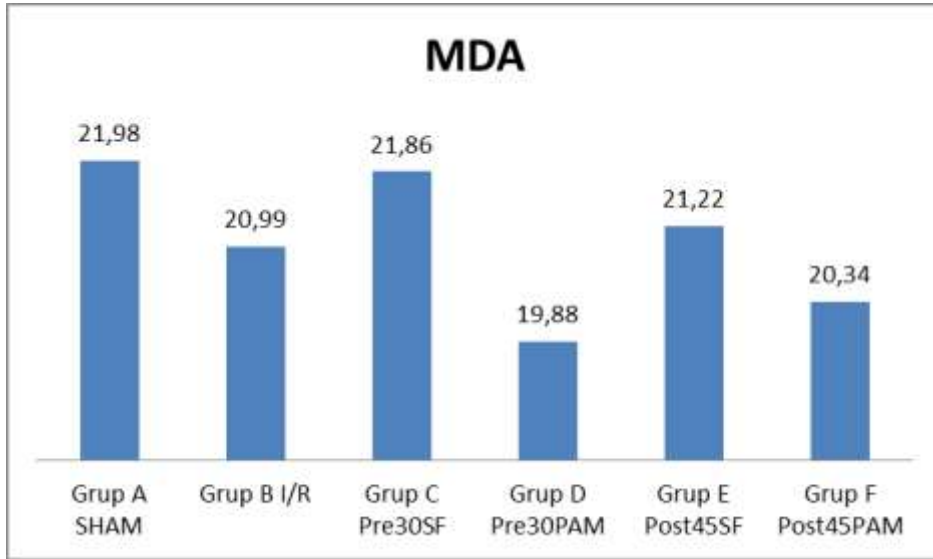
Şekil 7: Serum IL-6 seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

IL-6 değerleri açısından Grup D sonuçları ile Grup F sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,010$ ).



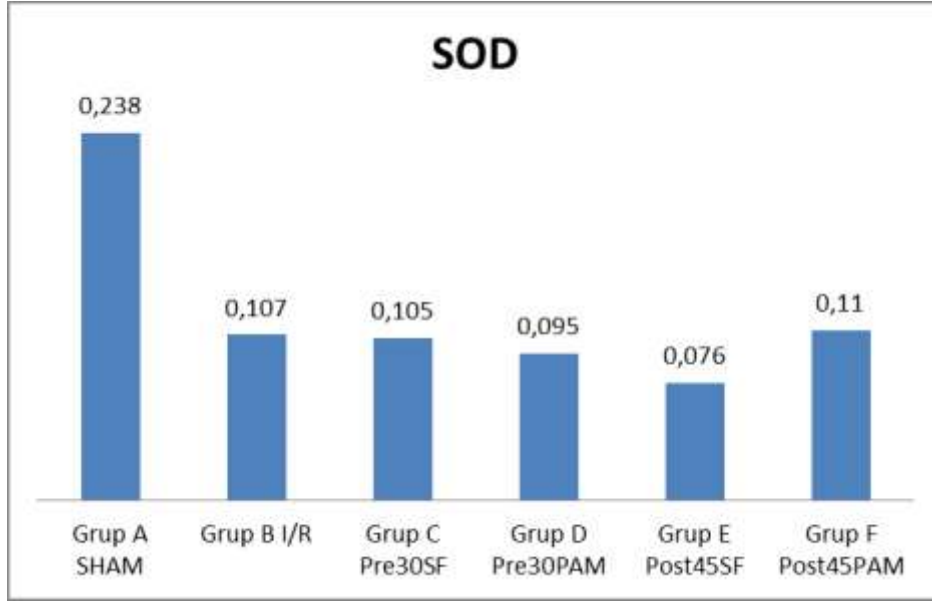
**Şekil 8:** Serum IL-10 seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

IL-10 değerleri açısından Grup C sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,004$ ). Grup C sonuçları ile Grup D sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,025$ ). Grup E sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,010$ ). Grup F sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,006$ ). Grup D sonuçları ile Grup F sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,037$ ).



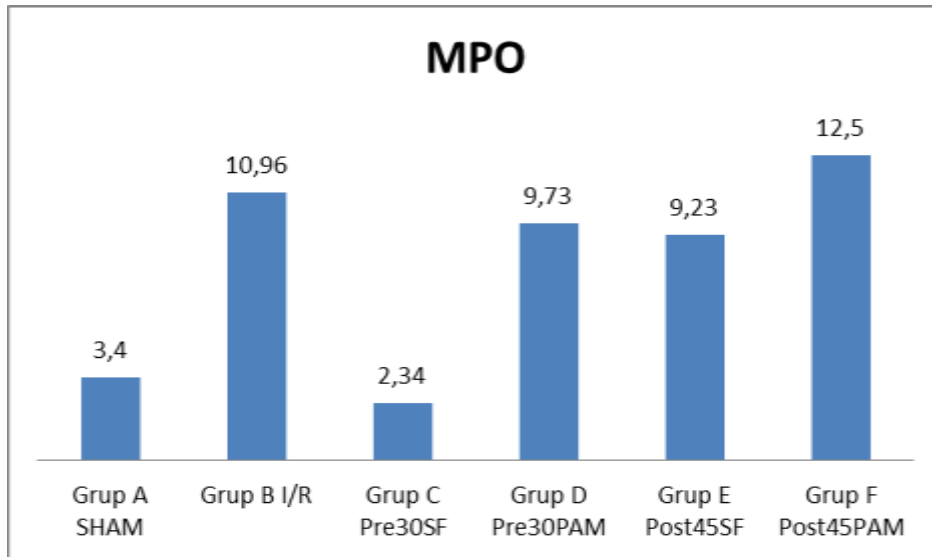
**Şekil 9:** Serum MDA seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

MDA değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.



Şekil 10: Serum SOD seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

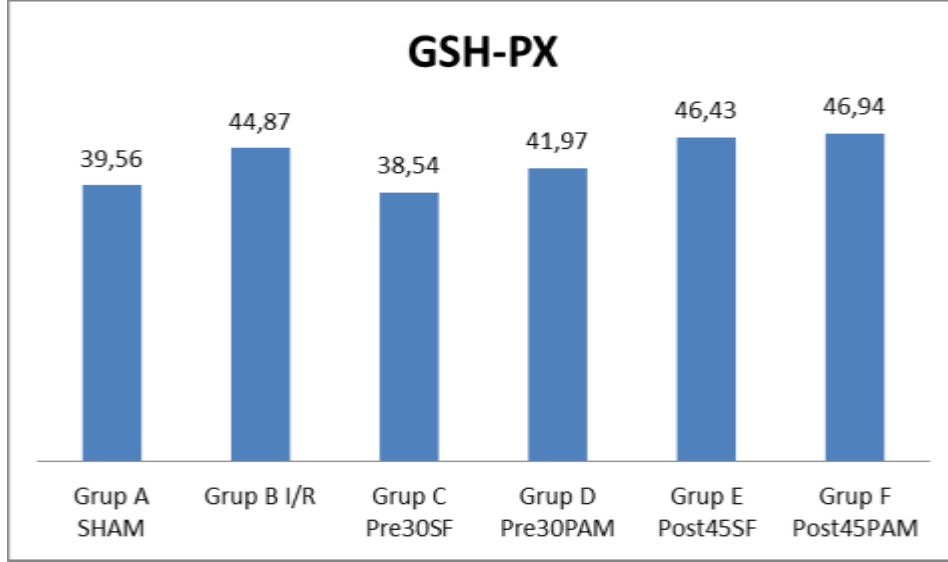
SOD değerleri açısından Grup E sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,036$ ).



Şekil 11: Serum MPO seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

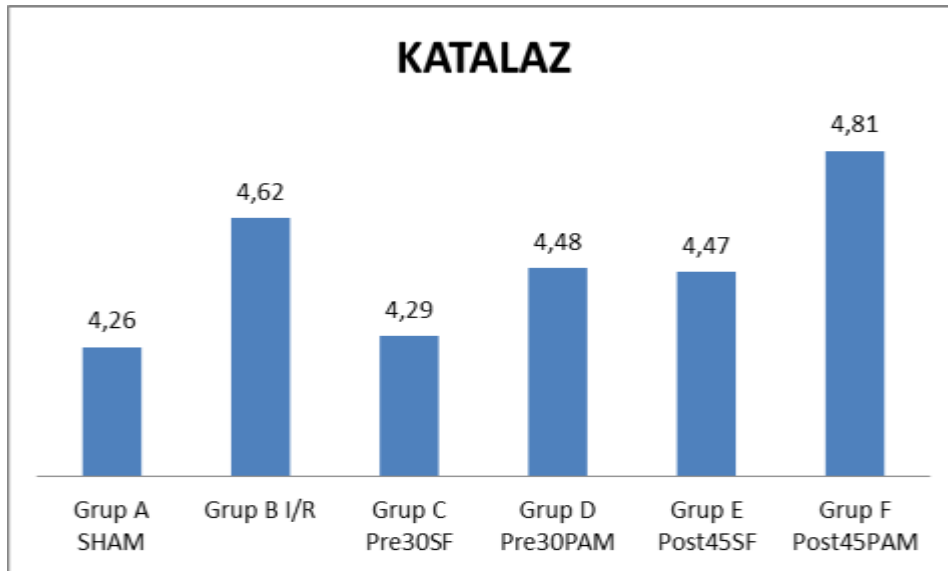
MPO değerleri açısından Grup B sonuçları ile Grup A sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,038$ ). Grup A sonuçları ile Grup F sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,022$ ). Grup C sonuçları ile Grup E sonuçları

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,045$ ). Grup C sonuçları ile Grup F sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,025$ ).



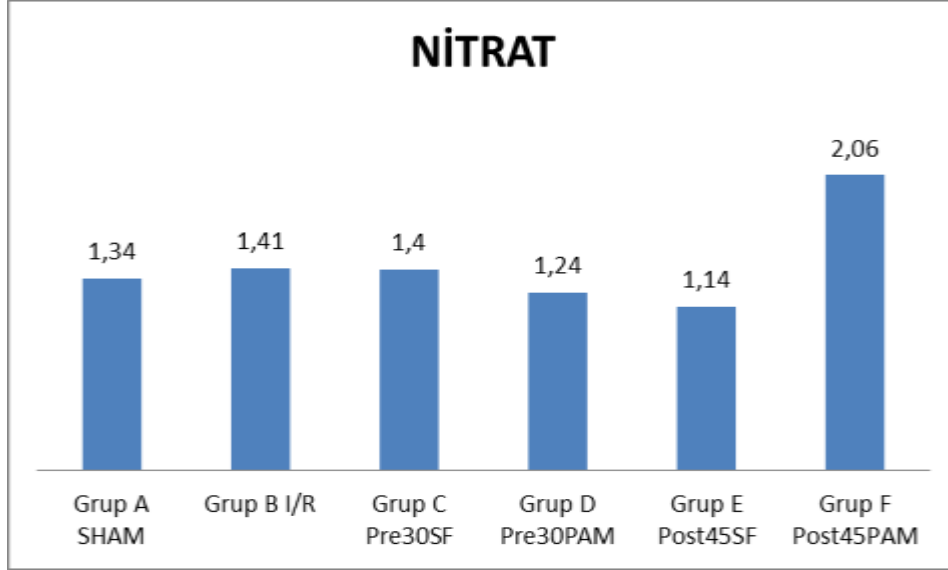
**Şekil 12:** Serum GSH-PX seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

GSH-PX değerleri açısından Grup B sonuçları ile Grup C sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,025$ ). Grup A sonuçları ile Grup F sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,037$ ). Grup C sonuçları ile Grup F sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,025$ ).



**Şekil 13:** Serum Katalaz seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

Katalaz değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

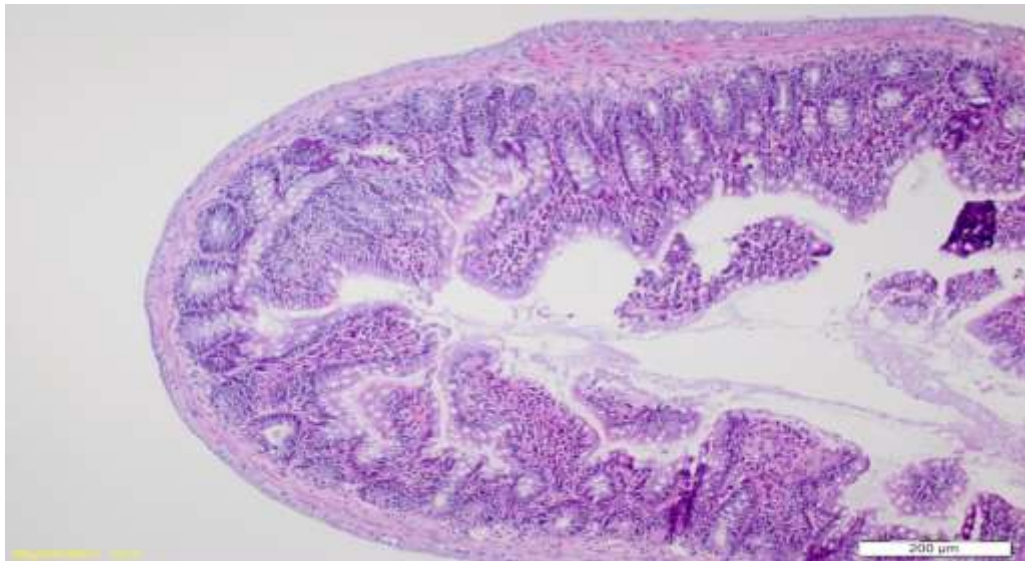


**şekil 14:** Serum Nitrat seviyesinin gruplar arası karşılaştırılması

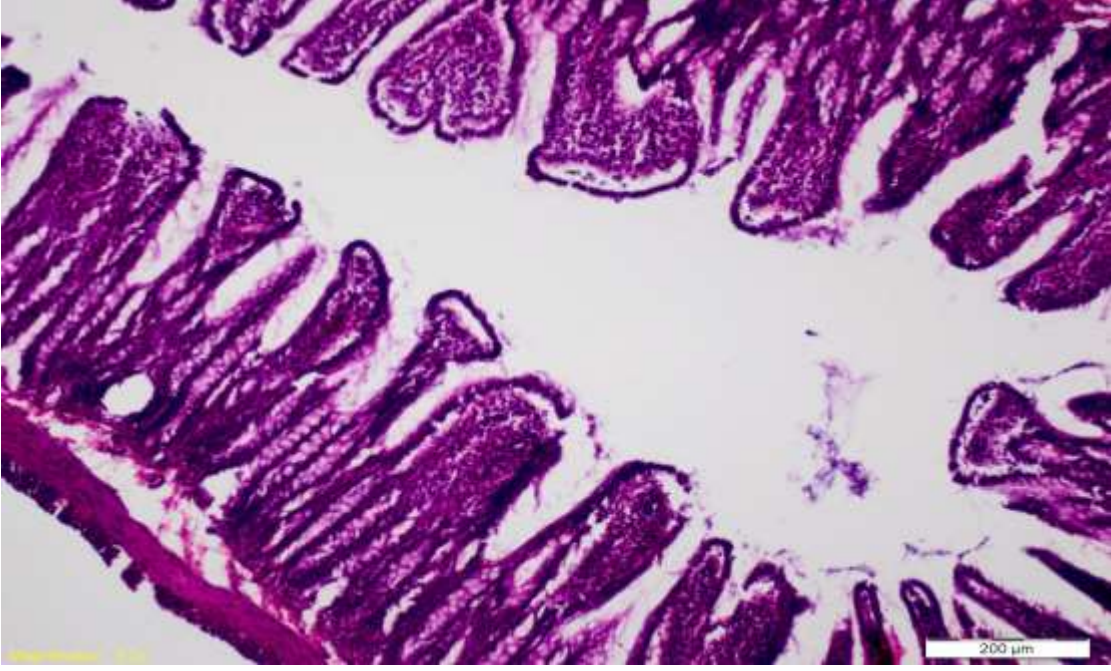
Nitrat değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

#### 4.1. Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi

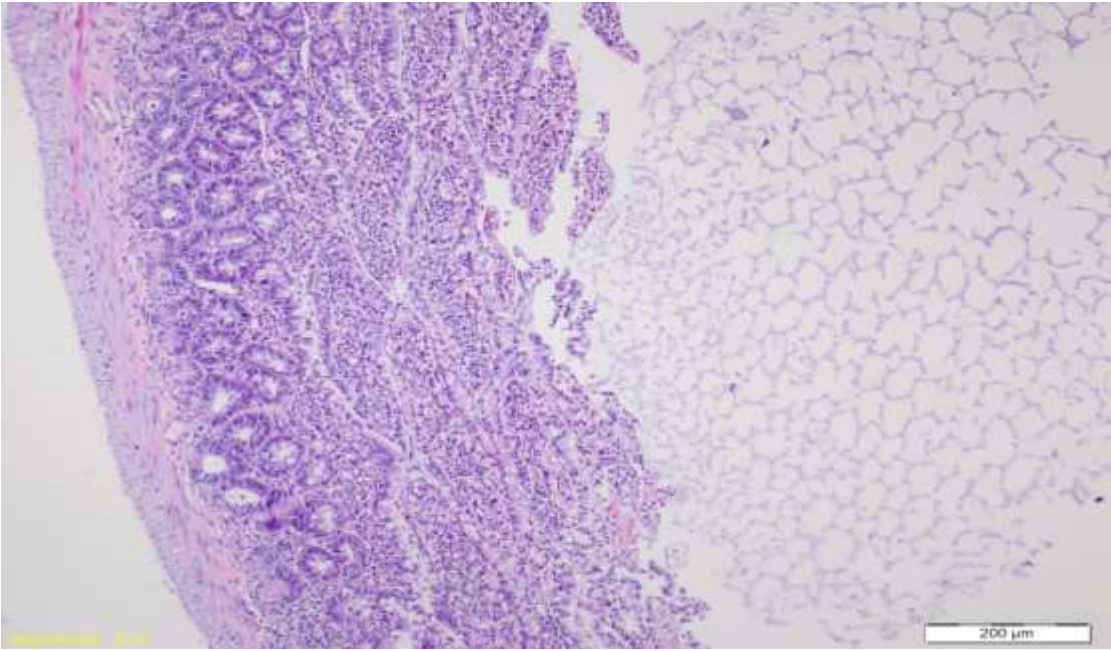
Histopatolojik incelemede mikroskopik hasarlama skorlamasına göre genel olarak tedavi gruplarının skorlarının I/R gruplarının skorlarına göre daha düşük olduğu görüldü.



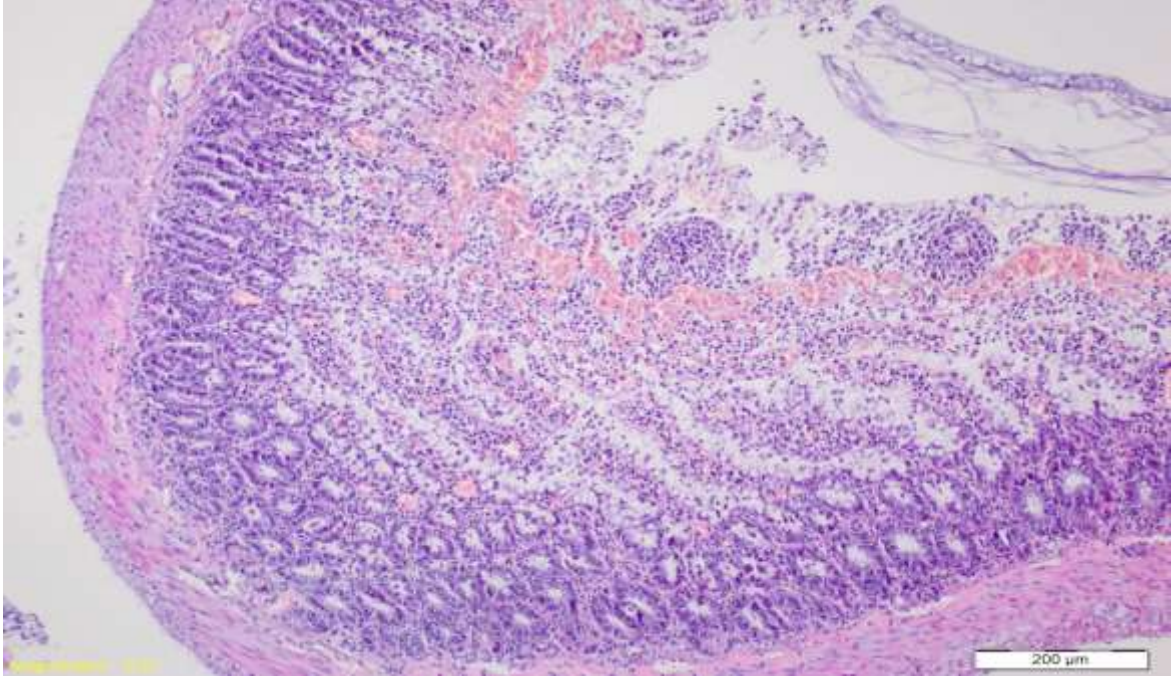
**Resim 4:** Level 0: Normal Histoloji



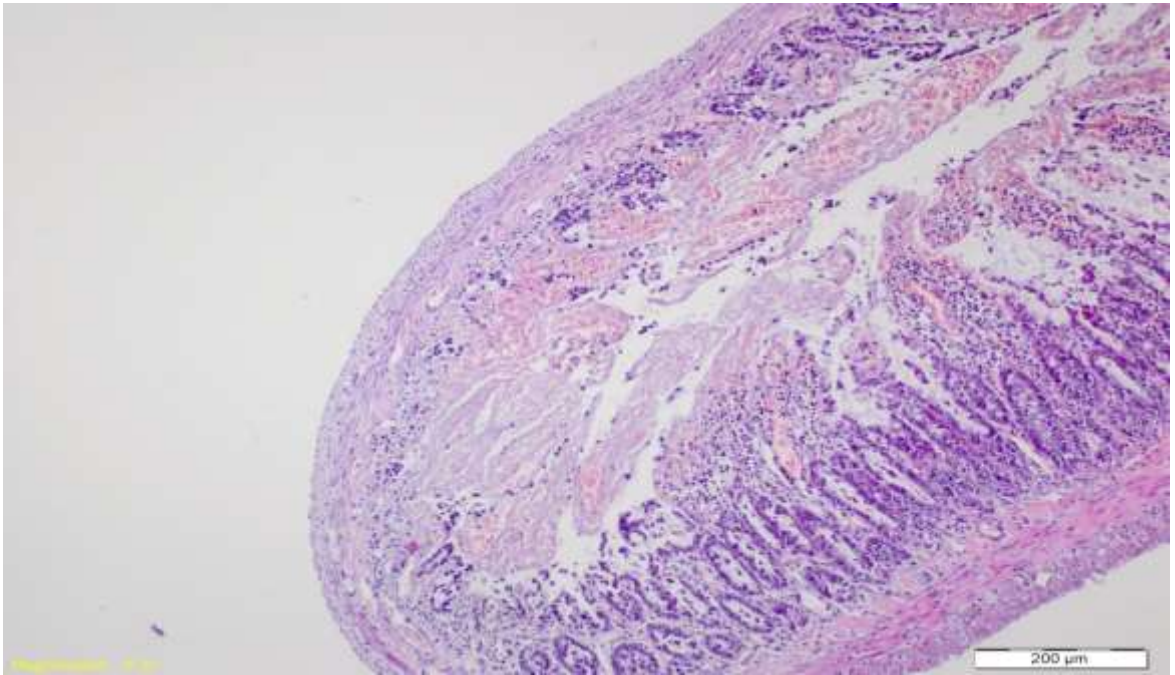
**Resim 5:** Level 1: İnflamatuvar süreç ve hücresel yıkım olmamasına rağmen sub-epitelyal ayrılma



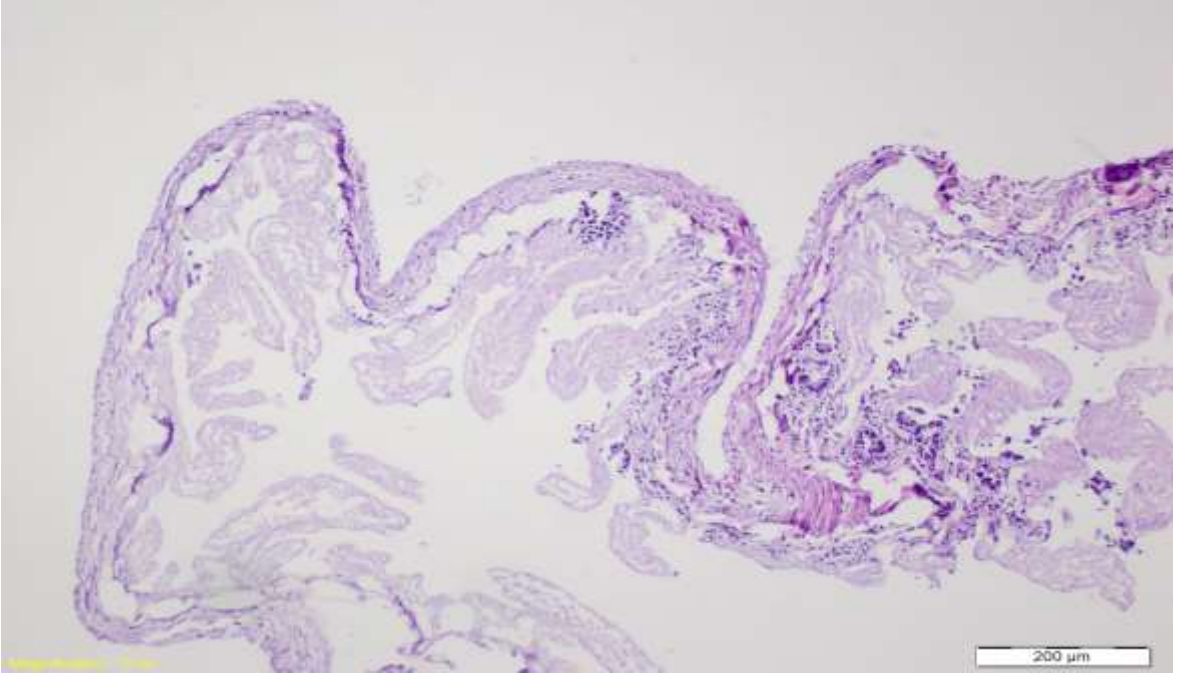
**Resim 6:** Level 2: Hücresel yıkımın varlığı, sub-epitelyal ayrılma ve villüs aralıklarında artış



**Resim 7:** Level 3: Dilate kapillerle, inflamasyonun varlığı ve serbest villüs bölümlerinin tahribatı



**Resim 8:** Level 4: Yapısal villüslerin tahribatı, inflame hücrelerin ve nekrotik materyallerin varlığı, glandüler ülserasyon ve hemorajik



**Resim 9:** Level 6: Kript katmanı yaralanması

Dokularda immunohistokimyasal olarak apoptozu göstermek için CASPASE 3 boylarıyla boyanmıştır. Teknik yetersizlik nedeniyle sonuca ulaşamamıştır.

Doku örneklerinin ve biyokimyasal değerlerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

**Tablo 1.** Doku örneklerinin ve biyokimyasal değerlerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları

	<b>Grup A SHAM</b>	<b>Grup B I/R</b>	<b>Grup C Pre30SF</b>	<b>Grup D Pre30PAM</b>	<b>Grup E Post45SF</b>	<b>Grup F Post45PAM</b>
<b>IL3</b>	2,48±0,39	2,66±0,99	1,68±0,09	2,00±0,47	1,82±0,22	2,67±1,06
<b>IL6</b>	606,80±1307,78	224,95±128,12	145,55±85,11	211,09±62,7	221,17±125,73	125,39±39,55
<b>IL10</b>	170,08±80,96	579,36±573,28	639,16±305,1	288,95±141,4	909,79±823,88	627,09±300,84
<b>MDA</b>	21,98±3,75	20,99±1,25	21,86±1,51	19,88±2,85	21,22±0,99	20,34±1,65
<b>KATALAZ</b>	4,26±0,81	4,62±0,59	4,29±0,56	4,48±0,33	4,47±0,42	4,81±1,26
<b>NİTRAT</b>	1,34±0,30	1,41±0,38	1,40±0,27	1,24±0,20	1,14±0,21	2,06±2,06
<b>SOD</b>	23±0,27	10±0,09	10±0,04	9±0,02	7±0,06	11±0,09
<b>MPO</b>	3,40±6,83	10,96±12,55	2,34±3,31	9,73±13,73	9,23±7,80	12,50±9,08
<b>G-SHPX</b>	39,56±5,73	44,87±4,60	38,54±3,21	41,97±6,0	46,43±8,66	46,94±6,01

**Tablo 2:** Histopatolojik skorlama ve evreleri

	<b>Level 0</b>	<b>Level 1</b>	<b>Level 2</b>	<b>Level 3</b>	<b>Level 4</b>	<b>Level 6</b>
<b>Grup A SHAM</b>	4	2				
<b>Grup B I/R</b>			2	2	1	1
<b>Grup C Pre30SF</b>			3	2	1	
<b>Grup D Pre30PAM</b>	1		3	1	1	
<b>Grup E Post45SF</b>		1	2	2		1
<b>Grup F Post45PAM</b>			3	1	1	1

## 5. TARTIŞMA

İntestinal iskemi ölümcül bir hastalıktır. Erken tanı ve tedavi protokollerinin uygulandığı serilerde bile %50'ye ulaşan mortalite oranı bulunmaktadır(1-6). İskemi, hücreyi yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirmek için ihtiyaç duyduğu enerjiden yoksun bırakarak ölümüne yol açar. Reperfüzyon hasarı ise iskemik bağırsaktan salınan serbest radikallerin, endotelial faktörlerin ve nötrofillerin eşlik ettiği karmaşık bir mekanizmayla oluşmaktadır (1-3;5;6). Reperfüzyon esnasında daha önce iskemik olan dokuya çok miktarda oksijen ulaşır ve çeşitli reaksiyonlarla serbest radikallerin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, NO<sup>-</sup>) oluştuğu gösterilmiştir(7;8). Serbest oksijen radikalleri intestinal mukozada hücre membranlarında lipid peroksidasyonu ile iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarına neden olur. İskemik dokulara tekrar kanlanmanın sağlanmasıyla ortama sitokinler de (IL-1, IL-3, IL-6, IL-10, TNF alfa, INF gamma) salınarak hem lokal hem de sistemik yanıtı yol açarak doku ve sistemleri hasara uğratmaktadır(2;9;10). İntestinal iskemiye takiben dokuda artan SOR barsak mukozasında hasara yol açmakta ve bunun sonucunda bakteriyel translokasyon gelişip lümeninde lokalize olan inflamasyon tüm sisteme yayılmaktadır(11-37-111). İskemi reperfüzyon hasarı ciddi klinik durumlara yol açtığı için halen tedavisi için birçok çalışma yapılmaktadır (4). Araştırmalarda glucagon(25), infliximab(26), eritroprotein(12), glisin(27), guercetin(11), L-carnitin(7), N asetilsitein(28) gibi maddelerin etkinliği araştırılmıştır.

İntestinal İR hasarında Ateş ve ark.(113), hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi verilen melatoninin koruyucu rolünü araştırdıkları çalışmalarında, 120 dakika reperfüzyon uygulamadan önce SMA'yı klempe edip, 45 dakika iskemi oluşturmuşlar ve barsakta, başlıca antioksidan enzimler olan katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazın aktivitelerinin, İR yapıp melatonin verilen sıçanlarda, sadece İR yapılanlara kıyasla anlamlı bir artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda, iskemi reperfüzyon yapılan sıçanlarda, hem iskemi öncesi hem de reperfüzyon öncesi melatonin uygulamasının, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesini anlamlı oranda düşürdüğünü göstermişlerdir. Etensel ve ark.(29), dekspantenolün deneysel testis iskemi reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyonunu ve testiküler hasarı hem erken dönemde hemde 60 günlük izlemde azalttığını göstermişlerdir. Çalışmalarında, sıçanlarda detorsiyon öncesi serum MDA düzeylerinin 500 mg/kg dekspantenol uygulanan grupta, sham, torsiyon + detorsiyon, torsiyon + serum fizyolojik + detorsiyon ve 250 mg/kg dekspantenol uygulanan gruplara göre anlamlı

olarak düşük bulmuşlardır. Ceylan ve ark (32) ise kostik özofagus yanıklarında dexpanthenol ve Y-27632 maddelerin striktur üzerinde etkilerini araştırdıkları çalışmada Dexpanthenolle tedavi edilen gruplarda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük olduğu görülmüştür.. Biz de çalışmamızda sıçan SMA'sını klempe edip 90 dakika boyunca iskemi ve hemen ardından da 60 dakikalık reperfüzyon uyguladık ve reperfüzyon öncesi ve iskemi öncesi dekspantenol uygulamasının antioksidan enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyonu ve inflamasyon üzerine olan etkilerini araştırarak önleyici ve koruyucu etkisini ortaya koymaya amaçladık. Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak sıçan barsak dokusunda MDA seviyelerini ölçtük. İ/R grubu ile iskemi öncesi dekspantenol verilen ve iskemi anında dekspantenol verilen grup arasında rakamsal olarak fark bulunsa da istatistiksel anlamlı bir fark elde edilmemiştir. İskemi öncesinde SF verilen ve iskemi öncesinde dekspantenol verilen grup ile karşılaştırıldığında MDA düzeyleri rakamsal olarak düşük bulunmuştur fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yine iskemi anında SF verilen grupla, iskemi anında dekspantenol verilen grup arasında MDA düzeyleri açısından rakamsal olarak düşük bulunmuştur ama istatistiksel fark elde edilememiştir. Bizim de elde ettiğimiz veriler ışığında dexpanthenolün I/R hasarını önleyici etkilerinden biri olan lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisini fosfolipid yapımını artırarak yapmaktadır. Bunun yanında birçok enzim yapısına katılan koenzim A sentezini hızlandırarak kolesterol yapımını artırır ve doku iyileşmesini hızlandırarak önleyici yönde etki yaptığını gösteren çalışmalar mevcuttur.(40-42)

SOD, dismutasyon reaksiyonunda etkili süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren metalloprotein yapısında enzimdir. Lipit peroksidasyonunu inhibe ederek zararlı son ürünlerin oluşumunu engellemeye çalışır(114). Ateş ve ark.(113), intestinal İR hasarında melatonin vererek sıçanlarda, oksijen radikallerine karşı savunmada görev alan SOD enzim seviyesinin barsak dokusunda İR grubuna göre üç kat arttığını bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada Yıldız ve ark.(115), intestinal İR hasarı oluşturarak 10 mg/kg ve 30 mg/kg CAPE verdikleri gruplarda doku SOD aktivitesinin sham, İR ve İR yapıp çözücü etanolü verdikleri gruplara göre anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Özdemir ve ark.(116) yaptığı çalışmada nekrotizan enterokolit modelinde N-asetilsistein vererek yaptıkları çalışmada N-asetilsistein verilen grupta verilmeyen gruba göre SOD seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda, doku SOD düzeyleri açısından iskemi anında SF verilen grupla dekspantenol verilen grupla karşılaştırıldığında dekspantenol verilen grupta rakamsal olarak yüksek bulunmuştur fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bakılan diğer gruplarda

da anlamlı istatistiksel fark bulunamamıştır bunun sebebi olarak örneklem azlığı düşünülmüştür.

GSH-Px, oksidatif hasarın azaltılmasında aktif rol oynayan, lipid peroksidasyonunu önleyen ve serbest radikallerin hücre içinde detoksifikasyonunu sağlayan en önemli endojen mekanizmadır(49;52). Yıldız ve ark.(115) sıçanlar üzerinde yaptıkları intestinal İR çalışmasında, İR yapıp 10 ve 30 mg/kg CAPE verdikleri gruplarda doku GSH-Px aktivitelerinin Sham, İR ve İR + etanol verdikleri gruplara göre anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Çalışmalarındaki verilen CAPE dozlarının intestinal dokuda, endojen antioksidan enzim aktivitelerini başarılı olarak artırdığı ve lipid peroksidasyonunu önlediğini bildirmişlerdir. Barut ve ark.(117)sıçanlarda intestinal İR çalışmasında lamotrigin tedavisi verdikleri grupta, SOD ve GSH-Px seviyelerinin, İR grubuna göre yüksek seviyelerde olduğunu belirtmişlerdir. Hakan ve ark (118) sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarında dexpanthenolün etkilerinin araştırdıkları çalışmada GSH-Px düzeyi, kontrol grubuna göre İR, iskemi öncesinde 250mg dpx verilen, iskemi sonrasında 250mg dpx, iskemi sonrasında 500 mg dpx verilen gruplarda anlamlı artış göstermiştir. Altıntaş ve ark(30) ,dexpanthenolün böbrek iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada sıçanları 5 gruba ayırmışlar. Kontrol ve sham grubu dışında bir gruba iskemi öncesi dexpanthenol uygulamışlar, bir gruba reperfüzyon öncesi dexpanthenol uygulamışlar bir grubada iskeminin 30.dakikasında dexpanthenol uygulamışlardır. Bu çalışmada iskemi anında dexpanthenol verilen grupta GSH-Px düzeylerinde I/R grubuna göre en düşük düzeyin iskemi anında dexpanthenol verilen grupta olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda GSH-Px seviyeleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı.

Katalaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i parçalayarak hücrelerde membran tahribatını engelleyen böylece SOR'nin doku hasarı oluşturmamasını inhibe eden endojen antioksidan bir enzimdir(58;59) I/R hasarında lipid peroksidasyonu sonucu oluşabilen zararlı ürünlere karşı membran hasarını önlemede etkin bir rolü olduğu düşünülmektedir. İskemi ve inflamasyon sonrasında doku bütünlüğünün hasar görmesi ile önce lokalize alanda, sonra da sistemik olarak işlevsellik kazanır. Hakan ve ark(119) yaptıkları sıçanlarda intestinal iskemi reperfüzyonunda dexpantheolün etkilerini araştırdıkları çalışmada İ/R grubunda CAT düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. İlaç uygulanan gruplardan iskemi sonrasında 500 mg dexpanthenol verilen gruplarda CAT aktiviteleri, İ/R grubuna göre rakamsal olarak azalmış, bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi. Biz bu bilgiler ışığında doku

hasarını ve tedaviye yanıtı değerlendirmek amacıyla çalışmamızda dokularda CAT değeri ölçümü yapıp gruplar arasında karşılaştırdık. Yapılan karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında herhangi bir anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Nitrik oksit makrofajlar, hepatositler, nötrofiller ve endotel hücreleri tarafından sentezlenir. Serbest radikal tutucu olarak kabul edilse de uygun ortamlarda süperoksit ile birleşerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti meydana getirir. NO akut inflamatuvar süreçte hem koruyucu hem de hasar arttırıcı bir molekül olarak değerlendirilebilir(69). Yarılanma ömrü çok kısadır. pH'ın düşük olduğu durumlarda durağan değildir. I/R hasarı sonrasında süperoksit dengesinde süperoksit yönünde kayma olup önce vasküler hasar sonrasında da doku hasarı olduğu bildirilmiştir(105). Bizim çalışmamızda NO değerlerinin karşılaştırılmasında anlamlı değerlere ulaşılamamıştır. Dekspantenolün koruyucu ve tedavi edici etkisi açısından anlamlı bir bulgu tespit edilmemiştir.

MPO nötrofillerden salgılanan bir enzim olup hipoklorik asit oluşumunu katalizler ve böylece bakterisidal bir etkiye sahiptir. İskemi esnasında ortamda bulunan MPO düzeyi 5-7 kat artarken reperfüzyon esnasında 18 kata kadar çıkabilmektedir. Bu nedenle ortamda bulunan nötrofil sekestrasyonunun sayısal bir göstergesi olarak kabul edilebilir(2;59). Koga ve ark. (120) yaptıkları çalışmada sıçanlarda 60 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon yapmışlar ve bu süre sonunda serum MPO değerlerinde yükselme saptamışlardır. Bizim çalışmamızda MPO değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Fakat bu saptanan farklılıklar dexpanenol tedavisinin planlaması açısından herhangi anlamlı bir bilgi sağlamamıştır.

Sitokinler glikoprotein yapısındadırlar. İnflamasyonda hedef hücrenin fonksiyonunu değiştirirler ve tek başına hareket eden makrofaj ve intestinal epitel gibi hücrelerden salınırlar. İnflamasyon alanında gereğinden fazla bulunurlar(48;121). IL-10 T-Helper tip 2 sitokini olup IL-6 gibi pro inflamatuvar sitokin üretimi ve humoral yanıtı baskılamakta ve enfeksiyon hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. IL-10 üretim düzeyleri inflamatuvar ve humoral yanıt arasında dengeyi kontrol ederek immün düzenlemede kritiktir (122;123)Sheng ve ark.(124) yaptıkları çalışmada sıçanlarda NEK te hidrojen zengin salinin protektif etkisini gözlemlemişlerdir. IL-6 düzeylerinde normal salin verilen grupta hidrojen zengin salin verilen gruptakilerin IL-6 düzeylerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada IL-10 düzeylerinde de hidrojen zengin salin grubunda daha düşük olduğu görülmüştür. Mori ve ark.(125) yaptıkları çalışmada sıçanlarda I/R hasarı yaratarak eritropoietin ve

türevlerinin iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkilerine bakılmıştır. Eritropoietin ve türevleri ile tedavi ilen sıçanlarda IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük buldukları gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise iskemi sonrası dekspantenol verilen gruplarda IL-6 düzeylerinde hem istatistiksel hemde rakamsal olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. IL-10 düzeylerini değerlendirecek olursak iskemi öncesinde ve iskemi sonrasında dekspantenol uygulamalarında IL-10 düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Bu veriler değerlendirildiğinde, iskemik dokuda artan SOR hasarını azaltmada dekspantenolün antiinflamatuvar etkinliği desteklemektedir. Bu etkisini de nötrofillerden salınan myeloperoksidaz enzim aktivitesini azaltıp PMNL göçünü engelleyerek yapmaktadır. Aynı zamanda lipid peroksidasyonu engelleyici etkisi sayesinde kemotaktik faktörlerin salınımını, lökotrienlerin aktivasyonu da engellenmektedir.(41;43;44)

İskemi reperfüzyon hasarı sonrası bağırsaklarda oluşan histolojik yaralanmanın derecelendirilmesi amacıyla biz çalışmamızda daha güncel olan Park/Chiu skorlamasını kullanmayı tercih ettik. Park/Chiu skorlaması geriye dönük yapılan çalışmalarda ratlarda iskemi reperfüzyon hasarının histopatolojik incelenm esinde hasarlanmayı ayrıntılı gösteren ve oldukça iyi değerlendiren eden kullanımı da kolay olan en uygun skorlama olarak gösterilmiş (112) Park/Chiu skorlaması Chiu skorlamasına ilaveten 3 yeni derece tanımlamıştır. Kript katmanı yaralanması, transmural enfarktüs ,transmukozal enfarktüs eklenmiştir.Çalışmamızda mevcut olgu sayısındaki yetersizlikten dolayı anlamlı bir fark elde edilememiştir.

Literatürde pantothenic asidin deneysel olarak gama radyasyonun dokularda zararlı etkilerini azalttığı, ultraviole ile indüklenen apoptoza karşı hücreleri koruduğu ve ayrıca tümör hücrelerindeki lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir(11;41;43). Rat testisinde testisin saat yönünün tersine 1080 derece döndürerek 4 saat bekledikleri bir modelde dexpanthenolün lipid peroksidasyonunu azaltarak serum MDA düzeylerini düşürdüğünü ve antinflamatuvar etkinliğini gösterdiğini saptamışlardır. Bu bulgularını histolojik olarak da desteklemişlerdir.(29) Rat ösefagusuna 90 saniye sodyumhidroksit uygulayarak yapılan deneysel yanık modelinde intraperitoneal olarak verilen dexpanthenolün lipid peroksidasyonunu önleyerek ve koenzim A yapısına katılarak kolestrol yapımını artırdığı bunun sonucunda doku iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada dexpanthenolün hidroksiprolen yapımını azaltarak ösefagusta striktür oluşumunu azalttığı gösterilmiş ve ösefagusta striktür oluşumunu azaltabileceğini düşünülmüştür.(32)Rat ince bağırsak I/R modelinde, SMA 45 dakika klemplenip 120 dakika reperfüzyon yapılan ve

iskemi anında dexpanthenol verilen gruplarda lipid peroksidasyonunu azaltarak ve nötrofillerden salınan myeloperoksidaz enzimini azalttıp bu sayede de IR hasarını azalttığı saptanmıştır.(118) Rat böbrek IR deneysel modellerinde 1 saat iskemi 23 saat reperfüzyon sağlanan bir modelde, iskemi öncesinde iskemi esnasında ve reperfüzyon esnasında verilen dexpanthenolün etkinliği karşılaştırıldığında dexpanthenolün lipid peroksidasyonunu azalttığı bunun yanında hücre içi ATP düzeylerini artırıp buna paralel olarak glutasyon düzeylerini de artırarak SOR hasarını engellediği öne sürülmüştür. Aynı çalışmada dexpanthenolün etkinliğinin en fazla olduğu grubun reperfüzyon esnasında verilen hayvanlar olduğu gösterilmiştir.(30) İntestinal iskemi – reperfüzyon hasarı ve bunun önlenmesi için çalışmalar halen devam etmektedir. Dexpanthenol de hem kliniğimizde hem de dünyada iskemi - reperfüzyon hasarını önlemek için çeşitli dokularda araştırılmaktadır. Karadağ ve ark (126) dexpanthenolü hipoksik necrotizan enterokolit modelinde dexpanthenolü hipoksi anında kullanmışlar. Bu çalışmada hem histolojik hem de biyokimyasal olarak dexpanthenolle tedavi edilen grupta I/R hasarını azalttığı yönde veriler mevcuttur. Aynı çalışmada dexpanthenolün SOR hasarını azaltıcı etkisini lipid peroksidasyonunu azaltarak, nötrofillerden salınan MPO enzim salınımı engelleyerek ve glutasyon düzeylerini artırarak yaptığı düşünülmüştür. Bizim iskemi reperfüzyon deneysel modelimizde de iskemi öncesi 500 mg/kg dozda i.p yolla verilen dexpanthenolün ve iskemi sonradında öncesi 500 mg/kg dozda i.p yolla verilen dexpanthenolün MDA ve IL 10 düzeylerinde sf verilen gruplara göre düşük olduğu saptanmıştır. SOD ve IL 6 düzeylerinde ise reperfüzyon sonrasında dexpanthenol verilen grupta sf verilen gruplara göre düşük bulunmuştur. Altıntaş ve ark rat böbrek iskemi reperfüzyon modelinde verdikleri iskemi öncesi verilen dexpanthenolün etkinliğinin reperfüzyon esnasında verilene göre daha düşük olduğu saptamıştır. Bu da bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Özellikle reperfüzyon esnasında verilen dexpanthenolün lipid peroksidasyonunu azaltıcı, nötrofillerde salınan MPO enziminin salınımının engellediği bu sayede PMNL göçünün azaldığı literatürdeki diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da desteklenmiştir.

## 6. SONUÇ

İnce bağırsak iskemi – reperfüzyon hasarının koruyucu önlemleri etyolojinin çok çeşitli nedenlere bağlı olması nedeniyle halen çözülememiş çok önemli bir sorundur. Bu nedenle, patofizyolojisini tam olarak açıklayabilmek ve yeni tedavi metotları geliştirebilmek için yoğun çalışmalar sürmektedir. Özellikle yenidoğan yoğun bakım pratiğinde ince bağırsak iskemi reperfüzyon hasarının sonucu olan necrotizan enterokolit yenidoğancılar ve çocuk cerrahları için ciddi bir hastalık olma özelliğini korumaktadır.

Uygulanan çeşitli I/R modellerinde rat testis, ösefagus, ince bağırsak, böbrek dokularında dexpanthenolün SOR karşı önleyici etkileri gösterilmiştir. Bizde mezenter arter iskemi reperfüzyon hasarı yaparak uyguladığımız modelde iskemi öncesinde ve iskemi sonrasında kullanılan dexpanthenolün MDA ve IL düzeylerinde hasarı azaltıcı yönde olumlu etkileri olduğunu, aynı zamanda da SOD gibi SOR tahribatını azaltıcı bir enzim düzeyinde artış olduğunu sayısal olarak gösterdik. Fakat sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı olarak fark bulunamamıştır. Bunun nedeni olarak olgu sayımızdaki yetersizlik ve çalışmamızdaki kısıtlılık olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda anlamlı çıkan sonuçlarla dexpanthenolün iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkisi tam olarak gösterilemese de koruyucu, tedavi edici etkisi bizim çalışmamızda olduğu gibi literatürde değişik modellerde gösterilmiştir. Dexpanthenolün önleyici etkisi açısından literatürdeki rat böbrek iskemi reperfüzyon hasarı deneysel modelinden sonra intestinal iskemi reperfüzyon deneysel modelinde SOR hasarından önleyici etkisi ilk defa tarafımızdan araştırılmıştır. Bu deneysel modelde ortaya çıkan sonuçların anlamlı biyokimyasal verilerle desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara bir başlangıç noktası olacağını düşünmekteyiz. FDA onayı olan ucuz, hızlı ulaşılabilir, iv formu bulunan bu ilacın insanlarda özellikle iskemik hasar öncesinde kullanımıyla ilgili geniş serilerde farklı modellerde çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. ÖZET

### **Deneysel İnce Barsak İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Dexpanthenol'ün Koruyucu Etkisi**

**AMAÇ:** Bu çalışmanın amacı ratlarda yapılacak ince barsak iskemisi öncesi ve iskemi sırasında uygulanan dexpanthenolün iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerindeki koruyucu etkisini araştırılmasıdır.

**YÖNTEM:** 36 adet genç sağlıklı sıçan (200-250 gr), randomize olarak altı gruba ayrılacak,

Grup I: Sham

Grup II: iskemi-reperfüzyon

Grup III: iskemiden 30. Dakika önce IP SF verilen sonrasında 90 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon yapılan

Grup IV: iskemiden 30. Dakika önce IP 500 mg/kg dekspantenol verilen sonrasında 90 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon yapılan

Grup V: 90 dakika iskemi işleminin 45. Dakikasında IP SF verilen, iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon yapılan grup

Grup VI: 90 dakika iskemi işleminin 45. Dakikasında IP 500 mg/kg dekspantenol verilen, iskemi sonrasında 60 dakika reperfüzyon yapılan grup

Tüm sıçanlar anestezi altında uyutularak superior mezenterik arter atravmatik mikrovasküler klemple kapatıldı ve iskemi oluşturuldu, ileum örnekleri alındı ince barsak hasarı Parks/Chius skorlamasına göre mukoza hasarı, villus kaybı, nekroz ve inflamasyon derecelendirilmesi yapıldı..İmmunohistokimyasal olarak aktive caspase -3 boylarıyla apopitoz bakılması planlandı,teknik nedenlerle çalışılmadı.

Alınan ince barsak örneklerinde, doku malonildialdehit (MDA) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), nitrik oksit (NO), myeloperoksidaz (MPO), redükte glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) aktiviteleri ve kan interlökin düzeylerine bakıldı.

Tüm veriler SPSS istatistik programı yardımı ile değerlendirildi.

**BULGULAR:** Uygulanan iskemi sırasında ve verilen tedavi yöntemleri sonrasında alınan örneklerde MPO kons., IL-3 ve IL-10 düzeyleri açısından tüm gruplar arasında değerlendirildiğinde en az bir rat grubu diğerlerinden anlamlı olarak farklıydı. (p<0,05) Diğer

bakılan biyokimyasal değerlerde ise tüm gruplar arasında değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) fakat, ikili gruplar incelendiğinde bazı gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. ( $p<0,05$ )

Histopatolojik incelemede ise mikroskopik hasarlama skorlamasına göre genel olarak tedavi gruplarının skorlarının I/R gruplarının skorlarına göre daha düşük olduğu görüldü.

**SONUÇ:** Uygulanan çeşitli I/R modellerinde rat testis, ösefagus, ince bağırsak, böbrek dokularında SOR karşı dexpanthenolün koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bizde mezenter arter iskemi reperfüzyon hasarı yaparak uyguladığımız modelde iskemi öncesinde ve iskemi sonrasında kullanılan dexpanthenolün MDA ve IL düzeylerinde hasarı azaltıcı yönde olumlu etkileri olduğunu, aynı zamanda da SOD gibi SOR tahribatını azaltıcı bir enzim düzeyinde artış olduğunu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda intestinal iskemi reperfüzyon hasarından dekspantenolün koruyucu etkisi açısından ilk defa kullanılması ve ortaya çıkan sonuçların biyokimyasal verilerle desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara yol göstereceğini düşünmekteyiz.

**ANAHTAR KELİMELER:** Dekspantenol, deneysel iskemi, reperfüzyon, ince barsak, interlökin, nekrotizan enterokolit

**İLETİŞİM ADRESİ:** Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahi Anabilim dalı AYDIN

## 8. İNGİLİZCE ÖZET

The Protective Effect of Dexpanthenol on Experimental Ischemia Reperfusion Injury of Small Intestine

**PURPOSE:** Purpose of this study is to investigate the protective effect of administration of dexpanthenole before and after creating ischemia and reperfusion injury in small intestine in rats.

**METHODS:** 36 young and healthy rats (200-250 gr.) will be randomly divided into 6 groups.

Group I: Sham

Group II: Ischemia-reperfusion

Group III: Given saline 30 minutes before ischemia then reperfusion for 60 minutes after 45 minutes of ischemia

Group IV: Given 500 mg/kg of dexpanthenol 30 minutes before ischemia and then reperfusion for 60 minutes after 45 minutes of ischemia

Group V: Given saline on 15th minute of 45 minutes of ischemia and then 60 minutes of reperfusion after ischemia

Group VI: Given 500 mg/kg of dexpanthenol on 15th minute of 45 minutes of ischemia and then 60 minutes of reperfusion after ischemia

All rats will be slept under anesthesia and their superior mesenteric arteries will be clamped using atraumatic microvascular clamp and thus ischemia will be created. Ileum specimens will be obtained and mucosal injury of small intestine according to Chius Score, loss of villi, grading of necrosis and inflammation and apoptosis using active caspase-3 will be investigated.

Tissue malonyldialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), nitric oxide (NO), myeloperoxidase (MPO), reduced glutathione (GSH), glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GSHPx) activities and levels of blood interleukines has been also studied in similar small intestine specimens.

All data will be evaluated using SPSS.

**FINDINGS:** At least one group of rats was significantly different than others for MPO, IL-3 and IL-10 levels in specimens which were obtained after ischemia and therapy methods ( $p < 0,05$ ). There was no significant difference between groups in remainder of

biochemical tests ( $p>0,05$ ) but there was significant difference between some groups when considered in pairs ( $p<0,05$ ).

It has been established that scores of I/R groups were lower than therapy groups according to microscopic injury scoring in histopathologic examinations.

**CONCLUSION:** It has been shown the protective effects of dexpanthenole against SOR in rat's testicle, esophagus, small intestine and kidney in various I/R models. In our experimental ischemia reperfusion injury model of superior mesenteric artery, it has been shown that dexpanthenole which has been used before and after ischemia has protective effects correlated with MDA and IL levels and also leads to an increase in enzyme levels like SOD decreasing SOR injury. We think that administration of dexpanthenole for the first time for protection from ischemia reperfusion injury and correlation with biochemical data is an important thing and we also think this may lead to further experiments.

**KEYWORDS:** Dexpanthenole, experimental ischemia, reperfusion, small intestine, interleukin, necrotizing enterocolitis

**ADDRESS:** Adnan Menderes University School of Medicine Pediatric Surgery  
Department AYDIN

## KAYNAKLAR

1. Boley SJ, Brandt LJ, Sammartano RJ. History of mesenteric ischemia. The evolution of a diagnosis and management. *Surg.Clin.North Am.* 1997;77(2)275-288.
2. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br.J.Surg.* 1994;81(5)637-647.
3. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, et al. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig.Dis.Sci.* 2004;49(9)1359-1377.
4. Rock P, Yao Z. Ischemia reperfusion injury, preconditioning and critical illness. *Curr.Opin.Anaesthesiol.* 2002;15(2)139-146.
5. Göksel Şener, Berrak Ç.Yeğen. İskemi Reperfuzyon Hasarı. 2009.

Ref Type: Generic

6. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J.Pathol.* 2000;190(3)255-266.
7. Yuan Y, Guo H, Zhang Y, et al. Protective effects of L-carnitine on intestinal ischemia/reperfusion injury in a rat model. *J.Clin.Med.Res.* 2011;3(2)78-84.
8. Cui K, Luo X, Xu K, et al. Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* 2004;28(5)771-799.
9. Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand.Suppl* 1986;54847-63.
10. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery* 1983;94(3)415-422.
11. Mojzis J, Hviscova K, Germanova D, et al. Protective effect of quercetin on ischemia/reperfusion-induced gastric mucosal injury in rats. *Physiol Res.* 2001;50(5)501-506.
12. Guneli E, Cavdar Z, Islekel H, et al. Erythropoietin protects the intestine against ischemia/ reperfusion injury in rats. *Mol.Med.* 2007;13(9-10)509-517.
13. Teke Z, Kabay B, Aytekin FO, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate prevents 60 minutes of warm mesenteric ischemia/reperfusion injury in rats. *Am.J.Surg.* 2007;194(2)255-262.

14. Grotz MR, Ding J, Guo W, et al. Comparison of plasma cytokine levels in rats subjected to superior mesenteric artery occlusion or hemorrhagic shock. *Shock* 1995;3(5)362-368.
15. Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury: ROS within and without. *Circ.Res.* 2000;86(2)117-118.
16. D'Alessandro A, Moore HB, Moore EE, et al. Early hemorrhage triggers metabolic responses that build up during prolonged shock 3. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* 2015;ajpregu.
17. Foglia RP. Necrotizing enterocolitis. *Curr.Probl.Surg.* 1995;32(9)757-823.
18. Kosloske AM, Musemeche CA. Necrotizing enterocolitis of the neonate. *Clin.Perinatol.* 1989;16(1)97-111.
19. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet* 2006;368(9543)1271-1283.
20. Rowe MI, Reblock KK, Kurkchubasche AG, et al. Necrotizing enterocolitis in the extremely low birth weight infant. *J.Pediatr Surg.* 1994;29(8)987-990.
21. Hsueh W, Caplan MS, Tan X, et al. Necrotizing enterocolitis of the newborn: pathogenetic concepts in perspective. *Pediatr.Dev.Pathol.* 1998;1(1)2-16.
22. Badowicz B, Latawiec-Mazurkiewicz I. Necrotising enterocolitis (NEC)--methods of treatment and outcome: a comparative analysis of Scottish (Glasgow) and Polish (Western Pomerania) cases. *Eur.J.Pediatr.Surg.* 2000;10(3)177-181.
23. Ryder RW, Shelton JD, Guinan ME. Necrotizing enterocolitis: a prospective multicenter investigation. *Am.J.Epidemiol.* 1980;112(1)113-123.
24. Cikrit D, Mastandrea J, West KW, et al. Necrotizing enterocolitis: factors affecting mortality in 101 surgical cases. *Surgery* 1984;96(4)648-655.
25. Guan LL, Gong DZ, Tian N, et al. [Protective effects of glucagon-like peptide 2 on intestinal ischemia/reperfusion injury in mice]. *Zhongguo Ying.Yong.Sheng Li Xue.Za Zhi.* 2005;21(2)192-194.
26. Pergel A, Kanter M, Yucel AF, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of infliximab in a rat model of intestinal ischemia/reperfusion injury. *Toxicol.Ind.Health* 2012;28(10)923-932.
27. Iijima S, Shou J, Naama H, et al. Beneficial effect of enteral glycine in intestinal ischemia/reperfusion injury. *J.Gastrointest.Surg.* 1997;1(1)61-67.

28. Ayvaz S. "N-Asetilsisteinin intestinal iskemi-reperfüzyon hasarina etkisi (tez).," 2005). 2005.

Ref Type: Thesis/Dissertation

29. Etensel B, Ozkisacik S, Ozkara E, et al. Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury

3. *Pediatr.Surg.Int.* 2007;23(2)177-181.

30. Altintas R, Parlakpınar H, Beytur A, et al. Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats

14. *Kidney Blood Press Res.* 2012;36(1)220-230.

31. Demirci B, Demir O, Dost T, et al. Protective effect of vitamin B5 (dexpanthenol) on cardiovascular damage induced by streptozocin in rats. *Bratisl.Lek.Listy* 2014;115(4)190-196.

32. Ceylan H, Yapici S, Tutar E, et al. Protective effects of dexpanthenol and y-27632 on stricture formation in a rat model of caustic esophageal injury

37. *J.Surg.Res.* 2011;171(2)517-523.

33. Biro K, Thaci D, Ochsendorf FR, et al. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study

6. *Contact Dermatitis* 2003;49(2)80-84.

34. Ermis H, Parlakpınar H, Gulbas G, et al. Protective effect of dexpanthenol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats

7. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 2013;386(12)1103-1110.

35. Yardimci I, Karakan T, Resorlu B, et al. The effect of intraurethral dexpanthenol on healing and fibrosis in rats with experimentally induced urethral trauma

1. *Urology* 2015;85(1)274-13.

36. Ebner F, Heller A, Rippke F, et al. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am.J.Clin.Dermatol.* 2002;3(6)427-433.

37. Moiseenok AG, Komar VI, Khomich TI, et al. Pantothenic acid in maintaining thiol and immune homeostasis. *Biofactors* 2000;11(1-2)53-55.

38. Wojtczak L, Slyshenkov VS. Protection by pantothenic acid against apoptosis and cell damage by oxygen free radicals--the role of glutathione 3. *Biofactors* 2003;17(1-4)61-73.

39. Kumar P, Chhibber M, Surolia A. How pantothenol intervenes in Coenzyme-A biosynthesis of Mycobacterium tuberculosis  
4. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 2007;361(4)903-909.
40. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett.* 2004;569(1-3)169-172.
41. Slyshenkov VS, Rakowska M, Moiseenok AG, et al. Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation 13. *Free Radic.Biol.Med.* 1995;19(6)767-772.
42. Slyshenkov VS, Rakowska M, Wojtczak L. Protective effect of pantothenic acid and related compounds against permeabilization of Ehrlich ascites tumour cells by digitonin 11. *Acta Biochim.Pol.* 1996;43(2)407-410.
43. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, et al. Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation 9. *Free Radic.Biol.Med.* 1998;24(6)894-899.
44. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, et al. Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic.Biol.Med.* 2001;30(11)1303-1310.
45. Lee JW, Davis JM. Future applications of antioxidants in premature infants. *Curr.Opin.Pediatr* 2011;23(2)161-166.
46. Loftus EV, Jr., Tremaine WJ, Nelson RA, et al. Dexpanthenol enemas in ulcerative colitis: a pilot study. *Mayo Clin.Proc.* 1997;72(7)616-620.
47. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J.Lipid Res.* 1998;39(8)1529-1542.
48. C.R.R.SL.Kumar V. *Temel Patoloji (Basic Pathology)*., 1995.
49. Yalçın SA. *Antioksidanlar. Klinik Geli.im.* 1998. Ref Type: Generic
50. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, et al. Multiple-organ-failure syndrome. *Arch.Surg.* 1986;121(2)196-208.
51. Sasaki M, Joh T. Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. *J.Clin.Biochem.Nutr.* 2007;40(1)1-12.
52. Aruoma OI, Kaur H, Halliwell B. Oxygen free radicals and human diseases  
111. *J.R.Soc.Health* 1991;111(5)172-177.

53. Van Ye TM, Roza AM, Pieper GM, et al. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage. *J.Surg.Res.* 1993;55(5)553-558.
54. Wang NP, Bufkin BL, Nakamura M, et al. Ischemic preconditioning reduces neutrophil accumulation and myocardial apoptosis. *Ann.Thorac.Surg.* 1999;67(6)1689-1695.
55. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med.* 1993;21(9)1376-1386.
56. Savas C, Ozogul C, Karaoz E, et al. Splenectomy reduces remote organ damage after intestinal ischaemia-reperfusion injury 29. *Acta Chir Belg.* 2003;103(3)315-320.
57. Vollmar B, Menger MD. Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbecks Arch.Surg.* 2011;396(1)13-29.
58. Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, et al. Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. *Acta Physiol Scand.* 1985;124(4)581-589.
59. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin.Interv.Aging* 2007;2(2)219-236.
60. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J.Lab Clin.Med.* 1992;119(6)598-620.
61. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu.Rev.Nutr.* 1996;1633-50.
62. Devasagayam TP, Tilak JC, Bloor KK, et al. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J.Assoc.Physicians India* 2004;52794-804.
63. Kerksick CM, Zuhl M. Mechanisms of Oxidative Damage and Their Impact on Contracting Muscle 1. 2015.
64. Slavikova H, Lojek A, Hamar J, et al. Total antioxidant capacity of serum increased in early but not late period after intestinal ischemia in rats  
4. *Free Radic.Biol.Med.* 1998;25(1)9-18.
65. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur.J.Pharmacol.* 2001;426(1-2)1-10.
66. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol.Int.* 1999;49(2)91-102.

67. Kuyumcu A, Duzgun AP, Ozmen MM, et al. [The role of nitric oxide in trauma and infection]
3. Ulus.Travma.Acil.Cerrahi.Derg. 2004;10(3)149-159.
68. Predmore BL, Kondo K, Bhushan S, et al. The polysulfide diallyl trisulfide protects the ischemic myocardium by preservation of endogenous hydrogen sulfide and increasing nitric oxide bioavailability. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2012;302(11)H2410-H2418.
69. George TJ, Arnaoutakis GJ, Beaty CA, et al. Hydrogen sulfide decreases reactive oxygen in a model of lung transplantation 51. *J.Surg.Res.* 2012;178(1)494-501.
70. Baskar AA, Al Numair KS, Gabriel PM, et al. beta-sitosterol prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status and histoarchitecture in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *J.Med.Food* 2012;15(4)335-343.
71. Shah PC, Brodin RE, Amenta PS, et al. Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury. *Mech.Ageing Dev.* 1999;107(1)37-50.
72. Baykal Y. Serbest radikaller ve hücre hasari.
- Ref Type: Generic
73. Uysal M.. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidandengeyi etkileyen ko.ullar. 1998.
- Ref Type: Report
74. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 1993;90(17)7915-7922.
75. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji., 2005.
76. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-126.
77. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez dC, I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin.Biochem.* 1999;32(8)595-603.
78. Oral T. Ynsan biyokimyasy. Ankara: Palme Yayyncylyk, 2002.
79. Neher MD, Weckbach S, Huber-Lang MS, et al. New insights into the role of peroxisome proliferator-activated receptors in regulating the inflammatory response after tissue injury. *PPAR.Res.* 2012;2012:728461.
80. Goodman Gilman A RTNATP. Goodman and Gilman.s The pharmacological basis of therapeutics. 1990.

81. Budavari S (editor).The Merck .index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals., 1996.
82. Kulikov AU, Zinchenko AA. Development and validation of reversed phase high performance liquid chromatography method for determination of dexpanthenol in pharmaceutical formulations. J.Pharm.Biomed.Anal. 2007;43(3)983-988.
83. Sachs M, Asskali F, Lanaras C, et al. [The metabolism of panthenol in patients with postoperative intestinal atony]. Z.Ernahrungswiss. 1990;29(4)270-283.
84. Romitti P RNPD2, 19: 368-9. Dexpanthenol cream significantly improves mucocutaneous side effects associated with isotretinoin therapy. Pediatr Dermatol 2002; 19: 368-9 . 2002.

Ref Type: Magazine Article

85. Jessop CE, Bulleid NJ. Glutathione directly reduces an oxidoreductase in the endoplasmic reticulum of mammalian cells  
7. J.Biol.Chem. 2004;279(53)55341-55347.

86. Dimmit R.A. LR. Clinical management of necrotizing enterocolitis. 2001.

Ref Type: Generic

87. Lee JS, Polin RA. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis  
3102. Semin.Neonatol. 2003;8(6)449-459.
88. Oygür N..Yurdakök M EGe. Nekrotizan Enterokolit, 2004.
89. Santulli TV, Schullinger JN, Heird WC, et al. Acute necrotizing enterocolitis in infancy: a review of 64 cases  
5275. Pediatrics 1975;55(3)376-387.
90. Can Başaklar. Yenidoğanlarda gastrointestinal Kanama. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve ürolojik hastalıklar. 2006.
91. Touloukian RJ. Neonatal necrotizing enterocolitis: an update on etiology, diagnosis, and treatment. Surg.Clin.North Am. 1976;56(2)281-298.
92. Israel EJ, Walker WA. Host defense development in gut and related disorders. Pediatr Clin.North Am. 1988;35(1)1-15.
93. Nusrat A, Turner JR, Madara JL. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol 2000;279(5)G851-G857.

94. Hyman PE, Clarke DD, Everett SL, et al. Gastric acid secretory function in preterm infants. *J.Pediatr* 1985;106(3)467-471.
95. Rubinstein E, Mark Z, Haspel J, et al. Antibacterial activity of the pancreatic fluid. *Gastroenterology* 1985;88(4)927-932.
96. Lebenthal A, Lebenthal E. The ontogeny of the small intestinal epithelium. *JPEN J.Parenter.Enteral Nutr.* 1999;23(5 Suppl)S3-S6.
97. Grosfeld JL *OfJJFECAG. PediatricSurgery, Sixth Edition, 2006.*
98. Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, et al. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: a ten-year experience
19. *J.Pediatr* 1990;117(1 Pt 2)S6-13.
99. Cikrit D, Mastandrea J, Grosfeld JL, et al. Significance of portal vein air in necrotizing enterocolitis: analysis of 53 cases
68. *J.Pediatr Surg.* 1985;20(4)425-430.
100. Caplan MS, Miller-Catchpole R, Kaup S, et al. Bifidobacterial supplementation reduces the incidence of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat model. *Gastroenterology* 1999;117(3)577-583.
101. Garstin WI, Kenny BD, McAneaney D, et al. The role of intraluminal tension and pH in the development of necrotizing enterocolitis: an animal model. *J.Pediatr Surg.* 1987;22(3)205-207.
102. Ozbey H, Boneval C, Alkac U, et al. The effect of polycythemic hyperviscosity on ischemic bowel necrosis. *Pediatr Surg.Int.* 1996;11(8)547-549.
103. Cass DL, Wesson DE. Advances in fetal and neonatal surgery for gastrointestinal anomalies and disease. *Clin.Perinatol.* 2002;29(1)1-21.
104. Butter A, Flageole H, Laberge JM. The changing face of surgical indications for necrotizing enterocolitis
22. *J.Pediatr Surg.* 2002;37(3)496-499.
105. Pierro A, Hall N. Surgical treatments of infants with necrotizing enterocolitis. *Semin.Neonatol.* 2003;8(3)223-232.
106. Demestre X, Ginovart G, Figueras-Aloy J, et al. Peritoneal drainage as primary management in necrotizing enterocolitis: a prospective study. *J.Pediatr Surg.* 2002;37(11)1534-1539.

107. Gollin G, Abarbanell A, Baerg JE. Peritoneal drainage as definitive management of intestinal perforation in extremely low-birth-weight infants. *J.Pediatr Surg.* 2003;38(12)1814-1817.
108. Michel JL, Harper L, Alessandri JL, et al. Peritoneal needle suction for intestinal perforation in the preterm neonate  
51. *Eur.J.Pediatr Surg.* 2004;14(2)85-88.
109. Noble HG, Driessnack M. Bedside peritoneal drainage in very low birth weight infants  
1. *Am.J.Surg.* 2001;181(5)416-419.
110. Sharma R, Tepas JJ, III, Mollitt DL, et al. Surgical management of bowel perforations and outcome in very low-birth-weight infants (< or =1,200 g)  
4. *J.Pediatr Surg.* 2004;39(2)190-194.
111. Kliegman RM. Neonatal necrotizing enterocolitis: implications for an infectious disease. *Pediatr Clin.North Am.* 1979;26(2)327-344.
112. Quaedackers JS, Beuk RJ, Bennet L, et al. An evaluation of methods for grading histologic injury following ischemia/reperfusion of the small bowel. *Transplant.Proc.* 2000;32(6)1307-1310.
113. AteG B YHSZIMYG. Melatonin'in intestinal iskemi reperfüzyonda 6-fosfoglukonat dehidrogenaz aktivitesi üzerine etkisi. 2004.

Ref Type: Generic

114. Halliwell B. Superoxide, iron, vascular endothelium and reperfusion injury. *Free Radic.Res.Comm.* 1989;5(6)315-318.
115. Yildiz Y, Serter M, Ek RO, et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on intestinal ischemia-reperfusion injury  
13. *Dig.Dis.Sci.* 2009;54(4)738-744.
116. Ozdemir R, Yurttutan S, Sari FN, et al. Antioxidant effects of N-acetylcysteine in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *J.Pediatr Surg.* 2012;47(9)1652-1657.
117. Barut I, Tarhan OR, Kapucuoglu N, et al. Lamotrigine reduces intestinal I/R injury in the rat. *Shock* 2007;28(2)202-206.
118. Hakan Özkayran. Sıçanlarda Deneysel İskemi Reperfüzyon Hasarında Dexpanthenolun Etkileri . 2009.

Ref Type: Thesis/Dissertation

119. Dr.Hakan Özkayran. Sıçanlarda Deneysel Yntestynal Yskemy Reperfüzyon Hasarında Dekspantenolün Etkylery . 2009.

Ref Type: Thesis/Dissertation

120. Koga H, Hagiwara S, Mei H, et al. The vitamin E derivative, ESeroS-GS, attenuates renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J.Surg.Res.* 2012;176(1)220-225.

121. Neher MD, Weckbach S, Huber-Lang MS, et al. New insights into the role of peroxisome proliferator-activated receptors in regulating the inflammatory response after tissue injury. *PPAR.Res.* 2012;2012728461.

122. Ferrante L, Opdal SH. Sudden infant death syndrome and the genetics of inflammation 1. *Front Immunol.* 2015;663.

123. Farzaneh F, Roberts S, Mandal D, et al. The IL-10 -1082G polymorphism is associated with clearance of HPV infection

86. *BJOG.* 2006;113(8)961-964.

124. Sheng Q, Lv Z, Cai W, et al. Protective effects of hydrogen-rich saline on necrotizing enterocolitis in neonatal rats. *J.Pediatr Surg.* 2013;48(8)1697-1706.

125. Mori S, Sawada T, Okada T, et al. Erythropoietin and its derivative protect the intestine from severe ischemia/reperfusion injury in the rat. *Surgery* 2008;143(4)556-565.

126. Karadag A, Ozdemir R, Kurt A, et al. Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis

24. *J.Pediatr Surg.* 2015;50(7)1119-1124.