

Usnea longissima Ach. LİKEN TÜRÜNDEN
ELDE EDİLEN TOTAL EKSTRAKTIN İN VİTRO
ORTAMDA RAT İLEUM MOTİLİTESİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Aslıhan ATASEVER
Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. D. Ali ÇINAR

Yüksek Lisans Tezi-2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Usnea longissima Ach. LİKEN TÜRÜNDEN ELDE EDİLEN
TOTAL EKSTRAKTIN İN VİTRO ORTAMDA RAT
İLEUM MOTİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ashhan ATASEVER

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. D. Ali ÇINAR

ERZURUM
2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Usnea longissima* Ach. LİKEN TÜRÜNDEN ELDE EDİLEN TOTAL
EKSTRAKTIN İN VİTRO ORTAMDA RAT İLEUM MOTİLİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Aslıhan ATASEVER

Tez Savunma tarihi : 06.03.2015


Tez Danışmanı : Prof. Dr. D. Ali ÇINAR

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hasan Hüseyin ARI

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü müdürü

**Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM-2015**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLOLAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Liken	3
2.1.1. <i>Usnea longissima</i> Ach.	11
2.2. Bağırsaklar	13
2.2.1. İnce bağırsakların anatomisi	13
2.2.2. İnce bağırsakların histolojisi	14
2.3. Bağırsak Fizyolojisi	15
2.3.1. Gastrointestinal duvarın fizyolojik anatomisi	16
2.3.2. Gastrointestinal işlevin sinirsel kontrolü-enterik sinir sistemi	18
2.3.3. Gastrointestinal motilitenin hormonal kontrolü.....	21
2.3.4. Gastrointestinal kanaldaki hareketlerin işlevsel tipleri	24
2.3.5. İnce bağırsak hareketleri	25
2.4. Gastrointestinal Motilite Bozuklukları	29
2.4.1. Yutma ve özofagus ile ilgili bozukluklar.....	29
2.4.2. Kalın bağırsak bozuklukları.....	30
3. MATERYAL VE METOT.....	33

3.1. <i>Usnea longissima</i> Ach. Liken Türünün Temini ve Total Ekstraktının.....	
Elde Edilmesi.....	33
3.2. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanlar.....	34
3.3. Araştırmada Kullanılan Etken Maddeler ve Dozları	34
3.4. Araştırmada Kullanılan Alet ve Malzemeler	37
3.5. Rat İleum Dokusunun İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması	38
3.6. Deney Grupları	40
3.7. İstatistiksel Analiz.....	44
4. BULGULAR.....	45
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	61
EKLER	73
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	73
EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU	74

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim ve öğretimim süresince, gerek ders gerekse tez çalışmamın her aşamasının planlanması, yürütülmesi, kontrol ve değerlendirilmesindeki yakın ilgi ve alaka, bilimsel teşvik, engin hoşgörü ve her türlü desteklerinden dolayı tez danışmanım çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. D. Ali ÇINAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ'ye, Sayın Prof. Dr. Ali ASLAN'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emin ŞENGÜL'e, Sayın Arş. Gör. Volkan GELEN'e ve yüksek lisans arkadaşım Tubanur ASLAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Sevgi ve özverileriyle bugünlere gelmemi sağlayan, sevgili babama, anneme ve kardeşlerime destek ve teşviklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aslıhan ATASEVER

ÖZET

***Usnea longissima* Ach. Liken Türünden Elde Edilen Total Ekstraktın İn Vitro Ortamda Rat İleum Motilitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Amaç: Likenler, çok eski yıllardan beri bilinen ve biyolojik içerikleri ile etkinlikleri hakkında çok fazla çalışma yapılmış bir bitkidir. Günümüzde likenlerin özellikleri ile ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen halen metabolik etkileri tam olarak ortaya konulamamıştır. Özellikle son yıllarda alternatif tıp alanında yapılan birçok çalışmayla beraber likenlerin terapötik kullanımları gittikçe artmaktadır. Bu araştırmada ülkemizde değişik amaçlarla kullanılan *Usnea longissima* Ach. liken türünden elde edilen ekstraktın rat ileum motilitesi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 24 adet erkek ergin Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Fizyolojik şartlar altında bakım beslemesi yapılan ratlar, anestezi altında servikal dislokasyon metodu ile ötenazi edildiler. Ratların abdomenleri açılarak ileum izole edildi. İleumun temizliği yapıldıktan sonra hazırlanan kas şeritleri, içerisinde Krebs solüsyonu bulunan 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirildi. Dokuya 1 gram (g) gerim uygulanarak 1 saatlik inkübasyon periyoduna bırakıldı. İnkübasyon periyodu sonunda banyoya asetilkolin (ACh, 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M), potasyum klorür (KCl, 20, 40, 60, 80, 100 mM) ve *Usnea longissima* ekstraktı çeşitli dozlarda (0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml) bir protokol çerçevesinde uygulandı. Elde edilen değerlerin istatistiksel değerlendirilmesine way analysis of variance (Anova) sonrası Tukey testi ile değerlendirildi.

Bulgular: *Usnea longissima*'nın farklı dozlarının, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesini inhibe ettiği belirlendi.

Sonuç: *Usnea longissima*'nın ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskıladığı belirlendi. *Usnea longissima*'nın ACh cevaplarını baskılayıcı etkisinin muskarinik mekanizma üzerinden, KCl cevaplarını baskılayıcı etkisinin ise voltaja duyarlı L tipi kalsiyum (Ca^{2+}) kanalları üzerinden olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: ACh, İleum, KCl, Liken, Rat, *Usnea longissima* Ach.

ABSTRACT

Investigation of Extract Produced From *Usnea longissima* Ach. Lichen's Effects on Motility of Rat Ileum in Vitro

Aim: Lichens is a plant, which are known since many earliest years and there are many studies about them and their biological ingredients. Although, nowadays there are many studies about their features, the metabolic effects of lichens are not clarified up to now. Especially in recent years which intensive investigated way of alternative medicine and treatment, lichens are made gradually increase their importance. In this study we aimed to investigate the effect of lichen extracted from *Usnea longissima* Ach. on the motility of rat ileum that is which is used for different purposes in our country.

Material and Methods: In this study 24 adult male Sprague Dawley rats were used. The rats, which were cared and fed under physiological conditions, were euthanized by the method of dislocation under anesthetized. Ileum was isolated from rats by opening abdomens. After the dissection of the ileum, muscle strips were placed 20 ml organ bath that contained Crebs solution. 1 g tension was applied in the tissue and it was incubated for 1 hour period. End of the incubation period, the various doses of extract (0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 $\mu\text{g/ml}$), acetylcholine (ACh, 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M), potassium chloride (KCl, 20, 40, 60, 80, 100 mM) and *Usnea longissima* extract were applied in the bath according to the protocol. The values were assessed due to statistical differences between groups via One-way analysis of variance (Anova) followed Tukey test.

Results: It was determined that different doses of *Usnea longissima* were inhibited smooth muscle contractility of the rats ileum which was induced by ACh and KCl.

Conclusion: It was believed that *Usnea longissima* reduced responses of the smooth muscle contractility of in vitro rats ileum that was induced by ACh and KCl. It is thought that the response of *Usnea longissima* though ACh was reduced by muscarinic receptors and also the response of *Usnea longissima* though KCl was reduced by L-type calcium canal.

Keywords: ACh, Ileum, KCl, Lichen, Rat, *Usnea longissima* Ach.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	: Asetilkolin
Ca²⁺	: Kalsiyum
CCK	: Cholecystokinin
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ESS	: Enterik Sinir Sistemi
g	: Gram
IP3	: İnozitol trifosfat
KCl	: Potasyum Klorür
N.	: Nervus
Na⁺	: Sodyum
SD	: Standart sapma
VIP	: Vasoactive Intestinal Peptide
\bar{X}	: Ortalama

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Ormanlık alanlarda ağaçlar üzerinde yetişen <i>Usnea longissima</i> Ach.'nın görünüşü	11
Şekil 2.2. Bağırsağın enine kesiti	16
Şekil 2.3. Bağırsak duvarının sinirsel kontrolü	20
Şekil 3.1. İleum düz kasından alınan kesitin çelik çengele geçirilişi	39
Şekil 3.2. İzole organ banyosuna yerleştirilmiş ileum düz kas şeridinin görünümü.....	40
Şekil 4.1. ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M logaritmik dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> 'nın 5 farklı dozunun yüzde olarak etkileri.....	47
Şekil 4.2. 10^{-7} - 10^{-3} M ACh'nin logaritmik dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> 'nın 5 farklı dozunun gram olarak etkisi...48	
Şekil 4.3. KCI'nin 20-100 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> 'nın 5 farklı dozunun yüzde olarak etkileri.....	50
Şekil 4.4. 20-100 mM KCI dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> 'nın 5 farklı dozunun gram olarak etkisi.....	51

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. ACh ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> Ach. ekstraktının araştırıldığı deneysel protokol.....	42
Tablo 3.2. KCl ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> Ach. ekstraktının araştırıldığı deneysel protokol.....	43
Tablo 4.1. ACh'nin farklı dozları ile indüklenmiş in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> 'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının etkisi.....	45
Tablo 4.2. KCl'nin farklı dozları ile indüklenmiş in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine <i>Usnea longissima</i> 'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının etkisi.....	48

1. GİRİŞ

Likenler genellikle mantarlar, algler ve bazen de ciyanobakteriler ile birleşerek morfolojik ve fizyolojik bir bütün halinde meydana getirdikleri simbiyotik (ortak yaşam) birliklerdir.¹⁻³ Likenler vejetasyon dünyasında tekdirler. Çünkü bitki olarak düşündüğümüz sıradan kategorilerin hiçbirine dahil edilmezler, likenler tek bir organizma değildirler. Bir mantar ile bir ciyanobakteri (mavi-yeşil alg) yada bir yeşil algden oluşan simbiyotik birliklerdir.⁴ Günümüzde yaklaşık olarak 20.000'nin üzerinde liken türünün olduğu tahmin edilmektedir. Buna karşın ülkemizin liken florası henüz tam olarak tespit edilememiş olmakla beraber bölgemizde (Doğu Anadolu) konu ile ilgili çalışmalar göze çarpmaktadır.^{5,6}

Likenler günlük hayatımızda önemli bir role sahiptir. Çok çeşitli alanlarda değişik kullanım potansiyelleri vardır. Gıda, tıp, parfümeri ve kozmetik alanında kullanılırlar.^{7,8} Bu amaçla kullanılan likenlerin canlı organizma üzerinde oluşturabileceği olumlu yada olumsuz biyolojik etkilerin neler olabileceğinin araştırılması gerekir. Söz konusu likenlerin zararlı yada faydalı yanlarının ortaya çıkarılması ve bu tür likenlerin insanlar tarafından nasıl, ne kadar, ne şekilde kullanılmasının ve kullanırken nelere dikkat edilmesinin gerektiği gibi bilgilerin de elde edilmesi oldukça önemlidir.

Likenlerin günümüzde tıbbi olarak antibakteriyel,^{9, 10} antiviral,¹¹ antitümoral,¹² antiprotozoal,¹³ antioksidan,¹⁴ antiinflamatuvar,^{15, 16} analjezik,^{15, 16} antipiretik,^{15, 16} antiproliferatif,¹⁷ antiülserojenik,¹⁸ enzim inhibitör aktiviteleri ve genler üzerine etkileri gibi birçok etkilerinin olduğu ifade edilmektedir. Alternatif tıp olarak ifade edilen ve yaygın olarak halk arasında çeşitli hastalıkların iyileştirilmesinde farklı likenlerin kullanıldığı uygulamalar bildirilmektedir.¹⁹

Alternatif tıpta ve halk arasında kullanılan liken türlerinden biri de *Usnea longissima* Ach.'dir. *Usnea longissima*'nın halk arasında balgam söktürücü ve mide koruyucu etkisinin bilinmesinin yanında, mide ülseri, kemik kırıkları, deri döküntülerinin tedavisinde de kullanılan bir liken türü olduğu bildirilmektedir.²⁰

Gastrointestinal sistem üzerine koruyucu ve mide ülserlerini iyileştirici etkilerinden söz edilen *Usnea longissima* Ach.'nin bu etki mekanizmasının klasik yara iyileştirilmesi süreci ile ilgili olarak birtakım antioksidan sistemler üzerinden etkili olduğunun yanısıra mide bağırsak hareketleri üzerinde oluşturulabilecek bir takım motilite değişikliklerinin bu süreçlerde rolünün olup olmadığı konusunda yeterli bilgiye sahip değiliz. Yapılan literatür taramalarında *Usnea longissima* Ach.'nin gastrointestinal sistemin motilitesi üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapmayı planladığımız bu çalışmadaki amacımız *Usnea longissima* Ach. total ekstraktının ratlarda ileum motilitesi üzerine etkilerini ve bu etkilerin fizyolojik mekanizmalarını belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Liken

"Liken" deyimini ilk defa M.Ö. IV.'ncü asırda Yunanlı Theophrastus kullanmış, fakat bu bilim adamının liken olarak adlandırdığı bitkilerin, liken olmadığı, "Ciğer otu" diye ifade edilen bitkiler olduğu daha sonraları anlaşılmıştır. Theophrastus gerçek iki liken türüne de (*Usnea* ve *Rocella*) başka bitki ismi vermiştir. Daha sonraları birçok botanikçi tarafından liken deyimini, yosunlarla karıştırılmıştır. İlk olarak likenlerin alg ve mantarlardan meydana geldiğini Alman botanikçisi Schwenderer ilim dünyasına tanıtmıştır.^{5,21}

20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren ince tabaka kromatografisinin (TLC) keşfiyle birlikte çeşitli likenlerin içerdiği bileşiklerin aydınlatılmasında önemli yol kat edilmiş, bu sayede likenlerin sınıflandırılmasında "kemotaksonomi" adı altında yeni bir yaklaşım ortaya çıkmıştır. Gelişen teknoloji ve yöntemler sayesinde günümüze kadar 800'den fazla liken asitlerinin kimyasal bileşiğinin yapısı aydınlatılmış, bilim adamları artık yeni moleküller peşinde koştuktansa mevcut moleküllerin biyolojik önemini araştırmaya başlamıştır. Yapısı aydınlatan maddelerden özellikle protolikesterik asit, pulvinik asit ve türevleri, fisodik asit, lobarik asit, fumarprotosetrarik asit ve usnik asidin en yüksek biyolojik aktivite gösteren liken bileşikleri olduğu saptanmıştır.^{10, 22-24}

Likenler primer ve sekonder metabolitler üretme yeteneğine sahiptirler. Likenlerin primer metabolitleri yalnız fotosentetik partner olan algler tarafından sentez edilmektedir. Likenler tarafından sentezlenen alifatik ve aromatik bileşikler ise mantar tarafından sentez edilen sekonder metabolitler olup, günümüze kadar pekçok sekonder metabolit saflaştırılmış ve yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılarak karakterize edilmiştir.^{17,25,26} Likenler yavaş büyümelerini ürettikleri aromatik yapıları sekonder

metabolitler sayesinde avantaja çevirebilmektedirler. Likenlerin ürettikleri bu maddelerin çoğu asit özelliği gösterdiği için bunlara karakteristik olarak "liken asitleri" denilmektedir. Likenlerdeki organik maddelerin büyük kısmı fungal kaynaklıdır.^{27, 28}

Likenlerde yaygın olarak hemiseluloz, pentoz, dextron, glikoz, lipidler, gibi bileşenler % 1-2 oranında bulunurlar. Likenlerde bulunan şekerler arabinitol, sükroz ve trehaloz şeklindedir. Likenler, aminoasit türevleri, şeker alkolleri, alifatik asitler, makrolitik laktonlar, monosiklik aromatik bileşikler, kinin, dibenzofuran, depsid, depsidon, terpenoid, steroid, karatenoid ve difenil eterleri içine alan pek çok sınıfa ait sekonder metabolitleri üretebilmektedirler.²⁹ Likenlerde polihidrik alkol, mannitol, ve volemitol gibi alkoller de bulunur. Ayrıca depsidler, depsidonlar ve yağ asitleri de özellikle likenlerin medulla bölgesinde bulunurlar. Likenlerde yaklaşık 16 aminoasit, büyüme maddeleri ve çok sayıda vitamin bulunmaktadır.^{8, 30} Likenlerin protein yapılarıyla ilgili ise düzenlenmiş veya izolasyonu yapılmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Fakat 1988 yılında Vincent, likenlerdeki karbonhidratları, lipidleri, fenolik maddeleri, azot metabolizmasını ve liken enzimolojisini kapsayan bir inceleme çalışması yapmıştır.³¹

Likenler çok çeşitli alanlarda kullanılıp değerlendirilmektedir.

Likenlerin Besin Olarak Kullanımı; likenler doğada pek çok küçük hayvandan başlayarak insanlara kadar çeşitli grupların gıdasını oluşturmaktadır. Akarlardan misk öküzlerine kadar birçok hayvan türü likenleri ya besin yada barınak olarak kullanır. Güve, örümcek, salyangoz, kelebek larvaları gibi böcekler ve birçok kemirgen hayvan likenleri besin olarak kullanmaktadır.^{3, 5, 30}

Böcekler likenleri sadece gıda olarak kullanmazlar aynı zamanda kendilerini likenlere benzeterek diğer canlılardan korumuş olurlar. Örneğin güve ve kene larvaları likenlere benzemek yoluyla düşmanlarından korunurlar.^{3, 5, 30}

Likenler insanlar tarafından da yiyecek maddesi olarak kullanılmaktadır. Likenlerin insanoğlu açısından besin değerleri oldukça kısıtlıdır. Çünkü geniş getiren hayvanların aksine insanlarda mide ve bağırsaklar içerisinde bulunan ve karmaşık liken karbonhidratlarını sindiren ve küçük moleküllere parçalayan bakteri florası mevcut değildir.^{5, 30, 32}

Likenlerin Tıbbi Olarak Kullanılmaları; likenler, ülkemizde ve dünyada çok eski zamanlardan beri halk hekimliğinde değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Birçok ülkedeki yayınlara dayanarak hazırlanan Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmasına göre, Dünya'da tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam tür sayısı 15.000 civarındadır. Tıbbi amaçla kullanılan bu bitkilerin arasında ise likenler önemli bir yer tutmaktadır.⁴⁻⁶

Yüzyıllardır halk sağlığında kullanılan likenlerden, ürettikleri sekonder metabolitlerine göre değil, morfolojik yapılarına bakılarak istifade edilmiştir. Bundan dolayı önceleri kullanılan likenlerin çok özel sekonder metabolitleri kimyasal olarak tam aydınlatılamamıştır.³⁰

Likenlerin sekonder metabolitleri birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle biyolojik aktivite çalışmalarında bu sekonder maddelerin her geçen gün yeni özellikleri keşfedilmekte ve bilhassa ilaç araştırmalarında önemli bir yer tutmaktadır.^{17, 25} Biyolojik aktiviteye sahip liken maddelerinin bir kısmının antibiyotik özelliğe sahip olduğu belirtilmiş olup bu konuda dünyada ve ülkemizde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya da devam etmektedir. Bu çalışmalar neticesinde günümüzde

likenlerden elde edilen 60'dan fazla antibiyotik madde tespit edilmiştir. Farklı liken türlerinden izole edilmiş protolikesterinik asit, pulvinik asit türevleri, depsid grubundan evernik, olivetorik asit, tridepsid grubundan giroforik asit, depsidon grubundan fisodik, lobarik, fumarprotosetrarik asitler ile dibenzofuran türevlerinden usnik asidin antimikrobiyal etkileri saptanmıştır. Bunlardan özellikle protolikesterinik asit, pulvinik asit, fisodik asit, lobarik asit, fumarprotosetrarik asit ve usnik asidin en yüksek antimikrobiyal etki gösteren liken maddeleri olduğu belirlenmiştir.^{17, 25, 33-35}

Likenlerin insanlardaki toksisitesiyle ilgili çok az sayıda veri bulunmakla birlikte, kaydedilmiş yan etkiler; lokal tahrişler ve bazen konjuktivit ile beraber meydana gelen alerjik deri iltihabı ile sınırlıdır. Duyarlı kişilerde alerjiye neden olan liken asitleri arasında usnik asit, diffraktaik asit, lobarik asit, barbatik, salazinik, ve stistik asit gibi birçok asit yer almaktadır.^{33, 36, 37}

Liken asitlerinden evernik asit ile usnik asidin karışımından evosin adlı madde elde edilmektedir. Bu evosin maddesinin kuvvetli antibiyotik etkisinin özellikle Gram (+) coccuslar üzerine ve Mycobacterium tuberculosis ile Corynebacterium diptheria'ya karşı olduğu bildirilmiştir. Staphylococcus, Streptococcus ve Mycobacteriuma karşı ise usnik asidin sodyum (Na⁺) tuzlarının kuvvetli antibiyotik etkisi olduğu tespit edilmiştir. *Ramalina reticulata*'dan elde edilen diğer bir antibakteriyal madde ise *Pneumococ*, *Staphylococcus* ve *Streptococ*'lar üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Halen tüberküloza karşı Cladonia çayı kullanılmaktadır.^{5, 8}

Liken asitleriyle yapılan son çalışmalarda ise liken sekonder metabolitlerinin insektisit aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.³⁸ Bu çalışmalara bakıldığında, likenlerin ürettiği çeşitli metabolitlerin bazı böcek, salyangoz ve nematodlar için zehirli olduğu, *Evernia prunastri* (L.) Ach. likeninden izole edilen değişik liken asitlerinin de

Toxocara canis larvaları üzerinde nematosidik etki gösterdiği bildirilmiştir.^{39, 40} Zararlı bir çay termiti olan *Glyptotermes dilatatus*'a karşı *Usnea* likeninin farklı türleri düşük dozlarda önemli seviyede antitermit etki göstermiştir. Çeşitli likenler tarafından üretilen pulvinik asit, salazinik asit, vulpinik asit ve usnik asidin *Spodoptera littoralis*'in (yaprak kurdu) larva gelişimini azalttığı belirlenmiştir.⁴¹⁻⁴³

Likenlerin günümüzde tıbbi olarak kullanım alanlarına bakıldığında; antibakteriyal,^{27,44} antiviral,⁴⁵ antitümoral,⁴⁶ antiprotozoal,¹³ antioksidan,¹⁴ antienflamatuar,^{15, 16} analjezik,^{15, 16} antipüretik,^{15, 16} antiproliferatif,¹⁷ antiülserojenik,¹⁸ enzim inhibitör aktiviteleri, genler üzerine etkileri gibi değişik çalışmalar sayılabilir. Bunların dışında halk arasında ise; soğuk algınlıkları, bağırsak kurtlarının düşürülmesi, alerji, ateşli hastalıklar, sarılık, cilt hastalıkları, humma nöbetleri, boğmaca, öksürük ve solunum yolu hastalıkları ve kemik kırıklarının tedavi edilmesinde istifade edilmiştir. Diğer yandan balgam söktürücü olarak ve laksatif amaçlı, damar büzücü olarak kan akışının engellenmesinde, saçların dökülmesinin önlenmesinde ve saçların gürleştirilmesinde de kullanıldıkları bildirilmektedir.^{17, 30}

Geçmişten beri tıbbi amaçla kullanılmaları, hali hazırda aydınlatılmış bazı liken sekonder metabolitlerinin biyolojik aktivitelere sahip olmalarından dolayı likenler günümüz araştırmacılarının dikkatini çekmektedir. Likenlerle ilgili yapılan çalışmaların bazılarında değişik liken türlerinin mutajenik etkiye sahip olmadığını aksine antimutajenik etkiye sahip olduğunu ortaya koyan sonuçlar elde edilmiştir.^{17, 23, 47} Araştırmacılar, likenlerin antimutagenik etkisinin yapılarında bulunan sekonder metabolitlerin antioksidan özelliklerinden kaynaklandığını tespit etmişlerdir.^{23, 24, 47-49}

Likenlerin antioksidan aktiviteye sahip olmaları, onların besin şeklinde alınmaları halinde ömür uzunluğunu ve antimutajenik aktiviteyi artırabileceğini

düşündürmüştür. Bu noktadan hareketle antioksidan aktiviteye sahip olan *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin metanol, kloroform ve su özütlerinin *Drosophila melanogaster*'in ergin bireylerinde ömür uzunluğu üzerine etkileri olduğu belirlenmiştir.⁵⁰

Antimutajenik ve antikarsinojenik özelliğe sahip kimyasal bileşikleri araştırmak ve keşfetmek insanlarda artan kanser riski ve mutasyon oranlarındaki artışın beraberinde getirdiği istenmeyen sonuçlar nedeniyle günümüzde zorunlu hale gelmiştir. Kanseri de içine alan çeşitli hastalıkların gelişmesine karşı bu metabolitlerin koruyucu olabileceğini gösteren in vivo ve in vitro deneysel araştırmalardan ve epidemiyolojiden elde edilen kanıtlar; kimyasal olarak koruyucu etkiye sahip bitki metabolitleri üzerine antimutajenik ve antigenotoksik çalışmaların büyük ölçüde artmasını da sağlamıştır.⁵¹

Likenlerin Zehir Olarak Kullanımı; bazı likenlerin içerdiği asit özellikteki maddelerin birçoğu vucuda alındığında tahriş edici özellikte olduğundan zehirlidirler. Bu özelliği en iyi bilinen türler *Letharia vulpina* ve *Vulpicida pinastri*'dir. Bu türler Avrupa'nın bazı ülkelerinde ve İskandinav ülkelerinde kışları hayvan sürülerine zarar veren kurtları ve tilkileri öldürmede kullanılmıştır. Bu likenler yenildiğinde hayvanların özellikle solunum sistemine tesir ederek solunumu durdurmak suretiyle ölümüne sebep olur. Bu türlerden başka hiçbir liken türü öldürücü değildir. Fakat içerdikleri liken asitleri yüzünden bağırsak bozukluklarına sebep olurlar.^{30, 52, 53}

Deri Tabaklama, Bira Yapımında ve Distilasyon Amacı ile Kullanımı; "Likenin" maddesinin endüstride hidrolizi yapılarak glikoz ve alkol elde etmek geçen yüzyılın ikinci yarısında araştırmacıların üzerinde durduğu bir konu olmuştur. Tallusta bulunan likenin maddesi zayıf hidrojen sülfat ve hidrojen nitrat ile muamele edildiğinde glikoza dönüşür. Ve onun fermentasyonu ile de alkol oluşur.^{30, 52, 53}

Cetraria islandica ve *Lobaria pulmonaria*'daki büzücü özellik dericilikte, deri tabaklanmasında kullanılmıştır. Yine *Lobaria pulmonaria* biranın mayalanmasında şerbetcisi otu (*Humulus lupulus*) yerine kullanılmıştır. Bu liken ile yapılan biranın şerbetcisi otu ile yapılan birayla tamamen aynı olduğu saptanmıştır. Yalnız organizmayı daha çok uyuşturduğu tespit edilmiştir.^{30, 52, 53}

Likenlerin Boyama Amacı ile Kullanılması; 19. yüzyılın ortalarına kadar likenlerin en önemli faydaları yünlülerin ve giysilerin boyanmalarında kullanılmalarıydı. Ancak günümüzde onların en önemli faydası çevresel indikatör olmalarıdır. Tekstil ürünlerinin boyanmasında kırmızıdan menekşe rengine kadar ve kahverenginin değişik tonları elde edilmiştir. Akdeniz ülkelerinin kayalık sahillerinde gelişen *Roccella tinctoria*, *Roccella fuciformis* ve diğer *Roccella* türleri boya elde edilen liken türleri arasında birinci derecede önemlidir.^{30, 52, 53}

Likenlerin Parfümeri ve Kozmetikte Kullanılması; likenlerin kullanım alanlarından bir diğeri de parfümeri ve kozmetik alanlarıdır. "Meşe yosunu" olarak isimlendirilen *Evernia prunastri* (L.) Ach.'dan Fransa'da son derece iyi bir parfüm elde edilmekte, ayrıca *Ramalina calicaris* (L.) Fr. ve *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. türleri de parfüm yapımında kullanılmaktadır. Daha iyi bir parfüm ise *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.'dan elde edilmektedir. Bu likene "meşelerin tabanındaki yosun" adı verilmiştir. Az bulunduğundan dolayı *Evernia*'ya oranla daha az kullanılmaktadır. Günümüzde önemli bir endüstri kolu olan kozmetikte yaygın olarak değerlendirilen liken türleri *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf., *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.'dır, ender olarak kullanılanlar ise *Anaptychia ciliaris* (L.) Körb., çeşitli *Usnea* ve *Physcia* türleridir. Bu likenler bazen parfüm içinde tek başlarına değil bir

karışım halinde kullanılabilirler. Bileşimine girdiği parfüme hoş bir koku ve kalıcılık sağlamaktadırlar.^{8, 20, 30, 52, 53}

Likenlerin Diğer Kullanım Alanları; likenlerden zank ve müsilaj elde edilmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Bu maddeler likenlerin yeterli oranda kaynatılması ile elde edilir. Arap zankı yerine geçen liken müsilajı Fransa'nın Lion kentinde boya materyali imalatında kullanılmıştır.^{52, 53}

Yine vulpinik asit, fisodik asit, salazirik asit ve usnik asidin otlarda tohum çimlenmesini ve kök büyümesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Örneğin; *Peltigera canina* (L.) Willd likeniyle aynı ortamda yetişen ot colonilerinin kök sistemlerinin çok az geliştiği görülmüştür. Bu asitleri (vulpinik asit, fisodik asit, salazirik asit ve usnik asit) içeren *Cladonia* cinsine ait likenlerin konifer ormanlarında ağaç fidelerinin büyümesini ve karayosunu sporlarının çimlenmesini inhibe ettiği bilinmektedir.⁵⁴ Aynı etki şekliyle barbatik asit, difraktaik asit, lekanorik asit gibi liken asitlerinin de marul ve salatalık filizlenmesini inhibe ettiği düşünülmektedir.⁵⁵

Bunların dışında likenler hava kirliliğinin indikatörü olarak, bir bölgedeki kirlilik ve metal miktarının belirlenmesi amacı ile de kullanılmaktadır. Mezar taşlarının yaşı, anıtların yaşı, en son heyelan ve deprem tarihlerinin belirlenmesinde de likenler kullanılmaktadır.³⁰

Likenlerin Halk Folkloründe Kullanılması; İskandinav ülkelerinde mezarlarda tabutun başına çiçek yerine liken türleri konulmaktadır. Türkiye'de ve birçok ülkedeki kırsal kesimlerde ve köylerde kayaların üzerinde gelişen *Ochrolechia tartarea*, *Lecanora* ve *Xanthoria* türlerinin üzerine tükruk veya su damlatılarak ve yassı bir taşla oğuşturularak kırmızı boya çıkarılır. Bu boya ile eller boyanır. Bu olaya "kına yakma" denir.³⁰

Ayrıca likenler çeşitli hayvanların yuva materyali olarak kullanılmaktadır. Likenlerin model ve dekorasyon malzemesi olarak kullanıldıkları da bildirilmektedir.

2.1.1. *Usnea longissima* Ach.



Şekil 2.1. Ormanlık alanlarda ağaçlar üzerinde yetişen *Usnea longissima* Ach.'nın görünüşü⁵⁶

Usnea longissima, *Usnea* cinsi içerisinde bir türdür. Taksonomik adlandırılması şu şekildedir.^{57, 58}

Aile: Parmeliaceae

Takım: Lecanorales

Sınıf: Lecanoromycetes

Cins: *Usnea*

Tür: *Usnea longissima*

Usnea longissima Ach. *Abies georgei* türü üzerinde bir epifit olarak yaşayan liken türüdür.⁵⁹ Ağaçlar üzerinde asılan talluslara sahiptir.¹⁸ *Usnea longissima* Ach.

silindirik ve iplik şeklindedir. Uzunluğu yaklaşık 50 yada 130 cm'dir. Çapı ise 0.6 ile 1.5 mm arasındadır. Solgun yeşil ve berrak-sarımsı renktedir. Çalıya benzer ve sarkıktır. *Usnea longissima* Ach.'nın dalları ile ana gövdesi uzundur. Kısa yan dalların büyümesi yoğundur. Yüzeyi gri-yeşil yada sarı-yeşildir. Hafif düz ve beyaz halkalar ile kaplıdır. Hafif esnektir ve çekilerek kolayca kırılabilir.^{58,60}

Usnea longissima deniz seviyesinden yüksek yerlerde bulunur.⁵⁹ Yağış alan ve nemli bölgelerde yetişir. Genellikle *Usnea longissima* nehirlerin, göllerin yada akarsuların olduğu bölgelerde görülür.⁵⁶ Bu liken türü haziran ve eylül ayları arasında büyüme gösterir.¹⁴ Ormanlık alanlarda ağaçlar üzerinde yetişen *Usnea longissima* Ach.'nın doğadaki görüntüsü Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Usnea longissima hava kirliliğine karşı çok hassas olan bir liken türüdür.⁶¹ Bazı Avrupa ülkelerinde hava kirliliği için bir indikatör olarak kullanıldığı bildirilmektedir. *Usnea longissima*'nın varlığında temiz hava belirtileri görülürken, yokluğunda kirli hava belirtileri görülmüştür.¹⁸ Kadınlar için hijyenik ürünlerin üretiminde ve saçları güçlendirmek için kullanılmıştır.³⁰ Dünyanın farklı ülkelerinde halk arasında *Usnea longissima*'dan bacak ve bel yaralanmalarında, kemik kırılmalarında ve deri dökülmelerinin tedavisinde yararlanılmıştır.⁶²⁻⁶⁴ *Usnea longissima*'nın ayrıca bir balgam söktürücü olarak etkili olduğu bildirilmiştir. Yara iyileşmesi ve ülser tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir.⁶⁵ Bu liken türünden hem doğu hemde batı ülkelerinde tıp ve geleneksel yiyeceklerin hazırlanmasında yararlanılmaktadır.⁵⁹

Usnea longissima'nın içerisinde farklı fenolik bileşikler vardır. Bu fenolik bileşikler isidiophorin, rhizonaldehide, rhizonyl alcohol, vesuvianic asit, ergosterol peroxide, usnic asid ve diffractaic asit gibi bileşiklerdir. Bu bileşikler günümüzde *Usnea longissima*'dan izole edilip, kimyasal yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, ¹H-¹H

COSY, HMQC, HMBC, IR, UV ve MS spektroskopik metotlar ile karakterize edilebilmektedir.¹⁴

Depsidon, depsidones, dibenzofuran ve pulvinik asit türevlerini kapsayan fenolik bileşikler, *Usnea longissima*'nın ikincil metabolitleridir.¹⁷ Bu bileşikler son zamanlarda yapılan araştırmalarda dikkat çekmektedir. Bunun nedeni ise söz konusu bileşiklerin antiviral,⁴⁵ antibiyotik,^{9, 10} antitümör⁴⁶ ve allerjik¹⁷ etkilere sahip olmalarındandır. Bu liken örneğinden izole edilen fenolik bileşikler antioksidan¹⁴ çalışmalarda kullanılmaktadır.

2.2. Bağırsaklar

İntestinum (bağırsaklar), sindirim kanalının pylorustan başlayıp anüste sona eren kısmıdır. Bağırsakların gelişmesi türlerin beslenme durumlarına göre değişir. Bağırsakların uzunlukları da türler arasında değişiklik gösterir. Bağırsaklar çaplarına göre ince bağırsaklar (intestinum tenue) ve kalın bağırsaklar (intestinum crassum) diye iki gruba ayrılırlar.⁶⁶

2.2.1. İnce bağırsakların anatomisi

İnce bağırsaklar, bağırsakların mide ile kalın bağırsaklar arasında kalan kısmıdır. Pylorustan kalın bağırsaklarla birleştiği papilla ilealise kadar uzanır. Karın boşluğunun orta ve arka kısımlarında yer alır. Omentum majus ile, dolayısıyla karın duvarı ile komşuluk yapar. Önden kalın bağırsaklara doğru sırasıyla duodenum (on iki parmak bağırsağı), jejunum (boş bağırsak) ve ileum (kıvrık bağırsak) diye üç bölüme ayrılır.⁶⁶

Duodenum; gastrointestinal kanalın bu bölümü insanda on iki parmak uzunluğunda olduğu için bu ismi almıştır. İnce bağırsakların birinci bölümüdür. Büyük kısmı karın boşluğunun sağında ve üst kesiminde (köpek hariç) bulunur. Pylorus'tan başlar. Burada bir genişleme gösterir, buna ampulla duodeni denir. Karaciğerin visceral

yüzünde pars cranialis adıyla karnın sağ duvarına gider. Karnın sağ duvarında flexura duodeni cranialis denilen keskin bir köşe yapar. Karnın sağ duvarına paralel bir seyirle sağ böbreğin arkasına varır. Buraya kadar olan parçasına pars descendens'tir. Sağ böbreğin arkasında flexura duodeni caudalis'i gerçekleştirdikten sonra sağdan sola geçer. Bu bölüm pars transversa'dır. Sağdan sola geçen kesim biraz daha öne ve yukarı yönelir ki bu kısma da pars ascendens denir. Bu bölümün sonunda flexura duodenojejunalis'i şekillendirir ve jejunum ile birleşerek sonlanır.⁶⁶

Jejunum; kadavrada içerisinin genellikle boş olması yada çok az derecede sulu besinlerin görülmesi nedeniyle boş bağırsak olarak isimlendirilmiştir. İnce bağırsakların en uzun bölümüdür. Ansa jejunalis denilen kıvrımlar yapar. Jejunum, duodenum'dan plica duodenocolica ile, ileumdan ise plica ileocecalis denilen bir bant aracılığı ile ayrılır.⁶⁶

İleum; ince bağırsakların en kısa parçasıdır. İleumun son kesimi kısmen cecum'un içine girmiştir. Deliğinin çevresi sirküler kas tabakasıyla çevrelenmiştir. İleum'un cecum'a açıldığı deliğin dış yanında, cecum ile colon arasında ostium cecocolicum bulunur. Bu iki delik bağırsak boşluğuna doğru sarkık, uzunlamasına geniş yapraklarla birbirinden ayrılmıştır.⁶⁶

2.2.2. İnce bağırsakların histolojisi

Bağırsak bölümleri glandular bir mucosaya sahiptir. Mideden ince bağırsaklara geçince mucosa kıvrımları şeklindeki yükselmelerle ince bağırsakların yüzeyi bir hayli genişler. Bu mucosa kıvrımlarına plika sirkularis veya Kerckring plika'ları adı verilir.⁶⁷ Çıplak gözle görülebilen bu plikalar en çok jejunumda gelişmiştir ve karakteristik yapıdadırlar. Duodenum ve ileumda da sıklıkla görülmesine karşın, önemli bir özellik göstermezler.⁶⁸ İleuma gidildikçe alçalan bu plikaların lumene bakan yüzeyleri

duodenumda yaprak şeklinde, ileuma doğru ilerledikçe parmak biçimini alan, yaklaşık 0.5-1.5 mm uzunluğunda makroskopik yapılarla donanmıştır.⁶⁸ Bu mucosa çıkıntıları villus intestinalis adını alırlar.^{67, 69} Türe ve fizyolojik aktivitelere bağlı olarak villus intestinalislerin uzunluğu değiştiği için değişik segmentlerin tanımlanmasında villus uzunluğu güvenilir bir özellik değildir.⁷⁰ Villus intestinalislerin uzun eksenleri doğrultusunda, emilen yağların lenf dolaşımına taşınmasını sağlayan ve luminal yüzleri epitel hücreleri ile kaplı lenf yarığı (merkezi kilus kanalı) bulunur.⁶⁷

İnce bağırsak duvarı 3 tabakadan oluşur.^{67, 69, 70}

- Tunica mucoza
- Tunica muscularis
- Tunica seroza

Tunica mucoza; tunica mucoza ince bağırsakta 4 laminalıdır. Lamina epitelialis, lamina propria, lamina muscularis mucosa ve submucosadır. İntestinal kanalın intirinsik sinir ağının bir katını oluşturan plexus submucosayı barındırır.⁶⁹

Tunica muscularis; içte sirküler, dışta longitudinal seyirli düz kas tabakasıdır. Bu iki kas tabakasının arasında yer alan gevşek bağ dokusu myenterik plexus içermektedir.^{67, 68, 70}

Tunica seroza; gevşek bağ dokusu yapısındaki subseroza ve onu da çevreleyen tunica seroza organı dıştan sarar. Peritonun visseral yaprağı olan tunica seroza, mezenter ile bağlantı yerinde mezenter üzerine geçerek devam eder.^{67, 69}

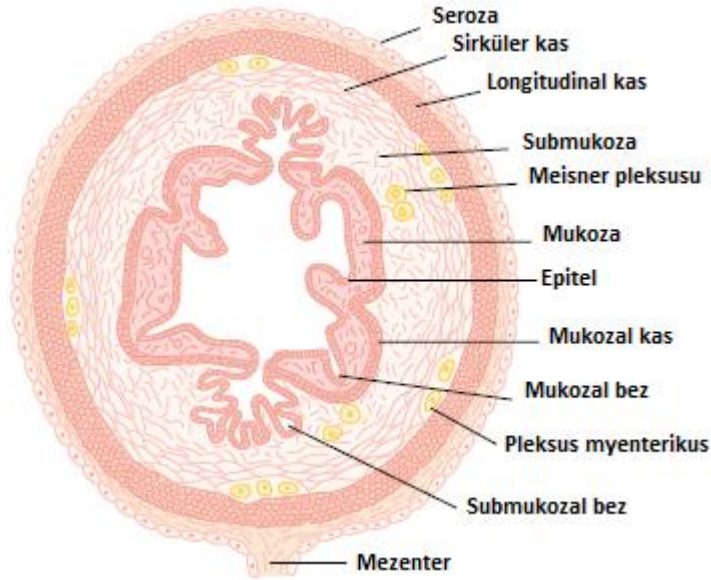
2.3. Bağırsak Fizyolojisi

Sindirim kanalı emilebilir düzeydeki elektrolitler, su ve gıdaların sürekli olarak dolaşım sistemine (kana) aktarımını sağlar. Bunu gerçekleştirmek için gıdaların sindirim kanalında hareketi ve parçalanması, sindirim salgılarının salgılanması ve

besinin sindirimi, sindirim ürünleri, su ve çeşitli elektrolitlerinin emilimi, emilen maddeleri uzaklaştırması için gastrointestinal organlarda kanın dolaşımı ve tüm bu işlevlerin lokal, sinirsel ve hormonal mekanizmalarla kontrolü sindirim ve sinir sisteminde yapılmaktadır.⁷¹

Sindirim kanalının her bölümü kendi özel işlevine göre uyum göstermiştir. Bazı bölümleri, özofagus gibi basitçe gıda geçişini sağlarken, diğerleri, mide gibi, besin depolar ve ince bağırsak gibi, sindirim ve emilimde görev alır.⁷¹

2.3.1. Gastrointestinal duvarın fizyolojik anatomisi



Şekil 2.2. Bağırsağın enine kesiti⁷¹

Şekil 2.2’de ince bağırsak duvarının enine kesiti gösterilmiştir. Dış yüzeyden içeriye doğru tabakalar şöyledir. Seroza, uzunlamasına (longitudinal) kas tabakası, dairesel (sirküler) kas tabakası, submucoza ve mucozadır. İlaveten seyrek düz kaslardan oluşmuş muscularis mucoza tabakası, mucozanın daha derin tabakalarında uzanır. Bağırsakların motor işlevleri düz kasın farklı tabakaları tarafından gerçekleştirilir.⁷¹

Gastrointestinal kanaldaki bireysel düz kas lifleri demetler şeklindedir. Longitudinal kas tabakasında bu demetler bağırsak kanalı boyunca uzunlamasına uzanırken sirküler kas tabakasında bağırsağın çevresinde uzanırlar. Her demetin içindeki kas lifleri birbirleriyle, iyonların bir hücreden diğerine düşük direnç ile hareketine izin veren, çok sayıda yarı bağlantılar ile elektriksel olarak bağlanmışlardır. Böylece her demetin içindeki elektrik sinyalleri bir liften sonraki life kolayca ulaşır.⁷¹

Ayrıca, longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasında birkaç bağlantı bulunur, böylece bu tabakalardan birindeki uyarılma sıklıkla diğerini de uyarır.⁷¹

Kas kasılması Ca^{2+} 'un kas lifi içine girişine cevap olarak meydana gelir. Ca^{2+} iyonları kalmodulin kontrol mekanizması üzerinden hareket ederek lifteki miyozin iplikçiklerini uyarır, böylece miyozin ve aktin iplikçikleri arasında birbirini çeken güçlere neden olur ve kasın kasılması sağlanır.⁷¹

Bağırsak kanalının düz kası sürekli fakat yavaş bir iç (intrensek) elektriksel aktivite ile uyarılır. Etkinlikte iki temel dalga tipi vardır. Bunlar yavaş dalgalar ve dikensi (sivri) dalgalardır.⁷¹

Yavaş dalgalar Ca^{2+} iyonunun düz kas içine girişine neden olmazlar, sadece Na^+ iyonunun girişini sağlarlar. Bu nedenle yavaş dalgalar kendi başlarına genellikle kasılmaya neden olmazlar. Bunun yerine yavaş dalgaların en üst noktasında meydana gelen dikensi potansiyeller sırasında büyük miktarda Ca^{2+} iyonu lifin içine girer ve kasılmaya neden olur.⁷¹

Gastrointestinal sistemdeki bazı düz kaslar ritmik kasılmaların yanısıra tonik kasılmalarda yaparlar. Tonik kasılmalar devamlıdır, yavaş dalgaların bazal elektriksel ritimleri ile ilişkili değildir. Tonik kasılmalar sıklıkla yoğunluklarında artma ve azalma gösterirler, ancak devamlıdır.⁷¹

Tonik kasılmalar bazen tekrarlayan sivri potansiyellere neden olabilirler. Bunların sıklığı ne kadar artarsa kasılmanın derecesi de o kadar büyük olur. Bazen tonik kasılmalar aksiyon potansiyellerine neden olmaksızın düz kas zarının devamlı depolarizasyonuna yol açan hormonlar veya diğer faktörler tarafından oluşturulur. Tonik kasılmaların diğer bir nedeni potansiyel değişiklikleri ile ilişkili olmayan yollarla taşınan Ca^{2+} 'un devamlı olarak hücrenin içine girişidir.⁷¹

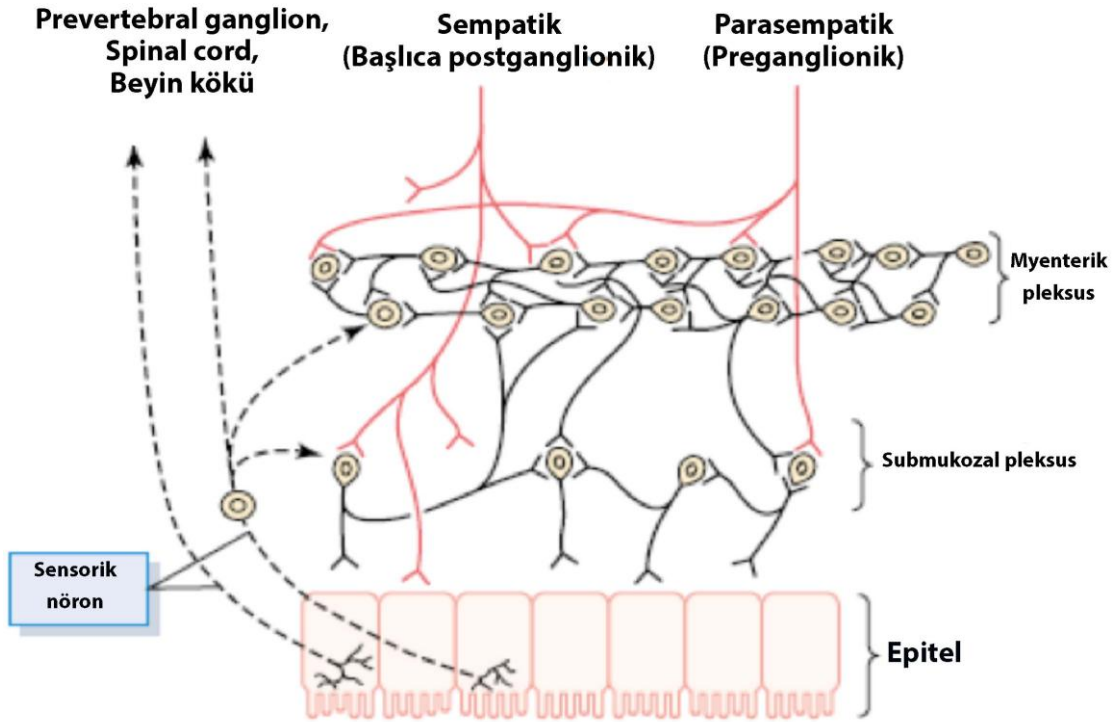
2.3.2. Gastrointestinal işlevin sinirsel kontrolü-enterik sinir sistemi

Sindirim kanalı boyunca görülen sekretorik ve motorik aktivitelerin düzenliği sinirsel ve hormonal faktörlerle sürdürülür. Sinirsel kontrol denince bağırsak kanalındaki plexuslarla (enterik sinir sistemi), otonom nitelikli ekstrinsik sinirler anlaşılır. Genel anlamda sinirsel kontrol sindirim kanalının her tarafında geçerlidir. Ancak orta bölgelerde, endokrin hücrelerce salınan lokal hormonların ağır bastığı görülür. Sempatik sinir sistemi; vücutta üretilen enerjinin tüketilmesine neden olan katabolik aktivitelerin harekete geçmesini sağlar. Parasempatik sistem; vücutta enerji üretilmesi ve bu enerjinin depolanmasını neden olan anabolik aktivitelerin harekete geçmesini sağlar. Parasempatik sinir sistemi bağırsak motilitesini artırırken, sempatik sinir sistemi azaltır.^{72, 73} Gastrointestinal kanalın parasempatik sinirleri Nervus (N.) vagus (ince bağırsaklar ile kalın bağırsağın başlangıç kısmı), N. pelvicus; sempatik sinirleri ise N. splanchnicus (ince bağırsaklar ile kalın bağırsağın ilk kısmı), N. mesentericacranialis (cecum ve colon) ve N. hypogastricus (iç anal sfinkterin sempatik telleri) tur. Çizgili kaslardan oluşmuş dış anal sfinkter ve M. levator ani, miks bir görünüme sahip N. pudentalis'teki somatik nitelikli afferent duyuşal ve efferent motorik teller tarafından innerve edilir.⁷⁴

Enterik sinir sistemi (ESS) tamamen organ duvarında yer alır, özofagusta başlar ve anüse kadar devam eder.⁷¹ ESS, özefagustan rektuma kadar uzanan gastrointestinal kanal duvarına lokalize olmuş, gastrointestinal kanal, pankreas ve vesika biliarisin innervasyonu ile ilgili sistemdir. Bu sistem gastrointestinal kanalın motilitesini, ekzokrin, endokrin sekresyonu ve mikro sirkülasyonu kontrol eder.^{75-77,78} Aynı zamanda immün ve inflamasyon işlemlerini düzenler.⁷⁹ İnflamatuar bağırsak hastalıklarının etiolojisinde birçok faktörün rolü olduğu öne sürülmektedir. Bunlar içinde çevresel etkenler kadar, genetik, immün ve bazı infeksiyöz sebepler de yer almaktadır. Son yıllarda, inflamatuvar hücreler ile immün sistem ve ESS arasında karmaşık bir etkileşim olduğuna dair giderek artan sayıda kanıt bulunmaktadır. Bunları şu şekilde söyleyebiliriz. Bağırsaklar otonomik sinir lifleri ile yoğun şekilde innervedir. Otonomik sinirler bağırsaktaki immün cevabı veren hücreler ile yakından ilişkilidir. Duysal sinir sitümulasyonu nöropeptidler yoluyla inflamasyonu düzenler.⁸⁰ ESS, esasen otonom sinir sisteminin bir parçasıdır. Ancak gerekli durumlarda merkezi sinir sisteminden bağımsız bir şekilde refleks olarak çalışarak fonksiyon yapabilmektedir. Bu nedenle Bağırsak beyni olarak nitelendirilen ESS, sempatik ve parasempatik sinir sisteminden ayrı bir sistem olarak değerlendirmektedir.⁸¹

ESS, ganglion hücrelerinden, primer interganglionik liflerden, efektör organlara uzanan sekonder ve tersiyer sinir liflerinden oluşmuştur. Enterik nöronlar, yapısal ve nörokimyasal yapı bakımından merkezi sinir sistemine benzerlik göstermektedir. ESS'de 100 milyon kadar nöron bulunur ve bu sayı yaklaşık medulla spinaliste bulunan nöron sayısı kadardır. ESS, glial hücre morfolojisi bakımından da merkezi sinir sistemine, diğer periferik sinir elemanlarından daha fazla benzerlik göstermektedirler. Glia hücreleri, ESS'nin destekleyici oluşumları olup, sayıca enterik nöronlardan

fazladır. ^{81, 82} Enterik glia hücreleri, merkezi sinir sistemindeki astrositlere benzerlik gösterirler. ESS'de bulunan bir diğer hücre tipi de Cajal'ın intersitisyel hücreleridir. Cajal'ın intersitisyel hücreleri, nöral veya glial hücreler olmayıp, bir pacemaker olarak hizmet ederek düz kasların spontan, ritmik ve elektriksel aktivitesinden sorumludurlar. Bu hücreler aynı zamanda kas ile sinir hücreleri arasında iletişimi sağlayan önemli noktalardır. ⁸³ ESS, plexus myentericus (Auerbach's) ve plexus submucosus (Meissner's) olmak üzere ganglionlu iki büyük sinir plexusundan oluşmuştur. Nöron yoğunluğu myenterik plexusta submucosal plexustan daha fazladır. ⁸⁴ Sensorik, motor ve internöronların yaklaşık oranları 2:1:1 şeklindedir. Bu nöronlar, çeşitli refleksler esnasında, değişik oranlarda aktive edilmektedirler. ^{85, 86}



Şekil 2.3. Bağırsak duvarının sinirsel kontrolü⁷¹

Plexus myentericus (Auerbach); özefagustan rektuma kadar uzanan sindirim kanalının, sirküler ve longitudinal düz kas tabakaları arasına lokalize olmuş ganglionlu bir sinir plexusudur. Sinir lifleri myenterik nöronlardan düz kaslara, submucozaya ve mucozaya dağılmıştır. Genellikle düz kas aktivitesi plexus myentericus'taki nöronlar tarafından kontrol edilmektedir.⁸² Myenterik plexus'tan submucosal ganglionlara, safra kesesi enterik ganglionlarına ve pankreasa da⁸⁷ aynı zamanda myenterik plexus'tan sempatik ganglionlara önemli sayıda birleştirici dal gider.⁸⁸

Plexus myentericus gastrointestinal kanal fonksiyonlarının kontrolünde önemli bir rol oynar. Özefagusun çizgili kas kısmında da bulunur. Buradaki motor innervasyon da inhibitör etkili nörotransmitter olarak nitrik oksit bulunmaktadır.⁸⁹ Bu innervasyon sadece özofagusta görülmektedir. Myenterik plexus'taki birçok bozukluk akalazyaya, Hirschsprung hastalığı gibi klinik bozukluklar şeklinde kendini gösterir.

Plexus submucosus (Meissner); plexus submucosus sirküler kas ile lamina muscularis arasında yer alır.⁷⁴ Bu plexus ince bağırsaklarda daha iyi gelişmiştir. Sinir lifleri submucozal nöronlardan plexus myentericus'a, diğer submucozal ganglionlara ve mucozaya dağılmıştır.⁹⁰ Plexus submucozus'taki ganglionlarda bulunan nöronlar, gastrointestinal kanalın absorpsiyon ve sekresyon aktivitesinden sorumludurlar.⁸⁷ Şekil 2.3'de bağırsak duvarının sinirsel kontrolü gösterilmektedir.

2.3.3. Gastrointestinal motilitenin hormonal kontrolü

Gastrointestinal salgının kontrolünde çeşitli hormonların önemleri vardır. Benzer hormonların birçoğu gastrointestinal kanalın bazı bölümlerinin motilitesini de aynı zamanda etkilerler. Hormonların motilite üzerine etkileri salgılatıcı etkilerinden daha az önemli olduğu halde, motilite kontrolü için çok önemli olan bazı hormonlar şu şekildedir.⁷¹

Cholecystokinin (CCK); bağırsak içindeki yağ ve yağ asitlerinin yıkım ürünleri ile monogliseritlerin varlığına cevap olarak duodenum ve jejunum mukosasındaki I hücrelerinden salgılanır. Safra kesesinin kasılmasını artırıcı etkisiyle safrayı ince bağırsağa boşaltır. Böylece safra burada yağlı gıdaları emülsifiye ederek sindirilmeleri ve emilmelerinde önemli rol oynar. CCK mide motilitesinde hafif bir azalma yaratır. Böylece, bu hormon aynı zamanda safra kesesini boşaltırken mideden gıdaların boşalmasını yavaşlatarak yağların üst bağırsak sisteminde sindirilmeleri için yeteri kadar zaman kalmasını sağlar.⁷¹

Secretin; mideden duodenuma boşalan asit özellikteki mide sıvısına cevap olarak duodenumun S hücrelerinden salgınır. Gastrointestinal kanalın hemen hemen tamamında motilite üzerine hafif bir baskılayıcı etkisi vardır.⁷¹

Gastric Inhibitory Polypeptide (GIP); yağ asitleri ve amino asitlere, daha az da karbonhidratlara cevap olarak üst ince bağırsak mukosası tarafından salgılanır. İnce bağırsağın üst kısımları besin ile dolu olduğu zaman midenin motor aktivitesini baskılayarak mide içeriğinin duodenuma geçişini yavaşlatır.⁷¹

Motilin; açlık sırasında yukarı duodenumda salgılanır ve bu hormonun bilinen tek işlevi gastrointestinal motiliteyi artırmaktır. Motilin döngüsel olarak salgılanır. İnsanda açlık sırasında her doksan dakikada bir mide ve ince bağırsaklar boyunca ilerleyen sindirim arası miyoelektrik kompleksler adı verilen gastrointestinal motilitenin dalgalarını uyarır. Besin alımından sonra, tam anlaşılmayan mekanizmalar aracılığıyla, motilin salgısı baskılanmaktadır.⁷¹

Gastrin; bu hormonun yapım yeri mide, duodenum ve pankreastır. Gastrin, asit mide salgısını ve brünner bezlerinin salgısını artırır. İntrinsik faktör salınımını, kalın

bağırsak hareketlerini uyarır. Az miktarda pepsinojen salgılatır. Mide-bağırsak epitelini geliştirir.⁷⁴

Pancreozymın (PZ); duodenum, jejunum ve midede salgılanır. Enzimce zengin pankreas salgısını, safra kesesi kontraksiyonunu ve brüner bezleri salgısını artırır. Mide salgı ve hareketini inhibe eder.⁷⁴

Vasoactive Intestinal Peptide (VIP); ince bağırsakta yapılır. Damarları genişletir. VIP sekretin yapımını, sulu pankreas salgısını, lipoliz ve glikojenolizi uyarır.⁷⁴

Enteroglucagon; duodenumdan salgılanır. İnsülin sekresyonunu ve brüner bezleri salgısını artırır. Motilinin etkisini kısıtlar. Glikojenolizi uyarır.⁷⁴

Somatostatin; mide, pankreas ve duodenumdan salgılanır. Komşu endokrin hücrelerinin salgısını kısıtlar. Mide asit salgı ve hareketini önler. Motilin bırakılmasını inhibe eder.⁷⁴

Enterocrinin; yapım yeri jejunumdur. Enzimce zengin bağırsak salgısını artırır ve safra yapımını uyarır.⁷⁴

Duocrinin; duodenumdan salgılanır. Brüner bezleri salgısını uyarır ve alkali ve müsince zengin bağırsak salgısını artırır.⁷⁴

Villikinin; bu hormonun yapım yeri ince bağırsaktır. Villus hareketini uyarır.⁷⁴

Enterogastrone; ince bağırsakta salgılanan bu hormon mide salgı ve hareketlerini kısıtlar.⁷⁴

Bombesin; duodenum da salgılanır. Bombesin komşu hücrelerin salgısını uyarır. Somatostatine ters etki gösterir. Mide-bağırsak epitelini geliştirir.⁷⁴

Neurotensin; bu hormon duodenumdan salgılanır ve damarları genişletir.⁷⁴

Bulbogastrome; bu hormonun yapım yeri duodenumdur. Görevi ise mide asit sekresyonunu inhibe etmektir.⁷⁴

Serotonin; mide ve bağırsaktan salgılanan serotonin, mide salgısını inhibe edip mide bağırsak hareketlerini başlatır.⁷⁴

Chymodenin; yapım yeri duodenum olup pankreastan kemotripsinojen salımını uyarır.⁷⁴

2.3.4. Gastrointestinal kanaldaki hareketlerin işlevsel tipleri

Gastrointestinal kanalda iki tip hareket meydana gelir. Sindirim ve emilim için kanal içinde gıdaları uygun hızda ileri doğru hareket ettiren ilerletici hareketler ve bağırsak içeriğinin her zaman birbirleriyle karışık olarak kalmasını sağlayan karıştırıcı hareketler.⁷¹

Bağırsaklardaki sindirim olaylarının fiziksel etmenlerini oluşturan bağırsak hareketleri, bağırsak çeperindeki longitudinal ve sirküler düz kas katmanlarının bir fonksiyonudur. Bu özel hareketlerle önemli bazı görevlerin yerine getirilmesi amaçlanır.⁷⁴

Bağırsak hareketlerini başlatan esas uyarın, bağırsak duvarının içerikle lokal olarak gerilmesidir. Böylece içerik karıştırılır, yoğurulur ve ilerletilir.⁷⁴

Besinin alınışından sonra sindirim kanalının hareketleri daha çok karıştırıcı ve yoğurucu niteliktedir. Bu dönemde ilerletici hareketlerin önemi pek az olur. Genel bir kontraksiyon halinde bağırsak lumeni daralır ve içeriğin ilerlemesi daha zorlaşır.⁷⁴

İçeriğin sindirim kanalında ilerleyişi temel fiziksel yasalarla ayarlanır. Bu amaçla intraluminal basınç farklılıkları meydana getirilir. Düz kas katmanlarının basınç farklılığı oluşturma gücü, içeriğin sıvı yada katı oluşuna göre farklar gösterir.⁷⁴

İzole mide yada bağırsak parçası, ılık fizyolojik tuzlu su eriyiğine konulduğunda kasılmasına devam eder. Bundan esinlenen basit yöntemlerle bağırsak hareketleri üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılabilmektedir.⁷⁴

2.3.5. İnce bağırsak hareketleri

Sindirim kanalının en önemli bölümünü oluşturan ince bağırsaklar duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere ayrılır. Çoğu hayvanlarda besinlerin sindirimi ince bağırsaklarda tamamlanır ve parçalanmış ürünlerin absorpsiyonu gerçekleştirilir. Bu açıdan bakıldığında ince bağırsak hareketleri bağırsağın emilim işiyle ilgilidir ve bu amaca uygun karıştırıcı ve ilerletici görevlerle yükümlüdür.⁷⁴

İnce bağırsaklarda gözlenen başlıca üç tip hareket, boğumlanma (ritmik segmentasyon), sarkaç (pendüler) ve solcanvari (peristaltik) hareketlerdir.⁷⁴

Ritmik segmentasyon hareketi; ilk kez Cannon (1911) tarafından kedi bağırsağı üzerindeki incelemeler sonucu bildirilen boğumlanma hareketi bağırsağın sirküler kas katmanının kontraksiyonuyla oluşmaktadır. Bağırsakta bulunan besin kitlesi düzgün aralıklı boğumlanmalarla birçok küçük oval parçalara ayrılır. Hemen ardından bu parçalar yeniden bölünür ve bir önceki parçaların komşu yarımaları birleştirilerek oval parçaların konumu farklılaşmış olur. Bu olaylar bir segmentasyon dönemi boyunca ardı ardına tekrarlanır. Segmentasyon periyodu genellikle 30 dakikadan fazla sürer.⁷⁴

Ritmik nitelikli bu segmentasyon hareketleri, ince bağırsağın değişik yerlerinde aynı anda sürdürülebilir yada bir bölgede sönüp bir diğerinde başlayabilir.⁷⁴

Bu hareketlerin başlıca amacı, besin maddelerini yoğurmak, sindirim salgılarıyla karıştırmak ve sindirilebilenlerin emilimi için bağırsak mukozası ile temas ettirebilmesini sağlamaktır. Bağırsak duvarındaki sirküler kasların kontraksiyonuyla oluşan bu hareketlerin güç ve dakika sayısı besin alma durumuna ve ince bağırsağın

bölümüne göre farklılaşabilir. Yemlemeden sonra güçlü olan boğumlanma kontraksiyonlarının dakikadaki sayısı, ince bağırsağın sonuna gidildikçe azalmak kaydıyla dakikada 12-18 kadar olmaktadır.⁷⁴

Segmentasyon hareketleri en belirgin kedi ve köpekte izlenmekte, tavşanda daha az görülmektedir. N. vagusun uyarılması hareketleri arttırmakta, sempatik uyarılma ise durdurabilmektedir. Hareketler sırasında bağırsak duvarında kan ve lenf akımının arttığı da gözlenmektedir.⁷⁴

Pendüler (sarkaç) hareket; en çok tavşanda incelenmiş olan sarkaç hareketleri bütün hayvanlarda görülebilmektedir. Bağırsak halkalarının sallanması, uzayıp kısılması biçimindedirler. Bu hareketlerin temelde segmentasyon hareketlerinin benzeri olduğu düşünülmektedir. Bağırsak duvarındaki sirküler kasların kontraksiyonu sırasında, longitudinal kaslar da kısılabilmektedir. Sonuncusu bağırsak duvarının her yanında aynı güçte oluşmamakta ve böylece bağırsakta sallanmalar gözlenmektedir.⁷⁴

Dakikada 10-12 adet sayılabilen sarkaç hareketleri çok kuvvetli meydana geldiklerinde peristaltik hareketlerin kaynağı olabilmektedirler.⁷⁴

İzole bağırsak parçası, uygun ortama konulduğunda uzun süre kasılabilir. Ritmik kontraksiyon yada Tip 1 kontraksiyon denilen ve segmentasyon ile pendüler hareketlerin beraberliği biçiminde olan bu hareketleri yazdırmak da mümkündür. Bağırsağın başlangıç kısmının motorik aktivitesi en yüksek olup, hareketlerin güç ve sayısı ince bağırsağın sonuna doğru düzenli bir düşüş göstermektedir.⁷⁴

Peristaltik hareket; bu hareketler bağırsak boyunca veya oldukça uzunca bir bölümde görülen, cavdal (anal) yöne ilerleyen ve bağırsak duvarlarındaki her iki kas katmanının (sirküler, longitudinal) beraber ve ritmik kasılmalarıyla oluşan solcanvari hareketlerdir.⁷⁴

İlk kez Bayliss ve Starling (1899) tarafından köpekler üzerinde incelenen bu harekette, besinin bağırsakta bulunduğu yerin cranialinde bir daralma, cavdalinde ise bir gevşeme meydana geldiği bildirilmiştir. Böylece başlayan bir kontraksiyon dalgasının besini, basınç farkını değerlendirerek cavdaldaki gevşemiş alana ittiği belirtilmiş ve bu olay bağırsak yarası olarak adlandırılmıştır. Cannon bu lokal olayı myenterik refleks olarak tanımlamıştır.⁷⁴

Sonradan araştırmacılar, kontraksiyon halkasının içeriği ilerletmesiyle cavdaldaki kısmın sonradan gerilip genişlediğini ileri sürmüşlerdir.⁷⁴

Peristaltik hareketler, besin kitesini bağırsak boyunca ilerletmede ana mekanizmayı oluştururlar. Tip 2 kontraksiyonlar adı verilen bu hareketlerde her kontraksiyon 0.5-1.5 dakika sürer. Genelde hızlı ve yavaş ilerleyen olmak üzere iki tip peristaltik ayırt edilmektedir.⁷⁴

Hızlı peristaltığın dalga hızı saniyede 2-25 cm arasında değişir. Bazı dalgalar hızla ve uzun bir yol boyunca ilerler ki bunlara peristaltik püskürme adı verilir. En belirgin tavşanda görülmektedir.⁷⁴

Peristaltik dalganın bir yerden geçişinden sonra bağırsağın o bölümü 10-25 saniye kasılı kalabilir. Bu süre içinde besin kitlesi sürekli yol alır. Peristaltik dalgalar ileum sonunda genellikle durdurulmakta, kalın bağırsağa geçişi engellenmekte ve böylece ishal olaylarına bir önlem alınmış olmaktadır.⁷⁴

Peristaltik dalgaların normal yönü cranialden cavdale doğrudur. Bağırsaklardan kesilen yeter uzunluktaki bir parça ters yönde aynı yere dikilirse, parçada yön tersine döneceğinden, cranial dikiş yerinde katıca bir içeriğin toplandığı görülür.⁷⁴

Peristaltik hareket temelde, bağırsak mukosasındaki reseptörleri, düz kas katmanlarını ve intrinsik sinir plexuslarını kapsayan bir lokal refleks olaydır. Hareket

bağırsağın herhangi bir yerinde başlayabilir. Peristaltığın uyarılmasında normal ve etkili uyaran bağırsak duvarının gerilmesidir. Bağırsak duvarı normalde, plexus myentericus'tan alınan sürekli impulslarla tam olmayan bir tetanik kontraksiyon halindedir. Bağırsak düz kasının bu özelliği ile intraluminal basınç artışı olmadan bağırsak genişleyebilmekte, besin kitlesinin önünde ve ardında pasif boşluklar oluşmamaktadır. Bağırsak duvarında belirli bir tonus olmasaydı, bağırsak hareketlerinin başlatılabilmesi için etkili uyarımlar şekillenemeyecek ve maddeler bağırsakta rastgele birikecekti.⁷⁴

İzole bağırsak lumeninden geçirilen fizyolojik tuzlu su içerisinde serotonine rastlanmaktadır. Serotonin, mucosadaki reseptörleri etkileyerek peristaltik refleksi başlattığı sanılmaktadır. Nitekim, bağırsağın besin kitlesiyle gerilmesi (dolması) durumunda serotonin salgılanışının artışı anlamlı görülmektedir.⁷⁴

İnce bağırsak hareketleri de karıştırıcı (bölümlenme) ve ilerletici kasılmalar olarak ikiye ayrılır. Ancak, bu ayırım büyük ölçüde yapaydır. Çünkü, temelde ince bağırsağın bütün hareketleri en azından bir dereceye kadar hem karıştırma hem de kimusu ilerletme işlemini şekillendirirler.⁷¹

İnce bağırsağın bir bölümü kimusun etkisiyle genişlediği zaman, bağırsak duvarının gerimi bağırsak boyunca belirli aralıklarla yerleşmiş, daraltıcı kasılmalar yaratır. Bu kasılmalar ince bağırsağın bölümlenmesine neden olur.⁷¹

İnce bağırsağın bölümlere ayrılması barsağa bir sosis zinciri görünümü verir. Bölümlenme kasılmalarının bir dizisi gevşediğinde yeni bir dizi başlar, ancak bu kez kasılmalar ağırlıklı olarak önceki kasılmalar arasında yeni noktalarda oluşur. Bu bölümlenme kasılmaları kimusu genellikle dakikada 2 ya da 3 defa parçalara böler ve

bu yolla katı besin partiküllerinin ince bağırsağın salgılarıyla ileri derecede karışması sağlanır.⁷¹

İnce bağırsaktaki bölümlenme kasılmalarının en yüksek frekansı bağırsak duvarı içindeki yavaş dalgaların frekansı tarafından belirlenir. Çünkü bu frekans duodenum ve proksimal jejunumda dakikada yaklaşık 12 olduğunda, bu alanlardaki bölümlenme kasılmalarının frekansı da dakikada yaklaşık 12'dir. Ancak bu durum sadece aşırı uyarılma durumlarında oluşur. Terminal ileumda ise en yüksek frekans genellikle dakikada 8-9 kasılmadır.⁷¹

ESS'nin uyarıcı aktivitesi durdurulduğunda, bölümlenme kasımları çok zayıflar. Bundan dolayı, bölümlenme kasımları düz kaslardaki yavaş dalgalarla kontrol edilseler bile, arka planda ESS, özellikle myenterik ağ tarafından uyarılmazlarsa etkili olamazlar.⁷¹

2.4. Gastrointestinal Motilite Bozuklukları

2.4.1. Yutma ve özofagus ile ilgili bozukluklar

Yutma mekanizmasının paralizisi; beyin kökünden çıkan IX. ve X. sinirlerin lezyonları, yutma mekanizmasının önemli kısmının felcine neden olur. Bunun gibi değişik kas hastalıkları ve beyin sapı hastalıkları yutma reflekslerinin kaybına ve yutmanın bozulmasına neden olur.⁷¹

Akalazya ve Megaözofagus; akalazya, yutma mekanizması sırasında alt özofagus sfinkterlerinin gevşeyememesi sonucu ortaya çıkan bir durumdur. Özofagus üçte ikilik alt kısmında myenterik plexusun bozuk olduğu veya hiç olmadığı tespit edilmiştir. Hastalarda yutma zorlukları ortaya çıkar.⁷¹

2.4.2. Kalın bağırsak bozuklukları

Konstipasyon; feçesin kalın bağırsakta yavaş ilerlemesi anlamına gelir. Bu durumda sıvı absorpsiyonu için geniş bir zaman sağlandığından inen colonda çok miktarda kuru ve sert bir feçes birikir.⁹¹

Konstipasyon 3 mekanizma ile meydana gelir.

1-Kalın bağırsağın ilk kısmına ulaşan materyalin azlığı (açlık ve posabırakmayan diyetle beslenme sonucunda böyle olur).

2-Kalın bağırsağın dışkıyı ileri doğru iten motilitelerin azalması (bazı nörolojik hastalıklarda olduğu gibi).

3-Defekasyon mekanizmasının bozulması (son bağırsak ve anuse organik, nörolojik, psikolojik nedenlerle dışkının dışarı atımını engelleyen olaylarda olduğu gibi).⁹¹

Konstipasyonun nedenleri; doğuştan olma bozukluklar, kültürel, psikolojik, çevresel faktörler, dışkılama ihtiyacının uygun koşullar olmadığı için baskılanması bağırsakta gaitanın ilerlemesini zorlaştıran hastalıklar, yaşlılarda uygun defekasyon pozisyonunu engelleyen bozukluklar, eklem sorunları, parkinson hastalığı, multiple skleroz (MS) gibi bazı nörolojik hastalıklar, motilite azlığı konstipasyon nedeni olabilir. Kullanılan bazı ilaçlar da, konstipasyon nedeni olabilir. Bu saydığımız nedenler dışında ülkemizde ve batı dünyasında en sık konstipasyon nedeni; bağırsak sağlığı yönünden yanlış beslenme sonucunda gelişen konstipasyondan kurtulmak için alınan ve bir müddet sonra alışkanlık yapan birçok konstipasyon ilaçlarının yanlış ve uygunsuz kullanımudur.⁹¹

Diyare; fekal maddenin kalın bağırsaktan hızlı geçişi sonucu ortaya çıkan durumdur. Değişik nedenlerden dolayı görülebilmektedir. Bunlar arasında, enteritler, psikojenik faktörler, ülseratif kolit gibi durumlar sayılabilir.⁹¹

Medulla spinalis lezyonlarına bağlı defekasyon paralizi; defekasyon, feçesin rektuma dolması ile başlatılır. Rektumun dolması, buradan medulla spinalise giden ve tekrar geriye inen colon, sigmoid colon, rektum ve anüse dönen defekasyon refleksi uyarmaktadır. Bu refleks, colonun kendi çeperindeki myenterik plexusundan kaynaklanan intrinsik defekasyon refleksi şiddetlendiren bir etki yapar. Medulla spinalisin defekasyon refleksi, medulla spinalis yaralanmalarında sıklıkla bloke olur veya değişime uğrar. Örneğin, medulla spinalis conusmedullaris'inin tahribi, medulla spinalis refleksinin entegre olduğu sakral merkezleri de haraplar ve böylece defekasyon tamamen felç olur. Bu vakalarda defekasyon olabilmesi için, laksatif ve lavman gibi büyük çapta yardım gereklidir.⁹¹

Medulla spinalis daha sık olarak conus medullaris ve beyin arasında değişik nörolojik hastalıklardan dolayı tahrip olur. Bu durumda, defekasyonun iradesel bölümü bloke olduğu halde, medulla spinalis refleksi sağlam kalır. Bununla beraber defekasyona istemli olarak yardım eden faktörlerin yani abdominal basıncın artırılması ve pelvik kasları ile anal halkanın daraltılması defekasyonu güç hale getirir.⁹¹

Megacolon; bazı durumlarda dışkılama ancak haftada bir veya daha uzun zamanda bir olacak kadar ağır kabızlık ile karşılaşılabılır. Bu durum colon çapının 8-10 cm'ye ulaşacak kadar genişlemesine neden olarak aşırı miktardaki dışkı materyalinin colon içinde birikmesine yol açar. Bu hal megacolon veya Hirschsprung hastalığı olarak adlandırılmaktadır.⁷¹

Megacolonun en sık belirlenen nedeni, bir sigmoid colon segmentindeki myenterik plexusta gangliyon hücresi yokluğu veya eksikliğidir. Sonuçta kalın bağırsağın bu bölümünde ne dışkılama refleksleri ne de güçlü peristaltik hareketler oluşmamaktadır. Sigmoid colonun bu kısmı kısa ve spastik halde iken, proksimalinde dışkı birikerek megacolona neden olur. Radyoaktif incelemede motilitenin olmadığı hastalıklı colon bölümü normal gözükürken, gerçekte normal olan kalın bağırsak bölümü oldukça genişlemiş olarak görülür.⁷¹

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın tüm deneysel uygulamaları ve aşamaları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.02.2014 tarih ve 36643897-53 sayılı yazısında belirtilen Etik Kurul Raporunun 255 nolu kararı ile onaylandı.

3.1. *Usnea longissima* Ach. Liken Türünün Temini ve Total Ekstraktının Elde Edilmesi

Bu araştırmada kullandığımız *Usnea longissima* Ach. liken türüne ait örnekler, Trabzon ili Maçka ilçesi sınırları içerisinde 1945 m rakımlı Güzel Yayla bölgesinden toplanmıştır. Bu liken türü toplandıktan sonra Atatürk Üniversitesi Kazımkarabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü Likenoloji Laboratuvarında Prof. Dr. Ali Aslan tarafından teşhis edildi. Daha sonra *Usnea longissima* ekstraktının hazırlanışı Prof. Dr. Ali Aslan tarafından aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Usnea longissima Ach. yabancı bitki ve otlardan arındırılarak temizlendikten sonra oda sıcaklığında kurutulup öğütücü yardımı ile toz haline getirildi.⁶ Toz haline getirilen liken örneğinden 20 g alınarak soxholet cihazına ekstraksiyon kapları içerisine yerleştirilerek metanol çözeltisi ile ekstraksiyonu yapıldı ve elde edilen ekstre evapore edildi. Elde edilen pelte kıvamındaki total ekstre +4°C'ta muhafaza edildi.

Temin edilen ekstraktan final konsantrasyonu 0.012 µg/ml, 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml'lik beş farklı doz dimetil sülfoksitte (DMSO) çözdürülerek hazırlandı.

3.2. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanlar

Bu alışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen ortalama 220-250 g ağırlığında, 3-4 aylık, 24 adet erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. Tüm hayvanlar deney hayvanları ünitesinde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, % 55-60 nem oranı ve 22°C oda sıcaklığında tutuldu. Beslenmeleri standart pelet yem ile yapıldı. Su ihtiyaaları sürekli sağlandı. Deneyler süresince Etik Kurul koşullarına riayet edildi.

3.3. Araştırmada Kullanılan Etken Maddeler ve Dozları

Deneylerde kullanılan etken maddeler ve dozları aşağıda belirtildiği gibi düzenlendi. Etken maddelerin 0.2 ml'deki derişimleri, 20 ml'lik izole organ banyosunda istenilen final konsantrasyonu sağlayacak şekilde hazırlandı.

Çalışmada kullandığımız etken maddeler;

***Usnea longissima* Ach.;** *Usnea longissima* Ach. ekstraktı, izole rat ileum düz kas kontraksiyonları üzerine etkinliğini araştırmak için kullanıldı. *Usnea longissima* Ach.'nın 0.012 µg/ml, 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml'lik dozlarının hazırlanışı aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Temin ettiğimiz *Usnea longissima* Ach. ekstraktı hassas terazide 0.120 g tartılarak alınıp % 10'luk 10 ml DMSO'da çözdürüldü. Elde ettiğimiz bu stok solüsyondan 20 ml'lik organ banyosuna 0.2 ml verildiğinde *Usnea longissima* Ach.'nın final konsantrasyonu 120 µg/ml olur.

120 µg/ml olan stok solüsyonumuzdan 1 ml alınıp üzerine % 10'luk 9 ml DMSO eklendiğinde *Usnea longissima* Ach.'nın 12 µg/ml dozu elde edildi.

Elde edilen *Usnea longissima* Ach.'nın 12 µg/ml dozundan 1 ml alınıp üzerine % 10'luk 9 ml DMSO eklediğimizde *Usnea longissima* Ach.'nın 1.2 µg/ml dozu elde edildi.

Daha sonra *Usnea longissima* Ach.'nın 1.2 µg/ml dozundan 1 ml alınıp üzerine % 10'luk 9 ml DMSO eklediğimizde *Usnea longissima* Ach.'nın 0.12 µg/ml dozu elde edildi.

En sonunda ise *Usnea longissima* Ach.'nın 0.12 µg/ml dozundan 1 ml alınıp üzerine % 10'luk 9 ml DMSO eklediğimizde *Usnea longissima* Ach.'nın 0.012 dozu elde edildi.

ACh (CAS numarası: 60-31-1, Sigma, Almanya); izole rat ileum düz kas kontraksiyonlarını indükleyici ajan olarak kullanıldı. ACh'nin 0.2 ml'lik volumlerle uygulandığı zaman, 20 ml'lik organ banyosu final konsantrasyonları 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M olacak şekilde 5 farklı logaritmik dozu hazırlandı. ACh'nin dozlarının hazırlanışı aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Molekül ağırlığı 181.66 olan ACh'dan 0.182 g hassas terazide tartılarak alınıp 10 ml saf suda çözdürüldü. Elde ettiğimiz bu stok solüsyondan 20 ml'lik organ banyosuna 0.2 ml verdiğimizde ACh'nin final konsantrasyonu 10^{-3} M olur.

10^{-3} M olan stok solüsyonumuzdan, 1 ml alınıp üzerine 9 ml distile su eklediğimizde ACh'nin 10^{-4} M dozu elde edildi.

Elde edilen 10^{-4} M ACh'dan 1 ml alınıp üzerine 9 ml distile su eklediğimizde ACh'nin 10^{-5} M dozu elde edildi.

Daha sonra 10^{-5} M ACh'dan 1 ml alınıp üzerine 9 ml distile su eklediğimizde ACh'nin 10^{-6} M dozu elde edildi.

En sonunda ise 10^{-6} M ACh'dan 1 ml alınıp üzerine 9 ml distile su eklediğimizde ACh'nın 10^{-7} M dozu elde edildi.

KCl (CAS numarası: 7447-40-7, Sigma, Almanya); izole rat ileum düz kas kontraksiyonlarını indükleyici ajan olarak kullanıldı. KCl'nin 20 ml'lik organ banyosuna 0.5 ml uygulandığı zaman final konsantrasyonu 20, 40, 60, 80 ve 100 mM olan farklı dozları hazırlandı. Hazırlanan bu dozlar aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Molekül ağırlığı 74.5 g olan KCl'den 7.45 g hassas terazide tartılarak alınıp 25 ml saf suda çözdürüldü. Hazırladığımız bu stok solüsyondan 20 ml'lik organ banyosuna 0.5 ml verdiğimizde KCl'nin final konsantrasyonu 100 mM olur.

100 mM olan stok solüsyonumuzdan, 8 ml alınıp üzerine 2 ml distile su eklediğimizde KCl'nin 80 mM dozu elde edildi.

100 mM olan stok solüsyonumuzdan, 6 ml alınıp üzerine 4 ml distile su eklediğimizde KCl'nin 60 mM dozu elde edildi.

100 mM olan stok solüsyonumuzdan, 4 ml alınıp üzerine 6 ml distile su eklediğimizde KCl'nin 40 mM dozu elde edildi.

100 mM olan stok solüsyonumuzdan, 2 ml alınıp üzerine 8 ml distile su eklediğimizde KCl'nin 20 mM dozu elde edildi.

Ketamine hydrochloride (CAS numarası: 1867-66-9, Sigma, Almanya); deney hayvanını anesteziye almak için kullanıldı (Ketalar: 75mg/kg).

Xylazine hydrochloride (CAS numarası: 23076-35-9, Sigma, Almanya); deney hayvanlarını anesteziye almak için kullanıldı (Rompun: 15 mg/kg).

Krebs Solüsyonu için kullanılan kimyasallar; NaCl (119 mM), KCl (4.75 mM), CaCl_2 (2.5 mM), MgSO_4 (1.5 mM), KH_2PO_4 (1.2 mM), NaHCO_3 (25 mM), glikoz (11 mM).⁹²

3.4. Araştırmada Kullanılan Alet ve Malzemeler

İzole organ banyosu; ileum dokusundan hazırlanan düz kas şeritlerinin canlılığını korumak ve etken maddelere karşı biyolojik aktivitelerini test etmek için kullanıldı.

İzometrik transduser; ileum kas şeritlerinin uygulanan etken maddelerin verdiği tonik kasılma cevapları, elektriksel sinyallere çevirerek amplifikatör sistemine aktarmak için kullanıldı.

Amplifikatör; izometrik transduserden alınan elektriksel sinyalleri büyüterek data analiz sistemine aktarmak için kullanıldı.

Data analiz sistemi; amplifikatörden alınan elektriksel sinyallerin bilgisayar kayıt sistemine göre düzenlenip aktarılması için kullanıldı.

Bilgisayar kayıt sistemi; data analiz sisteminden alınan elektriksel sinyallerin IOX yazılımı ile rakamsal değerlere dönüştürmek ve kaydetmek için kullanıldı.

Sirkülatörlü su banyosu; izole organ banyo ortamının sıcaklığının sürekli 37°C'de tutulması için kullanıldı.

Karbojen tüpü (% 95 O₂, % 5 CO₂); dokunun O₂ ve CO₂ ihtiyacını karşılamak için kullanıldı.

Dijital termometre; organ banyosunun sürekli sabit tutulan sıcaklığının kontrolü için kullanıldı.

Buzdolabı; kimyasal maddeleri muhafaza etmek için kullanıldı.

Etüv; cam malzemelerin yıkandıktan sonra kurutulması için kullanıldı.

Mikro pipetler; kimyasal bileşiklerin ve ekstraktın belirlenen dozlarda banyo ortamına verilmesi için kullanıldı.

pH metre; hazırlanan krebs solüsyonunun pH'sının ayarlanması için kullanıldı.

Isıtmalı manyetik karıştırıcı; krebs solüsyonu, kimyasal bileşikler ve ekstraktın hazırlanması için kullanıldı.

Makas; değişik ebatlarda kullanılan makaslar kas preparatının hazırlanması için kullanıldı.

Pens; değişik ebatlarda kullanılan pensler diseksiyon ve kas preparatının hazırlanmasında kullanıldı.

Hassas terazi; kimyasal maddelerin ve ekstraktın tartımı için kullanıldı.

Erlen; krebs solüsyonunun hazırlanması için kullanıldı.

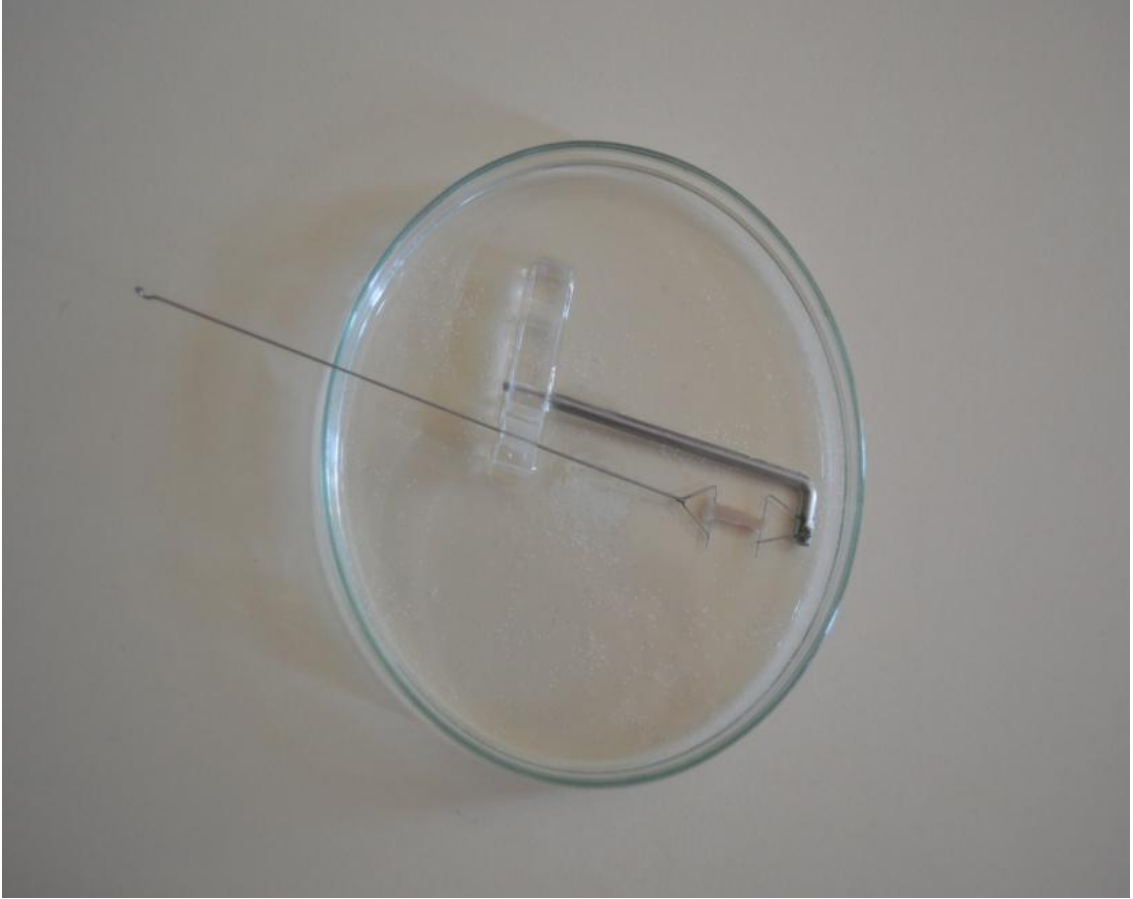
Petri; içerisinde krebs solüsyonu bulunan petri kabı, ileum dokusunun temizliği ve kas şeritlerinin hazırlanması için kullanıldı.

Mezür; krebs solüsyonu ve diğer solüsyonların hazırlanması için gerekli çözücünün ölçümünde kullanıldı.

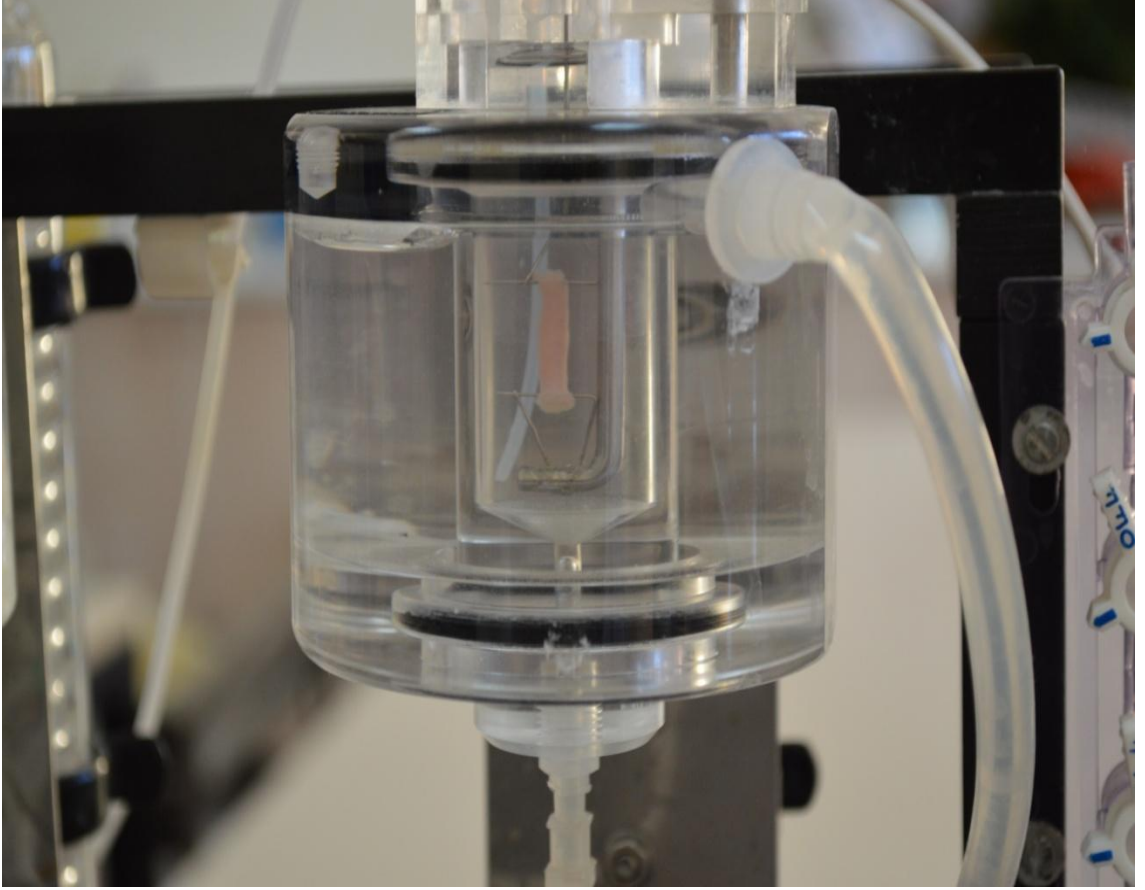
3.5. Rat İleum Dokusunun İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması

Çalışmamızda, Sprague-Dawley cinsi 220-250 g ağırlığında 24 adet erkek rat kullanıldı. Ratlara normal laboratuvar şartlarında adlibitum su ve yem alınımları sağlandı, deneylerden 24 saat önce ratların yem alınımları engellendi. Ratlar ketamine hydrochloride (Ketalar: 75 mg/kg) ve xylazine (Rompun: 15 mg/kg) eşliğinde anesteziyeye alınarak servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Ratların abdomeni median hat boyunca açılarak ince bağırsaklara ulaşıldı. İnce bağırsakta ileum bölgesi tespit edilerek baş ve son kısmına pensler yerleştirildi. Yerleştirilen pensler arasında kalan ileum bir makas yardımıyla kesilerek izole edildi. İzole edilen ileum, içerisinde soğuk krebs solüsyonu (NaCl 119 mM; KCl 4.75 mM; CaCl₂ 2.5 mM; KH₂PO₄ 1.2 mM; NaHCO₃ 25 mM; MgSO₄ 1.5 mM; glucose 11 mM; pH 7.4)⁹² bulunan petriye alınarak çevresinde bulunan bağ doku, kan damarları ve ileumun lümen içeriği bir enjektör aracılığıyla krebs

solüsyonu doldurularak temizlendi. Temizlik işlemi tamamlanan ileumdan 1-1.5 cm^{92, 93} uzunluğunda kesitler alınarak iki veya üç kas şeridi hazırlandı. Şekil 3.1'deki gibi hazırlanan düz kas şeritleri pH'sı 7.4 ve sıcaklığı 37°C olan, % 95 O₂ ve % 5 CO₂ ile gazlandırılan⁹⁴ krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirilerek alt ucu banyo tabanındaki çelik çengele üst ucu ise bir çelik tel ile transdusere (ELJ-S045C-EMKA-R04003 ve R04004) bağlandı. Şekil 3.2'deki gibi organ banyosuna yerleştirilen ileuma 1 g gerim uygulanarak 1 saatlik inkübasyon periyoduna tabi tutuldu⁹⁵ ve bu süre zarfında her 15 dk bir banyo yıkanarak yeni krebs solüsyonu ile dolduruldu.



Şekil 3.1. İleum düz kasından alınan kesitin çelik çengele geçirilişi



Şekil 3.2. İzole organ banyosuna yerleştirilmiş ileum düz kas şeridinin görünümü

3.6. Deney Grupları

Çalışmamızda, ACh ve KCl olmak üzere iki deney grubu oluşturuldu. *Usnea longissima* Ach. ekstresi bu iki grupta aşağıdaki gibi çalışıldı. Deney grupları Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'deki gibi belirlenmiştir.

***Usnea longissima* Ach. + ACh (I. grup)**

ACh ile indüklenmiş ileum düz kas şeritlerinin kontraksiyonları üzerine *Usnea longissima* Ach.'nin etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M dozları banyoya kümülatif uygulanarak ACh'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi.

Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra *Usnea longissima*'nın 0.012 µg/ml dozu banyoya uygulandı. Ekstraktın 6 dakikalık maruziyet süresi sonunda ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M logaritmik dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Usnea longissima'nın 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml dozları da aynı protokol ile çalışılarak, *Usnea longissima*'nın farklı dozlarının ACh ile indüklenen ileum düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

***Usnea longissima* Ach. + KCl (II.grup)**

KCl ile indüklenmiş ileum düz kas kontraksiyonları üzerine *Usnea longissima* Ach.'nin etkilerinin çalışıldığı grubu tanımlamaktadır.

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak KCl'nin doz cevap eğrisi elde edildi. Doku üç kere yıkanarak beş dakika dinlendirildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen doz cevap eğrilerinin ortalamaları alınarak bu grup için kontrol değerlerimiz oluşturuldu.

Daha sonra *Usnea longissima*'nın 0.012 µg/ml dozu banyoya uygulandı. Ekstraktın 6 dakikalık maruziyet süresi sonunda KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif olarak uygulandı ve elde edilen cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku üç kez yıkanarak 5 dakika dinlendirildi.

Usnea longissima'nın 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml dozları da aynı protokol ile çalışılarak, *Usnea longissima*'nın farklı dozlarının KCl ile indüklenen ileum düz kas kontraksiyonları üzerine etkisi belirlendi.

Tablo 3.1. ACh ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima* Ach. ekstraktının araştırıldığı deneysel protokol

Maruziyet süresi	Yapılan işlem	Alınan Cevap
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (0.012 µg/ml)	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (0.12 µg/ml)	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (1.2 µg/ml)	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (12 µg/ml)	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (120 µg/ml)	
2dk	ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	

Tablo 3.2. KCl ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima* Ach. ekstraktının araştırıldığı deneysel protokol

Maruziyet süresi	Yapılan işlem	Alınan Cevap
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (0.012 µg/ml)	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (0.12 µg/ml)	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (1.2 µg/ml)	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (12 µg/ml)	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	
6dk	<i>Usnea longissima</i> Ekstraktı (120 µg/ml)	
2dk	KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM) kümülatif	Amplitüt değeri
1dk	Yıkama (üç kez)	
5dk	Dokunun dinlendirilmesi	

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS20 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde One Way ANOVA'da Tukey testi uygulandı. Değerler, ortalama (\bar{X}) \pm Standard sapma (SD) olarak verildi. $P < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda ACh (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) ve KCl (20 mM, 40 mM, 60 mM, 80 mM, 100 mM)'nin kümülatif dozları ile indüklenen izole edilmiş rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın beş farklı dozunun (0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml) etkisi incelendi. Elde edilen bulgular aşağıda ifade edilmiştir.

***Usnea longissima* + ACh grubunda;** ACh'nin 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M dozları ile kümülatif olarak indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının etkileri Tablo 4.1.'de sunulmuştur.

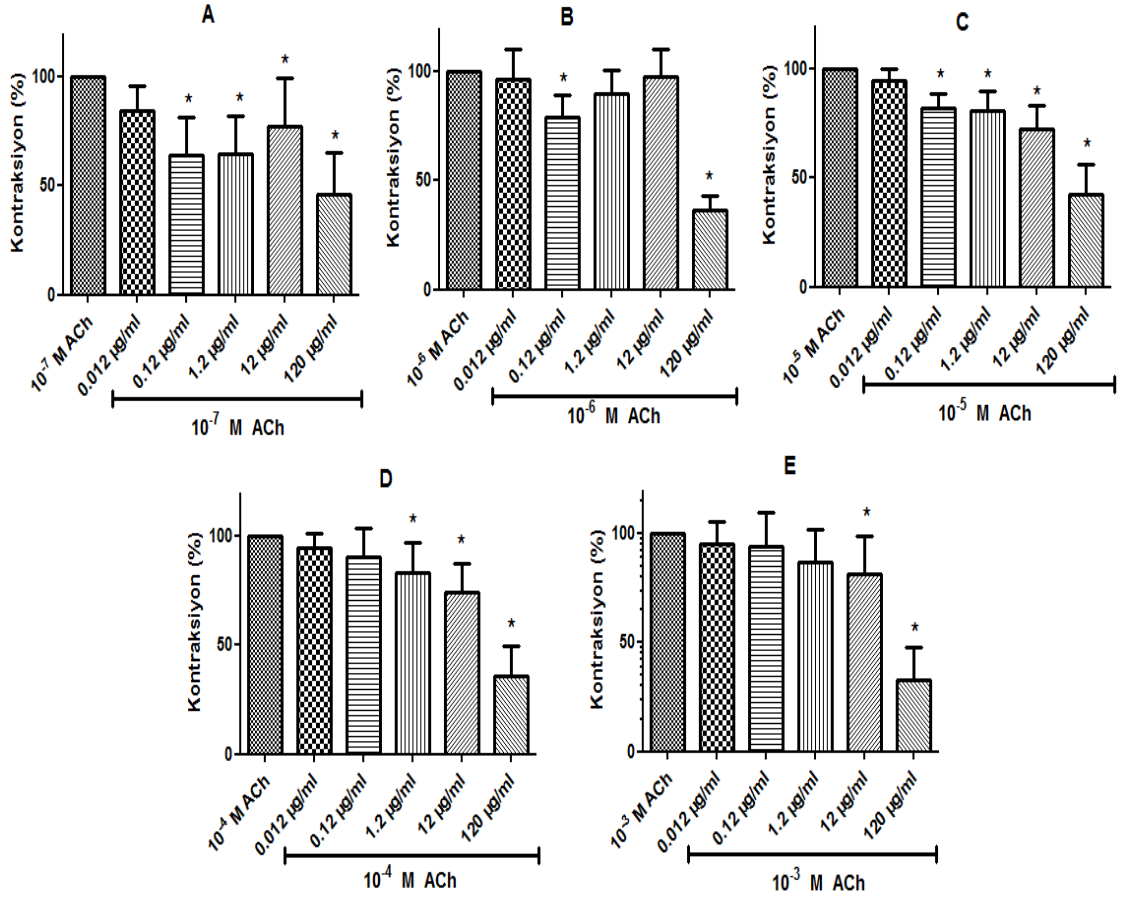
Tablo 4.1. ACh'nin farklı dozları ile indüklenmiş in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının etkisi (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. n=12, p<0.05).

ACh (log)	Kontrol $\bar{X}\pm SD$	0.012µg/ml $\bar{X}\pm SD$	0.12µg/ml $\bar{X}\pm SD$	1.2µg/ml $\bar{X}\pm SD$	12µg/ml $\bar{X}\pm SD$	120µg/ml $\bar{X}\pm SD$
10^{-7} M	100.00±0.00 ^a	84.68±10.98 ^{ab}	63.98±17.63 ^c	64.40±17.57 ^c	77.01±22.41 ^{bc}	45.90±19.10 ^d
10^{-6} M	100.00±0.00 ^a	96.63±13.44 ^a	79.30±10.19 ^b	90.01±10.32 ^a	97.44±12.72 ^a	36.67±6.33 ^c
10^{-5} M	100.00±0.00 ^a	94.36±5.53 ^a	81.98±6.80 ^b	81.02±8.58 ^{bc}	72.32±10.70 ^c	42.10±14.38 ^d
10^{-4} M	100.00±0.00 ^a	94.88±6.56 ^a	90.27±13.27 ^{ab}	82.96±14.32 ^{bc}	74.20±13.13 ^c	35.65±14.01 ^d
10^{-3} M	100.00±0.00 ^a	94.96±10.45 ^{ab}	94.29±15.34 ^{ab}	86.81±15.13 ^{ab}	81.32±17.60 ^b	32.98±14.54 ^c

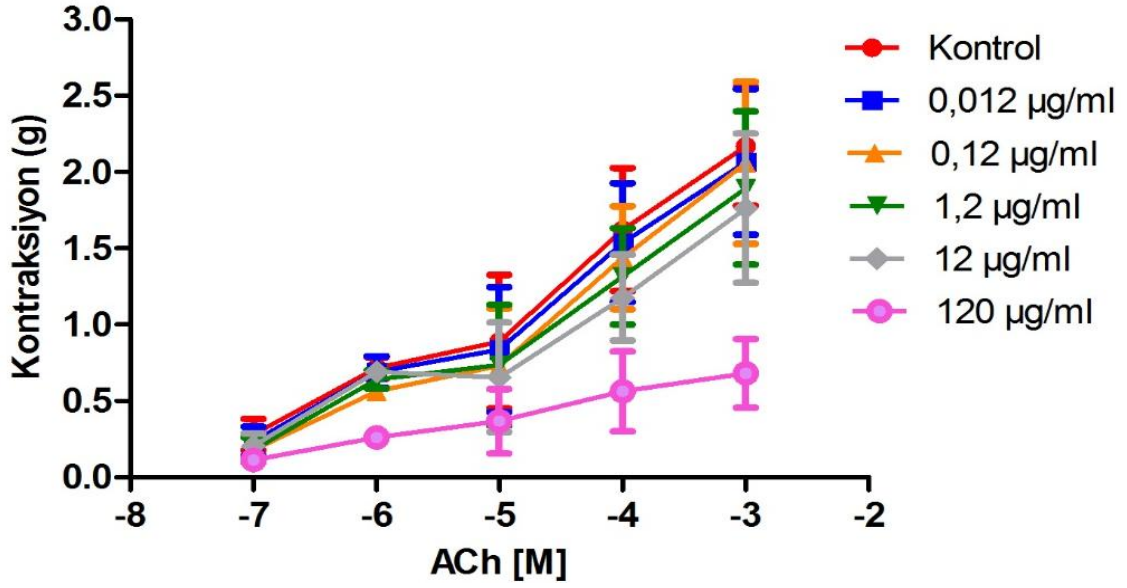
Banyo ortamında *Usnea longissima*'nın herhangi bir dozu bulunmadığında ACh'nin farklı dozlarının (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) kümülatif uygulanmasıyla elde edilen kontraksiyon cevapları % 100 olarak kabul edildi. *Usnea longissima*'nın 0.012 µg/ml dozunun, ACh ile indüklenen kontraksiyonlar üzerine etkisinin istatistiksel öneme sahip olmadığı belirlendi (p>0.05, n=12). *Usnea longissima*'nın 0.12 µg/ml dozunun, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M dozları ile indüklenen rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını % 36.02±17.63, % 20.70±10.19 ve % 18.02±6.80 oranında

baskıladığı belirlendi ($p < 0.05$, $n = 12$). *Usnea longissima*'nın $1.2 \mu\text{g/ml}$ dozu, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını % 35.60 ± 17.57 , % 18.98 ± 8.58 ve % 17.04 ± 14.32 oranında baskıladı ($p < 0.05$, $n = 12$). *Usnea longissima*'nın $12 \mu\text{g/ml}$ dozunun, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını sırasıyla; % 22.99 ± 22.41 , % 27.68 ± 10.70 , % 25.80 ± 13.13 ve % 18.68 ± 17.60 oranında baskıladığı gözlemlendi ($p < 0.05$, $n = 12$). *Usnea longissima*'nın $120 \mu\text{g/ml}$ dozunun ise, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M dozları ile indüklenen rat ileum düz kas kontraksiyonlarının cevaplarını sırasıyla; % 54.10 ± 19.10 , % 63.33 ± 6.33 , % 57.90 ± 14.38 , % 64.35 ± 14.01 ve % 67.02 ± 14.54 oranında baskıladığı belirlendi ($p < 0.05$, $n = 12$, Tablo 4.1).

ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M logaritmik dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. *Usnea longissima*'nın 0.012 , 0.12 , 1.2 , 12 ve $120 \mu\text{g/ml}$ dozlarının ACh'nin dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.1, Şekil 4.2).



Şekil 4.1. ACh'nin 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ M logaritmik dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun yüzde olarak etkileri. Şekil 4.1.A'da 10⁻⁷ M ACh ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır p<0.05*). Şekil 4.1.B'de 10⁻⁶ M ACh ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (0.12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır p<0.05*). Şekil 4.1.C'de 10⁻⁵ M ACh ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır p<0.05*). Şekil 4.1.D'de 10⁻⁴ M ACh ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (1.2, 12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır p<0.05*). Şekil 4.1.E'de 10⁻³ M ACh ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır p<0.05*, n=12).



Şekil 4.2. 10^{-7} - 10^{-3} M ACh'nin logaritmik dozları ileindüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun gram olarak etkisi

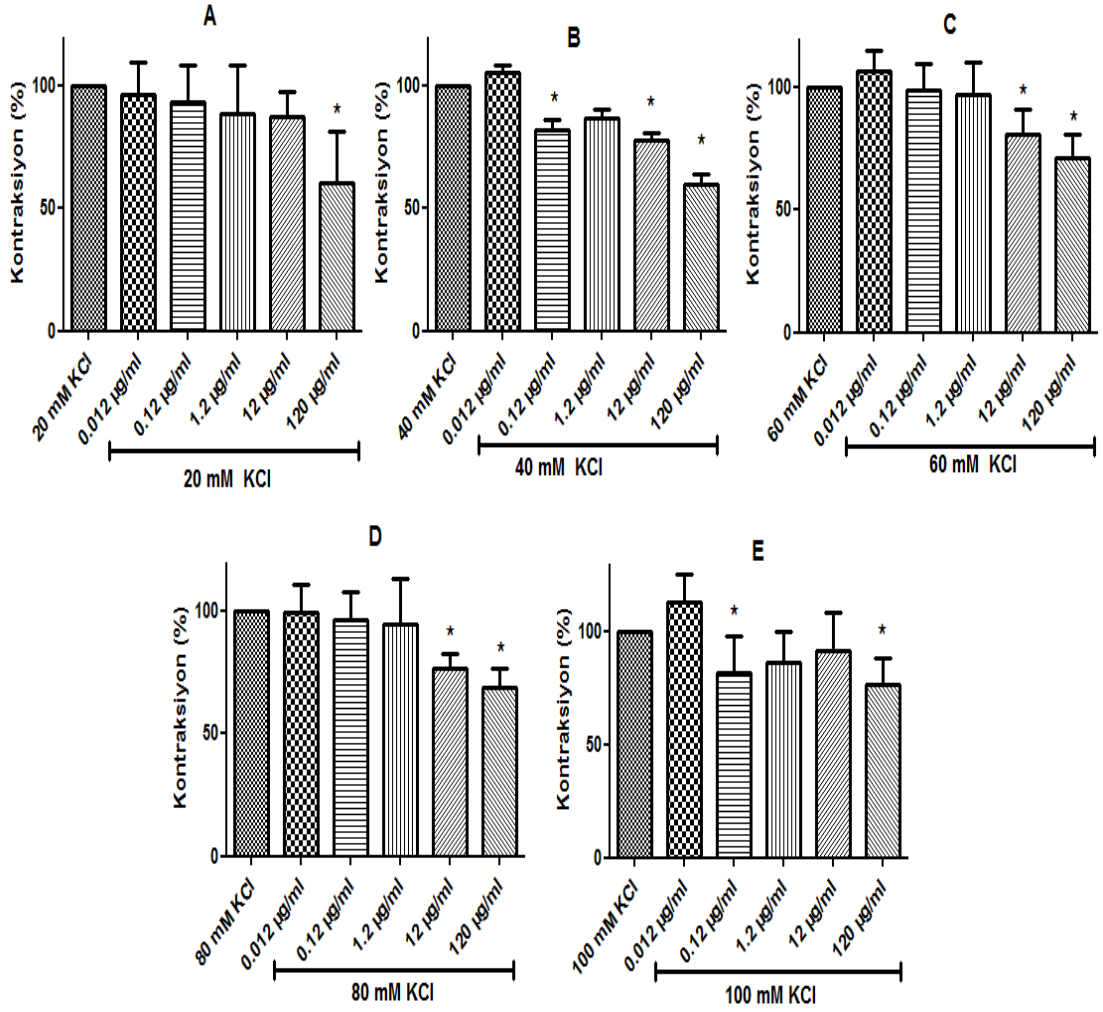
Usnea longissima + KCl grubunda; KCl'nin farklı dozlarının (20, 40, 60, 80, 100 mM) kümülatif uygulanması ile indüklenmiş ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının etkileri Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.2. KCl'nin farklı dozları ile indüklenmiş in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının etkisi (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. n=12, p<0.05).

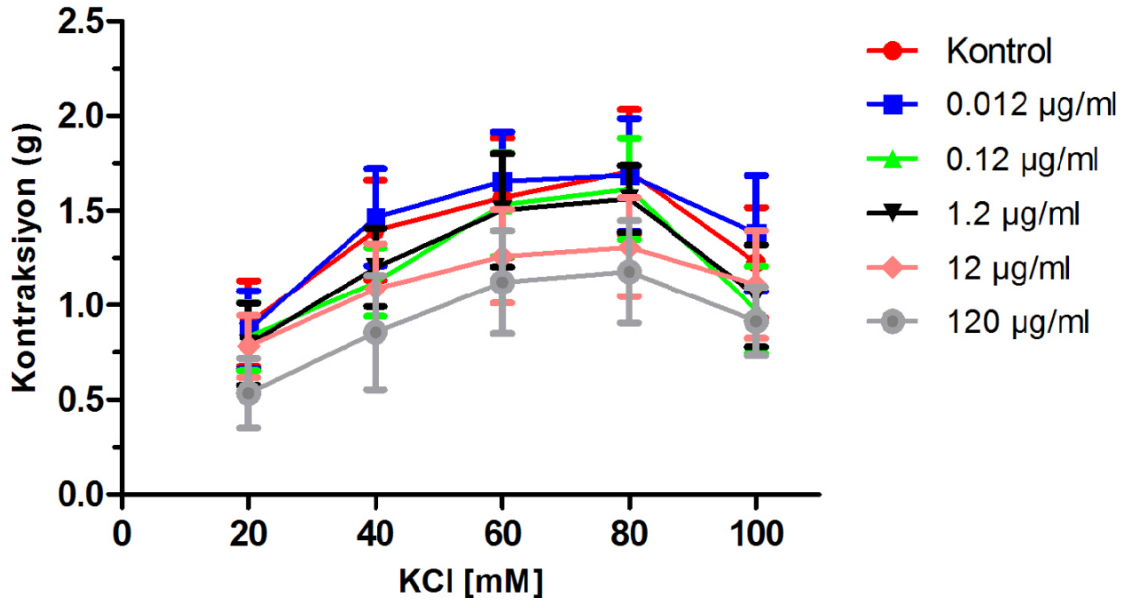
KCl mM	Kontrol $\bar{X} \pm SD$	0.012µg/ml $\bar{X} \pm SD$	0.12µg/ml $\bar{X} \pm SD$	1.2µg/ml $\bar{X} \pm SD$	12µg/ml $\bar{X} \pm SD$	120µg/ml $\bar{X} \pm SD$
20	100.00±0.00 ^a	96.70±12.72 ^a	93.55±14.70 ^a	88.85±19.34 ^a	87.36±10.50 ^a	60.24±21.42 ^b
40	100.00±0.00 ^{ab}	105.46±9.61 ^a	81.80±14.45 ^c	86.91±12.17 ^{bc}	77.97±10.21 ^c	59.70±15.40 ^d
60	100.00±0.00 ^a	106.86±8.00 ^a	98.88±10.32 ^a	96.99±12.55 ^a	80.99±9.44 ^b	71.11±9.50 ^b
80	100.00±0.00 ^a	99.54±11.02 ^a	96.19±11.88 ^a	94.35±18.85 ^a	76.59±5.82 ^b	68.71±7.60 ^b
100	100.00±0.00 ^{ab}	113.21±12.29 ^a	81.54±16.63 ^b	86.25±13.50 ^b	91.47±16.67 ^b	76.25±11.97 ^b

Usnea longissima'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 µg/ml dozlarının, KCl ile indüklenmiş ileum düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi. Banyo ortamında *Usnea longissima*'nın herhangi bir dozu olmadığında KCl'nin farklı dozlarının (20, 40, 60, 80 ve 100 mM) kümülatif uygulanmasıyla elde edilen kontraksiyon cevapları % 100 olarak kabul edildi. *Usnea longissima*'nın 0.012 µg/ml ve 1.2 µg/ml dozlarının KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevapları üzerine etkilerinin istatistiksel öneme sahip olmadığı belirlendi ($p>0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 0.12 µg/ml dozu, KCl'nin 40 ve 100 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyonlarını % 18.2 ± 14.45 ve % 18.46 ± 16.63 oranında baskıladığı belirlendi ($p<0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 12 µg/ml dozu ise; KCl'nin 40, 60 ve 80 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyonlarının cevaplarını sırasıyla % 22.03 ± 10.21 , % 19.01 ± 9.44 , % 23.41 ± 5.82 baskıladığı gözlemlendi ($p<0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 120 µg/ml dozu ise; KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları ile kümülatif olarak indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyonlarının cevaplarını sırasıyla % 39.76 ± 21.42 , % 40.3 ± 15.40 , % 28.89 ± 9.50 , % 31.29 ± 7.60 , % 23.75 ± 11.97 oranında baskıladığı belirlendi ($p<0.05$, $n=12$, Tablo 4.2).

KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları kümülatif olarak banyoya verilerek doz cevap eğrisi elde edildi. *Usnea longissima*'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12 ve 120 µg/ml dozlarının KCl ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri incelendi (Şekil 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.3. KCl'nin 20-100 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun yüzde olarak etkileri. Şekil 4.3.A'da 20 mM KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (120 µg/ml dozundan elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır $p < 0.05^*$). Şekil 4.3.B'de 40 mM KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (0.12, 12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır $p < 0.05^*$). Şekil 4.3.C'de 60 mM KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır $p < 0.05^*$). Şekil 4.3.D'de 80 mM KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır $p < 0.05^*$). Şekil 4.3.E'de 100 mM KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun etkisi (0.12, 120 µg/ml dozlarından elde edilen baskılama yanıtları anlamlıdır $p < 0.05^*$, $n = 12$).



Şekil 4.4. 20-100 mM KCl dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın 5 farklı dozunun gram olarak etkisi

5. TARTIŞMA

Antiinflammatuvar, anti-ülserojenik ve antioksidan rollerinden dolayı *Usnea longissima* Ach. liken türü üzerinde yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *Usnea longissima* Ach.'nin çeşitli biyolojik etkilere sahip kimyasal bileşikler içerdiği rapor edilmiş, ayrıca bunlar arasında en önemli olanının Usnik asit olduğu ve bu maddenin gastrik asit sekresyonu üzerine etkili olduğu bildirilmiştir.⁹⁶

Odabaşoğlu ve ark.'nin⁹⁷ 2004 yılında yaptıkları üç liken türünün antioksidan aktiviteleri ve fenolik içeriklerinin karşılaştırılması isimli çalışmada; *Usnea longissima*'dan elde edilen su ve metanol ekstratlarının toplam fenolik içeriklerinin antioksidan aktivitelerinin indirgeme güçleri test edilmiştir. *Usnea longissima*'nın metanol ekstresi güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Metanol ekstresinin düşük fenolik içeriği olmasına rağmen, güçlü antioksidan aktivitesinin varlığı tespit edilmiştir. Öte yandan indirgeme güçleri ve ekstratların toplam fenolik içerikleri arasında güçlü bir korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Yine 2005 yılında Choudhary ve ark.'nin⁹⁸ yapmış olduğu tıbbi önemi olan *Usnea longissima*'dan elde edilen fenolik bileşiklerin biyoaktivitesi ile ilgili çalışmada *Usnea longissima*'dan longissiminone A, longissiminone B ve glutinol izole edilmiştir. Longissiminone A hücre bazlı bir deneyde, güçlü anti-inflammatuar aktivite göstermiştir. Hücre ömür uzunluğu deneyinde, bu bileşiklerin 200 ug/mL konsantrasyonunda hücrelerin % 100 canlılık gösterdiği belirtilmiştir.

2005 yılında Halıcı ve ark.'nin¹⁸ yapmış olduğu ratlarda indometazin ile oluşturulan mukosal hasar ve antioksidant enzim aktivitesi üzerine *Usnea longissima*'nın sulu ekstraktının etkilerinin araştırıldığı çalışmada *Usnea*

longissima'dan elde edilen su ekstresinin antiülserojenik etkisi farelerde indometasin kaynaklı ülser modelleri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda *Usnea longissima*'nın su ekstraktının indometasin kaynaklı ülserlerde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Bayır ve ark.'nın⁹⁹ 2006 da yaptıkları çalışmada *Usnea longissima*'dan elde edilen diffraktaik asidin indometasin ile indüklenen mide lezyonları üzerindeki antiülserojenik aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuç olarak diffraktaik asit nötrofil infiltrasyonu etkilerini azaltmasının yanısıra gastroprotektif etkisinin antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkilerine bağlı olduğu ortaya çıkmıştır.

Odabaşoğlu ve ark.'nın¹⁰⁰ 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada, *Usnea longissima*'dan izole edilen usnik asidin 25, 50, 100 ve 200 mg/kg vücut ağırlığı dozlarına sahip olan sıçanlarda indometazin kaynaklı mide ülserinin gastroprotektif etkisi araştırılmıştır. Gastrik lezyonları, indometasin (25 mg/kg vücut ağırlığı) ile tedavi edilen grup ile karşılaştırıldığında usnik asitin bütün dozlarında önemli ölçüde azalma göstermiştir. Mide dokularında deneme yapılan hayvanlarda in vivo antioksidan seviyesi değerlendirilmiştir. Indometasin yönetimi, süperoksit dismutaz, glutation peroksidaz ve indirgenmiş glutation seviyesinde azalma gösterirken, lipid peroksidasyon düzeyinde önemli seviyede artışa neden olmuştur. Bununla birlikte indometasin tarafından artan katalaz glutatyon redüktaz ve miyeloperoksidaz aktivitelerinin, usnik asitin ve ranitidin ile tedavi edilen gruplarda daha düşük olduğu bulunmuştur.

2007 yılında Kim ve ark.¹⁰¹ tarafından yapılan *Umbilicaria esculenta* ve *Usnea longissima*'nın metanol ekstraktlarının melanogenez inhibitör etkileri adlı çalışmada ise; *Umbilicaria esculenta* ve *Usnea longissima*'nın metanol ekstrelerinin in vitro

melanojenez inhibitör etkileri araştırılmıştır. Araştırmanın sonucunda ekstrelerin insan melanom hücrelerinde melanin oluşumunu azalttığı belirlenmiştir.

Uysal ve ark.¹⁰² 2009 da yaptıkları çalışmada, *Usnea longissima*'dan elde edilen su ekstraktının *Drosophila melanogaster* üzerindeki ömür uzunluğuna etkisi araştırmıştır. Su ekstralarının farklı konsantrasyonlarının etkisi tek tek kontrol ve uygulama grupları için *Drosophila melanogaster* dişi ve erkek popülasyonu halinde tatbik edilmiştir. Son iki grup, kontrol grubuna göre daha kısa yaşama sebep olurken, ilk üç uygulama grubu ömür uzunluğunda artışa sebep olduğu anlaşılmıştır.

2011 yılında Açar ve ark.'nın¹⁰³ yaptığı in vitro şartlarda aflatoksin B1'in neden olduğu oksidatif hasar ve genotoksiditeye karşı *Usnea longissima*'nın metanol ekstraktının koruyucu aktivitesi isimli bir diğer çalışmada ise *Usnea longissima*'dan elde edilen metanol ekstresinin insan kan kültürü hücrelerinde aflatoksin B1'in neden olduğu genotoksisite ve oksidatif stres üzerine etkileri araştırılmıştır. Ekstraktın, insan lökosit hücrelerinde aflatoksin B1'in neden olduğu süperoksit dismutaz ve glutation peroksidase enzimleri üzerindeki olumsuz etkileri azaltan bir aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda bu ekstraktın kuvvetli anti-genotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Yine 2011 yılında yapılan çalışmada; Atalay ve ark.¹⁴ *Usnea longissima*'dan izole edilen doğal bileşenlerin lipit peroksidasyon inhibisyonu ve Diphenyl-1-picryl hidrazyl radikal süpürme etkileri incelenmiştir. Elde edilen bileşikler arasında, isidiophorin, rhizonaldehide, rhizonyl alkol ve pulmonarianinin test edilen diğer fenolik bileşikler ile karşılaştırıldığında daha iyi bir lipid peroksidasyon inhibisyon gösterdiği ortaya çıkmıştır.

Odabaşoğlu ve ark.'nın¹⁰⁴ yaptıkları çalışmada, tavşan femurlarındaki titanyum implantasyonundan sonra evre dokulardaki çeşitli kaspaz aktivasyonu ve oksidatif hasar dahil olmak üzere, apoptosize karşı *Usnea longissima*'nın majör içeriklerinin in vivo etkileri değerlendirilmiştir. Ayrıca, temel moleküler mekanizmaları ortaya konmuştur. *Usnea longissima*'dan elde edilen liken metabolitinin nekrozdan farklı olarak apoptotik morfolojisi ile kaspaz-bağımlı hücre ölümünü aktive ettiği grlmştir. Bu sonuçlar *Usnea longissima*'dan elde edilen diffraktaik asidin etkili proapoptotik maddeler olarak geliştirilebilir olduğu fikrini ortaya koymuştur. Ayrıca bu etken maddenin kaspaz-bağımlı apoptotik hücre ölümünü indüklediği grlmştir.

Usnea longissima'nın yukarıda bahsedilen etkilerinin genelde antioksidan aktiviteleri üzerine olduğu görülmektedir. İleum fonksiyonları gastrointestinal sistem içerisinde sindirim olayları açısından önemli bir role sahiptir. Bu bölge besinlerin emilimi, absorpsiyon, reabsorpsiyon ve ekskresyon gibi çeşitli fonksiyonların gerçekleşmesinde önemli bir sorumluluğa sahiptir. Bu nedenle ileum hareketlerinin bozukluğu yada düzensizliği sindirim sistemi fonksiyonlarını önemli derecede etkiler. Bu bölgenin motilitesine etkili olabilecek, söz konusu olan bölgede oluşan dismotiliteyi düzenlemede katkı sağlayabilecek tıbbi bitkilerin veya bunların bileşiklerinin konu ile etkilerini ortaya koymak son derece önemlidir. Ancak *Usnea longissima*'nın miyojenik etkilerini araştırmak üzere in vitro çalışmalara rastlanmamıştır. *Usnea longissima*'da bulunan pekçok biyoaktif bileşenler miyojenik etkilere sahip olabilir ve bu etki düz kaslar üzerine etkili olabilir. Dolayısıyla, *Usnea longissima*'nın düz kaslı dokulara miyojenik olarak ne tür etkili olabileceği özellikle gastrointestinal sistem, kardiyovasküler sistem, üriner sistem, respiratorik sistem ve bunun gibi dokular içerisinde yer alan düz kasların aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması önemli sonuçlar

doğuracaktır. Yapılan çalışmada gastrointestinal sistemin önemli bir bölümünü ihtiva eden ince bağırsakların ileum kısmını oluşturan kas dokusunun miyojenik aktivitelerini üzerine *Usnea longissima*'nın in vitro ortamda etkileri araştırılmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima* ekstraktından hazırlanan 5 farklı dozun muhtemel etkileri araştırıldı.

KCl ile indüklenmiş in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine *Usnea longissima*'nın etkisi: Bu çalışmada, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları banyoya kümülatif uygulanarak, bu dozlarla indüklenen rat ileum düz kas kontraksiyonlarının doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre, banyoda *Usnea longissima*'nın 0.012 ve 1.2 µg/ml dozlarının varlığında, KCl dozlarının cevaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı belirlendi ($p>0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 0.12 µg/ml dozu varlığında, KCl'nin 40 ve 100 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını anlamlı bir şekilde baskılamak ($p<0.05$, $n=12$) diğer dozlar ileum düz kas kontraksiyonlarını anlamlı bir şekilde baskılamadı. *Usnea longissima*'nın 12 µg/ml dozu, KCl'nin 40, 60, 80 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskıladıkları belirlenmiştir ($p<0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 120 µg/ml dozu ise, KCl'nin 20, 40, 60, 80 ve 100 mM dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskıladıkları gözlemlenmiştir ($p<0.05$, $n=12$).

Usnea longissima'nın farklı dozlarının KCl ile indüklenen ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskılayıcı etkisinin voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu düşünülmektedir. Çünkü düz kas kontraksiyonları KCl ile indüklendiği zaman ortamda potasyum (K^+) yoğunluğunun artmasına bağlı olarak kas

hücrelerinde depolarizasyon oluşur. Kas fibrillerlerinde meydana gelen depolarizasyon voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarının açılmasına sebep olur. Voltaja duyarlı Ca^{2+} kanallarının açılması aracılığı ile de ekstrasellüler alandan hücre içine Ca^{2+} girişi meydana gelmektedir.¹⁰⁵ Ayrıca hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak hücre içi Ca^{2+} depolarındaki Ca^{2+} serbest bırakılmaktadır.¹⁰⁶ Bu olaylar sonucunda düz kasta kasılma meydana gelmektedir.

ACh ile indüklenmiş in vitro rat ileum düz kas kontraktilesi üzerine *Usnea longissima*'nın etkisi: Bu çalışmada, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M logaritmik doz aralığı banyoya kümülatif uygulanarak, bu dozlarla indüklenen rat ileum düz kas kontraksiyonlarının doz cevap eğrisi elde edildi. Deney sonuçlarımıza göre banyoda *Usnea longissima*'nın en düşük dozu olarak kullandığımız 0.012 µg/ml dozunun, ACh dozlarının cevaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı belirlendi ($p>0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 0.12 µg/ml dozu, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} M dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyonlarını engelledi ($p<0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 1.2 µg/ml dozu ise, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-4} M dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyonlarında baskılayıcı etkinlik gösterdi ($p<0.05$, $n=12$). *Usnea longissima*'nın 12 µg/ml dozu ise, ACh'nin 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M dozları ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyonlarını baskıladığı gözlemlendi ($p<0.05$, $n=12$). Çalışmamızda, *Usnea longissima*'nın 120 µg/ml dozunun doza bağımlı olarak ACh 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskıladığı belirlenmiştir ($p<0.05$, $n=12$).

Düz kas kontraksiyonları ACh ile indüklendiğinde ACh M_3 reseptörlerine bağlandığı zaman fosfolipaz C aktive olarak IP3 (İnozitol trifosfat) oluşumuna neden

olmaktadır. IP3 ise endoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınımını uyararak kalmodulinin konformasyonel değişime uğramasına yol açmaktadır. Kalmodulinin konformasyonel değişime uğraması sonucunda ileum düz kasında kasılma meydana gelmektedir. Ayrıca ACh M_3 reseptörlerine bağlandığı zaman, voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarından hücre içine Ca^{2+} girişini artırarak, düz kasının kasılmasını sağlamaktadır.

Usnea longissima'nın farklı dozlarının ACh cevaplarını baskılayıcı etkisi için muhtemel üç mekanizma söz konusu olabilir.

i; *Usnea longissima*'nın M_3 reseptör yolağını kapatması sonucunda ACh'nin etkisini azaltmak.

ii; Voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarını bloke ederek ekstrasellüler bölgeden hücre içine Ca^{2+} girişini engellemek.

iii; Her iki yolağı bloke ederek etkili olmak.

Usnea longissima'nın voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili olabileceği, KCl ile indüklenen ileum düz kas kontraksiyonları üzerine *Usnea longissima*'nın etkisi çalışılarak belirlendi. *Usnea longissima*'nın ACh ile indüklenen ileum düz kas kontraktıl cevaplarını baskılayıcı etkisinin, voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanallarının yanısıra M_3 reseptör yolağı üzerinden de olduğu düşünülmektedir. İn vitro ortamda izole edilen rat ileum düz kas kontraksiyonları üzerine *Usnea longissima*'nın 0.012, 0.12, 1.2, 12, 120 $\mu\text{g/ml}$ dozlarının baskılayıcı etkisinin olduğu belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Usnea longissima'dan elde edilen ekstraktın in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada;

- *Usnea longissima*'dan elde edilen ekstrakt, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri ilk kez çalışılmıştır.
- *Usnea longissima*'dan elde edilen ekstraktın in vitro rat ileum düz kas kontraktilitesi üzerine etkileri belirlenerek gelecekte yapılacak çalışmalara yön vereceği düşünülmektedir.
- Elde edilen sonuçların literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre;

- *Usnea longissima*'nın farklı dozlarının ACh ve KCl ile indüklenen in vitro rat ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskıladığı belirlendi. *Usnea longissima*'nın bu etkilerinin voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, KCl ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskılayıcı etkiye sahip ekstraktın etki mekanizmalarının voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden olduğu anlamına gelmektedir.

ACh ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraksiyon cevaplarını baskılayan ekstraktın M_3 reseptör mekanizması üzerinden ve/veya voltaja duyarlı L tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden etkili oldukları düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda *Usnea longissima*'nın, ACh ve KCl ile indüklenen in vitro ileum düz kas kontraksiyonları üzerine etkileri ve bu etkilerin kontraksiyonları indükleyici ajanların etki yolları üzerinden olup olmadığı çalışılmıştır. İleride yapılacak farklı çalışmalarla *Usnea longissima*'nın içerisinde bulunan fenolik

bileşiklerin in vitro ileum düz kas kontraksiyonunda görev alan mekanizmalar üzerine etkileri çalışılabilir. Ayrıca, deneysel çalışmalarla ileum dokusunda çeşitli patojiler oluşturularak *Usnea longissima* ve *Usnea longissima*'nın içerisinde bulunan fenolik bileşikleri ile tedavilerin, deneysel olarak oluşturulmuş ileum patolojilerine karşı koruyucu veya tedavi edici etkilerinin olup olmadığı araştırılabilir.

KAYNAKLAR

1. Güner H. Likenlerin biyolojisi ve Ege bölgesinde bulunan bazı liken türleri. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, 1986, 92.
2. Blasco M, Domeno C, Lopez P, Nerin C. Behaviour of different lichen species as biomonitors of air pollution by PAHs in natural ecosystems. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13: 2588-2596.
3. Aslan A, Öztürk A. Oltu (Erzurum) yöresine ait liken florası üzerine çalışmalar. *Turkish Journal of Botany*, 1994: 18,103-106.
4. Nash I, Thomas H. *Lichen Biology*. 1. Baskı. Cambridge University Press, 1996.
5. Öztürk A, Aslan A. Likenlerin ekonomik özellikleri ve kuzeydogu anadolu'dan bazı liken türleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi. *Fen Bilimleri Dergisi*, 1995, 2: 27-42.
6. Aslan A. Lichens from the regions of Artvin, Erzurum, and Kars (Turkey). *Israel Journal of Plant Sciences*, 2000, 48: 143-155.
7. Aslan T. *Usnea longissima* Ach. Liken Türünün Metanol Ekstresinin in Vitro Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2014.
8. Tutel B. Liken biyolojisi ve faydaları. *Marmara Üniversitesi-Eczacılık Dergisi*, 1986, 2: 185-194.
9. Vartia K. On antibiotic effects of lichens and lichen substances. *Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiae Fenniae*, 1950, 7: 1-82.
10. Aslan A, Güllüce M, Öğütçü H. Bazı likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir araştırma. *Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi*, 1999, 22: 19-26.

11. Neamati N, Hong H, Mazumder A, Wang S, Sunder S, Nicklaus MC, Milne GW, Proksa B, Pommier Y. Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: discovery of novel inhibitors through 3D database searching. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1997, 40: 942-951.
12. Yamamoto Y, Miura Y, Kinoshita Y, Higuchi M, Yamada Y, Murakami A, Ohigashi H, Koshimizu K. Screening of tissue cultures and thalli of lichens and some of their active constituents for inhibition of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1995, 43: 1388-1390.
13. Fournet A, Ferreira ME, Arias AR, Ortiz ST, Inchausti A, Yalaff G, Quilhot W, Fernandez E, Hidalgo ME. Activity of compounds isolated from Chilean lichens against experimental cutaneous leishmaniasis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 1997, 116: 51-54.
14. Atalay F, Halici MB, Mavi A, Cakir A, Odabasoglu F, Kazaz C, Aslan A, Kufrevioglu OI. Antioxidant phenolics from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. and *Usnea longissima* Ach. lichen species. *Turkish Journal of Chemistry*, 2011, 35: 647-661.
15. Vijayakumar C, Viswanathan S, Kannappa Reddy M, Parvathavarthini S, Kundu A, Sukumar E. Anti-inflammatory activity of (+)-usnic acid. *Fitoterapia*, 2000, 71: 564-566.
16. Okuyama E, Umeyama K, Yamazaki M, Kinoshita Y, Yamamoto Y. Usnic Acid and Diffractaic Acid as Analgesic and Antipyretic Components of Emyte. *Planta Medica*, 1995, 61: 113-115.
17. Huneck S. The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 1999, 86: 559-570.

18. Halici M, Odabasoglu F, Suleyman H, Cakir A, Aslan A, Bayir Y. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 2005, 12: 656-662.
19. Müller K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, 56: 9-16.
20. Tokat Z. Ankara Bölgesi Likenlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2004.
21. Karamanoğlu K. Türkiye'nin önemli liken türleri. *Ankara üniversitesi-Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1971: 1-50. .
22. Culberson CF. Chemical and Botanical Guide to Lichen Products. *Bryologist*, 1970: 177-377.
23. Agar G, Gulluce M, Aslan A, Bozari S, Karadayi M, Orhan F. Mutation preventive and antigenotoxic potential of methanol extracts of two natural lichen. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4: 2132-2137.
24. Kotan E, Alpsoy L, Anar M, Aslan A, Agar G. Protective role of methanol extract of *Cetraria islandica* (L.) against oxidative stress and genotoxic effects of AFB1 in human lymphocytes in vitro. *Toxicology and Industrial Health*, 2011, 27: 599-605
25. Culberson C. Chemical and Botanical Guide to Lichen Products. Chapel Hill. *The Bryologist*, 1969, 73: 177-377.
26. Boustie J, Grube M. Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 2005, 3: 273-287.
27. Cocchietto M, Skert N, Nimis P, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*, 2002, 89: 137-146.

28. Dilsizoglu A, Kavuncuoglu Z, Oba D. Old and new using areas, the lichens with unknown properties. *Tubitak Science Technical*, 2004, 439: 86-89.
29. Huneck S, Yoshimura I. *Identification of Lichen Substances*. 12. Baskı. Springer Berlin Heidelberg, 1996: 493.
30. Brodo IM, Sharnoff SD, Sharnoff S. *Lichens of North America*. 23. Baskı. Yale University Press, 2001: 795.
31. Honda NK, Vilegas W. The chemistry of lichens. *Quimica Nova*, 1999, 22: 110-125.
32. Aslan A. Oltu (Erzurum) Yöresine Ait Liken Florası Üzerine Araştırmalar. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 1992.
33. Ingolfsdottir K. Usnic acid. *Phytochemistry*, 2002, 61: 729-736.
34. Gücin F, Dülger B, Aslan A. Pseudoevernia furfuracea (L.) Zopf. likeninin antimikrobiyal aktivitesi. *Ekoloji-Çevre Dergisi*, 1997, 7: 22-24.
35. Vartia K. *Antibiotics In Lichen I*, Annales medicinae experimentalis et biologiae Fenniae. Finnish Medical Soc Duodecim Kalevankatu 11 A, 00100 Helsinki, Finland: 1949; 46-54.
36. Evans FJ, Schmidt RJ. Plants and plant products that induce contact dermatitis. *Planta Medica*, 1980, 38: 289-316.
37. Schwarz K, Bertelsen G, Nissen LR, Gardner PT, Heinonen MI, Hopia A, Huynh-Ba T, Lambelet P, McPhail D, Skibsted LH. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research and Technology*, 2001, 212: 319-328.

38. Emsen B, Yildirim E, Aslan A, Anar M, Ercisli S. Insecticidal effect of the extracts of *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd. and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale against adults of the grain weevil, *Sitophilus granarius* (L.)(Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2012, 22: 145-149.
39. Ahad AM, Goto Y, Kiuchi F, Tsuda Y, Kondo K, Sato T. Nematocidal principles in "oakmoss absolute" and nematocidal activity of 2, 4-dihydroxybenzoates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1991, 39: 1043-1046.
40. Purvis W. *Lichens*. 1. Baskl. London, UK, Natural History Museum, 2000: 112.
41. Emmerich R, Giez I, Lange OL, Proksch P. Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Phytochemistry*, 1993, 33: 1389-1394.
42. Giez I, Lange OL, Proksch P. Growth retarding activity of lichen substances against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1994, 22: 113-120.
43. Kathirgamanathar S, Ratnasooriya W, Baekstrom P, Andersen RJ, Karunaratne V. Chemistry and bioactivity of physciaceae lichens pyxine consocians and heterodermia leucomelos. *Pharmaceutical Biology*, 2006, 44: 217-220.
44. Asahina Y. Lichenologische notizen. *Journal of Japanese Botany*, 1967, 42: 289-294.
45. Scirpa P, Scambia G, Masciullo V, Battaglia F, Foti E, Lopez R, Villa P, Malecore M, Mancuso S. A zinc sulfate and usnic acid preparation used as post-surgical adjuvant therapy in genital lesions by Human Papillomavirus. *Minerva Ginecologica*, 1999, 51: 255-260.

46. Morris Kupchan S, Kopperman HL. L-Utric acid: tumor inhibitor isolated from lichens. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1975, 31: 625-625.
47. Gulluce M, Agar G, Aslan A, Karadayi M, Bozari S, Orhan F. Protective effects of methanol extracts from *Cladonia rangiformis* and *Umbilicaria vellea* against known mutagens sodium azide and 9-aminoacridine. *Toxicology and Industrial Health*, 2011, 27: 675-682.
48. Gulluce M, Aslan A, Sokmen M, Sahin F, Adiguzel A, Agar G, Sokmen A. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*, 2006, 13: 515-521.
49. Gülçin İ, Oktay M, Küfrevioğlu Öİ, Aslan A. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandic* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 2002, 79: 325-329.
50. Altun D. *Usnea longissima* Ach. Likenin *Drosophila melanogaster*'in Çeşitli Gelişim Parametreleri ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2007.
51. Abdullaev F, Riveron-Negrete L, Caballero-Ortega H, Manuel Hernández J, Perez-Lopez I, Pereda-Miranda R, Espinosa-Aguirre J. Use of in vitro assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.). *Toxicology in Vitro*, 2003, 17: 731-736.
52. Aslan A, Öztürk A, Kaya E. Likenlerin ekonomik önemi ve Oltu bölgesinden tesbit edilen önemli liken türleri. *Geçmişten Geleceğe Oltu ve Çevresi Sempozyumu*. Erzurum, 1998: 1-3.
53. Galun M. *CRC Handbook of Lichenology*. 2. Baskı. CRC Press, 1988.

54. Halici M, John V, Aksoy A. Lichens of erciyes mountain (Kayseri, Turkey). *Flora Mediterranea*, 2005, 15: 567-580.
55. Nishitoba Y, Nishimura I, Nishiyama T, Mizutani J. Lichen acids, plant growth inhibitors from *Usnea longissima*. *Phytochemistry*, 1987, 26: 3181-3185.
56. Wetmore C. R9 species conservation assessment for *Usnea longissima* Ach. in the Upper Great Lakes National Forests. 2002.
57. Tavares I. A preliminary key to *Usnea* in California. *Bulletin of the California Lichen Society*, 1997, 4: 19-23.
58. Halonen P, Clerc P, Goward T, Brodo IM, Wulff K. Synopsis of the genus *Usnea* (lichenized ascomycetes) in British Columbia, Canada. *Bryologist*, 1998: 36-60.
59. Yunzhe H, Tang H, Zhang Z. Ultramicro-morphological observation of *Usnea longissima* Ach. *African Journal of Biotechnology*, 2014, 11: 7102-7108.
60. Keon D. Fertile *Usnea longissima* in the Oregon Coast Range. *The Lichenologist*, 2002, 34: 13-17.
61. McCune B, Geiser L. *Macrolichens of the Pacific Northwest*. 1. Baskı. Oregon State University Press, Corvallis, OR, 1997: 448.
62. Lai B, Upreti D. Ethnobotanical notes on three Indian lichens. *The Lichenologist*, 1995, 27: 77-79.
63. Blackwell WH. *Poisonous and Medicinal Plants*. 19. Baskı. Prentice-Hall International, 1990: 329.
64. Turner NJ, Thomas J, Carlson BF, Ogilvie RT. *Ethnobotany of the Nitinaht Indians of Vancouver Island*. British Columbia Provincial Museum, 1983, 24:1-165
65. Chopra R, Chopra I, Handa K, Kapur L. *Indigenous Drugs of India* (2nd Edn.) Calcutta, India, 1958: 426.

66. Dursun N. *Veteriner Anatomi II*. 7. Baskı. Ankara, Medisan Yayınevi, 2001: 52-56.
67. Tanyolaç A. *Özel Histoloji*. 3. Baskı. Yorum Basım Yayın Sanayi Ltd. Şti, Ankara, 1999: 83-93.
68. Junqueira L. Carneiro J. (Çeviri: AYTEKİN Y, SOLAKOĞLU S). *Temel Histoloji*. 10. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2006: 431-47.
69. Kalaycı Ş. *Histoloji*. 1 Baskı. Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1986.
70. Dellmann H, Eurell J. *Textbook of Veterinary Histology*, 5nd. Ed. Baltimore, Philadelphia, London, Paris, Bangkok, Buenos Aires, Hong Kong, Munich, Sydney, Tokyo, Wrocław: Williams & Wilkins, A Waverly Company, 1998: 273-286.
71. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi fizyoloji*. 11. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 771-824.
72. Akyüz G, Leblebici MA. Otonom Sinir Sistemi Anatomisi ve Değerlendirilmesi. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 2012, 58.
73. Noyan A. *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. 19. Baskı. Palme Yayıncılık, 2011: 885-897.
74. Bölükbaşı F. *Fizyoloji Ders Kitabı (Vücut Isısı ve Sindirim)*. 1. Baskı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1989: 93, 229-270.
75. Costa M, Brookes S. The enteric nervous system. *The American Journal of Gastroenterology*, 1994, 89: 129-37.
76. Cooke HJ. Neurotransmitters in neuronal reflexes regulating intestinal secretion. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 915: 77-80.

77. Suprenant A. Control of the gastrointestinal tract by enteric neurons. *Annual Review of Physiology*, 1994, 56: 117-140.
78. Dresner MHL, Wait R. Profile of neurohumoral agents on mesenteric and intestinal blood flow in health and disease. *Physiological Research*, 1998, 47: 307-327.
79. Lundgren O, Svanvik J, Jivegard L. Enteric nervous system. *Digestive Diseases and Sciences*, 1989, 34: 264-283.
80. Çetinkaya ZA, Çetinkaya Y, Sezikli M, Güzelbulut F, Yaşar B, Kurdaş O. Remisyondaki İnflamatuvar Barsak Hastalarında Otonom Nöropati Varlığı. *Kocaeli Tıp Dergisi*, 2012, 1: 6-11.
81. Gershon MD, Kirchgessner AL, Wade PR. Functional anatomy of the enteric nervous system, in Johnson LR, Alpers DH, Jacobson ED and Walsh JH (eds). *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Raven Press, New York, 1994: 381–422.
82. Furness JB, Costa M. *The Enteric Nervous System*. 1. Baskı. Churchill Livingstone Edinburgh , 1987.
83. Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature*, 1995, 373: 347-349.
84. Wood J, Alpers D, Andrews P. Fundamentals of Neurogastroenterology. *Gut*, 1999, 45: 6-16.
85. Kunze W, Furness J. The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. *Annual Review of Physiology*, 1999, 61: 117-142.
86. Costa M, Brookes S, Hennig G. Anatomy and physiology of the enteric nervous system. *Gut*, 2000, 47: 15-19.

87. Kirchgessner AL, Gershon MD. Innervation of the pancreas by neurons in the gut. *The Journal of Neuroscience*, 1990, 10: 1626-1642.
88. Szurszewski J, Miller S. Physiology of prevertebral ganglia. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 1994, 19: 795-877.
89. Wörl J, Mayer B, Neuhuber WL. Nitrergic innervation of the rat esophagus: focus on motor endplates. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 1994, 49: 227-233.
90. Kirchgessner AL, Gershon MD. Identification of vagal efferent fibers and putative target neurons in the enteric nervous system of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 1989, 285: 38-53.
91. Alp R. Multipl Skleroz Hastalarında Gastrointestinal Sistem Motilite Bozuklukları ve Amiloidoz İlişkisi. Uzmanlık tezi, İstanbul: 2004.
92. Borrelli F, Borbone N, Capasso R, Montesano D, De Marino S, Aviello G, Aprea G, Masone S, Izzo AA. Potent relaxant effect of a *Celastrus paniculatus* extract in the rat and human ileum. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 122: 434-438.
93. Sağmanlıgil V, Emre B, Çelebi F. Aç ve Tok Farelerde Medial Jejunum, Proksimal ve Distal Ileumda Asetilkolinin Oluşturduğu Kasılmalar ile Elde Edilen non-kümülatif Cevap Eğrileri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1994, 41: 463-475.
94. Rigano D, Formisano C, Senatore F, Piacente S, Pagano E, Capasso R, Borrelli F, Izzo AA. Intestinal antispasmodic effects of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum* and chemical identification of the active ingredients. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 150: 901-906.

95. Verspohl EJ, Fujii H, Homma K, Buchwald-Werner S. Testing of *Perilla frutescens* extract and Vicenin 2 for their antispasmodic effect. *Phytomedicine*, 2013, 20: 427-431.
96. Halıcı MB. Bazı Likenlerden İzole Edilen Maddelerin Sıçanlarda İndometazin ile Oluşturulan Ülser Modelinde Antiülserojen Mekanizmalarının Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2007.
97. Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Suleyman H, Karagoz Y, Halici M, Bayir Y. Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *Phytotherapy Research*, 2004, 18: 938-941.
98. Choudhary MI, Jalil S. Bioactive phenolic compounds from a medicinal lichen, *Usnea longissima*. *Phytochemistry*, 2005, 66: 2346-2350.
99. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halici M, Kazaz C. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 2006, 13: 584-590.
100. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 103: 59-65.
101. Kim M, Cho H. Melanogenesis inhibitory effects of methanolic extracts of *Umbilicaria esculenta* and *Usnea longissima*. *Journal of Microbiology*, 2007, 45: 578.
102. Uysal H , Altun D , Aşkın H , Aslan A. Effects of water extract of *Usnea longissima* Ach. on the longevity of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 2009, 18: 699-703.

103. Açar G, Aslan A, Sarioğlu E, Alpsoy L, eker S. Protective activity of the methanol extract of *Usnea longissima* against oxidative damage and genotoxicity caused by aflatoxin B1 in vitro. *Turkish Journal of Medical Science*, 2011, 41: 1043-9.
104. Odabasoglu F, Yildirim OS, Aygun H, Halici Z, Halici M, Erdogan F, Cadirci E, Cakir A, Okumus Z, Aksakal B. Diffractaic acid, a novel proapoptotic agent, induces with olive oil both apoptosis and antioxidative systems in Ti-implanted rabbits. *European Journal of Pharmacology*, 2012, 674: 171-178.
105. Karaki H, Ozaki H, Hori M, Mitsui-Saito M, Amano K-I, Harada K-I, Miyamoto S, Nakazawa H, Won K-J, Sato K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacological Reviews*, 1997, 49: 157-230.
106. Anderson K. Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacological Reviews*, 1993, 45: 253-308.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aslıhan ATASEVER	
Doğum tarihi : 05.06.1989	
Doğum yeri : ERZURUM / MERKEZ	
Medeni hali : Bekâr	
Uyruğu : T.C.	
Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM	
Tel : 0538 375 45 14	
Faks : 0442 236 00 00	
E-mail : aslihan.atasever@gmail.com.tr	
Eğitim	
Lise : Erzurum Lisesi	
Lisans : Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2008-2012)	
Yüksek Lisans : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı (2012-2015)	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce : Orta derecede (IELTS 4.0)	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Kitap okumak, film izlemek ve müzik dinlemek	

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-53

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2014
ERZURUM

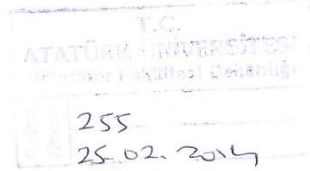
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 20.02.2014 tarih ve 36643897- sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Dursunali ÇINAR'ın yürütlüçülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan “**Usnea Longissima Ach. Liken Türünden Elde Edilen Total Ekstratın İn Vitro Ortamda Rat İleum Motilitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma tezi çalışması. Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 20.02.2014 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 41 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.




Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

Toplantı Tarihi : 20.02.2014

Toplantı Sayısı : 1

KARAR NO : 41- Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Dursunali ÇINAR'ın yürütlüçülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan “**Usnea Longissima Ach. Liken Türünden Elde Edilen Total Ekstratın İn Vitro Ortamda Rat İleum Motilitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma tezi çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 20.02.2014 tarih ve 36643897- sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma tezi çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-231 47 30 **Fax** : 0-442-231 55 63 **e-mail**: hadyek@atauni.edu.tr