

Deneysel Tıkanma Sarılığı Modelinde Nitrik Oksit Düzeyleri ve Antitrombin III (AT-III) Uygulamasının Etkisi

THE EFFECT OF ANTITHROMBIN-III ON THE NITRIC OXIDE LEVELS IN EXPERIMENTAL OBSTRUCTIVE JAUNDICE

Dr.Mehmet ÇAĞLIKÜLEKÇİ, Dr.Cengiz PATA **, Dr.Musa DİRLİK, Dr.Gürbüz POLAT ***
Dr.Aziz YAZAR**, Dr.Koray ÖCAL *, Dr.ÖZLEN BAĞDATOĞLU***, Dr.Süha AYDIN*

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, (*) Genel Cerrahi AD, (**) İç Hastalıkları AD, (***) Biyokimya AD, MERSİN

ÖZET

Amaç: Deneysel oluşturulan tıkanma sarılığı modelinde kan nitrik oksit(NO) seviyeleri ve Antitrombin-III uygulamasının etkisini irdeledik.

Durum Değerlendirilmesi: Tıkanma sarılığında(TS) Kupffer hücre fonksiyonlarında bozukluklar ortaya çıkmaktadır.Buna bağlı olarak endotoksin ve özellikle Lipopolisakkaridler(LPS) Kupffer hücreleri tarafından temizlenememekte ,proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunda artış söz konusu olmaktadır.LPS kaynaklı sistemik endotoksemi ve proinflamatuvar sitokinlerin etkisi ile NO ekspresyonunda artış olabileceği belirtilmektedir.Bu çalışmada sepsiste kullanım alanı bulan ve LPS kaynaklı endotoksemiye azaltacağı düşünülen AT-III uygulanmasının etkisini inceledik.

Yöntem: Bu amaçla 40 denekten oluşan 4 grup oluşturduk.Grup 1:Kontrol grubu,Grup 2:Kontrol+AT-III grubu,Grup 3: Tıkanma Sarılığı oluşturulan grup. Grup 4:TS+AT-III grubu.Grup 2 ve 4 de 250 IU/kg AT-III periton içine 5günsüre uygulandı.2. grupta 1.günden başlayarak verilirken 4.grupta koledok bağlandıktan 5 gün sonra verilmeye başlandı.Alınan kan örnekleri Nitrik Oxide Colorometric Assay yöntemi ile değerlendirildi.

Çıkarımlar: Kontrol grubunda NO düzeyi 33.99µmol/L,Kontrol +AT-III grubunda 32.26µmol/L, TS grubunda 46.33µmol/L,TS+AT-III grubunda ise 34.71µmol/L olarak bulundu.TS grubunda bulunan NO düzeyleri ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı.TS oluşturulup AT-III verilen denek grubunda NO düzeyi TS grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunurken kontrol grubundaki deneklerin NO düzeyine yakın seviyeler saptandı.

Sonuçlar: Deneysel çalışmamızda tıkanma sarılığı oluşturulan deneklerde kan NO seviyesinin endotoksemi kaynaklı olarak yükseldiğini ve AT-III verilmesi ile NO düzeylerinde düşüşler olduğunu saptadık.

Anahtar kelimeler: Deneysel tıkanma sarılığı, nitrik oksit, Antitrombin-III

SUMMARY

There is a very high incidence of morbidity and mortality in patients with obstructive jaundice.The absence of bile in the gastrointestinal tract stimulates bacterial overgrowth and bacterial translocation.The increased concentrations of bacteria and endotoxin in the portal blood leads to systemic endotoxemia.In response to endotoxin or in LPS-induced endotoxemia TNF-alfa,NO and other mediators were released from endothelial and Kupffer cells.We investigated the effect of Antithrom-

bin-III that is a physiological inhibitor of thrombin and other proteases of the clotting cascade. AT-III prevents vascular injury by inhibiting leukocyte activation in LPS-induced endotoxemia. Forty male Wistar-Albino rats weighing 200-250 gr. were divided into four groups. Controls (not operated on, n=10); Control+AT-III (AT-III was given 250IU/kg for 5 days, n=10); Bile duct ligation alone (for 5 days, n=10); Bile duct ligation+AT-III (5 days after bile duct ligation AT-III was given 250IU/kg for 5 days, n=10). At the end of tenth day, rats were sacrificed under Ketamine anesthesia and the serum samples were obtained from whole bloods. Nitric oxide levels were measured by Nitric oxide colorimetric Assay (Boehringer Mannheim, Cat. No. 1756281, Mannheim, Germany). NO level was found 33.99 µmol/L in Group A, 32.26 µmol/L in Group B, 46.33 µmol/L in Group C, 34.71 µmol/L in Group D. As a conclusion, in our experimental study, the increased level of NO in rats with induced obstructive jaundice is thought to be related to endotoxemia and a decrease in the level of NO was detected following AT-III application.

Keywords: Obstructive jaundice, Antithrombin-III, nitric oxide levels

Tıkanma sarılığında morbidite ve mortalitenin nedenleri arasında akciğer ve böbrek yetmezliği ön sıralarda yer almaktadır (1). Özellikle sarılıkta oluşan endotoksemi ve sepsis bu tabloyu hazırlamaktadır.

Tıkanma sarılığı oluşturulan deneklerde renal, pulmoner ve sistemik vasküler endotel bütünlüğünün bozulduğu ve noradrenalin, 5-Hidroksi Triptamin gibi vazoaaktif maddelere karşı vasküler endotel cevabın azaldığı gösterilmiştir (2).

Vasküler endotel bir çok farmakolojik uyarıya göre damar tonusunun sağlanmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Vasküler endotel; gevşetici (endotel kaynaklı gevşetici faktör = Nitrik oksit) ve kontrakte edici maddelere göre kendisini çeviren düz kasları harekete geçirmektedir (3).

Tıkanma sarılığında oluşan endotoksemi ve sepsisin nedenleri arasında nitrik oksit (NO) üretiminin artışı rol oynadığı belirtilmektedir (4). Tıkanma sarılığında Kupffer hücre fonksiyonlarının bozulması sonucu LPS kaynaklı endotoksemi ve inflamatuvar sitokinlerde artışlar olabileceği belirtilmektedir. Özellikle LPS kaynaklı endotoksemimin NO ekspresyonunda ve üretiminde artışa yol açabileceği düşünülmektedir. LPS güçlü bir inflamatuvar stimulus olup konakçıda TNF-alfa, IL-1, PAF, kompleman, eikasonoidler, opioidler, adezyon molekülleri gibi birçok endojen mediatörlerin salınımına yol açar. Dolayısı ile LPS'nin etkisi ile NO sentetazın sitokinlere bağlı artışı endotelial harabiyete ve damar direncinin azalmasına yol açmaktadır. Antitrombin III (AT-III) trombin ve diğer proteazların fizyolojik bir inhibitörü olup endotel hücrelerinden prostasiklin düzeyini artırmaktadır. AT-III damar endotelinden lökosit aktivasyonunu önleyerek birçok inflamatuvar mediatörün salınmasını baskılamakta ve nötrofil-

lerin endotel adezyonunu engellemektedir. Ayrıca LPS kaynaklı endotoksemiye azaltıcı etkisinin olabileceği düşünülmektedir (5).

Daha önce deneysel tıkanma sarılığı modelinde NO düzeylerine AT-III'in etkisini araştıran bir çalışmanın yapılmamış olması nedeni ile böyle bir deneysel çalışma planladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deneysel çalışmamızı Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde gerçekleştirdik. Çalışmamızda ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen 40 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Bu amaçla 4 deney grubu oluşturuldu.

Grup A : Kontrol (n = 10)

Grup B : Kontrol + AT-III (n = 10)

Grup C : Tıkanma Sarılığı (n = 10)

Grup D : Tıkanma Sarılığı + AT-III (n = 10)

Tüm denekler standart laboratuvar yemi ile beslendi. Deneklerin anestezisi için 50 mg/kg Intramuskuler Ketamin ile yapıldı. C ve D grubundaki deneklere 4 cm lik orta hat kesisi ile batına girildi. Karaciğer sağ lobu yukarıya, duodenum aşağı doğru çekilerek koledok bulundu. 5/0 prolene ile koledok üst ve alt bölümünden bağlandı. Yeniden rekanalize olmaması için kesildi. Grup B deki deneklere AT-III 250 IU/kg dozunda 5 gün süre ile uygulandı. Grup D'deki deneklere tıkanma sarılığı oluşturduktan (koledok bağlandıktan) 5 gün sonra başlanacak şekilde 250 IU/kg dozunda 5 gün süre ile uygulandı. A ve B grubundaki denekler 5. ci günde, C ve D grubundaki denekler ise koledok bağlandıktan 10 gün sonra sakrifiye

TABLO 1: GRUPLARDAKİ NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNE AİT İSTATİSTİKSEL VERİLER

GRUPLAR	ORTALAMA	STANDART DEVİYASYON	MINİMUM	MAKSİMUM
KONTROL(N=10)	33.99±3.50	11.07	26.06	41.91
KONTROL+AT-III(N=10)	32.26±1.64	5.20	28.54	35.99
SARILIK(N=10)	46.33±2.51	7.94	40.64	52.01
SARILIK+AT-III(N=10)	34.71±2.85	9.01	28.26	41.15
TÜM GRUPLAR(N=10)	36.82±1.57	9.97	33.63	40.01

edildiler ve nitrik oksit düzeylerinin tespiti için kanları alındı.

KAN NİTRİK OKSİT DÜZEY TAYİNLERİ

Deneklerin serum örnekleri elde edildikten sonra nitrik oksit düzeylerinin tespiti için biyokimyasal işlemlere başlandı. Biyolojik sıvılarda Nitrik oksit; nitritin nitrate oksidasyonu sonucunda hızlı bir şekilde deaktivasyona uğramaktadır. Örneklerde oluşan nitrat; nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgendir. Oluşan nitrit; sülfanilamid ve N-(1-naphtyl)-etilendiamin ile reaksiyona sokularak kırmızı menekşe renginde diazo solusyonu elde edildi. Bu solusyon görülebilen 550nm aralığında absorbe olması prensibine dayanılarak ölçüldü. (Nitric Oxide Colorometric Assay, Boehringer Mannheim, Cat. No. 1756281, Mannheim, Germany).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için One Way Anova testi ile Dunnett testleri uygulandı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

SONUÇLAR

Koledoğun bağlanması ile tıkanma sarılığı oluşturulan deneklerde 3.cü günden itibaren belirgin bir sarılık ortaya çıktı. Grup 3'de Direk bilirubin düzeyi 10.2 mgr/dl, Grup 4'de ise 10.8 mgr/dl olarak ortaya çıktı.

Nitric Oxide Colorometric Assay ile ölçülen kan NO düzeyleri:

Kontrol(1) grubunda 33.99 ± 3.50 mmol/L,
Kontrol + AT-III(2) grubunda 32.26 ± 1.64 mmol/L
Sarılık (3) grubunda 46.33 ± 2.51 mmol/L,
Sarılık + AT-III(4) grubunda 34.71 ± 2.85 mmol/L
olarak bulundu.

İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR

Gruplardaki Nitrik oksit düzeyleri Grafik 1'de gruplar ile ilgili istatistiksel ortalama değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Kan NO düzeyleri arasında Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($P > 0.05$).

NO düzeyleri arasında Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı ($P < 0.05$).

NO düzeyleri arasında Grup 1 ile Grup 4 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($P > 0.05$).

NO düzeyleri arasında Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı ($P < 0.05$).

NO düzeyleri arasında Grup 2 ile Grup 4 arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı ($P > 0.05$).

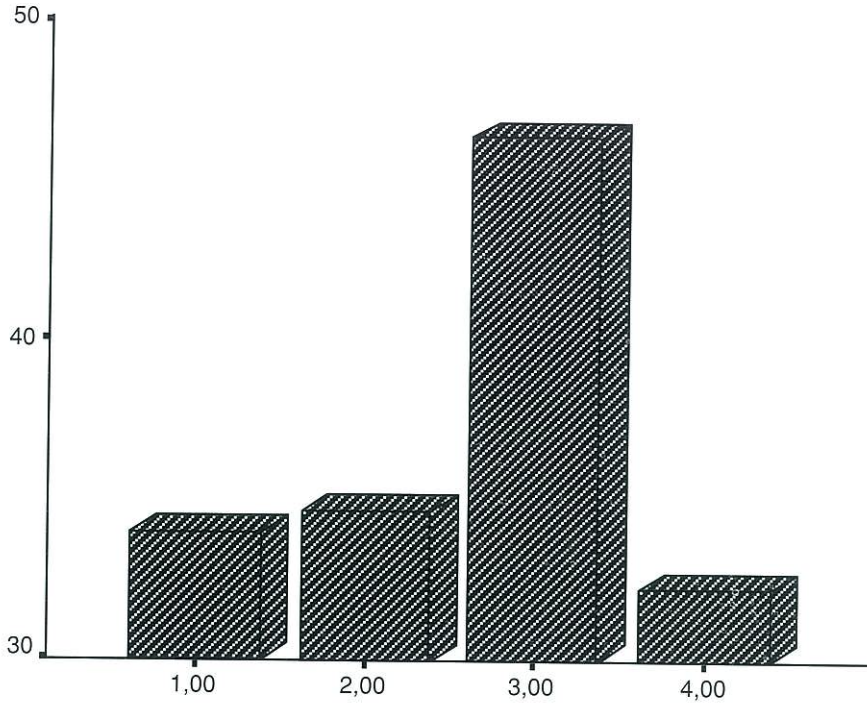
NO düzeyleri arasında Grup 3 ile Grup 4 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı ($P < 0.05$).

Gruplar arasındaki NO düzeylerinin istatistiksel anlamlılık değerlendirilmesi Tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı; birçok klinik problemin ortaya çıkmasına yol açan ciddi bir klinikopatolojik durumdur. Böbrek yetmezliği, sepsis, koagülasyon bozukluğu, yara iyileşmesinde gecikme, karaciğer yetmezliği tıkanma sarılığı sonucunda oluşan morbidite ve mortalitenin sebepleri arasında sayılmaktadır(6).

Tıkanma sarılığında oluşan sistemik endotoksemisinin temelinde yatan sebep; bakteriyel translokasyon sonrası portal vene geçen LPS ve diğer endotoksinlerin karaciğer kupffer hücreleri tarafından temizlenememesidir. Safranın barsağa akamaması sonucu intestinal mukoza; safra tuzları,



Grup 1: Kontrol Grubu, Grup 2: Kontrol + Antitrombin-III (AT-III) Grubu
Grup 3: Tıkanma Sarılığı Grubu Grup 4: Tıkanma Sarılığı + AT-III Grubu

Şekil 1: Çalışma gruplarında ortalama nitrik oksit düzeyleri

safra pigmentleri ve fosfolipitlerden faydalanamamaktadır. Bu bileşenlerin LPS ve diğer endotoksinleri nötralize etme ve ortadan kaldırma etkisi azalmaktadır (7,8).

Tıkanma sarılığında LPS antijenleri bakteriyel translokasyon sonucu karaciğere gelmektedir. TS'da bozulan kupffer hücre fonksiyonları sonucu LPS etkisiz hale getirilememekte ve septik şok benzeri LPS kaynaklı bir sistemik endotoksemi ortaya çıkmaktadır. Endotoksin bu etkilerini ortaya çıkarırken TNF- α ve IL-1'i mediatör olarak kullanmaktadır (9).

LPS kaynaklı endotoksemisinin başlangıcında kompleman sistemi, nötrofil, monositler, endotel

hücreleri ve koagülasyon kaskadları aktive olmaktadır. Nötrofil, monosit ve endotel hücrelerinin uyarılması ile bu hücrelerden proinflatuar yapıda sitokinler salgılanmakta, sitokinlerde aynı zamanda bu hücreleri yeniden tetiklemektedir. Buna bağlı kompleman sisteminin aktive olması ile kemotaksis oluşmakta, serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler artmaktadır. Nötrofil, monosit ve endotel hücrelerinin aktive olması ile ICAM, VICAM, eSelektin gibi adezyon molekülleri, PAF (Platelet aktive edici Faktör), Lökotren, Araşidonik asit metabolitleri gibi lipit mediatörleri, Nitrik oksit gibi endotel kaynaklı mediatörlerin ekspresyonu ve üretimi artmaktadır. Bu etkilerin

TABLO 2: GRUPLAR ARASINDAKİ NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNİN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ

NO DÜZEYİ	P DEĞERİ	KONTROL	KONTROL + AT-III	SARILIK	SARILIK + AT-III
NO DÜZEYİ	KONTROL				
NO DÜZEYİ	KONTROL + AT-III	0.969			
NO DÜZEYİ	SARILIK	0.014	0.004		
NO DÜZEYİ	SARILIK + AT-III	0.998	0.919	0.022	

sonucunda hücrel adezyon, proteaz ve serbest radikallerde artış, koagülasyon kaskadında artış olmakta, mikrosirkülasyon bozulmakta ve multiorgan yetmezliğine zemin oluşturmaktadır (10).

NOS(Nitrik oksit sentetaz) enzim ailesi üç izoenzimden oluşmaktadır. Bu enzimler Nöronal NOS (nNOS, NOS1), inducible NOS (iNOS, NOS2) ve endotelial NOS (eNOS, NOS3) olarak adlandırılmaktadır. Nöronal NOS ve endotelial NOS, constitutive NOS (cNOS) olarak da adlandırılmaktadır. iNOS endotoksin, TNF-alfa, IL-1, IF-gamma gibi sitokinlerin varlığında cevap olarak salınmaktadır. NO'nun etkisi toksik ya da koruyucu olabilir. İnflamasyon ve endotoksemi gibi pek çok patolojik durumda NO ve O₂ birlikte üretilir. NO bazı durumlarda lipit peroksidasyonu sonucu en toksik radikal olan peroksinitrit (ONOO) oluşturarak gösterir. Bazı durumlarda da O₂'nin toksik etkisini önleyici rol üstlenebilir. NO; TNF-alfa, IL-8 salınımı prostoglandin ve siklooksijenaz sentezini artırmaktadır. Bazı durumlarda ise NO nötrofillerdeki nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı inaktive ederek antiinflamatuvar etki gösterebilmektedir. Ancak çalışmamızda NO; tıkanma sarılığı nedeni ile endotoksemi kaynaklı artış gösteren inflamatuvar yönü ile karşımıza çıkmaktadır. Nitrik oksit (NO) güçlü bir vasküler düz kas gevşetici faktör olup ven ve arterleri etkilemektedir. NO guanilat siklazı etkilemek sureti ile Guanidin Trifosfatın siklik Guanizin monofosfata dönüşümünü sağlar. cGMP hücre içi haberci etkisi myozin hafif zincirinin defosforili-zasyonuna yol açmaktadır. Sonuçta damar düz kaslarında gevşeme oluşmaktadır. NO oluşumu için ortamda L-arjinin bulunması önemlidir (11,12).

TS'da LPS kaynaklı endotoksemi sonucunda makrofaj, nötrofil ve endotel hücrelerinden Nitrik oksit sentetaz (NOS) ile NO üretiminin artacağı belirtilmektedir. Tıkanma sarılığında LPS kaynaklı endotoksemiye bağlı olarak gelişebilecek hücrel hasar ve lipit peroksidasyonunda artış olabileceği düşünülmektedir. Kawamura ve arkadaşları safra yolu obstrüksiyonlarında hepatic lipit peroksidasyonunda artışlar olduğunu göstermişlerdir(13). Tıkanma sarılığında makrofajlara ek olarak karaciğer kupffer hücrelerinden de NO üretiminde artış olabileceği söylenmektedir (14,15).

Shiomi ve arkadaşları, sarılık oluşturulan ratlarda Nitrik oksit düzeylerinin artacağını ve bunun mitokondriyal fonksiyonlarda bozukluklara yol açacağını, NO supresyonu ile düzelme sağlanacağını belirtmektedirler (16).

Nahavandi ve arkadaşlarının sarılık oluşturulan ratlarda NOS'ı inhibe etmek sureti ile NO düzeylerinin düşürüldüğünü ve bunun sonucunda etanole bağlı mide mukozal harabiyetinin azaltıldığını göstermişlerdir (17).

Özellikle TS'da LPS kaynaklı endotoksemisinin ileri dönemlerinde sitokin ve endotoksin kaynaklı Nitrik Oksit Sentetazın ve buna bağlı ortaya çıkan NO üretiminin artışı periferik vasküler tonusta azalma ve ciddi hipotansiyona yol açmakta, mortaliteyi hızlandırmaktadır.

Topuzlu ve Stahl yaptıkları çok önemli bir çalışmada deneklerde safra infüzyonunu takiben hipovolemi, renal yetmezlik ve natriürezis geliştiğini gösterdiler(18). Tıkanma sarılığında atrial natriüretik peptid denilen bir humoral mediatörün arttığı natriürezis, kaliürezis, periferik vazodilatasyon ve hipotansiyona yol açtığı belirtilmektedir(19). Bu değişimlerde NO mediatörünün etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Son bir çalışmada tıkanma sarılığı oluşturulan deneklerde oluşacak hepatorenal bozuklukların temelinde nitrik oksit ve siklooksijenaz ürünlerinin önemli rol oynayacağı yönünde görüşler bildirilmektedir. Bu çalışmada sarılık oluşturulan deneklerde natriürezis, kaliürezis ve nitrit ekskresyonunda artış saptanmıştır (20).

Deneyel çalışmamızda sarılık oluşturduğumuz ratlarda kan NO düzeyi diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Antitrombin-III (AT-III) pıhtılaşma kaskadında rol oynayan trombin ve proteazlar için inhibitör etki gösteren bir maddedir. AT-III düzeylerinin sepsis, major yaralanma ve tıkanma sarılığında azaldığı belirtilmektedir. AT-III endotel hücrelerinden ve makrofajlardan TNF- α , IL-1, IL-6, ICAM gibi proinflamatuvar mediatörleri inhibe etmektedir. Ayrıca nötrofil ve lökositlerin endotelial hücrelere adezyonunu azaltıcı etki göstermektedir. AT-III, LPS kaynaklı endotoksemide lökosit aktivasyonunu engelleyerek antiinflamatuvar etki göstermektedir (21,22,23).

AT-III doza bağlı etki göstermekte olup, 50-100 IU/kg dozlarında koagülasyon kaskadında inhibe edici etki, 250IU/kg dozunda endotoksemide önleyici etkisi ağır basmaktadır (24). Bu nedenle deneyel çalışmamızda bu etkiyi sağlamak amacı ile 250IU/kg dozunda ilaç kullanıldı.

Opal ve arkadaşları AT-III'ün LPS kaynaklı veya diğer nedenlerle gelişebilen sepsis olgularında terapatik rasyonelliğe sahip bir preparat olarak kullanım alanı bulacağını düşünümektedirler (25).

Çalışmamızda AT-III uygulanan sarılıklı

deneklerde kan NO düzeylerinin sarılık oluşturulup AT-III verilmeyen deneklere göre anlamlı derecede düşük bulunmasını; AT-III uygulamasının sarılıklı deneklerde muhtemel LPS kaynaklı endotoksemiye azaltıcı etkisine bağladık. Tıkanma sarılığı oluşturulan deneklerde LPS kaynaklı endotoksemisinin etkilerinin ortaya çıkabilmesi amacı ile bir sonraki deneysel çalışmamızda dışarıdan LPS vererek endotoksemi oluşturmayı düşünmekteyiz.

Sonuç olarak TS'da LPS kaynaklı sistemik endotoksemi, morbidite ve mortalitenin artmasına zemin hazırlayan fizyopatolojik nedenlerin başında gelmektedir. Nitrik oksit oluşan endotoksemi sonrası ortaya çıkan önemli bir mediatör olup; AT-III ile inhibisyonunun tıkanma sarılığına bağlı ortaya çıkabilecek hasarı azaltmada etkili olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Armstrong CP, Dixon JM, Taylor TV et al. Surgical experience of deeply jaundiced patients with bile duct obstruction. *Br J Surg* 1984;71:234-8.
2. Utkan Z, Utkan T, Sarıoğlu Y, Gönüllü N. Effects of experimental obstructive jaundice on contractile responses of dog isolated blood vessels: Role of endothelium and duration of bile duct ligation. *Clin. and Exp. Pharm. and Phys.* 2000;27:339-344.
3. Fortes Z, Leme JG, Sciveletto R. Vascular reactivity in diabetes mellitus: Role of endothelial cell. *Br J Pharmacol* 1983;53:557-63.
4. Sheen-Chen SM, Chau P, Harris HW. Obstructive jaundice alters Kupffer cell function independent of bacterial translocation. *J Surg Res* 1998;80(2):205-9.
5. Ilias W, Ilist W, Decruyenaere J, et al. Antithrombin-III in patients with severe sepsis: a pharmacokinetic study. *Int. Care Med* 2000;26(6):704-15.
6. Fogarty BJ, Parks RW, Rowlands BJ, Diamond T. Renal dysfunction in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1995;82:877-4.
7. Scott-Corner CE, Grogan JB. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Res* 1994;57(2):316-36.
8. Saito JM, Maher JJ. Bile duct ligation in rats induces biliary expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant. *Gastroenterology* 2000;118 (6):1157-68.
9. Nakano H, Fujiwara Y, Kitamura N, et al. Susceptibility to lipopolysaccharide of cholestatic rat liver produced with bile duct ligation: assessments of the mitochondrial glutathione pool and the effects of N-acetylcysteine. *Eur Sur Res* 2000;32(3):148-54.
10. Shoemaker W. Cellular effectors of the septic process. *Textbook of Critical Care*. 4 th edition. Saunders. Philadelphia. 2000:523-542.
11. Moncada S, Palmer RMJ, and Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43:109-142.
12. Inan M, Sayek I, Tel BC, et al. Role of endotoxin and nitric oxide in the pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1997;84(7):943-7.
13. Kawamura K, Kobayashi F, Kageyama F, et al. Enhanced hepatic lipid peroxidation in patients with primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (12):3596-601.
14. Kimpel M, Folz IC, Hanisch E. Time course-dependent evolution of nitric oxide-mediated arterial hyporeactivity to phenylephrine in rats with ligated bile duct. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33(3):314-8.
15. Shimizu Y, Miyazaki M, Ito H, et al. Enhanced endothelial cell injury by activated neutrophils in patients with obstructive jaundice. *J Hepatol* 1997;27 (5):803-9.
16. Shiomi M, Wakabayashi Y, Sano T, et al. Nitric oxide suppression reversibly attenuates mitochondrial dysfunction and cholestasis in endotoxemic rat liver. *Hepatology* 1998;27 (1):108-15.
17. Nahavandi A, Dehpour AR, Mani AR, et al. N(G)-nitro-L-arginine methylester is protective against ethanol-induced gastric damage in cholestatic rats. *Eur J Pharmacol* 1999;370(3):283-6.
18. Topuzlu C, Sathl MW. Effect of bile infusion on the dog kidney. *N Engl J Med* 1966;274:760-3.
19. Valverde J, Martinez Rodenas F, Pereira JA, et al. Rapid increase in plasma levels of atrial natriuretic peptide after common bile duct ligation in the rabbit. *Ann Surg* 1992;216:554-9
20. Criado M, Flores O, Hidalgo F, et al. Interaction between prostanoids and nitric oxide in the control of tubular function in rats with chronic bile duct ligation. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77(2):111-7 (Özet).
21. Uchiba M, Okajima K. Antithrombin-III (AT-III) prevents LPS-induced pulmonary vascular injury: novel biological activity of AT-III. *Semin Thromb Hemost* 1997;23(6):583-90.
22. Mavrommatis AC, Theodoridis T, Orfanidou A, et al. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis. *Crit Care Med* 2000;28(2):451-7.
23. Okajima K, Uchiba M. The anti-inflammatory properties of antithrombin-III: new therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24(1):27-32.

24. Uchiba M, Okajima K, Murakami K. Effects of various doses of Antithrombin-III on endotoxin-induced endothelial cell injury and coagulation abnormalities in rats. *Thromb Res* 1998; 89(5):233-41.
25. Opal SM. Therapeutic rationale for antithrombin III in sepsis. *Crit. Care Med* 2000; 28(9):34-7.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr. Mehmet ÇAĞLIKÜLEÇÇİ
Palma-2 Sitesi A1 Bl. K:6 No:17
75.Yıl Mah. Davultepe,
MERSİN