



T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA GANODERMA LUCİDUMUN MEZENTER İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNDEKİ İYİLEŞTİRİCİ ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Muhammed GÖMEÇ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Bahadır KÜLAH

YOZGAT-2017

T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA GANODERMA LUCİDUMUN MEZENTER İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNDEKİ İYİLEŞTİRİCİ ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Muhammed GÖMEÇ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Bahadır KÜLAH

YOZGAT-2017

(Bu Araştırma Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından 6601-TF/16-26 Numaralı Proje Olarak Desteklenmiştir.)

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi ihtisas sürem boyunca desteklerini esirgemeyen, başta tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Bahadır KÜLAH olmak üzere, Prof. Dr. Faruk Önder AYTEKİN, Prof. Dr. Soykan DİNÇ, Yrd. Doç. Dr. Mesut SİPAHİ, Yrd. Doç. Dr. Hasan BÖREKÇİ ve Yrd. Doç. Dr. Ergin ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürecimin büyük bölümünde beraber çalıştığım ve bu deneysel çalışmamda emeği bulunan kıymetli dostum Dr. Uğur ERCAN'a teşekkür ediyorum.

Çalışmamda bulunan patolojik incelemelerde emeği geçen Sn. Yrd. Doç. Dr. Sevinç ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Asistanlık sürecim boyunca Bozok Üniversitesi bünyesinde ve özellikle Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Uygulama Hastanesinde beraber görev yaptığım tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Tüm eğitim hayatım boyunca ve asistanlık sürecimde desteklerini hissettiğim kıymetli aileme sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Asistanlık sürecinin yoğunluğunda sabırla yanımda olan ve huzur veren kıymetli eşime ve kızıma ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Muhammed GÖMEÇ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE	3
2.2. ANATOMİ	3
2.2.1. Turunkus Çölyakus Anatomisi	3
2.2.2. Superior Mesenterik Arter Anatomisi	4
2.2.3. İnferior Mesenterik Arter Anatomisi	5
2.2.4. İnce Barsak Anatomisi	6
2.3. TANIMLAR	7
2.4. İNSİDANS	8
2.5. EPİDEMİYOLOJİ	9
2.6. ETYOLOJİ	9
2.6.1. Akut Mezenterik Arter Embolisi	10
2.6.2. Akut Mezenterik Arter Trombozu	10
2.6.3. Non Okluziv Mezenter İskemi	11
2.6.4. Mezenterik Venöz Tromboz	11
2.6.5. Kronik Mezenter İskemi	11
2.6.6. İskemik Kolit	11
2.7. FİZYOPATOLOJİ	12
2.7.1. Serbest Radikaller	14
2.7.1.1. Endojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları	15
2.7.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Oluşum Kaynaklar	15
2.7.1.3. Serbest Oksijen Radikalleri(Sor) Ve Reaktif Oksijen Türleri (Ros)	15
2.7.1.4. Serbest Radikallerin Etkileri	17
2.7.1.5. Antioksidan Savunma	19
2.7.1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar	20
2.7.1.5.2. Radikalleri Nötralize Eden Antioksidan Maddeler	21
2.7.1.5.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumunu Ve Yayılımını Önleyen Antioksidanlar	22
2.7.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)	22
2.7.3. Kompleman Sistemi	23
2.7.4. Endotel Hücreleri	23
2.8. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR	24

2.9. TANI	25
2.10.TEDAVİ	26
2.11.GANODERMA LUCIDUM(REİSHİ MANTARI)	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. DENEY HAYVANLARI VE GRUPLAR.....	31
3.2. DENEYSEL İNTESTİNAL İSKEMİ- REPERFÜZYON MODELİ.....	32
3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	35
3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	38
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. LÖKOSİT DÜZEYLERİ	40
4.2. HEMOGLOBİN DÜZEYLERİ.....	41
4.3. TROMBOSİT DÜZEYLERİ	42
4.4. SERUM MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ (Serum MDA)	43
4.5. İNTESTİNAL DOKU MALONDİALDEHİT DÜZELERİ(İntestinal MDA)	44
4.6. KARACİĞER MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ (Karaciğer MDA)	45
4.7. SERUM GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ (Serum GSH-PX).....	46
4.8. İNTESTİNAL GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ (İntestinal GSH-PX).47	
4.9. KARACİĞER GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ (Karaciğer GSH-Px).48	
4.10.SERUM SÜPEROKSİT DİSMUTAZ DÜZEYLERİ (Serum SOD).....	49
4.11.İNTESTİNAL DOKU SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (İntestinal SOD).....	50
4.12.KARACİĞER SÜPEROKSİT DİSMUTAZ DÜZEYLERİ (Karaciğer SOD).....	51
4.13.İNCE BARSAK DOKUSUNDA HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	52
4.14.KARACİĞER DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	53
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR.....	67
7. ÖZET	68
8. SUMMARY.....	69
9. KAYNAKLAR	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

AMI	: Akut Mezenter İskemi
ANOVA	: Analysis of Variance
AP	: Aktive Protein
ARDS	: Akut Respiratuar Cevap Sendromu
AST	: Aspartat Transaminaz
C5a	: Compleman 5a
CABA	: Cobalt Albumin Bağlanma Testi
CAT	: Katalaz
CPK	: Kreatin Fosfokinaz
CTA	: Computed Tomografi Anjiografi
Cu	: Bakır
DCS	: Hasar kontrol cerrahisi
ĐİK	: Dissemine İntravasküler Koagülopati
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ELISA	:Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay testi
Fe	: Demir
GL	: Ganoderma Lucidum
GL-PS	: Ganoderma Lucidum Polisakkaritleri
GSH-Px	: Glutasyonperoksidaz
GST	: Glutation-S-Transferaz
H+	: Hidrojen iyonu
HO₂⁻	: Perhidroksil
H₂O₂	: Hidrojen Peroksid
HOCl	: Hypochlorous Acid
I/R	:İskemi- Reperfüzyon
ICAM-1	: İntraselüler Adezyon Molekülü-1
I-FABP	: İntestinal Yağ Asidi Bağlama Proteini
IgG	: İmmünglobülin G
IL	: İnterlökin
İMA	: İnferiyor Mezenterik Arter
L3-4	: Lomber 3-4 Vertebra

LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LTB4	:Leukotriene B4
MDA	: Malondialdehit
Mn	: Mangan
Mo	: Molibden
MODS	: Multi Organ Disfonksiyon Sendromu
MPO	: Myeloperoksidaz
MVT	: Mesenterik Venöz Tromboz
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NF-κB	:Nuclear Factor kappa B
NO	: Nitrikoksit
NO⁺²	: Nitronyum İyonu
NO₂	: Azotdioksit
O2-	: Süperoksid
OH-	: Hidroksil
ONOO⁻	: Peroksinitrit
PGE2	: Prostaglandin E2
PLT	: Platelet
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökosit
SH	: Sülfidril
SIYS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromuna
SMA	: Süperior Mezenterik Arter
SOD	: Süperoksitdismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
T12	:Torakal 12. Vertebra
TEF	:Toxic Equivalency Factor
TGF-β	: Transforming Growth Factor β
TNF	: Tümör Nekrozitan Faktör
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WBC	: Beyaz Küre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Turunkus Çölyakus	4
Şekil 2. Superior Mesenterik Arter	5
Şekil 3. İnferior Mesenterik Arter	6
Şekil 4. Akut Mezenter İskemi Mekanizması	13



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo.2.1.	AMI'nin spesifik fenotipleri için risk faktörleri.....	24
Tablo.3.1.	Deney grupları	31
Tablo 3.2.	Chui sınıflaması	39
Tablo 4.1.	Lökosit düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu.....	41
Tablo 4.2.	Hemoglobin düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu	41
Tablo 4.3.	Trombosit düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu	42
Tablo 4.4.	Serum MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu	43
Tablo 4.5.	İntestinal Doku MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu.....	44
Tablo 4.6.	Karaciğer Doku MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu.....	45
Tablo 4.7.	Serum GSH-Px düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu	46
Tablo 4.8.	İntestinal GSH-Px düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu	47
Tablo 4.9.	Karaciğer Doku GSH-Px düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu.....	48
Tablo 4.10.	Serum SOD düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu.....	49
Tablo 4.11.	İntestinal Doku SOD düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu	50
Tablo 4.12.	Karaciğer Doku MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu.....	51
Tablo 4.13.	İnce barsak dokusundaki histopatolojik değişikliklerin Chui sınıflamasına göre dağılımı.....	52
Tablo 4.14.	Karaciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler	54

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1.	Ganoderma Lucidum (Reishi Mantarı)	29
Resim 3.1.	Ratın orogastrik gavaj yardımı ile beslenmesi	33
Resim 3.2.	Ratın operasyon saha temizliği	34
Resim 3.3.	Ratların operasyon için steril örtümü	34
Resim 3.4.	Süperior mezenterik arter klemplenmesi.....	35
Resim 4.1.	Normal villus yapısı gösteren ince barsak dokusu (Chui Evre 0) (hematoksilin-eozin boyası, x100)	52
Resim 4.2.	Subepitelyal ödem ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılma (ok) gösteren ince barsak mukozası, (Chui grade 1), (hematoksilin-eozin boyası, x200)	53
Resim 4.3.	Villus uç kısmında epitel hücrelerinde dökülme ve nekroz, (Chui Evre 2) (hematoksilin-eozin boyası, x100)	53
Resim 4.4.	Yoğun sinüzoidal dilatasyon ve hafif konjesyon gösteren, portal inflamasyon içermeyen karaciğer örneği, (hematoksilin-eozin boyası, x100).....	55
Resim 4.5.	Hafif sinüzoidal dilatasyon, konjesyon ve portal inflmasyon içeren karaciğer dokusu, (hematoksilin-eozin boyası, x200).....	55
Resim 4.6.	Yoğun portal inflamasyon içeren karaciğer örneği, (hematoksilin- eozin boyası, x100)	56
Resim 4.7.	Vakuoler değişiklik içeren karaciğer dokusu, (hematoksilin-eozin boyası, x400)	56

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1.	Grupların lökosit düzeyleri.....	40
Grafik 4.2.	Grupların hemoglobin düzeyleri	41
Grafik 4.3.	Grupların trombosit düzeyleri	42
Grafik 4.4.	Serum MDA düzeyleri	43
Grafik 4.5.	İntestinam Doku MDA düzeyleri	44
Grafik 4.6.	Karaciğer Doku MDA düzeyleri	45
Grafik 4.7.	Serum GSH-Px düzeyleri	46
Grafik 4.8.	İntestinal Doku GSH-Px düzeyleri.....	47
Grafik 4.9.	Karaciğer Doku GSH-Px düzeyleri.....	48
Grafik 4.10.	Serum SOD düzeyleri.....	49
Grafik 4.11.	İntestinal Doku SOD düzeyleri	50
Grafik 4.12.	Karaciğer Doku SOD düzeyleri	51

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, bir organın veya dokunun kan akımındaki yetersizliğe bağlı oluşan geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz olabilen hücre veya doku hasarıdır (1). Bir dokunun iskekiye maruz kalma süresi, değişik derecelerde doku harabiyetine neden olabilir. İskemik bir alanda kan akımının yeniden sağlanmasına ise reperfüzyon denir. Reperfüzyon, iskeminin neden olduğu doku hasarından daha şiddetli doku hasarlarına yol açabilen bir süreci tetikleyebilmektedir.

İntestinal iskekiye reperfüzyon hasarı dediğimiz tablo klinikte; hipovolemik şok, abdominal aortayla ilişkili cerrahi girişimler, ince barsak transplantasyonu ve strangüle inguinal herni gibi nedenlerle ortaya çıkabilmektedir.

Günümüzde intestinal iskekiye ilgili terminoloji konusunda tartışmalar devam etmektedir. Bazı araştırmacılar intestinal iskekiye damarın tıkanma mekanizmasına göre sınıflandırırken, diğer bir grup araştırmacıda olayın patogenezi esası olarak bir sınıflandırma yapmayı tercih etmişlerdir. Diğer bir grup ise olayın akut yada kronik oluşuna göre sınıflandırmışlardır (2).

Çeşitli vasküler hastalıklar bu duruma neden olabilir. Bu noktada özellikle akut mezenter iskekiye ön plana çıkmaktadır. Süperior mezenterik arter (SMA), ince barsakların beslenmesini sağlayan ana vasküler yapıdır. Akut mezenter iskekiye (AMI); SMA'nın herhangi bir nedenle bir kısmının ya da tamamının tıkanmasına bağlı, dokuları yeterince besleyememesi neticesinde ortaya çıkan bir durumdur. AMI %50-80 oranında mortaliteye neden olan vasküler ve intestinal bir acildir. İnsidansının giderek arttığı bildirilmektedir (3). AMI tüm gastrointestinal sistem acillerinin yaklaşık %1-2'sini oluşturmaktadır (2). Erken teşhis ve zamanında müdahale mortalite açısından önem arz etmektedir. Prognozon kötü olmasının en önemli nedenlerinden birisi tanının geç konuluyor olması, bir diğeri ise eşlik eden hastalıkların çok olmasıdır.

İnce barsaklar iskekiye son derece duyarlıdır. Hasarlanmış olan intestinal mukoza mikroorganizmalara karşı bariyer görevini yapamaz ve endojen mikroorganizmalar ekstra intestinal alana transloke olurlar. Bu translokasyon, endotoksemi, akut respiratuar distress sendromu, akut hepatik hasar ve çoklu organ yemeziğini tetikleyebilir (4).

İskeminin ardından reperfüzyonun ortaya çıkması durumunda daha ciddi neticelere neden olabilecek hücresel toksik olaylar zinciri tetiklenebilir. Reperfüzyon hasarında iki temel mekanizmadan bahsedilebilir. Bunlardan birincisi serbest oksijen

radikalleri (SOR)'nin ortaya çıkmasıdır. Bir diğeri ise fosfolipaz A2'nin aktive olarak membranlardaki yağ asidlerini parçalamasıdır (5,6).

Reperfüzyon hasarında; iskemik dokuda biriken trombositler, nötrofiller, tromboksan A2 ve lökotrienler, aktive olan kompleman sistemi, membran atak kompleksi, akut faz reaktanları ve sitokinlerde etkilidir. Açığa çıkan serbes oksijen radikalleri sayesinde hasar oluşur. N-asetilsistein, selenyum, vitamin E ve vitamin C, süperoksitdismutaz (SOD), glutatyonperoksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve melatonin gibi antioksidanların ve serbest radikal tutucuların varlığında doku hasarının azaldığı gösterilmiştir (2).

Ganoderma Lucidum (GL) başta Çin, Japon ve Kore kültürü olmak üzere birçok coğrafyada asırlarca kullanılmış bir mantar türüdür. Antioxidan, anti-inflamatuar, antimicrobial, antiviral, immun modölatör ve antitümoral özellikleri başta olmak üzere birçok etkisinin olduğu bildirilmiştir (2).

Bu çalışmamızda; antioxidan, anti-inflamatuar ve immun modölatör etkilerine ek olarak cerebral, böbrek ve kardiyak I/R hasarlarında olumlu etkileri tespit edilmiş olan GL'nin deneysel intestinal I/R hasarı üzerine etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır.

Bu çalışmada hem biyokimyasal, hem de patolojik değerlendirmeler yapıldı. Biyokimyasal olarak I/R hasarının belirlenmesinde, lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehit (MDA), antioksidan mekanizmanın belirleyicisi olarak süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerine ek olarak hemoglobin, trombosit ve lökosit değerlerine bakıldı. Patolojik olarak ise ince barsak ve karaciğerde ortaya çıkan değişiklikler incelendi.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

İntestinal iskemi ile mezenterik vasküler oklüzyon ilişkisi ilk kez 15. yüzyılda ortaya atılmıştır. İntestinal infarkt nedeni ile yapılan ilk başarılı operasyon 1895 yılında Eliot ve ekibi tarafınca gerçekleştirilmiştir. 1901 yılında Schnitzler kronik mezenterik tıkanıklığın yemek sonrasında abdominal ağrıya neden olduğunu tespit etmiştir. Dunphy 1936 yılında kilo kaybı ve karın ağrısı şikâyetine neden olan bir hastalık sonucu ölen bir hastanın otopsisinde trunkus çölyakusu tıkayan trombüse bağlı kronik mezenter iskemi tanımlamıştır. Günümüzde tanı ve tedavi yöntemlerinde ilerleme kaydedilmiş olup araştırmalar devam etmektedir(7).

2.2. ANATOMİ

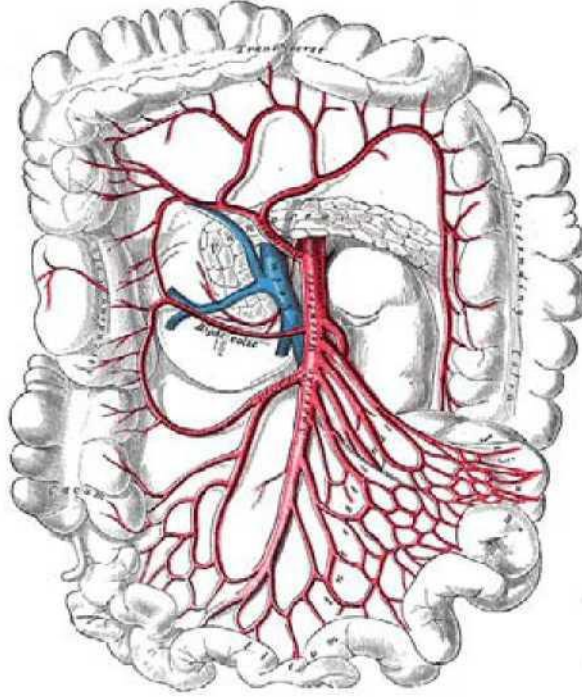
2.2.1. *Turunkus Çölyakus Anatomisi*

Gastrointestinal sistem, abdominal aortanın üç visseral arteri tarafından beslenir. Turunkus çölyakus foreguttan köken alan karaciğer, safra kesesi, pankreas, dalak, mide ve duodenumun ikinci parçasına kadar olan yapıları beslemektedir. Hiatus aortanın aşağısında abdominal aortanın ön yüzünden T12 vertebra hizasından çıkar. Kısa bir seyrin ardından üç dala ayrılır.

- A. gastrika sinistra
- A. hepatica komunis
 - A. gastroduodenalis
 - A. hepatica propria
 - A. gastrika dekstra
- A. lienalistir

Ana hepatic arter karaciğere doğru gider. Gastroduodenal arter dalını verdikten sonra sağ ve sol hepatic arterlere ayrılır. Gastroduodenal arter pankreasın boyun kısmında ve duodenum arasında ilerler. İlk ana dalı olan pankreatikoduodenalis süperiyor posteriyor, ardından terminal dalları olan pankreatikoduodenalis süperiyor anteriyor ve sağ gastroepiploik arter dallarını verir. Bunlar vasküler yapılar SMA'nın dalı olan pankreatikoduodenalis inferiyor ile yoğun bağlantılar yaparlar (8).

- d) R. ilealis
- e) R. colicus
- 4- A. Colicadextra
- 5- A. Colicamedia



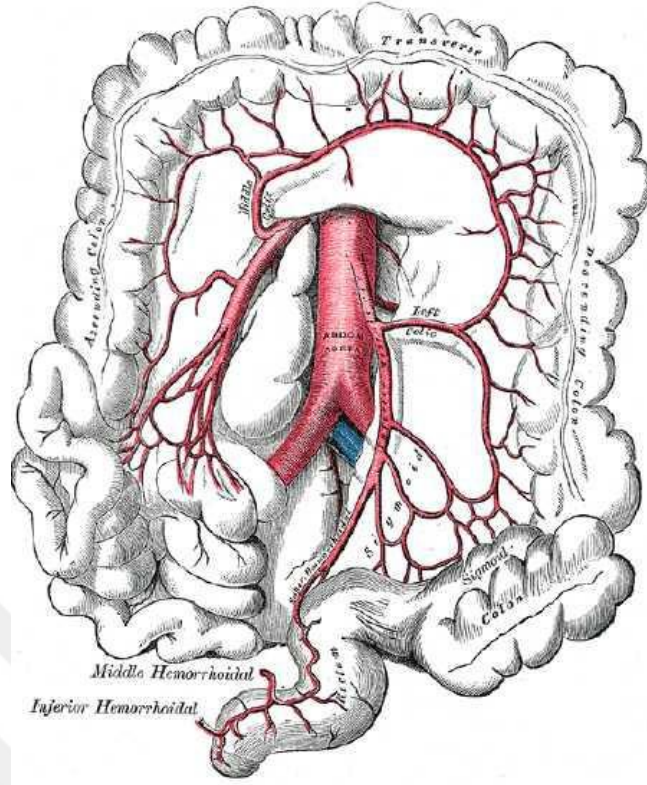
Şekil 2. Superior Mesenterik Arter

2.2.3. İnferior Mesenterik Arter Anatomisi

İnferiyor mezenterik arter (İMA) hindguttan köken alan transvers kolonun 1/3 distali, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumun ampulla rektiye kadar olan kısmını beslemektedir. Aortanın sol anterolateralinden L3-4 düzeyinden çıkar.

Dalları

- A. kolika sinistra
- A. Sigmoidalis
- A. rektalis süperiyor (10).



Şekil 3. İnferior Mesenterik Arter

2.2.4. İnce Barsak Anatomisi

İnce barsaklar pilordan çekuma kadar uzanan gastrointestinal sistem parçasıdır. Duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölümden oluşur.

Duodenum, pilordan treitz bağına kadar uzanan ince barsakların ilk, en geniş ve en kısa bölümüdür. Yaklaşık 25-30 cm boyutundadır. Mezenteri yoktur. Pankreas başını C şeklinde sarar. Pars süperior hariç sekonder retroperitonealdir. Dört parçası vardır.

İlk kısım Pars süperiordur. Yaklaşık 5cm uzunluğundadır. Pilordan başlar sağa-posteriora doğru uzanır ve safra kesesinin boyun hizasında sonlanır. Proksimal 2-3cmlik kısmı daha geniştir ve buraya bulbus duodeni denilir.

İkinci kısım pars descendendir. Ortalama 8cm uzunluğundadır, safra kesesinin boynu hizasından başlar. Pilordan itibaren yaklaşık 10cm'de koledok ve pankreatik kanalın açıldığı papilla duodeni major (Ampulla vateri) bulunur. Santorini ise 1-3cm proksimaline açılır.

Üçüncü kısım Pars Transversalistir. 12-13cm uzunluğundadır. Vena cava inferiorun önünde, arteria ve vena mesenterica superior ise arkasındadır.

Dördüncü ve son parçası olan Pars Ascenden duodenumun son 2,5-3 cm'lik bölümüdür. Abdominal aortanın önünden başlar ve treitz bağında (ligamentum suspensori duodeni) sonlanır.

Jejunum, treitz ile başlar, ileum ile devam eder, ileum ise ileocaecalvalv ile sonlanır. Jejunum ve ileum'un toplam uzunluğu altı-yedi metredir. Bu uzunluğun beşte ikisi jejunum, beşte üçü ise ileumdur. İnce barsakların tümü SMA tarafından beslenirken, duodenum çölyak arterden de dallar alır.

2.3.TANIMLAR

İskemi: Herhangi bir nedene bağlı dokuya giden kan akımının azalması neticesinde dokunun oksijenden yoksun kalmasına iskemi denir. Bir dokuya giden kan akımının azalması, o dokudaki hücrelerin işlevlerinin bozulması ile başlayan ve hücre ölümüne kadar gidebilen kimyasal olaylar zincirine neden olmaktadır. Hücresel işlevlerin gerçekleşebilmesi için gerekli olan temel molekül oksijendir. Hücre işlevi için gerekli olan yüksek enerjili fosfat bağları, aerobik metabolizma ile sağlanmaktadır. Oksijen yetersizliği durumunda ise bu işlevlerin devamlılığı için anaerobik metabolizma devreye girer. Anaerobik metabolizma laktik asit ve toksik metabolitbirikimine neden olur. Ayrıca asidoz, ortaya çıkan normal enzim kinetiğini değiştirmekte ve yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımını azalmaktadır. Bu durumda ise hücreler kendi devamlılığını sağlayabilmek için gerekli olan enerjiden yoksun kalmaktadır (11,12).

Reperfüzyon: İskemiye neden olan etkenin ortadan kalkması sonucu dokuya kan akımının yeniden düzenlenmesi reperfüzyon olarak isimlendirilir. Reperfüzyonun, iskemik dokuda enerji gereksiniminin sağlanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması gibi iki olumlu etkisi vardır. Reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Ancak, oksijenlenmiş kanın iskemik dokuya dönüşü, o dokuda daha fazla hasara yol açan bir reaksiyon sürecini başlatabilmektedir.

İskemi-Reperfüzyon Hasarı: Travma, beyin ya da miyokart enfarktüsü, hipovolemi gibi beklenmeyen durumlarda ya da organ transplantasyonu ve benzeri cerrahi prosedürlerde vasküler sisteme klemp uygulanması veya vasküler sistemdeki meydana gelen basının ortadan kaldırılması gibi işlemlerle iskemi-reperfüzyon hasarı meydana gelebilmektedir. Hasar yalnızca doğrudan etkilenen organ ile sınırlı kalmayıp, böbrek, karaciğer ve akciğer gibi uzak organlarda da hasar oluşumuna neden olabilmektedir. I/R

hasarının klinik yansımaları yerel, uzak ve sistemik düzeyde olmak üzere üç grupta incelenmektedir. Yerel düzeydeki etkiler hemen hemen tüm organlarda ortak bir etiyolojiden kaynaklanmaktadır. Ortaya çıkan hücresel değişiklikler ise organa özgüdür.

İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarı: İntestinal sistem abdominal aortadan çıkan turunkus çöliakus, süperior mezenterik arter ve inferior mezenterik arter isimli üç visseral damar ve dalları tarafından beslenmektedir. Bu vasküler yapılarda herhangi bir nedene bağlı ortaya çıkan dolaşım bozukluğu sonucu intestinal iskemi ortaya çıkar. Dolaşım bozukluğuna neden olan etkenin ortadan kalkması ya da farklı bir yolla dokunun ihtiyacını karşılayacak kan dolaşımının sağlanması durumunda ise reperfüzyon meydana gelir. Reperfüzyona bağlı daha ileri doku hasarları ortaya çıkabilmektedir. Bu vasküler yapılardan barsak iskemisine en çok yol açabilen arter ise SMA'dır. Bu nedenle intestinal iskemi denildiğinde SMA'nın etkilendiği hadiseler akla gelmektedir.

Bakteriyel Translokasyon: İntestinal iskemi sonrasında, barsak mukozasında dökülmeler ortaya çıkabilir. Bu dökülme mukozanın bariyer görevini kaybetmesine neden olur. Bu nedenle barsak içerisinde bulunan bakteriler batın içerisine yayılır ve enfektif süreci tetikler. Bu olaylar zinciri sonucu bakteriyel translokasyon gerçekleşir.

Multi Organ Disfonksiyon Sendromu (MODS): Kapiller permeabilite artışına bağlı ortaya çıkan sıvı ekstrasvazasyonu ve doku ödemi sistemik düzeyde etki ederek uzak organlarda işlev bozukluğuna neden olabilir. Bu da tam olarak açıklanamayan ve "multi organ disfonksiyon sendromu" olarak adlandırılan durum ile sonuçlanabilir. Klinik olarak multi organ disfonksiyon sendromu, renal yetmezlik, akut respiratuvar yetmezlik ve karaciğer yetmexliği ile kendisini göstermektedir.

2.4. İNSİDANS

Akut mezenterik iskemi (AMI)%50-80 oranında mortaliteye neden olan bir gastrointestinal sistem acilidir. Her 1000 hastaneye yatırılan hastadan birinde görülmekle beraber (13), tüm gastrointestinal acillerin yaklaşık %1-2'sini oluşturmaktadır (2). Acil cerrahi kabullerin ise %0,09-0,2'sini oluşturduğu bildirilmiştir. AMI İnsidansının giderek arttığı görülmektedir (3). Yaşlı nüfustaki yükseliş bu artışın sebeplerinin başında gelmektedir.

2.5. EPİDEMİYOLOJİ

Mezenterik vasküler oklüziv hastalıklar çok sık görülmemekle beraber hastaların %90'ı 60 yaş üzerindedir. Kadınlarda erkeklere kıyasla 3 kat daha fazla görülmektedir. Mezenter iskemisinin en yaygın sebebi aterosklerotik vasküler hastalıktır. Mezenter iskemisi nedeni ile yapılan otopsilerin %35 ile %70 arasında splanknik ateroskleroz tespit edilmiştir.

2.6. ETYOLOJİ

Yapılan çalışmalarda intestinal iskemisinin sınıflandırılması konusundaki görüş farklılığı devam etmektedir. Amerikan Gastroenteroloji Birliğinin yapmış olduğu sınıflamada, intestinal iskemisi; akut mezenter iskemisi, kronik mezenter iskemisi ve iskemik kolit şeklinde 3 ana grupta sınıflandırılmıştır. İnce barsak ve kolonun proksimalinin akut iskemisi, mezenter arter tıkanıklığı veya embolisi, mezenterik venin tıkanıklığı ve nonoklüzif nedenlere bağlı ortaya çıkabilir. Kronik mezenter iskemisi ise daha az sıklıkta görülmektedir. Hastaların büyük çoğunluğu sigara kullanmaktadır. Hastaların 1/3'ünden fazlasında hipertansiyon, koroner arter hastalığı veya serebrovasküler hastalık birlikteliği vardır. (14-K) Üçüncü ana grup olan iskemik kolit ise SMA ve İMA'nın kolonu besleyen dallarında ortaya çıkan tıkanıklık sonucu meydana gelmektedir.

Obstrüksiyon mekanizmasına göre barsak iskemisinin sınıflandırılması:

1. Oklüzif intestinal iskemisi intestinal ischemia

a. Arteriyel oklüzyon (tromboz ve emboli)

Akut iskemisi

Kronik iskemisi

b. İskemik kolit

c. Venöz oklüzyon

2. Nonoklüzif intestinal iskemisi

2000 Amerikan Gastroenteroloji Birliğince önerilen intestinal iskemisinin sınıflandırılması.

1. Akut mesenterik iskemisi

a. Major arter oklüzyonu

b. Minor arter oklüzyonu

c. Major emboli

d. Mesenterik venöz trombüs

- e. Splanchnic vazokonstriksiyon (nonokusif mezenterik iskemi)
- 2. Kronik mezenterik iskemi ve intestinal anjina
- 3. İskemik kolit (2)

2.6.1. Akut Mezenterik Arter Embolisi

Tüm AMI vakalarının yaklaşık % 50'si akut mezenterik emboliye bağlıdır (15,16). Mezenter arter embolisi, atrial fibrilasyon gibi kardiyak ritim bozuklukları, kötü ejeksiyon fraksiyonu ile ilişkili global miyokardiyal disfonksiyona sahip sol ventrikül veya endokardit nedenli kalp kapakçıkları ile ilişkili olarak sol atriyumdan kaynaklanabilir. Emboli bazen de aterosklerotik aortadan kaynaklanabilmektedir. Kardioversiyon, geçirilmiş miyokard enfaktüsü ve geçirilmiş emboli hikâyesi predispozandır. Emboli genellikle normal anatomik daralma noktalarında oluşur. SMA geniş çapı ve düşük hareket açısı nedeniyle özellikle savunmasızdır. Embolinin yerleşim yeri genelde SMA'nın kökünden 3-10 cm uzakta bulunur. Yerleşimine bağlı olarak jejunum ve kolonun proksimali sıklıkla korunur. Emboliye bağlı SMA tıkanıklığı olan hastaların % 20'sinden fazlasında eşzamanlı olarak dalak ve böbrek gibi organlarda da emboli görülmektedir (3).

2.6.2. Akut Mezenterik Arter Trombozu

AMI'nın yaklaşık % 25'i SMA'nın trombozuna bağlı ortaya çıkmaktadır. Genellikle stenoza yol açan neden önceden var olan kronik aterosklerotik hastalıktır. İleri yaş, düşük kan akımı, diyabet, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, konjestif kalp yetmezliği, hiperkoagülabilité, vaskülitler, aort yada mezenterik arter anevrizması ve travma gibi nedenler predispozandır. Bu hastaların birçoğu postprandiya ağrı, kilo kaybı veya "gıda korkusu" gibi kronik mezenterik iskemi ile uyumlu bir geçmişe sahiptir. Bu nedenle AMI'nin anemnezi önemlidir. SMA'da altta yatan bir plak mevcutsa yıllar boyunca ilerleyerek kritik bir stenoza neden olabilir. Ancak bu kronik hadise kollateral vasküler yapıların oluşumunu tetikler. Semptomatik SMA trombozuna sıklıkla çölyak arter oklüzyonu eşlik eder (17). SMA trombozu, vaskülit, mezenterik diseksiyon ve mikotik anevrizma nedeniyle de ortaya çıkabilir.

2.6.3. Non Okluziv Mezenter İskemi

AMI vakalarının yaklaşık% 20'sinde görülür ve genellikle düşük splanknik kan akımı ile ilişkili SMA vazokonstriksiyonunun bir sonucudur (18). Kardiyojenik şok, hipovolemik şok, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner ödem, aort yetmezliği, majör kardiyak veya abdominal cerrahi, diyaliz, hipovolemi ve vazokonstriktif ajanların kullanımı non okluziv mezenter iskemi için predispozandır.

2.6.4. Mezenterik Venöz Tromboz

Mesenterik venöz tromboz (MVT), AMI vakalarının %10'dan azını oluşturur. Trombozun sebebinin, Virchow üçlüsü, yani durgun kan akışı, hiperkoagülabilitate ve vasküler inflamasyon olduğu düşünülse de yaklaşık %20'si idiyopatiktir. Hiperkoagülabilitate, faktör V Leiden mutasyonu, protein S eksikliği, protein C eksikliği, antitrombin eksikliği ve antifosfolipid sendrom gibi kalıtsal hastalıklara bağlı olabilir. Trombofili, maligniteler, hematolojik bozukluklar ve oral kontraseptiflerden dolayı da oluşabilir (19). Portal hipertansiyon, pankreatit, inflamatuvar barsak hastalığı, sepsis ve travma gibi nedenlerle barsaklar ödemlenir. Venöz tromboza sekonder vasküler direnç artar, arteriyel kan akışında azalma meydana gelir ve barsak iskemisi oluşur.

2.6.5. Kronik Mezenter İskemi

Postprandial karın ağrısı ile klinik veren kronik mezenter iskemi, mezenterik stenoza sekonder barsaklar için yeterli kan akışının sağlanamaması neticesinde ortaya çıkar. Kliniği tipik olarak yemeklerin ardından 1-2 saat süren ağrıdan, AMI kliniğine kadar ilerleyen geniş bir yelpazeye sahiptir.

2.6.6. İskemik Kolit

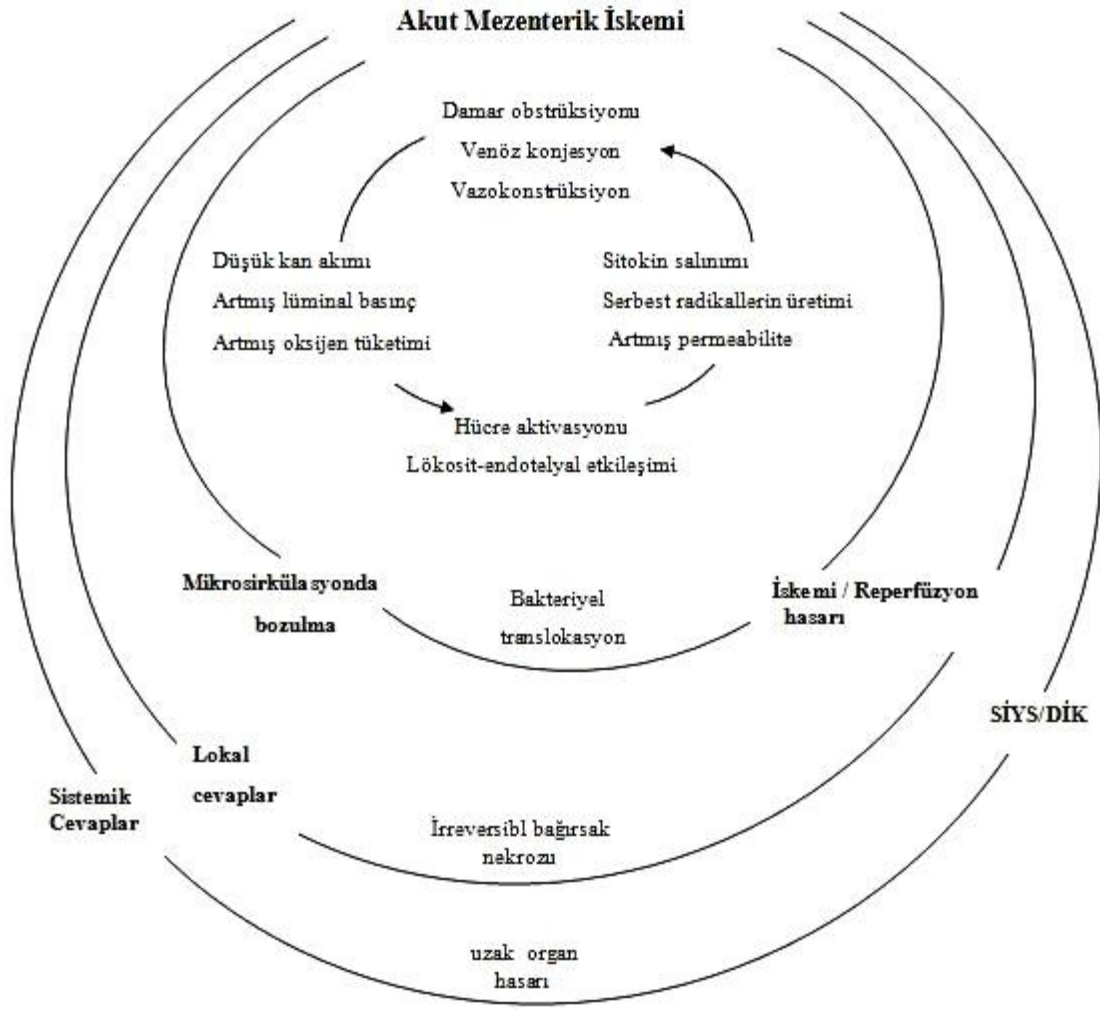
Kolonun beslenmesinde SMA, İMA ve internal iliak arterin dalları görev yapmaktadır. Kolonu besleyen bu damarlarda oryata çıkan dolaşım yetersizliği nedeni ile iskemik kolit oluşur. Tüm gastrointestinal iskemilerin %50'sinde iskemik kolit görülür. İskemik kolitin okluziv ve nonokluziv nedenleri vardır. Emboli, trombüs, arterit ve aterosklerotik plak gibi nedenler okluziv iskemi nedenlerindendir. Hiperkoagülabilitate, portal hipertansiyon ve pankreatit gibi nedenler venöz dönüşü bozarak iskekiye neden olabilirler.

Volvulus, adezyonlar ve kolonda distansiyon gibi nedenler kolon kanlanmasını dışardan bası ile bozabilir. Aort cerrahisi ve intraabdominal vasküler cerrahiler intestinal isemiye neden olan diğer nedenlerdendir.

2.7. FİZYOPATOLOJİ

SMA, ince barsakların beslenmesini sağlayan primer vasküler yapıdır. Süperior ve inferior pankreatikoduodenal arterler ve inferior mezenterik arterin kollateralleride ince barsağın beslenmesinde etkisi vardır. Barsaklara arterler yoluyla gelen kan portal ven yoluyla karaciğere taşınır. Portal ven karaciğeri besleyen ana vasküler yapıdır. İntestinal dolaşım, otonomik lokal mekanizmalar kadar sistemik kan basıncı ile de kontrol edilmektedir. Splanchnik sirkülasyon, beslenme durumuna bağlı olarak kardiyak outputun %15-35'ini oluşturur. Gelen kan akımının %50'ye kadar azalmasını ince barsaklar otoregüle edebilmektedir (3). Deneysel olarak, mezenterik iskeminin, hastanın ortalama arter basıncı <45 mmHg olana kadar oluşmadığı gösterilmiştir (20). Dolaşımdaki eksojen ve endojen katekolaminler ihtiyaç halinde salınarak, mezenterik postkapiller venüllerin vazokonstriksiyonunu indükleyerek splanchnik dolaşımı düzenlerler. Normal intestinal dolaşım, ciddi bir hasar oluşmadığı sürece, düşük kan akımı ve perfüzyon basıncıyla tekrar sağlanabilir. Çünkü açlık durumunda mezenterik kapillerlerin sadece %20-25'i açıktır. Yapılan bir çalışma göstermiştir ki; ince barsaklar, mezenterik kan akışındaki %75'lik bir azalmayı, 12 saate kadar tolere edebilmektedir (21).

Otonom faktörler alfa (vazokonstriksiyon) ve beta (vazodilatasyon) adrenerejik uyarıların zıt etkileriyle işlev görür. Renin, anjiyotensin, vazopressin gibi vazokonstriksiyonu uyaran mekanizmalar nonoklüsiv mezenterik iskemisini tetikleyerek intestinal doku nekrozuna neden olabilmektedir. Orta dereceli iskemiye, dokunun oksijene olan afinitesi artar ve bu şekilde yetersiz oksijen teminini kompanse edebilir. Orta derecede iskemisinde ise, intestinal enerji tüketiminde artış olması nedeni ile nekroz gelişebilir.



Şekil 4. Akut Mezenter İskemi Mekanizması

AMI'nin klinik özelliği, Şekil 4'te görüldüğü gibi lökosit, monosit, trombosit ve endotel gibi hücrelerin aktivasyonunun ardından mikrosirkülasyonda bozulma meydana gelmesidir. Mikrosirkülasyon hasarı lokal olarak irreversibl intestinal nekroz, disemine intravaskülerkoagülopati (DİK) veya sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna (SİYS) yol açar. Aktive nötrofiller, endotel, monositler ve trombositler iskemik barsakta tümör nekrozitan faktör (TNF), interlökin (IL), trombosit aktive eden faktör ve lökotrienler gibi inflamatuvar sitokinleri üretirler. E-selektin gibi endotelial adezyon moleküllerinin üretimi ise reperfüze barsakta artar. Eşlik eden DİK, intestinal mikrosirkülasyonu bozar. Endotel hücrelerinin hasarı sonucu NO üretimi artar ve vazokonstriksiyona neden olur ve iskemiye derinleştirir. Reperfüzyonun ortaya çıkması halinde ise dokularda serbest oksijen radikallerinin üretimi için gereken intraselüler mekanizmalar aktive olur. İskemi sırasında, iskemik dokuda predominant olarak bulunan ksantin dehidrogenaz, reperfüzyon olması durumunda ksantin oksidaza

dönüşür. Bu enzim aracılığıyla reperfüze barsakta aktive nötrofiller; süperoksid (O_2^-), hidroksil (OH^-) ve hidrojen peroksid (H_2O_2) gibi çok miktarda serbest oksijen radikali ortaya çıkarırlar. Sonuçta kan akımının düzelmesi ve oksijen sağlanması ile beraber, çok miktarda serbest oksijen radikali oluşmuş olur. Bu radikaller hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak hücre hasarı oluştururlar. SOR ve nötrofil enzimleri vasküler endotele doğrudan ve dolaylı hasar vererek çevre dokulara ve uzak organlara ciddi hasara yol açabilmektedirler. Reperfüzyon, kapiller permeabilityyi artırarak interstisyel ödem ve lümenal sıvı birikimine yol açar. Hasara uğramış mikrosirkülasyon, suya olduğu gibi bakterilere karşı da direnci azaltır ve bakteriyel translokasyon, endotoksemi veya bakteriyemi gibi sonuçlar meydana getirebilir. Bu bakteriyel translokasyon, SIRS, ARDS ve kardiyak disfonksiyon gelişiminde önemli rol oynar. Sepsisle görülebilen bu tablolar MODS ile devam edebilir ve kötü prognozun göstergesidir (2).

İskemi-reperfüzyon (I/R) hasarının fizyopatolojisinde çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karışık, hücreyel ve humoral olaylar zinciridir. Öne çıkan başlıca dört faktör dikkati çekmektedir.

- 1-Serbest radikalleri
- 2-Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
- 3-Kompleman sistemi
- 4-Endotel hücreleri

2.7.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron taşıyan moleküllerdir. Ancak Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metalleri de eşlenmemişelektronlara sahip olmalarına rağmen serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli role sahiptirler. Eşlenmemiş elektronlar nedeni ile kararsız olan moleküller bir başka molekülle eşleşerek kararlı hale gelme eğilimindedirler. Bu sebeple çok reaktif moleküllerdir ve yarılama ömürleri çok kısadır. Bu reaktif maddeler, diğer moleküllerle ve atomlarla elektron alışverişine girerek onları da kararsız hale getirirler. Yüksek aktiviteleri nedeniyle serbest radikaller organizmada yüksek düzeyde tahrip edici güce sahiptir. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında denge olduğu sürece, organizma bundan etkilenmemektedir. Bu denge bozulduğunda, oksidanların arttığı veya antioksidanların azaldığı durumlarda organizma oksidatif strese maruz kalır. Buna

bağlı hücrel metabolizma işleyişi bozulur, oluşan moleküler yıkım, hücrel yıkımı tetikler ve beyin, kalp, karaciğer, böbrek, mide, akciğer gibi yaşamsal öneme sahip organlarda doku hasarı ile neticelenebilir (22). Serbest radikal oluşturan kaynaklar, endojen ve ekzojen olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir.

2.7.1.1. Endojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Organizmada fizyolojik olaylar esnasında serbest radikaller ve reaktif oksijen çeşitleri ortaya çıkmaktadır. Bunlar antimikrobiyal savunma sistemi, sinyal iletimi gibi mekanizmalardan aldıkları sonradan antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Hücrenin tüm unsurları serbest radikal oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Özellikle mitokondriyal elektron transport sistemi endojen kaynaklı radikallerin oluştuğu en önemli yerdir. Elektron transport sistemlerinin işlevi sırasında sadece oksijen türevi serbest radikaller meydana gelirken, ksantoksinlerin metabolizması sırasında yüksek toksisitesi olan karbon merkezli radikaller de meydana gelebilir. Nükleer membran kaynaklı serbest radikaller özellikle Deoksiribonükleik Asit (DNA) hasarına neden olurlar.

2.7.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Serbest radikal oluşumunun ekzojen kaynakları arasında sigara, alkol, ilaçlar, pestisitler, petrokimya ürünleri, stres, güneş ışığı, X-ışınları, yiyeceklerde bulunan bazı ürünler en önemlilerindendir. Ağır egzersiz de oksijen kullanımındaki artışla beraber radikal oluşumunu artırmaktadır (23).

2.7.1.3. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) Ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Biyolojik sistemde en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikalleri; singlet oksijen radikali, hidrojen peroksit, süperoksit radikali, hipoklorik asit ve hidroksil radikalidir. Bu radikaller oksijenli solunum metabolizması esnasında meydana gelirler. Bu radikallerin yarılanma ömürleri birkaç mili saniye ile saatler arasında değişmektedir. Moleküler oksijenin toksik etkisi yoktur. Aerobik hücre metabolizması sonucunda moleküler oksijen yapıları serbest oksijen radikallerine dönüşür. Enzimatik reaksiyonlar da ROS oluşmasına sebep olmaktadır (24).

Süperoksit Radikalleri (O_2^-): Hücrelerin aerobik mekanizmaların çoğunda, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle ortaya çıkan süperoksit anyonu (O_2^-) oluşur.

Süperoksit anyonu, nitrik oksitle reaksiyona girerek azot dioksit (NO_2), hidroksil radikali (OH^-), nitronyum iyonu (NO^{+2}) gibi toksik ürünlere dönüşebilen peroksinitriti (ONOO^-) meydana getirir (25). Süperoksit radikalleri mitokondriyal solunum sırasında oluşur. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin %2'si süperoksit haline indirgenir. Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali diğer moleküllerin elektronlarını çekerek enerji gereksinimlerini karşılarlar, hem oksitleyici hem de redükleyici anyonlar olarakta bilinirler. Süperoksit radikali düşük pH'da protonlanarak perhidroksil (HO_2^-) radikalini oluşturur. Süperoksit ve perhidroksil radikali süperoksit dismutaz (SOD) enzimi sayesinde biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda O_2 ve H_2O_2 oluşur. Nötrofillerde süperoksit radikali, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz enzimi aracılığı ile oluşturulur. Önce fagosit uyarılır ve sonra NADPH oksidaz enzimi aktive olur. Redükte piridin nükleotidlerindeki iki elektron iki molekül oksijene transfer edilir. Böylece iki molekül oksijen oluşur (26).

Hidroksil Radikalleri (OH^-): Hidroksil radikali, biyolojik sistemde bulunan en güçlü serbest radikal olarak bilinir. Hidroksil radikalının en güçlü serbest radikal olmasının nedeni hücre nükleusundaki membran bariyerini kolay geçmesi ve DNA'yı mutajenik olarak etkilemesidir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda hidroksil radikali oluşabilir. Bir hidroksil radikali, çok sayıda yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozarak kollabe olmasına neden olurlar. Hidroperoksitlerden son ürün olarak reaktif ve toksik olan aldehitler meydana gelebilir. Bunlardan en önemlilerden biri MDA'dır. Hidroksil radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerinde etkilidir. Normalde OH^- radikali oluşması çok zordur. Çünkü OH^- oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ve oldukça zordur.

OH^- radikalının meydana gelebilmesi için O_2^- ve H_2O_2 gerekmektedir. Bunlarda SOD ve Glutasyon Peroksidaz (GSH Px) enzim sistemleri sayesinde uzaklaştırılır. Bu nedenle fizyolojik şartlarda çok miktarda OH^- oluşamaz. Bu enzimler intrasellüler major antioksidanlardır(27).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2): Oksidan hasar oluşumu ile beraber artan süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini hidrojen peroksite (H_2O_2) indirger ve buna dismutasyon reaksiyonu adı verilir. Dismutasyon reaksiyon hızı asidik pH değerlerinde artar. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına serbest oksijen radikali

değildir. Bazı enzimler çiftli (Glukoz oksidaz) ya da tekli (NADPH oksidaz) elektron eklenmesini katalizleyerek O_2^- veya H_2O_2 oluşmasını sağlarlar.

2.7.1.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Vücutta serbest radikaller ile antioksidan mekanizmalar arasında bir denge vardır. Bu dengenin serbest radikaller lehine bozulması durumunda etkileşime geçtiği hücrede işlev bozukluğuna neden olur. Membran lipidleri, DNA ve proteinler serbest radikalere en duyarlı yapılardır. Mitokondrilerde aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozarak hücrelerin potasyum kaybına ve trombosit agregasyonunda artışa neden olabilir (28).

Membran Lipitleri Üzerine Etkileri: Biyomoleküllerin tamamı serbest radikal saldırısına maruz kalırlar, fakat bunların içinde lipitler en duyarlılarındandır. Tüm biyolojik membranların bileşiminde, çoklu doymamış yağ asitleri, amfipatik lipitler ve membran proteinleri bulunmaktadır. Lipit peroksidasyonu, serbest oksijen radikallerinin başlattığı ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu hedefleyen kimyasal olaylar zinciri olarak tanımlanmaktadır. Lipit peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilerek sonlanır.

Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşsüzdür. Lipid peroksidasyonu membrana yakın bölgelerde ortaya çıkan OH^- radikalinin membran fosfolipitlerinin yağ asidi yan zincirleri ile tepkimeye girmesi sonucu oluşur. Hidroksil radikali; DNA, protein ve karbonhidratlarda bulunan her canlı molekül ile reaksiyona girerek hasar oluşturur. Membran lipidlerinden H^+ çıkartarak lipid peroksidasyonunu başlatır. Hidroksil radikalinin başlattığı peroksidasyon, zincirleme reaksiyon şeklinde devam eder. Bu reaksiyon lipid zinciri bitinceye kadar ya da reaksiyon bir antioksidan tarafından durduruluncaya kadar devam eder (29,30).

Yüksek enerjili bir elektronu bulunan OH^- gibi radikaller, yağ asidi zincirinden bir hidrojen çeker ve karbon merkezli bir radikal oluşturur. Oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir. Bir dizi reaksiyonun ardından molekül içi çift bağlar değişir. Oluşan değişikliklerin ardından lipit radikali hemen dioksijenle reaksiyona girer ve lipit peroksit radikali oluşur. Lipit peroksit radikalleri, membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek karbon merkezli yeni radikaller oluştururken, kendisinde ortaya çıkan hidrojen parçacığı ile birleşerek lipit hidroperoksite dönüşür. Bu şekilde olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (28).

Lipid peroksidasyonu ya antioksidan sistem yardımı ile sonlandırılır ya da otokatalitik tepkime ile yayılmaya devam eder. Lipid hidroperoksitlerin membranlarda birikmesi sonucu, membran fonksiyonları bozulur ve hücrede kollaps oluşur. Lipid peroksidasyonu neticesinde ortaya çıkan çeşitli aldehitler vardır. Lipid peroksidasyonu, lipid hiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona erer. Bu bileşiklerden sonuncusu malondialdehittir (MDA). MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonu değerlendirilebilir. Malondialdehit miktarı, tiyobarbitürat testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (30). Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması nedeniyle reaksiyonların büyük çoğunluğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Aldehitler ve peroksit radikalleri, membranlardaki reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. Ortaya çıkan hasar neticesinde iyon transportu etkilenir. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de okside olabilir. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir (31).

Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri: Serbest radikallerin proteinlere olan etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine bağlı değişir. Proteinler ile serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklik üçe ayrılır.

- 1) Amino grup asitlerin modifikasyonu,
- 2) Proteinlerin fragmentasyonu,
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır.

Aromatik aminoasitler (fenilalanin, tirozin, triptofan) doymamış yapıda oldukları için oksidatif strese çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler (sistein, sistin) serbest radikal atağına hassas amino asitlerdir. Proteinlerin yapısındaki değişiklikler, antijenik etkideki değişime ve proteolize yatkınlığa yol açabilir.

Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler. Bunula birlikte enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikaller immünglobülin G (IgG), Hem ve albümin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapılarını bozar. Böylelikle fonksiyonlarını yerine getiremezler. Özellikle oksihemoglobin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyona girer ve methemoglobin oluşumuna sebep olur.

Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri: İyonize radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile etkileşimidir. Reaktif

oksijen türleri DNA çift sarmalını bozarak değişime neden olur. Bu da kromozomal mutasyonlar ve sitotoksikite ile sonuçlanır (32). Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da ortaya çıkan bazı modifikasyonları, tek ve çift dal kırıkları şeklinde meydana gelebilir. DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grubu içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. $Fe^{2+/3+}$ ve $Cu^{1+/2+}$ iyonları negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedirler. DNA'ya bağlı metal iyonları ile H_2O_2 'in reaksiyona girmesi sonucu oluşan OH radikali, OH radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılamamaktadır. (33).

DNA'da oksidatif hasar olarak ilk oluşan lezyon dal kırıklarıdır. Dal kırıkları DNA onarımı sırasında nükleaz aktivitesi ile de oluşabilmektedir. Bu nedenle dal kırıklarının oluşması her zaman oksidatif DNA hasarını göstermemektedir. Tek dal kırıkları hasarlı dal onarıcı enzimler tarafından onarılabildiğinden çift dal kırıkları daha fazla önem taşımaktadır. OH radikali purin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirmektedir.

Karbonhidratlar Üzerine Etkileri: Proteinlerin glikolizasyonu, proteinlerin amino grubuna glukozun, bağlanmasıyla başlar. Bir seri kimyasal modifikasyonun ardından daha kararlı bir yapı olan protein-glukoz kompleksi oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda oluşan glikolize proteinler, Cu ve Fe varlığında, O_2 'ye elektron vererek ROS'ların oluşmasına neden olurlar (33). Monosakkaritlerin otooksidasyonu neticesinde H_2O_2 , peroksitler ve okzaldehitler meydana gelir. Okzaldehitler RNA, DNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağ oluşturabilme özelliklerine sahiptirler ve çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli role sahiptirler.

2.7.1.5. Antioksidan Savunma

Antioksidanlar, dokularda bulunan serbest oksijen radikallerinin zararsız hale gelmesini sağlayan maddelerdir. Gerçekleşen bu olaya ise antioksidan savunma denir. Antioksidan maddeler normal kimyasal döngüde ortaya çıkan az miktardaki radikalleri nötralize edebilmektedir. Oksidan moleküllerle mücadelede üzerinde durulacak esas durum belirli düzeyi aşan oksidanları direkt olarak nötralize eden ve inaktif hale getiren antioksidanlardır. İskemi-reperfüzyon ve asbest maruziyeti gibi fagositlerin dokuda aşırı birikmesine neden olabilecek durumlar, oksidan/antioksidan dengesini bozmaktadır. Bu

dengede meydana gelen bozulma sitotoksik radikal etkinliğini arttırı ve hücre zedelenmesine neden olur.

Antioksidanlar işlevi ve yapısına göre üç ana grupta incelenirler.

1) Reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri: katalaz, süperoksitdismutaz, glutatyonperoksidaz, glutatyonredüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz vb.

2) Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler (scavengers): E vitamini (alfa-tokoferol), askorbikasid (C vitamini), indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asid, beta-karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümin.

3) Reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını önleyen ve oluşanın yayılmasını engelleyen sistemler: Ferritin, transferin, laktoferin ve seruloplazmindir (34).

2.7.1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD): Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve güçlü bir serbest oksijen radikalidir. Oksidan hasar oluşumu ile beraber artan süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikalini hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirger. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına serbest oksijen radikali değildir. SOD, anti-oksidatif sistemde ilk harekete geçen enzimdir. Süperoksit anyonunun dismutasyonu yoluyla oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) ise, glutatyonperoksidaz veya katalaz yoluyla inaktive olmaktadır (35).

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px): GSH-Px enzimi, dokuları H_2O_2 ve lipoperoksitlerin oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyan başlıca enzimdir. H_2O_2 ve lipid peroksitlerin parçalanmasını katalize eder; böylelikle membran lipidlerini ve hemoglobini, peroksitlerin oksidasyonuna karşı korur (36). Glutatyon peroksidaz reaksiyon esnasında redükte glutatyonu(GSH) elektron alıcısı olarak kullanır. Oluşan okside glutatyon, NADPH bağımlı glutatyon redüktaz enzimi tarafından rejenere edilir. Glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonlarla, membran lipitleri ve hemoglobinler, peroksitlere bağlı oksidasyona karşı korunur.

Katalaz(CAT): Serbest oksijen radikallerin en yaygınlarından biri olan hidrojen peroksiti metabolize ederek suya dönüştürür ve bu şekilde ortamdan uzaklaştırır.

Glutation-S-Transferaz(GST): Glutasyon -S- transferazlar antioksidan aktivitelere ilave olarak çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Tüm canlı hücrelerde bulunmaktadır. GST'ler üç sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere dört gruba ayrılırlar. Başta araşidonik asit ve linoleik asit hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST'ler selenyum bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar. Bu enzimler katalitik olan ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi çeşitli rolleri vardır. Katalitik olarak yabancı maddeleri glutatyondaki(GSH) sisteine ait sülfidril (SH) grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olabilir. Bu mekanizma, zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda GST'lerin rollerinin olduğunu gösterir.

Myeloperoksidaz (MPO): MPO, nötrofillerin granüllerinde yer alan bir enzimdir. Fagosit edilmiş bakterilerin öldürülmesinde kritik rol oynamaktadır. MPO, H₂O₂ ile birlikte tiyosiyonat iyonların veya halojen iyonlardan (iyodit, bromit, klorit) birinin de beraber bulunduğu ortamda antibakteriyel etkide gösterebilmektedir. H₂O₂ ve diğer halojenlerin miktarındaki artış antibakteriyel etkiyi artırmaktadır.

2.7.1.5.2.Radikalleri Nötralize Eden Antioksidan Maddeler

E Vitamini (Alfa Tokoferol): Yağda çözünen ve zincir kırıcı bir antioksidan olan Alfa tokoferolün en önemli görevi membran lipidlerindeki yağ asitlerini serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerine karşı korumaktır (37).

C Vitamini (Askorbik Asit): C vitamini lipid peroksidasyonunu başlatan serbest radikaller ile etkileşerek lipidleri oksidasyona karşı korur. Askorbik asit aktif olan antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını önler. E vitaminin rejenerasyonunda görev alır düşük dansiteli Lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunun önüne geçer. C vitamini, fagositoz için gereklidir. Bu vitaminin kemotaktik cevabı artırdığı görülmüştür. Askorbik asit antiproteazların oksidan maddelerle inaktive olmasını önler. Fagositoz esnasında açığa çıkan oksidatif parçalanma ürünlerinin zararlı etkilerini engeller.

Albümin: Albümin zayıf olarak demiri, kuvvetli olarak da bakırı bağlar. Albümin, yüzeyinde oluşacak olan OH⁻radikalini temizler. Ayrıca myeloperoksidaz türevi bir radikal olan HOCl'i hızlı bir şekilde temizler (38).

β-Karoten(Provitamin A): β-karoten yağda çözünen bir antioksidandır. Serbest radikallerin hedefleriyle etkileşimini önlerler. Zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek peroksit radikallerinin oluşumunu engeller.

2.7.1.5.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumunu Ve Yayılımını Önleyen Antioksidanlar

Transferin ve Laktoferrin: Demiri bağlar ve demirin lipid peroksidasyonu ile demir katalizli reaksiyonlara katılımını engeller.

Seruloplazmin: Seruloplazmin demir ve bakıra bağımlı lipid peroksidasyonunu engeller. Süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

2.7.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)

Reperfüzyonda mikrovasküler permeabiledaki artışın başlıca sorumlusunun nötrofiller olduğu gösterilmiştir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (43).

- 1) Mikrovasküler oklüzyon,
- 2) SOR salınması,
- 3) Sitotoksik enzim salınması,
- 4) Vasküler permeabilite artışı,
- 5) Sitokin salınmasında artış.

Sitokinlerin Rolü: Sitokinler enfeksiyona karşı ortaya çıkan cevabın düzenlenmesinde etkilidirler. Polipeptid veya glikoprotein yapıdadırlar. Ağırlıkları 20-40 kilodalton arasında değişiklik gösteren moleküllerdir. Yapısal olarak hormona benzeselerde, özel bir dokudan sentezlenmedikleri için hormon olarak kabul edilmemektedirler. Birçok hücre üretilen sitokinler otokrin veya parakrin etki gösterebilirler ve depolanamazlar. İmmün sistemin regülasyonunda ve inflamatuvar hadiselerin düzenlenmesinde önemli role sahiptirler. Kemik iliğinde hematopoetik etki gösterirler. Ateş ve akut faz cevabın ortaya çıkmasına yol açabilirler (39).

Serbest oksijen radikalleri gibi sitokinlerinde intestinal I/R hasarında önemli rol oynayan mediatörlerdir. Bunlardan TNF-α, IL-1 ve IL-6'ne çıkan sitokinlerdir. İnflamasyonda mediatör sitokinlerden TNF-α, nötrofil aktivasyonu ve adhezyonunda,

mezenşimal hücrelerden proteolitik enzimlerinin ortaya çıkmasında ve böylece doku hasarının oluşmasında etkilidir (40).

TNF- α , barsak I/R hasarında rol oynayan önemli araçlardan biridir. TNF- α esas olarak aktive edilmiş monositler ve makrofajlar tarafından salgılanır ve çoklu biyolojik aktiviteye sahiptir. I/R hasarında, TNF- α erken yükselir ve barsak epitelinin geçirgenliğini arttırmakla kalmaz, aynı zamanda nötrofillerin adezyonuna aracılık eder. Diğer sitokinlerin salınmasını artırarak hasarın artmasında etkili olur (41). İntestinal I/R hasarını takiben vena porta yoluyla karaciğere ve akciğere ulaşan endotoksinler, önce Kupffer hücrelerini ve sonra alveolar makrofajları aktive ederek tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinlerin üretimini artırır (42).

NF- κ B: En yaygın olarak bilinen transkripsiyon faktörlerinden NF- κ B, hücrel proliferasyonu, inflammatuar yanıtları ve hücrel yapışmayı ilgilendiren genleri düzenler. Bazı maddelerin, antiinflammatuar reaksiyonlarını NF- κ B'yi inhibe ederek meydana getirdiği bilinmektedir.

2.7.3. Kompleman Sistemi

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak bilinmemektedir. I/R hasarına bağlı kompleman sisteminin aktivasyonu, endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek vasküler tonusu bozar. Bu sayede vazodilatasyon ve vasküler endotelde geçirgenlik artışına neden olur. Kompleman aktivasyonu sonucu proinflammatuar mekanizma tetiklenir. Lökosit aktivasyonu, kemotaksisin uyarılması ve makrofajların uyarılması sonucunda inflammatuar yanıt artar (44,45).

Aynı zamanda LTB₄, TEF ve C5a gibi moleküller, lökositlerin membranlarında bulunan reseptörler aracılığı ile β 2-integrinlerin (CD11/CD18) reseptörlerine ve böylece endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve E-selektin gibi adezyon molekülleri aracılığı ile lökositlerin adezyonuna neden olurlar.

2.7.4. Endotel Hücreleri

I/R hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. I/R hasarında endotelin/NO oranını endotelin lehine bozulur. Arteriyel vazokonstriksiyon, venöz

vazodilatasyon olur (46). Endotel hücrelerinin hasarı nedeniyle bozulmuş nitrik oksid üretiminden kaynaklanan mezenterik damarlardaki vazokonstrüksiyon ile intestinal organ hasarı artar. Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucunda kompleman sistemi aktive olur. Kompleman sistemi ise lökosit ve monositleri uyarır. Kollajenazlar salgılamaya başlar. Bu kollajenazlar bazal membranı sindirebilme potansiyeline sahiptir. Kollajenazların bazal membrana zarar vermesi halinde hücre yıkımı ortaya çıkar.

2.8.KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

Erken teşhisin kilit noktası yüksek klinik şüphedir. Açıklanamayan karın ağrısı şikâyetiyle başvuran bir hastanın klinik senaryosu erken AMI için klasiktir (47). Fizik muayenede peritonit tablosu ortaya çıkması halinde barsak nekrozu ve geri dönüşümsüz intestinal iske mi akla gelmelidir. Yapılan bir çalışmada, hastaların %95'i karın ağrısı, %44'ü mide bulantısı, %35'i kusma, %35'i ishal, %16'sı da anal kanalda kan şikâyeti ile başvurur. Hastaların yaklaşık üçte biri karın ağrısı, ateş ve hemokült pozitif dışkı üçlüsü ile başvurur. Dikkatli bir öykü önemlidir. Farklı klinik belirtiler AMI'nin patofizyolojisi hakkında ön bilgi verebilir. Mezenterik arter trombozu olan hastalar sıklıkla kronik postprandiyal karın ağrısı ve ilerleyici kilo kaybı ile başvurur. Non oklüziv mezenter iskemisi olan hastalar, genellikle zayıf kalp performansı ile ilişkili yaygın ağrıya sahiptir. Mesenterik venöz trombozlu hastalar mide bulantısı, kusma, diyare ve karın krampları karışımı ile başvurur. Akut mezenterik arter emboli ile başvuran hastaların yaklaşık %50'sinde atriyal fibrilasyon vardır ve hastaların yaklaşık üçte birinde daha önce arteriyel emboli öyküsü bulunmaktadır (48). AMI'nin spesifik fenotipleri için risk faktörleri Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo.2.1.AMI'nin spesifik fenotipleri için risk faktörleri (3).

	Akut mezenterik Arter Embolisi	Akut mezenterik Arter Trombozu	Non Oklüziv Mezenter İske mi	Mezenterik Venöz Tromboz
Risk Faktörleri	Atrial fibrilasyon	Aterosklerotik hastalık	Kalp yetmezliği	Portal hipertansiyon
	Sol ventrikül anevrizması	Yemek sonrası ağrı	Düşük akım	Oral kontraseptif
	Mitral kapak hastalığı	Kilo kaybı	Multi organ yetmezliği	Östrojen kullanımı
	Endokardit		vazopressörler	Trombofili pankreatiti
	Emboli öyküsü			

2.9. TANI

Tanı için klinik bulgular göz önünde bulundurularak laboratuvar belirteçleri ve radyolojiden yararlanılmaktadır. Laboratuvar sonuçları kesin olmasa da klinik şüpheyi doğrulamaya yardımcı olabilir. Hastaların %90'ından fazlasında yükselmiş lökosit düzeyi mevcuttur. İkinci sık rastlanılan anormal bulgu ise, yükselmiş laktat seviyesidir ve % 88 oranında görülmektedir ve metabolik asidoza neden olur (49).

Hastalarda, dehidratasyon ve azalmış oral alım nedeniyle laktik asidoz görülebilir. Bu nedenle, reversible ve irreversible intestinal iskemi ayırımında kullanılamamaktadır. Ancak irreversible barsak iskemisinde genelde serum laktat seviyesinin 2 mmol/L'nin üzerinde olduğu görülmüştür. Günümüz literatürüne dayanarak bugüne kadar hiçbir doğru biyolojik belirteç tespit edilmemiştir. Barsak iskemisinin bir diğer belirteçide D-dimerdir (50). D-dimer pıhtı oluşumu ve fibrinoliz yoluyla endojen bozulmayı yansıtır. Normal bir D-dimer değeri ile kliniğe başvuran hiçbir hastada barsak iskemisi yoktu. D-dimer'in spesifitesi %82, sensitivitesi %60 ve doğruluğu %79'dur (51). Bu nedenle D-dimer de erken değerlendirmede faydalıdır. AMI'lı hastaların yaklaşık yarısında serum amilaz seviyesi yükselmiştir. AMI tanısında yardımcı olduğu bildirilen diğer biyolojik belirteçler, intestinal yağ asidi bağlama proteini (I-FABP), serum alfa-glutasyon S-transferaz (alfa-GST) ve kobalt albumin bağlanma testi (CABA) (52). Bu biyokimyasal belirteçler, AMI tanısını desteklemektedir. Ancak biyokimyasal tanı belirteçleri için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Radyolojik olarak acillerde ilk olarak kullanılan direkt grafi mezenterik iskemi tanısında sınırlı bir role sahiptir. Negatif bir radyografi mezenter iskemi tanısını dışlatamaz. Direkt grafide barsak perforasyonu mevcut ise diafragma altında serbest hava tespit edilebilmektedir.

Multidedektörlü computed tomografi anjiyografi (CTA) tanı için girişimsel anjiyografi gereksinimini değiştirmiştir. AMI'nin erken tanı için gereklidir, ancak genellikle bulguları gerçekleştirmek ve yorumlamak için uzman personel gerektirir. İleri evre AMI varlığında CTA bulguları, geri dönüşümsüz iskemiyi (barsak dilatasyonu, barsak duvar kalınlığı, visseral iyileşmenin azalması veya yokluğu, pneumatosis intestinalis ve portal vende gaz) ve serbest intraperitoneal havayı tespit edebilmektedir (53). Kapsamlı bifazik CTA, aşağıdaki önemli adımları içerir:

a) Vasküler kalsifikasyonu, hiper-zayıflatıcı intravasküler trombozu ve intramural hemorajiyi saptamak için kontrast öncesi taramalar.

b)Mezenterik arter ve damarlarda trombozu, barsak duvarının anormal düzelmesini gösteren damar ve venöz fazlar ve diğer organların embolisi veya enfarktüsü varlığı.

c)Mezenterik arterlerin orijinini değerlendirmek.

CTA böbrek yetmezliği varlığına rağmen yapılmalıdır. Gecikmiş teşhis, kaçırılmış tanı veya kötü yönetim sonuçları böbrekler ve hasta için çok daha zararlıdır. Yapılan bir araştırmada, CTA ile 28 hastanın 27'sinde (%96.4) AMI tanısı doğru olarak konmuştur (54). (özellüğü %97.9) Hagspiel ve arkadaşlarının CTA'nın AMI tanısında etkinliğı ile ilgili yapmış oldukları bir çalışmada, %93 duyarlılık, %100 özellük, %100 pozitif prediktif ve %94 negatif prediktif değerlerini elde edilmişlerdir (55).

2.10. TEDAVİ

AMI tanısı konulduğunda, visseral perfüzyonu arttırmak için sıvı resüsitasyonu derhal başlanmalıdır. Kristaloidler ve kan ürünleri ile sıvı resüsitasyonunda kullanılabilir. Preoperatif olarak resüsitasyon, anestezi indüksiyonunda kardiyovasküler kollapsı önlemek açısından önemlidir. Ancak aşırı sıvı yüklenmesinden de kaçınılmalıdır.

Elektrolit seviyelerinin ve asit-baz durumunun değerlendirilmesi yapılmalı ve anormallikler düzeltilmelidir. Altta yatan barsak enfarktüsüne veya reperfüzyona bağı olarak şiddetli metabolik asidoz ve hiperkalemi mevcut olabilen. Vazopressörler dikkatle kullanılmalıdır.

Abdominal kompartman sendromu önlenmelidir. Nazogastrik dekompresyon yapılmalıdır. Kalp fonksiyonunu iyileştirmek için kullanılan dobutamin, düşük doz dopamin ve milrinonun mezenter kan akımı üzerinde daha az etkili olduğu gösterilmiştir (56).

Geniş spektrumlu antibiyotikler derhal uygulanmalıdır. İntestinal iskemi, barsak mukozal bariyeri bozar ve bakteriyel translokasyona neden olur. Bu süreç tedavi edilmezse sepsis ve komplikasyonları ortaya çıkabilir.

Kontrendike olmadıkça, hastalar unfraksiyone heparin ile antikoagüle edilmelidir.

Akut karın düşündüren fizik muayene bulgularının ortaya çıkması halinde, barsak enfarktüsünün ortaya çıkmış olması muhtemeldir. Bu hasta popülasyonunda önemli ölçüde eşlik eden komorbidite nedeni ile hayatta kalma şansı dramatik bir şekilde azalmıştır. Barsak nekrozunun ortaya çıkması halinde gecikmeden hasta operasyona alınmalıdır.

AMI için cerrahi girişimin amacı aşağıdakileri içermektedir:

- 1) İskemik barsakta kan dolaşımının yeniden sağlanması.
- 2) Kan dolaşımının sağlanamadığı tüm bölgelerin rezeksiyonu.
- 3) Canlı barsağın korunması.

Barsak canlılığı ve kalan barsağın miktarı AMI'li hastalarda sonucu etkileyen en önemli faktördür. Hayatta olmayan barsak, eğer fark edilmezse, multiorgan disfonksiyonuna kadar ilerler ve ölümlerle sonuçlanabilir. Hızlı laparotomi, barsak canlılığını doğrudan değerlendirmeye olanak tanır. İlk resüsitasyonun ardından median insizyon ile laparotomi yapılmalı ve tespit edilen tüm nekrotik bölgelerin rezeksiyonu yapılmalıdır. İskeminin tam oturmadığı hallerde intraoperatif doppler yararlı olabilir.

SMA'da parmak yardımı ile pulsasyon kontrolü yapılabilir. AMI patofizyolojisine bağlı olarak kan akımının yeniden sağlanmasında farklı tekniklerde kullanılabilir. SMA embolisinde embolektomi ya da primer veya patch anjiyoplasti yöntemleri kullanılabilir. SMA'nın trombozu olan hastalarda bypass prosedürü uygulanabilmektedir. Non oklüziv mezenter iskemi ve MVT tedavisinde vasküler cerrahi gerekmez. Tam dozlu antikoagülan cerrahi prosedürden önce başlatılmalıdır.

Trombolitik tedaviye yönelik kontrendikasyonlar arasında, yakın zamanda yapılan cerrahi, travma, serebrovasküler veya gastrointestinal kanama ve kontrolsüz hipertansiyon bulunmaktadır (57). Yapılan retrospektif bir çalışmada 679 vasküler girişimle (hem açık hem de endovasküler) tedavi edilmeye çalışılan AMI hastalarının %24'ünde (165 hasta) endovasküler tedavi denenmiş ve %87'sinde başarılı olduğu görülmüş ve mortalitenin, açık ameliyatlara kıyasla daha az (%40'dan %25'e düşmüş) olduğu tespit edilmiş. Endovasküler tedavi ile tedavi edilen hastaların 1/3'üne laparotomi yapılmaya gerek kalmamıştır (58). Endovasküler yaklaşımda barsak fonksiyonunu değerlendirmek için laparoskopi kullanılması makul bir seçenek olabilir (59). Endovasküler embolektomi, perkütan mekanik aspirasyon veya tromboliz ile reperfüzyon sağlanabilir.

Hasar kontrol cerrahisi (DCS) barsak rezeksiyonuna ihtiyaç duyan hastalar için barsak canlılığını tekrar gözden geçirmek için önemli bir yardımcıdır. Re-laparotomi AMI tedavisinin cerrahi yönetiminde vazgeçilmezdir.

Hasar kontrol cerrahisi, fizyolojik ve teknik nedenlerle AMI tedavisinde kritik hastalarda seçilecek cerrahi modalitedir. Reperfüzyonun ardından ya da rezeksiyon anastomozun ardından barsak canlılığının değerlendirilmesi için kullanılabilecek bir

yöntemdir. Çoğunlukla 48 saat içinde re-laparotomi yapılmalı, gereklilik halinde anastomoz, stoma ya da ek rezeksiyon işlemleri yapılabilir. Açık mesenterik revaskülarizasyon yapılan 43 hastayı gözden geçiren yazarlar, second-look operasyonu yapılan 23 hastanın 11'inde barsak rezeksiyonuna ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir (48). Bu hastalarda barsak genellikle çok şiş ve anastomoz riski yüksektir. Anastomoz kaçağı riski yüksektir. Yapılan bir çalışmada dikkatli bir şekilde elle yapılan anastomozların stapler yardımı ile yapılanlardan daha sağlıklı olduğu bildirilmiştir (60). Açık abdomen, uzun süreli resüsitasyona ihtiyaç duyan hastalarda abdominal kompartman sendromu riskini azaltmaya yardımcı olabilir. Bu nedenle seçilmiş vakalarda açık abdomen tekniğinin kullanılması uygundur.

AMI gerçek bir cerrahi acildir. Her şeyden önce ani başlayan karın ağrısı, asidoz ve organ yetmezliği gibi durumların kombinasyonunda akla getirilmelidir. Klinik şüphenin ortaya çıkması halinde tanı için görüntülemeye (CTA) başvurulmalıdır. Hızlı resüsitasyona paralel olarak ve CTA dikkatli bir şekilde değerlendirildikten sonra, barsak canlılığını değerlendirmek, vasküler akışı yeniden kurmak ve canlı olmayan barsak ansının rezeksiyonu için hasta araştırılmalıdır. Medikal tedavi bu süreçte tedaviye eşlik etmelidir. Cerrahi gereksinimin ortaya çıkması halinde, hasar kontrol teknikleri ile hastanın tedavi sürecine devam edilmesi uygundur. Gerekli görüldüğü takdirde, daha ileri rezeksiyon, anastomoz veya stoma ile barsağın yeniden değerlendirilmesi gerekebilmektedir. Hastalığın tedavisinde genel cerrahi, radyoloji, anestezi ve kalp-damar cerrahisi kliniklerinin yakın işbirliği önemlidir.

2.11. GANODERMA LUCIDUM (REİSHİ MANTARI)

Ganoderma Lucidum başta Çin, Japonya ve Kore olmak üzere birçok ülkede 2000 yılı aşkın süredir çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Ganodermatacea ailesindendir ve Latince de 'parlak' anlamına gelen lucidus kelimesi eklenerek 'Ganoderma Lucidum' ismi verilmiştir (61). Çinde Ling-Zhi (Ölümsüzlük mantarı), Japonyada Reishi (10000 yıl mantarı) ve Kore'de Young-Zhi (Gençlik mantarı) olarak adlandırılmaktadır. Eski Çin'de tıbbi bir bitki olarak görülmesinin yanında birçok destana konu olmuştur. Ömrü uzattığı, kansere varıncaya kadar birçok hastalığa direnci artırdığı ve tedavi ettiği düşünülerek kullanılmıştır. İmmünolojik bozukluklarda doğal tıbbi ilaç olarak kullanılmıştır (62).

Bu mantarlar kahverengi renge sahiptir. Böbrek şekline benzerler ve nemli ortamda yaşadıkları ve bol su içerdikleri için yüzeyleri parlaktır (Resim 2.1.).



Resim 2.1. Ganoderma Lucidum (Reishi Mantarı)

Ganoderma lucidumun ana bileşenleri; polisakkarit, triterpen ve peptidoglikanlardır. Yeryüzünde tarif edilen yaklaşık 14 000 mantar vardır. Bunlardan 2000'i zehirsizdir. Yaklaşık 25 mantar türü ticari amaçlı üretilmektedir (63). Ticari anlamda üretilen mantarlardan biriside ganoderma lucidumdur. Farklı formları üretilen mantarın kullanım amaçları da çeşitlilik göstermektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda, cerebral iskemi-reperfüzyon hasarında (64), renal iskemi-reperfüzyon hasarında (65), kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarında (66) etkili olduğu gösterilmiştir. Tümöral hastalıklarda (67,68,69), akciğer hastalıklarında da (63) etkili olduğu görülmüştür. Ganoderma lucidum içerisinde etkin immünmodülatörler, antioksidanlar ve aynı zamanda kemopreventif ve tümörisidal özelliklere sahip, izole edilmiş 100'den fazla molekül bulunduğu bildirilmiştir (70,71,72).

Ganoderma lucidum ekstresi DNA'yı oksidatif hasardan korur. Ayrıca sisplatinin neden olduğu böbrek hasarına karşı antioksidan etkinliği ile koruyucu olduğu tespit edilmiştir (73). Deneysel in vivo çalışmalar triterpenleri ve polisakaritleri içeren GL ekstresinin meme kanser hücreleri ve akciğer kanser hücrelerinin invaziv davranışını baskıladığı gösterilmiştir (74). Karsinogenezis ve kanser progresyonu hastanın immün sistemi ile yakından alakalıdır. T hücreleri, özellikle tümör hücrelerinin tespitinde ve ortadan kaldırılmasında önemli role sahiptir. T hücreleri ve bağışıklık sisteminin tüm elemanlarına rağmen, tümörler sağlam bir bağışıklık sisteminin varlığında bile gelişimine devam edebilmektedir. Akciğer kanserleri de dahil olmak üzere birçok tümörde, PGE2, TGF- β , IL-10 ve VEGF gibi immunosupresif mediatörlerin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (75).

Ganoderma Lucidum miselinden hazırlanan özüt, birçok kanserin adjuvan tedavisinde, immun modölatör etkileri nedeniyle Japonya'da kullanılmıştır (76,77,78). İmmun modölatör (79), anti-inflamatuar (80), antiviral (81), antioksidatif, antiaging ve antitümör (82) özellikleri tespit edilmiştir. Kan basıncını velipit seviyesini düzenlendiği (83), kan şekerini regüle ettiği ve immün modölatör proteinlerin üzerine düzenleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (84).

Ganoderma lucidum triterpenlerinin lipopolisakkaritler ile endotoksemi meydana getirilen farelerde IL-6 ve TNF- α üretimini baskılayarak inflammatuar cevabı inhibe ettiği gösterilmiştir. NF- κ B en yaygın kullanılan transkripsiyon faktörlerinden birisidir. Hücrel inflammatuar yanıtları, proliferasyonu ve hücre adhezyonu ile ilgili genleri düzenler. GL polisakkaritleri proinflammatuar sitokinlerin üretimini, NF- κ B transkripsiyon yolunu inhibe ederek baskılamaktadır (85).

Kısacası Ganoderma Lucidum'un içerdiği bileşikler bir taraftan tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki yaparken, diğer taraftan konak organizmasının normal hücrelerini immün davranış bakımından düzenleyerek tedavi edici etki sağlamaktadır. Yüksek dozlarda alınsa bile sağlıklı hücrelere toksik etki yapmadığı çalışmalarla gösterilmiştir (86).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyisel çalışmamız Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındıktan sonra Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneyisel Araştırma ve Uygulama Merkezi Hayvan Deney Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmamıza Bozok Üniversitesi Proje Koordinasyon Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bozok Üniversitesi projeleri kapsamında 6601-TF/16-26 kodu ile kaynak sağlandı. Deneye ilişkin örneklenen dokuların histopatolojik incelemeleri Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında yapıldı. Hemavet değişiklikler (platelet, lökosit ve hb) Bozok Üniversitesi Tıp fakültesi Biyokimya laboratuvarında çalışıldı. Diğer biyokimyasal tetkikler ise İstanbul Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında ölçümlendi.

3.1.DENEY HAYVANLARI VE GRUPLAR

Çalışmamızda 24 adet 250-300 gr. ağırlığında Wistar-Albino cinsi ve erkek cinsiyet sağlıklı ratlar kullanıldı. Ratlar Saki Yenilli Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarından temin edildi. Temin edilen hayvanlar Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneyisel Araştırma ve Uygulama Laboratuvarları'na teslim edildi. Bütün ratlar tel kafeslerde, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde ve standart sıcaklık ve nem oranlarında olacak şekilde kontrollü odalarda iki hafta süre ile normal beslenerek gözlemlendi. Ek hastalıklarının olmadığı ve deneye uygun oldukları anlaşıldı. Bu süreçte beslenmek için standart rat yemi ve şebeke suyu kullanıldı. Serbest olarak beslenerek, suluktan serbestçe su içmeleri sağlandı. Tüm hayvanlar deneyden 12 saat önce yemekten yoksun bırakıldı, ancak serbestçe su içmelerine izin verildi.

Tablo.3.1. Deney grupları

	Deney Grup Bilgileri	Hayvan Sayısı/grup
Grup S	Sham	8
Grup I/R	I/R+ Serum Fizyolojik	8
GrupI/R +GL	7 gün oral 250 mg/kg GL kullanımının ardından İ/R	8

24 adet rat randomize olarak, sekizerli 3 gruba ayrıldı. Grup S (Sham), Grup I/R (Mezenter İskemi-reperfüzyon), Grup I/R+GL (Ganoderma Lucidum ile beslenen Mezenter İskemi-reperfüzyon) olarak isimlendirildi.

3.2. DENEYSEL İNTESTİNAL İSKEMİ- REPERFÜZYON MODELİ

Tüm ratlara cerrahi işlem öncesi 5-10 mg/kg dozunda xylazin hidroklorür (Rompun®, Bayer-İstanbul) ve 50-70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar®, Pfizer İstanbul) kas içine uygulanarak genel anestezi sağlandı. Tüm ratların karnı tıraş edildikten sonra %10'luk povidon iyot çözeltisi ile lokal saha temizliği ve steril örtümün ardından orta hat kesisi yapılarak batına girildi.

Grup S: Laparatominin ardından Süperior Mezenterik Arter diseksiyonu yapıldı ve batin %0,9 sodyum klorür ile irriga edildi. Batin orta hat 3/0 ipek yardımı ile continue olarak kapatıldı. 90 dakika beklenilmesinin ardından kan örnekleri, intestinal ve karaciğer doku örnekleri alınarak işleme son verildi.

Grup I/R: Laparatominin ardından süperior mezenterik arter aortadan çıktığı yerin distalinden askıya alındı. Barsaklarda solukluk görüldü ve iskeminin olduğundan emin olundu. 30 dakikalık iskeminin tamamlanmasının ardından askı kaldırıldı. Hidrasyon için batin içerisine serum fizyolojik enjekte edildi. Orta hat kesisi 3/0 ipek sütur yardımı ile continue olarak kapatıldı. Doksan dakika reperfüzyon süresinin tamamlanmasının ardından tekrar anestezi verildi. Batin orta hatta bulunan ipek süturlar alındı ve batin açıldı. Kan örnekleri, intestinal ve karaciğer doku örnekleri alınarak işleme son verildi.

Grup I/R+GL: Cerrahi işlem öncesinde 7 gün süre ile ratlara orogastrik gavaj yardımı ile normal gıdalara ek olarak 2cc serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 250mg/kg Ganoderma Lucidum verildi. Ardından bu gruptaki deneklere de Grup I/R'ye uygulanan cerrahi prosedür uygulandı. Kan örnekleri, intestinal ve karaciğer doku örnekleri alınarak işleme son verildi.

Tüm ratlardan kan örnekleri intrakardiak olarak alındı. Alınan kanların bir kısmı EDTA'lı hemogram tüpüne, diğer kısmı ise biyokimya tüpüne konuldu. Doku örneği olarak ise son 20 cm'lik ince barsak segmenti ve karaciğer örnekleri alındı. Çıkarılan bu ince barsaksegmentleri, serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra yaklaşık 10 cm'lik segment histopatolojik inceleme için %10 formaldehit içine konuldu. Alınan karaciğer örneğinin bir kısmıda patolojik inceleme için %10 formaldehit içerisine konuldu. Diğer barsak segmenti ve

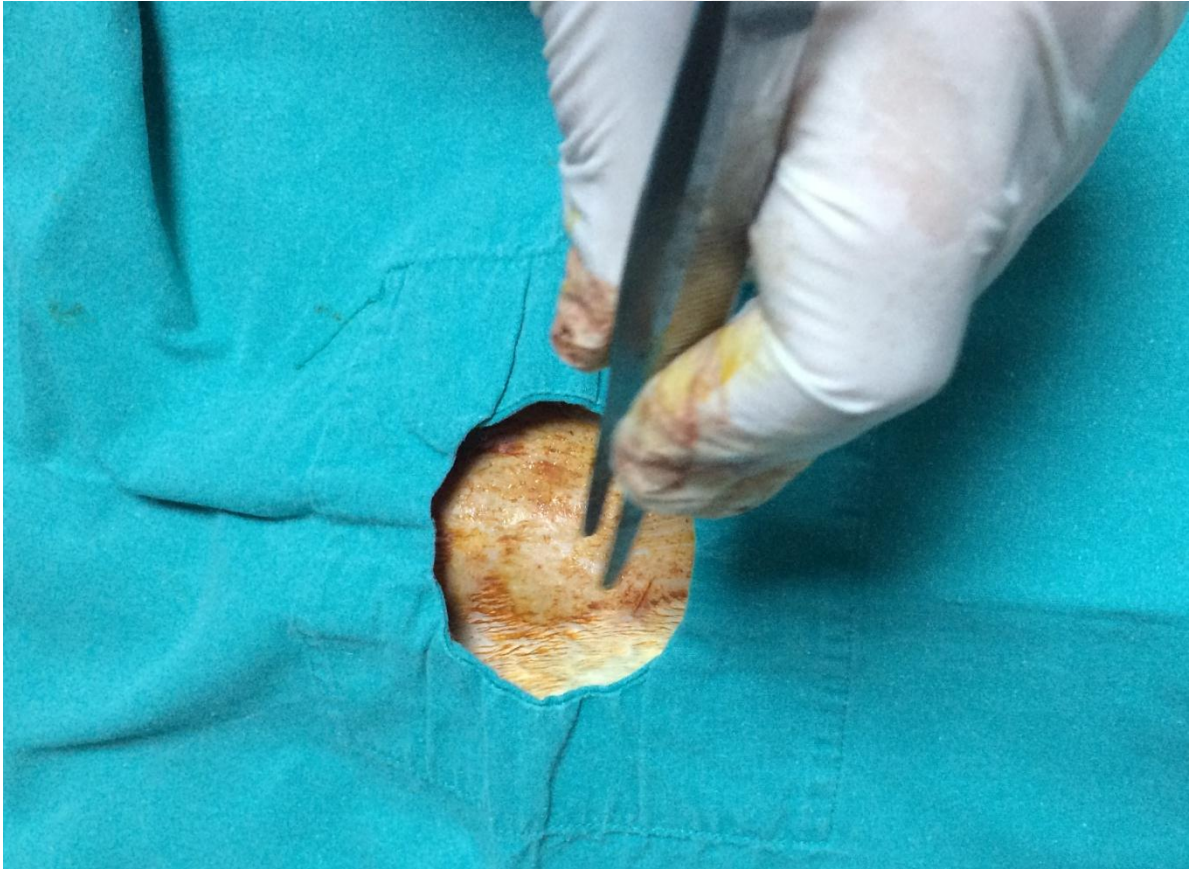
karaciğer örneği ise ayrı ayrı kurutma kâğıdı ile kurutulduktan sonra birer kaba konularak dokudan biyokimyasal çalışmalar yapmak üzere laboratuvara götürüldü. Cerrahi işlemlerin sonunda tüm denekler dekapite edildi.



Resim 3.1. Ratın orogastrik gavaj yardımı ile beslenmesi



Resim 3.2.Ratın operasyon saha temizliği



Resim 3.3. Ratların operasyon için steril örtümü



Resim 3.4.Süperior mezenterik arter klemplenmesi

3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Biyokimyasal Doku Analizi: Çalışma için alınan intestinal doku örnekleri PBS (Phosphate Buffer Saline, pH:7.4) çözeltisi ile homojenize edildi. Tüm doku örneklerinde Bradford metodu ile total protein miktarı spektrofotometre yardımıyla ölçüldü. Doku homojenatlarında, Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Malondialdehit (MDA) parametrelerinin değerleri ELISA yöntemi ile plak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) ölçüldü.

Kan Analizi: Çalışmaya dahil edilen ratlardan biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri 3000 xg de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serumlar ependorfa alınıp çalışma gününde kullanılmak üzere -80°C'ye kaldırıldı. Çalışma gününde ependorflar oda ısısına getirilerek donmuş halde olan serumların erimesi sağlandı. Serum örneklerindeki SOD, MDA, GSH-Px seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Biyokimyasal Analiz İçin Gereçler

- Santrifüj (Nüve NF1200, Nüve NF1200R)
- Distile Su Cihazı (Nüve Water Distiller-ND112)
- Vorteks (BioCote Voortex Mixer SA8, bibby scientific, UK)
- Orbital Karıştırıcı (Biosan, OS-20, EU)
- Etüv (Nüve Cooled Incubator, ES120)
- Manyetik Karıştırıcı (Stuart heat stir, CB162, bibby scientific, UK)

- -80°C Derin Dondurucu (New Brunswick Scientific. C54285 model)
- ELISA Okuyucusu (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA)
- ELISA Yıkayıcısı (Thermo Scientific WellWash microplate washer, 2011-08,USA)
- Pipet (1000, 500, 200,100,10 uL’lik; Gilson)
- 8’li Multipipet
- Pipet Uçları (1000, 200,100,10 uL’lik)

Elisa Kitleri

- Rat Süperoksit Dismutaz (SOD) ELISA Kiti (Elabsience, Katalog No: E-EL-R1424)
- Rat Glutasyon Peroksidaz (GPX) ELISA kiti (Elabsience, Katalog No: E-EL-R249)
- Rat Malondialdehit (MDA) ELISA Kiti (Sunlong, Biotech Co, Katalog No: SL0475Ra)

SOD Test Protokolü:

- Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
- 6 adet standart kitin içersinden çıkan 7200 pg/ml’lik stok standardın seri dilüsyonu ile elde edildi.
- Antikor ile kaplı mikropalak kuyucuklarına hazırlanan standartlardan ve örneklerden 50’şer µl pipetlendi.
- Ardından tüm kuyucuklara 50 µl “Biotinylated Detection Ab”pipetlendi.
- 37 C° de 45 dakika inkübe edildi.
- Kit içerisinde bulunan 25X lik yıkama solusyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plate yıkayıcıda 350 µl de 3 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl “HRP konjugat” pipetlendi ve 37 C°’de 30 dakika inkübe edildi.
- Aspire edildikten sonra tüm kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 350 µl de 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 90 µl “Substrate Reagent” eklendi ve 37 C°’de 15 dakika inkübasyon yapıldı.

- Tüm kuyucuklara 50 µl “Stop Solusyon” pipetlendi.
- Mikroplak hemen 450 nm absorbandsda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

Hesaplama: Standartların absorbandsı belirlenerek x ekseninde absorbands, y ekseninde konsantrasyon olacak şekilde log-log grafik elde edilip sonuçlar pg/ml şeklinde ifade edildi.

MDA Test Protokolü:

- Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
- 6 adet standart kitin içerisinde çıkan 450 ng/ml’lik stok standardın seri dilüsyonu ile elde edildi. Ardından 50 µl olacak şekilde her bir standart pipetlendi.
- Antikor ile kaplı mikrolaktaki örnekkuyucuklarına 40 µl sample diluent buffer pipetlendikten son 10 µl örnek pipetlendi.
- Sonrasında 37 C°’de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Kit içerisinde bulunan 25X lik yıkama solusyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plate yıkayıcıda 350 µl de 4 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 50 µl “HRP konjugat” pipetlendi ve 37 C°’de 30 dakika inkübe edildi.
- Aspire edildikten sonra tüm kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 350 µl de 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 50 ‘ şer µl sırasıyla Solusyon A ve Solusyon B pipetlendi ve 37 C°’de 15 dakika inkübe edildi.
- Tüm kuyucuklara 50 µl “Stop Solusyon” pipetlendi.
- Mikroplak bekletilmeden 450 nm absorbandsda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

Hesaplama: Standartların absorbandsı belirlenerek x ekseninde absorbands, y ekseninde konsantrasyon olacak şekilde log-log grafik elde edilip sonuçlar ng/ml şeklinde ifade edildi.

GSH-Px Test Protokolü:

- Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
- 6 adet standart; kitin içerisinde çıkan 180 IU/ml’lik stok standardın seri dilüsyonu ile elde edildi.

- Antikor ile kaplı mikropalak kuyucuklarına hazırlanan standartlardan ve örneklerden 100'er µl pipetlendi.
- Sonrasında 37 C°'de 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl "Biotinylated Detection Ab." pipetlendi ve 37 C°'de 60 dakika inkübe edildi.
- Kit içinde bulunan 25X lik yıkama solüsyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plate yıkayıcıda 350 µl de 3 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl "HRP konjugat" pipetlendi ve 37 C°'de 30 dakika inkübe edildi.
- Aspire edildikten sonra tüm kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 350 µl de 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 90 µl "Substrate Reagent" pipetlendi ve 37 C°'de 15 dakika inkübasyon yapıldı.
- Tüm kuyucuklara 50 µl "Stop Solüsyon" pipetlendi.
- Mikropalak bekletilmeden 450 nm absorbandsda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

Hesaplama: Standartların absorbandsı belirlenerek x ekseninde absorbands, y ekseninde konsantrasyon olacak şekilde log-log grafik elde edilip sonuçlar IU/ml şeklinde ifade edildi.

3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik inceleme için ratların ileumlarından ve karaciğerlerinden örnekler alındı. Zaman kaybetmeden, önceden hazırlanmış olan %10'luk formaldehit içerisine konularak fiksle edildi. Bozok üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümüne teslim edildi. Materyaller 24 saat %10'luk formalin solüsyonunda tespit için bekletildi. Tespitin ardından ileum değerlendirmesi için her bir rezeksiyon materyalinden uzunlamasına 1 cm kesit alınıp kurutma kâğıdına yatırılarak doku takibe alındı. Karaciğer dokularından da yaklaşık 1cm örnek alındı ve kurutuldu. Rutin doku işlemlerinden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan beş mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-eozin ile boyandı.

Tüm preparatlar aynı patoloji uzmanı tarafından, aynı ışık mikroskopunda (Olympus BX53F-Japonya) gruplardan habersiz incelendi. İleum örnekleri Chiu ve arkadaşları (87) tarafından oluşturulan sınıflamaya uygun olarak incelendi(Tablo3.2.). Elde

edilen veriler hazırlanmış formlara işlendi. Karaciğer mikroskopisi aynı uzman tarafından aynı ışık mikroskopu ile değerlendirildi ve sonuçlar tablo haline getirildi.

Tablo3.2: Chui sınıflaması(87)

EVRE	BULGU
0	Normal villus
1	Subepitelyal alanda genişleme, genellikle villusların apeksinde kapiller konjesyon
2	Subepitelyal alanın genişlemesi ile epitelyal tabakanın lamina propriadan orta derecede ayrılması
3	Villusların alt kısımlarının lamina propriadan ileri derecede epitelyal ayrışması
4	Villusların soyulması, kapiller dilatasyon, lamina proprianın geçirgenliğinde artma
5	Lamina propriada parçalanma, hemoraji ve ülserasyon

3.5.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

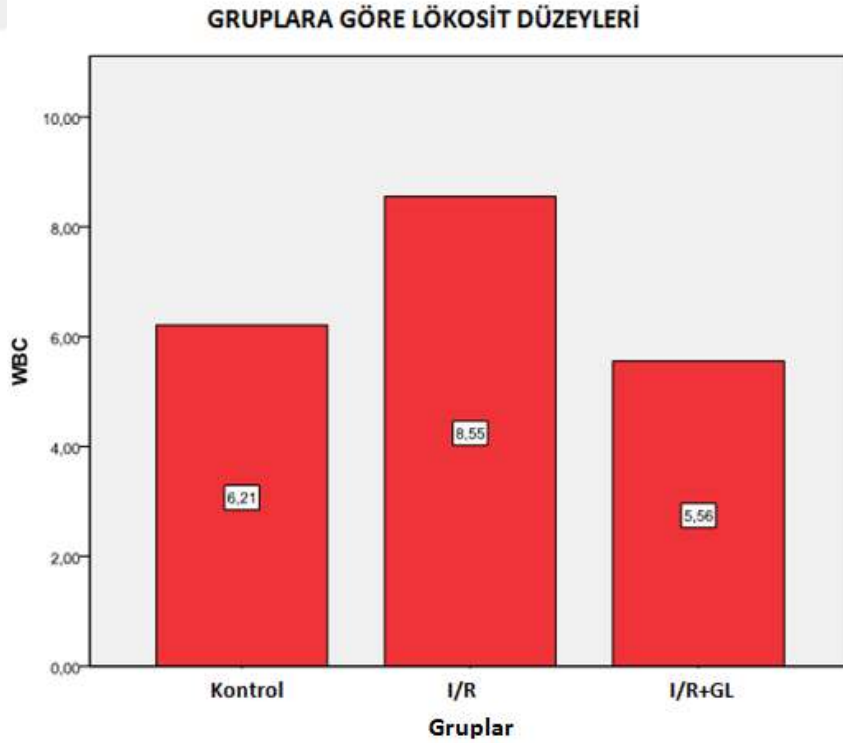
Çalışmamızda bağımsız parametrelerin ilişkilendirilmesinde SPSS windows 20.0 paket programında Varyans analizi (ANOVA) tukey post-hoc testi, ikili karşılaştırmalarda Man Whitney U ve Kruskal Wallis metotları kullanıldı. $P<0.05$ değerler anlamlı olarak kaul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen 24 ratların tamamı çalışmayı tamamladı. Deney süresince iskeminin makroskopik bulguları kontrol grubu dışında tüm gruplarda görüldü. Alınan intestinal örneklerden hem biyokimyasal çalışma, hemde patolojik inceleme yapıldı. Kan örneklerinden hemogram ve biyokimyasal çalışmalar yapıldı.

4.1. LÖKOSİT DÜZEYLERİ

Kontrol grubunun ortalama lökosit düzeyleri 6.21×10^3 uL iken, I/R grubunda lökosit düzeyleri 8.55×10^3 uL, I/R+GL grubunda ise 5.56×10^3 uL, olarak tespit edildi. Tüm gruplar lökosit düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırıldı. I/R grubunun lökosit düzeyi kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek ($p=0.001$) bulundu. Deney öncesinde Ganoderma L.verilen IR/GL grubunda lökosit düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi. I/R+GL grubu lökosit düzeyleri I/R grubunun lökosit düzeyleri ile karşılaştırıldığında I/R grubunun lökosit düzeylerinin anlamlı yüksek olduğu görüldü ($P=0.001$).



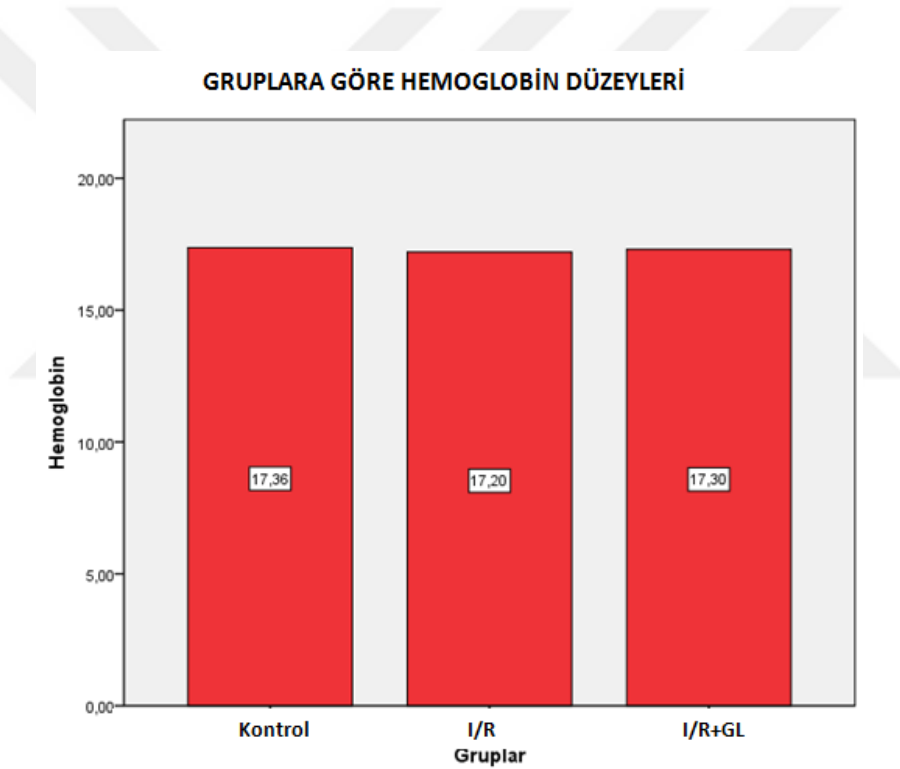
Grafik 4.1. Grupların lökosit düzeyleri

Tablo 4.1. Lökosit düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	İ/R	İ/R+GL
KONTROL	-----	P=0.006	NS
İ/R	P=0.006	-----	P=0.001
İ/R+GL	NS	P=0.001	-----

4.2. HEMOGLOBİN DÜZEYLERİ

Hemoglobin değerlerinin ortalama düzeyleri kontrol grubunda 17.36 g/dl, I/R grubunda 17.20 g/dl, I/R+GL grubunda 17.30 g/dl olarak belirlendi. Tüm gruplar hemoglobin düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.



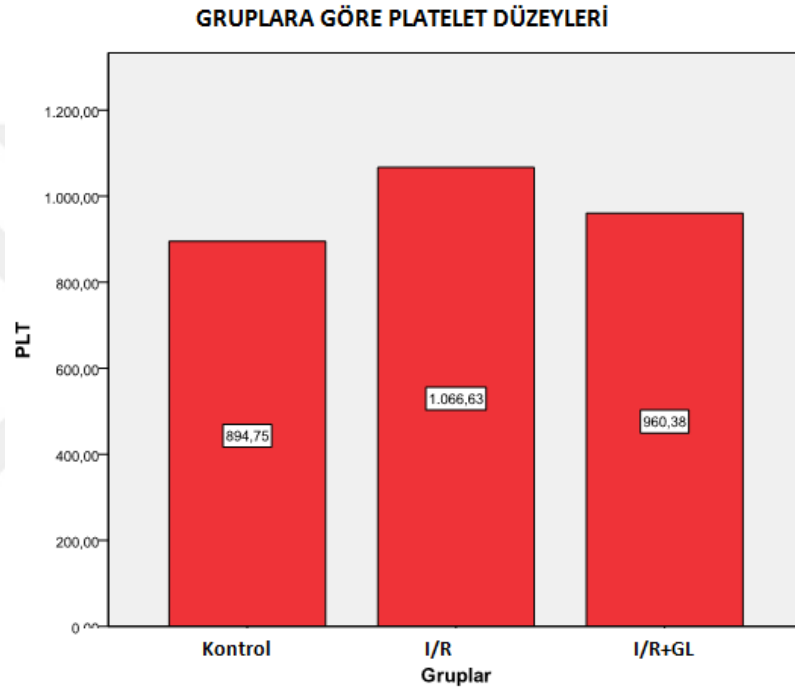
Grafik 4.2. Grupların hemoglobin düzeyleri

Tablo 4.2. Hemoglobin düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	NS	NS
I/R	NS	-----	NS
I/R+GL	NS	NS	-----

4.3. TROMBOSİT DÜZEYLERİ

Ortalama trombosit düzeyleri Kontrol grubunda 894.75×10^3 uL, I/R grubunda 1066.63×10^3 uL, I/R+GL grubunda ise 960.38×10^3 uL olarak tespit edildi. Tüm gruplar trombosit düzeyleri açısından karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubunun trombosit düzeyleri karşılaştırıldığında; I/R grubunda anlamlı düzeyde yükseklik tespit edildi ($p=0.024$). I/R+GL grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu görüldü ($p>0,05$). I/R grubu ile I/R+GL karşılaştırıldığında, I/R+GL grubunun lökosit düzeyinin I/R grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü ($p=0.044$).



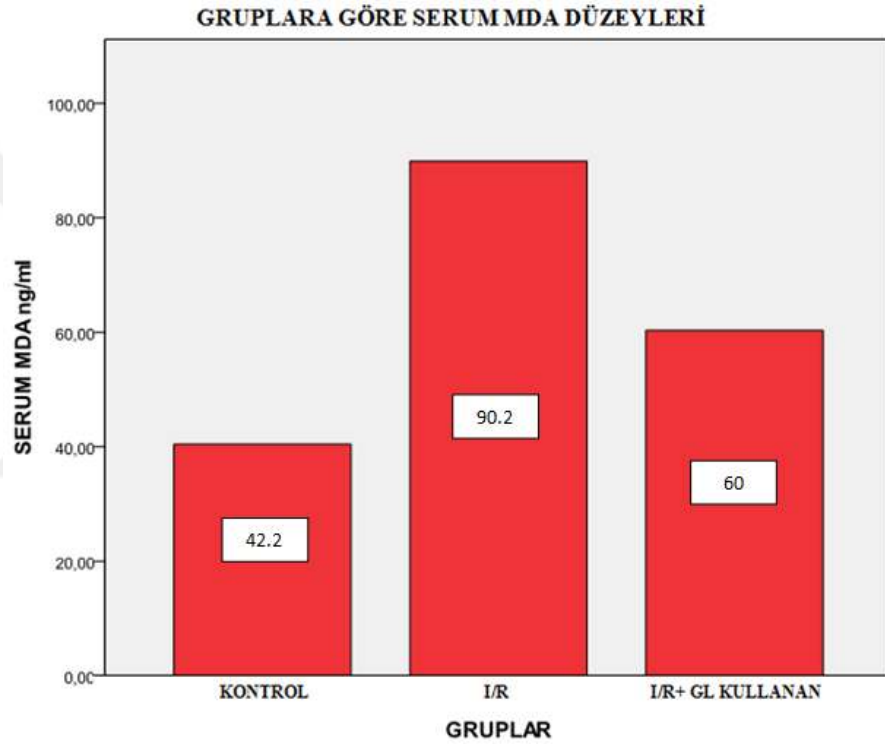
Grafik 4.3. Grupların trombosit düzeyleri

Tablo 4.3. Trombosit düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	İ/R	İ/R+GL
KONTROL	-----	P=0.001	NS
İ/R	P=0.001	-----	P=0.044
İ/R+GL	NS	P=0.044	-----

4.4. SERUM MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ (Serum MDA)

Ortalama serum MDA düzeyi Kontrol grubunda 42.2ng/ml, I/R grubunda 90.2ng/ml, I/R+GL grubunda ise 60ng/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında MDA düzeyleri I/R grubunda ($p<0,05$) anlamlı yüksek bulundu. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında Kontrol grubu MDA düzeylerinin anlamlı ($p<0,05$) düşük olduğu görüldü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında I/R+GL grubunun serum MDA düzeyinin anlamlı ($p<0.05$) düzeyde daha düşük olduğu görüldü.



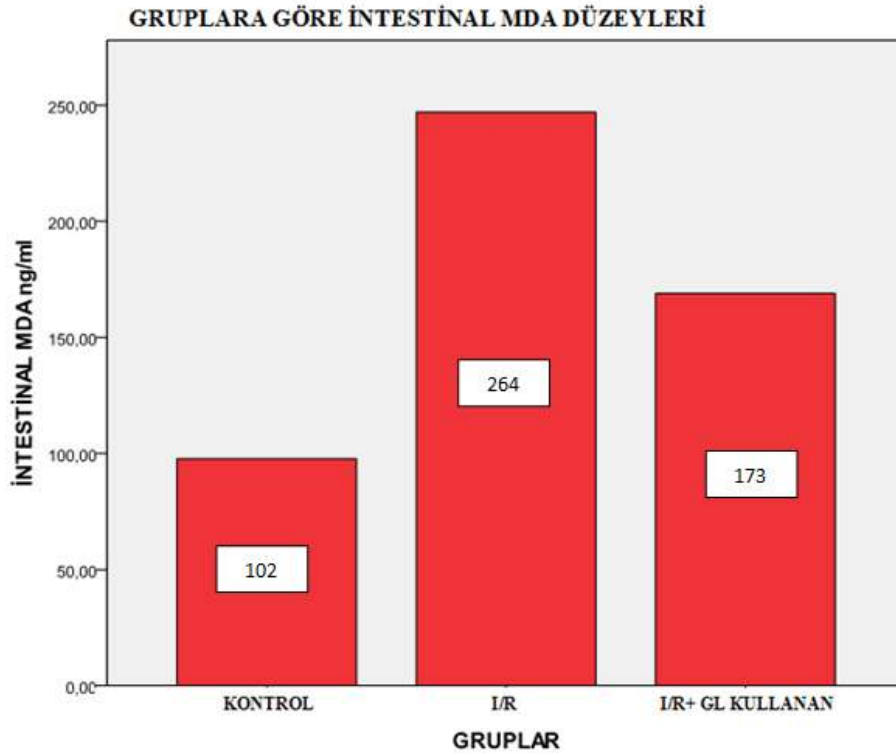
Grafik 4.4. Serum MDA düzeyleri

Tablo 4.4. Serum MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P<0.001	P<0.001
I/R	P<0.001	-----	P<0.001
I/R+GL	P<0.001	P<0.001	-----

4.5. İNTESTİNAL DOKU MALONDİALDEHİT DÜZELERİ(İntestinal MDA)

Ortalama intestinal doku MDA düzeyleri Kontrol grubunda 101,87ng/ml, I/R grubunda 263.6ng/ml, I/R+GL grubunda ise 173.3ng/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldı ve $p<0,05$ olması nedeni ile fark anlamlı düzeyde yüksek çıktı. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında da $p<0,05$ çıktı ve anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise I/R+GL grubunun intestinal MDA düzeyinin daha düşük olduğu görüldü ve $p<0,05$ olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



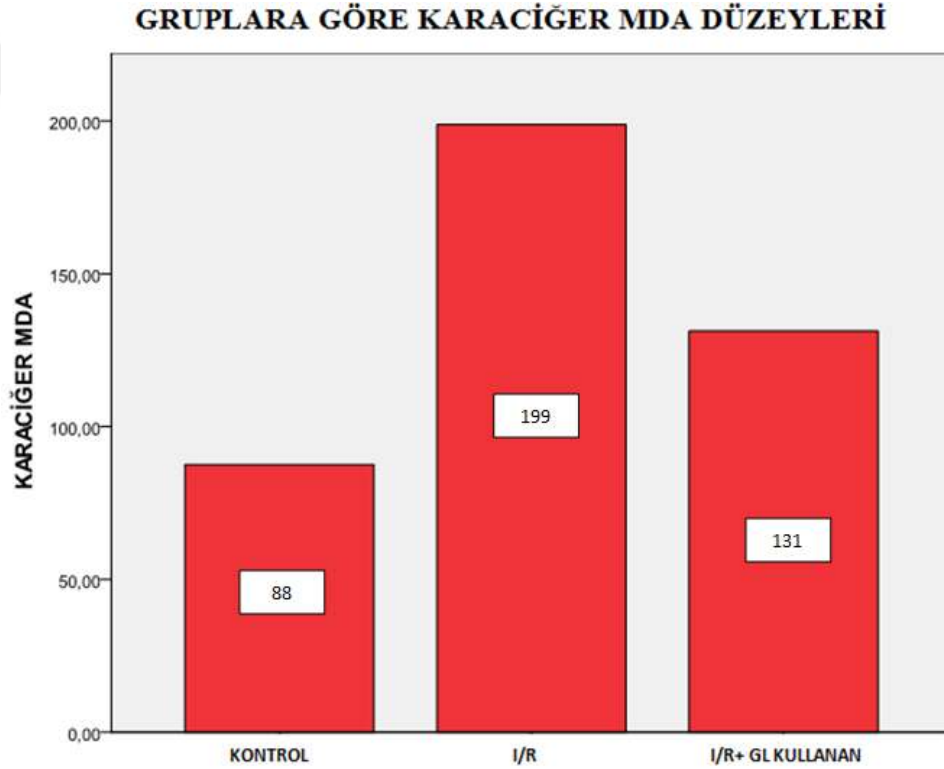
Grafik 4.5. İntestinal Doku MDA düzeyleri

Tablo 4.5. İntestinal Doku MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P<0.001	P=0.009
I/R	P<0.001	-----	P=0.001
I/R+GL	P=0.009	P=0.001	-----

4.6. KARACİĞER MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ (Karaciğer MDA)

Karaciğer dokusu ortalama MDA düzeylerine bakıldığında; Kontrol grubunda 87.57 ng/ml, I/R grubunda 198.84 ng/ml, I/R+GL grubunda ise 131.23 ng/ml olarak ölçüldü. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında; I/R grubunun karaciğer MDA düzeyi kontrol grubundan anlamlı seviyede yüksek bulundu ($p<0,05$). Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında I/R+GL grubunun karaciğer MDA düzeyi kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p=0,023$). I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise, I/R+GL grubunun karaciğer MDA düzeyinin I/R grubundan daha düşük olduğu görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$).



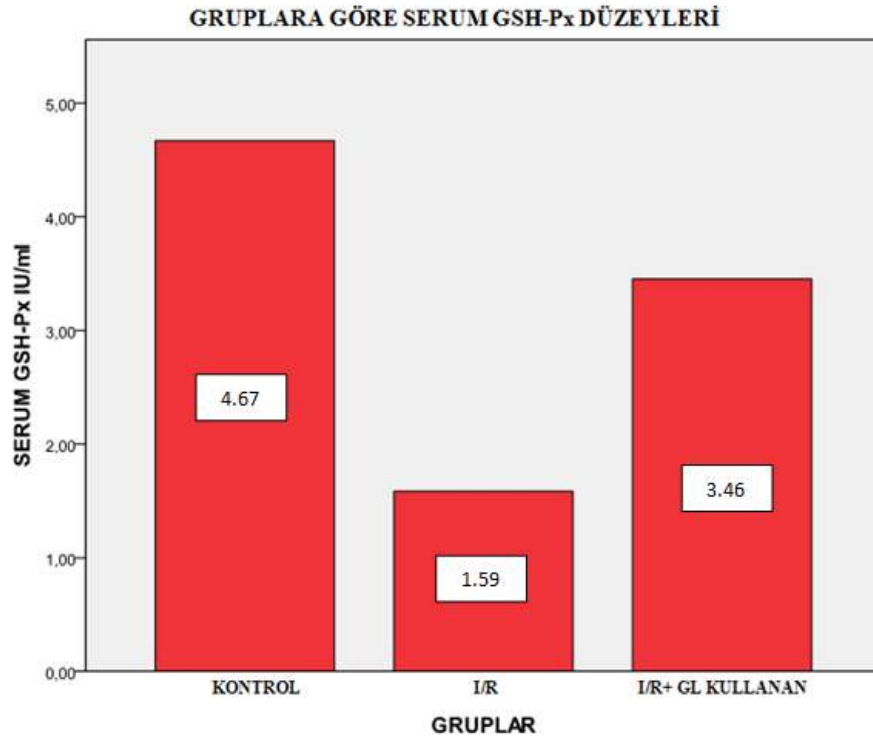
Grafik 4.6. Karaciğer Doku MDA düzeyleri

Tablo 4.6. Karaciğer Doku MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P<0.001	P=0.023
I/R	P<0.001	-----	P=0.001
I/R+GL	P=0.023	P=0.001	-----

4.7. SERUM GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ (Serum GSH-Px)

Ortalama serum GSH-Px düzeyi Kontrol grubunda 4.67 IU/ml, I/R grubunda 1.59 IU/ml, I/R+GL grubunda ise 3.46 IU/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olması nedeni ile I/R grubunun serum GSH-Px düzeyinin anlamlı seviyede düşük olduğunu görüldü. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında da $p < 0,05$ çıktı ve anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise I/R+GL grubunun serum GSH-Px düzeyinin daha yüksek olduğu görüldü ve $p < 0,05$ olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



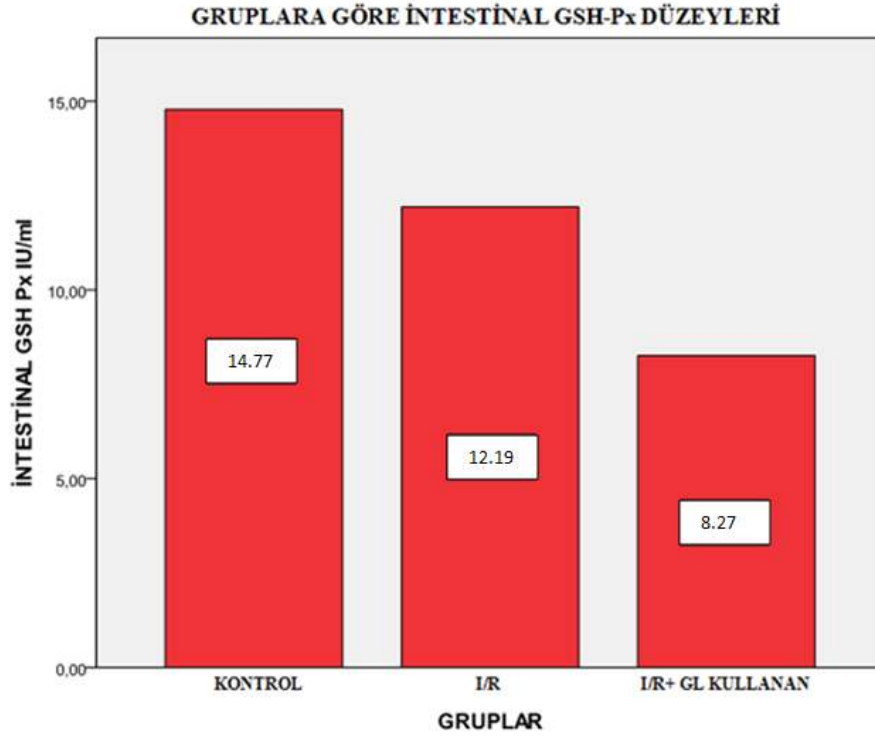
Grafik 4.7. Serum GSH-Px düzeyleri

Tablo 4.7. Serum GSH-Px düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P<0.001	P=0.044
I/R	P<0.001	-----	P=0.002
I/R+GL	P=0.044	P=0.002	-----

4.8. İNTESTİNAL GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ(İntestinal GSH-Px)

Ortalama intestinal doku GSH-Px düzeyleri kontrol grubunda 14.77 IU/ml, I/R grubunda 12.19 IU/ml, I/R+GL grubunda ise 8.27 IU/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplarbirbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında $p<0,05$ olması nedeni ile I/R grubunun kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında $p<0,05$ çıktı ve I/R+GL grubunun intestinal doku GSH-Px düzeyinin kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise I/R+GL grubunun serum GSH-Px düzeyinin, I/R grubundan daha düşük olduğu görüldü ve $p<0,05$ olması nedeni ile farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



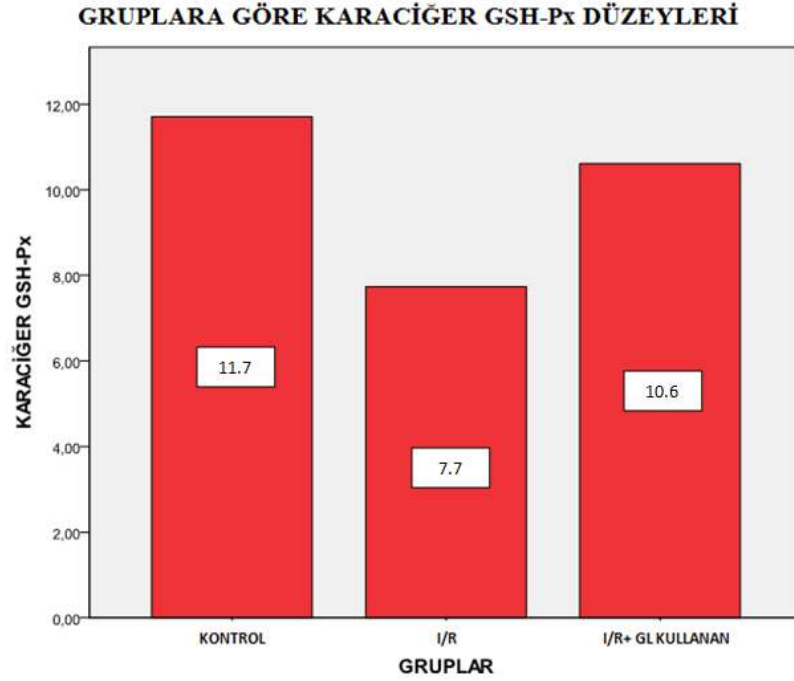
Grafik 4.8. İntestinal Doku GSH-Px düzeyleri

Tablo 4.8. İntestinal GSH-Px düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P=0.007	P<0.001
I/R	P=0.007	-----	P<0.001
I/R+GL	P<0.001	P<0.001	-----

4.9. KARACİĞER GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ (Karaciğer GSH-Px)

Ortalama karaciğer doku GSH-Px düzeyleri Kontrol grubunda 11.7 IU/ml, I/R grubunda 7.7 IU/ml, I/R+GL grubunda ise 10.6 IU/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olması nedeni ile I/R grubunun karaciğer doku GSH-Px düzeyinin anlamlı seviyede düşük olduğu görüldü. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında $p = 0,056$ çıktı. $p > 0,05$ olması nedeni ile GSH-Px düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı görüldü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında I/R+GL grubunun karaciğer GSH-Px düzeyinin daha yüksek olduğu görüldü ve $p < 0,05$ olması nedeni ile farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



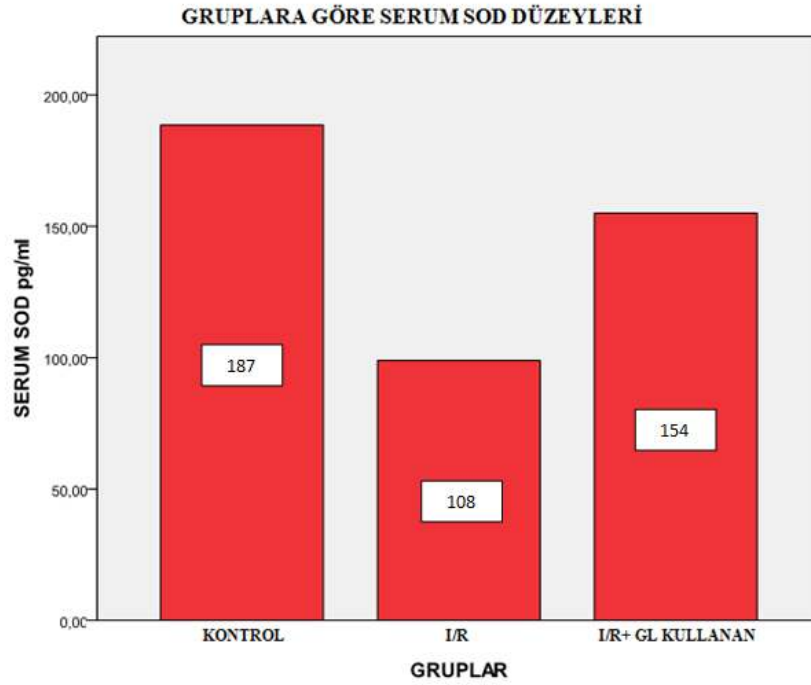
Grafik 4.9. Karaciğer Doku GSH-Px düzeyleri

Tablo 4.9. Karaciğer Doku GSH-Px düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P<0.001	P=0.056
I/R	P<0.001	-----	P<0.001
I/R+GL	P=0.056	P<0.001	-----

4.10. SERUM SÜPEROKSİT DİSMUTAZ DÜZEYLERİ (Serum SOD)

Ortalama serum SOD düzeyleri Kontrol grubunda 187 pg/ml, I/R grubunda 108 pg/ml, I/R+GL grubunda ise 153 pg/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında $p<0,05$ olması nedeni ile I/R grubunun serum SOD düzeyi kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük çıktı. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında $p<0,05$ çıktı ve I/R+GL grubundaki düşüklüğün anlamlı seviyede olduğu görüldü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise I/R+GL grubunun serum SOD düzeyinin daha yüksek olduğu görüldü ve $p<0,05$ olması nedeni ile farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



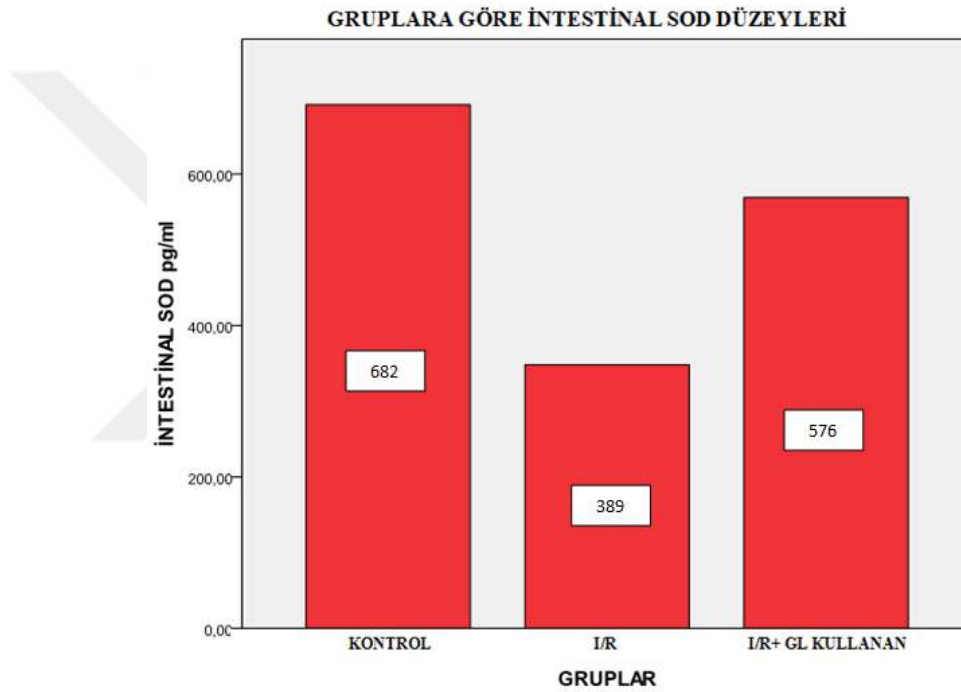
Grafik 4.10. Serum SOD düzeyleri

Tablo 4.10. Serum SOD düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	P<0.001	P=0.022
I/R	P<0.001	-----	P=0.002
I/R+GL	P=0.022	P=0.002	-----

4.11. İNTESTİNAL DOKU SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (İntestinal SOD)

Ortalama intestinal doku SOD düzeyleri Kontrol grubunda 682 pg/ml, I/R grubunda 389 pg/ml, I/R+GL grubunda ise 576 pg/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında $p<0,05$ olması nedeni ile I/R grubundaki intestinal SOD düşüklüğünün anlamlı olduğu görüldü. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise $p=0,077$ çıktı ve iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüdü. I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında ise I/R+GL grubunun intestinal SOD düzeyinin anlamlı seviyede yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).



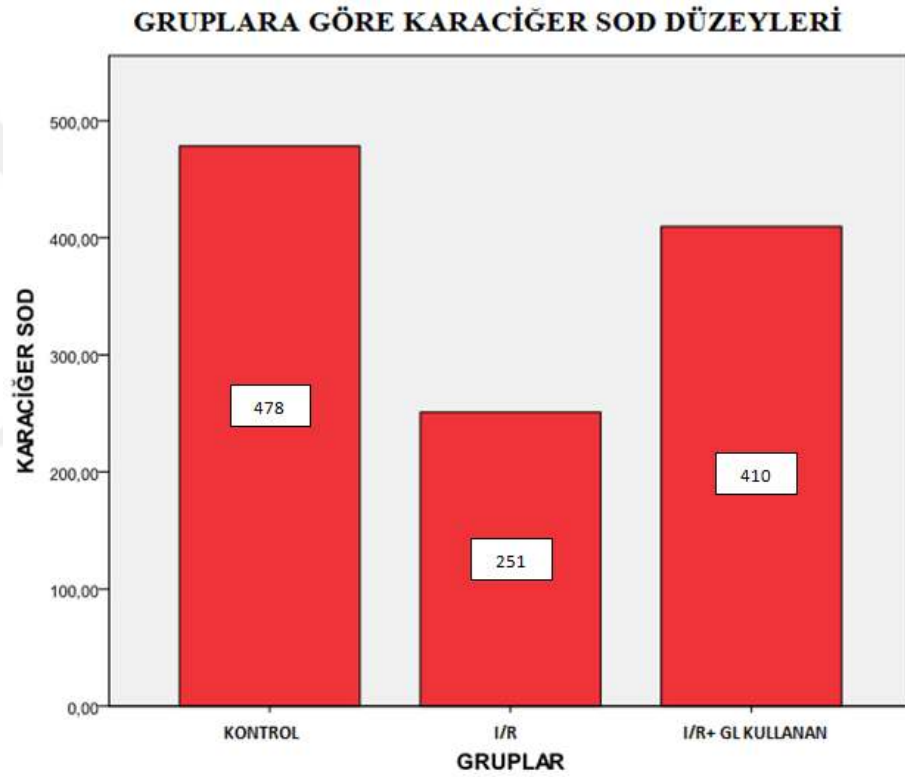
Grafik 4.11. İntestinal Doku SOD düzeyleri

Tablo 4.11. İntestinal Doku SOD düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	$P<0.001$	$P=0.077$
I/R	$P<0.001$	-----	$P=0.002$
I/R+GL	$P=0.077$	$P=0.002$	-----

4.12. KARACİĞER SÜPEROKSİT DİSMUTAZ DÜZEYLERİ (Karaciğer SOD)

Ortalama karaciğer doku SOD düzeyleri Kontrol grubunda 478 pg/ml, I/R grubunda 251 pg/ml, I/R+GL grubunda ise 410 pg/ml olarak ölçüldü. Tüm gruplar birbiri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile I/R grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olması nedeni ile I/R grubundaki düşüklüğün anlamlı olduğunu gördük. Kontrol grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($P=0.064$). I/R grubu ile I/R+GL grubu karşılaştırıldığında I/R+GL grubunun karaciğer SOD düzeyinin daha yüksek olduğu görüldü ve $p < 0,05$ olması nedeni ile farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.



Grafik 4.12. Karaciğer Doku SOD düzeyleri

Tablo 4.12. Karaciğer Doku MDA düzeyleri açısından grupların anlamlılık tablosu

	KONTROL	I/R	I/R+GL
KONTROL	-----	$P < 0.001$	$P = 0.064$
I/R	$P < 0.001$	-----	$P < 0.001$
I/R+GL	$P = 0.064$	$P < 0.001$	-----

4.13. İNCE BARSAK DOKUSUNDA HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

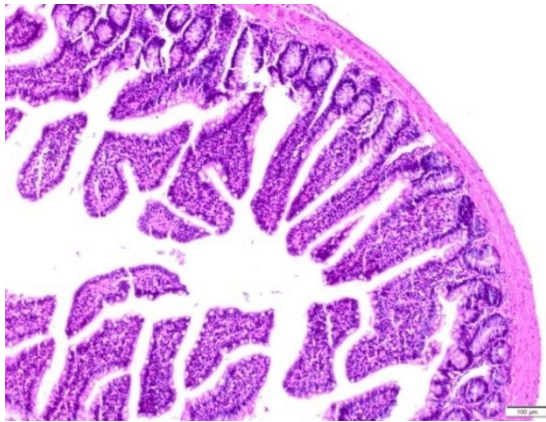
Gruplara ait ince barsak patolojisi Chui sınıflamasına göre değerlendirildi (87). Kontrol grubunda tüm ratlarda villuslar normal (Chui Evre 0) olarak değerlendirildi.

I/R Grubunda 6(%75) ratta Subepitelyal alanda genişleme ve villusların apeksinde kapiller konjesyon(Chui Evre1) görüldü. 2(%25) ratta ise subepitelyal alanın genişlediği ve epitelyal tabakanın lamina propriadan orta derecede ayrıldığı(Chui Evre2) görüldü.

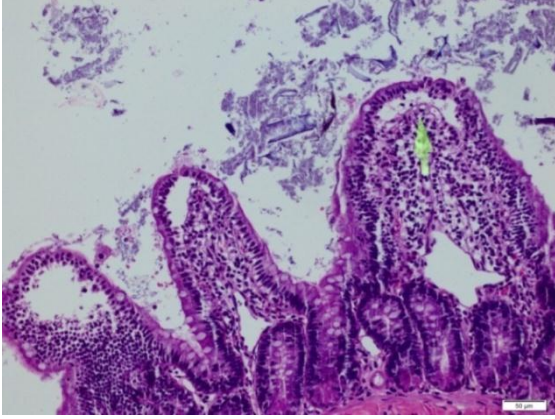
I/R+GL grubunda 4(%50) ratta villuslar normal olarak değerlendirilirken(Chui Evre0) 4(%50) ratta subepitelyal alanda genişleme ve villusların apeksinde kapiller konjesyon(Chui Evre1) tespit edildi.

Tablo 4.13. İnce barsak dokusundaki histopatolojik değişikliklerin Chui sınıflamasına göre dağılımı

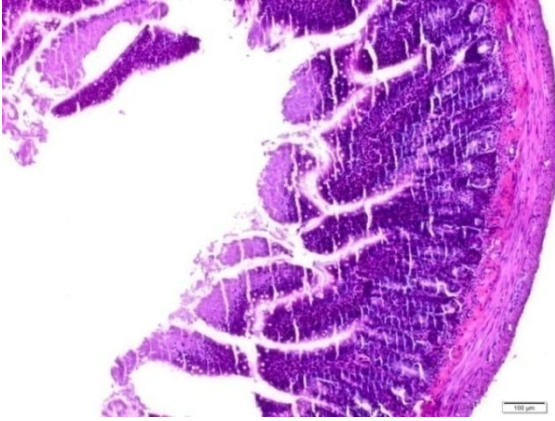
Gruplar	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5	Toplam
Kontrol	8						8
I/R	0	6(%75)	2(%25)				8
I/R+GL	4(%50)	4(%50)					8
EVRE	BULGU						
0	Normal villus						
1	Subepitelyal alanın genişlemesi, villusların apeksinde kapiller konjesyon						
2	Subepitelyal alanın genişlemesi ile epitelyal tabakanın lamina propriadan orta derecede ayrılması						
3	Villusların alt kısımlarının lamina propriadan ileri derecede epitelyal ayrışması						
4	Villusların soyulması, kapiller dilatasyon, lamina proprianın geçirgenliğinde artma						
5	Lamina propriada parçalanma, hemoraji ve ülserasyon						



Resim 4.1. Normal villus yapısı gösteren ince barsak dokusu (Chui Evre 0) (hematoksilin-eozin boyası, x100)



Resim 4.2. Subepitelyal ödem ve apikal epitel hücrelerinde kısmi ayrılma (ok) gösteren ince barsak mukozası, (Chui grade 1), (hematoksilin-eozin boyası, x200)



Resim 4.3. Villus uç kısmında epitel hücrelerinde dökülme ve nekroz, (Chui Evre 2) (hematoksilin-eozin boyası, x100)

4.14. KARACİĞER DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Tüm gruptan alınan karaciğer dokuları incelendiğinde kontrol grubundaki ratların tamamında karaciğerde hafif konjesyon bulgularına rastlandı. I/R grubundaki 2 (%25) rat karaciğerinde ağır konjesyon mevcuttu, 6 (%75) tanesinde ise hafif konjesyon bulguları görüldü. Ganoderma lucidum tedavisi alan I/R (I/R+GL) grubunda ise tüm ratlarda hafif konjesyon bulguları gözlemlendi.

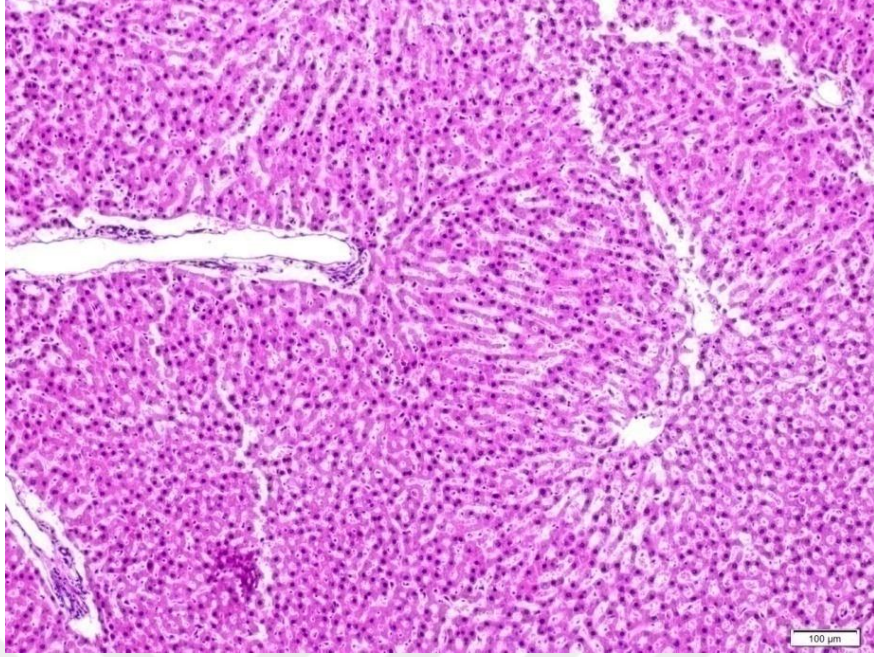
Karaciğer sinüzoidal dilatasyonlar açısından değerlendirildiğinde ise, kontrol grubunda tüm ratlarda hafif sinüzoidal dilatasyon tespit edildi. I/R grubunda 7 (%87,5) ratta hafif sinüzoidal dilatasyon gözlenirken, 1 (%12,5) ratta ağır dilatasyon gözlemlendi. I/R+GL grubunda ise tüm ratlarda hafif sinüzoidal dilatasyon görüldü.

Portal alanda inflamasyonaçısından değerlendirildiğinde, kontrol grubunda inflamasyona hiçbir ratta rastlanmadı. I/R grubunda portal alanda inflamasyon ratların sadece 2 (%25) tanesinde ağır düzeyde 6 (%75) tanesinde hafif düzeyde izlendi. I/R+GL grubunda ise 2 (%25) tanesinde hiç inflamasyon bulgusu gözlenmezken 6 (%75) tanesinde hafif inflamasyon bulguları mevcuttu.

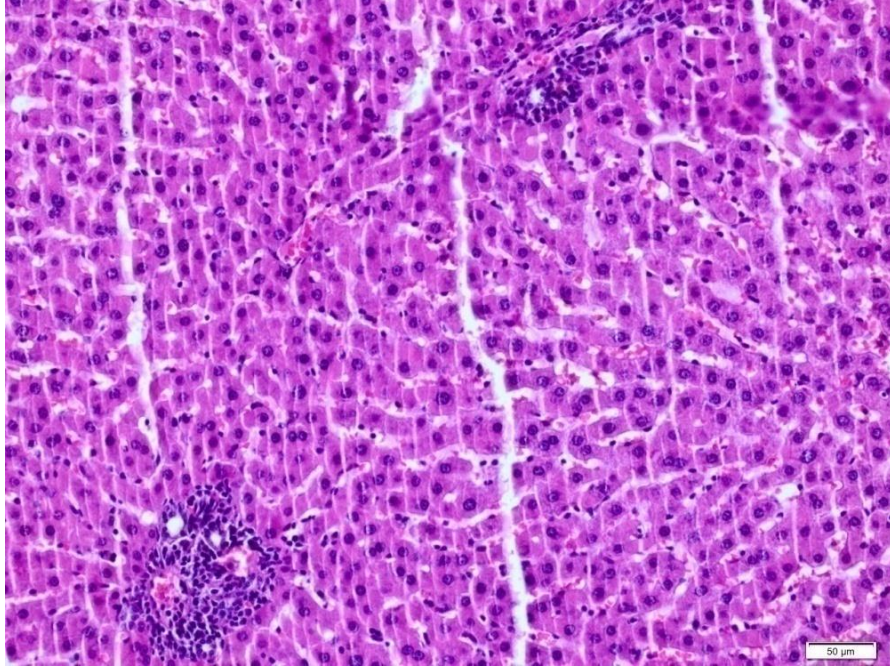
Tüm gruplar karaciğer vakuolar dejenerasyonu açısından değerlendirildi. Kontrol grubundaki hiçbir ratta dejenerasyon tespit edilmedi. I/R grubunda 1 (%12,5) ratta hafif vakuolar dejenerasyon görüldü ancak diğer 7(%87,5) ratta dejenerasyon bulgusuna rastlanmadı. I/R+GL grubunda ise hiçbir ratta vakuolar dejenerasyona rastlanmadı.

Tablo 4.14. Karaciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler

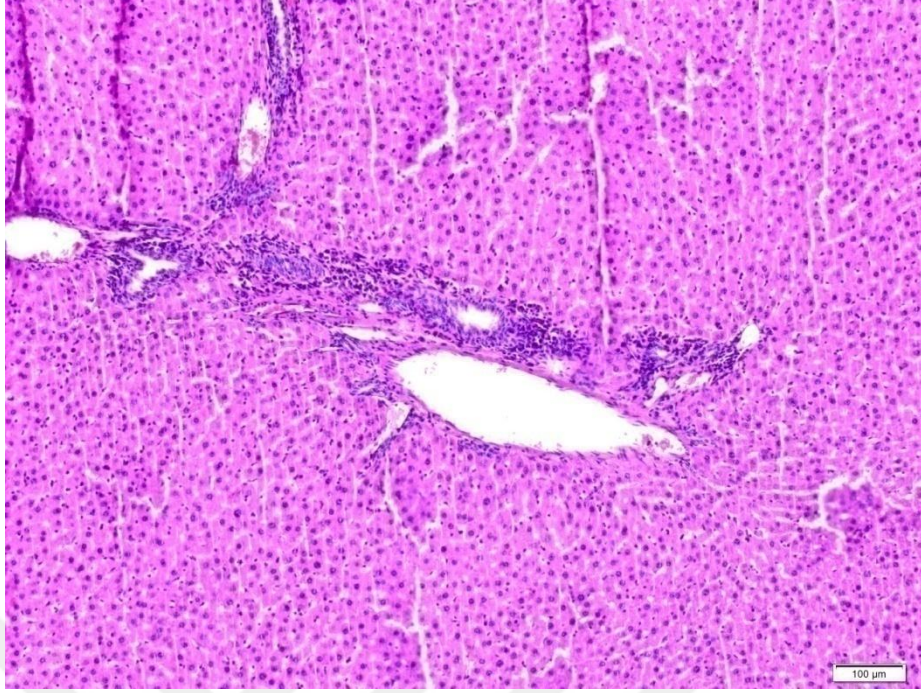
	Seviyesi	Kontrol Grubu	I/R Grubu	I/R+GL Grubu
Karaciğerde Konjesyon	Yok	0/8 (%0)	0/8 (%0)	0/8 (%0)
	Hafif	8/8 (%100)	6/8 (%75)	8/8 (%100)
	Ağır	0/8 (%0)	2/8 (%25)	0/8 (%0)
Karaciğerde Sinüzoidal Dilatasyon	Yok	0/8 (%0)	0/8 (%0)	0/8 (%0)
	Hafif	8/8 (%100)	7/8 (%87.5)	8/8 (%100)
	Ağır	0/8 (%0)	1/8 (%12.5)	0/8 (%0)
Portal Alanda İnflamasyon	Yok	8/8 (%100)	0/8 (%0)	2/8 (%25)
	Hafif	0/8 (%0)	6/8 (%75)	6/8 (%75)
	Ağır	0/8 (%0)	2/8 (%25)	0/8 (%0)
KaraciğerdeVakuolar Dejenerasyon	Yok	8/8 (%100)	7/8 (%87.5)	8/8 (%100)
	Hafif	0/8 (%0)	1/8 (%12.5)	0/8 (%0)
	Ağır	0/8 (%0)	0/8 (%0)	0/8 (%0)



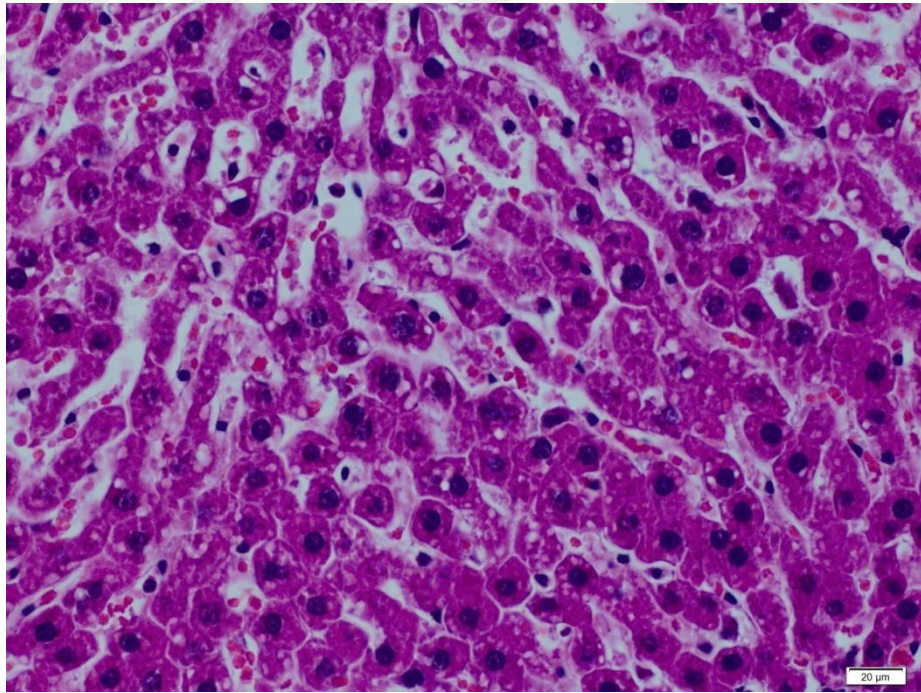
Resim 4.4. Yoğun sinüzoidal dilatasyon ve hafif konjesyongösteren, portal inflamasyon içermeyen karaciğer örneği, (hematoksilin-eozin boyası, x100)



Resim 4.5. Hafif sinüzoidal dilatasyon, konjesyon ve portal inflamasyon içeren karaciğer dokusu, (hematoksilin-eozin boyası, x200)



Resim 4.6. Yoğun portal inflamasyon içeren karaciğer örneği, (hematoksilin-eozin boyası, x100)



Resim 4.7. Vakuoler değişiklik içeren karaciğer dokusu, (hematoksilin-eozin boyası, x400)

5. TARTIŞMA

Dokuların oksijen gereksinimi kan yoluyla sağlandığından, dokuya giden kan akımında azalma olması durumuna iskemi, dokuya giden kan akımında azalmaya neden olan etkenin ortadan kalkmasından sonra dokunun yeniden kanlanması ise reperfüzyon olarak tanımlanmaktadır. İntestinal kan akımını sağlayan en önemli vasküler yapı olan superior mezenterik arter; ince barsakların önemli bir bölümünü, çıkan kolonu ve transvers kolonun proksimal kısmını besleyen ana vasküler yapıdır. İntestinal iskemi genellikle SMA'nın etkilenmesi sonucu oluşur. İMA ve Çölyak arterin etkilendiği durumlar çoğunlukla asemptomatik seyreder.

SMA veya dallarının emboli, tromboz, aterosklerotik değişiklikler nedeniyle tam yada kısmi tıkanmaları, bunun yanında invajinasyon, volvulus, strangulasyon, nekrotizan enterokolit gibi intestinal kan akımını bozan klinik tablolalarda, yada hipovolemik şok, sepsis gibi özellikle splanknik alanın kan akımında azalma olduğu durumlarda mezenter iskemiden söz edilmektedir (87,88).

İskemik dokunun canlılığını sürdürebilmesi için ön koşul reperfüzyondur. Dokuya giden kan akımının azalmasına neden olan etken ortadan kalkıp kan akımı yeniden sağlandığında reperfüzyon gerçekleşmektedir. Reperfüzyon iskemi sırasında kaybolmuş bazı fonksiyonların geri dönmesini sağlarken diğer taraftan da hücre kaybı devam ederek daha ileri hasarlara neden olmaktadır. Bu durum I/R hasarı olarak isimlendirilen önemli bir durumdur. Doku hasarı açısından iskemiden daha etkili olan bu tabloda; hücre hasarına yol açabilen birden fazla mekanizma aktive olmaktadır (90). İnce barsaklar intra abdominal organlar içerisinde iskemiden en fazla etkilenen organdır (91). İntestinal dokuda oluşan iskemi reperfüzyon hasarı bir çok mekanizmaların aktive olmasıyla multiorgan disfonksiyonuna kadar gidebilmektedir. Bu nedenle ciddi morbidite ve mortalite riski taşımaktadır.

Gastrointestinal sistem kaynaklı acillerin %1-2 kadarını akut mezenter iskemi oluşturmaktadır. Hastaların %90'dan fazlası 60 yaşın üzerindedir. İntestinal iskemide mortalite yüksektir (%50-80). Mortalitede etkili olan en önemli faktörler, barsak tutulum genişliği, iskeminin derinliği ve tanıdaki gecikmedir. Doku nekrozunun ortaya çıkmasından sonra tanı konulması tedavi seçeneklerini azaltmaktadır. İlk 24 saat içinde tanı konulan hastalarda mortalite %40'larda iken, gecikmiş tanılarda bu oran %70'lere yükselmektedir (92). Mezenter iskemiyeye eşli eden yandaş hastalıkların varlığı ve ileri yaş, mortaliteyi yükselten diğer faktörlerdir. Tanıda gecikilen hastalarda geniş ince barsak ve kolon rezeksiyonları

gerekebilmektedir. Operasyon sonrası yaşayan hastaların çoğunda beslenme problemi ve kısa barsak sendromu ortaya çıkabilmektedir. Mortalitenin yüksek olması nedeni ile tedavi arayışları ve koruyucu terapi arayışları devam etmektedir.

İskemi reperfüzyon hasarının oluşumunda tek bir mekanizma değil birden fazla mekanizma etkili olmaktadır. Kompleman aktivasyonu, proinfalamatuar ve inflamatuar sitokinlerin aktivasyonu, serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkışı birbirini tetikleyen ve organ hasarına kadar gidebilen olaylar zincirinin önemli basamaklarıdır. Özellikle nötrofil aktivasyonu ile endotel ilişkisi sonucu toksik maddelerin açığa çıkması, ksantin oksidaz enzim sistemi, sitokinler ve serbest oksijen radikalleri doku hasarından sorumlu başlıca etmenlerdir (93).

İntestinal İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında lizozomal hidrolaz enzimlerinin salınımı ve mikrovasküler geçirgenliğin artışı takiben mukozada ödem, kanama, nekroz, villuslarda yassılaşma ve mukoza bütünlüğünde bozulma oluşmaktadır.

Bir dokunun iskemi düzeyi tıkanan damarlardaki kan akımının miktarına ve tıkanma süresine bağlı olarak değişik derecelerde doku yıkımı ile sonuçlanır. İskemiye bağlı hasarın özelliği dokunun tipine göre değişiklik göstermektedir. İnce barsaklar, iskemi reperfüzyon hasarına karşı en duyarlı intraabdominal dokudur (91,94).

I/R hasarına bağlı doku hasarını başlatan en önemli faktör SOR'dur. Oksijenli solunum yapan canlıların tamamında metabolizmalar sonucu oksidatif stres gözlenmektedir. Dokuların kullandığı oksijenin çoğunluğu (%95) aerobik metabolizma için kullanılırken, %5'lik bir kısmı ise SOR'ne dönüşmektedir. Oksijenden üretilen en önemli SOR'leri arasında süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikalleri bulunmaktadır. Bu radikaller membran hasarı, DNA hasarı, lipid ve protein peroksidasyonu, proteaz aktivasyonu ve bunları takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümüne neden olmaktadır (95).

Dokuların hipoksiye dayanıklılık süreleri farklıdır. Nöronlar daha çabuk etkilenirken çizgili kaslar saatler süren iskemiden etkilenmezler. Ratlarda iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan çeşitli in vivo deneysel modeller geliştirilmiştir. Bu modellerde, intestinal iskemi oluşturmak için, SMA'ya oklüzyon uygulanmıştır. Bununla beraber, iskemi ve reperfüzyon süreleri konusunda modeller farklı tercihler kullanmıştır. Daha derin bir iskemi oluşturabilmek için, kollateral akımlarında önlenildiği modeller mevcuttur.

Megison ve arkadaşları, izole SMA oklüzyonunun yapıldığı durumlarda mezenter akımının %83 azaldığını, kollateral akımın da kesilmesi sonucunda ise intestinal kan akımında %98 oranında azalma olduğunu göstermişlerdir (96). Nonenzimatik ve enzimatik mekanizmalar ile antioksidan maddeler ve mekanizmalarla ilgili birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. I/R hasarında etkili ve birbiri ile kompleks etkileşimleri mevcut olan birçok mekanizma mevcuttur. Bu kompleks mekanizmaları açıklayabilmek ve I/R'nin olumsuz etkilerini azaltabilmek amacı ile birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar içerisinde intestinal I/R hasarı modeli sık kullanılan bir model olarak karşımıza çıkmaktadır. Benzer çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilebilse de, intestinal I/R modelinin çalışılması daha kolay, sonuçları objektif ve klinik uygulamalar ile örtüşen bir model olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda İntestinal iskemi reperfüzyon modelini tercih ettik.

İntestinal I/R hasarı deneysel modellerinde farklı sürelerde iskemi ve farklı sürelerde reperfüzyon uygulamaları mevcuttur. Laurens ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 60 dk. iskemi ve 60 dk. reperfüzyon yaparak intestinal I/R hasarı oluşturmuşlardır (97). Lan Liu ve ark. yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise iskemi süresini 60 dk., reperfüzyon süresini ise 120 dk. olarak belirlenmiştir (98). Çinkonun intestinal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan etkisini araştıran bir çalışmada ise 60 dk. iskeminin ardından 90 dk reperfüzyon uygulanmıştır (99). Boyd ve arkadaşları (100) hamsterlere uyguladıkları 30 dk. mezenter iskemi ve ardından üç saatlik reperfüzyon yaptıkları deneysel çalışmada E vitamini, γ hidroksibutirat ve allopurinol uygulamışlardır. Yoshida ve ark. (99), ratlarda splanknik arterde 40 dk. iskemi, 110 dk. reperfüzyon uyguladıkları deneyde antioksidan olarak taurin, E vitamini ve selenyum kullanmışlardır. Biz de çalışmamızda, intestinal I/R hasarı oluşturabilmek için ratlarda süperior mezenter artere 30 dk. iskemi ve 90 dk. reperfüzyon uyguladık.

Yeryüzünde yaklaşık 140.000 çeşit mantar olduğu tahmin edilmektedir. Bu mantarların yaklaşık %10'u tarif edilmiş ve bunlarında yaklaşık 2.000'i yenilebilmektedir. Yenilen mantarların 25'den azı ticari olarak üretilmektedir (63). Tıbbi mantarların geleneksel tedavilerde uzun bir geçmişi vardır ve mantar metabolitleri giderek geniş bir hastalık yelpazesini tedavi için kullanılmaktadır. İncelenen bu mantarların her birinde çok miktarda farklı biyoaktif molekül olduğu görülmüştür. Polisakaritler, proteinler, polisakarit-protein kompleksleri, lipid bileşenleri (ergosterol), alkaloidler, küçük peptidler, amino asitler,

nükleotidler ve nükleozitler bu bioaktif moleküllerin bileşenleridir. Bu biyoaktif moleküllerin immün sistemin farklı hücreleri üzerine uyarıcı etkilerinin bulunduğu bilinmektedir. Bu mantarlardan derin geçmişli olan *Ganoderma lucidum* ile alakalı çok miktarda çalışma yapılmıştır. Güncel bilgiler doğrultusunda kullanım alanı genişleyen ve faydaları tespit edilen GL araştırmacıların ilgisini çekmiştir.

Japonya'da Reishi (10000 yıl mantarı) mantarı olarak bilinen *ganoderma lucidum*, çok eski bir tarihi geçmişe sahiptir. Çin'de Linghzi (ölümözlük iksiri) adıyla anılan mantarın birçok hastalığı tedavi ettiğine inanılmaktadır. Yapısında polisakkaridler, triterpenler gibi birçok biyoaktif maddeler bulundurmaktadır. *Ganoderma lucidum*, tarih boyu birçok hastalığın tedavisinde kullanılması nedeniyle bilim insanlarının ilgisini çekmiş ve çok fazla araştırmaya konu olmuştur. Bu çalışmalar neticesinde antiinflamatuvar, antidiabetik, immünmodülatör, antiinflamatuvar, antibakteriyel, nöroprotektif, antioksidatif ve antitümör özellikleri öne çıkmıştır (62).

Etkin maddeyi belirleme aşamasında yaptığımız literatür taramasında *ganoderma lucidum*un renal I/R hasarında (65), kardiyak I/R hasarında (66), serebral I/R hasarında (64) etkilerini inceleyen çalışmaların yapılmış olduğunu gördük. İncelememizde antioksidan özelliği öne çıkan *ganoderma lucidum* mantarının intestinal I/R hasarına etkilerinin test edilmediğini farkettiler. Bizde bu nedenle GL polisakkaritlerini intestinal iskemi reperfüzyon hasarını önleyici muhtemel etkileri açısından araştırdık *Ganoderma lucidum*u 250 mg/kg enteral kullanım dozunda kullandık.. Literatürde de bu dozabenzar doz tercihleri mevcuttur (101).

AMI tanısında klinik muayeneye ek olarak, radyoloji ve laboratuvardestek alınmaktadır. Hastalar genellikle karın ağrısı, mide bulantısı, kusma, ishal ve rektal kanama şikayetleri ile kliniğe başvurmaktadır. Radyolojik olarak; direkt karın grafisi ve CT Anjiyografiye ek olarak tanıda selektif mezenterik anjiyografi altın standarttır.

AMI tanısında tanı koydurucu spesifik bir laboratuvar parametresi yoktur. Amilaz, aspartat transaminaz (AST), kreatin fosfokinaz (CPK), laktat dehidrogenaz (LDH) düzeylerinde artma izlenmekle beraber hiçbirisi duyarlı ve özgöl değildir (102). D-dimer, D-laktat, L-laktat, alkalen fosfataz, Alfa glutatyon S-transferaz, ve intestinal yağ asidi bağlayıcı globulin gibi serum belirteçleri araştırılmış ve halen net bir biyokimyasal belirteç bulunmamıştır (103).

Gerek deneysel intestinal I/R modellerinde, gerekse klinikte hasta takibinde ve tedavi edici ajanların etkinliğinin araştırılmasında trombosit, lökosit, hemoglobin düzeyleri gibi laboratuvar parametreleri kullanılmıştır.

Ratlarda yapılan deneysel intestinal I/R hasarı modellerinde I/R grubu ratlarda WBC değerinin yükseldiği bilinmektedir (104). Bizde çalışmamızda gerek I/R hasarının oluştuğunun kanıtlanmasında gerekse GL'nin iyileştirici etkilerinin araştırılmasında lökosit düzeylerini de parametre olarak araştırdık. Gördük ki GL tedavisi I/R hasarın sonucu gözlenen lökosit düzeylerindeki artış GL tedavisi sonrası normal düzeylere yaklaşmıştı. Ganoderma lucidumun lökosit düzeyleri üzerindeki iyileştirici etkileri immün modulator ve antiinflamator özellikleriyle açıklanabilmektedir.

Literatüre bakıldığında; Hongyan Zhao ve arkadaşlarının (105) ve Yali Shi ve arkadaşlarının (106) farelerde yapmış oldukları çalışmalarda Ganoderma lucidumun immünmodulator etkinliğini gösterdiler. Ganoderma lucidumun antiinflamator mekanizması açık olarak ortaya konabilmiş değildir. Shailesh Dudhgaonkar ve arkadaşları (107), yapmış oldukları bir çalışmada ganoderma lucidumda bulunan triterpenlerin konakçı inflamator yanıtının baskılanmasında etkili olduğunu vurgulamışlardır. Ganoderma lucidumun makrofajlar üzerindeki anti-inflamator ve anti-proliferatif etkilerini NF- κ B ve AP-1 sinyal ara yolları üzerinden gerçekleştirdiğini kanıtlamışlardır.

I/R hasarında trombosit değerinde yükselmenin olduğu bildirilmiştir (104). Artan trombosit miktarı ile doku hasarı arasında paralellik mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, trombosit eksikliği olan farelerin, trombosit sayıları normal olan farelere kıyasla I/R'ye yanıt olarak ince barsak villuslarında gerçekleşen hasarda önemli ölçüde azalma olduğu bildirilmiş (108), ancak I/R'nin ardından doku hasarının ilerlemesinde trombositlerin rolü ve mekanizması halen bilinmemektedir.

Çalışmamızda deneysel intestinal I/R hasarı modelini başarıyla oluşturabildiğimizi desteklemek ve ganoderma lucidumun etkilerini karşılaştırabilmek için kullandığımız parametrelerden birisi de trombosit düzeyleriydi. İntestinal I/R grubu ratlarda trombosit düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı yüksek bulundu. Ganoderma lucidum tedavi grubu ratlarda ise trombosit düzeyleri; İntestinal I/R grubundan anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü. Kontrol grubu ile tedavi grubunu karşılaştırdığımızda ise anlamlı farkın olmadığı tespit edildi. GL'nin I/R hasarı sonrası gelişen trombosit düzeylerindeki artışı

frenleyici etkisi yapısındaki biyoaktif maddelerin özellikle polisakkaridlerin antikoagulan ve immün modulator özellikleriyle açıklanabilmektedir.

Ratlar üzerinde yapılan İntestinal I/R hasarı çalışmalarında hemoglobin değerinde anlamlı değişikliğin olmadığı bildirilmiştir (104). Bizimde çalışmamızda tüm gruplar arasında hemoglobin düzeyleri açısından anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

İntestinal I/R hasarının oluşumunda proinflatuar ve inflamatuvar sitokinler özellikle TNF- α ve IL-1 yanında serbest oksijen radikalleride etkili olmaktadır. TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerin inaktivasyonu yada inhibisyonu sonucu intestinal I/R hasarının şiddetinde gerileme olduğu gösterilmiştir. Mukozal bariyerin bozulması, intralümenal kaçak, yani bakteriyel translokasyon önemli ölçüde gerilemektedir (91).

İntestinal venöz sistemin portal venöz sisteme boşalmaktadır. Karaciğer dokusunun oksijenasyonunun önemli bir bölümü ise portal venöz sistemden sağlanmaktadır. Mezenter iskeminin portal ven kan akımını azaltarak karaciğeri etkileyebildiği bilinmektedir (3). Bu nedenle çalışmamızda serum ve intestinal örneklerin yanı sıra karaciğer dokusundan da örnekler alarak çalışmamıza dâhil ettik.

Lipitlerin oksidatif strese en fazla maruz kalan moleküller olduğu bilinmektedir. Bu nedenle lipit peroksidasyon ürünleri I/R hasarının en önemli belirteçlerindendir (65,109). Doku lipit peroksidasyonu farklı yöntemlerle ölçülmektedir. MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan büyük zincir reaksiyonların parçalanma ürünüdür. Bu nedenle oksidatif stresin güvenilir bir markeri olarak bilinmektedir (110). Çalışmamızda I/R hasarının biyokimyasal parametrelerinden biri olarak MDA düzeylerini kullandık.

Zhong ve arkadaşları (65), ganoderma lucidum polisakkaritlerinin (GL-PS) böbrek I/R hasarı sonucu ortaya çıkan oksidatif stresi önleyici rolünü araştırdıkları bir çalışmada, hasarın göstergesi olarak böbrek MDA düzeylerine bakmışlardır. I/R hasarı yapılan gruptaki MDA düzeylerinin GL-PS kullanan gruba kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda GL-PS'nin böbrek I/R hasarı üzerine olumlu etkilerini bildirmişlerdir.

Zhonghui ve arkadaşlarının (111) yaptıkları bir çalışmada, GL-PS'nin iskelet kaslarında iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. İskelet kaslarındaki iskemi neticesinde ortaya çıkan lipit peroksidasyonu göstergesi olarak doku MDA seviyesini, GL-PS'lerinin antioksidan etkinliğini değerlendirilmesi için ise, dokuda SOD, GSH-Px ve katalaz seviyelerini çalışmışlardır. GL-PS'nin farelerin iskelet kasındaki

MDA düzeylerini etkili bir şekilde azalttığını tespit etmişlerdir. Yüksek doz GL-PS'nin (200 mg/kg vücut ağırlığı) etkisini daha iyi ortaya koyduğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak; GL-PS'nin lipid peroksidasyonunu azalttığını ve egzersize bağlı oksidatif hasarı önlediğini kanıtlamışlardır.

Çalışmamızda serum, intestinal ve karaciğer doku örneklerinde MDA düzeyi çalıştık. I/R grubunda hem serum, hem intestinal, hem de karaciğer örneklerinde MDA değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yükselmiş olması deneysel modelimizde I/R hasarının tam anlamıyla gelişmiş olduğunu göstermekteydi.

I/R grubu ile I/R hasarı öncesinde GL tedavisi almış grupları serum MDA düzeyleri açısından karşılaştırdığımızda GL+I/R grubunun MDA düzeyleri I/R grubundan daha düşük ve kontrol grubuna daha yakın olduğu saptandı. GL tedavi grubunun ve Kontrol grubunun serum MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı görüldü. Serum MDA düzeyindeki değişim açısından değerlendirildiğinde GL'nin literatürde daha öncede kanıtlanmış olduğu gibi lipid peroksidasyonunu azalttığı ve bu şekilde doku hasarını önleyici etkisinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Chen ve arkadaşları (112) GL-PS'nin, farelerde metotreksata kullanımı sonrası gelişen ince barsak hasarına yönelik iyileştirici etkilerini inceledikleri çalışmada, oksidatif stres göstergesi olarak intestinal MDA düzeylerine bakmışlar ve GL-PS'lerin intestinal MDA düzeylerini azalttığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda intestinal MDA düzeyleri incelendiğinde GL kullanılan grupta MDA düzeyi I/R grubuna kıyasla kontrol grubuna daha yakın çıktı. Bu sonuçlar GL'nin intestinal doku hasarını önleyici etkisini aklımıza getirdi.

Lin ve arkadaşları (113), ratlarda karbon tetraklorür ile indüklenen karaciğer fibrozisi üzerine Ganoderma lucidum'un iyileştirici etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada karbon tetraklorürün ratlarda karaciğer fibrozisini indükleyip, MDA ve hidroksiprolin konsantrasyonlarını belirgin olarak yükselttiğini tespit etmişlerdir. GL ekstaktının ise karbon tetraklorürün yükselttiği hepatik MDA ve hidroksiprolin seviyesini azalttığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda mezenter I/R hasarına sekonder karaciğer doku hasarıyla ilişkili karaciğer MDA düzeylerini inceledik. İntestinal MDA düzeyinde olduğu gibi karaciğer MDA düzeyinde de GL tedavi grubunun sonuçları kontrol grubuna I/R grubundan daha yakın çıktı. Bu sonuçlar çerçevesinde GL'un lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyesini hem dokuda

hem de serumda kontrol grubuna yaklaştırdığını gördük ve doku hasarında olumlu etkilerinin olduğunu kanıtladık.

Dokularda oluşan serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkileri anti-oksidan mekanizmalarla ortadan kaldırılır. Dokularda serbest radikaller ile antioksidan mekanizmalar bir denge halindedir. Bu dengenin serbest radikaller lehine bozulması durumunda hücrelerde işlev bozukluğu ortaya çıkar. Antioksidanlar üç ana grup olarak sınıflandırılır. İlk grup oksidan maddeleri nötralize eden e vitamini, c vitamini gibi maddelerdir. Bir diğer grup ise ferritin, laktoferrin seruloplazmin gibi SOR'ların oluşumunu engelleyen sistemlerdir. Son grup ise SOD ve GSH-Px'inde içinde bulunduğu antioksidan emzim sistemleridir. I/R hasarında oksidatif stres oluşur ve hem dokuda hemde kanda serbest oksijen radikallerinde artış olur. Bu artışı kompanze edebilmek için antioksidan mekanizmalar devreye girer (34).

Bizde çalışmamızda antioksidan sisteminin enzimlerinden olan SOD ve GSH-Px ölçümü ile oksidatif strese karşı konakçının antioksidan sistem aktivitesini ve GL'nin bu mekanizmaya olan etkisini inceledik. I/R grubunda hem serum, hem intestinal, hem de karaciğer örneklerinde SOD ve GSH-Px değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşmüş olduğunu gördük. Bu sonuç bizlere I/R çalışma grubu ratlarımızda oksidatif stresin geliştiğini göstermekteydi.

Çalışmamızda serum intestinal doku ve karaciğer doku örneklerinde SOD ve GSH-Px düzeyleri çalışıldı. I/R grubu ile GL tedavi grubu serum SOD düzeyleri karşılaştırıldığında GL tedavi grubunun SOD düzeyleri I/R grubundan daha yüksek ve kontrol grubuna daha yakın olduğu görüldü. Serum SOD düzeyindeki değişim açısından değerlendirildiğinde GL'un antioksidan sistem enzimi olan SOD'u artırarak antioksidan etkinlik gösterdiği sonucunu akla getirmektedir.

Zhonghui ve arkadaşlarının (111) GL-PS'nin iskelet kaslarında iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada; GL-PS'lerin antioksidan etkinliğini değerlendirmek için, kas dokusunda SOD, GSH-Px ve katalaz seviyelerine bakmışlardır. Bu çalışmada, GL-PS'nin ratların iskelet kasında SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerinde artış oluşturduğunu göstermişlerdir.

Chen ve arkadaşları (112) GL-PS'nin, farelerde metotreksata bağlı oluşan ince barsak hasarına etkilerini inceledikleri çalışmada, antioksidan enzim olarak intestinal SOD bakmışlar ve GL-PS'nin SOD'un dokudaki seviyesini yükselterek, antioksidan etkinliğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda intestinal SOD düzeyleri incelendiğinde GL tedavi grubunda SOD düzeyinin I/R grubuna kıyasla kontrol grubuna daha olduğu görüldü. Benzer şekilde karaciğer dokusu SOD değerlerini incelediğimizde GL kullanılan grubun SOD değerinin daha yüksek ve kontrol grubuna anlamlı düzeyde daha yakın olduğunu tespit ettik. Bu sonuç bize GL'un intestinal dokuda I/R hasarı sırasında ortaya çıkan oksidatif strese karşı koruyucu etkinliğini aklımıza getirmektedir.

Çalışmamızda grupların intestinal GSH-Px değerini ölçtüğümüzde GL tedavi grubunun sonuçlarının I/R grubundan daha düşük olduğunu gördük. Ancak karaciğer GSH-Px değerlerine bakıldığında ise GL+I/R grubunun sonuçlarının I/R grubundan daha yüksek ve kontrol grubuna yakın olduğunu gördük. GSH-Px sonuçları açısından değerlendirildiğinde GL'nin antioksidan etkinliği karaciğer dokusunda tespit ettik.

İntestinal I/R hasarının histopatolojik incelenmesinde çeşitli sınıflandırma yöntemleri tanımlanmıştır. Chui ve ark. (87), Yoshida ve ark. (99), Hierholzer ve ark. (114), Stallion ve ark. (115) farklı sınıflandırmalar yapmışlardır. Biz çalışmamızda ince barsak histopatolojik inceleme sonuçlarını değerlendirmek için Chui ve ark. tarafından tanımlanan histopatolojik sınıflamayı kullandık. Bu sınıflamayı seçmemizde sade, basit, kullanılabilir olması ve ince barsak doku hasarını iyi göstermesi etken olmuştur.

Liu-hua Chen ve arkadaşları (112) yapmış oldukları çalışmada metotraksat etkisi ile ince barsak mukozasında oluşan hasara ganoderma lucidumun iyileştirici etkilerini araştırmışlardır. Bu araştırmada ince barsak villuslarında kısalma, değişik derecelerde füzyon, epitelyal atrofi, kript hücrelerinin sayısında azalma ve kriptlerde abse oluşumu gibi değişikliklerine bakılmıştır. Tüm bu değişikliklerin yanında lamina propria polimorfonükleer hücre infiltrasyonunu, villus ve kriptlerdeki goblet hücre sayılarında azaltıcı etkilerini incelemiştir. Bu çalışma sonucunda ganoderma lucidum polisakkarit tedavisi ile tüm olumsuz değişikliklerin azaldığını kanıtlamışlardır. Aynı çalışmada GL-PS'nin barsak mukozasında IgA seviyelerini arttırarak intestinal immüniteyi düzelttiğini de gösterilmişlerdir. İn vivo koşullarda GL-PS'nin antioksidan ve intestinal immünmodülatör etkinliği de gösterilmiştir.

Deneyisel modelimizde; intestinal doku örnekleri olarak intestinal I/R hasarını histopatolojik olarak inceledik. İntestinal I/R hasarına karşı ganoderma lucidumun iyileştirici etkilerini araştırdık. İntestinal iskemi ve reperfüzyonun ardından hiçbir grupta ağır atrofi, ayrışma, ülserasyon ve hemoraji izlenmedi. I/R grubunda %75 oranında subepitelyal alanda

genişleme ve villusların apeksinde kapiller konjesyon (Chui Evre1) görüldü. %25'inde ise subepitelyal alan genişleyerek epitelyal tabaka lamina propriadan orta derece ayrılmıştı (Chui Evre2). Ganoderma lucidum tedavi grubunda ise %50 ratta villuslar normal olarak değerlendirilirken (Chui Evre0) %50 ratta subepitelyal alanda genişleme ve villusların apeksinde kapiller konjesyon (Chui Evre1) tespit edildi. Bu sonuçlar ışığında ganoderma lucidum tedavisinin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oldukça duyarlı olan barsak mukozasında belirgin koruyucu etki oluşturduğunu gözlemledik.

Benzer şekilde ganoderma lucidum bünyesindeki triterpenlerinde inflamatuvar yanıtın supresyonunu NF- κ B transkripsiyonunu inhibe ederek yaptığı gösterilmiştir (107). Ganoderma lucidumun karaciğer koruyucu etkilerinin bir diğer mekanizmasının da lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikallerinin aktiviteerini inhibe ederek olduğu kanıtlanmıştır (63). Bulgularımız bu literatür bulgularıyla uyumluydu.

İntestial iskemi-reperfüzyon sonrası karaciğer dokusunda da hasar gözlenmektedir. Karaciğer hasarı ile birlikte hastalarda genellikle multiorgan disfonksiyonu ortaya çıkar (116). Portal dolaşım bozukluğu, ortaya çıkan sitokinler ve serbest radikaller gibi birçok etkene bağlı karaciğer dokusunun etkilendiği görüşü savunulmaktadır.

Deneyisel çalışmamızda intestinal I/R sonrasında karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler; karaciğer sinüzoidal dilatasyon, sinüzoidal konjesyon, portal alanda inflamasyon ve vakuoler dejenerasyon açısından değerlendirildi. Ganoderma lucidum tedavisi alan ratlarda, I/R hasarına bağlı karaciğer dokusunda oluşan histopatolojik değişikliklerin önemli ölçüde gerilemiş olduğunu saptadık. Ganoderma lucidum tedavisinin intestinal I/R sonucu oluşabilecek karaciğer hasarını azaltıcı ve iyileştirici etkisini, büyesinde barındırdığı polisakkaridlerin ve triterpenlerin; antioksidan anti-inflamatuvar ve immünmodulatuvar etkileri sayesinde gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

Ganoderma lucidumun karaciğer koruyucu etkilerini lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikallerinin aktivitelerini azaltarak ortaya koyduğu kanıtlanmıştır (63). Bir diğer çalışmada ise Dudhgaonkar ve arkadaşları (107), ganoderma lucidum bünyesindeki triterpenlerin inflamatuvar yanıtın supresyonunu NF- κ B transkripsiyonunu inhibe ederek yaptığı gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

Günümüzde cerrahi kliniklerinde yüksek morbidite ve mortaliteyle seyreden Akut mezenter iskemisinin erken tanı ve tedavisine yönelik araştırmalar bütün hızıyla devam etmektedir. Çünkü erken tanıda yardımcı olabilecek güvenilir spesifik ve sensitif tanı koydurucu parametre olmadığı gibi, tanıdaki gecikmeye bağlı olarak orga yetmezliğine gidişte etkili olabilecek tedavi edici bir ajanda bulunmamaktadır.

Bu arayışlara paralel olarak çalışmamızda Reishi mantarı olarak bilinen Ganoderma Lucidumun daha önce renal, kardiyak ve serebral dokularda kanıtlanmış iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkilerini bu kez intestinal iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde araştırmayı amaçladık. Bu yönüyle çalışmamız literatürde ilk örnek olacaktır.

Deneyssel modelimiz literatürde yaygın kabul görmüş modellerden birisiydi ve uyguladığımız süreçler 30 dakikalık iskemi ve 90 dakikalık reperfüzyon süreçleride literatür verileriyle uyumluluk göstermekteydi. Çalışmamızda esas aldığımız parametreler dünya literatüründe gerek iskemi reperfüzyon hasarının kanıtlanmasında gerekse tedavi edici ajanın etkinliğinin araştırılmasında kullanılan parametrelerdi.

Parametreler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gerek I/R hasarının oluştuğu gerekse GL'niniyleştirci etkileri anlamlı ölçüde ortaya konmuştu.

I/R hasarına bağlı lökosi vetrombosit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış, GL tedavi grubunda anlamlı ölçüde gerilemişti. I/R hasarına bağlı oksidatif stresin anlamlı parametreleri MDA, SOD ve GSH-Px düzeyleri I/R grubunda anlamlı değişiklikler gösterirken GL tedavisinin bu düzeyler üzerinde anlamlı iyileştirici etkileri olduğunu kanıtladık.

Sadece serum parametreleri değil aynı zaman da intestinal ve karaciğer doku örneklerinde de I/R hasarı ve GL'nin tedavi edici etkileri araştırıldı. Sonuçta İstatistiksel olarak anlamlı düzeyde GL kullanımının intestinal iskemi-reperfüzyona bağlı intestinal ve karaciğer doku hasarlarının iyileştirilmesinde antioksidan anti-inflamatuar ve immun-modulatuar özellikleriyle etkili olduğunu saptadık.

7. ÖZET

Giriş: İntestinal iskemi reperfüzyon hasarı ciddi bir klinik problem olup, yüksek morbidite ve mortalite riski taşır. Barsak tıkanıklığı, şiddetli travma ve aort by-pass işlemleri gibi çeşitli klinik olaylar, barsak iskemi reperfüzyon hasarına neden olabilir. Erken tanı için güvenilir bir parametre ve etkin tedavi için güvenilir bir ajan yoktur. Ganoderma lucidum immun modülatör, antioksidan ve anti inflamatuvar etkileriyle bilinen bir mantar türüdür. Bu deneysel çalışmamızın amacı ganoderma lucidum'un ratlarda barsak iskemi reperfüzyon hasarı üzerine iyileştirici etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda 24 erkek Wistar-Albino rat (250-300g ağırlığında) kullanıldı. Bu ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldı: Grup I, kontrol grup; Grup II, I/R grubu; Grup III, I/R öncesi 7 gün oral ganoderma lucidum alan tedavi grubudur. Laparotomi sonrası, kontrol grubu dışındaki tüm ratlarda sırasıyla 30 dk ve 90 dk iskemi ve reperfüzyon uygulandı. Barsak ve karaciğer dokusu örnekleri rutin histolojik yöntemlerle boyandı ve ışık mikroskopu altında incelendi. Serum, barsak ve karaciğer dokuları Malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri ölçüldü. Sonuç SPSS Windows 18 programı kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular: I/R grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, lökosit, trombosit, serum MDA, intestinal doku MDA ve hepatik doku MDA düzeylerinde anlamlı artış vardı. I/R grubunun, serum SOD, Serum GSH-Px, intestinal doku SOD, hepatik doku SOD ve hepatik doku GSH-Px düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığı görüldü. İskemi reperfüzyon yaralanması, barsak dokusundaki villus yapısında bozulmayı ve hepatik doku hasarını tetiklemektedir. Daha önce ganoderma lucidum'un uygulanması bu olumsuz değişiklikleri etkili bir şekilde azaltmaktadır.

Sonuç: Deneysel çalışmamız intestinal iskemi reperfüzyon hasarının barsak ve karaciğer dokularında serbest oksijen radikallerini indükleyerek belirgin oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir. Serum ve doku MDA, SOD ve GSH-Px seviyeleri, oksidatif stresin belirlenmesinde önemli ölçüde yardımcı laboratuvar parametreleridir. Ganoderma lucidum'un intestinal iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki iyileştirici etkileri, bu parametreler ışığında umut vericidir.

8.SUMMARY

Background: Intestinal ischemia reperfusion injury serious clinic problem and carries high morbidity and mortality risk. A various clinic events such as intestinal obstruction, severe trauma and aortic by-pass procedures may cause intestinal ischemia reperfusion injury. There is no reliable parameter for early diagnosing and single ajan for effective treatment. Ganoderma lucidum is known as immunmodulator, antioxidant and anti inflamatar. The purpose of this study was to investigate the healing effects of ganoderma lucidum on intestinal ischemia reperfusion injury in an experimental study.

Materials and Methods: The study was performed by using 24 male Wistar–Albino rats (weighing 250–300 g) randomly divided into three groups: Group I, sham group; Group II, I/R group; Group III, I/R with previous ganoderma lucidum treatment group. After laparotomy, ischemia and reperfusion were performed for 30 and 90 min, respectively, on all the groups except for sham group. Intestinal and hepatic tissue examples were stained by using routine histological methods and examined under the light microscope. Serum and intestinal and hepatic tissue Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH- Px) levels were measured. Result were compared statistically by using SPSS Windows 18 programme. P values <0.05 were accepted as significant.

Result: The I/R group had significantly elevated leukocyte, thrombocyte, serum MDA, intestinal tissue MDA and hepatic tissue MDA levels compared with the sham group. The I/R group had significantly reduced serum SOD, Serum GSH-Px, intestinal tissue SOD, hepatic tissue SOD and hepatic tissue GSH-Px MDA levels compared with the sham group. Previously administration of ganoderma lucidum efficiently improved these negative alterations. Ischemia reperfusion injury resulted in significant changes in intestinal tissue such as impairment in villus pattern and hepatic tissues such as sinusoidal dilatation and congestion of I/R group rats.

Conclusions: Our experimental study showed that intestinal ischemia reperfusion injury leads to significant oxidative stress by inducing free oxygen radicals in intestinal and hepatic tissues. Serum and tissue MDA, SOD and GSH-Px levels were considerably helpful laboratory parameters to identify oxidative stress. The healing effects of Ganoderma lucidum on intestinal ischemia reperfusion injury was promising in the light of these parameters.

9. KAYNAKLAR

- 1- Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004; 24: 468-475.
- 2- Yasuhara H: Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology. *Surg Today* 2005;35:185-195.
- 3- Bala M, Kashuk J, Moore EE, Kluger Y, Biffl W, Gomes CA, Ben-Ishay O, Rubinstein C, Balogh ZJ, Civil I, Coccolini F, Leppaniemi A, Peitzman A, Ansaloni L, Sugrue M, Sartelli M, Di Saverio S, Fraga GP, Catena F. Acute mesenteric ischemia: guidelines of the World Society of Emergency Surgery. *World J Emerg Surg.* 2017 Aug 7;12:38.
- 4- Zhao J, Yu S, Tong L, Zhang F, Jiang X, Pan S, Jiang H. Oxymatrine Attenuates Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Surg Today* 2008; 38: 931–937.
- 5- Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and eventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8.
- 6- Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras* 2005;20:336-43.)
- 7- Dunphy JE. Abdominal pain of vascular origin. *Am J Med Sci* 1936;192:109.
- 8- Wiesner W, Khurana B, Ji H, et al. CT of acute bowel ischemia. *Radiology* 2003;226:635-50
- 9- Snell RS, Klinik Anatomi. 6. Edisyon. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 2004: syf. 219.
- 10- Arıncı K, Elhan A. Anatomi dolaşım sistemi, 1.baskı. Güneş Kitabevleri Ltd. Şti, Ankara 1995, syf. 68-78
- 11- Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The systemic response to injury. Schwartz SI (ed), *Principles of Surgery*. McGraw-Hill 7th Edition 1999; Vol I: 13-32.
- 12- Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury ROS within and without. *Circ Res*, 2000; 86: 117-118.

- 13- Martinez JP, Hogan GJ: Mesenteric ischemia. *Emerg Med Clin North Am* 2004; 22: 09-928
- 14- Sayek İ. Temel Cerrahi, 7. baskı, Akut Mezenter İskemi Cilt 2, sayfa: 1798, Güneş Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., Ankara, 2013.
- 15- Clair DG, Beach JM. Mesenteric Ischemia. *N Engl J Med*. 2016;374:959–68.
- 16- Acosta S. Mesenteric ischemia. *Curr Opin Crit Care*. 2015;21:171–8.
- 17- Kärkkäinen JM, Acosta S. Acute mesenteric ischemia (part I) incidence, etiologies, and how to improve early diagnosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31:15–25.
- 18- Aschoff AJ, Stuber G, Becker BW, Hoffmann MH, Schmitz BL, Schelzig H, et al. Evaluation of acute mesenteric ischemia: accuracy of biphasic mesenteric multi-detector CT angiography. *Abdom Imaging*. 2009;34:345–57.
- 19- Cohn DM, Roshani S, Middeldorp S. Thrombophilia and venous thromboembolism: implications for testing. *Semin Thromb Hemost*. 2007;33:573–81.
- 20- Haglund U, Bergqvist D. Intestinal ischemia—the basics. *Langenbeck's Arch Surg*. 1999;384:233–8.
- 21- Van Petersen AS, Kolkman JJ, Meerwaldt R, Huisman AB, van der Palen J, Zeebregts CJ, Geelkerken RH. Mesenteric stenosis, collaterals, and compensatory blood flow. *J Vasc Surg*. 2014;60:111–9.
- 22- Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayıroğlu F, Gültekin F. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: relation to age, sex, exercise, air pollution and life habits. *J. Environ. Sci. Health*, 1997; 32: 2101-2109.
- 23- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.*, 2004; 10: 141-147
- 24- Chih-Ching Yeh, Ming-Feng Hou, Shih-Meng Tsai, Shu-Kai Lin, Jen-Kuei Hsiao, Jung-Chih Huang, Li-Hsuan Wang, Szu-Hsien Wu, Linda Ann Hou, Hsu Ma, Li-Yu Tsai. Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of

patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta*, 2005; 25:175-181

- 25- Halliwell B., Packer L., Cadenas E. *Handbook of Antioxidants*. Taylor and Francis Groups. 2002; 9–10.
- 26- Kılınç K., Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Temel Tıptan Kliniği. Hacettepe Tıp Derg.*, 2002; 33(2):110-118.
- 27- Halliwell B., Packer L., Cadenas E. *Handbook of Antioxidants*. Taylor and Francis Groups. 2002; 9–10.
- 28- Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem*, 1995; 41(12):1819-28.
- 29- Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, 2001.
- 30- Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-41.
- 31- Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids I, and The Oxidative Strees Study Graup: Oxidative strees in chronic obstructive pulmorary disease. *J. Respir Crit Care Med*. 1997; 156(26): 341–347.
- 32- Burçak, G. Andican, G., Oxidative DNA damage and aging. *Cerrahpaşa J Med*, 2004; 35: 159–169.
- 33- Robertson, R. P. Harmon, J. Tran, P. O., Tanaka, Y. ve Takahashi, H., Glucose Toxicity in Cell: Type II Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and The Glutathione Connection. *Diabetes*, 2003; 52:581 587.
- 34- Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Onbirinci baskı, Ankara: Hacettepe-TaÇ, 2005: 617-618,1331.
- 35- Smith C, Marks AD, Lieberman M. *Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach*, Second Edition, Kluwer Company, USA, Lippincott Williams Wilkins: 2004.

- 36- Murray R.K, Granner D.K, Mayes P.A, Rodwell V.W. Harper'' in Biyokimyası (Harper''s Biochemistry' nin 22. Uluslararası baskıdan çeviri). Çevirenler: Menteş G, Ersöz B. İstanbul: Barış Kitabevi, 1993: 42,142-144,241.
- 37- Halliwell, B. (1991). Reactive Oxygen Species in Living Systems: Biochemistry and Role in Human Disease. Am J Med;91:1422.
- 38- Hata T, Hashimoto M, Manabe A, Aoki S, Iida K, Masumura S, Miyazaki K. Maternal and fetal nitric oxide synthesis is decreased in pregnancies with small for gestational age infants. Hum Reprod. 1998 Apr;13(4):1070-3.
- 39- Paz HL, Martin AA. Sepsis in an aging population. Crit Care Med. 2006 Jan;34(1):234-5.
- 40- Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Temel Patoloji (Basic Pathology). Çeviri editörü: Çevikbaş U. 5th edition, İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri Ltd şti, 1995: 5-9, 36-38, 497.
- 41- Wu MJ, Chen M, Sang S, Hou LL, Tian ML, Li K, Lv FQ. 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 30;7(2):101-106.
- 42- Towfigh S, Heisler T, Rigberg DA, Hines OJ. Intestinal ischemia and the gut-liver axis: An in vitro model. J Surg Res 2000;88:160-4.
- 43- Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. Br Med Bull 2004; 70: 71-86.
- 44- Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi araştırma kitabı. 1. Baskı, İstanbul: Nobel tıp kitabevleri Ltd. şti, 2005.
- 45- Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. J Neuroimmunol 1999; 101:148-160.

- 46- García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol.* 2008; 48:109-114.
- 47- Carver TW, Vora RS, Taneja A. Mesenteric ischemia. *Crit Care Clin.* 2016;32: 155–71.
- 48- Park WM, Gloviczki P, Cherry KJ Jr, Hallett JW Jr, Bower TC, Panneton JM, Schleck C, Ilstrup D, Harmsen WS, Noel AA. Contemporary management of acute mesenteric ischemia: Factors associated with survival. *J Vasc Surg.* 2002;35:445–52.
- 49- Kougias P, Lau D, El Sayed HF, Zhou W, Huynh TT, Lin PH. Determinants of mortality and treatment outcome following surgical interventions for acutemesenteric ischemia. *J Vasc Surg.* 2007;46:467–74.
- 50- Powell A, Armstrong P. Plasma biomarkers for early diagnosis of acute intestinal ischemia. *Semin Vasc Surg.* 2014;27:170–5.
- 51- Block T, Nilsson TK, Björck M, Acosta S. Diagnostic accuracy of plasma biomarkers for intestinal ischaemia. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008;68: 242–8.
- 52- Treskes N, Persoon AM, van Zanten ARH. Diagnostic accuracy of novel serological biomarkers to detect acute mesenteric ischemia: a systematic review and meta-analysis. *Intern Emerg Med.* 2017.
- 53- Kirkpatrick ID, Kroeker MA, Greenberg HM. Biphasic CT with mesenteric CT angiography in the evaluation of acute mesenteric ischemia: initial experience. *Radiology.* 2003;229:91–8.
- 54- Menke J. Diagnostic accuracy of multidetector CT in acute mesenteric ischemia: systematic review and meta-analysis. *Radiology.* 2010;256:93–101.
- 55- Hagspiel KD, Flors L, Hanley M, Norton PT. Computed tomography angiography and magnetic resonance angiography imaging of the mesenteric vasculature. *Tech Vasc Interv Radiol.* 2015;18:2–13.

- 56- Tendler DA, LaMont JT. Acute mesenteric ischemia. Uptodate. 2013. <http://www.uptodate.com/contents/acute-mesentericischemia>. Accessed 13 Aug 2016.
- 57- Sarac TP. Techniques of endovascular revascularization for acute mesenteric ischemia. In: Oderich G, editor. Mesenteric Vascular Disease. New York: Springer; 2015. p. 241–52.
- 58- Beaulieu RJ, Arnaoutakis KD, Abularrage CJ, Efron DT, Schneider E, Black JH. Comparison of open and endovascular treatment of acute mesenteric ischemia. J Vasc Surg. 2014;59:159–64.
- 59- Cocorullo G, Mirabella A, Falco N, Fontana T, Tutino R, Licari L, Salamone G, Scerrino G, Gulotta G. An investigation of bedside laparoscopy in the ICU for cases of non-occlusive mesenteric ischemia. World J Emerg Surg. 2017;12:4.
- 60- Worrell S, Mumtaz S, Tsuboi K, Lee TH, Mittal SK. Anastomotic complications associated with stapled versus hand-sewn anastomosis. J Surg Res. 2010; 161:9–12.
- 61- Kim JW, Kim HI, Kim JH, Kwon OC, Son ES, Lee CS, Park YJ. Effects of Ganodermanondiol, a New Melanogenesis Inhibitor from the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum*. Int J Mol Sci. 2016 Oct 27;17(11)
- 62- Zheng DS, Chen LS. Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* inhibit the activation of EBV antigens as telomerase inhibitors. Exp Ther Med. 2017 Oct;14(4):3273–3278.
- 63- Soares AA, de Sá-Nakanishi AB, Bracht A, da Costa SM, Koehnlein EA, de Souza CG, Peralta RM. Hepatoprotective effects of mushrooms. Molecules. 2013 Jul 1;18(7):7609–30.
- 64- Zhou ZY, Tang YP, Xiang J, Wua P, Jin HM, Wang Z, Mori M, Cai DF. Neuroprotective effects of water-soluble *Ganoderma lucidum* polysaccharides on cerebral ischemic injury in rats. J Ethnopharmacol. 2010 Aug 19;131(1):154–64.
- 65- Zhong D, H, Liu M, Li X, Huang M, Zhou H, Lin S, Lin Z, Yang B. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide prevents renal ischemia reperfusion injury via counteracting oxidative stress. Sci Rep. 2015 Nov 25;5:16910.

- 66- Lasukova TV, Maslov LN, Arbuzov AG, Burkova VN, Inisheva LI. Cardioprotective Activity of *Ganoderma lucidum* Extract during Total Ischemia and Reperfusion of Isolated Heart. *Bull Exp Biol Med.* 2015 Apr;158(6):739-41.
- 67- Yang G., Yang L., Zhuang Y., Qian X. & Shen Y. *Ganoderma lucidum* polysaccharide exerts anti-tumor activity via MAPK pathways in HL-60 acute leukemia cells. *J Recept Signal Transduct Res.* 20, 1–8 (2014),
- 68- Lin Z. B. & Zhang H. N. Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms. *Acta pharmacol Sin.* 25, 1387–1395 (2004).
- 69- Xu Z., Chen X., Zhong Z., Chen L. & Wang Y. *Ganoderma lucidum* polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities. *Am J Chin Med.* 39, 15–27 (2011).
- 70- Gao Y, Tank W, Gao H, Lan J, Zhou S. Chemopreventive and tumoricidal properties of ling zhi mushroom *ganoderma lucidum* (w. Curt.: Fr.) lloyd (aphyllophoromycetidae). Part i. Preclinical and clinical studies (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 2004;6.
- 71- Zhu M, Chang QI, Wong LK, Chong FS, Li RC. Triterpene antioxidants from *ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research* 1999;13:529-31
- 72- Gao J-J, Min B-S, Ahn E-M, Nakamura N, Lee H-K, Hattori M. New triterpene aldehydes, lucialdehydes ac, from *ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 2002;50:837-40.
- 73- Sheena M, Ajith A, Janardhanan K. Prevention of nephrotoxicity induced by the anticancer drug Cisplatin, using *Ganoderma lucidum*, a medicinal mushroom occurring in South India. *Curr Sci.* 2003;85:478–82.
- 74- Loganathan J, Jiang J, Smith A, Jedinak A, Thyagarajan-Sahu A, Sandusky GE, Nakshatri H, Sliva D. The mushroom *Ganoderma lucidum* suppresses breast-to-lung cancer metastasis through the inhibition of pro-invasive genes. *Int J Oncol.* 2014 Jun;44(6):2009-15.

- 75- Sun LX, Li WD, Lin ZB, Duan XS, Li XF, Yang N, Lan TF, Li M, Sun Y, Yu M, Lu J. Protection against lung cancer patient plasma-induced lymphocyte suppression by *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Cell Physiol Biochem*. 2014;33(2):289-99.
- 76- Tsukagoshi S, Hashimoto Y, Fujii G, et al.: Krestin (PSK). *Cancer Treat Rev* 11 (2): 131-55, 1984.
- 77- Cui J, Chisti Y. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production. *Biotechnol Adv*. 2003 Apr;21(2):109-22.
- 78- Sakagami H, Aoki T, Simpson A, Tanuma S. Induction of immunopotential activity by a protein-bound polysaccharide, PSK (review). *Anticancer Res*. 1991 Mar-Apr;11(2):993-9.
- 79- Lin Z.B. Cellular and molecular mechanisms of immuno-modulation by *Ganoderma lucidum*. *J. Pharmacol. Sci*. 2005;99:144–153.
- 80- Ko H.H., Hung C.F., Wang J.P., Lin C.N. Antiinflammatory triterpenoids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *GANODERMA tsugae*. *Phytochemistry*. 2008;69:234–239.
- 81- Zhang W., Tao J., Yang X., Yang Z., Zhang L., Liu H., Wu K., Wu J. Antiviral effects of two *Ganoderma lucidum* triterpenoids against enterovirus 71 infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2014;449:307–312.
- 82- Sanodiya B.S., Thakur G.S., Baghel R.K., Prasad G.B., Bisen P.S. *Ganoderma lucidum*: A potent pharmacological macrofungus. *Curr. Pharm. Biotechnol*. 2009;10:717–742.
- 83- Kabir Y, Yamaguchi M, Kimura S. Effect of Shiitake (*Lentinus edodes*) and Maitake (*Grifola frondosa*) Mushrooms on Blood Pressure and Plasma Lipids of Spontaneously Hypertensive Rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1987 Oct;33(5):341-6.
- 84- Kino K, Yamashita A, Yamaoka K, Watanabe J, Tanaka S, Ko K, Shimizu K, Tsunoo H. Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, ling zhi-8 (LZ-8), from *Ganoderma lucidum*. *J Biol Chem*. 1989 Jan 5;264(1):472-8.

- 85- Liang CJ, Lee CW, Sung HC, Chen YH, Chiang YC, Hsu HY, Tseng YC, Li CY, Wang SH, Chen YL. Ganoderma lucidum Polysaccharides Reduce Lipopolysaccharide-Induced Interleukin-1 β Expression in Cultured Smooth Muscle Cells and in Thoracic Aortas in Mice. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:305149.
- 86- Kim, Myung-Ja; Kim, Ha-Won; Lee, Young-Soon; Shim, Mi-Ja; Choi, Eung-Chil; Kim, Byong-Kak. Studies on Safety of Ganoderma lucidum. Korean Journal of Mycology 1986. 14(1): 49-59
- 87- Chui CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in lowflow states. A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. Arch Surg 1970;101(4):478-83
- 88- Vinardi S, Pierro A, Parkinson EJ, Vejchapipat P, Stefanutti G, Spitz L, et al. Hypothermia throughout intestinal ischemia reperfusion injury attenuates lung neutrophil infiltration. J Paediatr Surg 2003; 38: 88–91
- 89- Tullis MJ, Brown S, Gewertz BL. Hepatic influence on pulmonary neutrophil sequestration following intestinal ischemia-reperfusion. J Surg Res 1996; 66: 143-146.
- 90- Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-83.
- 91- Yamamoto S, Tanabe M, Wakabayashi G, Shimazu M, Matsumoto K, Kitajima M. The role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in ischemia-reperfusion injury of the rat small intestine. J Surg Res. 2001 Jul;99(1):134-41.
- 92- Dilege Ş. Mezenter damar hastalıkları. Genel Cerrahi, Kalaycı G, ed. 1.baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002, cilt 2, s.883.
- 93- Vinas JL, Sala A, Genesca M, Alfaro V, Pi F, Hatter G. NO and NOS isoforms in the development of apoptosis in renal ischemia reperfusion. Free Radic. Biol. Med. 2006; 40(6): 992- 1003.
- 94- Rock P, Yao Z. ischemia reperfusion injury, preconditioning and critical illness. Curr Opin Anaesthesiol 2002; 15: 139-146.

- 95- Sahna E, Deniz E, Aksulu HE. Myocardial ischemia-reperfusion injury and melatonin. *Anadolu Kardiyol. Derg.* 2006;6(2):163- 8
- 96- Megison SM, Horton JW, Chao H, Walker PB. A new model for intestinal ischemia in the rat *J. Surg. Res.* 1990;49:168- 173.
- 97- Ceulemans LJ, Verbeke L, Decuypere JP, Farré R, De Hertogh G, Lenaerts K, Jochmans I, Monbaliu D, Nevens F, Tack J, Laleman W, Pirenne J. Farnesoid X Receptor Activation Attenuates Intestinal Ischemia Reperfusion Injury in Rats. *PLoS One.* 2017 Jan 6;12(1):e0169331.
- 98- Liu L, Zhuang R, Xiao L, Chung HK, Luo J, Turner DJ, Rao JN, Gorospe M, Wang JY. HuR Enhances Early Restitution of the Intestinal Epithelium by Increasing Cdc42 Translation. *Mol Cell Biol.* 2017 Mar 17;37(7). pii: e00574-16.
- 99- Yoshida WB, Alasia T, Mozziotto R, Qin F, Kashani M, Lee et al. Effect of alpha-tocopherol, taurin and selenium on the attenuation of ischemia/reperfusion injury of splanchnic agents. *Cardiovasc. Surg.*1998;6(2):178- 87
- 100- Boyd AJ, Sherman IA, Saibil FG, Mamelak M. The protective effect of gamma-hydroxybutyrate in regional intestinal ischemia in the hamster. *Gastroenterology* 1990;99(3):860-2.
- 101- Zhu XL, Chen AF, Lin ZB. Ganoderma lucidum polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice. *J.Ethnopharmacol.* 2007 May 4;111(2):219-26.
- 102- Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD: Acute mesenteric ischemia: a clinical review. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1054- 1062.
- 103- Collange O, Tamion F, Chanel S, Hue G, Richard V, Thuilliez C, et al.: D-lactate is not a reliable marker of gut ischemia-reperfusion in a rat model of supraceliac aortic clamping. *Crit Care Med* 2006; 34: 1415-1419.
- 104- Tahir M, Arshid S, Heimbecker AM, Castro MS, Souza Montero E, Fontes B, Fontes W. Evaluation of the effects of ischemic preconditioning on the hematological

parameters of rats subjected to intestinal ischemia and reperfusion. *Clinics (Sao Paulo)*. 2015 Jan;70(1):61-8.

- 105- Zhao H, Luo Y, Lu C, Lin N, Xiao C, Guan S, Guo DA, Liu Z, Ju D, He X, Lu A. Enteric mucosal immune response might trigger the immunomodulation activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide in mice. *Planta Med*. 2010 Feb;76(3):223-7.
- 106- Shi Y, Cai D, Wang X, Liu X. Immunomodulatory effect of *ganoderma lucidum* polysaccharides (GLP) on long-term heavy-load exercising mice. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* (2012), 82, pp. 383-390.
- 107- Shailesh Dudhgaonkar, Anita Thyagarajan, Daniel Sliva. Suppression of the inflammatory response by triterpenes isolated from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *International Immunopharmacology* 9 (2009) 1272–1280.
- 108- Lapchak PH, Kannan L, Ioannou A, Rani P, Karian P, Dalle Lucca JJ, et al. Platelets orchestrate remote tissue damage after mesenteric ischemia reperfusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;302(8):G888- 97,
- 109- Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(10):1967-80.
- 110- Finaud, J., Lac, G., Filaire, E., 2006. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*. 36 (4), 327–358
- 111- Zhonghui Z, Xiaowei Z, Fang F. *Ganoderma lucidum* polysaccharides supplementation attenuates exercise-induced oxidative stress in skeletal muscle of mice. *Saudi J Biol Sci*. 2014 Apr;21(2):119-23.
- 112- Chen LH, Lin ZB, Li WD. *Ganoderma lucidum* polysaccharides reduce methotrexate-induced small intestinal damage in mice via induction of epithelial cell proliferation and migration. *Acta Pharmacol Sin*. 2011 Dec;32(12):1505-12.
- 113- Lin WC, Lin WL. Ameliorative effect of *Ganoderma lucidum* on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol*. 2006 Jan 14;12(2):265-70.

- 114- Hierholzer C, Kalff JC, Audolfsson G, Billiar TR, Tweardy DJ, Bauer AJ. Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury. Transplantation.1999;15;68(9):1244-54.
- 115- Stallion A, Kou TD, Latifi SQ, Miller KA, Dahms BB, Dudgeon DL, Levine AD Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation. J Pediatr Surg 2005;40(3):470-7.
- 116- Liu J, Pan G, Liang T, Huang P. HGF/c-Met signaling mediated mesenchymal stem cell-induced liver recovery in intestinal ischemia reperfusion model. Int J Med Sci. 2014 Apr 24;11(6):626-33.

