



T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ RAT İLEUM VE
KOLONUNDA HİDROJEN SÜLFÜRÜN MOTİLİTE ÜZERİNE
ETKİSİNİN VE OLASI ETKİ MEKANİZMALARININ İNVİTRO
ARAŞTIRILMASI**

DR. EVREN TUNCER

**DOKTORA TEZİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

SİVAS-2022

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ RAT İLEUM VE
KOLONUNDA HİDROJEN SÜLFÜRÜN MOTİLİTE ÜZERİNE
ETKİSİNİN VE OLASI ETKİ MEKANİZMALARININ İN VİTRO
ARAŞTIRILMASI**

DR. EVREN TUNCER

DOKTORA TEZİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. ŞAHİN YILDIRIM

SİVAS-2022



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18/02/2015 tarih ve 2010 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

ÖZET

DENEYSEL PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ RAT İLEUM VE KOLONUNDA HİDROJEN SÜLFÜRÜN MOTİLİTE ÜZERİNE ETKİSİNİN VE OLASI ETKİ MEKANİZMALARININ İNVİTRO ARAŞTIRILMASI

Dr. Evren TUNCER

Doktora Tezi

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şahin YILDIRIM

2022

Bu çalışmada deneysel peritonit oluşturulmuş rat ileum ve kolonunda hidrojen sülfürün (H_2S) motilite üzerine etkisinin ve olası etki mekanizmalarının in vitro araştırılması amaçlanmıştır. Deneylerde 18 adet 14-16 haftalık vücut ağırlığı 250-300 gram olan erişkin erkek Wistar-Albino ileum ve kolon stripleri kullanılmıştır. Kontrol, sham ve deney grupları olarak ayrılan sıçanlarda deney grubunda çekum sarı uçlu iğneyle 4 noktadan delinerek deneysel peritonit modeli oluşturulmuştur. İzole edilen ileum ve kolon preparatları, Krebs solüsyonu içeren organ banyosuna yerleştirilip ardından submaksimal konsantrasyonda karbakol ve elektriksel alan uyarısı aracılığıyla ön kasılma yanıtları oluşturulduktan sonra hidrojen sülfür donörleri ile (NaHS) gevşeme yanıtları alınmıştır. Tüm gruplarda konsantrasyona bağımlı olarak NaHS ile alınan gevşeme yanıtları kaydedilmiştir. Gevşeme yanıtı kolon gruplarında ileum gruplarına nazaran daha yüksek oranda gerçekleşmiştir. H_2S ile gerçekleşen gevşeme yanıtlarının NO ile olası etkileşimini gözlemlemek adına L-NAME varlığında alınan motilite yanıtları da incelenmiştir. Hem karbakol ile indüklenen hem de elektriksel alan uyarısı ile elde edilen kasılmalardan sonra alınan gevşeme yanıtları, L-NAME içeren ortamda, ileum kontrol grubu dışında genel olarak geri dönmüştür. PAG varlığında alınan inhibisyon yanıtlarında değişiklik gözlenmemiştir. Sonuç olarak hidrojen sülfür donörleri, tüm ileum ve kolon gruplarında konsantrasyon bağımlı olarak hem karbakol hem de elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan spontan mekanik yanıtta istatistiksel anlamlı

olarak azalmaya neden olmuştur. ($p<0.05$) Elde edilen bulgular NO ve hidrojen sülfür arasında güçlü bir etkileşim olduğunu ve bu 2 gazotransmitterin farklı mekanizmalar üzerinden sonuç etkiyi gerçekleştirdiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: hidrojen sülfür, ileum, kolon, deneysel peritonit, nitrik oksit, motilite, inhibisyon



ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF THE EFFECT OF HYDROGEN SULFIDE ON MOTILITY AND POTENTIAL MECHANISMS OF ACTION IN EXPERIMENTAL PERITONITIS IN RATS ILEUM AND COLON

Dr. Evren TUNCER

PhD Thesis

Department of Medical Pharmacology

Advisor: Prof. Dr. Şahin YILDIRIM

Sivas 2022

In this study, we aimed to investigate the relaxant effects of hydrogen sulfide (H₂S) on carbachol and electrical field stimulation-induced contractile responses on isolated ileum and colon strips obtained from Wistar-Albino rats in an experimental model of peritonitis. In the experiments, ileum and colon strips from a total number of 18, and 14-16 weeks old albino rats weighing 250-300 grams were used. The rats were randomly divided into 3 groups: control, sham and study group. In the study group, cecum was pierced at 4 points with a yellow-tipped needle in order to induce experimental peritonitis model. Isolated ileum and colon strips were placed in the organ bath containing Krebs solution, right after carbachol and electrical field stimulation-induced pre-contractile responses were generated with the submaximal concentrations followed by relaxation responses with donors of hydrogen sulfide (NaHS). For all of the groups, relaxation responses regarding NaHS were shown to be depending on the concentration. The relaxation response was more pronounced in colon groups in comparison with ileum groups. For observing the possible interactions between NO and hydrogen sulfide relaxing effect, motility responses had also been investigated after the exposure to L-NAME. Relaxation responses obtained after both carbachol and electrical field stimulation-induced precontractions in the presence of L-NAME were reversed except ileum control groups. No effect on inhibition responses was observed in the presence of PAG. As a result, in all ileum and colon groups, donors of hydrogen sulfide significantly reduced the spontaneous mechanical activity induced by carbachol and

electrical field stimulation in a concentration-dependent manner. ($p<0.05$) These findings suggest that there is a strong interaction between NO and hydrogen sulfide and these 2 gasotransmitters exhibit their effect through different mechanisms.

Keywords: Hydrogen sulfide, Ileum, colon, experimental peritonitis, nitric oxide, motility, inhibition



İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLolar.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
GRAFİKLER.....	xiii
1.GİRİŞ	1
1.1 Hidrojen sülfür ve Önemi	1
1.2 Amaç.....	3
1.3 Hipotez.....	4
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Periton.....	5
2.1.1. Peritonun Embriyolojisi ve Anatomisi.....	5
2.1.2.Peritonun Yapısı	6
2.1.3. Periton Boşluğunun Fizyolojisi.....	9
2.1.4. Peritoneal Lenfatik Sistem	11
2.2. Peritonit	12
2.2.1. Sınıflandırma.....	13
2.2.2. Etiyoloji ve patogenez	15
2.2.3. Mikrobiyolojisi	16
2.2.4. Klinik.....	17
2.2.5. Laboratuvar	20
2.2.6. Görüntüleme Yöntemleri	21
2.2.7. Tedavi.....	21
2.3. Gastrointestinal Motilitenin Hormonal Kontrolü	22
2.4.Hidrojen Sülfür	25
2.4.1 Hidrojen Sülfürün Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	25
2.4.2 Hidrojen Sülfürün Sentezi ve Metabolizması.....	26
2.4.3 Hidrojen Sülfür Toksisitesi.....	28
2.4.4 Hidrojen Sülfürün Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkileri	28
2.4.5 Hidrojen Sülfürün Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri	31
2.4.6 Hidrojen Sülfürün Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri.....	32
3. MATERYAL VE METOD	34
3.1 İnvitro Çalışmalar	34
3.2 Kan örneklerinin alınması ve saklanması	37
3.3 İzole Organ Banyosu Protokolü.....	38
3.4. Elektriksel Alan Uyarısı Aracılı Kasılma Yanıtları Deney Protokolü.....	38
3.5. İzole Organ Banyosunda Alınan Yanıtların Tanımlanması.....	38

3.5.1. İzole Organ Banyosunda Antagonist Olmadan Alınan Yanıtlarının Değerlendirilmesi.....	39
3.5.2. İzole Organ Banyosunda NO Bağımsız Olarak Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi.....	40
3.6. EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Tanımlanması:	41
3.6.1 EAU Aracılığıyla Antagonist Olmadan Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi	41
3.6.2 EAU Aracılığıyla NO Bağımsız Olarak Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi	41
3.7. Deneyde Kullanılan Solüsyon ve Gereçler	42
3.8 İstatistiksel Analizler ve Verilerin Sunumu.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1 L-sistein ile Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi	44
4.1.1 L-sistein ile Karbakol Kasılma Sonrası Alınan Yanıtların İncelenmesi.....	44
4.1.2. EAU etkisi altında L-Sistein ile Alınan Yanıtların İncelenmesi.....	44
4.1.4 EAU ile L-NAME etkisi altında L-Sistein ile Alınan Yanıtların İncelenmesi	45
4.2. DL-PAG ile Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi.....	46
4.2.1 DL-PAG ile Karbakol Kasılma Sonrası Alınan Yanıtların İncelenmesi	46
4.2.2. EAU etkisi altında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi.....	46
4.2.3 L-NAME varlığında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi.....	46
4.2.4 EAU ile L-NAME etkisi altında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi	47
4.3. NaHS ile Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi.....	48
4.3.1. L-NAME varlığında karbakol sonrası kontrol gruplarında NaHS ile Alınan Yanıtların İncelenmesi	48
4.3.2. L-NAME varlığında karbakol sonrası deney gruplarında NaHS ile Alınan Yanıtların İncelenmesi	49
4.3.3 L-NAME varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma yanıtları üzerine NaHS etkisinin incelenmesi.....	51
4.3.3.1 İleum Dokusunda L-NAME varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma yanıtları üzerine NaHS etkisinin incelenmesi.....	51
4.3.3.1 Kolon Dokusunda L-NAME varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma yanıtları üzerine NaHS'ün etkisinin incelenmesi	52
4.4 Kan Örneklerinin Değerlendirilmesi	53
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADRD : Alzheimer Hastalığı ve ilgili demanslar

AOAA: Aminooksiasetik asit

ASA : Asetil salisilik asid

ATP : Adenozin-3-fosfat

Ca⁺²: Kalsiyum

BK Kanalları: Ca⁺² aktive büyük Potasyum Kanalları

CASP : Colon asenden stent peritoniti

CAT: Sistein Amino Transferaz

CBS : Sistasyonin beta-sentaz

CSE : Sistasyonin gama-liyaz

DAO : AD-amino asit oksidaz

DSR: Dissimilatör Sülfat Redüksiyon (DSR)

dk : Dakika

EAU : Elektriksel alan uyarısı

NOs : Nitrik Oksit Sentetaz

eNOs: Endotelyal NOS

g : Gram

GC: Guanil Siklaz

H⁺: Hidrojen iyonu

HS⁻: Hidrojen sülfid iyonu

H₂S : Hidrojen sülfür

Hz : Hertz

I : I hücreleri

i.m : İntramusküler

K: Potasyum iyonu

KATP : ATP bağımlı potasyum kanalı

KCa : Kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalı

KCl : Potasyum klorür

Kv : Voltaj bağımlı potasyum kanalı

L-NAME : N-nitro-L-arjinin metil ester

M : Molar

ms : Milisaniye

mV : Milivolt

μM : Mikromola

Na⁺ : Sodyum iyon

NaHS : Sodyum hidrojen sülfid

NANK: Adrenerjik ve kolinerjik olmayan koşullar

NMDA : N-metil-D-aspartat

NO : Nitrik oksit

NSAİİ : Steroid yapısında olmayan anti-inflamatuar ilaçlar

PAG : D,L- proparjilglisin

s : Saniye

S⁻²: Sülfid iyonu

SKCa: Ca⁺² aktive küçük Potasyum Kanalları

SRB : Sülfat-azaltan bakteriler

STS: Sodyum Tiyo Sülfat

sAMP : Siklik Adenozin Mono Fosfat

sGMP : Siklik Guanozin Mono Fosfat

SP : Substans P

TEA : Tetraetilamonyum

TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa

TX : Tetrodotoksin

V : Volt

TABLÖLAR

Tablo 1 Peritonit Nedeni Olabilecek Mikroorganizmalar (89).....	17
Tablo 2 SOFA Skoru.....	20
Tablo 3 H ₂ S'in bağırsaktaki fizyolojik ve patolojik fonksiyonları.....	29



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Abdominal kavitenin ve peritonun embriyolojik gelişimi	7
Şekil 2 Abdominal kavitenin ve peritonun sagittal kesitte görünümü.....	8
Şekil 3 Hidrojen Sülfürün kimyasal formülü	25
Şekil 4 Memeli Hücrelerinde Hidrojen Sülfür Biyosentezi	27
Şekil 5 H ₂ S' in fibrotik hastalıklardaki mekanizması	33



GRAFİKLER

Grafik 1: Karbakol Sonrası L-Sistein/L-NAME ileum kontrol grubu yanıtı	44
Grafik 2: Karbakol Sonrası L-Sistein/L-NAME ileum deney grubu yanıtı.....	44
Grafik 3: Karbakol Sonrası L-Sistein/L-NAME kolon kontrol grubu yanıtı.....	44
Grafik 4: Karbakol Sonrası L-Sistein/L-NAME kolon deney grubu yanıtı	44
Grafik 5: EAU etkisi altında L-Sistein/L-NAME Ileum Kontrol grubu yanıtı.....	45
Grafik 6: :EAU etkisi altında L-Sistein/L-NAME Ileum Deney grubu yanıtı.....	45
Grafik 7: EAU etkisi altında L-Sistein/L-NAME Kolon Kontrol grubu yanıtı.....	45
Grafik 8: EAU etkisi altında L-Sistein/L-NAME Kolon Deney grubu yanıtı.....	45
Grafik 9: Karbakol Sonrası DL-PAG L-NAME Ileum Kontrol grubu yanıtı.....	46
Grafik 10: Karbakol Sonrası DL-PAG L-NAME Ileum Deney grubu yanıtı.....	46
Grafik 11: Karbakol Sonrası DL-PAG L-NAME Kolon Kontrol grubu yanıtı.....	46
Grafik 12: Karbakol Sonrası DL-PAG L-NAME Kolon Deney grubu yanıtı.....	46
Grafik 13: EAU etkisi altında DL-PAG L-NAME Ileum Kontrol grubu yanıtı.....	47
Grafik 14: EAU etkisi altında DL-PAG L-NAME Ileum Deney grubu yanıtı.....	47
Grafik 15: EAU etkisi altında DL-PAG L-NAME Kolon Kontrol grubu yanıtı.....	47
Grafik 16: EAU etkisi altında DL-PAG L-NAME Kolon Deney grubu yanıtı.....	47
Grafik 17. Karbakol Sonrası Ileum Kontrol grubunda L-NAME varlığında NaHS etkisi.....	48
Grafik 18. Karbakol Sonrası Kolon Kontrol grubunda L-NAME varlığında NaHS etkisi.....	48
Grafik 19. Karbakol Sonrası İleum deney grubunda L-NAME varlığında NaHS etkisi.....	49
Grafik 20: Karbakol Sonrası Kolon deney grubunda L-NAME varlığında NaHS etkisi.....	50
Grafik 21. EAU ile kasılan ileum kontrol dokusunda L-NAME mevcudiyetinde NaHS etkisi.....	51
Grafik 22. EAU ile kasılan ileum deney dokusunda L-NAME mevcudiyetinde NaHS etkisi.....	51

Grafik 23. EAU ile kasılan kolon kontrol dokusunda L-NAME mevcudiyetinde NaHS etkisi.....	52
Grafik 24. EAU ile kasılan kolon deney dokusunda L-NAME mevcudiyetinde NaHS etkisi.....	52
Grafik 25. Kan Örneklerinde Absorbans ve konsantrasyon arasındaki ilişki.....	54



1.GİRİŞ

1.1 Hidrojen sülfür ve Önemi

Hidrojen sülfürü (H_2S) meydana getiren elementler, 1777 yılında İsveç'li kimyager Carl Wilhelm Scheele tarafından tanımlanmıştır. H_2S 'in en çok bulunduğu yerler petrol, kaplıcalar, bataklıklar, kirli su ve arıtma tesisleridir. Ayrıca omurgalılarda ve omurgasızlarda, prokaryot ve bitkilerde de üretilir. Hidrojen Sülfür bulunduğu ortama ve doza bağlı olarak hem terapötik, hem toksik etki gösterebilir. Hidrojen sülfüre maruziyet gözlerde ve solunum sisteminde irritasyona neden olabilir. Ayrıca başağrısı, baş dönmesi, halsizlik, uykusuzluk, apne, koma ve konvülsiyon da hidrojen sülfür ile meydana gelebilecek diğer komplikasyonlardandır. (1) Letal etkileri olmasına rağmen insanlar dahil yaşayan canlılar için vital bir moleküldür. (2)

Hidrojen sülfür (H_2S) renksiz, çürük yumurta kokusu veren, havaya oranla 1.19 kat daha yoğun olan ve bu nedenle de zemine yakın yerlerde toplanıp etrafa yayılabilen toksik bir gazdır. (3) Toksik etkisini sitokrom oksidaz C enzim inhibisyonu ile gösterir. (4) Hidrojen Sülfür, insan dokularında endojen olarak sentez edildiğinin keşfi ile CO ve NO'ten sonra üçüncü gazotransmitter olarak literatüre geçmiştir. (5) Her 3 gaz da santral sinir sisteminde nöronal mesajcı olarak görev yapmaktadır. (6) Keşfedildiğinden beri H_2S 'in fizyoloji ve sağlık üzerinde pleiotropik etkilerinin olduğu bilinmektedir. H_2S gastrointestinal sistem, santral sinir sistemi, kardiyovasküler, solunum, renal, hepatik ve immünolojik sistem gibi birden fazla sistemde etkisini gösteren bir gazotransmitterdir. (7-13) H_2S 'in nötrofil migrasyonunu desteklediğini (14), havayolu inflamasyonunu azalttığını (15), nörit oluşmasını engellediğini (16), kalp (17) ve bağırsakları (18) kimyasal veya iskemik reperfüzyon hasarından koruduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır.

H_2S katı, sıvı ve gaz olmak üzere 3 fazda bulunur. H_2S 'in kristal bileşikler olan sodyum sülfür (Na_2S) ve sodyum hidrojen sülfür ($NaHS$) sıvı solüsyonlarda çözünebilir ve böylece çözünmüş hidrojen sülfür gazı (H_2S) ve çözünmüş hidrosülfür anyonu (HS^-) arasında bir denge oluşturulabilir. (19,20) Hidrojen sülfürün gaz hali (H_2S) ise boşluklara hızla yayılabilen kötü kokulu bir gazdır. Kontaminasyona, enerji performans

bozulmasına, toksisiteye ve korozyona neden olabilen hidrojen sülfürün verdiği hasar fizikokimyasal metodlarla ve biyolojik sikluslarla desulfurizasyon gerçekleştirilerek önlenabilir. (21)

Hidrojen sülfür oksidatif stress, ülser iyileşmesi, vasküler tonus, nöromodulasyon, kryoproteksiyon, hafıza formasyonu, hormon sekresyonu, apopitozis ve diğer vital biyolojik fonksiyonlarda rol alır. (1) Neovaskülarizasyon ve kalbin fonksiyonel görevleri ile ilgili bir dizi mekanizmayı düzenler. Nöronları korur ve Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıklara karşı etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bağırsaklarda inflamasyon, iskemi/reperfüzyon hasarı ve motilite gibi fonksiyonları düzenlemektedir. Bağırsak florası tarafından üretilen H_2S 'nin ülseratif kolit, Crohn's hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu ve kolon kanseri (22-26) gibi gastrointestinal sistem hastalıklarında rolü olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla hem fizyolojik hem de patofizyolojik etkileri mevcuttur. H_2S 'in kullanıldığı klinik alanlar inflamasyon, visseral ağrı, doku hasarına bağlı oksidatif stress, tromboz ve kanserdir. (1)

Batın duvarının iç yüzünü ve mezodermal kökenli batın içi organları saran zara periton adı verilir. Batın duvarının iç yüzünü örten paryetal, abdominal organları saran ise visseral peritondur. Paryetal ve visseral periton birbirinin kesintisiz devamı olup iki periton yaprağı arasında periton boşluğu yer alır (27). Bu boşlukta seröz bir sıvı bulunur ve abdominal organların rahatça hareket edebilmesi için sürtünmesiz bir ortam sağlar. Periton sıvısı, peritoneal seroza tarafından salgılanan, yaklaşık 75-100 ml miktarda, protein içeriği 3 g/dl olan seröz vasıfta lenf sıvısıdır. %80 diyafram tarafından emilir ve santral dolaşıma torasik lenfatikler yoluyla katılır. Büyük moleküller laküna adı verilen diyaframa komşu peritoneal mezoteldeki lenfatiklerden emilir. Barsak perforasyonu sonucu ortaya çıkan bakteri ve ürünleri, bu yolla sistemik dolaşıma geçer. Periton içine verilen terapötik ajanlar da aynı şekilde sistemik dolaşıma geçerek etki ederler (28).

Peritonit, peritonun bir kısmı ya da tamamının inflamasyonudur. Periton boşluğu normalde sterildir. Ancak herhangi bir kontaminasyon halinde inflamatuvar yanıt başlar ve peritoneal makrofajlar, mast hücreleri sitokinleri ve vazoaaktif maddeleri üretmeye

başlar. Bunlar da periton sıvısının kemotaksinler, opsoninler ve komplemanlar bakımından zenginleşmesini sağlar. Ardından biyokimyasal değişikliklerle birlikte periton ve subepitelyal bağ dokusunda masif sıvı birikimi olur. Bakteriler, lenfatikler tarafından hızlıca uzaklaştırılır ve sistemik dolaşıma geçerek sistemik savunma mekanizmaları ile karşı karşıya kalırlar. Erken inflamasyon döneminde, hasarlanan damar endotelinden plazma ve fibrin eksüdasyonu olur. Yüzey prokoagulan aktivitesi aracılığıyla peritoneal makrofajlar, fibrin birikimini arttırıp peritoneal yüzeye hücre agregasyonu ve adherensini sağlarlar. Enfeksiyon ilerledikçe olay periferik doğru ilerler ve makrofajlar ile fibrin birikimi, enfeksiyonu sınırlamaya çalışır. Piyojenik bir membran oluşturarak abseleşebilir. Doku hasarı ve bakteri yoğunluğu, konakçı savunmasının enfeksiyonu ortadan kaldırma kapasitesini aştığı zaman abse oluşması efektif savunma olduğunu gösterir (27).

Peritonitte, peritonda lokalize inflamatuvar olay, üçüncü boşluklara sıvı kaybı ile hipovolemik şoka neden olabilir. Paralitik ileus, bakteriyel aşırı çoğalma ve bunların sonucunda gelişen bakteriyel translokasyon ile erken dönemde endotoksinler sistemik dolaşıma geçebilir. Bakteriemi, endotoksemi ve şok ciddi sistemik inflamatuvar cevabı aktive edebilirler. Dolaşımdaki serbest bakteriyel ekzotoksinler ve endotoksinler birçok organ fonksiyonunu olumsuz yönde etkiler. Sonuçta sepsis ve multiorgan yetmezliği tabloları gelişebilir. Organizmanın ani olarak endotoksinlerle yüklenmesi septik şoka neden olur. Başlangıçtaki hiperdinamik faz, hücrelerin oksijeni kullanamaması ve sirkülatuar sistemin bunu kompanse etmeye çalışması ile açıklanır. Son aşama organizmanın tükenmesine bağlı hipodinamik fazdır (27).

1.2 Amaç

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

Gelişmelere rağmen intraabdominal enfeksiyonların mortalitesi halen kabul edilemeyecek kadar yüksektir. Bu yüzyılın başında, intraabdominal enfeksiyonlar cerrahi olmayan yöntemlerle tedavi edildiğinde gözlenen mortalite %90 civarındayken, standart cerrahi yöntemlerin kullanılmaya başlandığı 1920'li yıllarda %40-50, antibiyotik kullanımıyla birlikte 1970'li yıllarda %30-70 olarak bildirilmiştir. Antibiyotiklerin bu hastalardaki başarısızlığının nedenleri, peritonitin bakteriyolojik etyolojisi ve antibiyotiklerin farmakodinamisi ile ilgili yanlış bilgiler, altta yatan patofizyolojik olayların anlaşılabilmesi ve hastalığın tanımlanmasındaki zorluklar şeklinde yorumlanmıştır. 1970'lerden sonra sorunlar anlaşılmağa başlanmış ve gelişmeler sonucunda mortalite oranı %10- 20 düzeyine inmiştir (29).

H₂S, birçok farklı organ sisteminde farklı görevler üstlendiğinden patolojik durumlarda H₂S üretimini baskılayacak ya da arttıracak yeni tedavi yöntemleri denenmektedir. Örneğin H₂S, kimyasal indirgeme kapasitesi nedeniyle oksidatif stressle savaşabilir, böylece hücrel yaşlanmaya karşı etkili olur. Bu özelliğinden ötürü hastalara uygulanabilecek yavaş salınımlı ilaçların üretilme olasılığı araştırılmaktadır. Böylece H₂S, iskemi, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojileri tedavi etmeye hizmet edecektir. Intraabdominal enfeksiyonlarda da mortaliteyi ve morbiditeyi azaltacak, ayrıca iyileşme süresini kısaltacak yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada deneysel peritonit sonrası ileum ve kolonda meydana gelebilecek motilite değişiklikleri ve bunlara ek olarak H₂S'in peritonitteki etki mekanizmaları ve olası etki mekanizmalarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilecek verilerin yeni tedavi protokollerine ışık tutacağı düşünülmektedir.

1.3 Hipotez

Peritonitli olgularda, enfeksiyon kontrolü açısından maksimum risk taşıyan ileum ve kolon gibi gastrointestinal sistem organlarında, H₂S'in yüksek dozlarda kontraktiletiyi azaltıp, antiinflamatuvar etki gösterip, peritonitin alevlenmesine engel olup, iyileşme sürecini hızlandıracağı ve mortalite ve morbiditeyi ise azaltacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periton

Periton, fibroelastik bir zemin üzerinde yer alan tek sıra mezotel hücrelerden oluşur. İki bölümü vardır; barsakları ve mezenteri saran bölümüne visseral periton, karın duvarını içeriden çevreleyen bölümüne ise pariyetal periton denir. Toplam yüzey alanı erişkinde ortalama iki metrekaredir. Her iki bölümün kanlanması alttaki dokulardan sağlanır. Peritoneal boşlukta yaklaşık 50-100 ml peritoneal sıvı ve esas olarak makrofaj, mast hücreleri ve lenfositler olmak üzere, immün sisteme ait hücreler bulunur. Periton bir biyolojik membranın işlevlerine sahiptir. Sıvı ve küçük elektrolitler her iki yöne geçebilirken, büyük moleküller ancak lenfatikler aracılığıyla taşınır (30).

2.1.1. Peritonun Embriyolojisi ve Anatomisi

Periton ile karın içi organların embriyonik dönemden itibaren etkileşimlerini bilmek adezyon formasyonu mekanizmasını ortaya koymak için gereklidir.

Barsakların Rotasyonu ve Periton Boşluğu (Cavitas Peritonealis)

Embriyonik gastrointestinal kanal, iki yapraklı primer ventral ve primer dorsal mezenterlerle vücut ön ve arka duvarına asılmış bir tüp şeklindedir. Ventral mezenterin alt bölümü erken bir evrede kaybolur, sağ ve sol karın boşluğu birbirine birleşirler.

Ventral mezenter: Karaciğer gelişikten sonra karın ön duvarı ile karaciğer arasında kalan kısmı Ligamentum Falsiformis adını alır. Bunun aşağı doğru uzanan serbest kenarı içerisinde vena umbilicalis seyrederek ve bu kenar ligamentum teres hepatis adını alır. Karaciğer ile mide arasında kalan mezenter Gastro-Hepatik Ligament denir. Bu ligamentin serbest kalan alt kenarı duodenumun birinci kısmı üzerine uzanır. Hepatoduodenal Ligament denilen bu kısmın iki yaprağı arasında Ductus Choledochus, A. hepatica ve Vena Portae seyrederekler.

Dorsal mezenter: Orijinal dorsal mezenterin mideyi aşan kısmına mesogastrium, duodenumu aşan kısmına mesoduodenum, kolonu aşan kısmına

mezokolon denir. Jejunum ile ileumu aşan kısmına ise dorsal mesenterium denir. Dorsal mezenterin üst kısmı içinde mezenşimal hücrelerin bir araya toplanmasından dalak gelişir. Turuncus Coeliacus'dan çıkıp üç organı (karaciğer, mide, dalak) besleyen; A.hepatica, A.gastrica sinistra ve A.splenica dorsal mezenterin iki yaprağı arasında seyrederler (31,32). Mide ile dalak arasında kalan dorsal mezenter kısmı Gastro-Lienal Ligament, dalak ile retroperitoneal aorta arasında kalan kısmı ise Aorto-Lienal Ligament adını alır.

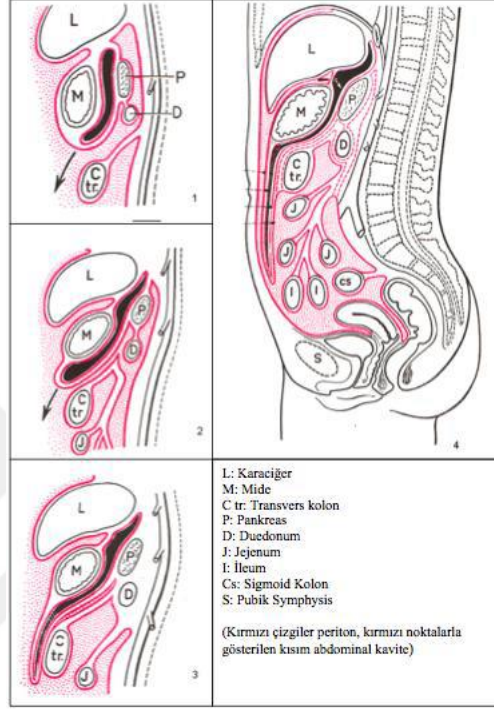
2.1.2.Peritonun Yapısı

Embriyonik dönemin ilk haftalarında gelişmeye başlayan, karın boşluğunu kaplayan ve kendi adı ile bilinen boşluğu saran seröz bir zardır. Tüm abdominal (çölom) boşluğunu sınırlandırır. Periton iki tabakadan oluşur. Bir tabaka boşluğu (parietal) ve diğer tabaka organları (visseral) sarar. Parietal periton karın duvarı ve organlara kadar uzanırken visseral periton organları kapsar. Periton ince bir tabaka bağ dokusu ile mezotelyum tarafından desteklenir. Periton hem karın içi organları destekler hem de kan, lenf damarları ve sinirler için bir kanal olarak hizmet etmektedir. Periton içindeki bulunan yapılara (örneğin mide) "intraperitoneal", karın boşluğunda periton arkasında bulunan yapılara "retroperitoneal" (böbrekler gibi) ve periton altında bulunan yapılara "subperitoneal" veya "infraperitoneal" (mesane gibi) denir (Şekil 1.1-1.2) (36). Periton yüzeyinde iki periton yaprağının kayganlaşmasını sağlayan ince bir sıvı katman bulunur. Visseral periton yapısında organlara giden kan, lenf damarları, sinirler bulunur. Parietal periton sinir yapısı ve dolaşım ile karın duvarını destekler.

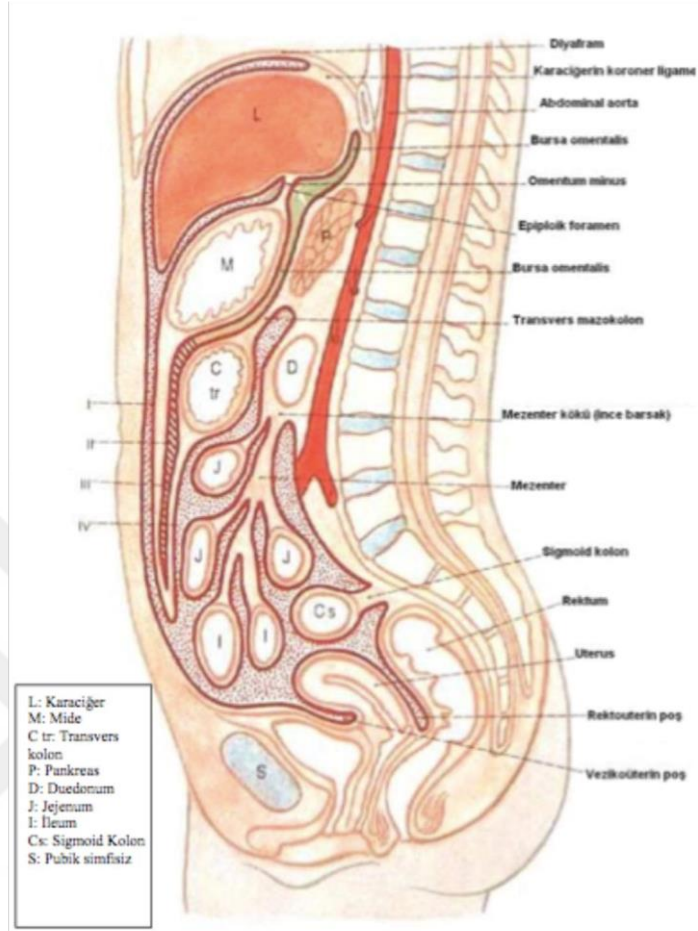
Mezenter ve periton kıvrımları ve ligamentler:

Mezenter, bazı bağ dokusu tabakaları ile organları desteklemeye yardımcı olan içinde bu organlara giden sinirler ve kan damarları bulunan çift katmanlı bir periton yapısıdır. Mezenter abdominal organları posterior abdominal duvara asar. Organlar mezenter yapısı içinde korunaklı kalarak yarı hareketli bir konumda dururlar.

Büyük omentum ve küçük omentum: Barsak üzerinde onlara destek olan ve üzerini örten bir yağ tabakasıdır. Büyük omentum ve küçük omentumda periton çift katmanları oluşur.



Şekil 1 Abdominal kavitenin ve peritonun embriyolojik gelişimi



Şekil 2 Abdominal kavitenin ve peritonun sagittal kesitte görünümü

Büyük omentum aşağıdaki bağları oluşturur:

- i. **Gastrofrenik bağ:** Midenin büyük kurvaturunu diyaframa bağlar.
- ii. **Gastrosplenik bağ:** Midenin büyük kurvaturunu dalağa bağlar.
- iii. **Gastrokolik bağ:** Midenin büyük kurvaturu ve duodenumun ilk bölümünü transvers kolona bağlayan oldukça büyük bir ligamenttir.

Küçük omentum aşağıdaki bağları oluşturur:

- i. **Hepatogastrik bağ:** Midenin küçük kurvaturunu karaciğere bağlar.
- ii. **Hepatoduodenal bağ:** Duodenumu karaciğere bağlar (37).

Periton esasında tek katlı mezotelyal hücrelerin sıralanmasıyla oluşur. Mezotel altında damar-sinir paketleri, elastik-kollajen lifler, retiküler hücreler, yağ hücreleri, doku makrofajlarını içeren gevşek bağ dokusu bulunur. Periton uğradığı hasar sonrasında hızlıca tekrar epitelize olma özelliğine sahiptir. Peritonun kısmı olarak absorpsiyon özelliği de bulunmaktadır ve oluşturmuş olduğu sekresyonlar ile örttüğü dokulara kayganlık sağlar. Bu üç özellikli yapı postoperatif peritoneal adhezyon gelişimi ve önlenmesinde önemli rol oynar (38-42).

Periton Resesusları

Periton, organları tamamen kapladığı bazı bölgelerde resesus adı verilen çıkmazların oluşmasına neden olmuştur. Barsakların periton ile oluşturmuş olduğu yarı hareketli yapılar; özellikle ince barsak ansları bu çıkmazlara girerek internal herniasyonlara ve akut barsak tıkanmalarına sebep olabilmektedir. Bu nedenle resesuslar cerrahi öneme sahiptir. Bunlardan en önemlileri duodenum ve çekum resesuslarıdır. Resesuslar ayrıca patolojik sıvıların yayılmasında kolaylaştırıcı rol oynayabilecekleri için klinik öneme sahiptirler. Normalde bu resesusların lümenleri birbirleriyle veya karın boşluğu ile bağlantılıdır. Ancak komşu periton veya iç organlar ile adezyonlar oluşturabileceği için ayrı boşluklar olarak kalabilirler. Böyle bir durumda içindeki patolojik sıvıyı da hapsederler (34, 37).

2.1.3. Periton Boşluğunun Fizyolojisi

Periton boşluğu vücut içindeki en geniş hacimli boşluğu sınırlandırmaktadır. Organların yüzeyinde bulunan viseral periton pariyetal peritondan daha incedir. Ayrıca periton boşluğu kadınlarda fallop tüplerin açıklığı hariç dışarıya tamamen kapalıdır. Peritonun yaklaşık %80'ini viseral ve %20'sini pariyetal periton oluşturur. Pariyetal periton ile viseral periton arasında kayganlık oluşturarak organ yapılarını koruyan; yoğunluğu 1,016 mg/dl, berrak-transuda karakterinde, protein içeriği 3g/dl'den az 50 ml civarında bir sıvı mevcuttur. Bu sıvı intra-abdominal organ yüzeylerinden, karın kapillerlerinden ve mezotelyal hücrelerden sızan sıvıdan oluşur (38, 39). Bu sıvı içeriğinde mm³'te 300'e yakın makrofaj ve lenfositlerden oluşan hücre ihtiva eder. Bu hücreler antibakteriyel özelliğe sahiptirler ve periton boşluğunun bağışıklık sistemini

oluştururlar. Periton boşluğu steril bir yapıya sahiptir. İnflamasyon ya da enfeksiyon sıvı hacmini ve hücre sayısını artırır (40-42).

Periton boşluğunun çok büyük bir kısmı madde alışverişinde aktif rol alır. Periton suyun ve suda erimiş düşük molekül ağırlıklı maddelerin difüzyonu için pasif yarı geçirgen bir zar gibi davranır. Böbrek yetmezliğinde peritoneal diyaliz aracılığıyla peritonun bu özelliğinden faydalanılarak vücuttaki zararlı maddeler atılır. Sıvı alış veriş splanknik dolaşımı ve damar geçirgenliğini artıran maddeler ile daha da artar. Peritonun 1mm kalınlaşması, 1.8 litre sıvının peritonda toplanmasına yol açar. Akut yaygın peritonitlerde ilk 24 saatte meydana gelen hemodinamik değişiklikler derinin %50 ve daha fazlasının yanması ile meydana gelen hemodinamik değişiklikler ile benzerdir (41, 43).

Viseral periton mezenterik arterden beslenir ve venleri portal dolaşıma boşalır. Parietal peritonun kan dolaşımını ise karın duvarı arter ve venleri sağlar. Periton boşluğunun lenfatik drenajı diyafragmatik stomatada bulunan lenfatik kanallardan sağlanır. Periton boşluğundan sıvının ve molekül ağırlığı 20.000 daltonun üzerinde olan partiküllerin emilimi lenfatikler aracılığıyla gerçekleşir (44).

Diyafragma dışı periton pasif yarı geçirgen bir membran yapısı gösterirken diyafragmatik yüzey partikül ve sıvı emilimini gerçekleştirir. Peritonu oluşturan mezotelyal hücreler mikrovili yapıları gösterdiğinden ve sık bir şekilde yerleşmiş olduğundan bir halı görünümündedirler. Ancak diyafragmanın alt yüzeyinde bulunan özel lenfatik kanallar (lakunae), mezotelyal hücreler arasındaki küçük delikler (stomata) aracılığı ile peritoneal boşluğa açılırlar. Torasik lenfatiklerdeki tek yönlü kapakçık yapıları lenf sıvısının geri akışını engeller. Torasik kanala ilerleyen sıvı son olarak da subklaviyan vene boşalır. Karın zarı deliklerinin büyüklüğü (8-12 μm) karın boşluğundan emilebilecek partiküllerin maksimum büyüklüğünü belirler (45). Daha büyük partiküllerin emilebileceği tek yer ise omentumdur (46-48).

Peritoneal kavite içindeki bakteri ve partiküler debrisin diyafragmatik peritondaki lenfatik ağızlar tarafından absorbe edildiği bilgisi ilk kez 1983'de Von Reclinghausen tarafından öne sürülmüştür. Daha sonra yapılan elektron mikroskopik

alışmalarla da bu anatomik yapıların varlığı ispatlanmış olup periton içine çeşitli boyalar (indian ink) ya da partiküler (lateks spheres) enjeksiyonu ile absorbsiyon mekanizmaları da ayrıntılı olarak açıklanmıştır (48-50). Dumont ve arkadaşları, intraperitoneal madde enjeksiyonunun diyafragmatik lenfatik absorbsiyonu azalttığını göstermiştir. Benzer alışmalar ülkemizde de yapılmıştır (51, 52). Bunun mekanizmasında enjekte edilen maddelerin lenfatik ağızlarda tıkaç oluşturmalarıdır. Benzer şekilde fibrin yıkım ürünleri de tıkaç oluşturarak diyafragmatik absorbsiyonu azaltabilir (39,52).

Bakterilerin ortalama çapı 0,5-2µm arasında olduğundan karın boşluğundan kolayca temizlenirler (45). İntraperitoneal madde enjeksiyonu ya da diyafragma hasarı yaparak oluşturulan deneysel peritonit modelinde, diyafragmatik absorbsiyonu engellenen sıçanlardan diyafragma hasarı oluşturulmayanlar, oluşturulanlara oranla daha uzun yaşamışlardır (53). Bunun nedeni bakteriyeminin daha geç olmasıdır. Karın içi basınç artışı, karın boşluğunun bakterilerden temizlenmesini hızlandırırken geçirilmiş laparotomilere bağlı adezyonlar geciktirir. Genel anesteziyle solunumun baskılanması ve pozitif basınçlı ventilasyon, iletici lenf akımını engelleyerek bakterilerin temizlenmesi hızını yavaşlatır (54).

Peritoneal lenfatik absorbsiyonun büyük kısmı diyafragmatik lenfatikler tarafından yapılır. Burada lenf sistemi sırasıyla diyafragmatik lenfatikler, anterior mediastinal lenfatikler, sağ lenfatik duktus, sağ internal juguler ven ile subklavien venin bileşke noktasından ilerleyerek genel dolaşıma katılırken (55, 56), duktus torasikusun içeriğini GİS organları karın duvarı ve alt ekstremiteler lenfatikleri oluşturur (57).

Plevral sıvının absorbsiyonunda major yol lenfatik drenajdır ve drenajda en etkin bölge, diyafragmatik stomalardır (59).

2.1.4. Peritoneal Lenfatik Sistem

Lenfatik sistem interstisyel aralıkta bulunan ve/veya kan damarlarıyla taşınımı mümkün olmayan maddelerin (özellikle de albümin ve diğer intravasküler proteinlerin)

taşınmında ana bir görev görür. Yapılan birçok deneysel çalışma ile diyafragma lenfatik drenajının anatomi ve fizyolojisi araştırılmıştır (44, 60, 61).

Peritoneal diyaliz, diagnostik peritoneal lavaj, asit tedavisi ve abdominal kavite içi kanserlerde lokal kemoterapötik uygulamaları peritoneal transport fizyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarla olanaklı hale gelmiştir (62,63). Lenfatik damarlarda kontraktıl aktin filamentleri içeren düz kasların varlığı gösterilmiştir. Bu kas yapıları, otonom sinir sistemi ve bazı hormonların etkisi altındadır. (65, 66).

Peritoneal kavite içindeki moleküller iki yolla absorbe olur; peritoneal kan kapillerleri ve lenfatikler. Kan kapillerleri sıvı, elektrolit ve küçük molekül ağırlıklı maddelerin absorbsiyonunu sağlar. Diyafragmatik lenfatik absorbsiyon üzerine birçok faktör etkilidir (68, 69). İntraperitoneal endotoksin enjeksiyonu, abdominal cerrahi, diyafragmatik ritmik hareketler, peritonit, absorbsiyon ve akımı artırır. Genel anestezi ve özellikle de bazı volatil anestezikler, intraabdominal basınç artışı absorbsiyon ve akımı azaltır (70). Campbel ve arkadaşlarının koyunlar üzerinde yaptığı çalışmada lenfatik kontraksiyon ile lenfatik akım hızı arasında doğru orantı olduğu gösterilmiştir (71).

2.2. Peritonit

Periton, visseral zar (iç organların üst yüzeyini örten zar) ile, parietal zar (pelvis duvarı ve karın iç yüzünü örten zar) arasında kalan boşluktur. Periton zarı kan akımı 50-100ml/dk'dır. Parietal periton zarı sayesinde, sıvı ve elektrolit geçişinin büyük bir kısmı burada gerçekleşir. Diyaliz işlemi sırasında periton diyalizi (PD) solüsyonu ve kan kapilleri arasında 3 adet bariyer mevcuttur. Bu bariyerler kapiller duvar, interstisyum ve mezotelyal tabakalarıdır (72). Peritonit, visseral ve parietal zarların enflamasyonudur. Günümüzde PD hastalarının karşılaştığı en önemli komplikasyonlardandır (73,74). Mortatilité ve morbidite oranı yüksek olan bu komplikasyon PD uygulayan kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarının hemodiyaliz tedavisine geçmelerindeki en önemli nedenlerden biridir (75). PD ile ilgili komplikasyonlardan peritonitin sebep olduğu ölümlerin oranının % 3,5 ve % 10 olduğu yapılan çalışmalara göre bildirilmektedir (76). Sağmak-Tartar, Fırat Üniversitesi Hastanesi Nefroloji Kliniği, Sürekli Ayaktan Periton

Diyalizi (SAPD) ünitesinde takip edilen 30 hasta ile yaptığı çalışmada, PD hastaların %15-35'inin peritonit şikâyetiyle sağlık kuruluşuna başvurduğunu bildirilmektedir. (77)

Dirençli peritonit vakaları periton zarının geçirgenliğini etkilediği için hastaların HD'e geçmelerindeki başlıca nedenlerdendir. Uzun süren dirençli peritonitler var olan böbrek fonksiyonlarının da kaybına yol açmaktadır (76,77).

Peritonit görülme sıklığı 2017 Türk Nefroloji Derneği (TND) verilerine göre 0,24 iken 2018 verilerinde bu sıklık 0,59 olarak saptanmıştır (80).

2.2.1. Sınıflandırma

2.2.1.1. Spontan bakteriyel peritonit (SBP)

Cerrahi olarak tedavi edilebilir bir intraabdominal kaynak olmaksızın asit sıvısının enfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Esas olarak sirozlu hastalarda görülür, malignite veya kalp yetmezliği gibi siroz dışı nedenlere bağlı asitin spontan enfeksiyonu son derece nadirdir. Spontan bakteriyel peritonite neden olan mikroorganizmaların kaynağı sıklıkla gastrointestinal sistemdir (GİS). Barsak florasının bozulması ve barsak lümeninden peritoneal boşluğa enterik bakterilerin translokasyonu söz konusudur. Mikroorganizmaların kaynağı nadiren üriner sistem enfeksiyonları, pnömokok sepsisi, selülit veya farenjit gibi bir enfeksiyon odağı da olabilir (81).

Spontan bakteriyel peritonitli hastalarda en sık görülen semptom ve bulgular arasında ateş, karın ağrısı, mental durum değişikliği, karında hassasiyet, diyare, paralitik ileus, hipotansiyon ve hipotermi sayılabilir. Tanı asit sıvısından alınan örneğin kültüründe üreme olması ve asit sıvısında polimorfonükleer lökosit sayısının >250 hücre/mm³ olması ile konur. Ateş, karın ağrısı, karında hassasiyet veya mental durum değişikliği olan hastalarda asit sıvısı, kan ve idrar kültürleri alındıktan sonra vakit kaybetmeden ampirik antibiyotik tedavisine başlamak gerekir. Bu bulguları olmayan hastalarda asit sıvısındaki polimorfonükleer lökosit sayısı görülene kadar beklenebilir. Spontan bakteriyel peritonitte sorumlu mikroorganizma sıklıkla intestinal kaynaklıdır, diğer taraftan daha nadir streptokokal veya stafilokokal enfeksiyonlar da görülebileceği

için geniş spektrumlu bir antibiyotikle, tercihen sefotaksim veya benzer bir üçüncü kuşak sefalosporinle, ampirik tedaviye başlanması ve kültür sonuçları elde edilince tedavinin düzenlenmesi önerilmektedir (82).

2.2.1.2. Sekonder peritonit (SP)

Gastrointestinal traktusun bütünlüğünde bozulma sonucu peritonun kontaminasyonu ile ortaya çıkar. Tipik olarak polimikrobiyaldir; aerob ve anaerob bakteriler bulunur. İzole edilen mikroorganizmalar gastrointestinal bütünlüğü bozulan alanın kolonizasyonunu yansıtır. Mide veya duodenum perforasyonunda kimyasal irritasyona bağlı enflamasyon daha ön plandayken kolon perforasyonları polimikrobiyal enfeksiyonlara neden olur. Sekonder peritonitte karın ağrısı en önemli semptomdur ve fizik muayenede peritoneal irritasyon bulguları izlenir. Bu hastaların tedavisinde cerrahi yaklaşım ile kaynak kontrolü öncelik taşır. Cerrahi tedavi altta yatan patolojiye göre planlanır (83,84).

2.2.1.3. Tersiyer peritonit (TP)

Genellikle yoğun bakım ünitelerindeki kritik hasta grubunda görülür. Bu hastaların büyük çoğunluğunda ateş ve lökositoz gözlenirken, sadece %30-40'ında fizik muayenede intraabdominal enfeksiyona ait bulgular vardır. Yeni ortaya çıkan veya tedaviye rağmen düzelmeyen organ disfonksiyonu, tersiyer peritoniti düşündürmelidir. Abdominal tomografi tanı koyma ve tedaviyi yönlendirmede faydalıdır. Bu hastalarda genellikle multipl, yaygın, lokalize olmayan IP sıvı koleksiyonları izlenir. Tersiyer peritonitlerde sorumlu mikroorganizmalar nispeten düşük virülansa sahip koagülaz negatif stafilokok, enterokok, kandida, *Pseudomonas* spp ve enterobakter gibi mikroorganizmalardır. Bu farklı patojenler bozulmuş mikrobiyal florayı yansıtır. Daha dar spektrumlu, doğru antimikrobiyal tedavinin seçimi için kültür ve antibiyogramlar bu hastalarda daha da önem taşır. Tedaviye rağmen tersiyer peritonitin mortalitesi yüksektir (30).

2.2.1.4. Kimyasal (aseptik) peritonit

Safra, kan, baryum veya diğer maddeler gibi iritanlar veya periton boşluğunun bakteriyel kontaminasyonu olmaksızın iç organların transmural enflamasyonu (örneğin Crohn hastalığı) neden olabilir. Klinik belirti ve semptomlar sekonder peritonit veya peritoneal apse ile benzerdir, ancak sistemik enfeksiyon bulguları yoktur (85). Erken dönemde peritoneal boşluk sterildir ve kültürde üreme olmaz, ancak zamanla sekonder bakteriyel kontaminasyon sonucu süpüratif peritonit gelişir. Tedavide sekonder bakteriyel enfeksiyon engellenmeli ve kimyasal peritonit nedeni ortadan kaldırılmalıdır (30).

2.2.2. Etiyoloji ve patogenezi

Mezodermal kökenli tek bir mezotel hücre tabakası olan periton, bir bazal zara ve karın kaslarının altındaki bir bağ dokusu yatağına dayanır. Karın boşluğu, karın iç organlarını örtmek için viseral peritona dönüşen parietal periton ile kaplıdır. Lenfatik damarlar, kan ve sinirlerin girişini sağlar. Normal koşullar altında, peritoneal yüzeyler arasında, plazma transüdatından mezotelyal hücreler tarafından üretilen ve periton tarafından yeniden emilen yaklaşık 50 ml sarı steril peritoneal sıvıyı içeren periton boşluğu adı verilen dar bir boşluk vardır. Bu ortam, mekanik strese tepki verir ve organların birbiri üzerine kaymasına izin verir. Ayrıca büyüme faktörleri, sitokinler, kemokinler, lökositler ile besinlerin değişimi ve patojenlerin uzaklaştırılması periton sıvısı yoluyla gerçekleşir. Diyafram yüzeyinde yoğunlaşan mezotel hücreleri arasındaki lenfatik kanallardan büyük partiküller ve bakteriler temizlenir. Bu mekanizma peritoneal enfeksiyonların özellikle de kontrolsüz yaygın peritonitin sistemik enfeksiyon, bakteriyemi ve sepsise hızla ilerlemesini sağlayan bir yol olarak da çalışır (86–88).

Peritoneal enflamasyon ile birlikte uyarılan peritoneal yüzeydeki makrofajlar, dolaşımdaki nötrofil ve monositler tarafından sistemik enflamatuar cevabı meydana getiren tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-8 (IL-8), histamin, kompleman ve platelet aktive edici faktör (PAF) gibi bir grup proenflamatuar mediatör salgılanır. Peritoneal makrofajların yüzeyindeki doku faktörünün ekspresyonu

koagülasyon kaskadının aktivasyonuna ve enflamatuar odak çevresinde fibrin birikimine yol açar. Bu yolla oluşan apse duvarı, enfeksiyon odağını peritoneal boşluğun geri kalanından ayırarak olayı sınırlamaya çalışır. Karın içindeki enflamasyonun yol açtığı sempatik aktivasyon sonucu intestinal peristaltizm baskılanır veya ileus gelişir. Barsak duvarından sıvı geri emilimi bozulur ve önemli miktarda sıvı lümende sekestre olabilir. Azalmış peristaltizm aynı zamanda barsak lümenindeki mikroorganizmaların çoğalmasına katkıda bulunur ve buradan rejyonel lenf nodlarına, peritoneal boşluğa, portal dolaşıma bakteri ve ürünlerinin translokasyonu gelişir. Peritonun enflamasyonu sonucu kapiller ve membranlar geçirgen hale geldiğinden periton boşluğuna hızla sıvı toplanır. Bu hızlı sıvı birikiminin yol açtığı damar içi sıvı volümündeki azalma taşikardi ile kompanse edilerek kardiyak output korunmaya çalışılır. Periton boşluğuna sıvı birikimi bazen o kadar hızlı ve şiddetli olur ki, volüm açığı kısa sürede yerine konmazsa doku perfüzyonunda bozulma, hücre ölümü ve çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanabilir. Organizmanın böbreklerden sıvı atılımını azaltma çabası, böbrekler aracılığıyla atılması gereken metabolik ürünlerin de birikmesine neden olur. Diğer taraftan oluşan relatif hipovolemi intestinal bariyer fonksiyonunu daha da bozarak bakteriyel translokasyonu artırır. Uzayan periton enflamasyonunda metabolik komplikasyonlar ortaya çıkar (30).

2.2.3. Mikrobiyolojisi

Spontan bakteriyel peritonit vakalarının %90'ından fazlası monomikrobiyal enfeksiyondan kaynaklanmaktadır. En yaygın patojenler arasında gram negatif organizmalar (*E. coli* [%40], *K. pneumoniae* [%7], *Pseudomonas* türleri, *Proteus* türleri, diğer gram negatif türler [%20]) ve gram pozitif organizmalar (örneğin *S. pneumoniae* [%15], diğer *Streptococcus* türleri [%15] ve *Staphylococcus* türleri [%3]). Vakaların %5'inden daha azında anaerobik mikroorganizmalar, %10'dan azında ise birden fazla izolat bulunur. Sekonder peritonitte yer alan patojenler ise proksimal ve distal gastrointestinal kanalda farklılık gösterir. Uzun süreli mide asidi baskılayıcı tedavi gören hastalarda üst GI yolakta gram-negatif organizmalara doğru bir kayma ile birlikte gram pozitif organizmalar üst GI yolakta baskındır. Uzak bir ince bağırsak veya kolon kaynağından gelen kontaminasyon başlangıçta birkaç yüz bakteri türünün (ve mantarın)

salınmasına neden olabilir. Ortaya çıkan peritonit hemen hemen her zaman polimikrobiyaldır ve gram negatif organizmaların baskın olduğu aerobik ve anaerobik bakteri karışımını içerir (Tablo 2.1).

Tablo 1 Peritonit Nedeni Olabilecek Mikroorganizmalar (89)

Primer Peritonit	Gram Negatif	<i>E.coli</i> (%40)
		<i>K.pneumoniae</i> (%7)
		<i>Pseudomonas spp</i> (%5)
		<i>Proteus spp</i> (%5)
	Gram Pozitif	<i>Streptococcus spp</i> (%15)
		<i>Staphylococcus spp</i> (%3)
	Anaeroblar (<%5)	-
Sekonder Peritonit	Gram Negatif	<i>E.coli</i>
		<i>Enterobacter spp</i>
		<i>Klebsiella spp</i>
		<i>Proteus spp</i>
	Gram Pozitif	<i>Streptococcus spp</i>
		<i>Staphylococcus spp</i>
	Anaeroblar (<%5)	<i>Bacteroides fragilis</i>
		Diğer Bacteroides türleri
		<i>Eubacterium spp</i>
		<i>Pseudomonas spp</i>
		<i>Staphylococcus spp</i>
		<i>Enterococcus spp</i>
<i>Candida spp</i>		
Tersiyer Peritonit	Gram Negatif	<i>Enterobacter spp</i>
		<i>Pseudomonas spp</i>
	Gram Pozitif	<i>Staphylococcus spp</i>
		<i>Enterococcus spp</i>
	Mantarlar	<i>Candida spp</i>

2.2.4. Klinik

Akut karın ağrısı, peritoniti olan hastaların tıbbi yardım almalarının en tipik nedenidir. Genellikle ağrıyı yayıldığı için hastalar genellikle hareketsiz yatar ve hareket etmekten kaçınırlar. Parietal ve visseral peritonun innervasyonu farklıdır. Parietal peritonun innervasyonu frenik, torakoabdominal, subkostal ve lumbosakral sinirlerden kaynaklanır. Visseral peritonun innervasyonu ise tam olarak anlaşılamamakla birlikte splanknik sinirler, çölyak ve mezenterik plexuslar yoluyla olmaktadır. Bu nedenle paryetal peritondaki peritonit daha lokal, keskin ve sürekli. Paryetal peritonit yüzeysel kaslara yakınsa, karın palpasyonu kaslarda rijidite ve defans gösterebilir. Bunun aksine, sadece visseral peritondaki peritonit, ilişkili afferent sinirlere karşılık

gelen bir alanda daha künt, daha az lokalize bir rahatsızlık ve ağrı olarak kendini gösterir (86-99). Herhangi bir karın içi enflamatuvar süreç, abdominal distansiyon ve kusma şeklinde ortaya çıkan paralit k ileus ile sonuçlanabilir (100). Bunlar genellikle olası hipotansiyonla birlikte dehidratasyona yol açar. Sepsise bağlı organ disfonksiyonları gelişirse solunum sıkıntısı, hipotansiyon ve bilinçte bozulma gibi başka semptomlar ortaya çıkabilir (101).

2.2.4.1. İlk Değerlendirme

Akut karın ağrısı olan her hastanın klinik durumu hızlı bir şekilde değerlendirilmelidir. Organ fonksiyonları bozulmuş veya hızlı progresyon şüphesi olanlar belirlenmeli ve sınıflandırılmalıdır. Karın sertliği değerlendirmesi dahil hızlı bir klinik muayene yapılır. Sepsis şüphesi ortaya çıkarsa, sıvı resüsitasyonu ve organ fonksiyon desteği gecikmeden başlatılmalıdır. Kan kültürleri alınmalı ve ampirik antibiyotiklere ba lanmalıdır. Verilecek ilk karar, acil opere edilip edilmeme veya hastanın tanıs l görüntüleme çalışmaları için bir gecikmeyi tolere edip edemeyeceğidir (88,102). İleustan   phelenildiğinde, mide içeriğini kusmasını ve aspirasyonunu önlemek için nazogastrik bir t p yerleştirilmelidir.

2.2.4.2. Klinik Muayene

Akut karın ağrısı olan tüm hastaların klinik muayenesi aynı ilkeleri izler. Kapsamlı bir tıbbi, cerrahi ve sosyal öyküsü alınmalıdır. Akut ağrı öyküsü varsa başlangıç zamanı ve şekli, progresyonu, önceki epizodlar, şiddeti, bölgesi, görüntüsü ve ağrı kalitesinin değerlendirilmesi de gerekir. Ayrıca ağrının konumsal değişiklikleri, hafifletici ve tetikleyici faktörler de önemlidir. Özellikle G S ve genitoüriner sistem (G S) ile ilgili diğer semptomlar incelenmelidir.

Karın muayenesi: inspeksiyon, oskültasyon, perküsyon ve palpasyonun yanı sıra femoral nabızların palpasyonu ve rektal muayeneyi içerir. Palpasyondaki ağrının konumuna, karın defansı ve herni belirtilerine özellikle dikkat edilmelidir. Spesifik tanılar için provake edici testler kullanılabilir (102,103).

2.2.4.3. Organ Disfonksiyonlarının İlk Değerlendirmesi

Organ disfonksiyonları, sepsisli tüm hastalar için en önemli prognostik faktördür ve komplike intraabdominal enfeksiyonlar, sepsis için en yaygın ikinci etiyolojidir (91,104,105). Sepsise bağlı organ disfonksiyonları, enfeksiyonun başlangıcından itibaren bir süreç olarak gelişir. Gözlemlenmesi gereken organ sistemleri, solunum, dolaşım, mental durum, koagülasyon, böbrek ve karaciğer fonksiyonudur (91). Acil servis değerlendirmesinde organ disfonksiyonlarının sayısı ve niteliği mortaliteyi iyi bir şekilde öngörmektedir. Mevcut Sepsis-3 yönergeleri, sepsisi tanımlamak için SOFA puanlama sistemini önermektedir (Tablo 2.2). Bu kılavuzda, hızlı SOFA (qSOFA) adı verilen bir hasta başı tarama aracı da tanıtılmıştır: solunum hızı ≥ 22 /dk, bilinç değişikliği ve sistolik kan basıncı ≤ 100 mmHg kriterlerini içerir. qSOFA'nın spesifik olduğu kanıtlanmıştır, ancak duyarlılığı düşüktür (105-109).

Tablo 2 SOFA Skoru

SOFA skoru	0	1	2	3	4
Solunum PaO ₂ /FiO ₂	>400	≤400	≤300	≤200	≤100
Koagulasyon Trombosit 10 ³ /mm ³	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Karaciğer Billurubin mg/dl Billurubin mol/l	<1.2 <20	1.2-1.9 20-32	2.0-5.9 33-101	6.0-11.9 102-204	>12 >204
Kardiovasküler Hipotansiyon	Yok	MAP<7 0	Dopa≤5 Dobu	Dopa>5 Epi≤0.1 Nor≤0.1	Dopa>15 Epi>0.1 Nor>0.1
Merkezi sinir sistemi Glasgow koma skoru	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal Kreatinin (mg/dl) Kreatinin (μmol/l) İdrar çıkışı (ml/gün)	<1.2 <110	1.2-1.9 110-170	2.0-3.4 171-299	3.5-4.9 300-440 <500	>5.0 >440 <200

PaO₂: Parsiyel Oksijen Basıncı, FiO₂: İnspiratuar oksijen fraksiyonu, MAP: ortalama arteryel basınç

2.2.5. Laboratuvar

Peritonitte hastalığa özgü laboratuvar testleri yoktur ve teşhis sürecinde sınırlı bir role sahiptirler. Beyaz kan hücresi sayımı ve CRP gibi enfeksiyon için yaygın olarak kullanılan laboratuvar testlerinin özgüllüğü düşüktür (88). Ayrıca, CRP seviyeleri 6-8 saatlik bir gecikmeyle yükselir, 48 saatte zirveye ulaşır ve bu nedenle CRP, hastalığın başlangıcından hemen sonraki ilk değerlendirmede yükselmeyebilir (110). Serum laktat değeri, sistemik hipoperfüzyonun bir belirticidir ve sepsisli hastalarda bağımsız olarak mortalite ile ilişkilidir. Ayrıca, mortaliteyi tahmin eden puanlama sistemine dahil edilmesi önerilmiştir (108,111). Acil serviste bakılan prokalsitonin seviyeleri de sepsisin ciddiyeti ile korele olduğunu göstermişti (112).

Özetlemek gerekirse, peritonitte laboratuvar testleri tanı araçları olarak çok belirsizdir, ancak hastalık şiddetini değerlendirmede yardımcıdır.

2.2.6. Görüntüleme Yöntemleri

En son kılavuzlar ve incelemeler, peritonitin tipik klinik bulgularına sahip hastaların görüntülemeye ihtiyaç duymadığını göstermektedir. Bu bulgular, lokal veya yaygın abdominal sertlik ve stabil olmayan hemodinami veya sepsisle ilişkili organ işlev bozukluklarını içerir. Görüntüleme çalışmalarının, acil laparotomi ihtiyacını değiştirmede, sadece gereksiz gecikmeye ve muhtemelen bozulmuş prognoza neden olduğu düşünülmektedir (87,88,113). Bununla birlikte tanıyı desteklemek için bilgisayarlı tomografinin en faydalı ve en sık kullanılan görüntüleme tetkiki olduğu bilinmektedir (30).

2.2.7. Tedavi

Peritonitlerde tedavide üç temel basamak; hemodinamik resüsitasyon ve organ sistemlerine yönelik destek tedavi, antimikrobiyal tedavi ve cerrahi olarak kaynak kontrolüdür. Peritonitli hastalarda peritoneal kaviteye, retroperitona ve gastrointestinal lümeneye önemli miktarda sıvı kaybı vardır. Üçüncü boşluklara olan bu kayıp uygun sıvı ve elektrolit replasmanı ile düzeltilmelidir. Gerekirse idrar atılımı ve kalp dolma basınçları monitörize edilmeli, oksijen ve ventilasyon desteği uygulanmalıdır (30).

Uygun ve yeterli dozda antibiyotik başlanması da tedavinin önemli bir parçasıdır. Peritonitin tipine göre sorumlu olabilecek mikroorganizmalara karşı tek ajan veya kombine rejimler tercih edilebilir. Antimikrobiyal tedaviye klinik olarak enfeksiyon bulguları düzelene kadar devam edilmelidir. Ateşin düşmesi, gastrointestinal sistem fonksiyonlarının düzelmesi ve beyaz küre sayısının normal değerlere inmesi tedavinin başarılı olduğunu gösterir. Başarılı kaynak kontrolü yapılabilen hastalarda daha kısa, 5-7 günlük antibiyotik tedavisi yeterli olabilir (30).

Kaynak kontrolü drenaj, debridman ve tamamlayıcı tedaviyi içerir. Drenajda amaç apse ya da sıvı koleksiyonların boşaltılmasıdır. İntraabdominal apse veya koleksiyon varlığında görüntüleme yöntemleri kılavuzluğunda drenaj tercih edilebilir. Bilgisayarlı tomografi veya ultrasonografi eşliğinde perkütan drenaj birçok merkezde başarıyla uygulanmaktadır. İmmünsüpresif hastalarda, yaygın yumuşak doku

enfeksiyonu varlığında veya bir fistül traktusu ile ilişkili apselerde perkütan drenaj yetersiz kalacaktır, bu hastalarda açık cerrahi drenaj daha uygun bir yaklaşımdır. Debridman nekrotik ve enfekte dokuların temizlenmesidir. Peritoneal boşluğun bakteri, devitalize doku ve fibrini uzaklaştırmak için irrigasyonu da bir debridman şekli sayılabilir. Tamamlayıcı tedavide ise amaç devam eden mikrobiyal kontaminasyonu ortadan kaldırmak, normal anatomi ve fonksiyonu restore etmektir (30).

2.3. Gastrointestinal Motilitenin Hormonal Kontrolü

Gastrointestinal sistem vücuttaki en büyük endokrin organdır. Sindirim fonksiyonlarının endokrin kontrolü, enterik endokrin sistem tarafından salgılanan hormonal medyatörler aracılığı ile sağlanır. Bu hormonların birçoğu aynı zamanda gastrointestinal kanalın bazı bölümlerinde motiliteyi de etkilemektedirler:

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

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

Gastrik inhibe edici peptit; İnce barsakların proksimal kesiminde yağ ve karbonhidrat bulunmasına cevap olarak barsak mukozasından salınır. Mide motilitesini inhibe ederek barsak lümeni proksimalde dolu iken mide boşalımını yavaşlatır.

Gastrointestinal Motilitenin Sinirsel Kontrolü

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

1. Enterik Sinir Sistemi (İntrinsik İnnervasyon)

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

Myenterik pleksus, genel olarak gastrointestinal kanalın tümü boyunca uzanan, birbiri ile ilişkili nöronların zincir şeklinde sıralanması ile meydana gelir ve kas tabakada yer aldığı için temel olarak barsak boyunca oluşan motor aktivitenin kontrolü ile ilgilidir. Myenterik pleksusun uyarılması, barsağın motor aktivitesini arttıran dört etki yapar: Tonik kontraksiyonları ya da barsak duvarının tonusunu, ritmik kontraksiyonların şiddetini, ritmik kontraksiyonların frekansını ve peristaltik dalgaların hızlanmasına neden olan uyarıcı dalgaların ileti hızını artırır. Eksitator liflerin büyük kısmı kolinerjik olup asetilkolin (ACh) salgırlar (105). Bununla birlikte bazı miyenterik pleksus lifleri vazomotor intestinal polipeptit (VIP), nitrik oksit (NO), adenin trifosfat (ATP) gibi nörotransmitterler salgılayarak inhibitör etki gösterir. Bu inhibitör transmitterler, pilor sfinkteri gibi midenin boşalmasını, ileoçekal kapak gibi ince barsağın kolona boşalmasını kontrol eder. Submukozal pleksus ise her bir küçük barsak segmentinin iç duvarındaki kontrolden sorumludur. Birçok duyuşal sinyal gastrointestinal epitelden salgılanır ve daha sonra submukozal pleksusta toplanarak lokal intestinal sekresyon, absorpsiyon ve mide mukozasının çeşitli derecelerde katlanmasına neden olan submukozal kasın lokal kontraksiyonuna neden olur (114,115).

2. Otonom Sinir Sistemi (Ekstrinsik İnnervasyon)

Enterik sinir sistemi her ne kadar kendi kendine fonksiyon görse de sindirim fonksiyonu enterik sinir sistemi ile santral sinir sistemi arasında iletişim gerektirir. Gerekli iletişim, santral sinir sistemini enterik sinir sistemine ve de santral sinir sistemini direk olarak sindirim kanalına bağlayan sempatik ve parasempatik sinir lifleri tarafından sağlanır. Gastrointestinal sistem santral sinir sistemine duyuşal bilgiler sağlarken santral sinir sistemi de gastrointestinal fonksiyonu etkiler. Sempatik stimölasyon, gastrointestinal sekresyon ve motor aktiviteyi inhibe eder; sfinkterlerin ve kan damarlarının kontraksiyonuna yol açar. Parasempatik stimölasyon ise sindirim aktivitesini uyarır (114-116). Gastrointestinal sistem, barsak duvarı ve mukozasındaki reseptörler aracılığı ile algılanan uyarıları, santral sinir sistemine ileten vagal ve splanknik afferent sinirler ile zengin bir şekilde innerve edilmiştir.

Parasempatik İnnervasyon: Splenik fleksuraya kadar mide ve barsakların parasempatik innervasyonu vagus siniri tarafından, splenik fleksuradan sonraki barsak segmentlerinin parasempatik innervasyonu ise spinal kordun 2, 3 ve 4. sakral segmentinden köken alan parasempatik liflerden sağlanır. Parasempatik sistemin preganglionik lifleri myenterik ve submukozal pleksusta sonlanır. Postganglionik lifler düz kasları ve salgı bezlerini innerve eder, peristaltizmi ve sekresyonu uyarırken, sfinkterleri gevşetir (114-116).

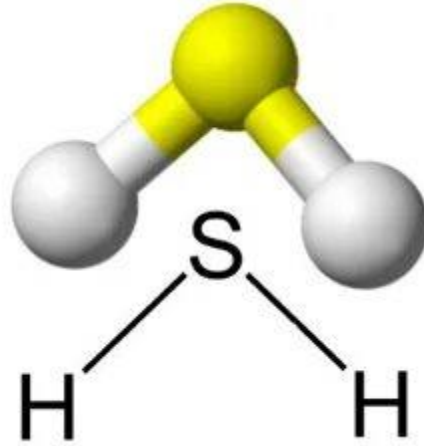
Sempatik İnnervasyon: Medulla spinaliste T8 ile L2 arasındaki segmentlerden kaynaklanan preganglionik sempatik lifler, çölyak ve mezenterik ganglionlarda sonlanırlar. Postganglioner nöron hücrelerinin bulunduğu bu ganglionlardan başlayan postganglioner lifler, kan damarlarıyla birlikte barsakların tüm bölümlerine gidip enterik sinir sistemindeki nöronlarda sonlanırlar. Sempatik sinir uçlarından norepinefrin salgılanır. Sempatik sistemin stimölasyonunun ve norepinefrin salınımının düz kaslar ve enterik sinir sistemi nöronları üzerindeki inhibitör etkisiyle gastrointestinal sistem aktivitesi inhibe olur (114).

2.4.Hidrojen Sülfür

2.4.1 Hidrojen Sülfürün Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Hidrojen Sülfür, kimyasal formülü H_2S olan kimyasal bir bileşiktir. Kalkojen hidrit yapısında, çürük yumurta kokusunda, renksiz, zehirli bir gazdır. Koroziv ve yanıcıdır. Volkanlarda ve kükürtlü kaplıcalarda, doğal gazda, ham petrolde, çürümüş organik maddelerde ve endojen olarak vücutta gerçekleşen biyokimyasal mekanizmalarda bulunur.

İnsanlar ve hayvanlar için oldukça toksik ve ölümcül bir bileşik olmasına rağmen, vücuttaki bir dizi önemli döngüde oluşturduğu kritik faydalardan ötürü hidrojen sülfüre olan ilgi artmıştır.



Şekil 3 Hidrojen Sülfürün kimyasal formülü (189)

Hidrojen sülfür vücutun fizyolojik kısımlarında üçte biri ayrışmamış, üçte ikisi H^+ (hidrojen iyonu) ve HS^- (hidrojen sülfid iyonu) olarak ayrışmış halde bulunur. Bu şekilde ayrışmış olması ortama H_2S verecek donörlerinden biri olan $NaHS$ 'ün daha iyi anlaşılmasını sağlar. $NaHS$ fizyolojik ortamda Na^+ ve HS^- olarak ayrışmaktadır. Ayrışan HS^- ortamdaki H^+ ile birleştiğinde H_2S ortaya çıkar. $NaHS$ bu nedenle iyi bir hidrojen sülfür donörüdür. Yapılan araştırmalar, hidrojen sülfürün hücre membranından kolayca geçtiğini, etkisi için resöptöre ihtiyaç duymadığını ve parakrin etkiye sahip olduğunu göstermiştir. (117). Hücre membranını kolayca geçmesi lipofilik olmasına

bağlıdır ancak diğer gazlara göre geçişi daha azdır. Bunun sebebi kısmen ayrışması olarak gösterilmektedir (118, 119)

Diğer isimleri hidrojen sülfid, sülfür hidrit, dihidrojen monosülfid, dihidrojen sülfid, sülfan, hidrosülfirik asit, hidrotiyonik asit, tiyohidroksik asit veya sülfidrik asittir. Molar kütlesi 34.08 g.mol^{-1} 'dir. Yoğunluğu 1.363 g dm^{-3} 'tür. Erime noktası -82°C , kaynama noktası ise -60°C 'dir. NaHS ise selüler ve hayvan deneylerinde sıklıkla kullanılan bir H_2S donörüdür.

2.4.2 Hidrojen Sülfürün Sentezi ve Metabolizması

Hidrojen sülfür (H_2S), memelilerde endojen olarak L-sistein ve homosistein'den transsülfürasyon ile sentezlenen bir nörotransmitterdir. L-sistein'in, endojen H_2S sentezinden sorumlu ana substrat olduğu ve H_2S sentezinin öncelikli olarak L-sistein'den sitoplazmik piridoksal 5'-fosfat enzimleri olan sistatyonin beta-sentaz (CBS) ve sistatyonin-gamma-lyaz (CSE) enzimleri aracılığıyla ters transsülfürasyon yoluyla üzerinden gerçekleştiği bildirilmiştir (120,2). İlave olarak, 3-merkaptopürivat sülfürtransferaz (3-MST) enziminin, α -ketoglutarat varlığında L-sistein veya D-sistein'den sistein aminotransferaz enzimi (CAT) aracılığıyla H_2S sentezinden sorumlu üçüncü enzim olduğu gösterilmiştir (121,122). H_2S endojen olarak memeli hücrelerinin sitoplazma ve mitokondrisinde substrat olarak L-sistein ve D-sisteini kullanarak AD-amino asit oksidaz (DAO) enzimi katalizörlüğünde de oluşur (123). Endojen üretimine ek olarak H_2S , sodyum hidrosülfid (NaHS), sodyum sülfid (Na_2S), S-alil-sistein (SAC), GYY4137, AP39, 120AP123, SG1002, S-propargil-sistein, sodyum tiyosülfat, sülfür mineral suyu, sarımsak kaynaklı polisülfid, dialil disülfid ve dialil sülfid aracılığı ile ekzojen olarak da üretilebilir. (124)

Genel olarak periferik sistemdeki H_2S 'in temel kaynağı CSE, santral sinir sistemindeki H_2S 'in ana kaynağı ise CBS'dir. (125) CBS ve CSE enterik nöronlarda, Cajal interstisyel hücrelerinde (ICCs) (126) ve düz kas hücrelerinde (SMCs) (127,128) tespit edilmiştir; dolayısıyla çok farklı hücre tipleri değişik oranlarda H_2S üretebilme kapasitesine sahiptir. H_2S tüm bunlara ek olarak, kolon florasında bulunan Sülfat-azaltan bakterilerin (SRB) Dissimilatör Sülfat Redüksiyon (DSR) yolunu kullanarak

oluşturduğu metabolik aktivite (fermentasyon) ile de meydana gelir. (2) Ayrıca H_2S 'in inflamatuvar yanıtları modüle ettiği ve pro-inflamatuvar durumlarda sentezinin arttığı gösterilmiştir. (129)

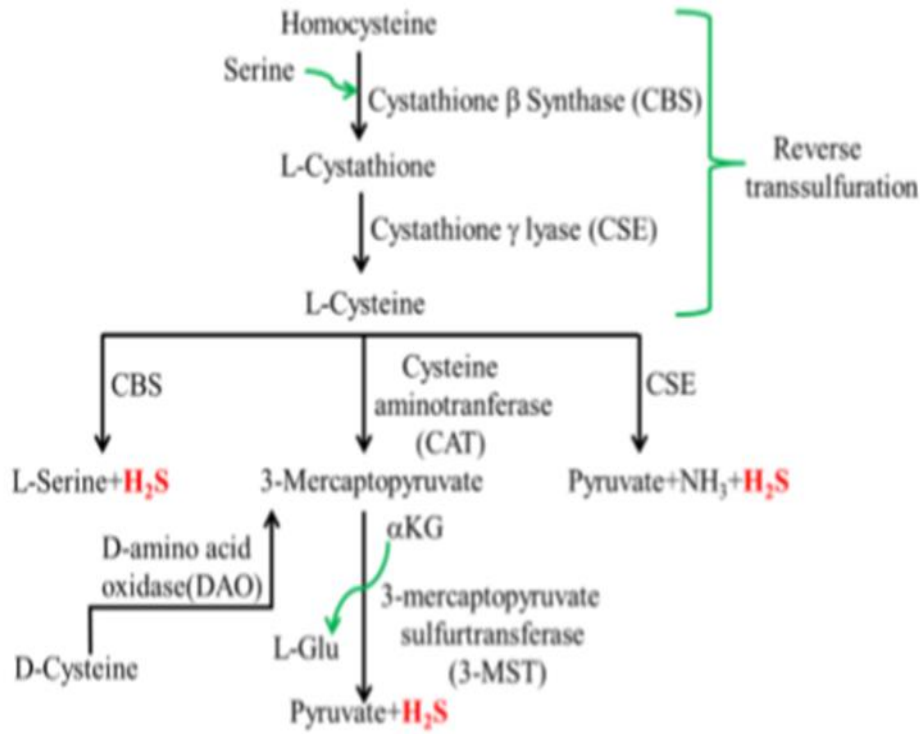


Figure 1. Biosynthesis of H_2S by mammalian cells.

Şekil 4 Memeli Hücrelerinde Hidrojen Sülfür Biyosentezi (2)

H_2S 'nin damar dokusu, karaciğer, böbrek, akciğer, gastrointestinal sistem, sinir sistemi, üreme organları, iskelet kası ve adipoz doku gibi birçok dokuda enzimatik olarak sentezlendiği belirlenmiştir (130-136). Vücutta H_2S ' in en yoğun olarak üretildiği yer gastrointestinal sistemdir. Gastrointestinal yapıda, CBS ve CSE enzimleri eksprese edilmiş ve H_2S 'nin yüksek miktarda bulunduğu rapor edilmiştir (127,137-138). Ayrıca konağın SRB (sulfat-azaltan bakterileri) dediğimiz yerleşik flora bakterileri de (hidrojen yan ürünü aynı zamanda substrattır) fermentasyon yolu ile H_2S oluşturmaktadır. (2) Normalde bu toksik gazın üretimi büyük miktarda kolonda olmaktadır; sebebi de

bağırsak bakterilerinin neredeyse tamamına yakını gastrointestinal sistemin distal bölümüne lokalize olmuştur. (139)

2.4.3 Hidrojen Sülfür Toksisitesi

İnhale edilen H_2S , alveollerden hızla kana geçerek kanda çözünür ve inhalasyon süresi ve ortamdaki gaz konsantrasyonuna bağlı olarak zehirlenme oluşturabilir. Zehirlenme belirtileri, keskin çürük yumurta kokusunun bir anda kaybolmasıyla başlar. H_2S aynı zamanda deri ve mukozalar için tahriş edicidir. Düşük kan basıncı, baş ağrısı, bulantı, iştah kaybı, kilo kaybı, gözde inflamasyon ve kronik öksürük belirtiler arasındadır. Yüksek dozlarda nefes darlığı, bilinç kaybı, kalp durması gibi ciddi merkezi sinir sistemi ve solunum sistemi sorunlarına yol açar. Zehirlenme tedavisinde kanıtlanmış bir antidot bulunmamaktadır. Tedavi genellikle solunum ve kardiyovasküler fonksiyonların desteğinden ibarettir. (190)

2.4.4 Hidrojen Sülfürün Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkileri

H_2S donörü olan sodyum hidrojen sülfürün ($NaHS$), farklı türlere ait mide fundus, ileum ve distal kolon dokularında konsantrasyona bağlı olarak gevşeme yanıtının oluşturduğu gözlemlenmiştir (137,140,141,142). Ayrıca, $NaHS$ 'nin izole fare, jejunum ve kolon preparatlarında spontan motor kompleksi, insan ve sıçan kolon preparatlarında spontan motiliteyi konsantrasyona-bağımlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (132). H_2S 'in gastrointestinal motilitenin regülasyonunda inhibitör role sahip olduğu ileri sürülmüştür (127-137). Bununla beraber H_2S 'nin gastrointestinal motilite üzerindeki etki mekanizması da tam olarak aydınlatılamamıştır.

Tablo 3 H₂S'in bağırsaktaki fizyolojik ve patolojik fonksiyonları
FİZYOLOJİK PATOLOJİK

* I/R Hasarına karşı koruma	*İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
* İnflamasyon (pro-/anti-inflamatuvar)	*Kolit
*Motilite (Eksitasyon/inhibisyon)	*Periodontit
* Nosisepsiyon (pro-/anti-nosiseptif)	*Halitozis
* Kolonik Sekresyon	*Sepsis
* Ülser iyileşmesi	*Obezite
* Antioksidan	
* Apoptozis	

Hidrojen Sülfürün mikrosirkulatuvar ve mitokondriyal organ disfonksiyonunun tedavisindeki gelecek vadede başarısı oldukça dikkat çekmektedir. (143, 144) Örneğin ekzojen H₂S, deneysel hayvan modellerinde bağırsak kan akımını arttırmış, mezenterik iskemiye azaltmış ve LPS-indüklü organ hasarından ve ölümden koruma sağlamıştır. (143,145) Dahası sepsiste ve iskemi reperfüzyon modellerinde mitokondriyal fonksiyonu idame ettirebilir ve hücre bütünlüğü sağlayabilmek adına oksijen tüketimini azaltabilir. (146,147,148) H₂S'in gastrointestinal oksijen tedarikini ve mitokondriyal solunumu K(ATP) kanalları üzerinden optimize ettiğini belirten yayınlar mevcuttur. (149, 150)

H₂S'in donörü verilerek oluşturulan suplementasyon ile trinitrobenzen sülfonik asit indüklü kolitin tedavisinde fayda sağlanabildiği gösterilmiştir. (151,152) Ayrıca H₂S'in, kemik iliği kaynaklı makrofajlarda (BMDMs) ve monosodyum ürat indüklü peritonit modelinde, NLRP3 (nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing 3) inflamazom aktivasyonunu parsiyel olarak inhibe edici etkisi olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. (153)

18 gauge stent kullanılarak CASP (Colon ascendens stent peritonitis) ameliyatı gerçekleştirilen ve deneysel peritonit sonrası sepsis gelişen ratlara endojen H₂S oluşumunu indüklemek amacıyla sodyum tiyosülfat (STS) verilmiş ve intestinal ve hepatik mikrosirkülasyonun iyileşme gösterdiği gözlemlenmiştir. Artmış H₂S'in mikrosirkülatuar perfüzyonu, vazorelaksasyonu ve oksijenasyonu arttırdığı ve ayrıca intestinal etkinin değil fakat sadece hepatik etkinin KATP kanalları üzerinden gerçekleştiği glibenklamid kullanılarak gösterilmiştir. (154)

Hidrojen sülfürün endojen doku konsantrasyonu hem türler hem de dokularda çok değişken ve çok farklıdır. Ayrıca H₂S' in ekzojen olarak uygulanmasından sonra bile dokulara özgü olarak farklı miktarlarda H₂S akümüülasyonu olmaktadır. Farelerde 60 µg. g⁻¹ sodyum hidrosülfid s.c olarak uygulandıktan sonra H₂S seviyelerinin böbrek ve beyinde %50 olarak, karaciğerde ise sadece %18 oranında arttığı gösterilmiştir. (155)

H₂S donörü NaHS ile insan ve rat kolonlarında yapılmış olan çalışmalar, H₂S 'in prosekretuar etkileri olduğunu göstermiştir. (156,157). NaHS, presinaptik olarak, splanknik sinirlerdeki hızlı eksitatuvar kolinerjik nikotinik post-sinaptik potansiyeli (fEPSPs) artırır, böylece farelerdeki kolon motilitesinin inhibisyonu gerçekleşmiş olur (158). NaHS, aynı zamanda, konsantrasyon bağımlı hiperpolarizasyonuna ve düz kas gevşemesine (138) ve ayrıca peristaltizm inhibisyonuna yol açar (127,160-162). Laboratuvar hayvanları ile yapılan çalışmalar NaHS'in kolinerjik yollarla etkileşimde olduğunu göstermiştir. Yakın zamanda yapılan rat kolon çalışmasında, NaHS'ün kolinerjik eksitatuvar bileşke potansiyelinde azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. (163). Benzer bulgular guinea-pig ileum, rat jejunum ve tavşan midesinde yapılan çalışmalarda da gözlemlenmiş olup, H₂S'in önemli oranda kolinerjik kontraksiyonları azalttığı kaydedilmiştir (137,164,165). Ayrıca inhibitor etkisi yüksek konsantrasyonlarda meydana gelmektedir. NO ile birlikte düz kasa olası sinerjik direk etkisi, aracı taşıkinerjik nöral bir yolak üzerinden olabilir. İnsan kolon çalışmasında H₂S'in yüksek konsantrasyonlarda kolon düz kasında, NO ile sinerjik olarak, endojen inhibitör bir molekül olduğu ile belirtilmiştir. Ayrıca nöral kolinerjik ve taşıkinerjik eksitatuvar yollarla azalmaya yol açmaktadır. (139) H₂S'in potansiyel rolünü araştırmak için

patofizyolojik koşullarda insan gastrointestinal sisteminde kolonik hipomotilite ile ilgili H₂S içeren (veya ek olarak NO donörleri) ok daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Deneysel nekrotizan enterokolitte H₂S uygulaması yararlı görünmektedir. H₂S ile tedavi edilen NEC'li fare yavruları marjinal kilo artışı ile beraber klinik durumlarında iyileşme, intestinal perfüzyonda artış, intestinal hasarda azalma ve kontrol grubu ile kıyaslandığında inflamatuvar belirteçlerde normalizasyon göstermiştir. Yaygın terapötik kullanım öncesinde mekanizma, salınım ve yan etkiler için daha detaylı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. (166)

Deneysel peritonit yapılmış farelerde lipoik asit etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, LA ile antiinflamatuvar yanıt alındığı, nötrofil sayılarının azaldığı ve kontrol grubuna kıyasla erken vasküler permeabiliteyi önemli ölçüde inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Peritonit modeli, peritona zymosan enjekte edilerek geliştirilmiştir. LA ise sulfan sulfur alıcısı olup, sulfan sülfürü hidrogen sülfür (H₂S) olarak salıverir ve salınan H₂S de anti-inflamatuvar aktiviteden sorumludur. Hidrogen sülfür, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1β, IL-6, TNF-α) salınımını inhibe eder. İlgili etkiler, enfeksiyonun değişik evrelerinde H₂S'in salınım hızına ve dozuna bağımlı olarak ortaya çıkar. En etkin görünen yol, H₂S'in düşük konsantrasyonlarda, yavaş yavaş ve uzun sürede salındığı durumdur. (167)

2.4.5 Hidrojen Sülfürün Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

H₂S santral sinir sistemi hastalıklarında koruyucu rol oynamaktadır. Bununla birlikte Alzheimer ve Parkinson Hastalıklarının patolojik olarak ilerlemesinin engellenmesinde H₂S'in nöroprotektif etkisi vardır ve bunu hangi mekanizma ile yaptığı tam olarak bilinmemektedir. NAHS ile yapılan bir fare çalışmasında, Parkinson Hastalığının ilerlemesinin nöronal hücre kaybının azalması ile sağlandığı gösterilmiştir. Ayrıca H₂S'in dopaminerjik nöronlarda koruyucu etkisinin olduğu ve subventriküler alanda nöral kök hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. H₂S'in Parkinson Hastalığı taşıyan erişkin fare modelinde, nöroenezisi AKT/glikojen sentaz kinaz-3β/β-katenin sinyalizasyon yolağı üzerinden arttırabileceği ile ilgili bulgular elde edilmiştir. (168)

H₂S, vasküler homeostaziste önemli bir sinyalizasyon molekülüdür, ayrıca kardiyovasküler hastalıklarda da biyomarker olarak önem kazanmaya başlamıştır. Plazma H₂S ve metabolitlerinin seviyeleri, Alzheimer Hastalığı ve ilgili demanslarda (ADRD) oluşan mikrovasküler ve kognitif disfonksiyonlarla bağlantılıdır hipotezi savunulmaktadır. Analitiksel biyokimyasal metodlarla plazma H₂S metabolitleri ölçülmüş ve ADRD'de görülen mikrovasküler hastalığı değerlendirmek için MRI kullanılmıştır. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında total H₂S ve spesifik metabolitlerinin ADRD'de yükseldiği gözlemlenmiştir. ADRD'de total plazma sülfürü en güçlü indikatördür ve kısmen kognitif disfonksiyon ve lezyon hacmi arasındaki bağlantıyı sağlar. H₂S'in demansta regülasyonu bozuktur, teşhiste ve hasta takibinde potansiyel bir biyomarkerdir. (169)

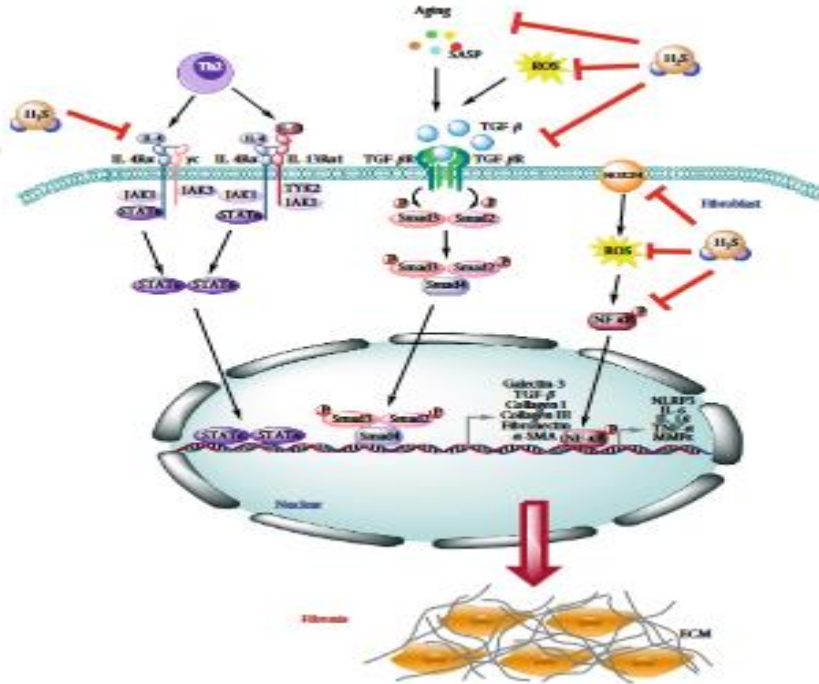
2.4.6 Hidrojen Sülfürün Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

Memelilerde kalpte, vasküler düz kasta ve vasküler endotelial hücrelerde CSE oldukça yüksek oranda bulunmaktadır. CSE, kardiyovasküler sistemde H₂S üretimini sağlayan en önemli enzimdir. Miyokardiyal fibrozis gelişiminin azaltılmasında endojen H₂S'in rolü olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır. (170) Kalp dokusunda H₂S seviyesinin azalması miyokardiyal fibrozisin ciddiyeti ile direk bağlantılıdır. (170-172) Yine yakın zamanda sıçanlarla yapılmış bir çalışmada NaHS uygulandıktan sonra myokard enfarktüsü geçirmiş hasarlı kalp bölgesinde fibroziste, tip I kollajen ve tip 3 kollajen miktarında azalma olduğunu ayrıca kalp fonksiyonlarında iyileşme olduğunu tespit etmişler. İlgili çalışma göstermiştir ki eksojen H₂S damar yoğunluğunu arttırarak ve extraselüler matrix akümüülasyonunu inhibe ederek kalp remodelingini önler. (172)

Ma ve arkadaşları, kronik aerobik egzersiz ile CSE ve 3-MST ekspresyonunun upregüle edilebildiğini gösterdiler. Ayrıca yaşlanmış ratların, orta yoğunluktaki egzersiz veya uygulanan NaHS (0.28 mol/L NaHS'ün 0.1 mL/kg intraperitoneal enjeksiyonu) ile miyokardiyal hidroksipirolin seviyeleri ve kalpteki fibrotik alanları dramatik olarak azalma göstermiştir. Özet olarak yaşlı popülasyonda gelişmiş olan miyokardiyal

fibroziste, yapılacak egzersizlerin kısmen yararlı olduğu ve bu egzersizlerin yaşlı rat kalplerindeki H₂S biyoyararlanımını arttırdığı düşünülmektedir. (173)

Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat II (NADPH) oksidaz 2 (NOX2) ve NADPH oksidaz 4 (NOX4) enzimleri, reaktif oksijen türlerinin ana kaynakları kardiyak fibroblastların ve iskemik miyokardiyumun fibrotik reaksiyonunda kilit rol oynar. NaHS'ın ve sodyum tiyosülfatın (STS) eksojen olarak tedavide verilmesi NOX2/4, ERK1/2'nin fosforilasyonunu ve ROS oluşumunu ve oksidatif stress kaynaklı miyokardiyal fibrozisi önemli oranda azaltır. (170,174) Yavaş salınımlı suda eriyen H₂S donörü GYY4137, myokard enfarktüsü sonrası gelişen advers kardiyak remodelingi azaltır ve postiskemik kardiyoprotektif rol oynar. (175)



Şekil 5 H₂S' in fibrotik hastalıklardaki mekanizması (174)

H₂S , NF-κB, TGF-β, and IL-4/STAT6 yolaklarını inhibe ederek ve ROS üretimini azaltarak etkin bir biçimde fibrozisi yavaşlatabilir. H₂S ayrıca NLRP3 inflamazonunun oluşumunu ve yaşlanma sürecini de inhibe eder. (175)

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma, 14-16 haftalık, vücut ağırlığı ortalama 250-300 gr olan 18 adet erişkin erkek Wistar-Albino sıçanla yürütüldü. Sıçanlar, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde, $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 12-saat gece/gündüz döngüsündeki normal hayvan laboratuvarı koşullarında tutuldu, besin ve su sınırlaması uygulanmadı. Bağırsak içeriğinden arınmış en uygun preparatları hazırlayabilmek ve ardından maksimum doku performansı elde edebilmek için gerçekleştirilecek tüm operasyonlardan 12 saat önce besin kısıtlamasına gidildi; su kısıtlaması yapılmadı. Tüm deneyler Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Farmakoloji ABD laboratuvarında 09:00 ve 18:00 saatleri arasında çalışılmıştır. Her bir deney grubu $n=6$ olarak planlanmış ve deney, sham ve kontrol grubu olarak planlandığı şekilde yürütülmüştür. Çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 10.10.2019 tarih ve 316 sayıyla alınan izin çerçevesinde yürütülmüştür.

3.1 İn vitro Çalışmalar

Çalışmamızda kullanılan 18 adet Wistar-Albino sıçana preanestezik olarak 3mg/kg, s.c ksilazine, anestezik olarak 90 mg/kg, s.c ketamin uygulandı. Karın tüyleri traş edildikten sonra %10'luk povidonyodin ile antiseptik temizlik yapıldı. Ortalama 3 cm'lik paramedyan cilt insizyonunun ardından laparotomi gerçekleştirildi. Cilt, karın duvarı ve periton geçildikten sonra çekum apexi daraltılıp sarı uçlu enjektör iğnesi (20 gauge) ile 4 noktadan perfore edildi. Daha önce sıçanlarda yapılmış olan klinik çalışmalarda, çalışma dizaynına uygun olarak yapılan çekum perforasyonundan sonraki 24 saat içinde meydana gelen sepsis ve peritonit teşhisi, fiziki muayene ile konulduğu için bu çalışmada da deney grubu hayvanlarında batında gelişen renk değişimi ve yapışıklıklar peritonit teşhisi için kılavuz olmuştur. Peritonda ve organlarda gelişen yapışıklıklar, peritonit diğer bulguları ile koordineli olarak konfirme edildiği takdirde 24. saatte deney grubu hayvanlarına ikinci laparotomiler gerçekleştirilmiştir. Deney ve sham grubu ratlar, 2.laparotominin ardından ileum ve kolon eksizyonları yapıldıktan sonra protokole uygun olarak sakrifiye edilmiştir. Kontrol grubu ratlar ise yapılan tek

laparotomi sonrası dokuların alınmasını takiben diğer gruplarla eş zamanlı olarak kurban edilmektedir.

Eksize edilen ileum ve kolon preparatları, Krebs solüsyonu (sırasıyla Mm/lt NaCl 115,48 KCl 4,61, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.16, NaHCO₃ 21,9 NaH₂PO₄ 1.14, glukoz 10,09) bulunan petri kabında gaita ve yağ tabakasından temizlenip 3x4 mm ölçüsünde hazırlanan preparatlar halinde izole organ banyosuna asılmıştır. Her seferinde 2 ileum ve 2 kolon preparatı asılan ve Krebs Çözeltisi içeren izole organ banyosu, 37°C sıcaklıkta %95 O₂ %5 CO₂ ile havalandırılmıştır. Her 15 dakikada bir olmak üzere 4 kez yıkama yapılarak dokular ilaç uygulamaları ve EAU için optimal hale getirilmiştir.

Sham grubu



Peritonit grubu



Peritonit grubu



Kontrol grubu



İzole Organ Banyosu



Tartıldıktan hemen sonra sham grubu hayvanlara preanestezik olarak 3 mg/kg s.c ksilazine ardından anestezik olarak 90 mg/kg, s.c ketamin uygulandı. 15 dakikalık bekleme periyodundan sonra anestezi kontrolü yapıp, karın tüyleri traş edildi. Antiseptik ile karın cildi temizliği yapıp operasyona geçildi. 3 cm uzunluğunda paramedyan cilt kesisinin ardından laparotomi gerçekleştirildi. Daha sonra sırasıyla periton, karın duvarı ve cilt kapatılıp kafeste tek olarak muhafaza edildi. 24 saat sonra anestezi protokolü tekrarlanıp ardından antisepsi ve laparotomi işlemine geçildi. Çekum kılavuz olarak alınıp, 4 cm uzunluğunda ileum ve ardından 4 cm uzunluğunda çıkan kolon ekzizyonu gerçekleştirildi. Dokular, Krebs solüsyonu içeren petri kaplarında lümen temizliği yapıldıktan ve seroza tabakası üstündeki katmanlardan ayrıldıktan sonra 3x4 mm ölçülerindeki preparatlar olarak Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD Laboratuvarında izole organ banyolarına asıldılar. İzole organ banyosuna konulan Krebs çözeltisi 37°C sıcaklıkta %95 O₂ %5 CO₂ ile

havalandırılmıştır. Her 15 dakikada bir olmak üzere 4 kez yıkama yapılarak dokular dinlendirilmiş ve ilaç uygulamaları ve EAU için uygun koşullar sağlanmıştır.

Deney grubu deney hayvanlarına tartı işleminden hemen sonra preanestezik olarak 3 mg/kg s.c ksilazine ardından anestezik olarak 90 mg/kg, s.c ketamin uygulandı. 15 dakikalık bekleme peryodundan sonra anestezi kontrolü yapıp, karın tüyleri traş edildi. Antiseptik ile karın cildi temizliği yapıp operasyona geçildi. 3 cm uzunluğunda paramedyan cilt kesisinin ardından laparotomi gerçekleştirildi. Çekum sarı uçlu enjektör iğnesi ile apexi 3.0 inceliğindeki sütür ipliği ile daraltıldıktan sonra 4 farklı noktadan perfore edildi. Daha sonra sırasıyla periton, karın duvarı ve cilt kapatılıp, ratın anestezi etkisinden çıktığından emin olunduktan sonra rat kafeste tek olarak muhafaza edildi. 24 saat sonra anestezi protokolü tekrarlanıp ardından antisepsi ve laparotomi işlemine geçildi. Bağırsaklarda görülen renk değişikliği, periton ve organ yapışıklıkları ve yer yer nekrozlar peritonit bulgusu olarak teyit edildikten sonra çekum kılavuz olarak alınıp, 4 cm uzunluğunda ileum ve ardından 4 cm uzunluğunda çıkan kolon ekzizyonu gerçekleştirildi. Tüm ratlar işlem sonrası protokole uygun olarak kurban edildi. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD Laboratuvarı'nda Krebs çözeltisi içeren petri kaplarında preparatların lümen temizliği yapıp seroza tabakası üzerindeki diğer katmanlardan ayrıştırıldıktan sonra 3x4 mm ölçüsünde hazırlanan preparatlar halinde izole organ banyosuna asılmıştır. İzole organ banyosuna konulan Krebs çözeltisi 37°C sıcaklıkta %95 O₂ %5 CO₂ ile havalandırılmıştır. Her 15 dakikada bir olmak üzere 4 defa yıkama yapılarak dokular 1 saat dinlendirilmiş ve ilaç uygulamaları ve EAU için uygun koşullar sağlanmıştır.

3.2 Kan örneklerinin alınması ve saklanması

Peritonit takibi için kullanacağımız parametreler daha önceden konuyla ilgili yapılmış çalışmalar baz alınarak CRP, prointerlökin 1 beta ve tnf alfa olarak belirlendi. Deney, kontrol ve sham grubu ratlardan kan alındı. Kan örnekleri serum ayırıcı tüplere (serum separator tube: SST) ve biyokimya için EDTA'lı mor kapaklı tüplere alındı. CRP analizi Merkez laboratuvarı'nda immünotürbidimetrik kantitatif analiz metodu ile (COBAS CRP4), prointerlökin 1 beta ve tnf alfa analizleri ise Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi'nde (CÜTFAM) ELISA yöntemi ile çalışıldı.

3.3 İzole Organ Banyosu Protokolü

Ratlardan 'de edilen preparatlar Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD Laboratuvarı'nda izole organ banyosuna yerleştirildi. Organ banyosu 37 °C sıcaklıkta, sirküle edilen (ısıtıcı ve sirkulatuar sistem- MAY heating circulator), ilaç uygulamaları veya EAU başlayana dek karbojenize (%95 O₂, %5 CO₂) Krebs Çözeltisi olarak 15' er dakika aralıklarla olmak üzere 4 kez değiştirilmiştir. Organ banyosuna asılan dokulara 1g ön gerim verilmiştir. Yıkamalar esnasında bozulan tonus tekrar 1 gram olarak düzeltilmiştir.

3.4. Elektriksel Alan Uyarısı Aracılı Kasılma Yanıtları Deney Protokolü

Her bir rat için 10 ml hacmindeki organ banyosuna asılan 1 ileum ve 1 kolon preparatı, izometrik kasılmaları kaydetmek için halka tel içinden geçirilip Grass izometrik kuvvet transdüserine (FT 03, Grass Instruments, Quincy, MA, ABD) bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. Transdüserler aracılığı ile dokuların izometrik düz kas kasılma ve gevşemeleri Grass marka kayıt sisteminde (79 E, Grass Instruments, Quincy, MA, ABD) kaydedilmiştir.

EAU aracılı kasılma yanıtları 120 sn aralıkla toplam 5 sn. süreyle 10 V, 1 ms. parametrelerinde ve 2 Hz., 4 Hz., 8 Hz.,16 Hz ve 32 Hz. frekanslarında olan kasılmalar sonrasında alınmıştır. Submaximal kasılma olarak 16 Hz baz olarak alındı. EAU aracılı kasılma yanıtları, sempatik sinir sisteminin ve prostaglandinlerin etkisini ortadan kaldırmak için, sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin (10⁻⁶ M) ve siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10⁻⁵ M) varlığında alınmıştır. Guanetidin ve indometazin organ banyosuna EAU aracılı stimulusa başlamadan 15 dk. önce eklenmiştir.

3.5. İzole Organ Banyosunda Alınan Yanıtların Tanımlanması

Her bir deneyde kontrol, sham ve deney grubundan elde edilen kolon ve ileum stripleri EAU yapılacak olanlar hariç 10⁻⁶ M karbakol ile prekontrakte edilmiştir. Karbakol konsantrasyonu laboratuvarımızda daha önce yapılmış olan kolon deneylerinde hesaplanmış olan submaksimal konsantrasyon 10⁻⁶ M ile yapılmıştır. Protokole uygun olarak karbakolle kasılmış olan ileum ve kolon preparat banyolarına plato elde

edildikten sonra H₂S donörü olan NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M), L-sistein (endojen H₂S üretimi prekürsörü) (10^{-6} - 3.10^{-3} M) DL- proparjilglisin (PAG-CSE enzim inhibitörü) (10^{-6} - 3.10^{-3} M) eklenerek kasılma yanıtları üzerine etkileri incelendi. Ayrıca nitrik oksit etkisini bloke etmek amacıyla ortama L-NAME(10^{-4}) eklenmiştir.

3.5.1. İzole Organ Banyosunda Antagonist Olmadan Alınan Yanıtlarının Değerlendirilmesi

1. Karbakolle Kasılmış Bağırsak Preparatlarında H₂S ile Alınan Yanıtların İncelenmesi

Kontrol, sham ve deney gruplardan elde edilen bağırsak preparatları izole organ banyosunda 15 dakikada bir yıkama yapılmak kaydıyla 60 dakika dinlendirilmiştir. İleum ve kolon preparatları 10^{-6} M karbakol ile kasılmıştır. Kasılmayı takiben plato çizen dokulara kümülatif olarak H₂S donörü olan NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M) verilmiştir.

2. Karbakolle Kasılmış Bağırsak Preparatlarında L-sistein ile Alınan Yanıtların İncelenmesi

Kontrol, sham ve deney gruplardan elde edilen bağırsak preparatları izole organ banyosunda 15 dakikada bir yıkama yapılmak kaydıyla 60 dakika dinlendirilmiştir. İleum ve kolon preparatları 10^{-6} M karbakol ile kasılmıştır. Kasılmayı takiben plato çizen dokulara kümülatif olarak L-sistein (10^{-6} – 3.10^{-3} M) verilmiştir.

3. Karbakolle Kasılmış Bağırsak Preparatlarında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi

Kontrol, sham ve deney gruplardan elde edilen bağırsak preparatları izole organ banyosunda 15 dakikada bir yıkama yapılmak kaydıyla 60 dakika dinlendirilmiştir. İleum ve kolon preparatları 10^{-6} M karbakol ile kasılmıştır. Kasılmayı takiben plato çizen dokulara kümülatif olarak CSE enzim inhibitörü D,L PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M) verilmiştir.

3.5.2. İzole Organ Banyosunda NO Bağımsız Olarak Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

1. Karbakolle Kasılmış Bağırsak Preparatlarının L-NAME varlığında NAHS ile Oluşturduğu Yanıtların İncelenmesi

Kontrol, sham ve deney gruplardan elde edilen bağırsak preparatları izole organ banyosunda 15 dakikada bir yıkama yapılmak kaydıyla 60 dakika dinlendirilmiştir. Ortama 20 dakika öncesinden L-NAME konulmuştur. Bağırsak preparatları 10^{-6} M karbakol ile kasılmıştır. Kasılmayı takiben plato çizen dokuya kümülatif olarak NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M) verilmiştir.

2. Karbakolle Kasılmış Bağırsak Preparatlarının L-NAME varlığında L-Sistein ile Oluşturduğu Yanıtların İncelenmesi

Kontrol, sham ve deney gruplardan elde edilen bağırsak preparatları izole organ banyosunda 15 dakikada bir yıkama yapılmak kaydıyla 60 dk dinlendirilmiştir. Ortama 20 dakika öncesinden L-NAME konulmuştur. Bağırsak preparatları 10^{-6} M karbakol ile kasılmıştır. Kasılmayı takiben plato çizen dokuya kümülatif olarak L-sistein (10^{-6} – 3.10^{-3} M) verilmiştir.

3. Karbakolle Kasılmış Bağırsak Preparatlarının L-NAME varlığında DL-PAG ile Oluşturduğu Yanıtların İncelenmesi

Kontrol, sham ve deney gruplardan elde edilen bağırsak preparatları izole organ banyosunda 15 dakikada bir yıkama yapılmak kaydıyla 60 dk dinlendirilmiştir. Ortama 20 dakika öncesinden L-NAME konulmuştur. Bağırsak preparatları 10^{-6} M karbakol ile kasılmıştır. Kasılmayı takiben plato çizen dokuya kümülatif olarak PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M) verilmiştir.

3.6. EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Tanımlanması:

3.6.1 EAU Aracılığıyla Antagonist Olmadan Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

Preparatlarda kontrol, sham ve deney gruplarında guanetidin ve indometazin varlığında 16 Hz EAU ile kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilleştikten sonra ortama kümülatif olarak NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M), L-sistein (endojen H₂S üretimi prekürsörü) (10^{-6} – 3.10^{-3} M) D, L- proparjilglisin (PAG-CSE enzim inhibitörü) (10^{-6} – 3.10^{-3} M) eklenerek EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları incelendi.

3.6.2 EAU Aracılığıyla NO Bağımsız Olarak Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

1.Kolinerjik Kasılma Yanıtları üzerine Hidrojen Sülfürün etkisi

Kontrol, sham ve deney gruplarında guanetidin ve indometasin varlığında 16 Hz EAU ile kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilleştikten sonra ortamda L-NAME mevcut iken H₂S donörü olan NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M) eklenerek EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları incelendi.

2. Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine L-Sistein'in Etkisi

Kontrol, sham ve deney gruplarında guanetidin ve indometasin varlığında 16 Hz EAU ile kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilleştikten sonra ortamda L-NAME mevcut iken L-sistein (10^{-6} – 3.10^{-3} M) eklenerek EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları incelendi.

3. Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine DL-PAG 'ın Etkisi

Kontrol, sham ve deney gruplarında guanetidin ve indometasin varlığında 16 Hz EAU ile kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilleştikten sonra ortamda L-NAME mevcut iken DL-PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M) eklenerek EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları incelendi.

3.7. Deneyde Kullanılan Solüsyon ve Gereçler

1. İzole Organ Banyosu
2. İzole Organ Banyosu Transducer (Grass Instruments, Quincy, MA, ABD)
3. İzole Organ Banyosu Kayıt Sistemi (Grass Instruments, Quincy, MA, ABD)
4. Elektriksel Alan Uyarısı Sinyal Cihazı (Grass Instruments, Quincy, MA, ABD)
5. NaHS – Cayman Chemical
6. İndometasin – Sigma Life Sciences
7. Guanetedin – Sigma Life Sciences
8. L-NAME – Sigma Life Sciences
9. L-sistein – Sigma Life Sciences
10. Karbakol – Sigma Life Sciences
11. Atropin – Sigma Life Sciences
12. D-L PAG – Sigma Life Sciences
13. Krebs Solüsyonu-Ileum, kolon
14. Petri- Cerrahi Malzeme - 3.0 ipek suture (non-absorbant)
15. Anestezi İlaçları (Ketamin-Pfizer, Ksilazine-Bayer)
16. MAY heating Circulator
17. 18 adet Wistar-Albino rat.

3.8 İstatiksel Analizler ve Verilerin Sunumu

Verilerin analizi konusunda; Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart hata değerleri ile sunulmuştur. Gevşeme düzeylerinin çalışma grupları arasında farklı olup olmadığının incelenmesi amacı ile Friedman test analizi ve farklı olan grupların tespit edilmesi amacı ile ikili karşılaştırma testleri (Post Hoc) uygulanmıştır. Çalışmada $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS 22.0 paket programı ile yapılmıştır. Grafikler GraphPad 7.0d programı ile çizilmiştir.



4. BULGULAR

İzole Organ Banyosunda Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında hidrojen sülfüre bağlı olan gevşemeler, kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir.

Sham grubu dataları ve kontrol grubu dataları rakamsal olarak birbirlerine çok yakın oldukları ve verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmediği için tez analizleri görsel olarak yalnızca kontrol grubu ve deney grubu olarak sunulmuştur.

4.1 L-sistein ile Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

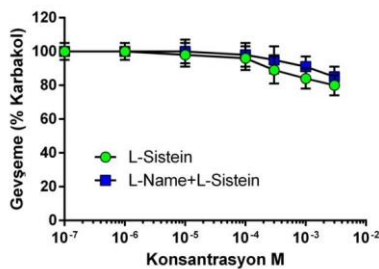
4.1.1 L-sistein ile Karbakol Kasılma Sonrası Alınan Yanıtların İncelenmesi

10^{-6} M Karbakol ile kasılan dokularda L-sistein (10^{-6} – $3 \cdot 10^{-3}$ M)'in ileum kontrol grubunda % 17.4 ± 1.2 , deney grubunda % 17.2 ± 1.6 ; kolon kontrol grubunda % 18.6 ± 3.1 , deney grubunda ise % 17.3 ± 1.9 ' luk bir gevşetici etkisi olmuştur. (n=6)

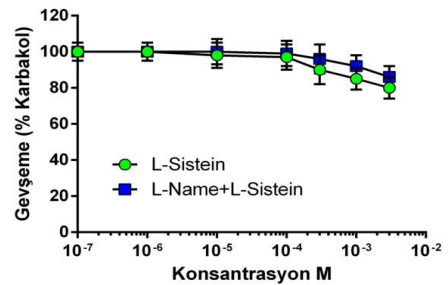
4.1.2. EAU etkisi altında L-Sistein ile Alınan Yanıtların İncelenmesi

EAU etkisi altında L-sistein (10^{-6} – $3 \cdot 10^{-3}$ M)'in ileum kontrol grubunda % 19.1 ± 0.6 , deney grubunda % 16.3 ± 0.3 ; kolon kontrol grubunda % 20.6 ± 1.6 , deney grubunda ise % 12.6 ± 1.5 ' luk bir gevşetici etkisi olmuştur. (n=6, 16 Hz)

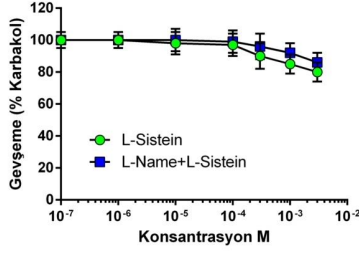
4.1.3 L-NAME varlığında L-Sistein ile Alınan Yanıtların İncelenmesi



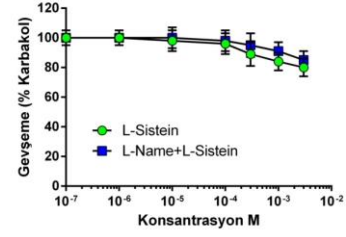
Grafik 1: L-Sistein/L-NAME ileum kontrol grubu yanıtı



Grafik 2: L-Sistein/L-NAME ileum deney grubu yanıtı



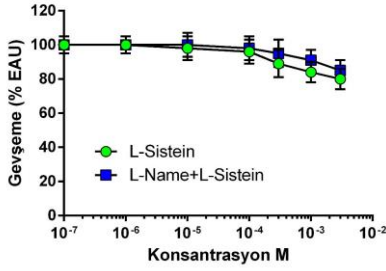
Grafik 3: L-Sistein/L-NAME kolon kontrol grubu yanıtı



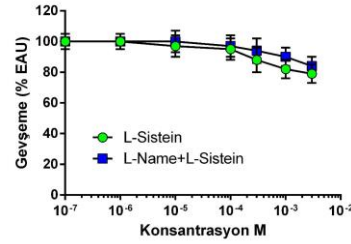
Grafik 4: L-Sistein/L-NAME kolon deney grubu yanıtı

L-NAME varlığında 10^{-6} M Karbakol ile kasılan dokularda L-sistein (10^{-6} – 3.10^{-3} M)'in ileum kontrol grubunda 15.3 ± 1.1 , deney grubunda 15.2 ± 1.1 ; kolon kontrol grubunda 15.7 ± 3.8 , deney grubunda ise 14.8 ± 3.6 'lık bir gevşetici etkisi olmuştur. ($p > 0,05$, $n=6$)

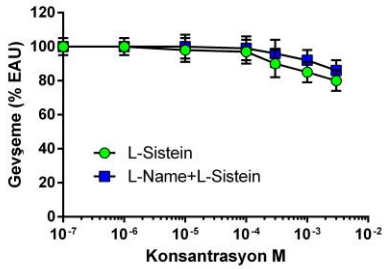
4.1.4 EAU ile L-NAME etkisi altında L-Sistein ile Alınan Yanıtların İncelenmesi



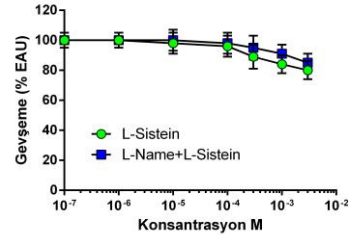
Grafik 5: L-Sistein/L-NAME İleum Kontrol grubu yanıtı



Grafik 6: L-Sistein/L-NAME İleum Deney grubu yanıtı



Grafik 7: L-Sistein/L-NAME Kolon Kontrol grubu yanıtı



Grafik 8: L-Sistein/L-NAME Kolon Deney grubu yanıtı

EAU etkisi altında L-NAME varlığında L-sistein (10^{-6} – 3.10^{-3} M)'in ileum kontrol grubunda 17.3 ± 0.7 , deney grubunda 14.5 ± 0.8 ; kolon kontrol grubunda 18.1 ± 2.6 , deney grubunda ise 10.8 ± 2.2 ' lik bir gevşetici etkisi olmuştur. ($p > 0,05$, $n=6$, 16 Hz)

4.2. DL-PAG ile Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

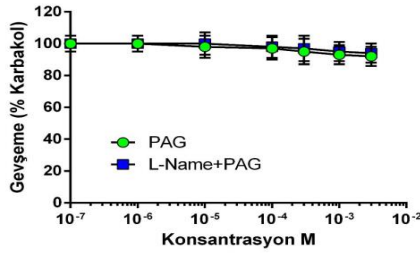
4.2.1 DL-PAG ile Karbakol Kasılma Sonrası Alınan Yanıtların İncelenmesi

Yapılan deneyde 10^{-6} M Karbakol ile kasılan dokularda DL-PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M)'ın ileum kontrol grubunda $\% 5.2 \pm 0.9$, deney grubunda $\% 8.9 \pm 2.3$; kolon kontrol grubunda $\% 2.3 \pm 0.4$, deney grubunda ise $\% 3.5 \pm 0.6$ ' lık bir gevşetici etkisi olmuştur. (n=6)

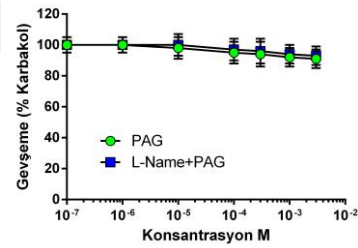
4.2.2. EAU etkisi altında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi

EAU etkisi altında DL-PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M)'ın ileum kontrol grubunda $\% 2.7 \pm 0.2$, deney grubunda $\% 7.7 \pm 0.5$; kolon kontrol grubunda $\% 3.6 \pm 0.6$, deney grubunda ise $\% 4.1 \pm 2.5$ 'luk bir gevşetici etkisi olmuştur. (n=6, 16 Hz)

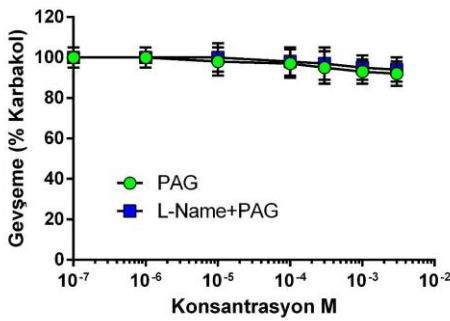
4.2.3 L-NAME varlığında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi



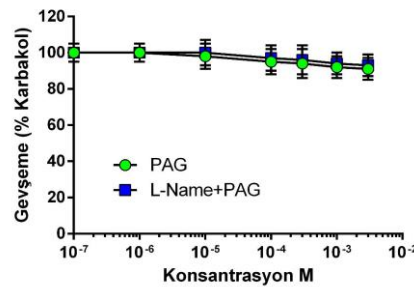
Grafik 9: DL-PAG L-NAME ileum kontrol grubu yanıtı



Grafik 10: DL-PAG L-NAME ileum deney grubu yanıtı



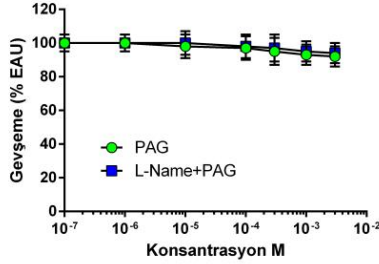
Grafik 11: DL-PAG L-NAME kolon kontrol grubu yanıtı



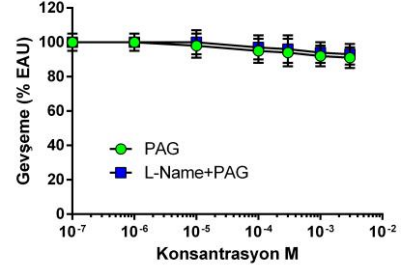
Grafik 12: DL-PAG L-NAME kolon deney grubu yanıtı

L-NAME varlığında 10^{-6} M Karbakol ile kasılan dokularda DL-PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M)'ın ileum kontrol grubunda $\% 4.4 \pm 0.5$, deney grubunda $\% 7.3 \pm 2.6$; kolon kontrol grubunda $\% 1.9 \pm 0.2$, deney grubunda ise $\% 2.7 \pm 0.7$ ' lik bir gevşetici etkisi olmuştur. (p >0,05, n=6)

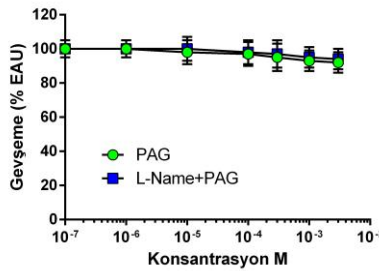
4.2.4 EAU ile L-NAME etkisi altında DL-PAG ile Alınan Yanıtların İncelenmesi



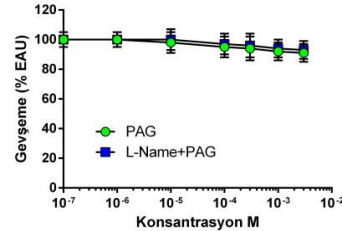
Grafik 13: DL-PAG L-NAME Ileum Kontrol grubu yanıtı



Grafik 14: DL-PAG L-NAME Ileum Deney grubu yanıtı



Grafik 15: DL-PAG L-NAME Kolon Kontrol grubu yanıtı

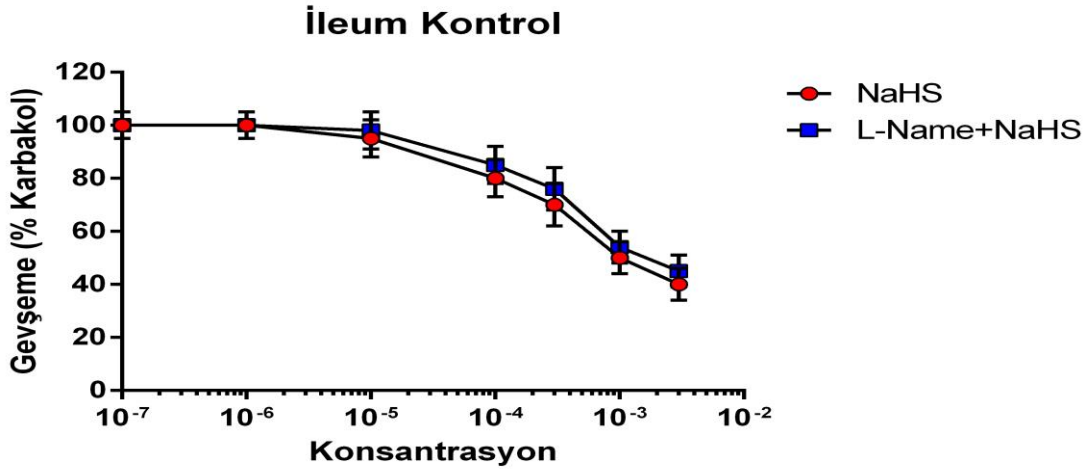


Grafik 16: DL-PAG L-NAME Kolon Deney grubu yanıtı

EAU etkisi altında L-NAME varlığında DL-PAG (10^{-6} – 3.10^{-3} M)'ın ileum kontrol grubunda $\% 1.8 \pm 0.3$, deney grubunda $\% 6.6 \pm 1.1$; kolon kontrol grubunda $\% 2.7 \pm 0.9$, deney grubunda ise $\% 3.5 \pm 0.8$ ' lik bir gevşetici etkisi olmuştur. ($p > 0,05$, $n=6$, 16 Hz)

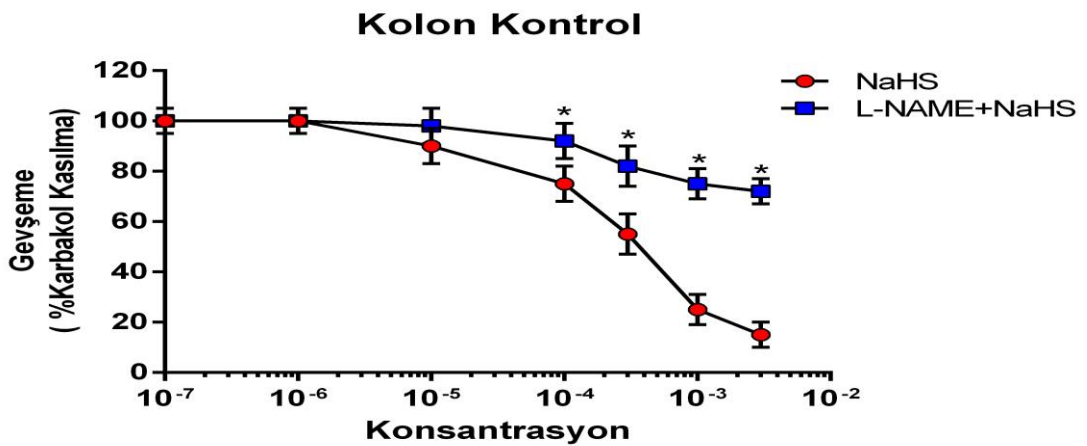
4.3. NaHS ile Alınan Yanıtların Değerlendirilmesi

4.3.1. L-NAME varlığında karbakol sonrası kontrol gruplarında NaHS ile Alınan Yanıtların İncelenmesi



Grafik 17.İleum Kontrol grubunda L-NAME varlığında NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M) etkisi

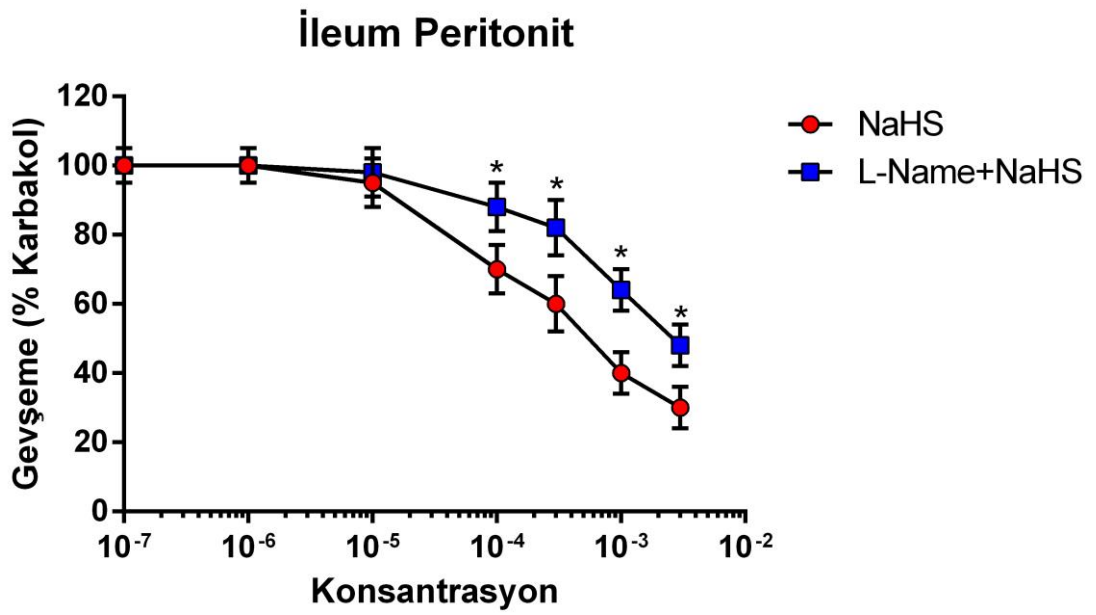
İleum kontrol grubunda tek başına NaHS ile 58.2 ± 2.3 ' lük bir gevşeme görülmüştür. NaHS'in kolinerjik kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkisi, L-NAME varlığında azaldı fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Grafik 18. Kolon Kontrol grubunda L-NAME varlığında NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M) etkisi

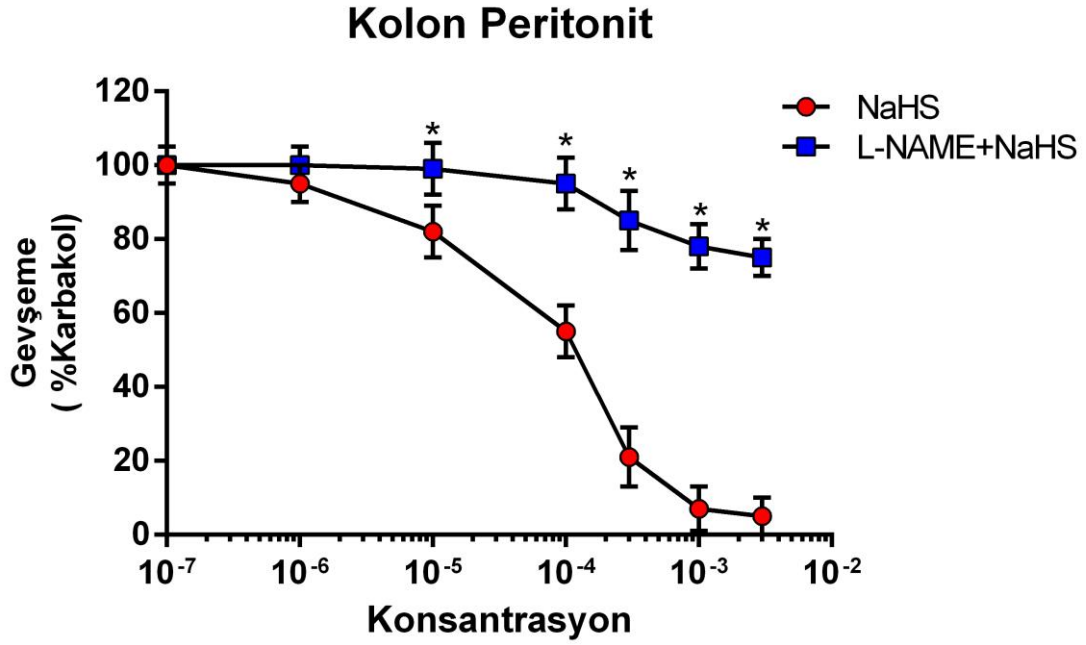
Kolon kontrol grubunda tek başına NaHS ile 85.9 ± 8.6 lık bir gevşeme görülmüştür. NaHS'in kolinerjik kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkisi, L-NAME varlığında 60.6 ± 4.8 oranında azaldı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p < 0,05$, $n=6$)

4.3.2. L-NAME varlığında karbakol sonrası deney gruplarında NaHS ile Alınan Yanıtların İncelenmesi



Grafik 19. İleum deney grubunda L-NAME mevcudiyetinde 10^{-6} Karbakol ile kasılan dokularda NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M) etkisi

İleum deney grubunda tek başına NaHS ile 72.3 ± 8.9 'luk bir gevşeme görülmüştür. NaHS'ün kolinerjik kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkisi, L-NAME varlığında 18.9 ± 2.4 oranında azaldı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p < 0,05$, $n=6$)



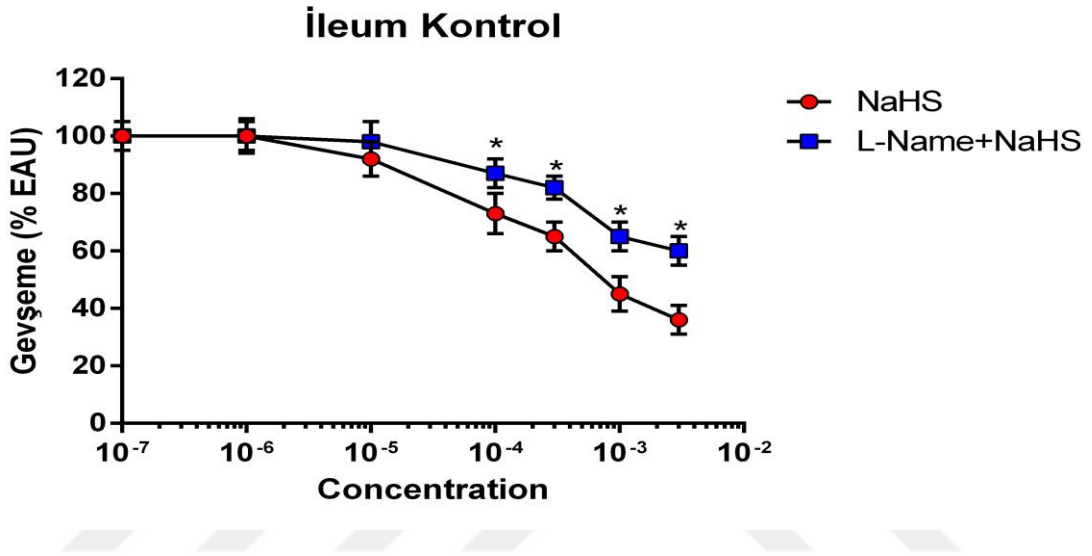
Grafik 20. Deney grubunda L-NAME mevcudiyetinde 10^{-6} Karbakol ile kasılan dokularda NaHS (10^{-7} – 3.10^{-3} M) etkisi

NaHS uygulanan kolon deney gruplarında tek başına NaHS ile 96.1 ± 3.6 'lık bir gevşeme yanıtı görülmüştür. NaHS'in kolinerjik kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkisi, L-NAME varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi. L-NAME varlığında alınan gevşeme yanıtı ise 20.7 ± 1.3 olarak ölçüldü. ($p < 0,05$, $n=6$)

Kolon ve ileum deney dokuları kıyaslandığında kolonda oluşan gevşemelerin ileumdakilere nazaran daha yüksek amplitüd ve frekansta olduğu saptanmıştır. Her iki grupta da L-NAME varlığında NaHS ile oluşan inhibitör yanıtların ileum kontrol grubu dışında istatistiksel anlamlı olarak geri döndüğü gözlemlenmiştir.

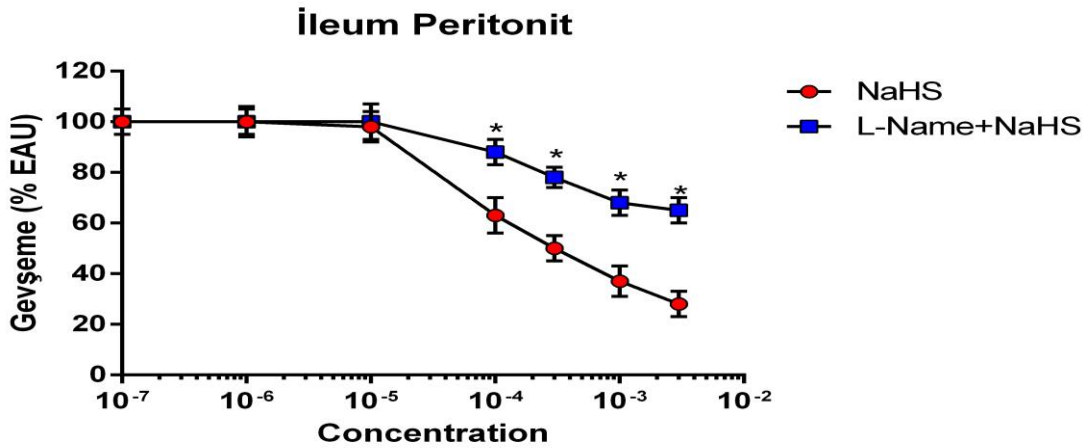
4.3.3 L-NAME varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma yanıtları üzerine NaHS etkisinin incelenmesi

4.3.3.1 İleum Dokusunda L-NAME varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma yanıtları üzerine NaHS etkisinin incelenmesi



Grafik 21. EAU (16 Hz) ile kasılan dokularda L-NAME mevcudiyetinde NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M) etkisi.

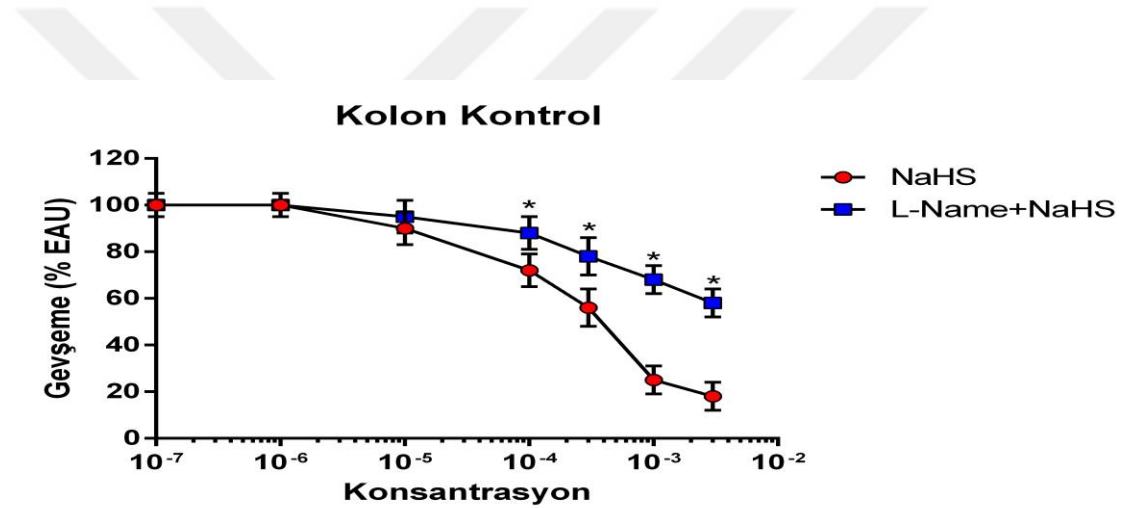
NaHS uygulanan ileum kontrol gruplarında tek başına NaHS ile 62.7 ± 2.2 'lik bir gevşeme yanıtı görülmüştür. L-NAME varlığında gevşeme yanıtı 24.3 ± 0.3 oranında azaldı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p < 0,05$, $n=6$, 16 Hz)



Grafik 22. EAU (16 Hz) ile kasılan dokularda L-NAME mevcudiyetinde NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M) etkisi

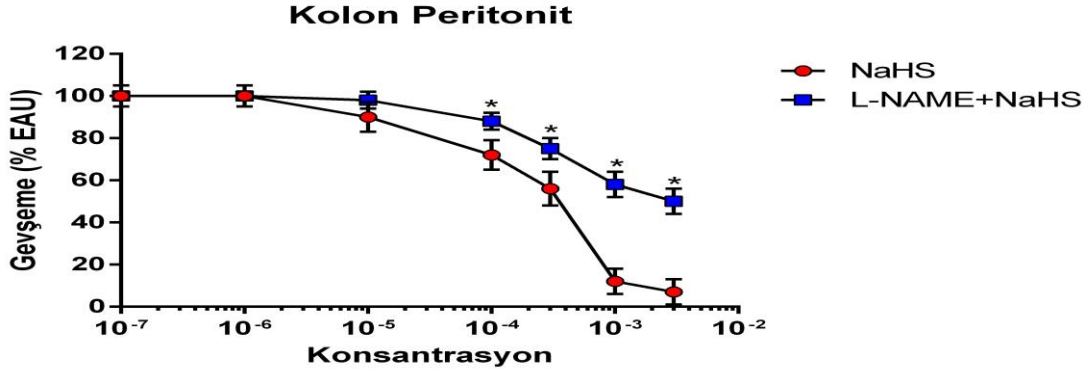
NaHS uygulanan ileum deney gruplarında tek başına NaHS ile 70.8 ± 9.6 'lık bir gevşeme yanıtı görülmüştür. L-NAME varlığında gevşeme yanıtı 40.7 ± 2.0 oranında azaldı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p < 0,05$, $n=6$, 16 Hz)

4.3.3.1 Kolon Dokusunda L-NAME varlığında EAU Aracılı Kolinergik Kasılma yanıtları üzerine NaHS'ün etkisinin incelenmesi



Grafik 23. EAU (16 Hz) ile kasılan dokularda L-NAME mevcudiyetinde NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M) etkisi

NaHS uygulanan kolon kontrol gruplarında tek başına NaHS ile 84.7 ± 6.9 'luk bir gevşeme yanıtı görülmüştür. L-NAME varlığında gevşeme yanıtı 43.5 ± 1.5 oranında azaldı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p < 0,05$, $n=6$, 16 Hz)



Grafik 24. EAU (16 Hz) ile kasılan dokularda L-NAME mevcudiyetinde NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M) etkisi.

NaHS uygulanan kolon deney gruplarında tek başına NaHS ile 95.6 ± 6.9 'luk bir gevşeme yanıtı görülmüştür. L-NAME varlığında gevşeme yanıtı 45.2 ± 1.7 oranında azaldı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p < 0,05$, $n=6$, 16 Hz)

4.4 Kan Örneklerinin Değerlendirilmesi

Çalıştığımız CRP dahil tüm inflamatuvar belirteçlerin deney grubu hayvanlarda kontrol grubu değerlerine kıyasla göreceli olarak yükseldiğini gözlemledik.

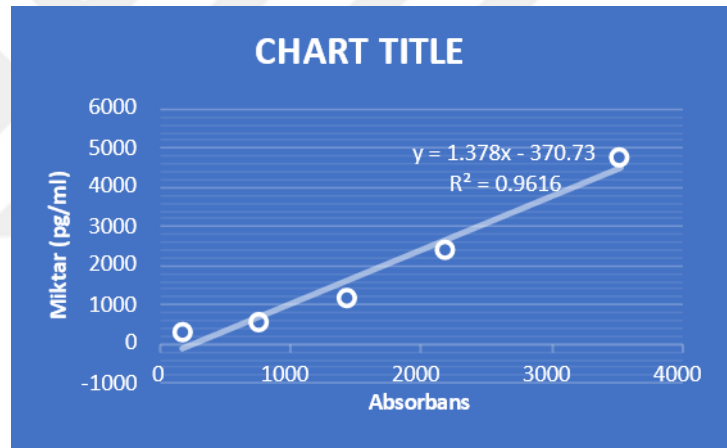
Aldığımız kan örneklerinde ELISA testi ile yaptığımız değerlendirmelerde proIL-1 β ve TNF- α değerlerinin kontrol ve sham gruplarında birbirine benzer olduğunu; deney grubu örneklerinde ise istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu tespit ettik. Daha detaylı bilgi edinebilmek için doku bazında da histopatolojik değerlendirme yapmak gerekmektedir.

Tablo V. Kontrol, sham ve deney grubu serum proIL-1 ve TNF- α seviyeleri.

Gruplar	proIL-1 (pg/ml)	TNF- α (ng/ml)
Kontrol (n=6)	59,24 $\pm$ 7,73	57,39 $\pm$ 6,51
Sham (n=6)	58,09 $\pm$ 8,47	59,49 $\pm$ 8,10
Deney (n=6)	82,90 $\pm$ 12,03 ^{a,b}	80,77 $\pm$ 6,61 ^{a,b}

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur (n=6). (^aP < 0,01, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^bP < 0,01, sham grubu ile karşılaştırıldığında)

Tablo IV. Kontrol, sham ve deney grubu serum proIL-1 ve TNF- α seviyeleri



Grafik 25. Absorbans ve konsantrasyon arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel peritonit oluşturulmuş rat ileum ve kolonunda hidrojen sülfürün motilite üzerine etkisi ve olası etki mekanizmaları in vitro olarak araştırılmıştır. Fizyolojik koşullar altında solüsyonlardaki NaHS'ün % 18,5 kadarı H₂S olarak bulunur. Dolayısıyla hem organ banyosundaki hem de çalışılan dokulardaki H₂S konsantrasyonu oldukça düşük olacaktır.(188) Tüm bu bilgilerin ışığı altında, literatüre paralel olarak deneylerimiz sonucunda da hidrojen sülfürün tüm gruplarda gevşetici etkisi olduğu görüldü. İnhibitör maddeler, karbakol ve EAU ile kasılma yanıtları alınmadan önce uygulandı. Kolon kontrol grubunda gözlenen kontraksiyonlar, ileum kontraksiyonları ile kıyaslandığında daha yüksek frekansta ve amplitüdeydi. Kolon deney grubunda oluşan gevşemeler hem kontrol grubuna hem de tüm ileum gruplarına kıyasla oldukça belirgindi. Bu belirgin gevşemelerin muhtemel sebeplerinden biri, peritonitte oluşan inflamasyona bağlı olarak fazla miktarda salındığı düşünülen endojen hidrojen sülfür ve nitrik oksit ile olan etkileşimi olabilir. (183, 187)

Daha önce laboratuvarımızda kolon dokusunda yapılan çalışmalarla benzer şekilde bizim çalışmamızda da atropin kasılma yanıtlarını ortadan kaldırmıştır. Aynı zamanda kolondaki EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarının tetradotoksin (TTX) ile ortadan kalktığı gösterilmiştir. (138, 139)

İn vivo ve in vitro yapılmış birçok çalışma, H₂S'in farklı hedefler üzerinden değişik dokularda inflamatuvar süreçlerde modülatör olarak önemli bir role sahip olduğunu gösteren kanıtlar sunmuştur. Hidrojen sülfürün peroksinitriti ortamdan uzaklaştırdığı ve nötrofiller ile etkileşimde olup antimikrobiyal etki gösterdiği ile ilgili yayınlar mevcuttur.(182) Nötrofil apoptozisini indükler ve inflamatuvar reaksiyonların rezolüsyonuna katkıda bulunur. H₂S'in antiinflamatuvar etkisini hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiği tam olarak açıklanamamakla beraber sıçan mesanesinde kapsaisin duyarlı primer afferent nöronları stimule ettiğini, glibenklamid ile antiinflamatuvar ve antinosiseptif etkilerinin bloke edilebilmesi nedeniyle bu etkilerin ATP duyarlı K⁺ kanalları aktivasyonu yoluyla olduğunu, diğer antiinflamatuvar etkilerinin hem oksijenaz-I ve CO üretiminin upregülasyonu yoluyla oluştuğunu ve NF- κ B yolağının inhibisyonu ve indüklenebilir NO sentaz ekspresyonunun ve NO

üretiminin azalması ile sonuçlandığını gösteren yayınlar mevcuttur.(183) Zygmunt ve arkadaşları yaptıkları fare peritonit modelinde lipoik asitin (LA) antiinflamatuvar aktivitesini incelemişler. LA genel olarak sülfan sülfür alıcısıdır ve sülfan sülfürü H_2S olarak salınım yapar. Bu çalışmada alınan H_2S 'in doz bağımlı olarak proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF- α) salınımını inhibe ettiği gösterilmiş. (167) Schulz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sıçanlarda geliştirilen deneysel peritonit ve sepsis sonrası sodyum tiyosülfatın (STS) intestinal ve hepatik mikrosirkülasyona olan etkisi araştırılmış. STS kolon ve karaciğerin mikrosirkulatuar oksijenasyonunu anlamlı olarak arttırmış. Araştırmacılar STS'in sepsis sonrası intestinal ve karaciğer perfüzyonunu artırarak oksijenasyonu arttırdığını ve bu etkinin bağırsaklarda K^+ ATP kanallarından bağımsız, karaciğerde ise bağımlı olduğunu belirtmişler. İskemik koşullar altında STS'nin endojen H_2S seviyelerini arttırdığı ve perfüzyon artışının mitokondriyal solunumdan ve makrohemodinamik değişkenlerden bağımsız olduğu sonucunu paylaşmışlar. (154)

Jensen ve arkadaşları, bağırsaklarda yaptıkları bir çalışmada, H_2S 'in postiskemik sağkalım, mezenterik perfüzyon, mukozal hasar ve inflamasyon üzerine olan etkilerini incelemişler. H_2S 'in mezenterik perfüzyonu ve mukozal hasarı iyileştirdiğini fakat e NOS yokluğunda bu etkilerin görülmediğini ortaya koymuşlar. İskemi reperfüzyon sonrası H_2S 'in antiinflamatuvar etkilerini incelerken daha düşük bağırsak sitokin üretimi olduğunu gözlemlemişler. H_2S 'in faydalarının endotelial NO bağımlı yollar üzerinden gerçekleştiğini vurgulamışlar. (186).

NO'in H_2S ile olan etkileşimini incelemek üzere in vitro olarak karbakol ile kastırılmış izole rat ileum ve kolon dokusuna NaHS ve NOS inhibitörü L-NAME uyguladık. L-NAME varlığında alınan yanıtlar konsantrasyon bağımlı olarak ileum kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel anlamlı olarak geri döndü. Bizim çalışmamızın sonuçları da literatürde belirtildiği üzere, H_2S ile NO arasında bir etkileşim olduğunu göstermektedir.

Martinez-Cutillas ve arkadaşları, insan kolon dokusunda yaptıkları çalışmada NaHS'ün konsantrasyonuna bağlı olarak karbakol indüklü kasılmaların inhibe olduğunu

gözlemlemişler. NaHS'ün K^+ kanalları üzerinden hiperpolarizan etki gerçekleştirdiğini ve böylece nöral aracılı eksitatuvar yanıtların ve L tipi Ca kanallarının açılma olasılığının azaldığını belirtmişler. Ayrıca tetrodotoksin varlığında NaHS, yine konsantrasyon bağımlı olarak spontan kontraksiyonları inhibe etmiştir. Daha önceki datalar H_2S 'in nitrerjik yollarla etkileşimde olabileceğini ve bazı etkilerinin GC'ın aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşebileceği yönünde idi. Bu etkiler, yine TTX varlığında, GC inhibitörü ODQ veya L-NNA ile kısmen geri dönmüştür. Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde NaHS'ün karbakol sonrası inhibitör etkisini ve L-NAME ile bu inhibitör etkinin geri döndüğünü gözlemlemiş olduk. Araştırmacılar çalışmada NaHS'ün konsantrasyon bağımlı olarak Nörokinin A (NKA) ile indüklenen spontan mekanik aktivitedeki artışı konsantrasyona bağlı olarak azalttığını da kanıtlamışlar. Bu etkilerin düz kas istirahat membran potansiyelinden bağımsız olarak kavşak sonrası intrasellüler yollar ile oluşan inhibitör etkiler olduğunu düşünmektedirler. PAG ve AOAA ile yapılan doku inkübasyonunda düz kasta depolarizasyon ve tonusta geçici hafif bir artış gözlemlenmiştir fakat spontan kontraktilete herhangi bir değişiklik olmamıştır. PAG ve AOAA tek tek uygulandıklarında ise herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. (139) Nalli ve arkadaşları, tavşan mide düz kasında yaptıkları çalışmada ise H_2S 'in oluşturduğu gevşeme etkilerinin karbakol indüklü Rho kinaz veya protein kinaz C aktivitelerinin inhibisyonu ile bağlantılı olabileceğini öne sürmüşlerdir. (165)

Gallego ve arkadaşları, NaHS ile insan, fare ve sıçan kolon ve jejunumunda yaptıkları çalışmada L-NAME 'in sıçanlarda istatistiksel anlamlı olarak NaHS ile oluşmuş dilatasyonu geri döndürdüğünü gözlemlemişler. Fare jejunumunda L-NAME ile spontan motor kompleks amplitüd ve frekansında artış, kolonda ise amplitüdde inhibisyon görülmüştür. (138) Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde L-NAME ile bu inhibitör etkinin geri döndüğünü gözlemledik. Ayrıca ileumda L-NAME varlığında yalnızca amplitüdün geri döndüğünü ve kolonda ise frekansta artış olduğunu tespit ettik. Gallego ve arkadaşları glibenklamid ve apamin ile NaHS'ün inhibe edici etkisinin azaldığını ve inhibe edici etkilerini K^+ ATP kanalları üzerinden gerçekleştirdiği sonucuna varmışlar. NaHS ilave edildikten sonraki spontan kontraksiyonların sıklığında meydana gelen azalmanın, Kajalin interstisyel hücrelerinde bulunan K^+ kanalları aracılığıyla oluştuğunu

ifade etmişlerdir. (138) Kasperek ve arkadaşları sıçan jejunumunda yaptıkları çalışmada NaHS'ün spontan ve betanekol ile oluşturulan kasılmaları inhibe ettiğini göstermişler. Ortama ATP sensitif K^+ kanal inhibitörü Glibenklamid eklediklerinde, sadece NaHS'ün betanekol ile oluşturulan kasılmalar üzerindeki inhibitör etkisinin kısmen azaldığını gözlemlemişler. Ayrıca NOS inhibitörü L-NNA'nin, TTX, kapsaisin ve NANK koşullar varlığında, NaHS'ün hem spontan hem de betanekol ile oluşturulmuş kasılmalar üzerindeki inhibitör etkinliğini arttırdığını belirtmişler.(164) Lucetti ve arkadaşları farenin gastrik dokusunda yaptıkları çalışmada, NaHS'ün CSE ve eNOS ekspresyonunu arttırdığını ve bu etkilerin PAG ve L-NAME tedavisi ile geri döndüğünü ifade etmişler. (185) Dhaese ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada NaHS, prekontrakte fare distal kolon striplerinde konsantrasyon bağımlı gevşemeye yol açmıştır ve bu gevşeme K^+ kanal blokörleri olan glibenklamid ve apamin blokajından etkilenmemiştir. Yine nitrik oksit inhibitörü L-NAME, solubl guanilat siklaz inhibitörü ODQ, adenilat siklaz inhibitörü SQ 22536, sinir blokörü kapsazepin, omega-konotoksin ve tetrodotoksin veya daha farklı birçok kanal ve reseptör blokörleri (ouabain, nifedipin, 2-aminoetil difenilborinat, ryanodin ve thapsigargin) de bu yanıtı etkilememiştir. (181) Bu çalışma haricindeki diğer çalışmalardan elde edilen L-NAME yanıtları, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz yanıtlar ile uyum göstermektedir. Dolayısıyla Hidrojen sülfür, NO sentetaz ile etkileşim içerisinde ve ortamdaki ihtiyaca göre hem H_2S hem de NO yüksek ya da düşük miktarlarda salınabilmektedir. Son etki inhibitor ve eksitator etki arasındaki dengeye bağlıdır. (138, 184,187)

Nalli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada L-Sistein konsantrasyonu arttıkça kolon dokusunda görülen gevşemenin arttığı ve ayrıca NaHS'ın yol açtığı gevşeme ile kıyaslandığında NaHS ile alınan gevşeme yanıtlarının L-sistein ile alınan yanıtlara nazaran daha güçlü olduğu görülmektedir. (180) Kasperek ve arkadaşları yaptıkları çalışmada L-Sisteinin dozdan bağımsız olarak spontan aktivitede hiçbir değişiklik yapmadığını fakat AOAA ve PAG'ın birlikte spontan aktiviteyi baskıladığını belirtmişlerdir. (164) Quan ve arkadaşları L-sisteinin sıçan kolon motilitesindeki etkisini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada L-sisteinin kontraksiyona dual bir etkisi olduğunu; inhibitör etkisini direk olarak L-tipi Kalsiyum kanalları (ICaL) ile ve

eksituar etkisini ise endojen H₂S aracılığı ile gerçekleştirdiğini savundular. L-sisteinin büyük potasyum kanalları akımı üzerine herhangi bir etkisi olmadığını (BK, (IBKCa), large conductance calcium-activated K⁺ channels) fakat NaHS'ın büyük oranda IBKCA'nı inhibe ettiğini ifade etmişler. (179) Rat ileum ve kolonunda yaptığımız deneylerde, karbakol sonrası dokularda L-sistein yanıtlarını inceledik. Dokularda L-sistein sonrası elde ettiğimiz gevşeme yanıtları konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdi. Rat ileum ve kolonunda yaptığımız deneylerde, karbakol sonrası aldığımız L-sistein gevşeme yanıtları konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdi fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi.

İzole fare gastrik fundus (176), antrum (177) ve kolon mukoza (178,179) dokularında CBS ve CSE enzimlerinin ekspresyonları gösterilmiştir. Rat ileum ve kolonunda CSE enziminin varlığını gösteren çalışmaların ışığı altında (5,25,128,161,162,163,166,167) biz de çalışmamızda bir CSE enzim inhibitörü olan PAG'ı kullandık. Tek başına PAG ile aldığımız gevşeme yanıtları istatistiksel olarak anlamlı değildi. Lucetti ve arkadaşları fare gastrik dokusunda yaptıkları çalışmada PAG'ın L-NAME gibi NaHS'ün etkisine tam zıt bir şekilde mide pilor dokusunda parsiyel olarak mide boşalma süresini geciktirdiğini gözlemlemişler. Aynı etkiyi mide fundusunda gözlemlememişler. (186) Mide fundus bulguları bizim deney bulgularımızla paralel olmakla beraber daha detaylı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Quan ve arkadaşlarının L-sisteinin sıçan kolon motilitesindeki etkisini araştırmak üzerine yaptıkları çalışmada L-sisteinin eksituar etkisinin CBS inhibitörü AOAA ve CSE inhibitörü PAG ile bloke olabildiğini ifade etmişlerdir. L-sisteinin konsantrasyon bağımlı olarak L-tipi Kalsiyum kanallarının (ICaL) karakteristiğini değiştirmeden sadece akımını inhibe ettiğini göstermişler. Buna zıt olarak NaHS ise 100 µmol/L konsantrasyonunda ICaL akımını arttırmış fakat 300 µmol/L konsantrasyonunda ise istatistiksel anlamlı olarak ICaL akımını inhibe ve modifiye etmiştir. (179) Gil ve arkadaşlarının endojen H₂S'in düz kas üzerindeki inhibitör rolünü açıklayabilmek için sıçan kolonunda yaptıkları çalışmada, CBS ve CSE inhibitörlerinin birlikte uygulandıklarında istirahat membran potansiyelini depolarize edebildiklerini ve spontan motiliteyi arttırdıklarını göstermişlerdir.(127)

Pouokam ve arkadaşlarının NO, H₂S, HNO ve polisülfid Na₂S₃ gibi gazomediyatörlerin sıçan kolon yavaş fazik kontraksiyonlarındaki (YFK) etkisini karşılaştırmak için

yaptıkları çalışmada TTX (1µM) varlığında dört molekülün de konsantrasyona bağlı olarak sirküler ve longitudinal kas tabakalarındaki YFK'nın amplitüd ve frekansını inhibe ettiklerini gözlemlemişler. Etkinin nöral aktiviteden bağımsız olarak NO ve HNO varlığındaki yanıtların GC, NaHS veya Na₂S₃ varlığındaki yanıtların ise SKCa ve KATP kanalları üzerinden olduğu sonucuna varmışlar. NaHS'ün (1mM) inhibitör etkisini apamin (1 µM) ve glibenklamid (10 µM) ile geri döndürmüşler. (142)

Martinez-Cutillas ve arkadaşlarının insan kolon dokusunda yaptıkları çalışmada NaHS, konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kontraksiyonları inhibe etmiştir. Nöral aracılı kolinerjik yanıtlardaki önemli azalmanın yanısıra amplitüdde de benzer oranda bir azalma meydana gelmiştir. PAG ve AOAA kombinasyonu düz kası depolarize edip, inhibitör bağlantı gerilimi amplitüdünde hafif bir artışa yol açmıştır. PAG tek başına kullanıldığında bu etki görülmemiştir. EAU ile indüklenen miyojenik spontan kontraktilitede herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. Bizim çalışmamızda da tek başına PAG ile belirgin bir yanıt alınmamıştır. Çalışmamızda aldığımız yanıtlar ve tahmini yollar ile NaHS'ün nöral aracılı kolinerjik kontraksiyonları geri dönüşümlü bir şekilde bloke ettiğini ifade edebiliriz. Yapılan çalışmalar H₂S'in insan kolon kontraktilitesini düzenleyen endojen bir gazomediyatör olduğunu, inhibitör etkisini yüksek konsantrasyonlarda gösterdiğini, NO ile sinerjik olarak düz kas üzerine direk etkisi olduğunu, bazı etkilerin GC aktivasyonu aracılığıyla gösterdiğini, taşikinerjik ve kolinerjik nöral aracılı yollarla etkileşim içinde olduğunu düşündürüyor. (139, 164)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız, rat ileum ve kolon düz kasında, Karbakol ve EAU uyarılı kasılmalardan sonra H₂S'in motilite üzerine gösterdiği etkiyi ve olası etki mekanizmalarını araştırmak üzere tasarlandı. Kullandığımız inhibitörler H₂S'in etkilerine aracılık eden yolları tanımlamaya yönelikti. Ayrıca diğer bir hedefimiz de endojen H₂S üretimi ve EAU esnasında salınan olası endojen H₂S hakkında da bilgi edinebilmektir. Hidrojen Sülfür donörü NaHS kontraktilite üzerinde inhibitör etki oluşturdu. Endojen hidrojen sülfür inhibitörü PAG ile herhangi bir yanıt alınmazken, hidrojen sülfür öncüsü L-sistein ile hafif bir gevşeme yanıtı elde edildi. L-NAME genel olarak hidrojen sülfür inhibitör yanıtlarını bir grup dışında istatistiksel anlamlı olarak geri döndürdü. Özet olarak NaHS enterik sinir sistemiyle veya primer efferent sinirlerle değil fakat NO bağlantılı yollar aracılığı ile kasılma aktivitesini baskılamış olabilir. NO ve hidrojen sülfür arasında güçlü bir etkileşim olduğunu ve farklı mekanizmalar üzerinden sonuç etkiyi gerçekleştirdiklerini söyleyebiliriz. Vasküler sistemde NO, akut olarak H₂S üretimini stimüle ederek ve ayrıca CSE aktivitesini ve kronik olarak CSE ekspresyonunu artırarak H₂S üretimini regüle eder. Vasküler düz kasta NO sentazın inhibisyonu ile gerçekleşen NO salınımının inhibisyonu H₂S kaynaklı inhibitör yanıtların azalmasına yol açmıştır.(149) Gastrointestinal sistemde, NO donörü sodyum nitroprusid rat ileumunda H₂S üretimini arttırdı (12) ve guinea domuz ileumunda EAU kaynaklı kontraksiyon sonrası H₂S tarafından gerçekleştirilen inhibisyonu kuvvetlendirdi.(137) Bununla birlikte guinea domuz ileumunda (137) veya fare jejunumunda (138) NO sentazı inhibe etmenin H₂S kaynaklı inhibisyona herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü. L-NNA ile gerçekleşen NO sentaz blokajı ise spontan ve stimüle kontraktıl aktivitelerden sonra ekzojen H₂S 'in yarattığı inhibisyon yanıtını arttırmıştır. (164) Tüm bu bilgiler NO ile H₂S kaynaklı inhibisyon arasında bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Her 2 gazotransmitter de farmakolojik etkileri, terapötik değerleri ve santral fizyolojik görevleri açısından çok önemli patofizyolojik düzenleyiciler olarak tanınmaktadırlar. Aralarındaki etkileşimi daha iyi değerlendirebilmek adına ekzojen NO verilerek eş zamanlı farklı mekanizmaların varlığı incelenebilir. Peritonitte salınacak olan endojen sülfür miktarının ortamdaki nitrik oksit miktarı ile ilintili olduğunu

bildiğimiz için her iki gazotransmitteri indükleyip veya bloke edip, motilitedeki değişiklikleri kaydetmek daha detaylı bilgi edinmemizi sağlayacaktır. Ayrıca GC üzerinden klinik çalışmalar yaparak, örneğin GC inhibitörü ODQ kullanarak alınan yanıtlar gözlemlenip mekanizma hakkında daha fazla bilgiye ulaşılabilecektir. İlgili organlarda kullandıkları yolakların tespiti ile patolojik durumlarda kullanılabilecek terapötik ilaçların geliştirilmesi mümkün olabilir.

Hidrojen sülfürün bazı antiinflamatuvar etkilerini ATP duyarlı K^+ kanalları üzerinden gerçekleştirdiğine dair yayınlar da mevcuttur. (135) NaHS özelinde en önemli ve ana mekanizmanın ATP duyarlı K^+ kanalları olduğu söylenemez çünkü guinea domuz antrumunda (159) ve insan rat kolonunda yapılan çalışmalardan (138) farklı olarak guinea domuz ileumu ile yapılan çalışmada (137) glibenklamid sonrası inhibitör yanıtlar devam etti. Bu nedenle glibenklamid kullanarak inflamasyon ve motilite üzerindeki etkileri daha detaylı olarak inceleyebiliriz. Ayrıca daha sonraki çalışmalarda geliştirilecek peritonit modellerinde başka K^+ kanallarının da yolaklar içerisindeki mevcudiyetini araştırmak mekanizmaya ışık tutacaktır.

Endojen H_2S dinamik bir sinyalizasyon gösterir; dolayısıyla sinaptik geçişten öte daha çok lokal olarak sentez edilip salınım gösterdiğini paylaşan yayınlar mevcuttur. (164) Lokal salınım, değişik dokularda farklı yolaklar üzerinden farklı yanıtlar oluşturulması ihtimalini de beraberinde getirir. Örneğin prekontrakte fare mide fundus kasında yapılan çalışmada H_2S ile oluşan gevşeme potasyum kanal aktivitesi, nöral etkiler, nitroerjik yolaklar, Na^+/K^+ ATPaz veya nifedipin aracılığı ile değil, miyozin hafif zincir fosfataz aktivasyonu aracılığıyla oluşmuştur. (141) Distal kolon düz kasında yapılan çalışmada ise miyozin hafif zincir fosfatazın mekanizmada herhangi bir rolü olmadığı belirtilmiştir. (181) Gastrointestinal sistemin değişik bölgelerinde farklı etkileri olmakla beraber hidrojen sülfür, mesane düz kasında ve akciğerlerde de alternatif mekanizmalar üzerinden etki gösterir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda karbakol ile kasılma sonrası alınan yanıtlar incelenmiştir. Gastrointestinal organlardan ileum ve kolon, laboratuvarında spontan kontraktilesi kolaylıkla gözlemlenebilen dokular oldukları için peritonitteki motilite değişiklikleri daha detaylı incelenip tedavi alternatifleri açısından gelişme sağlanabilir.

Hidrojen sülfür oluşumunda biyolojik temelli olarak literatüre geçmiş en az 5 enzim mevcuttur. Bilinen tüm enzimatik yolaklar bloke edilip, endojen hidrojen sülfür oluşumunda daha farklı mekanizmaların olup olmadığı çalışılabilecek diğer önemli konular arasındadır.



7. KAYNAKLAR

1. The national Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH); website cdc.gov
2. Singh SB, Lin HC. Hydrogen Sulfide in Physiology and Diseases of the Digestive Tract. *Microorganisms*. 2015 Nov 12;3(4):866-89.
3. Sun Xiaozhen, Chapter 10- Common Hidden Dangers and Remedies for Fireproofing, Explosion-proofing, and Preventing Hydrogen Sulfide, Editor(s): Sun Xiaozhen, Common Well Control Hazards, Gulf Professional Publishing, 2013, Pages 187-211
4. Ng PC, Hendry-Hofer TB, Witeof AE, et al. Hydrogen Sulfide Toxicity: Mechanism of Action, Clinical Presentation, and Countermeasure Development. *J Med Toxicol*. 2019;15(4):287-294.
5. Farrugia, G.; Szurszewski, J.H. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2014, 147, 303–313
6. Masliukov PM, Budnik AF, Nozdrachev AD. [Developmental changes of neurotransmitter properties in sympathetic neurons]. *Adv Gerontol*. 2017;30(3):347-355. Russian.
7. Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*. 1996;16:1066-71.
8. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;237:527-31.
9. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F et al.. Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:4513-8.

10. Doeller JE, Isbell TS, Benavides G, Koenitzer J, Patel H, Patel RP et al.. Polarographic measurement of hydrogen sulfide production and consumption by mammalian tissues. *Anal Biochem.* 2005;341:40-51.
11. Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ. The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:1-10.
12. Zhao W, Ndisang JF, Wang R. Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol.* 2003;81:848-853.
13. Du JT, Li W, Yang JY, Tang CS, Li Q, Jin HF. Hydrogen sulfide is endogenously generated in rat skeletal muscle and exerts a protective effect against oxidative stress. *Chin Med J (Engl).* 2013;126:930-6.
14. Dal-Secco, D., Cunha, T.M., Freitas, A., et al. Hydrogen sulfide augments neutrophil migration through enhancement of adhesion molecule expression and prevention of CXCR2 internalization: Role of ATP-sensitive potassium channels. *J. Immunol.* 181, 4287-4298 (2008).
15. Chen, Y.-H., Wu, R., Geng, B., et al. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma. *Cytokine* 45, 117-123 (2009).
16. Hu, L.-F., Lu, M., Wu, Z.-Y., et al. Hydrogen sulfide inhibits rotenone-induced apoptosis via preservation of mitochondrial function. *Mol. Pharmacol.* 75(1), 27-34 (2009).
17. Yong, Q.C., Lee, S.W., Foo, C.S., et al. Endogenous hydrogen sulphide mediates the cardioprotection induced by ischemic postconditioning. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 295, H1330-H1340 (2008).
18. Liu, H., Bai, X.-B., Shi, S., et al. Hydrogen sulfide protects from intestinal ischaemia-reperfusion injury in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 61, 207-212 (2009)
19. McCook, O., Radermacher, P., Volani, C., Asfar, P., Ignatius, A., Kemmler, J., Möller, P., Szabó, C., Whiteman, M., Wood, M. E., Wang, R., Georgieff, M., & Wachter, U. (2014). H₂S during circulatory shock: some unresolved questions. *Nitric oxide : biology and chemistry*, 41, 48–61.

20. Wagner F, Scheuerle A, Weber S, Stahl B, McCook O, Knöferl MW, Huber-Lang M, Seitz DH, Thomas J, Asfar P, Szabó C, Möller P, Gebhard F, Georgieff M, Calzia E, Radermacher P, Wagner K. Cardiopulmonary, histologic, and inflammatory effects of intravenous Na₂S after blunt chest trauma-induced lung contusion in mice. *J Trauma*. 2011 Dec;71(6):1659-67.
 - a. Ramos, I. Díaz, M. Fdz-Polanco; The role of the headspace in hydrogen sulfide removal during microaerobic digestion of sludge. *Water Sci Technol* 1 November 2012; 66 (10): 2258–2264
21. Celia Chao, John R Zatarain, Ye Ding, Ciro Coletta, Amy A Mrazek, Nadiya Druzhyna, Paul Johnson, Haiying Chen, Judy L Hellmich, Antonia Asimakopoulou, Kazunori Yanagi, Gabor Olah, Petra Szoleczky, Gabor Törö, Fredrick J Bohanon, Minal Cheema, Rachel Lewis, David Eckelbarger, Akbar Ahmad, Katalin Módis, Ashley Untereiner, Bartosz Szczesny, Andreas Papapetropoulos, Jia Zhou, Mark R Hellmich, Csaba Szabo. Cystathionine- β -Synthase Inhibition for Colon Cancer: Enhancement of the Efficacy of Aminooxyacetic Acid via the Prodrug Approach *Mol Med*. 2016; 22: 361–379. Published online 2016 May 16.
22. Hellmich, Mark R et al. “The therapeutic potential of cystathionine β -synthetase/hydrogen sulfide inhibition in cancer.” *Antioxidants & redox signaling* vol. 22,5 (2015):424-48
23. Hellmich, M. R., & Szabo, C. (2015). Hydrogen Sulfide and Cancer. *Handbook of experimental pharmacology*, 230, 233–241.
24. Szabo, C., Coletta, C., Chao, C., Módis, K., Szczesny, B., Papapetropoulos, A., & Hellmich, M. R. (2013). Tumor-derived hydrogen sulfide, produced by cystathionine- β -synthase, stimulates bioenergetics, cell proliferation, and angiogenesis in colon cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(30), 12474–12479.
25. Szabo, C and Hellmich MR. Endogenously produced hydrogen sulfide supports tumor cell growth and proliferation. *Cell Cycle* 12;2915-2916, 2013
26. Sayek İ. Temel Cerrahi, 2. Baskı Ankara: Günes Kitabevi, 1996:895-96.

27. Wittmann DH, Walker AP, Condon RE. Peritonitis and Intraabdominal Infection. In Schwartz SI, editors: Principles of Surgery, 6th ed. New York. Mc Graw Hill; 1994:1449-83.
28. Watkin, D. F. L. Spinal ileus. *British Journal of Surgery*, 1970;57(2), 142-148.
29. Akhan S. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji*. Nobel, 2008.
30. Kalaycı Ş. Histoloji, Bursa: Uludağ Üniversitesi Basım Evi; 1986.
31. Erbendi T. Histoloji, Ankara: Güneş Kitap Evi; 1992
32. Yıldırım M. Sistemik Resimli Anatomi Sözlüğü, Ankara: Nobel Kitap Evi; 2004
33. Elhan, A. Temel Klinik Anatomi (çeviri. Moore KL.). İkinci baskı, Güneş Kitabevi, 2006
34. Ozan H. Anatomi, Ankara: Nobel Tıp Kitap Evi, 2004
35. Flament, J. B. Functional anatomy of the abdominal wall. *Der Chirurg; Zeitschrift für Alle Gebiete der Operativen Medizen*, 2006;77(5), 401-407.
36. Drake R, Vogl W, Mitchell AWM. Grays Anatomy for Students, 2nd Edition, Abdominal Viscera, 2009: 406
37. Tank P. Grants Dissector 15th ed., ch.4 The abdomen, 2013: 99
38. Ellis H. The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Surg Gynecol Obstet*. 1971: 497-511
39. Baxter GM, Broome TE, Moore JN: Abdominal adhesions after small intestinal surgery in the horse. *Vet Surg*. 1989: 18;409-414.

40. Bjorling DE, Latimer KS, Rawlings CA, Kolata RJ, Crowe DT Jr. Diagnostic peritoneal lavage before and after abdominal surgery in dogs. *Am J Vet Res.* 1983; 44:816-820.
41. Dizerega, G. S. Contemporary adhesion prevention. *Fertil Steril.* 1994; 61(2): 219-35.
42. Wittman DH, Walker AP, Condon RE. Peritonitis and intraabdominal infection. In: Schwartz S, Shires G, Spencer F(eds), *Principles of Surgery*, 6th ed. New York, NY: McGraw- Hill; 1991: 1449-1483.
43. Leak LV, Rahil K. Permeability of the diaphragmatic mesotelium: the ultrastructural basis for stomata. *Am J Anat* 1978; 151: 557-594
44. Ertekin C . Karın İçi Enfeksiyonlar . In Kalaycı G. Eds. *Genel Cerrahi.* İstanbul Nobel Tıp, 2002: 217-243
45. Zink J, Greenway CV. Intraperitoneal pressure in formation and resorption of ascites in cats. *Am J Physiol* 1977; 233: 185-190.
46. Abu Hijleh MF, Habbal OA, Moqattash ST: The role of the diaphragm in lymphatic absorption from the peritoneal cavity. *J Anat* 1995; 186: 453-467.
47. Heel KA, Hall JC: Peritoneal defences and peritoneum-associated lymphoid tissue. *Br J Surg* 1996; 83: 1031-1036
48. Von Recklinghausen FT. Zur Fettresorption. *Arch Pathol Anat Pathol* 1863; 26:172-176.
49. Hedenstedt S. Elliptocyte transfusions as a method in studies on blood destruction, blood volume and peritoneal resorption. *Acta Chir Scand* 1947; 95:141- 143.

50. Dumont AE, Robbins E, Martelli A, Iliescu H. Platelet blockade of particle absorption from the peritoneal surface of the diaphragm. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1981; 167: 137-142
51. Gürleyik G, Gürleyik E, Ünalmiş er S: Systemic spread of intraabdominal infection via transdiaphragmatic lymphatics: evaluation with serum endotoxin and cytokine level in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2000; 6: 24-27.
52. Aysan E, Kurt G, Aren A. The effect of diaphragmatic peritoneal lymphatics on peritoneal adhesions: an experimental study. *Lymphology.* 2004;37:134-140.
53. Dahan A, Mendelman A, Amsili S, Ezov N, Hoffman A: The effect of general anesthesia on the intestinal lymphatic transport of lipophilic drugs: comparison between anesthetized and freely moving conscious rat models. *Eur J Pharm Sci.* 2007; 32: 367-374.
54. Flessner MF, Parker RJ, Sieber SM: Peritoneal lymphatic uptake of fibrinogen and erythrocytes in the rat. *Am J Physiol.* 1983; 244: 89-96.
55. Yoffey JM, Courtice CF: The pathophysiology of lymph flow. In: *Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex.* New York, Academy Press, Inc. 1970,356- 443.
56. Yoffey JM, Courtice FC: *Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex.* Academic press, London, New York 1970: 517-619.
57. Nigam Y, Knight J. The lymphatic system. Part 2--the lymphatic organs. *Nurs Times.* 2008;8-14(104): 26-27.
58. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PI. Structure, blood supply, and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. *Am J Anat* 1982; 165: 277-278.

59. Courtice FC, Steinbeck AW. Absorption of protein from the peritoneal cavity. *J Physiol* 1951; 114: 336-355.
60. Bettendorf U. Lymph flow mechanism of the sub-peritoneal diaphragmatic lymphatics. *Lymphology* 1978;11:111-116.
61. Parker RJ, Hartman K, Sieber S. Lymphatic absorption and tissue disposition of liposome-entrapped C-adriamycin following intraperitoneal administration to rats *Cancer Res* 1981;41:1311-1317.
62. Speyer J, Collins J, Dedrick R, Brennan M, London H, De Vita V, Myers C. Phase I and pharmacological studies of 5-fluorouracil administered intraperitoneally. *Cancer Res* 1980;40: 567-572.
63. Olszewski WL. Continuing discovery of the lymphatic system in the twenty-first century: A brief overview of the past. *Lymphology* 2002;35:99-104.
64. McHale NG. Innervation of the lymphatic circulation. In: *Experimental biology of the lymphatic circulation*. Ed. Johnston MG, Elsevier Science Publishers, BV 1985, 121-140.
65. Johnston MG, Elias R. The regulation of lymphatic pumping. *Lymphology* 1987;20:2158-2164.
66. Erol Ç. Vücut Sıvılarının ve Dolaşımın Birbirine Bağlı İlişkileri, Editör, Bor N. *Sodeman's Fiziopatoloji*. 2.Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi; 1991.
67. Drake RE, Allen SJ, Gabel JC, Katz J, Laine GA. Effect of endotoxin on diaphragm lymph contamination in unanesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1987;62:706-710.
68. Brouard R, Tozer TN, Baumelou A, Gambertoglio JG. Transfer of autologous haemoglobin from the peritoneal cavity during peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 1992;7:57-62.

69. Browse NL, Lord RSA, Taylor A. Pressure waves and gradients in the canine thoracic duct. *J Physiol*, 1971;213:507-524.
70. Campbell T, Heath T. Intrinsic contractility of lymphatics in sheep and dogs. *Quart J Exp Physiol*, 1973;58:207-217
71. Türk Nefroloji Derneği. Periton Diyalizi Başvuru Kitabı-2013. Türk Nefroloji Derneği Yayını. Ankara: Ayrıntı Basım ve Yayın Matbaacılık,2013. ISBN: 978-975-277-490-2
72. Asicioglu E., Kahveci A., Bakir E. A., Bulur A., Arikan H., Koc M., ... & Ozener C. Unusual presentation of peritonitis with persistent clear aspirate: a case report. *Journal of medical case reports*, 2010;4(1):383.
73. Baillie J., Gill P., & Courtenay M. Knowledge, understanding and experiences of peritonitis amongst patients, and their families, undertaking peritoneal dialysis: A mixed methods study protocol. *Journal of advanced nursing*, 2018;74(1): 201-210.
74. Akoh J. A. Peritoneal dialysis associated infections: An update on diagnosis and management. *World journal of nephrology*, 2012;1(4):106
75. Yilmaz M., Sevinç M., Aykent M. B., & Ünsal A. Periton Diyalizi İlişkili Enfeksiyöz Komplikasyonları Önleyici Yaklaşımlar. *Türkiye Klinikleri Nephrology-Special Topics*, 2019;12(2): 45-50
76. Sağmak-Tartar A., Özden M., Akbulut A., Demirdağ K., & Özer-Balin Ş. Sürekli Ayaktan Periton Diyaliziyle İlişkili Peritonit: Klinik Özellikler, Etken Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları. *Klinik Journal/Klinik Dergisi*, 2016;29(3).
77. Oymak O., Akpolat T. Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD). *Türk Nefroloji Derneği Yayınları, İzmir*, 2005,124-145.

78. Çamsan T., Çelik A., Sifil A., Çavdar C. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi Hastalarında Peritonit Sıklığı: Y-Öncesi Ve Sonrası Dönemi Değerlendirilmesi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1998;34-36.
79. T.C. Sağlık Bakanlığı Ve Türk Nefroloji Derneği Ortak Raporu,2018. Türk Nefroloji Derneği Yayınları. Ankara: Miki Matbaacılık,2018.
80. Özdemir, S. Spontan bakteriyel peritonit. *Bakırköy tıp dergisi*, 2012;8(1), 1-5.
81. Ocak, T. Spontan bakteriyel peritonit tanısı alan hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri. Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, 2017.
82. Laroche, M., & Harding, G. Primary and secondary peritonitis: an update. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1998;17(8), 542-550.
83. Wittmann, D. H., Schein, M., & Condon, R. E. Management of secondary peritonitis. *Annals of surgery*, 1996;224(1), 10.
84. Nouri-Majalan, N., Najafi, I., Sanadgol, H., Ganji, M. R., Atabak, S., Hakemi, M., & Soleymanian, T. Description of an outbreak of acute sterile peritonitis in Iran. *Peritoneal dialysis international*, 2010;30(1), 19-22.
85. Capobianco, A., Cottone, L., Monno, A., Manfredi, A. A., & Rovere-Querini, P. The peritoneum: healing, immunity, and diseases. *The Journal of pathology*, 2017;243(2), 137-147.
86. Ordoñez, C. A., & Puyana, J. C. Management of peritonitis in the critically ill patient. *Surgical Clinics*, 2006;86(6):1323-1349.
87. Ross, J. T., Matthay, M. A., & Harris, H. W. Secondary peritonitis: principles of diagnosis and intervention. *BMJ*, 2018;361.

88. Adler, S. N., Adler-Klein, D., & Gasbarra, D. B. (Eds.). *A pocket manual of differential diagnosis*. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
89. Pieracci, F. M., & Barie, P. S. Management of severe sepsis of abdominal origin. *Scandinavian journal of surgery*, 2007;96(3), 184-196.
90. Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., & Angus, D. C. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, 2016;315(8):801-810.
91. Flasar, M. H., Cross, R., & Goldberg, E. Acute abdominal pain. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 2006;33(3):659-684.
92. Macaluso, C. R., & McNamara, R. M. Evaluation and management of acute abdominal pain in the emergency department. *International Journal of General Medicine*, 2012;5:789.
93. Felder, S., Margel, D., Murrell, Z., & Fleshner, P. Usefulness of bowel sound auscultation: a prospective evaluation. *Journal of Surgical Education*, 2014;71(5):768-773.
94. Breum, B. M., Rud, B., Kirkegaard, T., & Nordentoft, T. Accuracy of abdominal auscultation for bowel obstruction. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 2015;21(34):10018.
95. Durup-Dickenson, M., Christensen, M. K., & Gade, J. Abdominal auscultation does not provide clear clinical diagnoses. *Surgical gastroenterology*, 2013;18(32):2.
96. Zuin, M., Rigatelli, G., Andreotti, A. N., Fogato, L., & Roncon, L. Is abdominal auscultation a still relevant part of the physical examination?. *European Journal of Internal medicine*, 2017;43:e24-e25.

97. Pace, S., & Burke, T. E. Intravenous morphine for early pain relief in patients with acute abdominal pain. *Academic Emergency Medicine*, 1996;3(12):1086-1092.
98. Attard, A. R., Corlett, M. J., Kidner, N. J., Leslie, A. P., & Fraser, I. A. Safety of early pain relief for acute abdominal pain. *BMJ*, 1992;305(6853):554-556.
99. Sartelli, M., Catena, F., Di Saverio, S., Ansaloni, L., Malangoni, M., Moore, E. E., and Kirkby-Bott, J. Current concept of abdominal sepsis: WSES position paper. *World Journal of Emergency Surgery*, 2014;9(1):1-16.
100. Wroblewski, M., & Mikulowski, P. Peritonitis in geriatric inpatients. *Age and ageing*, 1991;20(2):90-94.
101. Ragsdale, L., & Southerland, L. Acute abdominal pain in the older adult. *Emergency Medicine Clinics*, 2011;29(2):429-448.
102. Edwards, E. D., Jacob, B. P., Gagner, M., & Pomp, A. Presentation and Management of Common Post-Weight Loss Surgery Problems in the Emergency Department. *Annals of emergency medicine*, 2006;47(2):160-166.
103. Karlsson, S., Varpula, M., Ruokonen, E., Pettilä, V., Parviainen, I., Alakokko, T. I., and Rintala, E. M. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. *Intensive care medicine*, 2007;33(3):435-443.
104. Tolonen, M., Coccolini, F., Ansaloni, L., Sartelli, M., Roberts, D. J., McKee, J. L., and Kirkpatrick, A. W. Getting the invite list right: a discussion of sepsis severity scoring systems in severe complicated intra-abdominal sepsis and randomized trial inclusion criteria. *World Journal of Emergency Surgery*, 2018;13(1):1-11.

105. Usman, O. A., Usman, A. A., & Ward, M. A. Comparison of SIRS, qSOFA, and NEWS for the early identification of sepsis in the Emergency Department. *The American Journal of Emergency Medicine*, 2019;37(8):1490-1497.
106. Goulden, R., Hoyle, M. C., Monis, J., Railton, D., Riley, V., Martin, P., and Nsutebu, E. qSOFA, SIRS and NEWS for predicting inhospital mortality and ICU admission in emergency admissions treated as sepsis. *Emergency Medicine Journal*, 2018;35(6):345-349.
107. Jung, Y. T., Jeon, J., Park, J. Y., Kim, M. J., Lee, S. H., & Lee, J. G. Addition of lactic acid levels improves the accuracy of quick sequential organ failure assessment in predicting mortality in surgical patients with complicated intra-abdominal infections: a retrospective study. *World Journal of Emergency Surgery*, 2018;13(1):1-7.
108. Song, J. U., Sin, C. K., Park, H. K., Shim, S. R., & Lee, J. Performance of the quick Sequential (sepsis-related) Organ Failure Assessment score as a prognostic tool in infected patients outside the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*, 2018;22(1):1-13.
109. Gewurz, H., Mold, C., Siegel, J., & Fiedel, B. C-reactive protein and the acute phase response. *Advances in Internal Medicine*, 1982;27:345-372.
110. Bakker, J., & De Lima, A. P. Increased blood lactate levels: an important warning signal in surgical practice. *Critical Care*, 2004;8(2):1-3.
111. Kim, S. J., Hwang, S. O., Kim, Y. W., Lee, J. H., & Cha, K. C. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis/septic shock in the emergency department; a study based on Sepsis-3 definition. *The American journal of emergency medicine*, 2019;37(2):272-276.
112. Sartelli, M., Catena, F., Abu-Zidan, F. M., Ansaloni, L., Biffl, W. L., Boermeester, M. A., ... & Moore, E. E. Management of intra-abdominal

- infections: recommendations by the WSES 2016 consensus conference. *World Journal of Emergency Surgery*, 2017;12(1):1-31.
113. Guyton AC. Tıbbi Fizyoloji, 7. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1986:1088-1129
 114. Berna RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Gastrointestinal regulation an motility. In: Physiology 5nd ed. Philadelphia: Mosby, 2004:539-65
 115. Randlich A, Tyler WJ, Cox JE. Responses of celiac and cervical vagal afferents to infusions of lipids in the jejenum or ileum of the rat. *Am J Regul Integr Comp Physiol*. 2000;278 (1):34-43
 116. Kimura H. Production and Physiological Effects of Hydrogen Sulfide. *Antioxidants & Redox Signaling* 2014 Feb 10; 20(5):783-93
 117. Łowicka E., Beltowski, J. Hydrogen sulfide (H₂S)- The third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacological Reports* 2007 Jan-Feb; 59(1):4–24.
 118. Qu, K., Lee, S. W., Bian, J. S., Low, C. M., & Wong, P. T. H. (2008). Hydrogen sulfide: Neurochemistry and neurobiology. *Neurochemistry International*.
 119. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug*. 2007; 6:917-35.
 120. Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J Biochem*. 2009; 146:623-6.
 121. Shibuya N, Koike S, Tanaka M, Ishigami-Yuasa M, Kimura Y, Ogasawara Y et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nat Commun*. 2013;4:1-7.

122. Kimura H. The physiological role of hydrogen sulfide and beyond. *Nitric Oxide*. 2014 Sep 15;41:4-10
123. Powell CR, Dillon KM, Matson JB. A review of hydrogen sulfide (H₂S) donors: Chemistry and potential therapeutic applications. *Biochem Pharmacol*. 2018 Mar;149:110-123
124. B. D Paul, S.H.Snyder, H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond, *Nat.Rev.Mol.Cell Biol*.13(8) (2012) 499-507
125. Schicho R, Krueger D, Zeller F, Von Weyhern CW, Frieling T, Kimura H, et al. Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the guinea-pig and human colon. *Gastroenterology* 2006; 131:1542–52
126. Gil V, Gallego D, Jimenez M. Effects of inhibitors of hydrogen sulphide synthesis on rat colonic motility. *Br J Pharmacol* 2011; 164:485–98
127. Hennig B, Diener M. Actions of hydrogen sulphide on ion transport across rat distal colon. *Br J Pharmacol* 2009; 158:1263–75
128. R.C. Zanardo, V.Brancaleone, E.Distrutti, S.Fiorucci, G.Cirino, J.L.Wallace. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation, *FASEB J*.20(12) (2006)2118-2120
129. Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*. 1996; 16:1066-71
130. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997; 237:527-31
131. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F et al.. Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106:4513-8

132. Doeller JE, Isbell TS, Benavides G, Koenitzer J, Patel H, Patel RP et al.. Polarographic measurement of hydrogen sulfide production and consumption by mammalian tissues. *Anal Biochem.* 2005; 341:40-51
133. Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ. The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009; 7:1-10
134. Franck H, Puschmann A, Schusdziarra V, Allescher HD. Functional evidence for a glibenclamide-sensitive K⁺channel in rat ileal smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 1994; 271:379-386
135. Du JT, Li W, Yang JY, Tang CS, Li Q, Jin HF. Hydrogen sulfide is endogenously generated in rat skeletal muscle and exerts a protective effect against oxidative stress. *Chin Med J (Engl).* 2013; 126:930-6
136. Teague B, Asiedu S, Moore PK. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br J Pharmacol.* 2002; 137:139-45
137. Gallego D, Clavé P, Donovan J, Rahmati R, Grundy D, Jiménez M et al.. The gaseous mediator, hydrogen sulphide, inhibits in vitro motor patterns in the human, rat and mouse colon and jejunum. *Neurogastroenterol Motil.* 2008; 20:1306-16
138. Martinez-Cutillas M, Gil V, Mane N et al. Potential role of the gaseous mediator hydrogen sulphide in inhibition of human colonic contractility. *Pharmacol Res.* 2015;93: 52-63
139. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;237:527-31.

140. Dhaese I, Lefebvre RA. Myosin light chain phosphatase activation is involved in the hydrogen sulfide-induced relaxation in mouse gastric fundus. *Eur J Pharmacol.* 2009; 606:180-6.
141. Pouokam E, Vallejo A, Martinez E, Traserra S, Jimenez M. Complementary mechanisms of modulation of spontaneous phasic contractions by the gaseous signalling molecules NO, H₂S, HNO and the polysulfide Na₂S₃ in the rat colon. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2021 Oct 8.
142. Pavoni V, Nicoletti P, Benemei S, Materazzi S, Perna F, Romagnoli S, et al. Effects of Hydrogen Sulfide (H₂S) on Mesenteric Perfusion in Experimental Induced Intestinal Ischemia in a Porcine Model. *Heart Lung vessels* (2015) 7 (3):231–7.
143. Ahmad A, Druzhyna N, Szabo C. Delayed Treatment With Sodium Hydrosulfide Improves Regional Blood Flow and Alleviates Cecal Ligation and Puncture (Clp)-Induced Septic Shock. *Shock* (2016) 46(2):183–93
144. Tokuda K, Kida K, Marutani E, Crimi E, Bougaki M, Khatri A, et al. Inhaled Hydrogen Sulfide Prevents Endotoxin-Induced Systemic Inflammation and Improves Survival by Altering Sulfide Metabolism in Mice. *Antioxidants Redox Signaling* (2012) 17(1):11–21.
145. Reitsema VA, Star BS, de Jager VD, van Meurs M, Henning RH, Bouma HR. Metabolic Resuscitation Strategies to Prevent Organ Dysfunction in Sepsis. *Antioxidants Redox Signaling* (2019) 31(2):134–52
146. Baumgart K, Radermacher P, Wagner F. Applying Gases for Microcirculatory and Cellular Oxygenation in Sepsis: Effects of Nitric Oxide, Carbon Monoxide, and Hydrogen Sulfide. *Curr Opin Anaesthesiol* (2009) 22 (2):168–76.

147. Leschelle X, Goubert M, Andriamihaja M, Blottiere HM, Couplan E, Gonzalez-Barroso MD, et al. Adaptive Metabolic Response of Human Colonic Epithelial Cells to the Adverse Effects of the Luminal Compound Sulfide. *Biochim Biophys Acta* (2005) 1725(2):201–12.
148. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The Vasorelaxant Effect of H₂S as a Novel Endogenous Gaseous K(ATP) Channel Opener. *EMBO J* (2001) 20(21):6008–16.
149. Spiller F, Orrico MI, Nascimento DC, Czaikoski PG, Souto FO, Alves-Filho JC, et al. Hydrogen Sulfide Improves Neutrophil Migration and Survival in Sepsis Via K⁺ATP Channel Activation. *Am J Respir Crit Care Med* (2010) 182 (3):360–8.
150. K. Kupai, N. Almasi, M. Kosa, J. Nemcsok, Z. Murlasits, S. Torok, A. Al-Awar, Z. Barath, A. Posa, C. Varga H₂S confers colonoprotection against TNBS-induced colitis by HO-1 upregulation in rats *Inflammopharmacology*, 26 (2) (2018)479-489
151. S. Fiorucci, S. Orlandi, A. Mencarelli, G. Caliendo, V. Santagada, E. Distrutti, L. Santucci, G. Cirino, J.L. Wallace Enhanced activity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis *Br. J. Pharmacol.*, 150 (8) (2007), pp. 996-1002
152. M. Castelblanco, J. Lugin, D. Ehrchiou, S. Nasi, I. Ishii, A. So, F. Martinon, N. Busso Hydrogen sulfide inhibits NLRP3 inflammasome activation and reduces cytokine production both in vitro and in a mouse model of inflammation *J. Biol. Chem.*, 293 (7) (2018), pp. 2546-2557
153. Schulz J, Kramer S, Kanatli Y, Kuebart A et al. Sodium Thiosulfate Improves Intestinal and Hepatic Microcirculation Without Affecting Mitochondrial Function in Experimental Sepsis. *Front Immunol.* 2021 Jun 7;12:671935

154. Mitchell TW, Savage JC, Gould DH. High-Performance Liquid Chromatography Detection of Sulfide in Tissues From Sulfide-Treated Mice. *J Appl Toxicol JAT* (1993) 13(6):389–94.
155. Schicho R, Krueger D, Zeller F, Von Weyhern CW, Frieling T, Kimura H, et al. Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the guinea-pig and human colon. *Gastroenterology* 2006; 131:1542–52.
156. Hennig B, Diener M. Actions of hydrogen sulphide on ion transport across rat distal colon. *Br J Pharmacol* 2009; 158:1263–75.
157. Sha L, Linden DR, Farrugia G, Szurszewski JH. Hydrogen sulfide selectively potentiates central preganglionic fast nicotinic synaptic input in mouse superior mesenteric ganglion. *J Neurosci* 2013; 33:12638–46.
158. Dominy JE, Stipanuk MH. New roles for cysteine and transsulfuration enzymes: Production of H₂S, a neuromodulator and smooth muscle relaxant. *Nutr Rev.*2004 ;62:348-353
159. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 237:527–31.
160. Liu Y, Liao R, Qiang Z, Yang W, Cao J, Zeng H. Exogenous H₂S Protects Colon Cells in Ulcerative Colitis by Inhibiting NLRP3 and Activating Autophagy. *DNA Cell Biol.*2021 Jun;40(6):748-756.
161. Farrugia G, Szurszewski JH. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2014; 147:303–13.
162. Gil V, Parsons S, Gallego D, Huizinga J, Jimenez M. Effects of hydrogen sulphide on motility patterns in the rat colon. *Br J Pharmacol* 2013; 169:34–50.

163. Kasparek MS, Linden DR, Farrugia G, Sarr MG. Hydrogen sulfide modulates contractile function in rat jejunum. *J Surg Res* 2012; 175(2):234–42.
164. Nalli AD, Rajagopal S, Mahavadi S, Grider JR, Murthy KS. Inhibition of RhoA-dependent pathway and contraction by endogenous hydrogen sulfide in rabbit gastric smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015.
165. Drucker NA, Jensen AR, Ferkowicz M, Markel TA. Hydrogen sulfide provides intestinal protection during a murine model of experimental necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg*. 2018 Sep;53(9):1692-1698.
166. Zygmunt M, Dudek M, Bilska-Wilkosz A, Bednarski M et al. Anti-inflammatory activity of lipoic acid in mice peritonitis model. *Acta Pol Pharm*. 2013 Sep-Oct;70(5):899-904.
167. Wang M, Tang JJ, Wang LX. H₂S enhances adult neurogenesis in a mouse model of Parkinson's Disease. *Neural Regen Res*. 2021 Jul;16(7):1353-1358.
168. Disbrow E, Stokes KY, Ledbetter C. et al. Plasma hydrogen sulfide: A biomarker of Alzheimer's disease and related dementias. *Alzheimers Dement*. 2021 Aug;17(8):1391-1402.
169. P. M. Snijder, A. R. Frenay, R. A. de Boer et al., “Exogenous administration of thiosulfate, a donor of hydrogen sulfide, attenuates angiotensin II-induced hypertensive heart disease in rats,” *British Journal of Pharmacology*, vol. 172, no. 6, pp. 1494–1504, 2015.
170. S. Lilyanna, M. T. Peh, O. W. Liew et al., “GY4137 attenuates remodeling, preserves cardiac function and modulates the natriuretic peptide response to ischemia,” *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, vol. 87, pp. 27–37, 2015.

171. L. L. Pan, X. L. Wang, X. L. Wang, and Y. Z. Zhu, "Sodium hydrosulfide prevents myocardial dysfunction through modulation of extracellular matrix accumulation and vascular density," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, no. 12, pp. 23212–23226, 2014.
172. N. Ma, H. M. Liu, T. Xia, J. D. Liu, and X. Z. Wang, "Chronic aerobic exercise training alleviates myocardial fibrosis in aged rats through restoring bioavailability of hydrogen sulfide," *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 96, no. 9, pp. 902–908, 2018.
173. L. L. Pan, X. H. Liu, Y. Q. Shen et al., "Inhibition of NADPH oxidase 4-related signaling by sodium hydrosulfide attenuates myocardial fibrotic response," *International Journal of Cardiology*, vol. 168, no. 4, pp. 3770–3778, 2013.
174. L. J. Ellmers, E. M. Templeton, A. P. Pilbrow et al., "Hydrogen sulfide treatment improves post-infarct remodeling and long-term cardiac function in CSE knockout and wild-type mice," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 12, p. 4284, 2020.
175. Huang X, Meng X-M, Liu D-H, Wu Y-S, Guo X, Lu H-L, et al. Different regulatory effects of hydrogen sulfide and nitric oxide on gastric motility in mice. *Eur J. Pharmacol.* 2013;720(1-3):276-85
176. Han Y-F, Huang X, Guo X, Wu Y-S, Liu D-h, Lu H-l, et al. Evidence that endogenous hydrogen sulfide exerts an excitatory effect on gastric motility in mice. *Eur J Pharmacol*, 2011;673(1-3):85-95

177. L.DR, Sha L, Mazzone A, Stoltz GJ, Bernard CE et al. Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in mouse tissues. *J Neurochem*, 2008;106(4):1577-85
178. Quan XJ, Zou BC, Qin B, Dai F, Lou HS, Wang JH. Effect of L-Cysteine on colonic motility and the underlying mechanism. *Sheng Li Xue Bao*. 2020 Jun 25; 72(3) :299-307
179. Nalli AD, Bhattacharya S, Wang H, Kendig DM, Grider JR, Murthy KS. Augmentation of cGMP/PKG pathway and colonic motility by hydrogen sulfide. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*.2017 Oct 1;313(4): G330-G341.
180. Dhaese I, Van Colen I, Lefebvre RA. Mechanisms of action of hydrogen sulfide in relaxation of mouse distal colonic smooth muscle. *Eur J Pharmacol*.2010 Feb 25;628(1-3) :179-86
181. Reist M, Jenner P, Halliwell B: Sulphite enhances per-oxynitrite-dependent α -1-antiproteinase inactivation. A mechanism of lung injury by sulphur dioxide. *FEBS Lett*, 1998, 423, 231-234
182. Lowicka E., Beltowski J.: Hydrogen Sulfide -The third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Rep*. 2007 Jan-Feb; 59(1):4-24
183. Dongo Eleni, Beliczai-Marosi Gabriella. The mechanism of action and role of hydrogen sulfide in the control of vascular tone. *Nitric Oxide*.2018 Dec 1;81:75-87
184. Lucetti LT, Silva RO, Santana AP. Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide Interact When Modulating Gastric Physiological Functions in Rodents.*Dig Dis Sci*.2017 Jan;62(1):93-104
185. Jensen AR, Drucker NA, Khaneki S. Hydrogen sulfide improves intestinal recovery following ischemia by endothelial nitric oxide- dependent

mechanisms. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.2017 May 1;312(5):G450-G456

186. Wallace JL, Ianaro A, de Nucci G. Gaseous Mediators in Gastrointestinal Mucosal Defense and Injury. Dig Dis Sci.2017 Sep;62(9):2223-2230

187. Dombkowski RA, Russell MJ, Olson KR. Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.2004;286: R678-685

188. 189. Tr.m.wikipedia.org

189. 190. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Medical Management

190. Guidelines For Hydrogen Sulfide.

