

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL İNTESTİNAL  
VOLVULUSA BAĞLI İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE  
HİDROJENLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ SALİN  
SOLÜSYONUNUN KORUYUCU ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. HAYRUNNİSA ORAL**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. ZAFER TÜRKYILMAZ**

**ANKARA  
TEMMUZ 2021**

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL İNTESTİNAL  
VOLVULUSA BAĞLI İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE  
HİDROJENLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ SALİN  
SOLÜSYONUNUN KORUYUCU ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. HAYRUNNİSA ORAL**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. ZAFER TÜRKYILMAZ**

**ANKARA  
TEMMUZ 2021**

## ÖNSÖZ

Çocuk Cerrahisi uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan, cerrahinin temel ilkelerini bizlere öğreten değerli hocalarım; Prof. Dr. Kaan SÖNMEZ başta olmak üzere, Prof. Dr. Ramazan KARABULUT, Prof. Dr. İ. Onur ÖZEN, Prof. Dr. Y. Hakan ÇAVUŞOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Cem KAYA'ya

Tez çalışmama önderlik eden, asistanı olmaktan onur duyduğum kıymetli hocam Prof. Dr. Zafer TÜRKYILMAZ'a,

Tez çalışmama katkı sağlayan, bu süreçte emek ve ilgilerini esirgemeyen değerli Doç. Dr. Cengiz KARAKAYA ve Öğr. Gör. Dr. Duygu DAYANIR'a

Uzmanlık eğitimine başladığım ilk günden itibaren bilgi ve deneyimlerini benimle her daim paylaşan, bana abla olan, sevgili kıdemlilerim Op. Dr. Sibel ERYILMAZ'a ve Op.Dr. Merve Altın GÜLBURUN'a

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Dr. Deniz GÖKÇE, Dr. Nassim EMARAT PARDAZ, Dr. Abdurrahman TARTIK, Dr. Gökhan ARKAN, Dr. Aslı SEVİMLİ, hemşire ve personel ekibine,

Doktor olmak istediğimi söylediğim ilk andan bu yana bana inanan, beni hep destekleyen, bu yorucu ve zorlu süreçte sevgi, sabır ve fedakarlıklarını hiçbir zaman esirgemeyen, varlıkları ile bana güç veren canım aileme,

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürler.

**Dr.Hayrunnisa ORAL**

# İÇİNDEKİLER

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| ÖNSÖZ.....                                            | i   |
| İÇİNDEKİLER.....                                      | ii  |
| TABLolar DİZİNİ .....                                 | iv  |
| RESİMLER DİZİNİ .....                                 | v   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                  | vi  |
| KISALTMALAR .....                                     | vii |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                | 3   |
| 2.1. İnce Bağırsağın Embriyolojisi ve Anatomisi ..... | 3   |
| 2.2. İntestinal volvulus .....                        | 5   |
| 2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji.....                    | 5   |
| 2.2.2. Klinik.....                                    | 6   |
| 2.2.3. Tanı.....                                      | 7   |
| 2.2.4. Tedavi.....                                    | 8   |
| 2.3. İskemi .....                                     | 9   |
| 2.4. Reperfüzyon ve Hasarı .....                      | 12  |
| 2.5. Serbest Radikaller.....                          | 15  |
| 2.6. Antioksidanlar .....                             | 18  |
| 2.7. İnce Bağırsak İskemi/Reperfüzyon Hasarı .....    | 20  |
| 2.8. Hidrojenden Zengin Salın Solüsyonu (HZSS) .....  | 21  |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM.....                               | 24  |
| 3.1. Deney Hayvanları.....                            | 24  |
| 3.2. Deneysel Çalışma Yöntemi .....                   | 24  |
| 3.3. Histomorfolojik İnceleme.....                    | 29  |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 3.4. Biyokimyasal İnceleme .....                               | 30 |
| 3.5. İstatistiksel Değerlendirme .....                         | 31 |
| 4. BULGULAR .....                                              | 32 |
| 4.1. Bağırsak Dokusundaki ve Kandaki Biyokimyasal Analiz ..... | 32 |
| 4.2. Histomorfolojik Değerlendirme ve Analiz.....              | 34 |
| 5. TARTIŞMA.....                                               | 38 |
| 6. SONUÇ .....                                                 | 45 |
| 7. KAYNAKLAR.....                                              | 46 |
| 8. ÖZET.....                                                   | 57 |
| 9. SUMMARY .....                                               | 59 |
| 10. ÖZGEÇMİŞ.....                                              | 61 |

## **TABLÖLAR DİZİNİ**

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Hücre hasarında rol oynayan başlıca serbest radikallerin özellikleri .....   | 17 |
| Tablo 2. TAS, TOS, OSI Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı ve Standart Sapmaları..... | 32 |
| Tablo 3. Gruplarda Chiu Sınıflamasına Göre Doku Hasarı Derecelendirmesi .....         | 36 |



## RESİMLER DİZİNİ

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resim 1. Rat ileoçekal valv, ince bağırsak ve kolonun görüntüsü.....                              | 25 |
| Resim 2. Çalışmanın başlangıcı, volvulus modeli .....                                             | 26 |
| Resim 3. İskeminin ilerleyen süreci .....                                                         | 27 |
| Resim 4. 2 saatlik iskemi süresi sonunda modelin oluşturulduğu bağırsağın<br>görüntüsü .....      | 27 |
| Resim 5. 2 saatlik reperfüzyon süresi sonunda modelin oluşturulduğu bağırsağın<br>görüntüsü ..... | 28 |
| Resim 6. Sham ve HZSS grubunda ileum dokusunun histomorfolojik incelenmesi<br>.....               | 35 |
| Resim 7. I/R grubunda ileum dokusunun histomorfolojik incelenmesi.....                            | 35 |
| Resim 8. Tedavi I ve Tedavi II gruplarında ileum dokusunun histomorfolojik<br>incelenmesi .....   | 36 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Rotasyondan önce primer intestinal loop (primitif bağırsak) (solda), saat yönünün tersine 90° dönüş yapmış primer intestinal loop (sağda) .....                                             | 4  |
| Şekil 2. 270° saat yönünün tersine olan dönüşten sonra bağırsakların önden görünüşü (solda), bağırsakların son konumlarının görüntüsü, çekum ve appendiks sağ alt kadrana yerleşmiştir (sağda) ..... | 5  |
| Şekil 3. İskemi .....                                                                                                                                                                                | 11 |
| Şekil 4. Ca'nın hücre içerisindeki etkileri .....                                                                                                                                                    | 12 |
| Şekil 5. Reperfüzyon .....                                                                                                                                                                           | 13 |
| Şekil 6. KO aracılı serbest radikal hasarının mekanizması .....                                                                                                                                      | 14 |
| Şekil 7. Serbest radikaller .....                                                                                                                                                                    | 15 |
| Şekil 8. Hücre hasarı .....                                                                                                                                                                          | 18 |
| Şekil 9. Hidrojen'in kullanım alanları .....                                                                                                                                                         | 23 |

## KISALTMALAR

|                                   |                                                |
|-----------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>AMP</b>                        | : Adenozin Monofosfat                          |
| <b>ARDS</b>                       | : Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu              |
| <b>ATP</b>                        | : Adenozin Trifosfat                           |
| <b>BT</b>                         | : Bilgisayarlı Tomografi                       |
| <b>Ca</b>                         | : Kalsiyum                                     |
| <b>CAT</b>                        | : Katalaz                                      |
| <b>CRP</b>                        | : C-Reaktif Protein                            |
| <b>Cu</b>                         | : Bakır                                        |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribo Nükleik asit                      |
| <b>EGF</b>                        | : Epidermal Büyüme Faktörü                     |
| <b>ER</b>                         | : Endoplazmik Retikulum                        |
| <b>Fe</b>                         | : Demir                                        |
| <b>GSH</b>                        | : Glutasyon                                    |
| <b>GSH-PX</b>                     | : Glutasyon Peroksidaz                         |
| <b>GSH-R</b>                      | : Glutasyon Redüktaz                           |
| <b>GSSG</b>                       | : Glutasyon Disülfid                           |
| <b>GST</b>                        | : Glutasyon S-Transferaz                       |
| <b>H<sub>2</sub></b>              | : Hidrojen                                     |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>             | : Su                                           |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen Peroksit                            |
| <b>H&amp;E</b>                    | : Hematoksilen-eozin                           |
| <b>HZSS</b>                       | : Hidrojenle Zenginleştirilmiş Salin Solüsyonu |
| <b>I/R</b>                        | : İskemi/ Reperfüzyon                          |
| <b>İm</b>                         | : İntramüsküler                                |
| <b>K</b>                          | : Potasyum                                     |
| <b>KDH</b>                        | : Ksantin Dehidrogenaz                         |
| <b>KO</b>                         | : Ksantin Oksidaz                              |
| <b>MDA</b>                        | : Malondialdehit                               |
| <b>Mn</b>                         | : Manganez                                     |
| <b>MPO</b>                        | : Myeloperoksidaz                              |

|                                  |                                        |
|----------------------------------|----------------------------------------|
| <b>MR</b>                        | : Manyetik Rezonans                    |
| <b>MOF</b>                       | : Multi Organ Yetmezliği               |
| <b>Na</b>                        | : Sodyum                               |
| <b>NAC</b>                       | : N-Asetil Sistein                     |
| <b>NAD</b>                       | : Nikotinamid adenin dinökleotid       |
| <b>NEK</b>                       | : Nekrotizan Enterokolit               |
| <b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b> | : Süperoksit Radikali                  |
| <b>OH<sup>-</sup></b>            | : Hidroksil Radikali                   |
| <b>ONOO</b>                      | : Peroksinitrit                        |
| <b>OSİ</b>                       | : Oksidatif Stres İndeksi              |
| <b>SIRS</b>                      | : Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu |
| <b>SMA</b>                       | : Süperior Mezenterik Arter            |
| <b>SMV</b>                       | : Süperior Mezenterik Ven              |
| <b>SOD</b>                       | : Süperoksit Dismutaz                  |
| <b>TAS</b>                       | : Total Antioksidan Seviye             |
| <b>TOS</b>                       | : Total Oksidan Seviye                 |
| <b>USG</b>                       | : Ultrasonografi                       |
| <b>Zn</b>                        | : Çinko                                |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sıklıkla bir arterin tıkanmasına bağlı olarak ortaya çıkan ancak venöz drenaj yetersizliklerinin de sebep olabildiği, hedef dokuya besin ve oksijenin taşınmaması olayı iskemi olarak adlandırılır (1). Dokuya yeniden kan akışının sağlandığı reperfüzyon dönemi ise gerekli olmakla birlikte paradoksal olarak hasarı artıran bir dizi reaksiyonu içerisinde barındırır (2).

Bağırsak obstrüksiyonuna yol açan nedenler, serbest pediküllü bağırsak flepleri, kardiyopulmoner bypass, bağırsak nakli, çeşitli şok türleri, travma, ciddi yanıklar, mezenterik arter embolisi ve mezenterik ven trombozu gibi rahatsızlıklar ince bağırsaklarda iskemi reperfüzyon (I/R) hasarı meydana getirir (3-6). İntestinal obstrüksiyonlar ise; başlangıç şekline göre akut veya kronik, obstrükte alanın genişliğine bağlı olarak segmental veya total, obstrüksiyonun derecesine göre parsiyel ya da tam, obstrüksiyona yol açan nedenlerin lümen içi veya lümen dışı olmasına bağlı intrinsik veya ekstrinsik, nedensel faktörlere göre ise mekanik yahut fonksiyonel olmak üzere sınıflandırılabilir (7). İnflamatuar bağırsak hastalıkları, nekrotizan enterokolit (NEK), apandisit gibi enfeksiyöz-inflamatuar süreçler; fıtık, duplikasyon kisti, hirschsprung hastalığı, volvulus ile prezente olan malrotasyon gibi konjenital bozukluklar; adezyonlar, tümörler mekanik bağırsak tıkanıklığı sebeplerindendir (8, 9, 1).

Volvulus bir bağırsak segmentinin kendi üzerine dönmesiyle oluşur ve bu dönme sonucu bağırsak segmentini besleyen mezenter de bükülerek kan akışının kesilmesine yol açar. Çocuklarda sıklıkla ince bağırsak volvulusu görülür ve yüksek morbidite ve mortalite oranları nedeniyle gözden kaçırılmaması gerekir.

Tanı aşamasında, spesifik olmayan şikayetler ve sıklıkla şikayetleri konusunda kendini iyi ifade edemeyebilecek bir yaş grubunun olması nedeniyle büyük zorluklar yaşanır (10, 8). İskemik hasarın süresini azaltmak ve dokuya en kısa sürede oksijen ve besin teminini sağlamak hasarı önlemek açısından en önemli koşuldur, bu sebeple tanıda gecikmeler sürecin olumsuz, geniş bağırsak rezeksiyonlarından ölüme kadar, ciddi şekilde ilerlemesine yol açar (11, 12, 2).

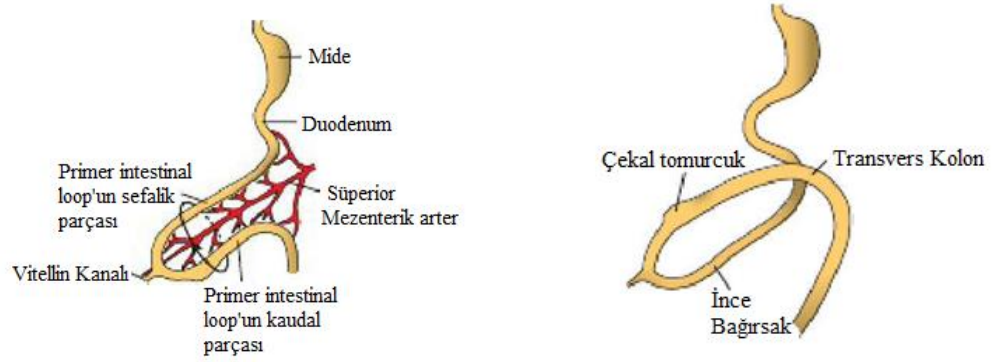
Bu çalışma ile ratlarda oluşturulan deneysel izole ileal volvulusa bağlı I/R modelinde hidrojenle zenginleştirilmiş salin solüsyonunun (HZSS) koruyucu etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnce Bağırsağın Embriyolojisi ve Anatomisi

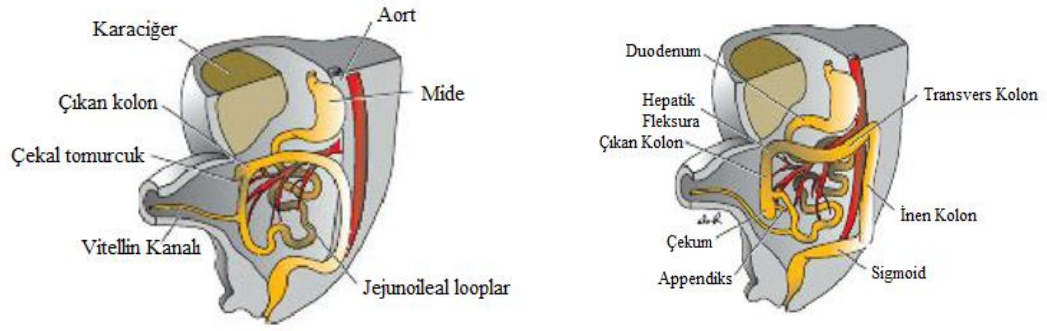
Bağırsakların oldukça karmaşık bir süreç olan gelişim dönemi, embriyoda endoderm tabakasının sefalokaudal ve lateral yönlerden katlanarak primitif bağırsağı oluşturması ile başlar (13, 14). Primitif bağırsak ön bağırsak (foregut) ve arka bağırsak (hindgut) olmak üzere kör uçlu bir tüp yapısı meydana getirir. Bu tüpün orta kısmı, orta bağırsak (midgut) olarak adlandırılır ve bir süre yolk kesesi ile bağlı kalır. Orta bağırsak, karaciğerin kaudal kısmı (ana safra kanalının duodenuma açıldığı yerin hemen distali) ile transvers kolonun üçte ikisine kadar olan kısmı kapsar ve beslenmesi süperior mezenterik arter (SMA) tarafından sağlanır. Bağırsakların epitel endoderm tarafından oluşturulurken; kas yapısı, bağ dokusu, peritoneal bileşenleri mezodermden meydana gelir (14).

Bağırsakların temel olarak rotasyon ve fiksasyonundan oluşan olgunlaşma süreci; herniasyon, rotasyon, karın içerisine geri dönüş (retraksiyon) ve fiksasyon olmak üzere 4 aşamalı olarak tanımlanmıştır (15). Gebeliğin 4. haftasında karaciğerin hızlı bir şekilde büyüyüp genişlemeye başlaması, primitif bağırsağın uzaması ile karın boşluğunun yeterli alan sağlayamaması üzerine, bağırsağın göbek kordonundaki ekstraembriyonik boşluğa girdiği fizyolojik umbilikal herniasyon dönemi başlar (14, 16). Bu aşamada bağırsak halkası, aksiyel ekseninde saat yönünün tersine, SMA etrafında 90° döner.



**Şekil 1.** Rotasyondan önce primer intestinal loop (primitif bağırsak) (solda), saat yönünün tersine 90° dönüş yapmış primer intestinal loop (sağda) (14)

10. gebelik haftasında, karın boşluğuna geri dönme sürecindeki bağırsaklarda ikinci bir 90° dönüş gerçekleşir. Karın boşluğuna ilk olarak jejunumun proksimali, sol tarafa olmak üzere, yerleşmeye başlar. Çekal tomurcuk karna dönen son yapıdır ve karının sağına yerleşir (14, 15). Bu dönüşler neticesinde duodenojejunal bileşke SMA'nın arkasından geçer. 90° son dönüş ise karın içerisinde gerçekleşir. Primitif bağırsak 270° saat yönünün tersine olan dönüşünü bu şekilde tamamlamış olur. Duodenojejunal bileşke en son dönüşle beraber SMA'nın soluna yerleşmiştir (15). Doğumdan sonraki ilk birkaç ayı da kapsayacak şekilde, gebeliğin geri kalan sürecinde çekum karın sağ alt kadrana yerleşir ve bağırsaklardaki fiksasyon bu dönemde tamamlanır (13).



**Şekil 2.** 270° saat yönünün tersine olan dönüşten sonra bağırsakların önden görünüşü (solda), bağırsakların son konumlarının görüntüsü, çekum ve appendiks sağ alt kadrana yerleşmiştir (sağda) (14)

## 2.2. İntestinal volvulus

### 2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Latince "volvo" kelimesinden türetilen volvulus "yuvarlanmak" anlamına gelir ve bir bağırsak segmentinin mezenterik eksenini etrafında dönmesiyle oluşan bir bağırsak tıkanıklığı tablosudur (13, 17). Mezenterin bükülmesi kan akışını kesintiye uğratar ve bağırsakta iskemi gelişmeye başlar. Yetişkinlerde sıklıkla sigmoid kolon ve çekumda görülen volvulus, çocuklarda en sık ince bağırsakta ortaya çıkar (10).

Orta bağırsak volvulusu (midgut volvulus) çocuklarda en yaygın görülen volvulus türüdür (18). En sık malrotasyon nedeniyle oluşan midgut volvulus, sıklıkla yenidoğan döneminde ortaya çıkar ve yaklaşık %50'sinin doğumdan sonraki ilk 1 hafta içerisinde, %60'ından fazlasının ilk 1 ay içerisinde görüldüğü bilinmektedir (19, 20). Malrotasyonun görülmediği ancak mezenterik tabanın dar olduğu, mezenterin göreceli olarak uzun olduğu ve karın duvarına fiksasyonun

eksik olduğu olası predispozan durumlarda da midgut volvulus ortaya çıkabilmektedir (17).

Geçirilmiş cerrahilere bağı adezyonlar, umbilikus bağlantılı Meckel divertikülü, tümörler, konjenital bantlar, intestinal atrezi, duplikasyon kistleri, neonatal mekonyum ileusuna bağı yahut idyopatik olarak da çocuklarda segmental volvulus ortaya çıkabilir (18, 21, 19).

### 2.2.2. Klinik

Ani ve sessiz olarak başlayabilen volvulus, tanı konulup tedavi edilmediğı sürece yüksek oranda morbiditeye ve mortaliteye sebep olur. Sıklıkla yenidoğan döneminde karşılaşılan midgut volvulusta ilk olarak safralı kusma görülür (22). Safralı kusma tıkanıklığın ampulla vater'den sonraki bir patolojiye bağı olduğunun bir delilidir (13). Buna rağmen safrasız kusma da zaman zaman ilk klinik ortaya çıkış şekli olabilir (18). Kusmayla birlikte yenidoğanlarda abdominal distansiyon, huzursuzluk, abdominal hassasiyet, kanlı dışkılama görülebilir (23).

Daha ileri yaşlarda karın ağrısı ilk başlangıç şikayeti olabilir. Karın ağrısı bir anda başlayabildiğı gibi, kronik olarak aralıklı ortaya çıkan, şiddetli olmayan bir vasıf da gösterebilir (22). Bağırsaktan emilimin bozulmasına bağı malabsorbsiyon, buna bağı gelişme geriliğı, dışkılama özelliğinde değişiklikler (ishal ya da kabızlık) volvulusun diğerkronik ortaya çıkış şekilleridir (22, 24).

Özellikle akut başlayan sürecin ilerleyen aşamalarında peritonit bulguları, yenidoğanda karın cildinde görülebilen hiperemi- eritem, ciddi dehidratasyon, ateş, hemodinaminin bozulması, nöbet, plevral efüzyon, şok tablosu görülebilir (13, 18). Spesifik olmayan bu klinik tablolar, tanıda gecikmeye neden olarak beslenmesi kesilen bağırsak kısmında nekroz gelişmesine ve bu durum da progresif bir inflamatuarsüreci başlatarak ölümle karşıma çıkabilmektedir (8).

### 2.2.3. Tanı

Başka rahatsızlıklarda da benzer şekilde görülebilen şikayet ve bulguları nedeniyle volvulus, tanısı oldukça zor konulabilen rahatsızlıklardan birisidir. Muayenede hasta soluk görünümündedir (kanama ve hipovolemi nedeniyle) (25). Karın distandü, oskültasyonda bağırsak sesleri azalmış; palpasyonda ise hassasiyeti, istemsiz defansı ve rebaundu olabilir (21). Rektal tuşede kanlı gayta bulaşı olabilir veya rektum tamamen boştur (25).

Sıklıkla yapılan ilk radyolojik görüntüme abdominal radyografidir (18). Grafide bağırsakların gaz dağılımı görüntülenir ve tamamen gazsın bir abdomen, bağırsak distalinde hiç gaz olmaması, yer yer hava sıvı seviyelerinin olması gibi spesifik olmayan ancak volvulus açısından uyarıcı olabilecek bulgular elde edilebilir. Grafi tamamen normal olarak da değerlendirilebilir (26).

Ultrasonografide (USG) malrotasyona bağlı midgut volvulusta tipik “whirl pool” “girdap işareti” görülebilir, SMA ve süperior mezenterik ven (SMV) ilişkisi Doppler USG de değerlendirilebilir (27, 28). Ancak yine USG’de de patolojik herhangi bir bulgu gözlenmeyebilir (22).

Hemodinamik olarak stabil, peritonit bulguları gözlenmeyen hastada malrotasyona bağlı volvulus tanısında ilk geleneksel radyolojik prosedür baryum enema ile çekumun lokalizasyonun tespitidir (21). Bu prosedürde bebeklerde çekumun görece büyük olmasına bağlı yukarı yerleşimli olarak değerlendirilebileceği akıldan çıkarılmamalıdır (22).

Günümüzde tanıda altın standart ise üst gastrointestinal serilerin alındığı kontrastlı çalışmalardır. Bu çalışmalarda duodenojejunal bileşkenin omur gövdesinin sağında yer alması, oldukça distandü mide ve proksimal duodenum, duodenumda tirbuşon benzeri görüntü tanıda oldukça anlamlıdır (18, 29).

Bağırsak tıkanıklık belirtilerinin görüntülenebileceği, mezenterde kalınlaşma, spesifik “girdap işareti” ve bağırsaklardaki iskemik belirtilerin saptanabileceği abdominal bilgisayarlı tomografi (BT) tetkiki de tanıda faydalıdır (17, 30). Kullanımı kısıtlı olsa da manyetik rezonans (MR) tetkiki de zaman zaman tercih edilebilmektedir (18).

Başvuru anında bütün labaratuvar parametreleri normal aralıkta olabileceği gibi; lökositoz, serum laktat seviyesinde yükselme, yüksek c-reaktif protein (CRP), böbrek fonksiyon testlerinde bozulma, sodyum (Na) düşüklüğü ve potasyum (K) değerinde artış gibi elektrolit bozuklukları, amilaz yüksekliği, gaytada gizli kan pozitifliği, vücudun strese bağlı hormonal reaksiyonunun sonucu olarak da hiperglisemi ile karşılaşılabilir (8, 27, 17, 31, 18).

#### 2.2.4. Tedavi

Yetişkinlerde zaman zaman farklı tedavi modaliteleri söz konusu olsa da çocuklarda, sıklıkla ince bağırsakta görülen intestinal volvulusun tedavisi acil cerrahi girişimdir (10, 17). Cerrahi öncesi hasta hidrate edilir, elektrolit imbalansı düzeltilir, orogastrik ya da nazogastrik drenaj sağlanır, geniş spektrumlu antibiyoterapi başlanır (18, 15). Malrotasyona bağlı midgut volvulusun altın standart cerrahisi, artık günümüzde laparoskopik olarak da yapılan, Ladd Prosedürü’dür (17, 32).

Volvulus saat yönünde oluşur. Saat yönünün tersine yapılacak bir detorsiyon cerrahide ilk müdahaleyi oluşturur (22). Detorsiyone edilen bağırsak kısmı ılık-sıcak spançlar arasına alınarak reperfüzyonu beklenir ve perfüzyonun olup olmadığı kontrol edilir. Bağırsaklar nekrotik ise rezeksiyon yapılır, sağlam uçlar primer olarak anastamoz edilir. Nekrozun olmadığı, perfüzyonun sağlandığı

bağırsak kısımları işlem yapılmadan bırakılır (17). Mezenterik taban genişletilir ancak bağırsakların yeniden volvüle olmaması için fiksasyon işlemi tartışmalıdır.

Eğer rezeksiyon yapılacak bağırsak segmenti çok fazla ise, detorsiyon sonrası, 24-48 saat sonra ikinci bir bakış “second look” yapılmasına karar verilerek, karın geçici olarak kapatılabilir (33). Eğer orta bağırsağın tümünde nekroz gelişmişse bağırsak transplantasyonu bir seçim olabilir (15).

### 2.3. İskemi

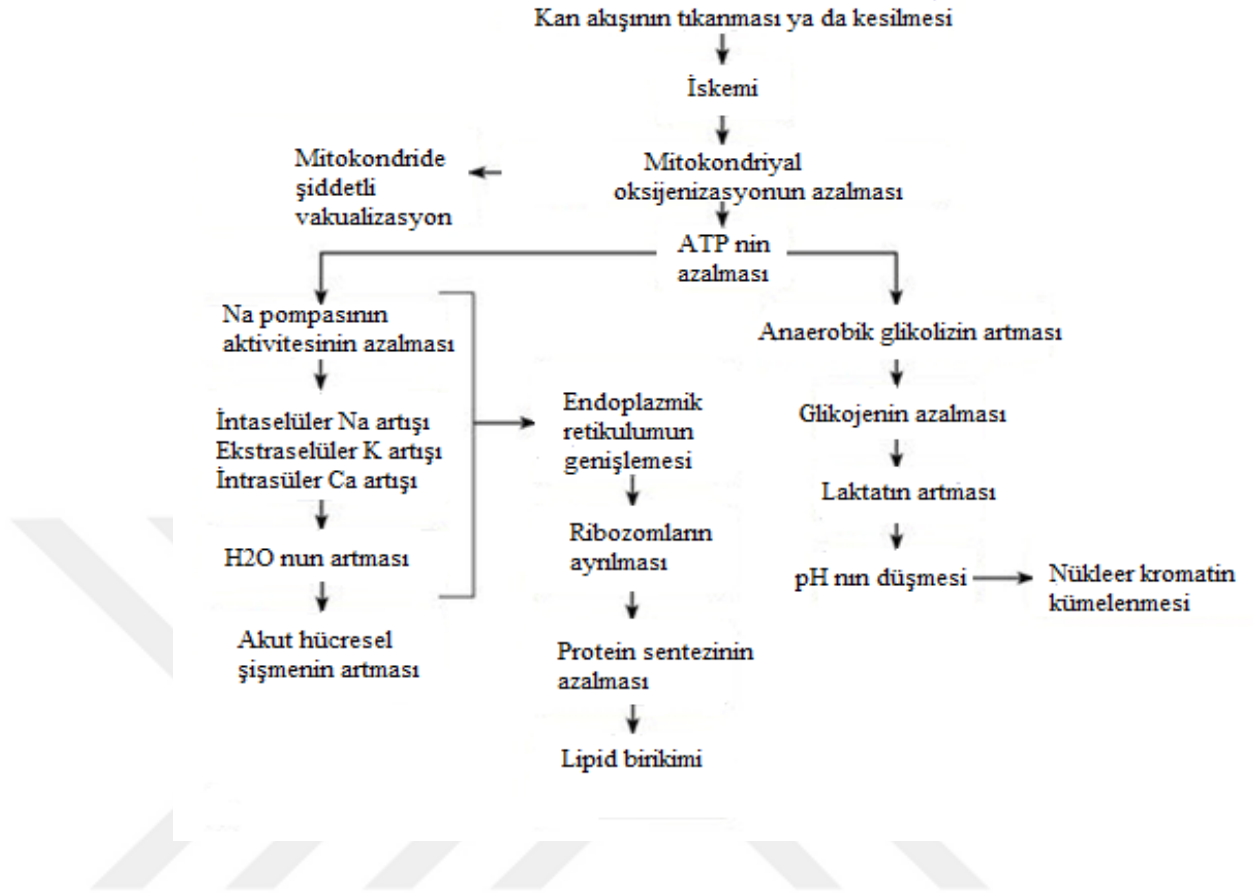
İskemi sıklıkla mekanik olarak arterde meydana gelen kan akışında aksama sonrası ortaya çıkarken, venöz drenajın bozulduğu durumlarla da meydana gelebilir (1). İskemi süresini en aza indirmek, hasarın ilerlemesini engellemek açısından oldukça önemlidir (2). Zira kısa süreli olan bir iskemi tablosu geri dönüşümlü olabilirken, uzun süreli iskemi durumlarında hasar geri dönüşümsüzdür (1).

Hücrenin ölümüne, hücredeki enerji kaynaklarının tükenmesi ve hücrede oluşan toksik metabolitlerin birikmesi sebep olur (34). Hipoksinin aksine iskemi, daha şiddetli bir doku hasarı sebebidir. Hipoksidede glikolitik yolla anaerobik enerji üretim metabolizması devam ederken, iskemide aerobik mekanizmanın kesintiye uğramasının yanı sıra bu anaerobik mekanizma da, ilerleyen süre içerisinde, gerek bu yolda kullanılacak substratların tedarikinde azalma gerekse bu yolu inhibe eden metabolitlerin birikimi nedeniyle, enerji üretiminde kullanılamaz hale gelir (1).

Hücre içerisinde adenosin trifosfat (ATP) şeklindeki yüksek enerjili fosfat, membrandan iletim, lipojenez, protein sentezi ve fosfolipid devri için gerekli olan deaçilasyon-reaçilasyon reaksiyonları gibi, hücredeki neredeyse tüm sentez ve

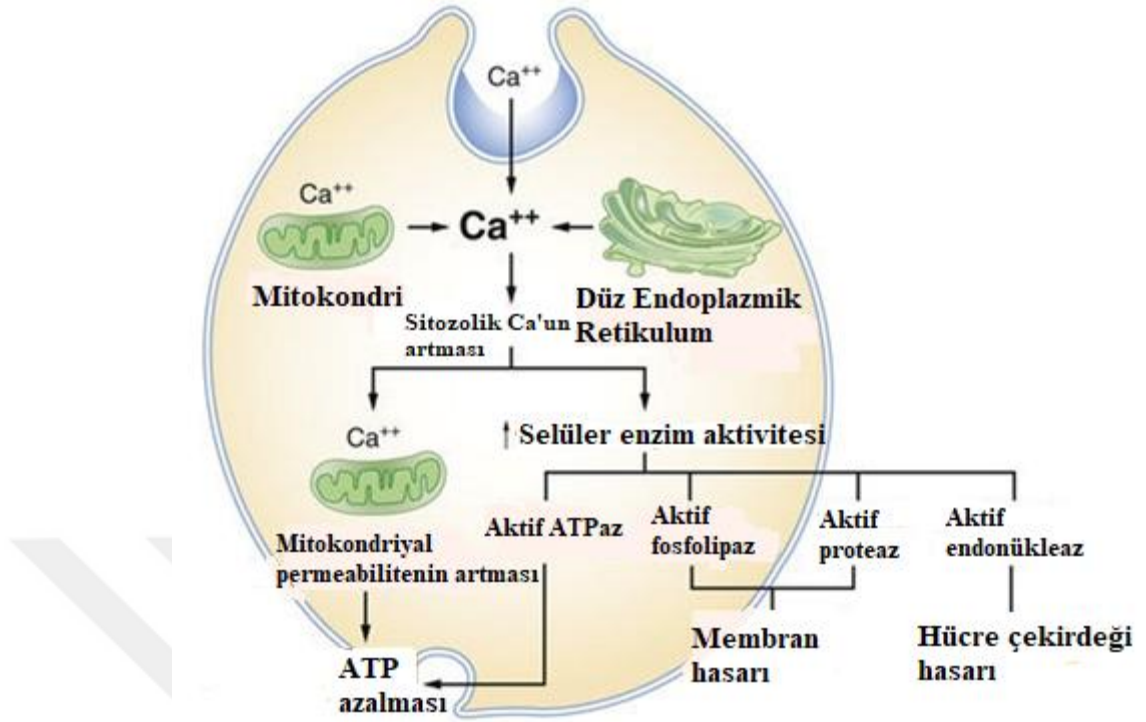
bozunma reaksiyonları için gereklidir (35). İskemide, hücreye sağlanan oksijendeki azalma ile oksidatif fosforilasyon durur, ATP azalır ve ATP'nin hidrolizi sonucu oluşan adenosin monofosfat (AMP) artar. Bununla birlikte fosforilaz ve fosfofruktokinaz uyarılır, glikojen glikolizde kullanılacak glukoz kaynağı olarak kullanılmak üzere glikojenolize uğrar ve glikojen depoları süratle tükenir. Anaerobik koşullarda gerçekleşen bu glikoliz ile laktik asit ve inorganik fosfatlar açığa çıkar ve bu birikimlerle de hücre içi pH düşer. Hücre içi pH'nın düşmesi birçok sitozolik enzim aktivitesinde değişikliğe sebep olur (1).

Hücrel ATP nin azalmasına bağlı olarak ATP bağımlı iyon taşınmasında çeşitli aksamalar meydana gelir (hücre zarında bulunan  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  -ATP az pompası inhibe olur) ve hücre içerisinde aşırı bir kalsiyum (Ca) yüklenmesi, sodyum (Na) fazlalığı ve potasyum (K) azalması söz konusudur (36, 34). İyon dengesizliğine bağlı, hücre içerisinde izootmotik su birikimi olur ve hücre şişer. Hücrel şişme ise, çeşitli faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan hücre hasarının en erken tezahürüdür (1).



Şekil 3. İskemi (7)

Hücre dışı alan, mitokondri ve düz endoplazmik retikulumdan (ER) kaynaklanan sitozolik Ca hücre içerisindeki proteaz, lipaz, endonükleaz gibi enzimleri aktive ederek hücre için sitotoksik etki gösterir (37). Ca'nın ikincil bir haberci olarak da, sitoplazmadaki çeşitli proteinlere bağlanarak bu proteinleri aktive etmesi ile, hücre için zararlı süreçlerde yer aldığı bilinmektedir (38).



Şekil 4. Ca<sup>++</sup>'nın hücre içerisindeki etkileri (7)

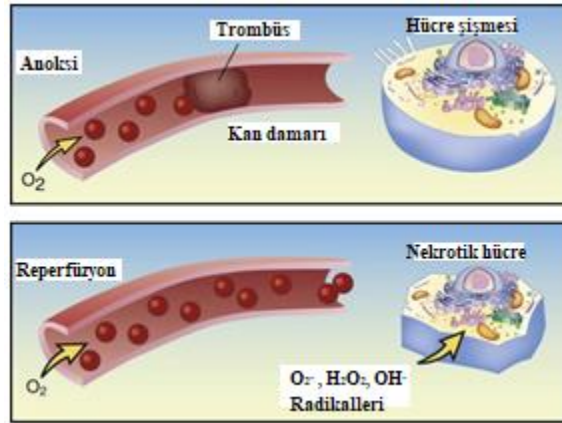
Dokuya oksijen sağlanamazsa hücre zarında hasarlanma, mitokondride ve sitoplazmada vakuolizasyon, lizozomlarda şişme ve matrikste Ca<sup>++</sup>'dan zengin şekilsiz yoğun içerik birikmesi ile geri dönüşümsüz hasar meydana gelir (1).

#### 2.4. Reperfüzyon ve Hasarı

İskemik dokuya yeniden kan akışının sağlanması reperfüzyon dönemini başlatır. Bu dönemde dokuya yeniden oksijen ve besin tedariki sağlanmış olur (1). Ayrıca dokuda biriken toksik metabolitlerin temizlenmesi, bu metabolitlerin dokudan uzaklaştırılması için reperfüzyon şarttır (34). Beklenenin aksine reperfüzyon dokudaki hasarı paradoksal olarak şiddetlendirir. Bu süreçte etkili olan mekanizmalar;

- serbest radikal üretiminin (reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin hasarlı endotel ve parankim dokusunda üretilmesi ile) artması,
- iskemi döneminde başlayan hücre içi ve mitokondriyal Ca yüklenmesinin, bu dönemde hücre zarı hasarı ve sarkoplazmik retikulum hasarı ile Ca akışının artması sonucu şiddetlenmesi,
- sitokinlerin salınımı ve dokuya nötrofil akışı ile inflamasyonun ek hasara yol açması,
- enflamatuar yanıtı şiddetlendiren kompleman sisteminin aktivasyonudur (1).

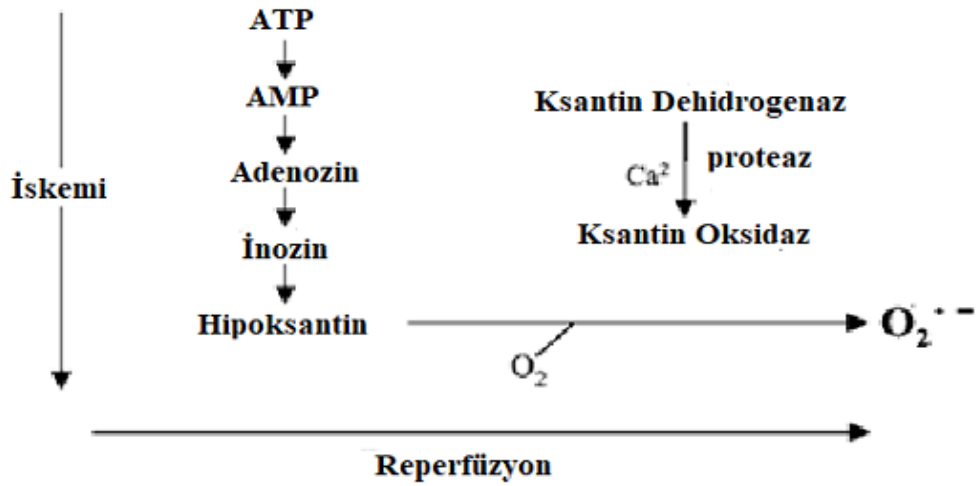
Parks ve Granger 1983'te, reperfüzyon olmaksızın 4 saat iskeminin, 1 saat reperfüzyon döneminin takip ettiği 3 saatlik iskemiye göre daha az mukozal hasar oluşturduğunu göstermiştir (39).



Şekil 5. Reperfüzyon (7)

ATP üretimi yapılamadığı halde ATP'nin kullanımının devam ettiği iskemi periyodunda, ATP'nin hidrolizi ile AMP ve adenosin açığa çıkar.

Adenozin hücre dışına difüze olarak inozin ve hipoksantine parçalanır. Hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin dokuda birikimi ksantin dehidrogenaz'ın (KDH) ksantin oksidaz'a (KO) dönüşümüne neden olur (34). Ayrıca iskemide, hücre içinde artan Ca nedeniyle KDH'nın KO'ya dönüşümüne yol açan Ca bağımlı proteazların aktifleşmesi söz konusudur (40). Normal şartlarda hipoksantinden, ksantin ve ürik asit meydana gelir. Bu reaksiyonda elektron alıcısı nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu (NAD<sup>+</sup>) dur (34). Fakat iskemide hipoksantinün ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleştirilir. KO pürin metabolitlerinin dönüşümünde katalitik etkiye sahiptir. Dokuya yeniden kan akışının sağlanması ile (reperfüzyonla) dokuya gelen oksijen (O<sub>2</sub>), elektron alıcısı olarak kullanılır ve hipoksantinün KO vasıtasıyla ürik asite dönüşümünde serbest radikaller ortaya çıkar (40, 34).



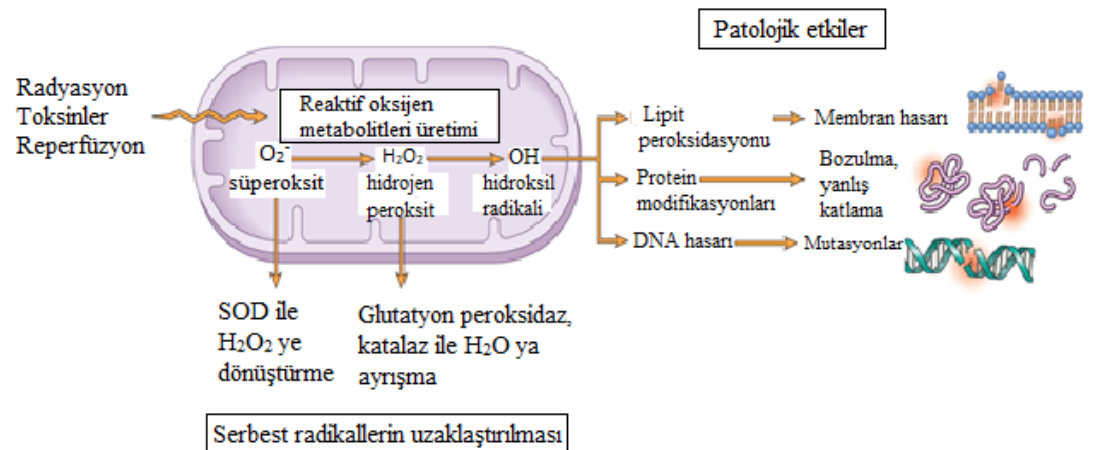
Şekil 6. KO aracılı serbest radikal hasarının mekanizması (41)

Hücre zarı, zarda bulunan lipitler, proteinler, deoksiribonükleik asit (DNA) ve nükleik asitler reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılardır (34, 42).

## 2.5. Serbest Radikaller

Dış yörüngelerinde bir tek eşlenmemiş elektrona sahip olan kimyasal maddeler serbest radikaller olarak bilinir. Bu eşlenmemiş elektrondan dolayı serbest radikaller oldukça reaktiftir, vücutta organik veya inorganik birçok maddede değişikliğe sebep olur (1).

Reaktif oksijen türleri  $O_2$  türevi olan serbest radikallerdir (1). Vücutta esas olarak ATP üretimi esnasında, mitokondride  $O_2$ 'nin indirgenmesi sırasında bu yoldan kaçan  $O_2$  moleküllerinin %1-2'sinin tek değerlikli indirgemeye uğraması ile, bir miktar açığa çıkar (43, 39). Ancak ortaya çıkan bu serbest radikaller vücudun kendi savunma elemanları tarafından, endojen süperoksit dismutaz (SOD) glutatyon (GSH) gibi antioksidan enzimler vasıtasıyla nötralize edilerek, uzaklaştırılır (39).



Şekil 7. Serbest radikaller (1)

Serbest radikal üretiminin arttığı veya bu radikallerin ortadan kaldırılmasında sorun olduğu durumlarda oksidatif streten bahsedilir (1). Dejeneratif hastalıklarda, yaşlanmada, kardiyovasküler hastalıklarda, kanser, diyabet, katarakt gibi rahatsızlıklarda da yine oksidatif stresin rol oynadığı bilinmektedir (1, 44, 36). Serbest radikaller lökosit, nötrofil, makrofaj gibi enflamatuvar hücrelerde de üretilmektedir (1).

Özetle serbest radikaller;

- normal metabolik süreçlerde, mitokondri, sitozol, ER, peroksizom ve lizozomlardaki oksidatif enzimler tarafından moleküler  $O_2$ 'nin katabolizması sırasında ara ürün olarak hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) ve süperoksit anyonunun ( $O_2^{\cdot-}$ ) oluşması,
- ultraviyole, X ışınları gibi radyant enerjinin suyu  $OH^\cdot$  ve hidrojene (H) hidrolize etmesi,
- inflamasyon esnasında lökositlerde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) kullanılan bir reaksiyon ile ve KO gibi hücre içi oksidazların  $O_2$  üretmesi,
- $H_2O_2 + Fe^{2+} + \rightarrow Fe^{3+} + ^\cdot OH + OH^-$  şeklindeki Fenton reaksiyonu ile demir (Fe) gibi hücre içi reaksiyonlarda elektron bağışlama ya da kabul etme açısından aktif olan geçiş metallerinin serbest radikal oluşumunu katalize etmesi ile oluşur.

Ayrıca vücutta makrofajlar, endotel hücreleri ve diğer bazı hücrelerde üretilen nitrik oksit (NO) ve NO' dan oluşan peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) gibi anyonlar serbest radikal gibi davranabilir. Dışardan alınan bazı ilaç ve kimyasal maddelerin

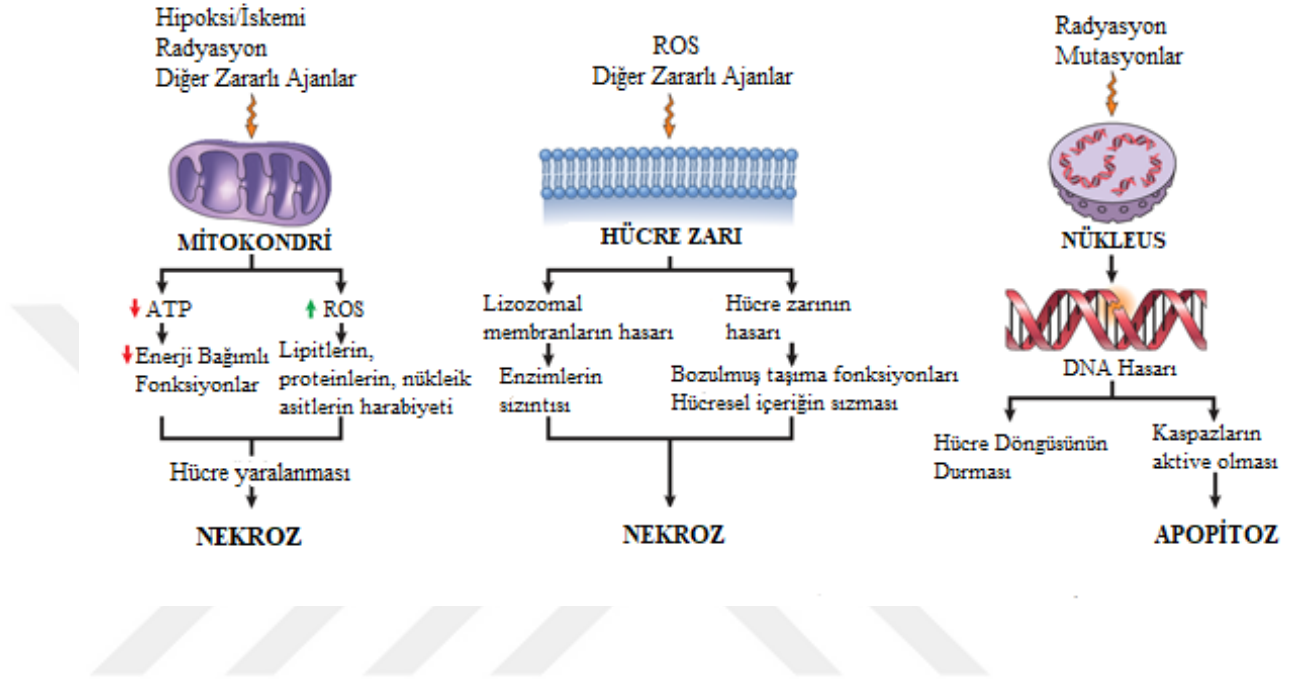
de, karbon tetraklorür ( $\text{CCl}_4$ ), karbon triklorür ( $\cdot\text{CCl}_3$ ) gibi radikaller oluşturarak, serbest radikallere benzer etkileri söz konusudur (1).

| Özellikler                      | $\text{O}_2^-$                                                                                                                                                                | $\text{H}_2\text{O}_2$                                                                                                             | $\cdot\text{OH}$                                                                                                                                          | $\text{ONOO}^-$                                                                                                                                    |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Üretim mekanizması</b>       | ·Oksidatif fosforilasyon sırasında $\text{O}_2$ 'nin eksik indirgenmesi ile,<br>·Lökositlerde fagosit oksidaz tarafından üretilir.                                            | ·SOD tarafından $\text{O}_2^-$ 'den,<br>·Peroksizomlardaki oksidazlar tarafından üretilir.                                         | ·Hidroliz yoluyla (örneğin radyasyonla) $\text{H}_2\text{O}$ 'dan, ·Fenton reaksiyonu ile $\text{H}_2\text{O}_2$ 'den, $\cdot\text{O}_2^-$ 'den üretilir. | Birçok hücre tipinde (endotelial hücreler, lökositler, nöronlar, diğerleri) $\text{O}_2^-$ ve NO'nun etkileşimi ile NO sentaz tarafından üretilir. |
| <b>İnaktivasyon mekanizması</b> | SOD ile $\text{H}_2\text{O}_2$ ve $\text{O}_2^-$ 'ye dönüştürülür.                                                                                                            | Katalaz (peroksizomlar), glutatyon peroksidaz (sitozol, mitokondri) ile $\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{O}_2^-$ 'ye dönüştürülür.   | Glutatyon peroksidaz ile $\text{H}_2\text{O}$ 'ya dönüştürülür.                                                                                           | Peroksiredoksinler tarafından $\text{HNO}_2$ 'ye dönüştürülür (sitozol, mitokondri).                                                               |
| <b>Patolojik etkileri</b>       | ·Lökositlerde ve diğer hücrelerde parçalayıcı enzimlerin üretimini uyarır.<br>·Lipidlere, proteinlere, DNA'ya doğrudan zarar verebilir.<br>·Üretim yerine yakın hareket eder. | ·Mikropları ve hücreleri yok eden $\text{OH}$ ve $\text{OCI}^-$ 'ye dönüştürülebilir.<br>·Üretim yerinden uzakta hareket edebilir. | ·En reaktif oksijen türevi serbest radikaldir.<br>·Lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vermekten başlıca sorumlu reaktif oksijen türevidir.            | Lipidlere, proteinlere, DNA'ya zarar verir.                                                                                                        |

**Tablo 1.** Hücre hasarında rol oynayan başlıca serbest radikallerin özellikleri (1)

Reaktif oksijen türleri düşük bir konsantrasyonda, vücutta biyolojik süreçlerin başlatılmasında, hücrelerdeki çoğalma ve farklılaşma olaylarında, hücre içi iletişim ve hücrelerarası iletişimde rol oynar (45). Oksidatif strese reaktif oksijen türlerinde belirgin bir artış meydana gelmiştir ve tüm bu serbest radikaller lipid peroksidasyonu ile membran hasarına, DNA'nın yapısını etkileyerek kırılmalara, proteinlerin oluşturulmalarında ve katlanmalarında sorunlara yol

açarak hücre apopitozu ve nekrozuna sebep olur (45, 1, 46). Bu sebeple ikincil bir haberci olarak da hareket edebilen reaktif oksijen türlerinin üretimi ve ortamdan temizlenmesi kontrollü olmalıdır (45).



Şekil 8. Hücre hasarı (1)

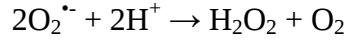
## 2.6. Antioksidanlar

Serbest radikal oluşumunu engelleyen, mevcut olan serbest radikalleri ortadan kaldıran (nötralize eden) ve oksidatif olarak zarar gören yapıları onaran maddeler antioksidanlar olarak adlandırılır (1, 47). Antioksidanlar vücut içerisinde (endojen) fizyolojik olarak bulunabildiği gibi vücut dışından da (eksojen) temin edilebilir (1).

Vücut içindeki antioksidanlar enzimatik olan ve enzimatik olmayan şeklinde ikiye ayrılır (1).

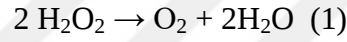
Başlıca enzimatik endojen antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-R), mitokondriyal sitokrom oksidaz ve glutatyon s- transferaz (GST)' dir (48).

SOD bir çok hücrede bulunur ve süperoksit serbest radikalini ( $O_2^{\bullet-}$ ),  $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.

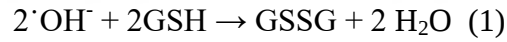
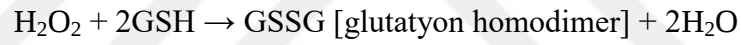


SOD, manganez (Mn) -SOD şeklinde mitokondride, bakır (Cu) çinko (Zn)-SOD şeklinde de sitoplazmada bulunur.

CAT peroksizomlarda bulunur ve  $H_2O_2$ 'yi su ( $H_2O$ ) ve  $O_2$ 'ye ayırıştırır.



GSH-Px, özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili olan antioksidandır ve bir enzim grubudur (34).



Glutatyon disülfid (GSSG) okside glutatyondur ve indirgenmiş glutatyon olan GSH'ya oranı, hücrenin oksidatif durumunu yansıtır. Bu oran aynı zamanda hücrenin serbest radikalleri detoksifiye etme kabiliyetinin önemli bir göstergesidir.

Glutatyon redüktaz, GSSG'yi tekrar GSH'ya dönüştürür (okside glutatyonu indirgenmiş glutatyonla çevirir).

Mitokondriyal sitokrom oksidaz  $O_2^{\bullet-}$  'yi detoksifiye eder, solunum zincirinin son enzimidir.

GST ise sitozolde bulunur, dimerik yapıdadır ve yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rol alır (34).

Serbest radikal oluşumunu katalize eden metaller (serbest Fe ve Cu) ferritin, transferrin, laktoferrin, seruloplazmin gibi depolama ve taşıma proteinlerine bağlanarak etkileri en aza indirilir. Bu depolama ve taşıma proteinleri enzimatik olmayan endojen antioksidanlar olarak nitelendirilir (1). Ayrıca GSH, melatonin, miyoglobin, hemoglobin, bilirubin, sistein, metiyonin, albümin, ürat bu grupta yer alan diğer antioksidanlardır (34).

Lipitte çözünen E vitamini (a-tokoferol) ve A vitamini (β- karoten), suda çözünen C vitamini (askorbik asit), folik asit ve bazı gıdalar ya da ilaçlar eksojen antioksidanlar olarak gruplanır (34).

N-asetil sistein (NAC), kalsiyum kanal blokörü olan verapamil ve kaptopril, KO inhibitörü olan allopurinol, etanol, pentoksifilin, sildenafil, vardenafil, edaravon, asetaminofen, sukralfat, metil prednizolon, siklosporin, epidermal büyüme faktörü (EGF), mannitol, rapamisin gibi maddeler de literatürde çeşitli çalışmalarla antioksidan etkinliği gösterilmiş ajanlar olarak yer almaktadır (49-54, 41, 39).

## **2.7. İnce Bağırsak İskemi/Reperfüzyon Hasarı**

Kalp, beyin ve bağırsaklar gibi yüksek enerji tüketiminin ve kan ihtiyacının olduğu organlar I/R hasarına daha duyarlıdır (4). Serbest radikallerin önemli bir kaynağı gastrointestinal sistem olduğundan, bağırsak dokusu bu hasara karşı daha da hassastır. İskemik durumlar akut ya da kronik olarak ortaya çıkabilir, arteriyel veya venöz patolojiler sebebi olabilir. Klinik olarak yalnızca bağırsak mukozasının etkilendiği hafif tablolardan transmural nekrozla beraber ciddi morbidite ve mortalite ile seyredildiği tablolara kadar değişiklik gösterebilir (36). Şok gibi hipoperfüzyon durumları, ateroskleroz, travmaya bağlı

fazla kan kayıpları, kardiyopulmoner ve tromboembolik hastalıklar, organ nakli, ciddi yanıklar gibi başka sistemlerin de eş zamanlı etkilendiği veya NEK, boğulmuş fıtık, invajinasyon, volvulus, bazı iltihaplı bağırsak hastalıkları gibi öncelikle bağırsakları etkileyen durumlarda da, bağırsaklarda I/R hasarı ile karşılaşılır (2, 4, 36, 5).

Bağırsağın her kısmının I/R' ye karşı hassasiyeti aynı değildir. İnce bağırsaklar kolona göre iskemi reperfüzyona daha duyarlı iken, ince bağırsakta da jejunum, ileumdan daha hassastır (55).

İntestinal I/R hasarı sonunda;

- bağırsak emilim fonksiyonunda değişikliklere,
- bakteriyel translokasyonla sepsis, şok ve multiorgan yetmezliğine (MOF),
- uzak organ yaralanmaları ile ( $H_2O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$ , inflamatuvar sitokinlerin uzak organlara ulaşmaları ile) sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS), multi organ yetmezliği (MOF) ve pulmoner infiltrasyonlarla da akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS)' na sebep olabilir (41).

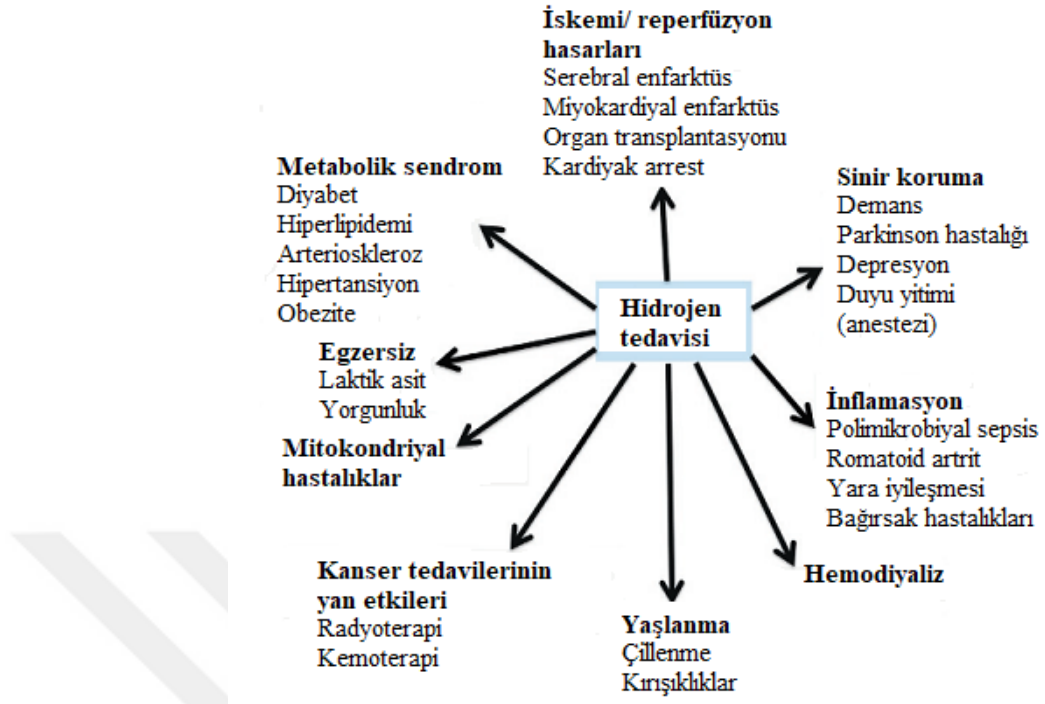
## **2.8. Hidrojenden Zengin Salin Solüsyonu (HZSS)**

Hidrojen, dokulara ve hücrelere kolaylıkla yayılabilen, renksiz, kokusuz, tatsız bir gazdır. Hafiftir ve en bol bulunan kimyasal elementtir (56, 57). Vücuttaki serbest radikalleri, selektif olarak, direkt nötralize etmesinin yanı sıra gen ekspresyonu üzerinde de değişiklikler yaparak etkilerini ortaya çıkardığı bildirilmektedir (56). Dalgıçların dekompresyon hastalığını önlemek için kullanılan  $H_2$ 'nin, Ohsawa ve arkadaşlarının rat beyni üzerinde antioksidan etkinliğinin gösterilmesi ile başka organlar üzerinde de antiinflamatuvar,

antialerjen, antioksidan, antiapoptotik, lipid metabolizmasını ve diğer sinyal yollarını düzenleyen etkisi ortaya konulmuştur (46, 57). Maternal H<sub>2</sub>'li su alımının plasenta üzerindeki oksidatif stresi azalttığını, fetal beyin üzerinde koruyucu etkilerini gösteren yayınlar dahi mevcuttur (58).

Hidrojen'in bu etkileri H<sub>2</sub>'de çözünmüş suyun oral olarak alımı (içilmesi), HZSS'nin intravenöz, intraperitoneal veya göz damlası olarak uygulanması, H<sub>2</sub> gazının inhalasyonu, H<sub>2</sub> banyosu şeklinde olmak üzere farklı yollarla gösterilmiştir (57, 56)

Oksidatif stres, vücuttaki oksidan ve antioksidan maddelerin arasındaki dengenin oksidasyon lehine bozulduğu durumlarda oluşur ve birçok hastalık için (akut olarak miyokard, beyin enfarktüsleri, I/R hasarı, kronik olarak ise; diabetes mellitus, Parkinson ve benzeri nörodejeneratif rahatsızlıklar, yaşlanma, ateroskleroz gibi) sorumlu tutulmuştur. Dışardan metabolizmaya verilen ideal bir antioksidan maddenin bu oksidatif stresi azaltırken yan etkilerinin az olması istenen bir özelliktir. Zira son zamanlarda literatürde aşırı antioksidan alımının ölüm ve kanser gelişim oranını artırdığı yönünde yayınlar bulunmaktadır. H<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup> 'ı azaltırken O<sub>2</sub>, NO ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi metabolizmada fizyolojik görevleri olan bileşiklerle reaksiyona girmeyerek güvenilir şekilde kullanılabilir (56).



Şekil 9. Hidrojen'in kullanım alanları (56)

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Deney Hayvanları**

Çalışma G.Ü.ET-20.069 kod numarası ile Gazi Üniversitesi (GÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 220-250 gr arasında değişen 30 adet sağlıklı dişi Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar, sabit oda sıcaklığında ve nem ortamında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standart laboratuvar şartlarında, kafeste beslendiler.

#### **3.2. Deneysel Çalışma Yöntemi**

30 adet rat, her grupta 6 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Ratlar deneyden bir gece önce aç bırakıldı. Ratlar üzerindeki cerrahi işlemler intramuskuler (im) yolla 50 mg/kg ketamin hydrochloride (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 5 mg/kg xylazine hydrochloride (Alfazyne %2, Ege Vet, Türkiye) uygulanarak genel anestezi altında gerçekleştirildi. Tüm ratlar anestezi uygulamasını takiben operasyon masasına sabitlenerek supin pozisyonunda, karın cildi traş edilip %10 povidon-iyot ile temizlendikten sonra abdomen orta hat insizyonu ile açıldı. Karın boşluğundan ince bağırsaklara ve ileoçekal valve ulaşıldı. Daha sonra tüm çalışma ve tedavi gruplarında deneysel modeli oluşturmak için ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden 5 cm lik ince bağırsak segmenti 360° saat yönünde döndürülerek volvüle edildi ve model bozulmasını engellemek için 4/0 vicryle (polyglactin910, Ethicon, US) ile tespit edildi (Resim 1). İnce bağırsak damar pulsasyonlarının kaybolması ve bağırsak renginin

değişikliği kontrol edildi. Volvulus oluşturulduktan sonra bağırsaklar tekrar anatomik pozisyonlarına yerleştirildi. 2 saatlik iskemi süresinin sonrasında relaparotomi ile karın boşluğuna yeniden girildi. Tespit süturu açılarak reperfüzyon sağlandı.

Gruplar, aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

**Grup 1 (Sham grubu);** hiçbir işlem yapılmadan çalışmanın başlangıcında intraperitoneal serum fizyolojik verilerek 4 saatin sonunda laparotomi yapıldı ve ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden bağırsak dokusu çıkartıldı.



**Resim 1.** Rat ileoçekal valv, ince bağırsak ve kolonun görüntüsü

**Grup 2 (HZSS);** hiçbir işlem yapılmadan çalışmanın başlangıcında intraperitoneal 5 ml/kg'dan HZSS verilerek 4 saatin sonunda laparotomi yapıldı ve ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden bağırsak dokusu çıkartıldı.

**Grup 3 (Volvulus- I/R);** 2 saatlik ince bağırsak volvulusunu takiben volvule bağırsak segmenti relaparotomi yapılarak normal duruma getirildi. 2 saat reperfüzyon süresi beklendikten sonra ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden bağırsak dokusu çıkartıldı.



**Resim 2.** Çalışmanın başlangıcı, volvulus modeli



**Resim 3.** İskeminin ilerleyen süreci



**Resim 4.** 2 saatlik iskemi süresi sonunda modelin oluşturulduğu bağırsağın görüntüsü



**Resim 5.** 2 saatlik reperfüzyon süresi sonunda modelin oluşturulduğu bağırsağın görüntüsü

**Grup 4 (Tedavi I);** 2 saatlik intestinal volvulustan sonra, reperfüzyondan hemen önce HZSS rata intraperitoneal 5 ml/kg olacak dozda enjekte edildi. Reperfüzyon için tespit süturu açıldı ve 2 saat reperfüzyon süresi beklendikten sonra ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden bağırsak dokusu çıkartıldı.

**Grup 5 (Tedavi II);** volvulus işleminden 1 saat önce HZSS intraperitoneal 5ml/kg olacak dozda rata enjekte edildi. Volvulus oluşturuldu, 2 saat iskemi süresi beklendikten sonra relaparotomi yapılarak tespit süturu açıldı. 2 saat reperfüzyon süresi beklendikten sonra ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden bağırsak dokusu çıkartıldı.

Tüm ratlardan kardiyak ponksiyon ile biyokimyasal değerlendirme için kan alındı ve ratlar deney başlangıcından 4 saat sonra sakrifiye edildi. Tüm gruplarda çıkarılan bağırsak dokusu izotonik salin solüsyonu ile yıkandıktan sonra, ikiye ayrılarak, bir kısmı histomorfolojik değerlendirme için %10'luk

formaldehid içine saklanırken, kalan kısmı biyokimyasal değerlendirme için -80°C 'de dondurularak saklandı. Kan örnekleri 3000 rpm hızında 10 dakika santrifüj edilerek, serumu eppendorf tüplerine konuldu ve biyokimyasal değerlendirme için -80°C 'de saklandı.

### **3.3. Histomorfolojik İnceleme**

İleal segmentten alınan dokular, %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içinde fiksasyona bırakıldı. Rutin doku takip işlemlerini takiben hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı ve hematoksilin-eozin (H&E) ile boyandı. H&E ile boyalı kesitler, intestinal I/R hasarı açısından Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde ışık mikroskobu ile incelendi ve Leica – Qwin programı ile resimleri çekilerek değerlendirildi. Doku hasarı 0'dan 5 derece hasara kadar Chiu ve arkadaşlarının tanımlamış oldukları skora sistemi ile sınıflandırıldı.

#### **Skorlama:**

**Grade 0:** Normal mukozal villus

**Grade 1:** Epitel altı, genellikle villus tepesinde, kapiller konjesyon ile birlikte Gruenhagen boşluğunun (Gruenhagen's space) gelişimi

**Grade 2:** Lamina propriadan epitel tabakasının orta derecede ayrılması ile birlikte subepitelyal boşluğun uzaması

**Grade 3:** Denadue olmuş birkaç villus ile birlikte masif epitelyal ayrışmanın izlenmesi

**Grade 4:** Dilate kapiller oluşumlar ile birlikte, denadue olmuş villus yapılarının izlenmesi

**Grade 5:** Lamina proprianın parçalanması ile birlikte kanama ve ülser tespit edilmesi (59)

### 3.4. Biyokimyasal İnceleme

İleal segmentten alınan dokular ve serum örnekleri çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Çalışma günü -80°C'den çıkarılan numunelerin "Rel Assay" marka kitler kullanılarak Mindray marka BS300 model tam otomatik biyokimya cihazı ile kalorimetrik olarak, Erel tarafından geliştirilen Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) değerleri çalışıldı (60, 61). Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), TOS düzeyinin TAS düzeyine oranı ile elde edildi.

TAS Ölçümü: Kararlı bir durumda olan radikal katyon 2,2'-azino-bis'in (3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), karakteristik renginin ortamdaki antioksidanlarla orantılı olarak kaybolması temeline dayanır. Ortamdaki antioksidan miktarı arttıkça renk kaybı da artar. Spektrofotometrik olarak ölçülen reaksiyon Trolox ile kalibre edilir ve sonuçlar litre başına milimol Trolox eşdeğeri (mmol Trolox Eq / L) olarak ifade edilir (60).

TOS Ölçümü: Örnekteki oksidanların asidik ortamda, ferröz iyon-o-dianisidin kompleksinin ferrik iyonla oksidasyonu ve oluşan bu ferrik iyonların ksilenol turuncuyla renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanır. Gliserol reaksiyon ortamında bol miktarda bulunur ve oksidasyonu güçlendirir. Spektrofotometrik olarak oluşan rengin koyuluğuna göre ölçüm yapılır ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile kalibre edilen otomatik analizöre uygulanarak sonuçlar litre başına mikromolar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eşdeğeri (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq/L) olarak ifade edilir (61).

OSİ Ölçümü: TOS değerinin TAS değerine oranı ile elde edilir. Oran yapılmadan önce TAS değeri mmol Trolox Eq / L' den µmol Trolox Eq / L' ye çevirilir.

$$OSİ = \frac{TOS (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L})}{TAS (\mu\text{mol Trolox Eq/L})} \times 100$$

### 3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin İstatistiksel analizi SPSS for Windows programı ile bilgisayar ortamında yapıldı. Serum ve doku örneklerinden elde edilen biyokimyasal sonuçlar, ortalama değer  $\pm$  standart sapma (SS) ile ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıkların tespit edilmesi amacıyla One-Way Anova testi kullanıldı. Histomorfolojik değerlendirme sonuçlarının gruplar arasındaki fark tespiti için Pearson Chi-Square testi kullanıldı. P değeri 0,05'ten küçük ( $p < 0,05$ ) sonuçlar anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirilen çalışmaya toplam 30 adet gebe olmayan dişi rat dahil edildi ve tüm denekler çalışmayı tamamladı. Çalışma kapsamında gruplar üzerinde serumda ve doku örneklerinde TAS, TOS ve OSİ düzeyleri çalışıldı. (Tablo 2)

**Tablo 2.** TAS, TOS, OSİ Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı ve Standart Sapmaları

|                                                                  | <b>Sham</b> | <b>HZSS</b> | <b>I/R</b>   | <b>Tedavi I</b> | <b>Tedavi II</b> | <b>P değeri</b> |
|------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|--------------|-----------------|------------------|-----------------|
| <b>sTAS</b><br>(mmol Trolox eşdeğeri / L)                        | 1.09 ± 0.10 | 1.16 ± 0.07 | 1.19 ± 0.16  | 1.24 ± 0.14     | 1.26 ± 0.08      | 0,144           |
| <b>sTOS</b><br>(µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> eşdeğeri / L) | 5.74 ± 1.34 | 9.32 ± 4.17 | 14.53 ± 9.80 | 7.71 ± 3.19     | 8.82 ± 3.11      | 0,080           |
| <b>sOSİ</b>                                                      | 0.53 ± 0.16 | 0.79 ± 0.35 | 1.15 ± 0.61  | 0.61 ± 0.24     | 0.69 ± 0.24      | 0,059           |
| <b>dTAS</b><br>(mmol Trolox eşdeğeri / L)                        | 1.67 ± 0.18 | 1.77 ± 0.17 | 1.62 ± 0.18  | 1.69 ± 0.18     | 1.62 ± 0.13      | 0,576           |
| <b>dTOS</b><br>(µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> eşdeğeri / L) | 4.02 ± 0.57 | 4.07 ± 0.78 | 22.48±17.67  | 13.45±14.76     | 6.40 ± 2.91      | 0,021           |
| <b>dOSİ</b>                                                      | 0.24 ± 0.03 | 0.22 ± 0.02 | 1.47 ± 1.23  | 0.85 ± 0.97     | 0.40 ± 0.22      | 0,024           |

### 4.1. Bağırsak Dokusundaki ve Kandaki Biyokimyasal Analiz

TAS değeri serumda Tedavi II grubunda 1.26 ± 0.08 ile en yüksek, Sham grubunda ise 1.09 ± 0.10 ile en düşük olarak gözlenmiştir (Tablo 2). Sham grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında Tedavi I ve Tedavi II grupları ile arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değerleri sırasıyla 0.039, 0.022).

TOS değeri serumda I/R grubunda  $14.53 \pm 9.80$  ile en yüksek, Sham grubunda ise  $5.74 \pm 1.34$  ile en düşük olarak gözlenmiştir (Tablo 2). Sham grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında I/R grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,007). I/R grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında Tedavi I grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,032).

OSİ değeri serumda I/R grubunda  $1.15 \pm 0.61$  ile en yüksek, Sham grubunda  $0.53 \pm 0.16$  ile en düşük olarak gözlenmiştir (Tablo 2). Sham grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında I/R grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,007). I/R grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında Tedavi I ve Tedavi II grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değerleri sırasıyla 0.017, 0.040).

İleum dokusunda TAS değeri HZSS grubunda  $1.77 \pm 0.17$  ile en yüksek, I/R grubunda  $1.62 \pm 0.18$  ile en düşük olarak gözlenmiştir (Tablo 2). Gruplar arasında TAS değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

İleum dokusunda TOS değeri I/R grubunda  $22.48 \pm 17.67$  ile en yüksek, Sham grubunda  $4.02 \pm 0.57$  ile en düşük olarak gözlenmiştir (Tablo 2). Sham grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında I/R grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,005). HZSS grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında I/R grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,005). I/R grubu diğer gruplar ile

karşılaştırıldığında ise Tedavi II grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,013).

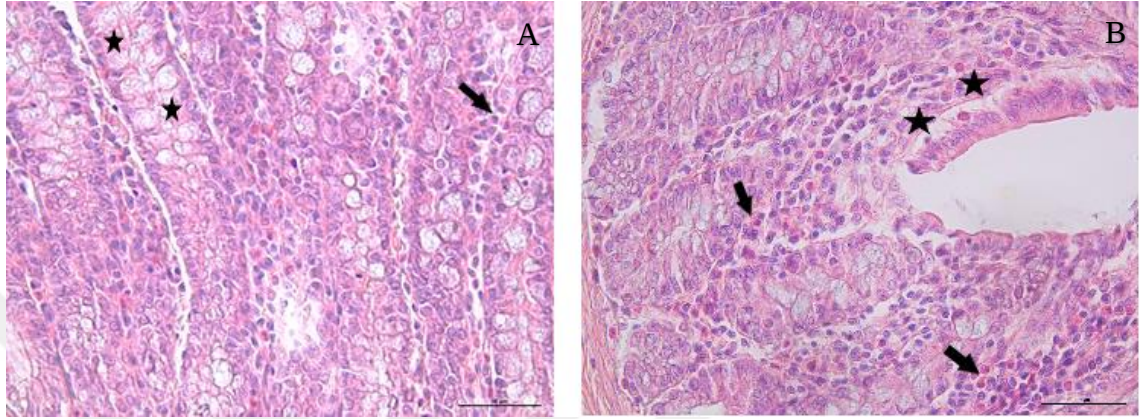
İleum dokusunda OSİ değeri I/R grubunda  $1.47 \pm 1.23$  ile en yüksek, HZSS grubunda  $0.22 \pm 0.02$  ile en düşük olarak gözlenmiştir (Tablo 2). Sham grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında I/R grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,006). HZSS grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında I/R grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,005). I/R grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında ise Tedavi II grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir (p değeri 0,015).

#### **4.2. Histomorfolojik Değerlendirme ve Analiz**

Ratlardan alınan ileal spesmenlerde H&E boyama yapılarak Chiu ve arkadaşlarının tanımlamış oldukları sınıflamaya göre doku hasarı derecesine bakıldı (59).

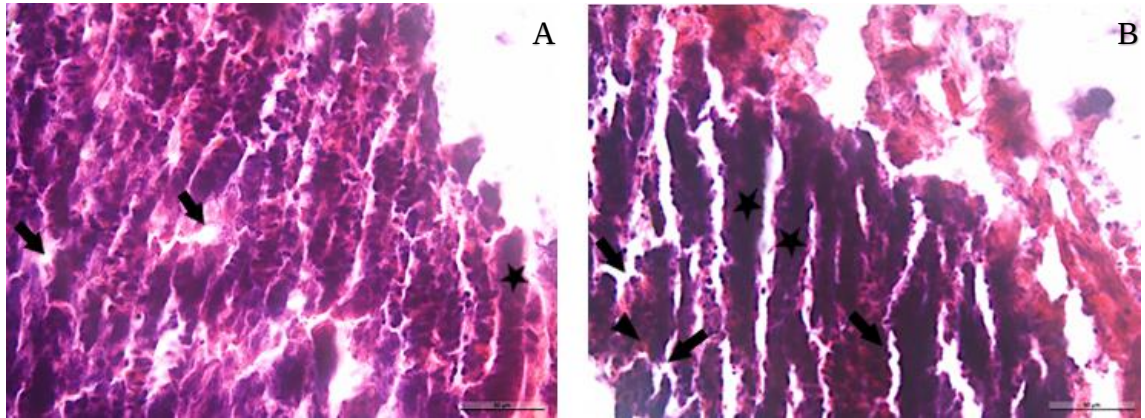
Bu sınıflamaya göre Sham grubunda tüm deneklerden elde edilen dokularda incelenen alanlar Grade 0 olarak yorumlandı. HZSS grubunda yer alan deneklerden 5 tanesinden elde edilen dokularda incelenen alanlar Grade 0 olarak değerlendirilirken, 1 tanesi Grade 1 olarak yorumlandı. Grade 1 olarak yorumlanan denekte bir alanda şüpheli kapiller konjesyon ile birlikte Gruenhagen boşluğu (Gruenhagen's space) tespit edildi. I/R grubunda yer alan deneklerden 5 tanesinden elde edilen dokularda incelenen alanlar Grade 5 olarak değerlendirilirken, 1 tanesi Grade 4 olarak yorumlandı. Tedavi I grubunda yer alan deneklerden 1 tanesinden elde edilen dokularda incelenen alanlar Grade 4

olarak değerlendirilirken, 3 tanesi Grade 3, 2 tanesi Grade 2 olarak yorumlandı. Tedavi II grubunda yer alan deneklerden 1 tanesinden elde edilen dokularda incelenen alanlar Grade 5 olarak değerlendirilirken, 1 tanesi Grade 4 olarak, 3 tanesi Grade 3, 1 tanesi Grade 2 olarak yorumlandı.



**Resim 6. Sham ve HZSS grubunda ileum dokusunun histomorfolojik incelenmesi**

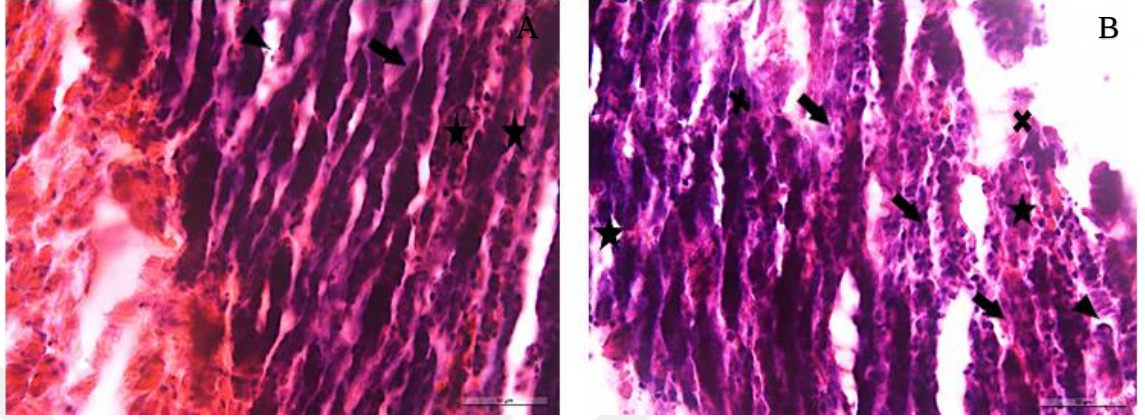
- A. Sham grubundan elde edilen ince bağırsak epiteli ve villus yapısı. Tek katlı prizmatik epitel (yıldız) ve komşuluğunda yer alan lamina propria (ok) normal yapıda.
- B. HZSS grubuna ait bir alanda şüpheli kapiller konjesyon (ok) ve Gruenhagen boşluğu (Gruenhagen's space) (yıldız).



**Resim 7. I/R grubunda ileum dokusunun histomorfolojik incelenmesi**

- A. I/R grubunda villus yapılarında aşınma (yıldız). Bu alanlarda mukozaya ait epitel net olarak izlenmiyor. Lamina propriada parçalı alanlar (ok).

- B. Villus yapılarında aşınma (yıldız). Lamina propriada dilate kapiller oluşumlar (üçgen), lamina propriada parçalı alanlar ve yer yer hemoraji (ok).



**Resim 8.** Tedavi I ve Tedavi II gruplarında ileum dokusunun histomorfolojik incelenmesi

- A. Tedavi I. Epitelyal hasar (yıldız), villus yapısında hasar izlendi (ok). Lamina propriada yer yer ayrılma, belli alanlarda lamina propriada hemoraji (üçgen).
- B. Tedavi II. Epitelyal hasar (ok), villus yapısında hasar izlendi (çarpı). Lamina propriada yer yer ayrılma (üçgen). Belli alanlarda lamina propriada hemoraji (yıldız).

**Tablo 3.** Gruplarda Chiu Sınıflamasına Göre Doku Hasarı Derecelendirmesi

| Gruplar   | Grade 0 | Grade 1 | Grade 2 | Grade 3 | Grade 4 | Grade 5 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Sham      | 6       | -       | -       | -       | -       | -       |
| HZSS      | 5       | 1       | -       | -       | -       | -       |
| I/R       | -       | -       | -       | -       | 1       | 5       |
| Tedavi I  | -       | -       | 2       | 3       | 1       | -       |
| Tedavi II | -       | -       | 1       | 3       | 1       | 1       |

Bu sınıflamaya göre Sham grubunda histomorfolojik hasarlanma olmayıp diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (p değeri 0,001). Tedavi I ve II grubunun histomorfolojik hasar dereceleri I/R grubuna göre daha az hasar olan Grade 2 ve Grade 3'te yoğunlaşmış olup, HZSS uygulamasının bağırsak dokusunda volvulus öncesinde ve sırasında histomorfolojik hasarı önleyebileceğini göstermektedir (p değeri 0,001).



## 5. TARTIŞMA

Deneysel izole ileal volvulus modeli oluşturulan bu çalışmada volvulus sonrası doku ve serum TOS, OSİ gibi oksidatif parametrelerin arttığı ve doku örneklerinde histomorfolojik hasarın ciddi olarak geliştiği görülmüştür. İskemiden önce ve sonra HZSS tedavisi uygulanan Tedavi I ve Tedavi II gruplarında I/R grubuna göre TOS ve OSİ değerlerinin belirgin olarak gerilediği, histomorfolojik hasarın bu gruplarda daha düşük seviyelerde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu bulgular ışığında HZSS tedavisinin bağırsak volvulusu üzerinde oksidatif stresi azaltarak iyileştirici etki gösterdiği ortaya konmuştur.

İnce bağırsaklarda iskemi oluşturmak için hayvan deneylerinde çeşitli modeller kullanılmıştır. Ratlarda SMA'nın klipslendiği, ligate edildiği ya da embolize edildiği tam iskemik durumların yanı sıra SMA'ya konulan klips yardımıyla kan akışının bir miktar azaltıldığı düşük akışlı iskemi modelleri bu kullanımlara örnektir (62). Ayrıca terminal ileumdan kolona kişner teli yardımıyla oluşturulan invajinasyon modeli ya da bu çalışmada da tercih edilen izole ince bağırsakta volvulus modeli oluşturularak bağırsak I/R'u üzerinde çalışmalar yapılmıştır (57, 49, 51).

İntestinal volvulus ve sıklıkla malrotasyon zemininde, yaklaşık % 50' si yaşamın ilk haftasında % 60' ından fazlası da ilk ay içerisinde (yenidoğan döneminde), görülen midgut volvulus; ince bağırsakların kendi mezenterik pedikülü ve süperior mezenterik damarların etrafında dönmesiyle oluşur (17, 19). Volvulusta obstrüksiyonla birlikte önce lenfatik drenaj, sonrasında venöz drenaj

ve artan basıncın engellemesi ile arteriyel kan akışı bozulur (13). Daha sonrasında iskemik durum ortaya çıkar.

I/R hasarı, bir organa gelen kan akışının kesilmesi ve sonrasında kan akışının restorasyonu ile meydana gelen doku yaralanmasını ifade eder. Serbest radikallerin önemli bir kaynağını oluşturan gastrointestinal sistem I/R'ye oldukça duyarlıdır (36). Serbest radikal oluşumunda büyük bir payı olan KO'nun en zengin kaynağı ince bağırsaktır (63, 64). Bağırsak I/R'si ile bağırsak mukozasının bütünlüğü bozulurak peristaltizm kaybı, bağırsakların sindirim ve emilim fonksiyonunda aksama ile işlev bozuklukları oluşur (65, 4). Bunun sonucunda bağırsaktan bakteriyel translokasyon ve buna bağlı ciddi sepsis; böbrekler, karaciğer ve akciğerler gibi uzak organların etkilenmesi ile MOF ve ölüm meydana gelir (65).

Son yıllarda ince bağırsaktaki I/R hasarını önleme ve tedavi etme konusunda bir çok yeni çalışma yapılmıştır. İskemiye neden olan faktörleri ortadan kaldırmak ve önceden engellemek çoğu zaman mümkün olmadığından çalışmalar daha çok reperfüzyon döneminden sonra gelişen hasarı engellemeye yönelik olmaktadır (66). Bunlar oksidatif stresi azaltmak, inflamatuvar tepkiyi sınırlandırmak amaçlı hayvan modellerinde uygulanan, iskemik ön koşullandırma, antioksidanların kullanımı, antikompleman tedavileri, enteral besleme, glisin-glutamin uygulamaları, nitrik oksit kullanımı, perflorokarbonla tedavi gibi modaliteleri kapsar. Reperfüzyon döneminin yıkıcı etkisini büyük ölçüde oluşturan serbest radikallere olan nötralize edici ve ortadan kaldırııcı etkisinden dolayı antioksidanlar, bu çalışmalarda özellikle öne çıkmaktadır (66, 41, 2). Bu çalışma ile antioksidan, antiapoptotik, antienflamatuvar etkileri bilinen HZSS, ilk kez volvulus modelinde kullanılmıştır.

Daha önceleri dalgıçların dekompresyon hastalığında kullanılan ve 1970'lerde serbest radikalleri nötralize edici etkisi teröpotik olarak dikkat çekmeye başlayan H<sub>2</sub>'nin günümüze kadar; miyokard, karaciğer, testis, penil doku, over, retina, böbrek, beyin, omurilik gibi organ ve dokularda I/R üzerinde; metabolik sendrom, diabetes mellitus gibi rahatsızlıklarda ve yanık, cilt greftleri, preeklampsi gibi durumlarda antioksidan ve ayrıca bazı gen ekspresyonlarını düzenleyerek antienflamatuvar, antiapoptotik ve antialerjik etki gösterdiği literatürde bir çok çalışma ile gösterilmiştir (67-79, 46, 56). Klinik uygulamalarda hidrojen gazının yanıcı, patlayıcı olabilmesi ve uygun ekipman gerektirmesi nedeniyle kullanımı pratik değildir (71, 77). HZSS ise oldukça kullanışlı, güvenli olup ilk olarak Cai ve arkadaşları tarafından 2009 da intraperitoneal enjeksiyon yoluyla kullanılmıştır (80).

Bağırsak I/R üzerinde HZSS'nin kullanımı ise ilk olarak Zheng ve arkadaşları tarafından 45 dakikalık SMA oklüzyonu yapılarak HZSS'nin juguler venden verildiği çalışma ile literatüre kazandırılmıştır (46). Bu model sonrası bağırsak hasarının mikroskopik olarak gösterilmesi yanında serum DAO aktivitesi, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri, doku malondialdehit (MDA), protein karbonil ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi belirgin olarak artarken, HZSS tedavisi ile bu markerların seviyesinin azaldığı ve histolojik olarak iyileşme olduğu saptanmıştır. Eryılmaz ve arkadaşları ise benzer şekilde SMA oklüzyonu sonrası 1. ve 24. saatte ince bağırsakta anastomoz yapmış olup intraperitoneal enjekte edilen HZSS'nin bu anastomoz üzerindeki koruyucu etkisini araştırmışlardır. HZSS verilen gruplarda MPO, MDA, IL-6 and TNF- $\alpha$  doku sevipleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşmese de, histopatolojik olarak doku

hasarı ve apoptoz seviyeleri belirgin olarak azalmış ve anastomoz patlama basınçları ise daha yüksek olarak ölçülmüştür ( $p<0,05$ ) (81).

Vücutta oksidan ve antioksidan durumu gösteren birden çok parametre olmakla birlikte bunların tek tek ölçülmesi zaman alıcı, sonuçlarının birleştirilmesi karmaşık, maliyetli ve pratik değildir. TOS ve TAS düzeylerinin bakılması ise oldukça güvenilir, kararlı, tekrar edilebilir, pratik ve otomatik olması nedeniyle literatürde birçok çalışmada tercih edilen tahlil yöntemi olmuştur (61, 82, 60, 83). TOS dokudaki oksidatif stres durumun göstergesi iken TAS bu oksidatif durumu telafi edebilecek antioksidan kapasitesine yönelik bilgi sağlar (43).

Doğan ve arkadaşlarının ratlarda intestinal volvulusa bağlı I/R modelinde Vardenafil'in profilaktik etkisini araştırdıkları çalışmasında da gruplarda dokuya ait örneklerde TAS ve TOS değerleri bakılmış ve dokular histopatolojik olarak değerlendirilmiştir (51). Yine bir diğer volvulus modeli olan Akgür ve arkadaşlarının çalışmasında ise tavşanda oluşturulan intestinal volvulus üzerinde Allopurinol'un etkisi histopatolojik inceleme yapılarak araştırılmıştır (49). Literatürde volvulus üzerinde ya da diğer intestinal I/R modellerinde bu çalışmada olduğu gibi kanda ve dokuda eş zamanlı TAS, TOS düzeylerinin bakıldığı çalışmaya rastlanmamıştır.

Ratlarda SMA oklüzyonu ile oluşturulan intestinal I/R modeli üzerinde Ukrain'in etkisinin araştırıldığı çalışmada serumda TAS, TOS, OSİ değerleri bakılmıştır. TOS değeri gruplar arasında I/R grubunda en yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve OSİ değeri de TOS değeri gibi I/R grubunda anlamlı yüksek bulunmuştur (84). İzole ileal segmentte volvulus oluşturulan ve buna bağlı intestinal I/R hasarı gelişen bu çalışmada da kanda ve

dokuda I/R grubunda bakılan TOS değerlerinin diğer gruplara göre en yüksek değerlerde olduğu görülmüştür. HZSS verilen Tedavi I ve Tedavi II gruplarının serum TOS değerleri I/R grubuna göre oldukça düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p değeri 0,080). Dokuda ise HZSS verilen Tedavi I ve Tedavi II gruplarının TOS değerleri I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur (p değeri 0,021). TOS değerinin TAS değerine oranı ile bulunan ve dokunun oksidasyon dengesinin göstergesi olan OSI değerleri ise TOS sonuçları ile paralel şekilde serumda ve dokuda I/R gruplarında en yüksek değerde olup Tedavi I ve Tedavi II gruplarında gerilemiştir (Tablo 2).

Hidroksil radikali ( $\text{OH}^\cdot$ ), serbest oksijen radikallerin en güçlüsüdür ve memeliler  $\text{OH}^\cdot$ 'ı nötralize edecek endojen detoksifikasyon sistemlerinden yoksundur. Bu sebeple  $\text{OH}^\cdot$ 'ı nötralize edecek tedavi seçenekleri oksidatif hasarın iyileştirilmesinde kritik rol oynar. Moleküler  $\text{H}_2$ , biyomembranlara kolayca bağlanarak sitozole, serbest radikallerin ana üretim yeri olan mitokondriye ve hücrenin diğer organellerine girer; hücre ve doku hasarını önlemek için oluşan  $\text{OH}^\cdot$ 'yı  $\text{H}_2\text{O}$ 'ya dönüştürür (1, 56). HZSS tedavisinin TOS seviyesini azalttığını gösteren bu modele benzer çalışma olmamasına rağmen literatürde; Zheng ve arkadaşları tarafından 45 dakikalık SMA oklüzyonu sonrası HZSS tedavisiyle doku MDA seviyelerinin düşmesi, Yamamoto ve arkadaşlarının intestinal transplantasyon yapılan ratlarda intraluminal HZSS tedavisi sonrası yine doku MDA değerlerinin düşmesi ya da Sheng ve arkadaşlarının rat yavrularında yapılan NEK modelinde ileum dokusu oksidatif parametrelerin (MDA) HZSS'nin oral ve intraperitoneal yoldan verildiğinde belirgin düşmesi HZSS'nin protein ve

lipid oksidasyonunu azaltarak antioksidan etki gösterdiğinin kanıtıdır (46, 85, 86).

Çalışmada, ratların ileal dokularının histomorfolojik incelemesinde; I/R grubunda 5 ratta lamina proprianın parçalanması ile birlikte kanama ve ülser tespit edilmesi (Grade 5), yapılan volvulus modelinin bağırsak üzerine kötü etkilerinin göstergesidir. Tedavi gruplarında, lamina propriadan epitel tabakasının orta ve masif derecede ayrılmanın görüldüğü (Grade 2 ve 3) daha hafif hasarlanma izlenmiştir. Bu değerlendirmelerle HZSS'nin dokuda I/R'a bağlı histolojik hasarı anlamlı ölçüde azalttığı (p değeri 0,001) sonucuna varılmıştır (Tablo 3). Zheng ve arkadaşlarının tarafından 45 dakikalık SMA oklüzyonu sonrası bağırsak üzerinde, Eryılmaz ve arkadaşları ise benzer şekilde SMA oklüzyonu sonrası ince bağırsakta yapılan anostomoz hatlarında, Yamamoto ve arkadaşlarının intestinal transplantasyon yapılan ratların bağırsağında ve Sheng ve arkadaşlarının da rat yavrularında yaptıkları NEC modelinde ileum dokusunda HZSS ile morfolojik hasarın azaldığı gösterilmiştir. Bu ve üsteki çalışmalar HZSS'nin oksidatif stresi azaltarak doku hasarına iyileştirici etkisinin kanıtıdır. HZSS bu doku üzerine koruyucu etkilerini DNA, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere hücresel makromoleküllerle kolayca reaksiyona giren ve bunlar üzerinde güçlü bir sitotoksik etki uygulayan hidroksil radikallerini kolayca sitozol ve mitokondri ve hücrenin diğer organellerine girerek H<sub>2</sub>O'ya dönüştürerek yapar (46, 81, 85, 86)

Çalışmada verilerimiz, bağırsak I/R'unun TOS ve OSI düzeylerini artırdığını doğrulamaktadır. TOS ve OSI düzeyleri Tedavi I ve Tedavi II gruplarında gerilemiş olup, TAS düzeylerinde değişiklik görülmemiştir. Bu da bu modelde ya da bu çalışma ile HZSS'nin etkisinin antioksidan seviyeyi artırmaktan ziyade direkt oksidatif stres üzerinde nötralize edici, azaltıcı etkisinin daha etkili

olduğu sonucuna ulaştırmıştır. Kan ve doku örneğinin çalışmanın 4. saatinde alınmış olması TAS düzeylerinde değişiklik olmaması ile ilişkilendirilebilir, bu sebeple daha uzun sürecin oluşturulduğu çalışmalarla bu veri araştırılabilir. Tedavi I grubu ile Tedavi II grubu arasındaki farklılık ise HZSS nin reperfüzyon döneminden hemen önce uygulanmasının, I/R olayının (volvulus) ncesinde uygulanmasına kıyasla daha etkili olabileceğine dair fikir uyandırmıştır ancak bu konuda daha fazla dokuyla (hayvan sayısı ile) alışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

İnsanlar kanser, stres ve radyasyon yaralanmalarını önlemek için günlük yaşamda HZSS tüketirler (78). Günde 20 ml/kg hidrojen alımına kadar her iki cinsiyette, sıçanlarda ve insanlarda hiçbir yan etki ve toksik değişiklik gösterilmemiştir (87). Bu alışmada HZSS 5 ml/kg dozunda verilmiştir ve bu nedenle yan etkiler için ek izlem yapılmamıştır. HRSS, vücut tarafından hızla emilir ve hücrelere hızla yayılır, kullanımı kolay, ucuz bir solüsyondur. H<sub>2</sub>' nin gaz formu son derece yanıcı ve patlamaya neden olabileceğinden tıbbi kullanım için güvenli değildir. Oral alım güvenli ve kullanışlıdır, ancak mide ve bağırsaktaki kayıp nedeniyle H<sub>2</sub> konsantrasyonunu ayarlamak genellikle zordur. Enjekte edilebilir form, daha doğru bir konsantrasyonda uygulamaya izin verir. Enjeksiyon için hazırlanan tüm solüsyonlar gama radyasyonu ile sterilize edilebilir ve alüminyum torbalarda 4 C'de 4 hafta saklanabilir (81).

## 6. SONUÇ

Antienflamatuar, antioksidan ve antiapoptotik olarak insanlarda da kullanılan hidrojenden zengin salin solüsyonu, volvulusa bağlı bağırsak iskemi reperfüzyon modeli üzerinde, kan ve dokuda oksidatif stresi azaltarak ve histomorfolojik olarak doku hasarını engelleyerek iyileştirici etki göstermiştir. Ucuz, kullanımı kolay ve güvenli, hazırlanması basit olan hidrojenden zengin salin solüsyonu vücutta hızlıca emilip hücrelere süratle yayılması nedeniyle volvulus gibi morbiditesi ve mortalitesi halen yüksek olan bir durumda koruyucu ve iyileştirici etkisinden faydalanmak için kullanılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology. 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences; 2020.
2. Dal F, Küçük C, Talih T, Sözüer E, Topal U, Deniz K, et al. Effects of bradykinin preconditioning in an experimental intestinal ischemia reperfusion model on rats. *Acta Cir Bras*. 2020 Jun; 35(4): e202000402.
3. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001 Jun; 94(6): 1133-38.
4. Wu MB, Ma B, Zhang TX, Zhao K, Cui SM, He SC. Propofol improves intestinal ischemia-reperfusion injury in rats through NF- $\kappa$ B pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020 Jun; 24(11): 6463-69.
5. Dere Günel Y, Boybeyi Türer Ö, Atasoy P, Kısa Ü, Aslan MK. The effects of ozone on the acute phase of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2020 Sep; 26(5): 651-56.
6. Dai D, Chen J, Jin M, Zhang Z, Chen WH, Xu F. Dynamic metabolomic analysis of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *IUBMB Life*. 2020 May; 72(5): 1001-11.
7. Huether SE, McCance KL. Understanding Pathophysiology. 7th ed. St. Louis, MO: Elsevier/Mosby; 2019
8. Kim HH, Kang H, Park CH, Kwon YJ, Jung E, Lim M. Rapidly Progressive Small Bowel Necrosis in a Previously Healthy Child without Proven Mechanical Obstruction. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2019 May; 22(3): 291-97.

9. Silva AC, Pimenta M, Guimarães LS. Small bowel obstruction: what to look for. *Radiographics*. 2009 Mar-Apr; 29(2): 423-39.
10. Le CK, Nahirniak P, Anand S, Cooper W. Volvulus. 2021 May 14. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan.
11. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004; 24(6): 468-75.
12. Seashore JH, Touloukian RJ. Midgut volvulus. An ever-present threat. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1994 Jan; 148(1): 43-6.
13. Strouse PJ. Disorders of intestinal rotation and fixation ("malrotation"). *Pediatr Radiol*. 2004 Nov; 34(11): 837-51.
14. Sadler TW. *Langman's medical embryology*. 14th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2018.
15. Holcomb GW, Murphy JP, St Peter SD. *Ashcraft's pediatric surgery*. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020.
16. Millar AJ, Rode H, Cywes S. Malrotation and volvulus in infancy and childhood. *Semin Pediatr Surg*. 2003 Nov; 12(4): 229-36.
17. De Hous N, de Gheldere C, Salgado R, Gryspeerdt F. Primary midgut volvulus without intestinal malrotation in a young adult: a case report. *Acta Chir Belg*. 2020 Dec; 120(6): 429-32.
18. Lin YP, Lee J, Chao HC, Kong MS, Lai MW, Chen CC, et al. Risk factors for intestinal gangrene in children with small-bowel volvulus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011 Oct; 53(4): 417-22.
19. Chung JH, Kim W, Kim SY. Comparison of total midgut volvulus and segmental volvulus in neonates. *J Pediatr Surg*. 2020 Sep: S0022-3468(20)30613-8.

20. Kanellos-Becker I, Bergholz R, Reinshagen K, Boettcher M. Early prediction of complex midgut volvulus in neonates and infants. *Pediatr Surg Int*. 2014 Jun; 30(6): 579-86.
21. Siegel MJ, Shackelford GD, McAlister WH. Small bowel volvulus in children: its appearance on the barium enema examination. *Pediatr Radiol*. 1980 Nov; 10(2): 91-3.
22. Coste AH, Anand S, Nada H, Ahmad H. Midgut Volvulus. 2021 May. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan.
23. Montalva L, Ali L, Heneau A, Julien-Marsollier F, Biran V, Bonnard A. Misdiagnosing Midgut Volvulus in Very Preterm Infants: What is the Impact of Delay Before Surgery? *Indian J Pediatr*. 2021 Jan; 88(1): 89-90.
24. Nagdeve NG, Qureshi AM, Bhingare PD, Shinde SK. Malrotation beyond infancy. *J Pediatr Surg*. 2012 Nov; 47(11): 2026-32.
25. Basaklar AC. Rotasyon Anomalileri. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Urolojik Hastalıkları: Palme Yayıncılık Ankara*; 2006. p. 991-1013.
26. Lampl B, Levin TL, Berdon WE, Cowles RA. Malrotation and midgut volvulus: a historical review and current controversies in diagnosis and management. *Pediatr Radiol*. 2009 Apr; 39(4): 359-66.
27. Cheng YJ, Duh YC, Lin CH, Lien CH, Chen JJ, Lee HC, et al. Sonographic whirlpool sign in neonatal intestinal volvulus. *Pediatr Neonatol*. 2020 Dec; 61(6): 653-54.
28. Wong K, Van Tassel D, Lee J, Buchmann R, Riemann M, Egan C, et al. Making the diagnosis of midgut volvulus: Limited abdominal ultrasound has changed our clinical practice. *J Pediatr Surg*. 2020 Dec; 55(12): 2614-17.

29. Sizemore AW, Rabbani KZ, Ladd A, Applegate KE. Diagnostic performance of the upper gastrointestinal series in the evaluation of children with clinically suspected malrotation. *Pediatr Radiol*. 2008 May; 38(5): 518-28.
30. Yasui Y, Shironomae T, Kuwahara T. Target and Whirl Signs: Volvulus of Intussuscepted Colon in an Infant. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 May; 18(5): A34.
31. Mucha P Jr. Small intestinal obstruction. *Surg Clin North Am*. 1987 Jun; 67(3): 597-620.
32. Scalabre A, Duquesne I, Deheppe J, Rossignol G, Irtan S, Arnaud A, et al. Outcomes of laparoscopic and open surgical treatment of intestinal malrotation in children. *J Pediatr Surg*. 2020 Dec; 55(12): 2777-82.
33. Miyake H, Koike Y, Seo S, Lee C, Li B, Ganji N, et al. The effect of pre- and post-remote ischemic conditioning reduces the injury associated with intestinal ischemia/reperfusion. *Pediatr Surg Int*. 2020 Dec; 36(12): 1437-42.
34. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim*. 2009, 22.3: 5-14.
35. Bonora M, Patergnani S, Rimessi A, De Marchi E, Suski JM, Bononi A, et al. ATP synthesis and storage. *Purinergic Signal*. 2012 Sep; 8(3): 343-57.
36. Prieto-Moure B, Cejalvo-Lapeña D, Belda-Antolí M, Padrón-Sanz C, Lloris-Cejalvo JM, Lloris-Carsí JM. Combination Therapy of Allopurinol and Dantrolene and Its Role In The Prevention of Experimental Ischemia Reperfusion Injury of the Small Intestine. *J Invest Surg*. 2020 Jan;1-8.
37. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol*. 1992; 32 Suppl: 33-42.

38. Sjøfteland JM, Oltean M. Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury and Calcium Channel Blockers: Getting to the Core of the Problem. *J Invest Surg.* 2020 Jan; 1-2.
39. Sasaki M, Joh T. Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. *J Clin Biochem Nutr.* 2007 Jan; 40(1): 1-12.
40. Akbari G. Emerging roles of microRNAs in intestinal ischemia/reperfusion-induced injury: a review. *J Physiol Biochem.* 2020 Nov; 76(4): 525-37.
41. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci.* 2004 Sep; 49(9):1359-77.
42. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr.* 1990; 137: 1-53.
43. Yazici S, Demirtas S, Guclu O, Karahan O, Yavuz C, Caliskan A, et al. Using oxidant and antioxidant levels to predict the duration of both acute peripheral and mesenteric ischemia. *Perfusion.* 2014 Sep; 29(5): 450-55.
44. Miyata Y, Matsuo T, Mitsunari K, Asai A, Ohba K, Sakai H. A Review of Oxidative Stress and Urinary Dysfunction Caused by Bladder Outlet Obstruction and Treatments Using Antioxidants. *Antioxidants (Basel).* 2019 May; 8(5): 132.
45. Gaur P, Prasad S, Kumar B, Sharma SK, Vats P. High-altitude hypoxia induced reactive oxygen species generation, signaling, and mitigation approaches. *Int J Biometeorol.* 2021 Apr; 65(4): 601-15.

46. Zheng X, Mao Y, Cai J, Li Y, Liu W, Sun P, et al. Hydrogen-rich saline protects against intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Free Radic Res.* 2009 May; 43(5): 478-84.
47. Girn HR, Ahilathirunayagam S, Mavor AI, Homer-Vanniasinkam S. Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc Endovascular Surg.* 2007 Aug-Sep; 41(4): 277-93.
48. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(1): 44-84.
49. Akgür FM, Olguner M, Yenici O, Gökden M, Aktuğ T, Yilmaz M, et al. The effect of allopurinol pretreatment on intestinal hypoperfusion encountered after correction of intestinal volvulus. *J Pediatr Surg.* 1996 Sep; 31(9): 1205-07.
50. Soydan G, Sökmensüer C, Kiliç K, Tuncer M. The effects of sildenafil on the functional and structural changes of ileum induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Eur J Pharmacol.* 2009 May; 610(1-3): 87-92.
51. Doğan G, İpek H, Baş Y, Doğan G, Kayır S. Experimental study on prophylactic effects of vardenafil in ischemia-reperfusion model with intestinal volvulus injury in rats. *J Pediatr Surg.* 2019 Oct; 54(10): 2172-77.
52. Büyükgebiz O, Aktan AO, Yeğen C, Yalçın AS, Haklar G, Yalin R, et al. Captopril increases endothelin serum concentrations and preserves intestinal mucosa after mesenteric ischemia-reperfusion injury. *Res Exp Med (Berl).* 1994; 194(6): 339-48.

53. Cuzzocrea S, Mazzon E, Costantino G, Serraino I, De Sarro A, Caputi AP.  
Effects of n-acetylcysteine in a rat model of ischemia and reperfusion injury.  
Cardiovasc Res. 2000 Aug; 47(3): 537-48.
54. Sener G, Akgün U, Satiroğlu H, Topaloğlu U, Keyer-Uysal M. The effect of  
pentoxifylline on intestinal ischemia/reperfusion injury. Fundam Clin  
Pharmacol. 2001 Feb; 15(1): 19-22.
55. Gubernatorova EO, Perez-Chanona E, Koroleva EP, Jobin C, Tumanov AV.  
Murine Model of Intestinal Ischemia-reperfusion Injury. J Vis Exp. 2016  
May; (111): 53881.
56. Ohta S. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: overview of the  
advantages of hydrogen for medical applications. Methods Enzymol. 2015;  
555: 289-317.
57. Wu MJ, Chen M, Sang S, Hou LL, Tian ML, Li K, et al. Protective effects of  
hydrogen rich water on the intestinal ischemia/reperfusion injury due to  
intestinal intussusception in a rat model. Med Gas Res. 2017 Jun; 7(2): 101-  
06.
58. Mano Y, Kotani T, Ito M, Nagai T, Ichinohashi Y, Yamada K, et al. Maternal  
molecular hydrogen administration ameliorates rat fetal hippocampal damage  
caused by in utero ischemia-reperfusion. Free Radic Biol Med. 2014 Apr; 69:  
324-30.
59. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal  
lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic  
reappraisal. Arch Surg. 1970 Oct; 101(4): 478-83.
60. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response  
against potent free radical reactions. Clin Biochem. 2004 Feb; 37(2): 112-19.

61. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005 Dec; 38(12): 1103-11.
62. Gonzalez LM, Moeser AJ, Blikslager AT. Animal models of ischemia-reperfusion-induced intestinal injury: progress and promise for translational research. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2015 Jan; 308(2): 63-75.
63. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 1988 May; 254(5 Pt 1): 768-74.
64. McMichael M, Moore RM. Ischemia–reperfusion injury pathophysiology, part I. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2004, 14.4: 231-41.
65. Xu H, Liu G, Gu H, Wang J, Li Y. Glutamine protects intestine against ischemia-reperfusion injury by alleviating endoplasmic reticulum stress induced apoptosis in rats. *Acta Cir Bras.* 2020 Mar; 35(1): e202000104.
66. Jia Y, Cui R, Wang C, Feng Y, Li Z, Tong Y, et al. Metformin protects against intestinal ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis via TXNIP-NLRP3-GSDMD pathway. *Redox Biol.* 2020 May; 32: 101534.
67. Huang L. Molecular hydrogen: a therapeutic antioxidant and beyond. *Med Gas Res.* 2016 Dec; 6(4): 219-22.
68. Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, Shinmura K, Tamaki K, Kimura K, et al. Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Aug; 373(1): 30-5.

69. Lee JW, Kim JI, Lee YA, Lee DH, Song CS, Cho YJ, et al. Inhaled hydrogen gas therapy for prevention of testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg.* 2012 Apr; 47(4): 736-42.
70. Gokalp N, Basaklar AC, Sonmez K, Turkyilmaz Z, Karabulut R, Poyraz A, et al. Protective effect of hydrogen rich saline solution on experimental ovarian ischemia reperfusion model in rats. *J Pediatr Surg.* 2017 Mar; 52(3): 492-97.
71. Li J, Hong Z, Liu H, Zhou J, Cui L, Yuan S, et al. Hydrogen-Rich Saline Promotes the Recovery of Renal Function after Ischemia/Reperfusion Injury in Rats via Anti-apoptosis and Anti-inflammation. *Front Pharmacol.* 2016 Apr; 7: 106.
72. Zhou L, Wang X, Xue W, Xie K, Huang Y, Chen H, et al. Beneficial effects of hydrogen-rich saline against spinal cord ischemia-reperfusion injury in rabbits. *Brain Res.* 2013 Jun; 1517: 150-60.
73. Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N. Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome-an open label pilot study. *J Clin Biochem Nutr.* 2010 Mar; 46(2): 140-49.
74. Amitani H, Asakawa A, Cheng K, Amitani M, Kaimoto K, Nakano M, et al. Hydrogen improves glycemic control in type1 diabetic animal model by promoting glucose uptake into skeletal muscle. *PLoS One.* 2013; 8(1): e53913.
75. Guo SX, Jin YY, Fang Q, You CG, Wang XG, Hu XL, et al. Beneficial effects of hydrogen-rich saline on early burn-wound progression in rats. *PLoS One.* 2015 Apr; 10(4): e0124897.

76. Wang X, Yu P, YongYang, Liu X, Jiang J, Liu D, et al. Hydrogen-rich saline resuscitation alleviates inflammation induced by severe burn with delayed resuscitation. *Burns*. 2015 Mar; 41(2): 379-85.
77. Liu YQ, Liu YF, Ma XM, Xiao YD, Wang YB, Zhang MZ, et al. Hydrogen-rich saline attenuates skin ischemia/reperfusion induced apoptosis via regulating Bax/Bcl-2 ratio and ASK-1/JNK pathway. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2015 Jul; 68(7): e147-56.
78. Gulburun MA, Karabulut R, Turkeyilmaz Z, Eryilmaz S, Kaya C, Arslan B, et al. Protective effects of hydrogen rich saline solution on ventral penile mathieu type flap with penile tourniquet application in rats. *J Pediatr Urol*. 2021 Feb; S1477-5131(21) 00077-2.
79. Yu J, Yu Q, Liu Y, Zhang R, Xue L. Hydrogen gas alleviates oxygen toxicity by reducing hydroxyl radical levels in PC12 cells. *PLoS One*. 2017 Mar; 12(3): e0173645.
80. Cai J, Kang Z, Liu K, Liu W, Li R, Zhang JH, et al. Neuroprotective effects of hydrogen saline in neonatal hypoxia-ischemia rat model. *Brain Res*. 2009 Feb; 1256: 129-37.
81. Eryilmaz S, Turkeyilmaz Z, Karabulut R, Gulburun MA, Poyraz A, Gulbahar O, et al. The effects of hydrogen-rich saline solution on intestinal anastomosis performed after intestinal ischemia reperfusion injury. *J Pediatr Surg*. 2020 Aug; 55(8): 1574-78.
82. Demirpençe O, Sevim B, Yıldırım M, Ayan Nurlu N, Mert D, Evliyaoğlu O. Serum paraoxonase, TAS, TOS and ceruloplasmin in brucellosis. *Int J Clin Exp Med*. 2014 Jun; 7(6): 1592-97.

83. Terzi A, Coban S, Yildiz F, Ates M, Bitiren M, Taskin A, et al. Protective effects of *Nigella sativa* on intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Invest Surg*. 2010 Feb; 23(1):21-7.
84. Akcilar R, Akcilar A, Savran B, Ayada C, Koçak C, Koçak FE, et al. Effects of ukrain in rats with intestinal ischemia and reperfusion. *J Surg Res*. 2015 May; 195(1): 67-73.
85. Yamamoto H, Aokage T, Igawa T, Hirayama T, Seya M, Ishikawa-Aoyama M, et al. Luminal preloading with hydrogen-rich saline ameliorates ischemia-reperfusion injury following intestinal transplantation in rats. *Pediatr Transplant*. 2020 Nov; 24(7): e13848.
86. Sheng Q, Lv Z, Cai W, Song H, Qian L, Wang X. Protective effects of hydrogen-rich saline on necrotizing enterocolitis in neonatal rats. *J Pediatr Surg*. 2013 Aug; 48(8): 1697-706.
87. Saitoh Y, Harata Y, Mizuhashi F, Nakajima M, Miwa N. Biological safety of neutral-pH hydrogen-enriched electrolyzed water upon mutagenicity, genotoxicity and subchronic oral toxicity. *Toxicol Ind Health*. 2010 May; 26(4): 203-16.

## 8. ÖZET

NEK, boğulmuş fitik, iltihaplı bağırsak hastalıkları, mezenterik arter veya ven tıkanıkları, travma, çeşitli şok türleri, ciddi yanıklar, invajinasyon ve volvulus gibi klinik durumlarda bağırsak iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı meydana gelmektedir. Çalışmamızda antioksidan, antiapoptotik, antienflamatuar ve antialerjik özelliği olan hidrojen zengin salin solüsyonu (HZSS) volvulusa bağlı bağırsak I/R hasarı üzerinde kullanılmış ve koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Çalışmada ağırlıkları 220-250 gr arasında değişen 30 adet sağlıklı dişi Wistar Albino rat 5 gruba ayrıldı. Tüm ratlara anestezi altında median laparotomi yapıldı. Deney başlamadan Sham grubuna (Grup 1) intraperitoneal serum fizyolojik, HZSS grubuna (Grup 2) intraperitoneal 5 ml/kg'dan HZSS verildi ve herhangi bir işlem yapılmadı. Volvulus- I/R grubunda (Grup 3), ileoçekal valvin 2 cm proksimalinden 5 cm lik ince bağırsak segmenti saat yönünde 360° döndürölüp volvule edilerek tespit edildi. 2 saat iskemi süresi beklendikten sonra relaparotomi yapılarak tespit süturu açıldı ve 2 saat reperfüzyon süresi beklendi. Tedavi I grubunda (Grup 4) reperfüzyondan hemen önce HZSS intraperitoneal 5ml/kg olacak dozda enjekte edilerek reperfüzyon için tespit süturu açıldı ve 2 saat reperfüzyon süresi beklendi. Tedavi II grubunda (Grup 5) iskemiden (volvulustan) 1 saat önce HZSS intraperitoneal 5ml/kg olacak şekilde rata enjekte edildi ve I/R gerçekleştirildi. Tüm ratlardan reperfüzyonun 2.saatinde kan örneği ve ince bağırsak dokusu alındı. Kan örneği ve dokuda TAS, TOS düzeyleri ölçüldü ve doku histomorfolojileri incelendi.

Tedavi I ve Tedavi II gruplarında dokuda TOS ve OSİ düzeyleri I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanırken ( $p < 0,05$ ), Tedavi I ve Tedavi II gruplarında kan örneğinde TOS ve OSİ düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da I/R grubuna göre düşük olduğu saptandı ( $p > 0,05$ ). Histomorfolojik olarak villus yapısında bozulma, epitelde ayrışma ve lamina proprianın parçalanması Tedavi I ve Tedavi II gruplarında, I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır (p değeri 0,001).

Bu çalışma ile, volvulusa bağlı oluşan I/R hasarında HZSS'nin bağırsak hasarını engellediği biyokimyasal ve histomorfolojik parametreler üzerinden gösterilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** bağırsak iskemi/reperfüzyon hasarı, volvulus, hidrojen zengin salin solüsyonu

## 9. SUMMARY

Intestinal ischemia/reperfusion (I/R) injury occurs in clinical conditions such as NEC, strangulated hernia, inflammatory bowel diseases, mesenteric artery or vein occlusions, trauma, various types of shock, severe burns, intussusception and volvulus. In our study, hydrogen-rich saline solution (HZSS), which has antioxidant, antiapoptotic, anti-inflammatory and anti-allergic properties, was used on intestinal I/R damage due to volvulus and its protective effect was investigated.

In the study, 30 healthy female Wistar Albino rats weighing between 220-250 g were divided into 5 groups. Median laparotomy was performed to all rats under anesthesia. Before the experiment, Sham group (Group 1) was given intraperitoneal physiological saline, HZSS group (Group 2) was given 5 ml/kg HZSS intraperitoneally and no action was taken. In the volvulus-I/R group (Group 3), a 5 cm small intestine segment from 2 cm proximal to the ileocecal valve was fixed by rotating 360° clockwise. After waiting for 2 hours of ischemia, a relaparotomy was performed, and the fixation suture was opened and a reperfusion period of 2 hours was expected. In the Treatment I group (Group 4), HZSS was injected intraperitoneally at a dose of 5 ml/kg just before reperfusion, and the fixation suture was opened for reperfusion and a reperfusion period of 2 hours was waited. In the Treatment II group (Group 5), HZSS was injected at 5 ml/kg intraperitoneally 1 hour before ischemia (volvulus) and I/R was performed. Blood samples and small intestine tissue were taken from all rats at the 2nd hour of reperfusion. TAS, TOS levels in blood sample and tissue and histomorphology in tissue were examined.

In the Treatment I and Treatment II groups, TOS and OSI levels in the tissue were found to be statistically significantly lower than in the I/R group ( $p < 0.05$ ). Although TAS and TOS levels in the blood sample in the Treatment I and Treatment II groups were not statistically significant compared to the I/R group, they were lower than the I/R group ( $p > 0.05$ ). As histomorphological, deterioration of villus structure, separation of epithelium and fragmentation of lamina propria were found to be statistically significantly lower in the Treatment I and Treatment II groups compared to the I/R group (p value 0,001).

In this study, it has been shown through biochemical and histomorphological parameters that HZSS prevents intestinal damage in I/R damage due to volvulus.

**Keywords:** intestinal ischemia/reperfusion injury, volvulus, hydrogen-rich saline solution