

T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

RAT ABDOMİNAL EPİGASTRİK ARTER FLEBİNDE BETA-GLUKAN'IN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih KILIÇ

KAYSERİ–2015

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

RAT ABDOMİNAL EPİGASTRİK ARTER FLEBİNDE BETA-GLUKAN'IN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih KILIÇ

Danışman
Doç. Dr. Teoman ESKİTAŞÇIOĞLU

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TTU–2014–5199 kodlu proje ile desteklenmiştir.

KAYSERİ–2015

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bilimsel ve teknik olarak çalışma boyunca bana hoşgörüyle yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. Teoman Eskitaşçıoğlu'na;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerimin oluşmasında ve gelişmesinde büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Galip Kemali Günay'a, Prof. Dr. Atilla Çoruh'a, Prof. Dr. İrfan Özyazgan'a ve Yrd. Doç. Dr. Alper Kemaloğlu'a; tez jürimde bulunmasıyla beni onurlandıran Prof. Dr. Eksal Kargı'ya; tezimin cerrahi aşamasındaki katkılarından dolayı ve her zaman yardıma ihtiyacım olduğunda yanımda bulduğum Uzm. Dr. Selçuk Yazan ve Dr. Ahmet Aydın'a; çalışmamın histopatolojik incelemelerini yapan Prof. Dr. Özlem Canöz'e, biyokimyasal incelemelerini yapan Dr. Recep Saraymen ile Dr. Kenan İzgi'ye ve istatiksel analizini yapan Doç. Dr. Recep Aksu'ya;

Asistanlık süreci boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Dr. Ömer Ünverdi, Dr. Mehmet Severcan, Dr. Sercan Yücel, Dr. Emre Özenalp, Dr. Hakan Özocak, Dr. İlknur Orhan ve Dr. Osman Serdar Berk'e;

Asistanlığım süresince aralarında kendimi bir aile gibi hissettiğim ve beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum plastik cerrahi kliniği hemşire ve personeline, yanık ünitesi hemşire ve personeline;

Hayatımın her anında desteğini ve şefkatini benden esirgemeyen sevgili annem Nazlı Kılıç ve babam Mehmet Kılıç ile varlığıyla hayatımda büyük yer edinen Dr. Gamze Güney'e

Sonsuz Teşekkür Ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i

İÇİNDEKİLER ii

KISALTMALAR v

TABLO LİSTESİ vii

ŞEKİLLER LİSTESİ viii

ÖZET x

ABSTRACT xii

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Flep bilgisi 3

2.1.1. Tarihçe 3

2.1.2. Flep fizyolojisi 4

2.1.3. Fleplerin sınıflandırılması 6

2.1.4. Flep viyabilitesi ve etkileyen faktörler 10

2.1.5. Flep geciktirmesi (Delay fenomeni) 10

2.2. İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı 12

2.2.1. İ/R tanımı 12

2.2.2. İ/R hasarının fizyopatolojisi 13

2.2.3. Serbest oksijen radikalleri 16

2.2.4. Serbest radikal kaynakları 16

2.2.5. Serbest radikallerin etkileri 18

2.2.5.1. Hücre içi etkileri 18

2.2.5.2. Hücre dışı etkileri 20

2.2.6. Antioksidan savunma sistemleri 21

2.2.6.1. Endojen antioksidanlar 22

2.2.6.2. Ekzojen antioksidanlar 23

2.3. β-glukan 23
2.3.1. β-glukanın etki mekanizması 26
2.3.2. β-glukanın biyolojik aktiviteleri 29
2.3.2.1. İmmun sistem regülasyonu 29
2.3.2.2. Kanserle ilişkili aktiviteleri 29
2.3.2.3. Patojen ilişkili aktiviteleri 31
2.3.2.4. Diğer biyolojik aktiviteleri 32
2.3.3. Antioksidan özelliği 33
2.3.4. β-glukanın dozu 33
2.3.5. β-glukanın yan etkileri 34
3. GEREÇ VE YÖNTEM 35
3.1. Deney planı 35
3.2. Flep modeli ve cerrahi yöntem 36
3.3. Deney protokolü ve deneklerin gruplandırılması 38
3.4. Değerlendirmeler 40
3.4.1. Flep canlılığının topografik değerlendirilmesi 40
3.4.2. Histopatolojik değerlendirme 42
3.4.3. Biyokimyasal değerlendirme 42
3.4.4. İstatiksel değerlendirme 42
4. BULGULAR 43
4.1. Flep canlılığının topografik ölçülmesi 43
4.2. Histopatolojik bulgular 45
4.2.1. Nötrofil sayımı 46
4.2.2. Damar çapı ölçümü 47
4.3. Biyokimyasal bulgular 49
4.3.1. Malondialdehit (MDA) düzeyi 49
4.3.2. Myeloperoksidaz (MPO) düzeyi 50
4.3.3. Glutatyon peroksidaz(GPx) düzeyi 51

4.3.4. Süperoksit dismutaz (SOD) düzeyi 53

5. TARTIŞMA 57

6. SONUÇLAR 65

KAYNAKLAR 66

KISALTMALAR

C5a : Kompleman 5a

CAT : Katalaz

CCl3. : Triklorometil

CCl3O2. : Peroksil

CCl4 : Karbontetrakorür

CR3 : Kompleman reseptör-3

GSH : Glutatyon

GSH-Px- GPx : Glutatyon peroksidaz

GST : Glutatyon S-transferaz

H2O2 : Hidrojen peroksit

HOCl- : Hipoklorik asit

ICAM-1 : İntersellüler adezyon molekülü-1

IL-1 : İnterlökin-1

İ-R : İskemi Reperfüzyon

LH : Yağ adisi

LOO.- : Lipid peroksit

LOOH : Lipid hidroperoksit

LTB4 : Lökotrien B4

MPO : Myeloperoksdaz

NF-1 : Nükler Faktör-1

NO : Nitrik oksit

O2.- : Süperoksit radikali

OH.- : Hidroksil radikali

PAF : Trombosit aktive edici faktör

PMNL : Polimorfonükleer lökositler

PRR : Pattern-recognation receptor

SOD **:** Süperoksit dismutaz

SOR **:** Serbest oksijen radikali

TNF-α **:** Tümör nekrotizan faktör-α

VCAM-1 **:** Vasküler adezyon molekülü

β-glukan **:** Beta-glukan

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gruplara uygulanan işlemler 39

Tablo 2. Gruplarda Canlı Alan Yüzdeleri 43

Tablo 3. Gruplardaki nötrofil sayıları 46

Tablo 4. Grupların Damar Çapları 48

Tablo 5. Grupların MDA değerleri 49

Tablo 6: Grupların MPO değerleri 50

Tablo 7. Grupların GPx değerleri 52

Tablo 8. Grupların SOD değerleri 53

Tablo 9: İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları Genel Tablosu 54

Tablo 10: Tüm parametrelerin birbirleriyle olan korelasyonu 56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Fasyokutan fleplerin Nahai-Mathes'e göre Sınıflaması 8

Şekil 2. Kas fleplerinin sınıflaması 8

Şekil 3. İskemi ile beraber hücre içinde gelişen değişiklikler 14

Şekil 4. İskemi-reperfüzyon hasarında yer alan olaylar dizisi 15

Şekil 5. Süperoksit serbest radikalinin oluşumu 15

Şekil 6. Lipid peroksidasyonu 19

Şekil 7. Nötrofillerin İ/R hasarındaki rolleri 21

Şekil 8. Enzim olan endojen antioksidanların reaksiyonları 22

Şekil 9. β-glukanın moleküler yapısı 23

Şekil 10: Ekmek mayası hücre duvarının yapısı 24

Şekil 11. Makrofajlarda, β-glukanları tanıyan ve onlara bağlanan reseptörler 25

Şekil 12. Barsak duvarından β-glukanların makrofajlar tarafından tutulması ve aktive olan makrofajın diğer hücreleri uyarması 26

Şekil 13. Dentritik hücrelerdeki Dectin-1 reseptörü ile β-glukanın bağlanması 27

Şekil 14. β-glukan ile aktive olan makrofajın anti-tümör mekanizması 30

Şekil 15: β-glukanın, makrofajın CR3 reseptörlerine bağlanarak tümör hücresine karşı fagositoz özelliğini geliştirmesi. 30

Şekil 16. β-glukan ile aktive olan fagositik hücrelerin bakterosidal etki mekanizması 31

Şekil 17: Flep modeli 36

Şekil 18: Flep pedikülünün diseke edilmesi 37

Şekil 19: Flep diseksiyonunda damarların gösterilmesi. Kırmızı ok ile gösterilen İnferior epigastrik arter, sarı ok ile gösterilen klemplenen proksimal femoral damar, mavi ok ile gösterilen distalde bağlanan femoral damar 37

Şekil 20: Flebin yerine sutüre edilmesi 38

Şekil 21: Tedavi (A,A') ve kontrol (B,B') gruplarında nekroz oranlarının ölçümü. Şekil A,B tedavi ile kontrol gruplarında total flep alanlarının; şekil A',B' tedavi ile kontrol gruplarında yaşayan flep alanlarının AutoCAD programı yardımı ile hesaplanması. 41

Şekil 22: Gruplarda ortalama flep canlılık yüzdesi 44

Şekil 23: Gruplara ait flep yaşam oranı örnekleri. 44

Şekil 24: Sham grubunda nötrofil infiltrasyonu ve damar çapları. Farklı 2 kesitte mavi ok ile nötrofiller ve kırmızı ok ile normal yapıda damar yapıları görünmekte. 45

Şekil 25: Kontrol grubunda nötrofil infiltrasyonu ve damar çapları. Farklı 2 kesitte mavi ok ile yaygın nötrofi infiltrasyonu ve kırmızı ok ile azalmış damar yapıları görünmekte. 45

Şekil 26: Tedavi grubunda nötrofil infiltrasyonu ve damar çapları. Farklı 2 kesitte mavi ok ile azalmış nötrofi infiltrasyonu ve kırmızı ok ile azalmış damar yapıları görünmekte. 46

Şekil 27: Gruplardaki ortalama nötrofil sayıları 47

Şekil 28. Grupların ortalama damar çapları(μ) 48

Şekil 29: Gruplarda ortalama Malondialdehit düzeyleri (μM/mg protein) 50

Şekil 30. Gruplarda ortalama myeloperoksidaz düzeyleri(pg/ml) 51

Şekil 31: Gruplarda ortalama glutatyon peroksidaz düzeyleri(U/g) 52

Şekil 32: Gruplarda ortalama süperoksit dismutaz düzeyleri(U/g) 54

RAT ABDOMİNAL EPİGASTRİK ARTER FLEBİNDE BETA-GLUKAN'IN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

ÖZET

Giriş ve Amaç: Flep cerrahisinde başarıyı etkileyen faktörlerden birisi olan iskemi reperfüzyon hasarı için birçok ajan deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Bu ajanlar başarılı sonuçlar vermiş olsa da pek azı klinik olarak kullanılabilmektedir.

Antioksidan ve immün modülatör bir madde olan β-glukan immün destekleyici olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalarda β-glukanın akciğer, karaciğer, böbrek ve ince barsak gibi farklı dokularda gelişen İ/R hasarını önlemede etkili olduğu gösterilmiştir. Farklı dokularda İ/R hasarına etkili olan β-glukan, deri fleplerinde görülen İ/R hasarında da etkili olabileceği hipoteziyle bu çalışma planlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, 30 adet Wistar albino erkek rat, her birinde 10 hayvan bulunacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Sham grubunda inferior epigastrik arter flebi kaldırılarak, iskemi reperfüzyon uygulanmadan yerine iade edildi. Kontrol grubunda aynı flebe 8 saat total iskemi ve ardından 12 saat reperfüzyon uygulandı. Tedavi grubundaki ratlara ise flep kaldırılmadan önceki 10 gün boyunca 50 mg/kg β-glukan gavaj yoluyla verildi ve cerrahi işlem günü flep kaldırılarak 8 saat total iskemi ve ardından 12 saat reperfüzyon uygulandı. Sham grubundaki fleplerden cerrahi işlem sonrası 1, günde ve Kontrol ile β-glukan gruplarındaki fleplerde ise reperfüzyon periyodu sonrasında doku biyopsileri alınarak histopatolojik inceleme ile nötrofil sayısı ve damar çapları, biyokimyasal olarak da malondialdehit, myeloperoksidaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzim seviyeleri tayin edildi. Tüm flepler postoperatif 7. günde fotoğraflanarak yaşayan flep oranı hesaplandı. Elde edilen veriler istatiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Flep yaşamı β-glukan grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (**p<0,001)**. β-glukan grubunda nötrofil sayısı (**p<0,001)**, MDA (**p=0,010)** ve MPO (**p=0,007)** değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük, antioksidan enzimler olan GPx (**p=0,002)** ve SOD (**p<0,001)** değerleri anlamlı şekilde yüksek bulundu. Damar çapları bakımından gruplar arası bir farklılık saptanmadı (**p=0,145)**.

Sonuçlar: Çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda, başka amaçlarla klinik uygulamaları bulunan β-glukanın deri fleplerinde İ/R hasarını önlemede etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: iskemi-reperfüzyon hasarı, β-glukan, rat abdominal epigastrik flep

EFFECTS OF ORAL β-GLUCAN ON INFERIOR EPIGASTRIC FLAP ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RATS

ABSTRACT

Introduction and Objectives: Several agents has been used for ischemia and reperfusion (I/R) injury that affects success of the flap surgery in experimental studies. Even though those agents works successfully, few of them can be used clinically.

β-glucan which is an antioxidant and immun modilator agent is commonly used for immun supporter. Experimental studies have showed that β-glucan protects I/R injury in different kinds of tissues such as lung, liver, kidney and small intestine. We have planned this study with the hypothesis of the possible effects of β-glucan, that effects I/R injury in several tissues, on I/R injury of skin flaps.

Materials and Methods: We divided 30 Wistar albino rats into 3 groups and each group contains 10 animals in our study. In sham group, inferior epigastric artery flap raised and sutured back without application of I/R injury. In control group, 8 hours of ischemia and 12 hours of reperfusion applied for the same flap.

In study group, 50 mg/kg β-glucan administered for 10 days via gastric gavage before flap elevation and 8 hours of total ischemia and 12 hours of reperfusion applied at the day of surgery while flap elevation.

Tissue biopsies have been taken from the flaps of sham group at the 1st day of surgery and control and study groups after reperfusion periods. Neutrophile numbers and vascular diameters have been showed histopathologically and malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), glutathion peroxidase (Gpx) and superoxide dismutase (SOD) enzyme levels have been showed biochemically. All flaps have been photographed at the 7th day and the rate of vital flap tissues calculated. All the datas have been evaluated statictically.

Findings: Flap survival rate was significantly high in study group compared to control group ($p<0,001$). Neutrophile number ($p<0,001$), MDA ($p=0,010$) and MPO ($p=0,007$) levels were significantly low in study group compared to control group. Antioxidant

enzyme levels; GPx ($p=0,002$) and SOD ($p<0,001$) were significantly high in study group compared to control group. There was no statistical significance in vascular diameters between the groups ($p=0,145$).

Results: According to findings that we get from our study, It has been concluded that β-glucan that clinically practiced for different purposes may be effective for protection of the I/R injury of the skin flaps.

Key words: ischemia reperfusion injury, β-glucan, rat abdominal epigastric flap

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Rekonstrüktif cerrahi, onkolojik rezeksiyon, travma ve yanık gibi çeşitli nedenlerden dolayı oluşan doku eksikliklerinin tamiri ile yeniden yapısal bütünlüğün ve fonksiyonun sağlanmasını amaçlar. Meydana gelen bir doku eksikliğini benzer dokuyla rekonstrükte etmek ve donor saha morbiditesinin en aza indirilmesi birincil amaçtır. Tarihten bugüne gelen deneyimlerle kayıp olan doku ve fonksiyon için bir onarım merdiveni oluşturulmuştur. Bu merdivende mevcut olan doku eksikliğine göre yöntem seçilir. En alt basamakta primer kapatma yer alır. Primer kapatma kenarı düzgün doku kaybının sınırlı olduğu kesici delici alet yaralanmaları gibi yara dudaklarının karşı karşıya gelebilen yaralanmalarda kullanılabilir. Bir üst basamakta yer alan sekonder iyileşme küçük ve sadece epitel kaybını içeren yaralarda kullanılmaktadır. Daha komplike doku defektinin daha fazla olduğu, primer kapanmaya olanak vermeyen yaralarda, eğer alıcı yatak uygunsa deri greftleri kullanılabilir. Flepler, beslenmeleri için gerekli damar sistemini kendi bünyelerinde taşıdıklarından, alıcı alan kanlanmasının iyi olmadığı bölgelerde de yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Bu özellikleri defeklerin onarımı için bir avantajdır. Koşullara göre en basit seçenek kimi zaman ilk tercih olabilirse de artan bilgi, gelişen mikro cerrahi ve teknoloji nedeniyle uygun olgularda daha üst basamaklar ilk tedavi seçeneği olabilmektedir (1,2). Bu nedenle rekonstrüktif cerrahinin temelini flep cerrahisi oluşturmaktadır. Uygun flep seçimi kadar plastik cerrahların uğraştığı sorunlardan bir tanesi de nakledilen dokunun getirildiği alanda yaşayabilmesi ve dokuya uyum sağlamasıdır. Gelişen teknik ve eğitim olanakları sayesinde flep sağkalımı artmakla beraber henüz istenilen düzeyde değildir. Yaygınlaşan serbest doku uygulamalarında, başarı oranı %90 üzerinde olsa da, pediküllü fleplerde kısmi veya tam

flep kayıplarının ve komplikasyonlarının, farklı serilerde %25'e kadar ulaşabildiği bildirilmiştir (3,4). Flep uzunluğunu arttırma ihtiyacı çeşitli farmakolojik ajanların ve cerrahi geciktirme işlemlerinin araştırılmasına neden olmuştur.

Random veya aksiyel paternli, serbest veya pediküllü tüm fleplerin kaldırılmaları sırasında bir takım metabolik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu meydana gelen değişiklikler bazen tam veya kısmi flep kayıplarına sebep olabilirler. Rekonstrüktif cerrahide flep sağkalımı; hasta seçimi, cerrahi teknik, iskemi süresi ve derinliği ile doğrudan ilişkilidir. İskemi özellikle mikrovasküler cerrahide ileri derecede önem kazanmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarı uzuv amputasyonu veya uzun süre kan akımının sağlanmadığı dokularda, başarılı anastomozlardan sonra görülen ve doku nekrozuna sebep olan klinik bir durumdur (5). Patolojik olarak iskemik kalan bir bölgenin, tekrar kanlanmasıyla gelişen ani oksijenizasyon serbest radikal oluşumunu artırmakta ve doku hasarına hatta flep kayıplarına sebep olmaktadır. Reperfüzyon hasarının engellenmesi için birçok yöntem tanımlanmış olmasına rağmen halen kesin olarak etkili bir yöntem bulunamamıştır.

Rat inferior epigastrik arter flebinde iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak amacı ile antioksidan özellikleri olduğu bilinen β-glukanın faydalı olabileceği hipoteziyle bu çalışma planlandı. İskemi reperfüzyon hasarı belirteçleri olarak flep yaşam alanı, dokuda nötrofil sayısı, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeyleri, oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit ve nötrofil akümülasyonu göstergesi olan myeloperoksidaz tayin edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Flep bilgisi

2.1.1. Tarihçe

"Flep" kelimesi, aslı Felemenkçe olan "flappe" kelimesinden türemiş olup, "gevşek ve geniş bir şekilde asılmış, sadece bir tarafından tutan" anlamına gelmektedir. Fleplerle yapılan doku onarımlarının tarihi milattan önce 600'lü yıllarda Sushruta Samita'nın gerçekleştirdiği yanak flebi ile burun onarımına kadar gitmektedir. En erken flepler baş-boyun ve alt ekstremite bölgelerinde muhtemelen random paternli diyebileceğimiz şekilde dizayn edilmiş fleplerdi. 1597'de Tagliacozzi'nin distal bazlı kol flebi ile burun rekonstrüksiyonu yapmasından sonra, 19. yüzyılda İngiliz cerrah Carpue başarılı alın flepleri uygulayana kadar rekonstrüksiyon cerrahisi duraklama dönemine girdi. Bundan sonra flep evrimi 1. ve 2. Dünya savaşlarının da katkısıyla oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşti. Yirminci yüzyılın başlarında dikkatler random flepler üzerine çevrildi ve bu fleplerin yaşayabilirliğini arttırmak için geciktirme işlemi uygulanmaya başlandı. Carl Manchot'un 1889'da belli damarlar tarafından beslenen anatomik deri bölgeleri kavramını yayınlamasından sonra 1919'da Davis aksiyel, pediküllü kas ve fasya fleplerini ve kompozit flepleri tanımlandı. Orticochea'nın 1970'lerin başında aynı muskulokutan perforatör damarlar tarafından beslenen deri adası ve kas dokusu varlığını rapor etmesinden sonra kas ve muskulokütan flepler popülarize oldu ve 1980'lere doğru serbest doku aktarımı gündeme geldi. 1981'de Ponten'in belli bir deri adasının beslenmesini sağlayan septokutan perforatörleri fark etmesi fasyokutan flep kavramının gelişmesine yol açtı (6,7). Taylor ve Palmer 1987'de "anjiozom" (angiosome)

kavramını tanımlayarak flep cerrahisine büyük katkıda bulunmuşlardır. Anjiozom, tek bir kaynak arter tarafından beslenmesi sağlanan deri, deri altı ve derin doku kompozit ünitesidir. Vücudu oluşturan pek çok anjiozom arasında çapları değişebilen "choke" anastomotik damarları da bu araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır (8,9). Dhar ve Taylor'ın yaptığı deneysel çalışmada geciktirme işlemi sırasında "choke" damar dilatasyonunun kalıcı ve dönüşümsüz bir şekilde gerçekleşip, damar çapında artışla sonuçlandığı gösterilmiştir. Bu sonuçların elde edilmesinden sonra geciktirme işleminin sadece cerrahi olarak değil çeşitli farmakolojik ajanlarla (rezerpin, 6-OH dopamin, guanetidin, fenoksibenzamin, fentolamin) yapılabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda, bu ilaçlarla flep canlılığının arttığı gösterilse de geciktirme için halen en kabul edilir sonuçlar cerrahi geciktirmeyle alınmaktadır (10). Teknolojideki gelişmeler sayesinde mikro cerrahi gerektiren serbest doku aktarımlarının daha düşük başarısızlık oranlarıyla yapılır olması nedeniyle eskiden tercih edilen basitten karmaşığa doğru giden rekonstrüksiyon merdiveni kullanımı yerine, 1997'de rekonstrüksiyon üçgeni tanımlanarak, ideal form ve fonksiyona ulaşmak için cerrahın transpozisyon flebi, serbest doku aktarımı veya doku genişletme işlemlerinden istediği herhangi birini seçebileceği belirtilmiştir (6).

2.1.2. Flep fizyolojisi

Bir flebin yaşayabilirliğini belirleyen temel faktör flebin intrensek vaskülaritesidir. Bu nedenle flep vasküler fizyolojisini anlamak flep cerrahisinde başarıya giden yoldur. Tüm dokularda olduğu gibi fleplerde de makro ve mikro dolaşım vardır. Makro dolaşım sistemi majör arter ve venlerden oluşurken, mikro dolaşım arterioller, kapillerler, venüller ve arteriovenöz anastomozlardan oluşur. Perfüzyonun kontrolü büyük oranda mikro dolaşım düzeyinde gerçekleşir. Mikrodolaşım, çapları 300 mikronun altındaki arteriollerden başlayıp uç arterioller, prekapiller sfinkterler, kapillerler, postkapiller venüller, toplayıcı venüller ve yine 300 mikron çaplı muskuler venüllere doğru ilerler. Arteriovenöz anastomozlar ise kapiller ağ yakınında arteriyel ve venöz dolaşımları birleştirir. Buradaki kas hücreleri çevrelerinde zengin sinir ağı bulundururlar. Kimyasal ve elektriksel uyarılarda dilate olurlar. Bu şantlardan geçen kan kapiller yatağı atlayıp ilerlemiş olur. Mikrodolaşım sistemi üç ayrı dermal tabakada yer alır. Yüzeyel pleksusta arteriyel ve venöz yapılar bulunur, ısı değişimi ve beslenmede rol alırlar. Orta pleksus venöz ağırlıklı olup ısı değişimi ve savunma sistemlerini içerir. Derin pleksus arteriyel

ve venöz yapıda olup ısının korunması ve şantlardan sorumludur. Bu damar ağlarının yoğunluğu vücutta farklı dağılım gösterdiğinden değişik bölgelerden hazırlanılan fleplerde dolaşımlar da farklı olmaktadır. Bu pleksuslar derinin yara iyileşmesine yanıtından sorumludur. Bu nedenle yaşlanma, radyasyon, sigara ve yanıklarda olumsuz etkilenir. Diğer taraftan doku genişletici uygulamaları sırasında yeni damarların oluşumunu da sağlarlar.

Normal deri kan akımı 100 gr doku başına yaklaşık 20 ml/dk'dır. Bu akım hızı kaslarda çok daha yüksektir (11). Bu farklılık kasların yüksek metabolik aktivitelerinden kaynaklanır. Flep sağkalımı da, flebe gelen kan akımı ile flebin metabolik ihtiyaçları arasındaki dengeye dayanmaktadır. Deri kan akımı lokal ve sistemik olmak üzere iki seviyede kontrol edilir. Sistemik kontrol nöral ya da hormonal olabilir. Nöral kontrol daha baskındır (11). Nöral kontrol sempatik lifler aracılığı ile arterioler ve arteriovenöz anastomoz seviyelerinde gerçekleşir. α-adrenerjik ve serotonerjik reseptörler vazokonstrüksiyona sebep olurken, β-adrenerjik reseptörler vazodilatasyona yol açar. Hormonal kontrol sistemik vazoaktif maddelerin kendilerine özgü reseptörlerindeki aktiviteleri ile sağlanır. Vazokonstriktörler epinefrin, norepinefrin, serotonin, tromboksan A_2 ve prostoglandin $F_{2\alpha}$'yı içerir. Vazodilatatörler ise prostaglandin E_1, prostaglandin I_2 (prostasiklin), histamin, bradikinin, lökotrien C_4 ve D_4 'den oluşur. Lokal kontrolde ise hiperkapni, hipoksi, asidoz ve hipertermi vazodilatasyona sebep olurken, hipotermi vazokonstriksüyona neden olur.

Deri kan akımının düzenlenmesinde temel rollerden biri derinin vücudun termoregülatuar organ olması ile ilgilidir. Çünkü vücudun ısı ayarlaması deri kan akımının ayarlanması ile yapılır. Regülâsyon arterioler seviyede gerçekleşir. Sempatik etki ile prekapiller sfinkter kasılır ve kan kapiller yatağı bypass ederek arteriovenöz anastomoza geçer. Böylece deri kan akımı azalır ve vücut ısısı korunmuş olur. Tersi durumda ise deri kan akımı artırılarak vücut ısısı azaltılır.

2.1.3. Fleplerin sınıflandırılması

A. Hareket şekline göre

1. Lokal flepler
    a. Advancement (İlerletme) flepleri
    b. Pivot flepler (Rotasyon, Transpozisyon)
    c. İnterpolasyon (Pediküllü, Subkutanöz) flepler
2. Uzak Flepler
    a. Direkt flepler
    b. Tüp flepler
    c. Mikrovasküler flepler

B. Kompozisyonlarına göre

1. Kutanöz flepler
2. Fasyokutanöz flepler
3. Miyokutanöz flepler
4. Kas + deri grefti flepleri
5. Osseokutanöz flepler
6. Sensoryal flepler

C. Dolaşımına göre

Taylor ve Palmer vücutta bulunan dolaşımsal ağ ile ilgili olarak iki teori ortaya atmıştır. Bunlardan ilkine göre vücutta anjiozom olarak adlandırılan ve deri ile kemik arasında aynı arterden beslenen doku blokları bulunur (8). Taylor ve Palmer 1987 yılında yayımladıkları makaleyle vücutta 40 tane anjiozom tanımlamışlardır. Kaynak arterin beslediği alanlarda deri beslenmesi direkt deriye yönlenen damarlarla olabileceği gibi indirekt olarak kas gibi derin dokuları besleyen damarların deriye ulaşması sayesinde de olabilir. Bu bölgeler birbirleriyle gerçek arterler ya da çapları daha küçük olan "choke" arterlerle bağlantı halindedir. Delay prosedürü uygulanan fleplerde, sempatik tonusun azaltılmasıyla bu damarların çapı artarak kuvvetli bir kompansasyon mekanizması

oluşur. Taylor ve Palmer'in doku dolaşımını açıklamaya yönelik ikinci teorisi ise fasyokutanöz pleksus teorisidir (9). Buna göre farklı damarlardan gelen kan akımı vücudu bir ağ gibi örer ve birbiri ile ilişkili pleksuslar oluşturur. Bu pleksuslarla deri ve deri altı dokuları kanlanır. Bu sistemde kan akımı dermal, subdermal, superfisyal ve derin adipofasyal pleksuslarda dolaşır.

Deri flepleri;

Deri flepleri McGregor ve Morgan tarafından random paternli flepler ve aksiyel paternli flepler olarak ayrılmıştır (12).

1. Random paternli fleplerde flep dolaşımını sağlayan dominant bir pedikül yoktur. Flep esas olarak subdermal pleksuslardan beslenir. Geleneksel olarak en boy oranı 1:3'tür. Limberg flebi bu flep tipine güzel bir örnektir.

2. Aksiyel (arteriel) paternli fleplerde flebi besleyen ve flebin uzun eksenine paralel olarak seyreden, anatomik lokalizasyonu belli bir vasküler pedikül bulunur. Ters aksiyel flep ve ada flebi aksiyel paternli fleplere örnek olarak gösterilir.

Fasyokutan flepler

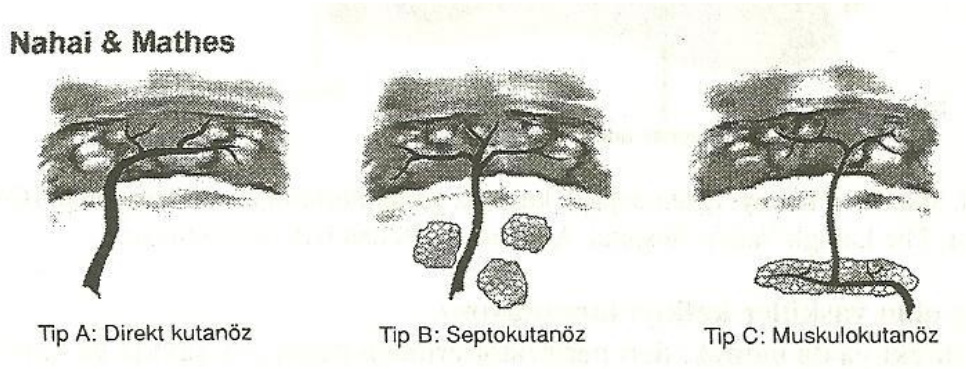
Deri ve deri altı derin fasyanın birlikte kaldırılmasıyla hazırlanır. Fasyokutan flepler fasyokutanöz pleksus tarafından beslenirler.

Nahai-Mathes Sınıflaması; (Şekil-1)

Tip-A: Direkt deri perforatörü.

Tip-B: Septokutenöz perforatörler.

Tip-C: Muskülokutenöz perforatörler



Şekil 1. Fasyokutan fleplerin Nahai-Mathes'e göre Sınıflaması

Kas ve Kas-Deri Flepleri (Şekil-2)

Bu tarz fleplerde en sık Nahai-Mathes'in yaptığı sınıflama kullanılır (13).

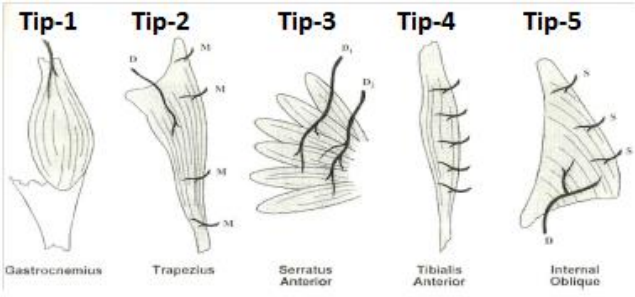
Tip-1: Tek bir vasküler pedikül: M. Gastrokinemius, M. Genioglossus, M. Vastus Lateralis, M. Tensor Fasya Lata.

Tip-2*:* Dominant pedikül(ler) ve minör pedikül(ler): M. Grasilis, M. Fleksor Karpi Ulnaris, M. Platisma, M. Rektus Femoris, M. Soleus.

Tip-3: İki dominant pedikül: M. Gluteus Maksimus, M. Rektus Abdominis, M. Temporalis.

Tip 4: Segmental pediküller: M. Sartoryus, M. Tibialis Anterior, M. Biceps Femoris

Tip 5: Dominant pedikül ve sekonder segmental pediküller: M. Pektoralis Major, M. Latissimus Dorsi, M. Oblikus İnternus.



Şekil 2. Kas fleplerinin sınıflaması

Perforatör Flepler

Bir perforatör pedikül tarafından beslenen deri ve deri altı yağ dokusunu içeren fleplerdir. Yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ki, perforatör korunduğunda yeterli dolaşım için kas ya da fasyanın flebe dâhil edilmesi zorunlu değildir. Perforatör flepler de pediküllerin kökenine göre sınıflandırılır (14).

1. İndirekt kas perforatörü: Derin fasya dokusunu delip deriye ulaşmadan önce kas dokusunda seyrederler.

2. İndirekt septal perforatörler: Derin fasyaya ulaşmadan önce intermusküler septumdan geçerler.

3. Direkt deri perforatörleri: Vasküler yapının direkt olarak deriye ulaştığı fleplerdir

Muskulokutanöz fleplerin kutanöz kısımları, altta yatan aksiyel kas fleplerinin perforatörlerinden kanlanmaktadır. Muskulokutanöz fleplerin kaldırıldıktan sonra erken ve devamlı artan kan akımına sahip oldukları buna karşın random deri fleplerinde azalma olduğu gösterilmiştir. Doku oksijen (O_2) basıncının da kaldırıldıktan 6 gün sonra muskulokutan fleplerde random deri fleplerine göre daha yüksek olduğu ve bu durumun her iki flebin proksimal kısımlarında da aynı olduğu gösterilmiştir. Proksimal distal arasındaki farklılık random fleplerde daha fazla olduğu görülmüştür. Random ve muskulokutanöz flepler arasında bu O_2 farkı olması enfeksiyon varlığında kullanıldıklarında muskulokutanöz fleplerin neden daha güvenilir olduklarını ve kas ve muskulokutanöz fleplerin neden daha iyi bakteriyel savunma sağladıklarını açıklayabilir (15).

Flep kaldırıldığında oluşan olaylar şu şekilde özetlenebilir: Besleyici damarlar ve sempatik lifler kesilir. 12–18 saat boyunca akım dramatik olarak azalır, bu özellikle distal kısımlarda çok olur; çünkü hem kan akımı kesilir, hem vazoaktif maddeler ile konstriksiyon olur, hem de lökosit aracılı endotel hasarı oluşması meydana gelir. Distal kısmın canlı kalabilmesi için bu alana ilk 6–12 saat boyunca kan akımı sağlanmalıdır. Yoksa doku ölecektir. Sempatik nörotransmitterler ilk 12–24 saatde tüketilirler ve flep yatağında tam akım 2-3 gün sonra meydana gelmektedir. Bununla birlikte distal flep bölgelerinde 6-12 saat içinde iskemi oluşmakta ve sonradan gelen kan akımı ile

reperfüzyon hasarı meydana gelmektedir. Reperfüzyon hasarı sonucu ile mikrovasküler dolaşım bozulması ve doku nekrozu meydana gelecektir (16).

2.1.4. Flep viyabilitesi ve etkileyen faktörler

Flep cerrahisinde başarı oranı günümüzde %95-%98'lere kadar yükselmiş olsa da özellikle pediküllü fleplerde distal nekrozlar hala görülmektedir (17,18). Bazı durumlarda, onarım cerrahisinde, flep distalinin ya da flep kenarlarının nekroza gitmesi birçok çalışmayla araştırılmış, nedenlerinin multifaktöriyel olduğu görülmüştür. Deri ve fasyokutan fleplerin iskemiye dayanıklılığı kas fleplerine göre oldukça iyidir. Bunda şüphesiz dokuların metabolizması, enerjiye olan ihtiyaçları önemli parametrelerdir. İskemiye dayanıklılık kas gruplarında bile farklılık gösterir. Örneğin alt ekstremite kas dokusu 2-3 saat kadar iskemiye dayanırken, kalp kasında bu süre 20-30 dakikadır. Geciktirme işlemi yapılan fleplerin distalindeki arteriyovenöz şantların (A-V) açılması sebebiyle akut kaldırılan fleplere oranla distal dolaşımın daha az bozulduğu düşünülmüştür (19). Daha sonra yapılan çalışmalarda distal A-V şantların açılmasının nekroz oluşumunda küçük bir rol oynadığı, esas etkenin pedikülden uzaklaştıkça kan basıncının azalması ve perfüzyonun yetersiz kalması olduğu anlaşılmıştır (20,21). Fleplerde meydana gelen arteriyal ve venöz yetmezliklerde, venöz yetmezlik daha ciddi bir yıkıma neden olur. Yeterli arteriyal akım varlığında bile venöz yetmezlik olursa flepte nekroz görülebilir (22). Serbest doku transferlerinde de aynı durum söz konusudur. Deneysel çalışmalarda venöz yetmezliğin arteriyel yetmezliğe oranla daha zaralı olduğu ortaya konmuştur (22,23). Aksiyel ve random paternli fleplerde arteriyal ve venöz tromboz genellikle flep içinde mikro sirkülasyondaki yetersizliğe bağlıdır. Serbest doku transferinde ise genellikle anastomoz hattında oluşan tromboz nedeniyle flep kaybı yaşanır.

2.1.5. Flep geciktirmesi (Delay fenomeni)

Flebin elevasyon ve transferinden önce ayrı bir seansta parsiyel olarak kan akımı kesilerek flep yaşayabilirliğinin arttırılmasına "delay prosedürü" denir. Bu işlem sonrasında elde edilen kazanç "delay fenomeni" olarak adlandırılır (24). Bu yöntem sayesinde, flebin damarsal pedikülünün uzunlamasına ulaşımı arttırılarak distalde daha fazla yaşayabilen random deri adasının elde edilmesi sağlanır. Geciktirme yöntemi

(delay fenomeni) birçok teoriyle açıklanmaya çalışılmıştır. İskemiye tolerans teorisinde random deri flebinin periferinde kan akımı kesildiğinde flep pedikülünün aksı boyunca kan akımının güçlendiği ve delay prosedürü sonrasında hücrelerin hipoksik ortama alışmış olduğu, böylece asıl operasyondan sonra doku nekrozunun azaldığı belirtilmektedir (25). Sempatektomiye bağlı vazodilatasyon teorisinde prosedür esnasında yapılan kesi sayesinde sempatik lifler flebin sınırından kesilmiş olduğundan vazodilatasyon oluştuğu ve kan desteğinin arttığı belirtilmektedir. Flep içine şant hipotezi insizyonlar sonrası oluşan sempatektominin A-V anastomozları prekapiller sfinkterlerden daha fazla dilate ettiği varsayımına dayanır. Kapiller yatak "bypass" edilerek sonuçta besleyici olmayan kan akımı artar. Böylece oluşan iskemik duruma doku alışır (26). Hiperadrenerjik durum teorisine göre cerrahi sonrası adrenalin ve nöradrenalin gibi vazokonstriktör ajanların doku konsantrasyonları artar. Geciktirme prosedüründen sonra kan desteği azalır, fakat doku nekrozuna yol açacak ölçüde değildir. İkinci prosedür öncesine kadar vazokonstriktör maddelerin seviyesi normale döner. İkinci prosedürde vazokonstriktör maddelerdeki yükselme, geciktirmesiz kaldırılan fleplerdeki kadar değildir. Bu yüzden geciktirme yapılan fleplerde distal nekroz gelişimi daha azdır. Delay edilmiş bir flepdeki dolaşım değişikliklerinin zamana göre saptanan bulguları şunlardır:

- İlk 24 saat: Arteriyel kan akımında azalma, arteriyel ve kapillerler de belirgin dilatasyon

- 1-3 gün: Longidutinal anastomozların genişlik ve sayısında artışla birlikte pedikül içindeki küçük damarların artması

- 3-7 gün: Fonksiyon gören damarların çapı ve sayısında artış. Flebin uzun ekseni boyunca damarların reoryantasyonu

- 7-14 gün: Flep ile yatak arasında dolaşımın sağlanması, vaskülarite artışının durması

- 14-21 gün: Vasküler sistemde ilerleyici regresyon. Flep ve yatak arasındaki anastomozların olgunlaşması

- 21 gün sonrası: Flep dolaşımı olması gerekenin % 90'nına ulaşmıştır.

Yapılan araştırmalarda vasküler pedikülün ligasyonu veya embolizasyonu, flep alanı çevresine sütür atma, flep alanına çeşitli sistemik ve topikal kimyasal ajanlar uygulama, lazer, deksamatazon uygulaması gibi çeşitli yöntemler denenmiştir (27,28). Fakat gelişen flep teknikleri nedeniyle geciktirme yönteminin popülaritesi azalmıştır. Flep kayıplarının sebepleri araştırıldığında hatalı flep planlamasının önemli bir sebep olduğu görülür. Random flepler aksiyal fleplere göre daha az güvenilir fleplerdir. Random flep planlamasında en/boy oranı dikkate alınmalıdır. Kötü teknik flep kaybının diğer önemli bir nedenidir. Deri ve fasya, kasa göre iskemiye daha fazla dayanıklıdır. Mikrosirkülasyonu etkileyen hipotansiyon, sepsis, sigara kullanımı, hiperkoagülabiliteye eğilim gibi sistemik faktörler, pedikülde katlanma, hematom, aşırı gerginlik gibi flebe bası yapan lokal sebepler flep kaybına neden olabilir. Serbest fleplerde anastomoz hattında meydana gelen tromboz, vasküler pedikülün katlanması, pediküle dışarıdan basıya bağlı kan akımının azlığı flepte ciddi hasara yol açar.

Flep kaybına bağlı komplikasyonları düzeltmek için kullanılan dekstran, heparin, streptokinaz gibi antitrombotik ilaçlar, steroid ve aspirin gibi anti-inflamatuarların ya da lidokain ve nitrogliserin gibi vazodilatatörlerin deneysel çalışmalarda flepte sürvi oranlarını arttırdığı tespit edilmiştir. Bu veriler flep cerrahisinde başarı oranını arttırmak için gerekli olan yeni çalışmaların da önünü açmıştır.

2.2. İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı

2.2.1. İ/R tanımı

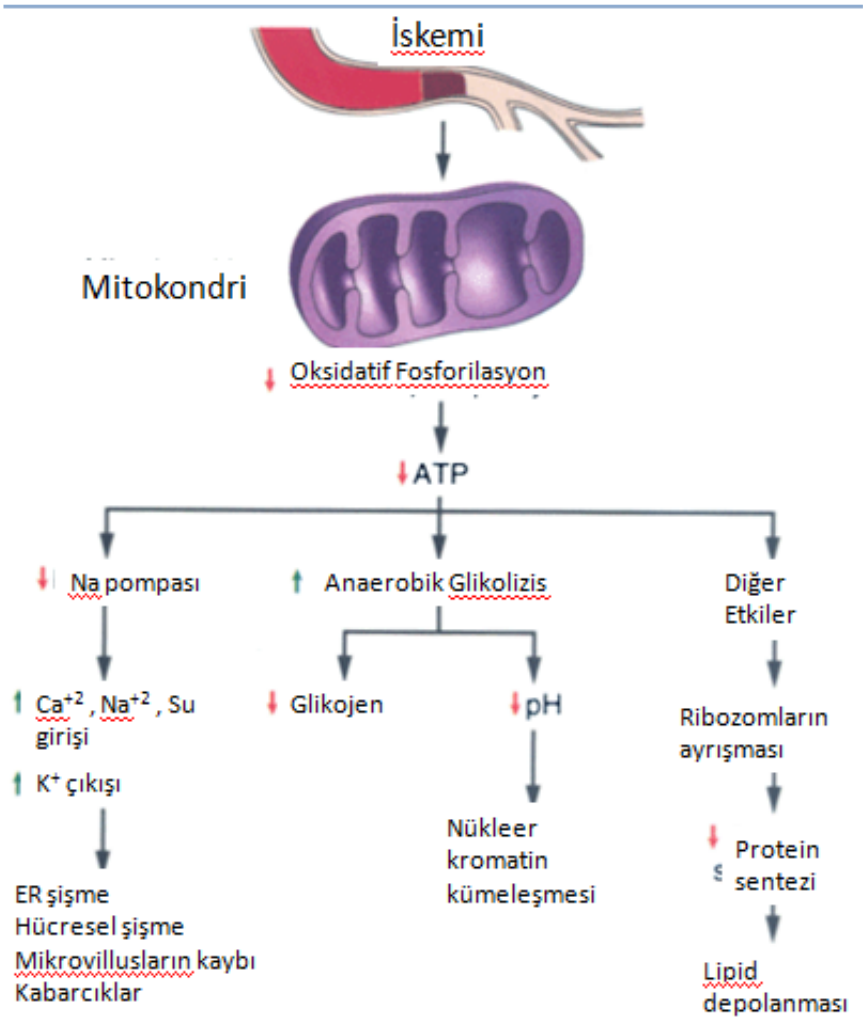
İskemi, bir organ ya da vasküler yatağa giden kan akımında belirgin bir düşüşü ifade eder. Uzun süreli olduğunda ise önemli doku hasarı ve hücre ölümüne sebep olabilir. Tedavisinde en önemli amaç perfüzyonun sağlanmasıyla kan akımının yeniden normal değerlere ulaşmasını sağlamaktır. Reperfüzyonun sağlanmasıyla dokulara giren oksijen miktarı artar ve bu durum paradoksal olarak doku hasarını hızlandırır. Çünkü ani oksijenlenme ile serbest radikaller oluşur ve oksidatif fosforilasyon meydana gelir. Bunlar klinikte tromboliz, embolektomi, by-pass cerrahisi, organ transplantasyonu, turnike uygulamaları, replantasyon, mikrovasküler serbest doku aktarımı gibi durumlarda görülür. İskemi-reperfüzyon hasarı vücutta bulunan bütün dokularda

oluşabilir. Fakat en sık olarak kan akımı en fazla olan beyin, karaciğer, kas ve deri bu hasardan etkilenir.

2.2.2. İ/R hasarının fizyopatolojisi

Hücresel fonksiyonların düzgün çalışabilmesi için gerekli temel yakıt oksijendir. Bir dokuda oksijen yetersizliği durumunda anaerobik metabolizma devreye girerek laktik asit ve inorganik fosfatların hücre içi birikimi artar. Kan akımının kesilmesinden sonra, dokunun canlı kalması ve enerji depolarının eşik seviyenin altına inmesine kadar geçen süre kritik iskemi süresidir. Bu süre aşıldığında doku perfüzyonu tekrar sağlansa bile doku hasarı kaçınılmazdır. Bu durumda hücre içi pH değeri düşer ve normal enzim metabolizması da durarak yüksek enerjili fosfat bağlarının yapımı azalır. Bu anaerobik metabolizma sürecinde ATP hipoksantine kadar yıkılır. Hipoksantin süperoksit anyonu üretiminde substrat olması nedeni ile önemlidir (16).

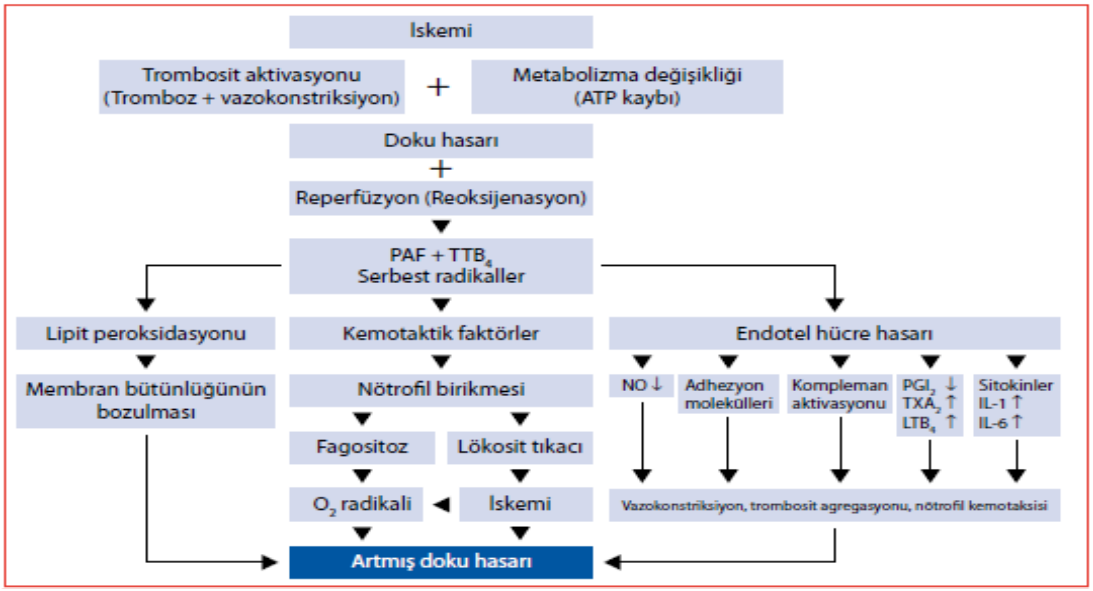
ATP'nin azalması membranda bulunan ATP bağımlı pompaların çalışmasını bozar. Bu durumda potasyum hücre dışına çıkarken, sodyum ve kalsiyum hücre içinde birikir. Yani bir iyon dengesizliği oluşur. Na^{++}'un hücre içinde artışı su artışına sebep olur ve akut hücresel şişme meydana gelir. Bu şişme, inorganik fosfat, laktik asit gibi metabolitlerin birikimi ile artan ozmotik yüke bağlı olarak daha da artar. Hücre içinde Ca^{++} artışının tek nedeni hücre dışından Ca^{++} girişi değil, aynı zamanda hücre içi stoklardaki (mitokondri ve endoplazmik retikulum) Ca^{++} un da serbest kalmasıdır (Şekil-3).



Şekil 3. İskemi ile beraber hücre içinde gelişen değişiklikler

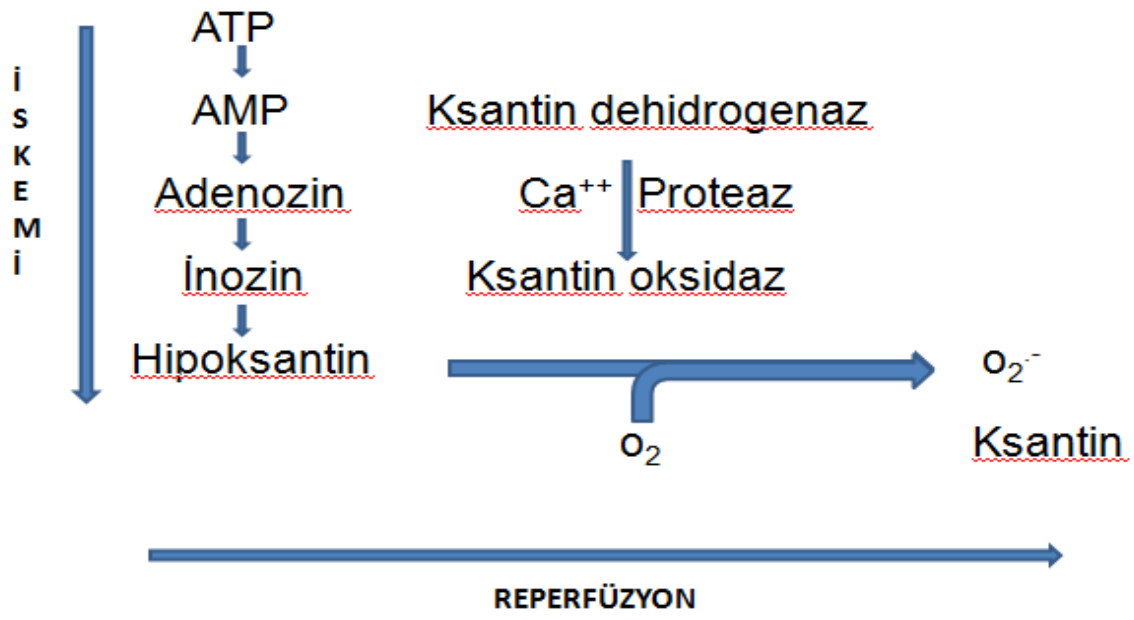
Artan sitoplazmik Ca^{++} bir takım enzim grubunu aktive eder. Bu enzimler; ATPazlar, endonükleazlar, fosfolipazlar ve proteazlardır. ATPazlar, ATP kaybını hızlandırırlar, endonükleazlar genetik materyali parçalarlar, fosfolipazlar membran fosfolipidlerini yıkarak membran hasarına yol açarlar ve proteazlar membran ile hücre iskeletinde bulunan proteinleri parçalarlar.

İskemi evresinde serbest oksijen radikali oluşumu için gerekli olan substrat (hipoksantin) ve enzim (ksantin oksidaz) sağlanmış olur. Hasarın geri dönüşümsüz hale gelme süresi, iskeminin şiddetine ve hücre tipine bağlıdır. Bu süre beyin hücreleri için birkaç dakika iken, kas hücreleri için 4-6 saat, deri hücreleri için ise 6-12 saattir (16,29,30). Bu süreler aşıldıktan sonra ortama tekrar kan akımı gelse dahi paradoksal olarak doku hasarı hızlanacaktır. Bu reperfüzyon hasarı olarak adlandırılır (31,32)(Şekil-4).



Şekil 4. iskemi-reperfüzyon hasarında yer alan olaylar dizisi

Reperfüzyon ile ortama gelen oksijen iskemi döneminde oluşan hipoksantin ve ksantin oksidazla reaksiyona girerek yan ürün olarak süperoksit anyonunu oluşturur (Şekil-5). Böylece hücre hasarında etkin rol oynayan serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar (16).



Şekil 5. Süperoksit serbest radikalinin oluşumu

2.2.3. Serbest oksijen radikalleri

Serbest radikaller, dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron içeren atom veya molekülleri tanımlar. Bu ortaklanmamış elektron söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırır. Bu nedenle serbest radikallerin ömürleri çok kısadır, ancak aktif yapıları nedeni ile tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilirler. Serbest radikallerin etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte en önemli etkilerinden biri lipid peroksidasyonu yoluyla hücre membranın hasarıdır (11). Serbest radikaller ayrıca yaygın yangısal hasar oluşturabilirler ve doku hasarına yardım eden çeşitli yangısal mediyatörleri çekebilirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşur (33). Önemli reaktif oksijen türleri aşağıda sıralanmıştır:

1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$): Tüm aerobik hücrelerde oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Reaktivitesi düşük olan süperoksit radikalinin asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olmasıdır.

2. Hidrojen peroksit (H_2O_2): Yapısında ortaklanmamış elektron içermediği için radikal özelliği taşımaz. Reaktif tür olarak bilinmesinin nedeni demir (Fe++) veya diğer geçiş metallerinin varlığında hidroksil radikaline dönüşmesidir. Süperoksit radikalinden farklı olarak biyolojik zarları kolayca geçebilme özelliğine sahiptir (34).

3. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot -}$): Reaktif oksijen türleri içerisinde bilinen en güçlü ve en reaktif olandır. Yarı ömrü çok kısadır ve bu nedenle oluştuğu yerde veya hemen yakınında etkisini gösterir (33,34). Ayrıca geçiş metallerinin, özellikle de demir ve bakır iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarını hızlandıran katalizör etkisi gördükleri saptanmıştır (35).

2.2.4. Serbest radikal kaynakları

Reaktif oksijen ürünleri aerobik canlılarda sürekli ancak, az miktarlarda üretilirler. Toksik etkilerden biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller sorumludur (36,37). Aşağıda serbest radikallerin başlıca kaynakları sıralanmıştır:

1. Fizyolojik oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları: Bu reaksiyonlar içinde en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zinciridir. Normal aerobik metabolizma sırasında %2'den daha az elektronun moleküler oksijene sızması ile süperoksit radikali oluşur. Normal şartlarda oluşan bu süperoksit radikali süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile nötralize edilir. SOD süperoksitin spesifik yakalayıcısı olan antioksidan bir enzimdir (38).

2. Polimorfonükleer lökositler (PMNL): Aktive nötrofiller bakterisidal görevleri nedeni ile serbest radikal üretirler. NADPH oksidaz aktivitesi ile süperoksit radikali, myeloperoksidaz aktivitesi ile hidrojen peroksit ve hipoklorik asit ($HOCl^-$), fenton reaksiyonu ile de hidroksil radikali oluştururlar. Radikaller yalnızca membran ile bakteri arasında oluşmasına rağmen, bir miktar ürün kaçışı olabilir (39).

3. Radyant enerji (ultraviyole, X ışını) absorbsiyonu: İyonize radyasyonun suyu hidroksil ve hidrojen ($H^{\cdot}$) radikallerine çevirmesi buna örnektir (29).

4. Ekzojen kimyasal maddelerin detoksifikasyonu: Örneğin kuru temizlemede kullanılan karbontetraklorür'ün (CCl_4) detoksifikasyonu esnasında triklorometil ($CCl_3^{\cdot}$) ve peroksil ($CCl_3O_2^{\cdot}$) serbest radikalleri oluşur (29).

5. Araşidonik asit metabolizması: Membran fosfolipidlerinden fosfolipazlar yoluyla açığa çıkan araşidonik asit lipooksijenaz ve siklooksijenaz olmak üzere 2 ana yol ile metabolize olur. Lipooksijenaz yolunda lökotrienler oluşurken, siklooksijenaz yolunda prostoglandinler ve tromboksan A_2 oluşur (38). Membran fosfolipidlerinin metabolizması esnasında oluşan ürünlerin respiratuar patlamayı aktive ederek serbest radikal oluşumunu tetiklediği gösterilmiştir (40).

6. Ksantin oksidaz yolu: Daha önce anlatıldığı üzere iskemi sırasında ksantin dehidrogenaz'dan oluşan ksantin oksidaz reperfüzyon ile gelen oksijen sayesinde hipoksantini ksantine çevirirken yan ürün olarak süperoksit radikali üretir.

İskeminin yol açtığı bu dönüşüm farklı organlarda farklı hızlarda gerçekleşir. Barsak ve karaciğerde dönüşüm çok kısa süreli iskemilerde bile görülürken, iskelet kası ve deride

daha uzun süreler gerektirir. Bu durum farklı organların İ/R hasarına yanıtlarının farklı olmasının diğer bir nedeni olabilir (41).

Ksantin oksidaz enziminin kapiller endotel hücrelerinde aynı dokudaki diğer hücrelere göre 100 kat fazla bulunduğu gösterilmiştir (42). Reperfüzyon ile gelen oksijenle ilk karşılaşan da yine endotel hücreleridir. Bu nedenle endotel hücrelerinin serbest radikal üretiminin ana merkezi olmaları muhtemeldir (43).

2.2.5. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikallerin etkilerini hücre içi ve hücre dışı etkiler şeklinde ikiye ayırabiliriz.

2.2.5.1. Hücre içi etkileri

Serbest radikaller membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar ile reaksiyona girerek hücrede ciddi hasarlara yol açarlar (44). Bu etkiler serbest radikallerin direkt sitotoksik etkileridir (16).

1. Lipidler Üzerine Etkileri

Membran lipidleri serbest radikal etkilerine karşı en hassas biyomoleküllerdir. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalin hidroksil radikali olduğu bilinmektedir (45).

Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Yağ adisi (LH) ile birleşen radikal bir dizi tepkimeyi başlatmaktadır (46). Serbest radikal membran yapısında bulunan yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomunu çıkarır ve bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali ($L^{\cdot}$) niteliği kazanır. Lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali ($LOO^{\cdot}$) oluşur. Lipid peroksit radikali membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipid hidroperoksite (LOOH) dönüşür. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Şekil-6).



Şekil 6. Lipid peroksidasyonu

Lipid hidroperoksitleri yıkıldığı zaman aldehitler oluşur. Bu aldehitlerin başında gelen malondialdehit lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sıkça kullanılmaktadır. Serbest radikal indikatörü olarak kabul edilir (45).

Lipid peroksidasyonu plazma ve organel membranlarının bozulmasına neden olur. Bu olay hücre yapısı ve fonksiyonlarını dramatik bir şekilde etkiler (47).

2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidleden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Ayrıca prolin ve lizin aminoasitleri de radikallere maruz kalınca hidroksilasyona uğrayabilir.

Proteinlerin serbest radikaller ile hasarlanması sonucunda, proteinlerin görev aldığı sinyal transdüksiyon mekanizmaları, transport sistemleri ve enzimleri içeren çeşitli hücresel fonksiyonlar da zarar görecektir (44,47).

3. Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller DNA'da mutasyonlara sebep olurlar. Bu da hücre ölümü ya da kanser gelişimi ile sonuçlanır (48).

4. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikaller monosakkaritlerin oksidasyonu ile hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitleri oluştururlar (37).

2.2.5.2. Hücre dışı etkileri

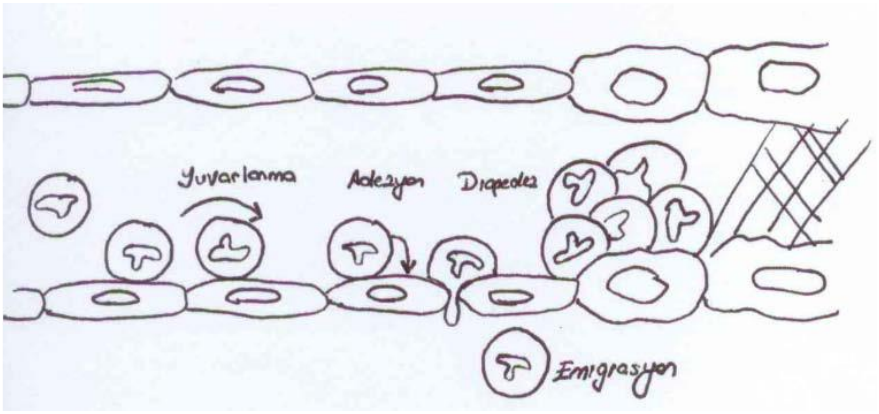
Serbest radikallerin hücre dışı etkileri nötrofiller üzerinden gerçekleşir. Radikallerin hücre içinde gerçekleştirdikleri direkt sitotoksik etkileri dışında kemotaktik etki ile ortama nötrofilleri çağırarak indirekt etkileri de söz konusudur (16). Reaktif oksijen radikalleri, aktive nötrofillerden de salınmaktadır ve iskemi-reperfüzyon hasarlanmasında bu salınımın önemli bir rolü bulunmaktadır. İskemik dokuların reperfüzyonu sırasında inflamatuvar mediatörler üretilmekte ve postkapiller venüllerde lökositlerin yuvarlanmasına, adhezyonuna ve göçüne sebep olunmaktadır (14).

Süperoksit radikali nötrofiller üzerinde yüksek kemotaktik etkiye sahiptir (49). İ/R hasarında nötrofiller için kemotaktik etki gösteren diğer ajanların başında kompleman 5a (C5a), araşidonik asit metabolitlerinden lökotrien B_4 (LTB_4), interlökin 8 (IL-8) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) gelir.

Kemotaktik etki ile aktive olan nötrofiller endotelle iletişime geçer. Nötrofil endotel etkileşimi İ/R'da damar ve doku hasarında pivot rol oynar (50). İntravital mikroskobi ile mikro dolaşımın gözlenmesi sonucunda olaylar dizisi aydınlatılmıştır.

Nötrofiller inflamasyon bölgesinde laminer akımı terk edip, damar periferine doğru göç ederler. Bu olay marjinasyon olarak adlandırılır. Ardından nötrofiller venüllerdeki endotelial yüzeyde geçici olarak yapışarak yuvarlanırlar. Bu olay yuvarlanma (rolling) olarak bilinir. Yuvarlanma olayında anahtar-kilit ilişkisi gösteren adezyon molekülleri görev almaktadır. Bu adezyon moleküllerinden nötrofil yüzeyinde bulunanlar L-selektin, endotel yüzeyinde bulunanlar ise E ve P-selektindir. Bu selektinler bazı şekerleri bağlayarak geçici ve gevşek adezyonu sağlarlar (45). Yuvarlanma olayının düzenlenmesinde bazı maddeler görev almaktadır. Başta serbest oksijen radikalleri olmak üzere erken inflamasyon döneminde salınan trombin ve histamin P-selektin ekspresyonunu arttırırken, IL-1 ve tümör nekrotizan faktör-α (TNF-α) L-selektin ve E-selektin ekspresyonunu arttırarak yuvarlanma olayını indüklemektedir (51). Serbest oksijen radikallerinin nötrofil yuvarlanmasını tetiklediği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (52).

Bu gevşek bağlanmanın ardından nötrofiller endotel yüzeyine sıkıca bağlanırlar. Bu durum adezyon olarak adlandırılır. Adezyondan nötrofil yüzeyinde bulunan integrinler (CD11/CD18) ve endotel yüzeyinde bulunan ve ligand görevi gören intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler adezyon molekülü (VCAM-1) sorumludur. Trombosit aktive edici faktör (PAF), $C5_a$ ve IL-8'in adezyonu başlatıcı etkisi vardır (16). Nötrofiller sıkı bağlanmayı takiben endotel hücreleri arasındaki bağlantılardan geçerler. Bu diapedez olarak adlandırılır. Ardından çevre dokulara göç ederler ki buda emigrasyon olarak bilinmektedir (Şekil-7).



Şekil 7. Nötrofillerin İ/R hasarındaki rolleri

Nötrofillerin endotele sıkıca yapışmaları sonucunda ürettikleri serbest radikaller, proteazlar ve diğer toksik ürünler aracılığı ile endotele zarar verirler. Böylece mikrovasküler dolaşım bütünlüğü bozulur, ödem artar, hemoraji ve tromboz gelişir (16). Ayrıca nötrofillerin damar duvarına yapışıp damar içinde birikmeleri mikro dolaşımda oklüzyonlara neden olur. Bu kapiller tıkaçlar reperfüzyonla gelen kan akımını keser. Bu durum "no-reflow" fenomeni olarak adlandırılır. Sonuç olarak nötrofiller doku hasarında aktif rol oynarlar (53).

2.2.6. Antioksidan savunma sistemleri

Organizmada fizyolojik ya da patolojik yollarla sürekli serbest radikal oluşmaktadır. Bu serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinir. Antioksidanlar endojen ya da ekzojen kaynaklı olabilirler (37).

2.2.6.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar enzim ve enzim olmayanlar şeklinde ikiye ayrılır:

1. Enzim olan endojen antioksidanlar:

a- Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. İ/R hasarına uğrayan fleplerde enzimin seviyesinin, kullanımına bağlı olarak düştüğü gösterilmiştir (54).

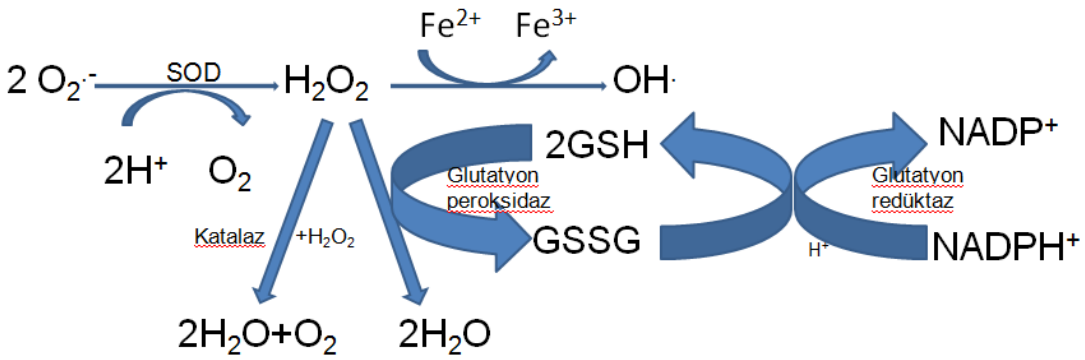
b- Glutatyon peroksidaz (GSH-Px): Hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Membanı peroksidasyona karşı korur.

c- Glutatyon redüktaz: Hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize ederler.

d- Glutatyon S-transferaz (GST): Lipid peroksitlerinin indirgenmesinden sorumludur.

e- Katalaz (CAT): Hidrojen peroksiti suya ve oksijene parçalar.

f- Mitokondriyal sitokrom oksidaz: Solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksiti detoksifiye eder (Şekil-8).



Şekil 8. Enzim olan endojen antioksidanların reaksiyonları

2. Enzim olmayan endojen antioksidanlar:

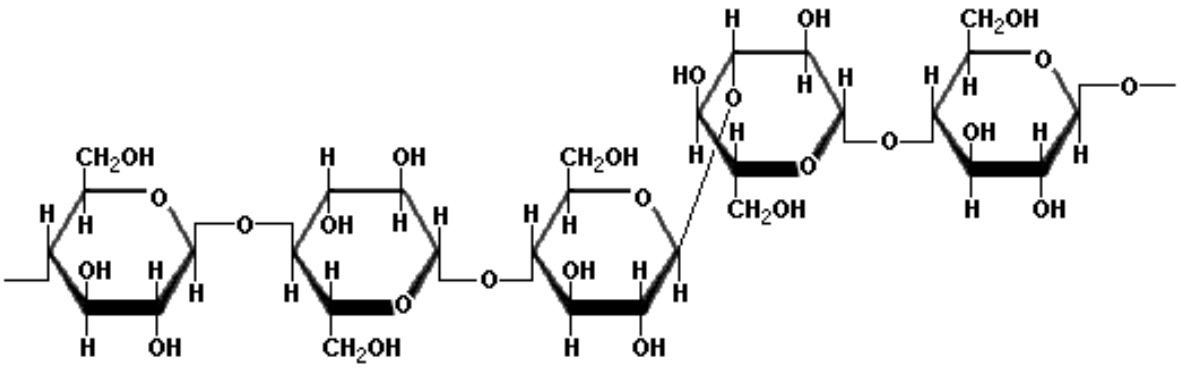
Melatonin, serüloplazmin, transferin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilurubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin ve albumindir (37).

2.2.6.2. Ekzojen antioksidanlar

E vitamini, C vitamini, karotenoidler, folik asit, ibuprofen flavonoidler ve çeşitli ilaçlar ekzojen antioksidanlardır. Antioksidan ilaçlara örnek olarak allopürinol (ksantin oksidaz inhibitörüdür), rekombinant süperoksit dismutaz, deferoksamin (demir şelatörüdür, serbest radikal süpürücü etkisi vardır) verilebilir (37,55,56).

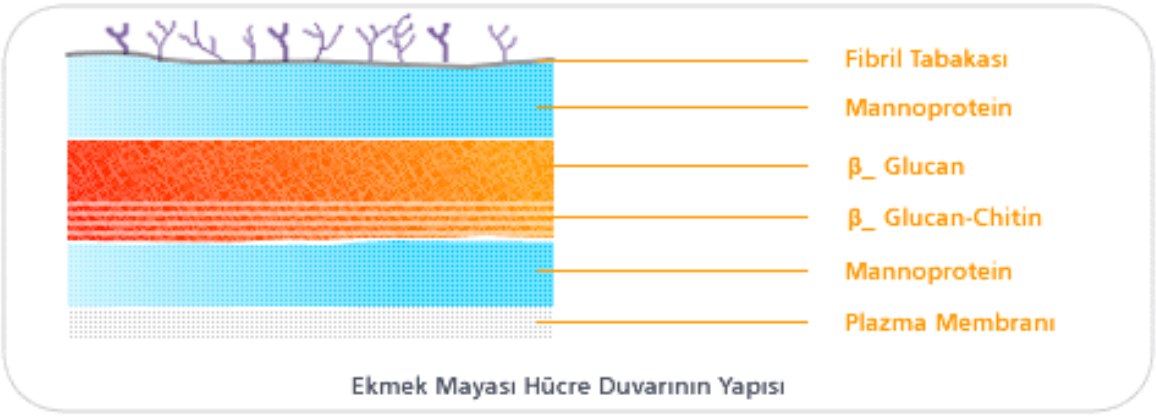
2.3. β-glukan

β-glukan, ekmek mayasında, tahılda ve mantarlarda bulunan, hücre duvarının yapısında yer alan bir polisakkarittir (57) (Şekil-9). Doğal mayada ve mantarlarda temel olarak β-1,3 glukan veya β-1,6 glukan olarak bulunur. β-glukan makrofaj/monosit hücre serilerinin potent aktivatörüdür ve retiküloendotelyal sistemde pek çok stimülator etkiden sorumlu olduğu gösterilmiştir (58).



Şekil 9. β-glukanın moleküler yapısı

Ticari olarak kullanılan β-glukan ekstresi genellikle ekmek mayasından yani "*Saccharomyces* cerevisiae*"* ' den elde edilir (Şekil-10).



Şekil 10: Ekmek mayası hücre duvarının yapısı

Dr. Nicolas Di Luzio tarafından 1960 yılında tanımlanan β-glukanın, molekül dizilişindeki farklılıklar etkinliğini belirleyen faktörlerden biridir. 1980'li yılların sonlarında bu materyalin makrofajların yüzeyinde var olan spesifik reseptörlere etki ettiği, makrofajlarda β-glukan reseptörleri olduğu ve bu reseptörlere bağlanmanın makrofaj aktivasyonuna yol açtığı bildirilmiştir (59,60) (Şekil-11). Kaynak ve izole edilme tipine göre β-glukanların yapısı değişmektedir. Biyolojik aktivitelerinde solubilite, primer yapı, molekül ağırlığı ve dallanma gibi farklı fizikokimyasal parametreler rol oynar (61). Değişik tip β-glukanlardan aktivitesi en yüksek olanı, ekmek mayası (Saccharomyces cerevisiae) hücre duvarından izole edilenidir (62). Özellikle 1,3 ve 1,6 glikozidik bağlı formları, biyolojik yanıt düzenleyicileri ve immunmodülatör olarak aktivite gösterirler (63). β-glukanlarla ilgili ilk çalışmalarda bileşiğin oral yolla uygulandığında alveolar makrofaj fonksiyonunun arttığı gözlenmiştir. Bu aktivasyon oral yolla alınan β-glukanın mide-bağırsak sisteminden absorbe olarak makrofaj, nötrofil ve doğal öldürücü hücrelerde bulunan reseptörlere bağlanmasıyla açıklanmıştır. Absorbsiyonun yanısıra bağırsaklarda Peyer plağı denilen bölgelerden alınıp, sitokinlerin salınımını arttırması yoluyla da immun sistemin aktivasyonunda rol almaktadır (64,65).

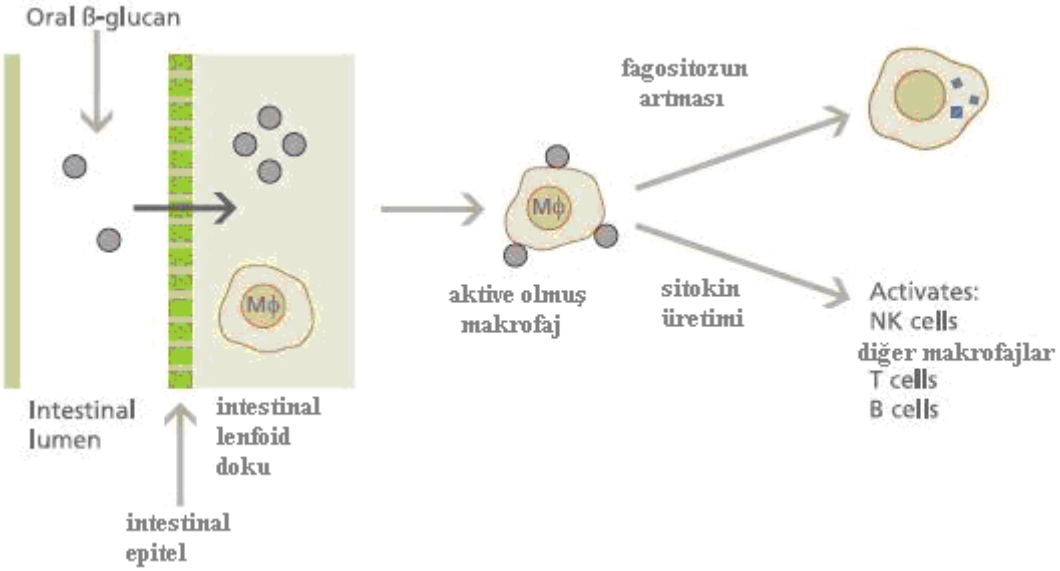


Şekil 11. Makrofajlarda, β-glukanları tanıyan ve onlara bağlanan reseptörler

β-glukanların asıl etkileri makrofaj aktivasyonuyla olmaktadır. İn vivo ve in vitro çalışmalar, β-glukanların fagositoz, lizozomal enzim aktivitesi ve makrofaj aktivasyonunu indüklediğini göstermiştir (66). Li ve ark.(67), kanser tedavisinde anti-tümör ilaçların yanında β –glukan verildiğinde, tümör gelişiminin baskılandığını saptamışlar, bu durumun bileşiğin nötrofillerdeki CR3 reseptörüne bağlanması ve fagositozu aktive etmesiyle ilgili olduğu sonucuna varmışlardır. Son yıllarda β-glukanların faydalı etkileri, immun fonksiyon modülasyonu, antioksidan ve diğer non spesifik etkilerine bağlanmaktadır (68). Ratlarla yapılan bir başka çalışmada da Bayrak ve ark. (69) böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oral yolla β-glukan kullanmışlar ve bileşiğin verildiği grupta, oksidan maddelerin azaldığını, antioksidan enzimlerin arttığını açıklamışlardır. β-glukanla ilgili bir diğer çalışmada ise Chen ve ark. (70) diyabetin tedavisi ve kardiyovasküler komplikasyonlarının önlenmesinde faydalı olduğunu, bağırsaklarda vizkoziteyi arttırarak glikoz konsantrasyonunu düşürdüğünü, böylece hiperglisemi, hipertansiyon ve hiperlipidemiyi önlediğini bildirmişlerdir. İzole hücreler veya hayvanlarla yapılan çalışmalar, β-glukanların temel immunofarmakolojik aktivitelerinin, konakçının viral, bakteriyel, fungal ve parazitik enfeksiyonlarına karşı direncinin arttırılması, antitümör etki, karsinojenezden korunma, immun sistemi güçlendirme, retiküloendotelyal sistemin fagositik ve proliferatif aktivitesinin arttırılması şeklinde olduğunu göstermektedir (71).

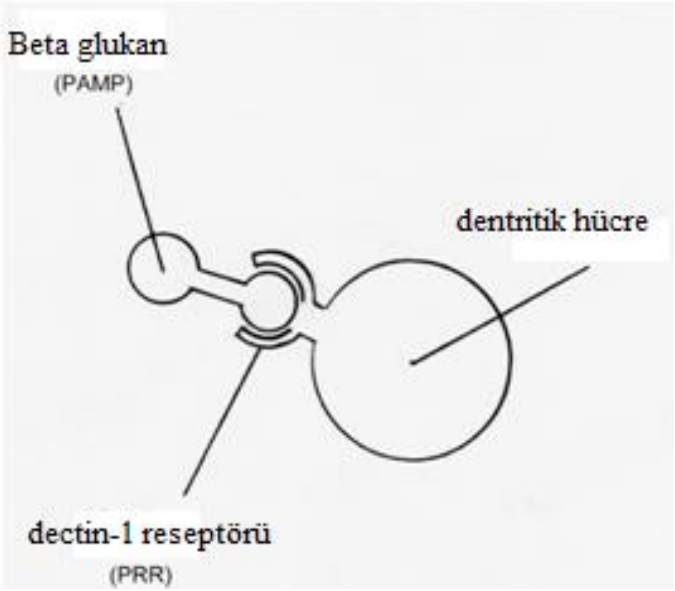
2.3.1. β-glukanın etki mekanizması

β-glukan dışarıdan vücuda daha çok oral yolla alınan bir madde olup mide asidine dirençlidir. Bu nedenle mideden formasyona uğramadan geçer. Oral uygulanım sonrası β-glukan 30 dk içerisinde ileumdan absorbe olmaktadır. Ayrıca barsak duvarında bulunan makrofajlar β-glukan partiküllerini özgün reseptörleriyle tutarlar ve hemen aktive olurlar (72) (Şekil-12).



Şekil 12. Barsak duvarından β-glukanların makrofajlar tarafından tutulması ve aktive olan makrofajın diğer hücreleri uyarması

β-glukanların en yaygın etkileri, fagositozun artması ve fagositlerin (granülosit, monosit, makrofaj ve dentritik hücreler) çoğalma aktiviteleridir. B-glukanlar nötrofiller, makrofajlar, dentritik hücreler, dogal öldürücü hücreler ve T hücreler üzerindeki PRR (pattern-recognation reseptor)'lerini tanır ve baglanır (Şekil-13). Bu PRR'ler dektin-1, sınıf A süpürücü reseptörler (73), komplement reseptör 3 (CR3) (74), Toll benzeri reseptör-2 (TLR-2) ve laktosilseramid dir. Epiteliyal hücreler, vasküler endoteliyal hücreler, fibroblastlar ve ön hipofiz hücreleri gibi immün sistem dısındaki hücreler üzerinde de β-glukanlar için reseptörler belirlenmistir. Bu yüzden β-glukan reseptörleri vücutta genis bir yayılım gösterir.



Şekil 13. Dentritik hücrelerdeki Dectin-1 reseptörü ile β-glukanın bağlanması

β-glukanların hücresel aktivite üzerindeki etkisinin başlaması için gerekli olan ilk basamak hücre membranı üzerine lokalize olmuş reseptörler tarafından β-glukan polimerlerinin tanınmasıdır (75). Yapılan çalışmalarda bazı (1,3) β-glukan polimerlerinin nötrofil, NK makrofajlar üzerindeki kompleman reseptör 3 (CR3)'e bağlanmakta olduğu ortaya konulmuştur (76). CR3 sitotoksisite ve fagositoz için bir reseptör olmasının yanında lökosit diyapedizinden sorumlu bir adezyon molekülü olarak da görev yapmaktadır. CR3 komplemanla ya da opsonin antikor ile opsonize olmuş mikroorganizmalara; ayrıca hücre dışı matriks yapılarına (fibronektin, fibrin, laminin); endotel hücre yüzeyinde bulunan ICAM-1 adezyon molekülüne ve bazı mikroorganizmaların hücre yüzey yapılarına opsonizasyon olmaksızın bağlanmaktadır (77). Aynı zamnda bu reseptör, β- glukan polimerlerinin kandan temizlenmesi için de görev yapmaktadır. Küçük molekül ağırlıklı β-glukan bağlandığı CR3 ile birlikte kandan glomerular filtrasyon ile hızlı bir şekilde temizlenir. Daha büyük moleküler ağırlıklı β-glukan polimerlerinin ise karaciğerde metabolize olduğu bilinmektedir ve bunun β-glukanın etkinliğinde önemli olduğu düşünülmektedir.

Farlılaşmamış, CR3 taşımayan promonositler üzerinden de spesifik β-glukan reseptörleri gösterilmiştir. B-glukan bağlayan promonosit reseptörleri (dectin-1, süpürücü reseptör, laktosilseramid) immunregulasyon için hücre içi ileti yolağını

aktifler ve proinflamatuar transkripsiyonel aktivatör proteinlerin artışına neden olurlar (72,77).

Lökosit üzerinde bulunan glikosifingolipid yapıdaki laktosilseramid reseptörlerinin β-glukan ile hücresel düzeyde bağlandığı gösterilmiştir (72). Reseptörün çalışma mekanizmasına tam olarak bir açıklık getirilemese de bilinen aktivitesinin β- glukan ile birleşimi sonrası NF-kB sinyal yolağını aktive etmesi olduğu gösterilmiştir (78). Bu uyarımın sonunda nötrofil oksidatif mekanizmaların aktivasyonu ve antimikrobiyal fonksiyonlarda artış gerçekleşir (79). Bu reseptörlerin yanında β-glukan polimerlerinin hücresel düzeyde tanınmasında Dectin-1, süpürücü reseptörler ve toll-like reseptörlerden 2 ve 6'nın da görevli olduğu düşünülmektedir (77). Bu reseptörlerin özellikle (1-3) zincir üzerine (1-6) dallanma yapan β-glukan polimerlerinin tanınmasında oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Dectin-1 reseptörünün özellikle monosit, makrofaj ve nötrofiller üzerinde bulunduğu gösterilmiştir (77,78).

Dectin-1 reseptörü β-glukan ile bağlanma sonucunda aktive olarak fagositoz, endositoz ve hücre içi oksidatif mekanizmaları da içeren hücresel faaliyetleri artırmaktadır (80,81).

Organizmada birçok hücre üzerinde gösterilmeye çalışılan β-glukan reseptörleri özellikle doğal immun cevapta rol oynayan hücreler üzerinde bulunmaktadır. Bu hücrelerde fagositik, sitotoksik ve antimikrobiyal aktiviteleri arttırmaktadır (75). Ayrıca β-glukanların makrofaj fonksiyonlarını artırarak immun defansı kuvvetlendirdiği saptnmıştır (82).

β-glukanlar hücre yüzey reseptörlerinde up-regulasyona neden olarak antijene spesifik T hücre cevabının uyarılması için gereken ikincil sinyalin oluşumunu kolaylaştırmaktadırlar. Ayrıca β-glukanlar hücrelerin antijen sunum kabiliyetini artırarak malign hücrelere karşı gelişen T-hücre aracılı immun yanıtın da gelişmesine neden olurlar (83).

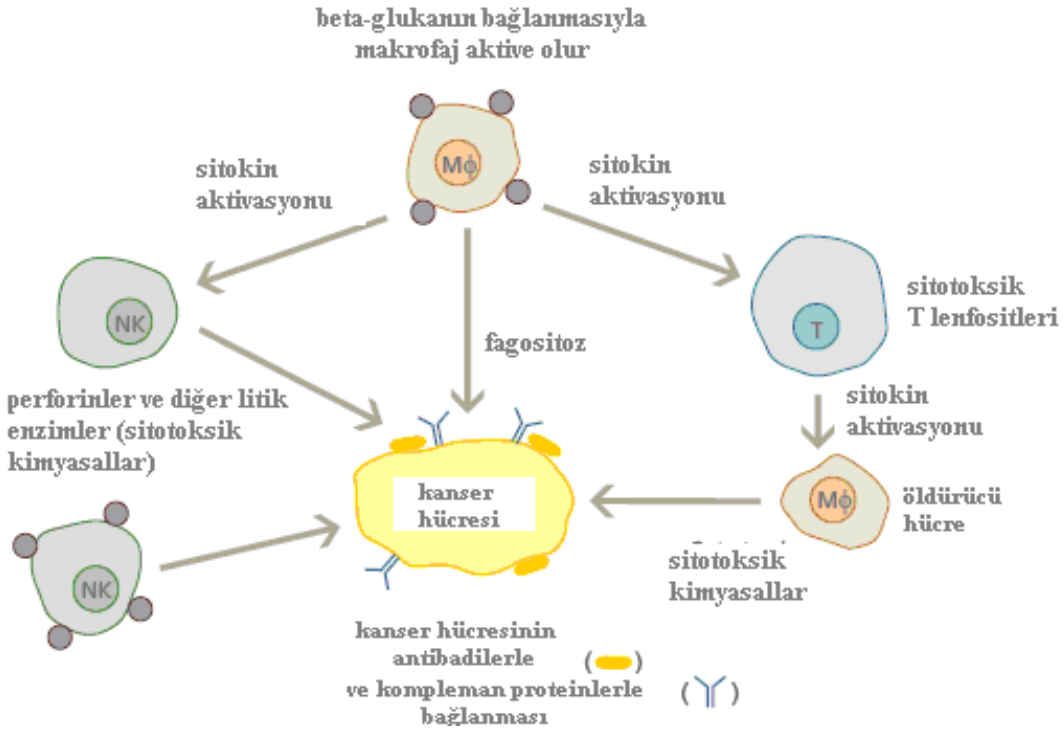
2.3.2. β-glukanın biyolojik aktiviteleri

2.3.2.1. İmmun sistem regülasyonu

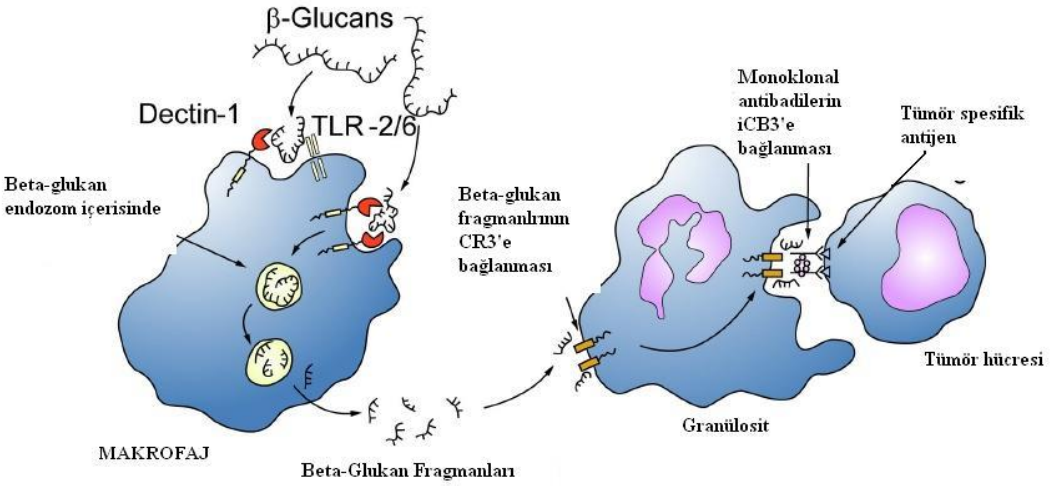
β-glukanın en önemli aktivitesi, immun sistemi düzenlemesidir. Çünkü diğer etkileri de bu aktivitesine bağlıdır. İmmunoregülatör aktivitesi, makrofaj fagositozunu sağlayan sitokinlerin makrofajlardan salınımını uyarma ya da engelleme yeteneğiyle ilişkilidir (84,85). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, β-glukanın monositleri çekerek, sitokinlerin salınımı için makrofajlara bağlandığını ve makrofajları aktive ettiğini göstermiştir. β-glukanın sitokin üretimi üzerine olan etkilerinin, β-glukan reseptörlerinin çapraz bağlanmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (84). Fagositlerde, β-1,3 glukanı tanıyan ve bağlanabilen yüzey reseptörlerinin bulunduğu saptanmıştır. Bu reseptörlerin β-glukanın spesifik yapılarına bağlanarak immunostimülant olarak görev yaptığı ilgili çalışmalarda ortaya konulmuştur (84,85). Merkezi sinir sisteminde β-glukanlar, mikroglia hücrelerini aktive ederler. Bu hücreler, beyin hücre süpürücüleri olarak hareket eden ve Alzheimer, AIDS ve çoklu sklerozis de pozitif rol oynarlar.

2.3.2.2. Kanserle ilişkili aktiviteleri

β-glukan, immunmodülatör etkinliğine bağlı olarak, kanser hücrelerinin büyümesi ve tümör gelişimi üzerine de etkilidir (84). Farelerle yapılan bir çalışma β-glukanın lökositler üzerinde bulunan CR3 reseptörüne etki ederek, fagositleri uyarması sonucu tümörün % 57-90 oranında geri çevrilmesini sağladığını ortaya koymuştur (86). Kanser sağaltımı üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda, fagositozu ve doğal öldürücü hücreleri aktive ettiği ve interferon salınımıyla anti-tümör etki gösterdiği bildirilmiştir (84) (Şekil-14,15).



Şekil 14. β-glukan ile aktive olan makrofajın anti-tümör mekanizması



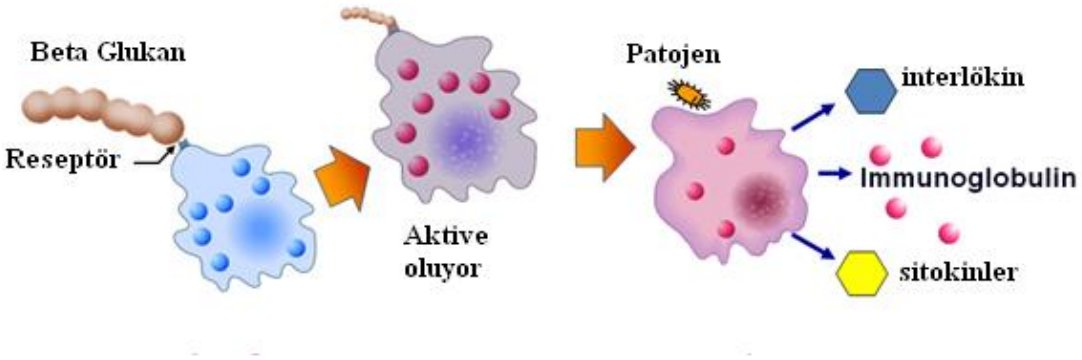
Şekil 15: β-glukanın, makrofajın CR3 reseptörlerine bağlanarak tümör hücresine karşı fagositoz özelliğini geliştirmesi.

Suzuki ve ark.(69)'larının farelerde yaptığı bir çalışmada tümör hücrelerinin akciğer metastazının, β-glukanın enjekte edildiği veya oral olarak verildiği grupta engellendiğini saptamışlardır. Ayrıca farelere enjekte edilen β-glukanın, kemoterapiye

yanıtı arttığını bildirmişlerdir ve kimyasal olarak uyarılmış farelerin karaciğerlerindeki sarkoma ve melanomalarda yapılan klinik gözlemler ve deneyler β-glukanların antitümör ve antimetastatik etkilerini açığa çıkarmıştır.

2.3.2.3. Patojen ilişkili aktiviteleri

Yapılan çalışmalar β-glukanın, çeşitli viral, bakteriyal, paraziter ve fungal hastalıklara karşı direnç arttırdığını göstermiştir (71,87) (Şekil-16).



Şekil 16. β-glukan ile aktive olan fagositik hücrelerin bakterosidal etki mekanizması

Farelerle yapılan bazı çalışmalarda, enjekte edilen β-glukanın, travma ya da radyasyona bağlı immunsupresyonu takiben oluşabilecek bakteriyal infeksiyonu önlemeye yardımcı olduğu bildirilmiştir (83). Jung ve ark.(87) domuzlarda grip virusu üzerine β-glukanın potansiyel antiviral etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında, β-glukanla tedavi edilen grupta akciğer lezyonlarının azaldığını ve grip virusunun yayılım oranının düştüğünü, bu sonuçlara dayanarak bileşiğin profilaktik ve tedavi amacıyla influenza virusuna bağlı enfeksiyonlarda kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Werner ve ark.(88) invaziv mantar enfeksiyonlarının özellikle de Aspergillus fumigatus'un bağışıklığı bastırması doğrultusunda yaptıkları araştırmalarında, β-glukanın Aspergillus fumigatus'la enfekte farelerde Dectin-1 reseptörüne bağlanarak akciğer savunma hücrelerini aktive ettiğini, Dectin-1 reseptöründen yoksun farelerde ise % 80 oranında ölüm görüldüğünü bildirmişlerdir. β-glukanın invitro olarak konakçı hücrede hücresel stimülasyonu ve/veya bakterilerin makrofajlar tarafından içine alınmasını artırarak mycobacterium tuberculosis'in çoğalmasını engellediği tespit edilmiştir (89). Şener ve

arkadaşlarının ratlarda sepsis oluşturarak yaptıkları bir çalışmada β-glukanın TNF-alfa seviyelerini düşürdüğü ve oksidatif organ hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir (90). Antibiyotiğe resistan bakterilerle enfekte ratlarda yapılan bir çalışmada, profilaktik olarak β-glukan verildiğinde antibiyotiğin etkisinin arttığı ve bakterinin kandan temizlendiği gösterilmiş (91). Jung ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise β-glukan, Saccharomyces cerevisiae enfeksiyonuna karşı interferon gama ve nitrik oksit seviyelerini yükselterek antiviral etki göstermiştir (87).

β-glukan nötrofillerin ve makrofajların bakterisidal aktivitelerini artırarak ratlarda invivo "*E.* coli" ve "*Staphylococcus* aureus" a karşı antibiyotik tedavisinin faydasını artırır. Ayrıca kronik hepatit B enfeksiyonlarında hem hücresel hem de hümoral immun cevabı modüle ettiği de tespit edilmiştir (92).

2.3.2.4. Diğer biyolojik aktiviteleri

Günümüzde β-glukanın, destekleyici sağaltım niteliğinde etkinliği olduğu yapılan çalışmalarda ortaya koyulmuştur. Bu çalışmalardan birisi, maya türevli β-glukanın besin eki olarak verilmesinin kan kolesterolünü düşürücü etki gösterdiğini ortaya koymuştur (70). Ayrıca ilgili çalışmalarda, diyabet hastalarında kan glikozunu, karbonhidratların mide ve bağırsakta emilim oranını azaltarak düşürdüğü açıklanmıştır (93-96). Steroid kullanımının bozduğu yara iyileşmesinde β-glukan kullanımının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, glukanın epitelizasyonu arttırdığı, yara kontraksiyonunu arttırdığı ve hidroksiprolein seviyelerini yükselttiği görülmüş. Ayrıca bu etkinin sistemik kullanımda daha da fazla olduğu görülmüştür (97). Diyabetik ratlarda yara iyileşmesi ile ilgili bir çalışmada β-glukan verilen grupta hidroksiprolein seviyesinin arttığı, makrofaj akumülasyonunun arttığı ve buna bağlı olarak da neoangiogenezisin ve fibroblast aktivitesinin artmış olduğu görülmüştür (98). Burgelata da yapmış olduğu çalışmada β-glukanın total makrofaj seviyesini arttırdığını göstermiş(99). Makrofajlarda glukan için reseptör bulunması yara iyileşmesindeki etkisinin nedenini göstermektedir (100,101).

Fibroblastlarda glukan için reseptör olduğu ve bu yolla fibroblastları direk modüle ediyor olması nedeniyle glukan yara iyileşmesi sırasında fibroblastları aktive ederek tip-1 ve tip-3 kollojen üretimini de arttırmaktadır, yara gerim kuvvetindeki artış da buna bağlanmaktadır (102-104). Duo Wei ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise

β-glukanın fibroblastlarda NF-1 aktivitesini arttırarak etki ettiği ve bu yolla kollojen sentezini arttırdığını göstermişler. Ayrıca β-glukan prokollojen mRNA seviyesini ve tip-1 ve tip-3 kollojen seviyelerini de arttırdığı bu çalışmada da görülmüş (105). Adams ve arkadaşlarını yapmış olduğu çalışmalar da bu sinyal yolağını desteklemektedir (106,107).

β-1,3-glukanın radyasyonun neden olduğu zararlı etkilerden koruyucu etkisi 1985'de Patchen ve MacVittie tarafından gösterilmiştir. Çalışmada Patchen ve MacVittie radyasyona maruz bırakılmış farelerde, β-glukanın etkinliğini araştırmışlar ve kullanılan grupta β-glukanın hematokrit değerlerinde, periferik beyaz kan hücrelerinde ve trombosit sayılarında artış olduğunu saptamışlardır (108). Daha da önemlisi endojen hemopoetik kök hücre sayılarını arttırdığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Yeunhwa ve arkadaşları radyasyon verilen farelerde β-glukanın etkinliğini araştırmışlar. β-glukan verilen grupta farelerin daha uzun yaşadığı Natural Killer aktivitesinin arttığı ve kontrol gurubuna göre epidermoid karsinom gelişme ihtimalinin anlamlı bir şekilde azalttığı görülmüş (109). β-glukanın koroner by-pass sonrası kardiyoprotektif etkisinin olduğu(110), başka bir çalışmada ise lipopolisakkaritin indükleidiği şok ve organ hasarında β-glukanın indirek olarak kan basıncını artırarak myokard ve düz kaslarda perfüzyonu artırdığı gösterilmiş(111).

2.3.3. Antioksidan özelliği

β-glukanla yapılan deneysel çalışmalar, etkin bir serbest radikal süpürücüsü olduğunu ortaya koymuştur. Serbest radikallerin yaşlanmayı hızlandırması, kanser gibi çeşitli hastalıklara neden olması ve dejeneratif etkileri ile ilgili olarak, hücresel bütünlüğü sağlaması bakımından β-glukanın antioksidan etkinliği büyük önem taşımaktadır (68,95,112-116).

2.3.4. β-glukanın dozu

FDA tarafından GRAS (genel olarak emniyetli) kategorisinde kabul edilen β-glukanın, doz aralığı günlük 40 mg-3000 mg olarak belirtilmiştir. Vücut ağırlık esasına göre günlük sağlıklı dozajı 2-6 mg/kg olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda günlük ek besin

olarak alındığında çoğunlukla kullanılan doz aralığı 40-500 mg'dır. Tedavi amacıyla kullanıldığında 3000 mg'a kadar çıkılabilmektedir (72).

2.3.5. β-glukanın yan etkileri

β-glukanlar immün sistem stimülatörü ve biyolojik cevap değiştirici olarak bilinen bir ilaç sınıfı içerisinde gruplandırılırlar (117). Ayrıca β-glukan FDA'ya göre zararsız olarak kabul edilir ve hiçbir toksik veya yan etkisi yoktur (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

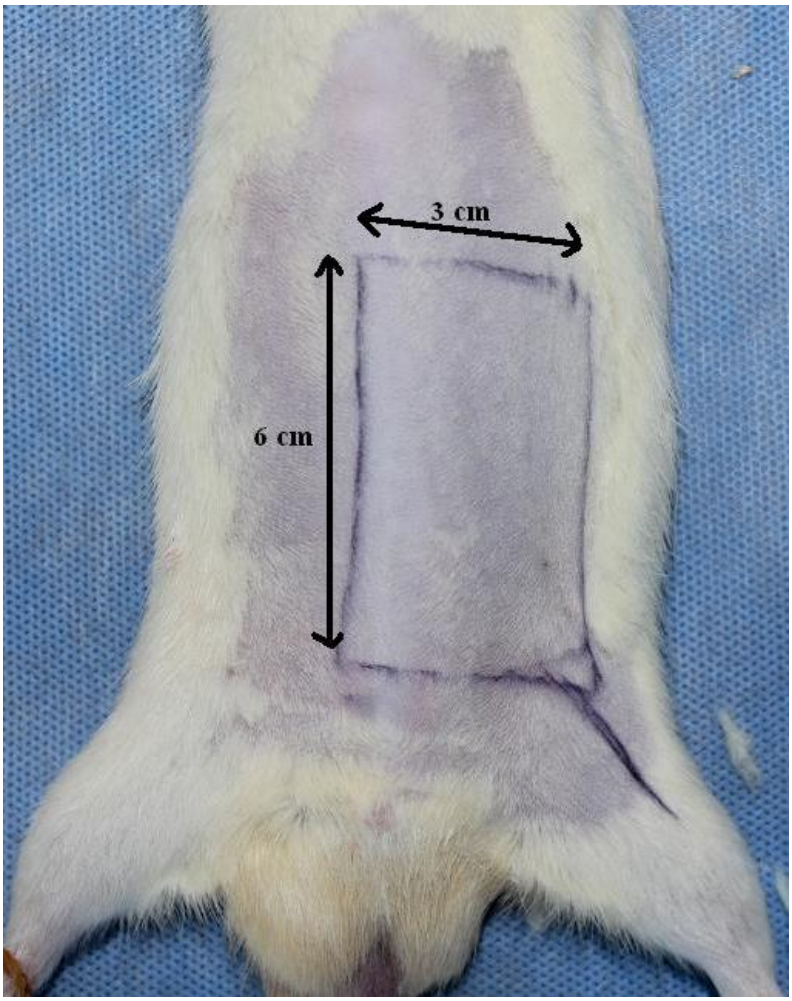
Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul Başkanlığından 13/56 karar nolu yerel etik kurul onayı alınarak yapıldı(Proje no: TTU-2014-5199). Denekler etik kurul onayında belirtilen şartlara uygun olarak Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesindeki Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik araştırma merkezinden elde edildi Çalışmada 30 adet, 300-350 gr ağırlığında, Wistar Albino tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar standart kafeslerde tek olarak barındırıldı. Ratlar %18-20 protein içeren pellet rat yemi ve su ile beslendi. Çalışma süresince, oda ısısı ortalama 20-24 °C'de tutuldu. Laboratuar ışıklandırması 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde ayarlandı. Odanın nem derecesi % 45±10 düzeyinde sabit tutuldu.

3.1. Deney planı

Ratlar randomizasyon listesine göre seçilerek her bir grup 10 ratdan oluşacak şekilde üç grup oluşturuldu. Ratların hepsine aşağıda ayrıntıları verilecek olan epigastrik flep yapıldı. Grup I herhangi bir İ/R ve ilaç uygulaması yapılmayan grup (sham grubu), grup II İ/R ve 1cc intra peritoneal izotonik uygulanan grup (İ/R, kontrol grubu), grup III İ/R ve 50 mg/kg β-glukan (Imuneks 50 mg kapsül M.N. ilaç Sanayi-Türkiye) oral gavaj uygulanan grup (İ/R, imuneks), şeklinde planlandı. Ratlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür enjeksiyonu ile genel anestezi verildi. Tüm ratların abdominal bölgeleri, tıraşlandıktan sonra %10'luk povidon iyodin solüsyonu ile antisepsi kurallarına uygun şekilde temizlendi. Operasyon aynı cerrah tarafından steril koşullarda gerçekleştirildi.

3.2. Flep modeli ve cerrahi yöntem

Anestezi sonrasında rat supin pozisyonda tespit edildi. Petry ve Wortham'ın tariflediği şekilde üst sınırını ksifoid, alt sınırını pubis, medial sınırını orta hat, lateral sınırını ise arka aksiller çizgi oluşturacak şekilde 6x3 cm'lik flep planı çizildi (118) **(Şekil-17)** ve bistüri ile insizyon sonrası mikro makas ve mikro penset yardımıyla karın duvarı kaslarının üzerinden pannikulus karnosus'u da dahil ederek diseke edildi.



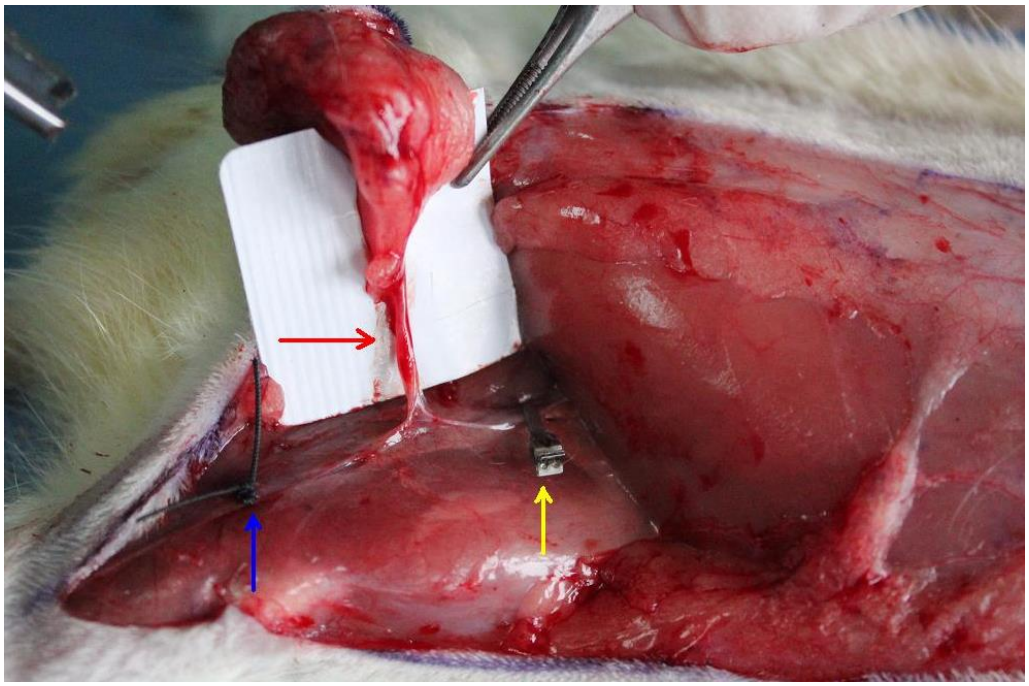
Şekil 17: Flep modeli

Flep içinde dağılan damarlar ve pedikül flebin alt yüzünde görüldü, pedikül ve lateralde yağlı doku içindeki dallarının yaralanması engellendi. Kontrollü şekilde inferior epigastrik arter iskeletize edildi ve flep sadece vasküler pedikülüne bağlı kalacak şekilde eleve edildi. **(Şekil-18)**.



Şekil 18: Flep pedikülünün diseke edilmesi

Pedikülün distalindeki femoral arter ve ven bağlandı, pedikülün proksimalindeki femoral damarlar ise Accland (kod:56.85.08 Medicon) tekli mikro klemp (ortalama basınç degeri 25-30 gr) ile klemplenerek arteryel-venöz akım bloke edildi **(Şekil-19).**



Şekil 19: Flep diseksiyonunda damarların gösterilmesi. Kırmızı ok ile gösterilen İnferior epigastrik arter, sarı ok ile gösterilen klemplenen proksimal femoral damar, mavi ok ile gösterilen distalde bağlanan femoral damar

Flep 3/0 yuvarlak iğneli ipek dikislerle yerine dikildikten sonra üzeri pansumanla kapatıldı **(Şekil-20).**



Şekil 20: Flebin yerine sutüre edilmesi

Post operatif 8. saatte denekler intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür ile tekrardan uyutulup alt sınırının sütürleri alındı. Alt sınırdan açılan pencereden girilip mikroklempler alındı**.** Flep pedikülü eksplore edilip distale kan akımının geçişi kontrol edildikten sonra yara dudakları 3/0 ipek ile basit primer sütüre edildi. Sakrifikasyon ise ratlara yüksek doz barbitürat (150 mg/kg pentobarbital) enjeksiyonu uygulanması ile doku biyopsileri alındıktan sonra yapıldı.

3.3. Deney protokolü ve deneklerin gruplandırılması

Grup I (Sham grubu):

Bu gruptaki 10 ratta 6x3 cm inferior epigastrik arter flebi kaldırıldıktan sonra vasküler pedikül klemplenmedi. Flep 3/0 ipekle yerine sütüre edildi, 8'inci saat 0,2cc normal salin intra peritoneal verildi. 12 saat reperfüzyonu takiben flep lateral kısmından beş adet biyopsi alındı. Doku örnekleri histopatolojik çalışma için formaldehit

solüsyonunda, biyokimyasal çalısma için ise -80 °C de saklandı. Flep kaldırıldıktan 7 gün sonra yaşayan flep alanı ve nekroz alanlarının ölçümü, fotoğraf çekilerek AutoCAD programı yardımı ile hesaplandı.

Grup II (İ/R, Kontrol grubu):

Bu gruptaki 10 rata cerrahi işlem öncesi 10 gün boyunca 1cc izotonik gavaj olarak verildi. On birinci günde 6x3 cm inferior epigastrik arter flebi kaldırıldıktan sonra pedikül korunarak femoral artere mikro klemp yerleştirilerek total iskemi yapıldı. Flep 3/0 ipekle yerine sütüre edildi, 8 saat sonra klemp açılarak reperfüzyon yapıldı; 12 saat reperfüzyonu takiben doku biyopsileri alındı. Doku örnekleri histopatolojik çalışma için formaldehit solüsyonunda, biyokimyasal çalısma için ise -80 °C de saklandı. Flep kaldırıldıktan 7 gün sonra yaşayan flep alanı ve nekroz alanlarının ölçümü, fotoğraf çekilerek AutoCAD programı yardımı ile hesaplandı.

Grup III (İ/R, β-glukan grubu):

Bu gruptaki 10 rata cerrahi işlem öncesi 10 gün boyunca 50mg/kg β-glukan gavaj olarak verildi. On birinci günde 6x3 cm inferior epigastrik arter flebi kaldırıldıktan sonra pedikül korunarak femorl artere mikro klemp yerleştirilerek total iskemi yapıldı. Flep 3/0 ipekle yerine sütüre edildi, 8 saat iskemiden sonra klemp açılarak reperfüzyon yapıldı; 12 saat reperfüzyonu takiben doku biyopsileri alındı. Doku örnekleri histopatolojik çalışma için formaldehit solüsyonunda, biyokimyasal çalısma için ise -80 °C de saklandı. Flep kaldırıldıktan 7 gün sonra yaşayan flep alanı ve nekroz alanlarının ölçümü, fotoğraf çekilerek AutoCAD programı yardımı ile hesaplandı.

Tablo 1. Gruplara uygulanan işlemler

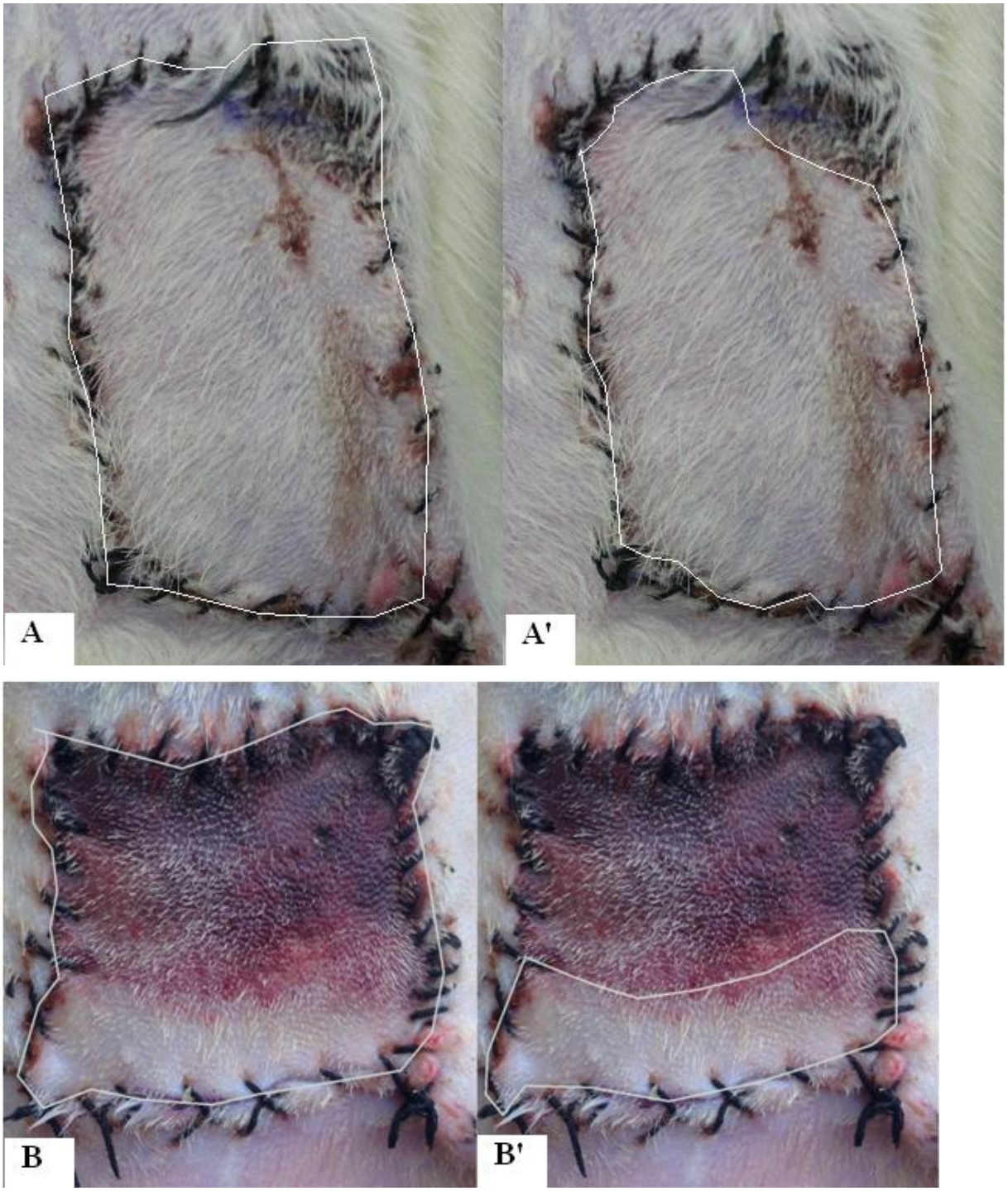
	Grup-1	**Grup-2**	**Grup-3**
Flep elevasyonu	+	+	+
İskemi (8 saat)	-	+	+
Tedav i	-	1cc izotonik	50mg/kg β-glukan
Biyopsi alımı (Post-op 1.gün)	+	+	+
Flep canlılığı	+	+	+

3.4. Değerlendirmeler

Deneklerin değerlendirmesi; klinik ve yüzey alanı (topografik) değerlendirmesi, histopatolojik değerlendirme, biyokimyasal değerlendirme ve istatiksel değerlendirme olmak üzere 4 aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Flep canlılığının topografik değerlendirilmesi

Fleplerin durumları günlük olarak takip edildi. Her üç gruptaki deneklerde yara yeri enfeksiyonu saptanmadı. Gruplarda rat kaybı gerçekleşmedi. Kontrol ve tedavi grubunda değişen boyutlarda postoperatif 3. günde flep distalinde renk değişikliği ve solukluk saptandı. Postoperatif 5. günde renk değişikliği olan flep bölgelerinde nekroz gelişimi oluştu ve demarkasyon hatları belirginleşmeye başladı. Post operatif 7. günde dijital fotoğraf makinesi ile görüntüleme yapılarak yaşayan flep kısımları ve fleplerde oturmuş olan nekroz alanları AutoCAD (AutoCAD Autodesk 2013 SP2 Build 204 32x64 Bit) programı yardımı ile hesaplandı. AutoCAD ile seçili alanın ölçümü pixel değeri olarak saptandı. Ardından yaşayan flep bölümü serbest çizim fonksiyonu ile belirlendi. Aynı basamaklar bu alan için de uygulandı ve böylece yaşayan flep alanı da pixel değeri olarak hesaplandı. Ardından yaşayan flep alanı tüm flep alanına bölünüp 100 ile çarpılarak yaşayan flep yüzdesi hesaplandı **(Şekil-21).**



Şekil 21: Tedavi (A,A') ve kontrol (B,B') gruplarında nekroz oranlarının ölçümü. Şekil A,B tedavi ile kontrol gruplarında total flep alanlarının; şekil A',B' tedavi ile kontrol gruplarında yaşayan flep alanlarının AutoCAD programı yardımı ile hesaplanması.

3.4.2. Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme için alınan doku biyopsi örnekleri oda ısısında, %10'luk formalin solüsyonu içerisinde 72 saat tespit edildi. Tespit edilen dokular standart doku takip yönteminden geçirilerek hazırlanan parafin bloklardan mikrotomla lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Her denekten alınan 10 adet seri kesit histopatolojik inceleme ve nötrofil sayımı için Hematoksilen Eozin boyası ile boyanmıştır. Nötrofil sayımı ve damar çapları beş farklı sahadaki değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı.

3.4.3. Biyokimyasal değerlendirme

Rat deri dokuları %10 (w/v) olacak şekilde pH 7.4 fosfat tamponu içinde homojenizatörle homojenize edildi. Enzim aktivite kaybı olmaması için kar dolu küvete homojenize edilen cam tüpler yerleştirildi. Homojenatlar 13.000 g'de 2dakika santrifüj edildi ve süpernatanttan; TBARS Assay Kit (Cayman Chemical Item Number 10009055) ile MDA, Rat Myeloperoxidase, MPO ELISA Kit (Cloud-Clone Corp. SEA601Ra) ile MPO, Superoxide Dismutase Assay Kit (Item No. 706002) ile SOD ve Glutathione Peroxidase Assay Kit (Item No. 703102) ile GPx tayini yapıldı.

3.4.4. İstatiksel değerlendirme

Veriler IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ve Q-Q grafikleri ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren parametreler One Way Analysis of Variance (ANOVA) ile, göstermeyen veriler ise Kruskal-Wallis analizi ile değerlendirildi. Bu testlerde gruplar arasında farklılık olduğunun belirlendiği durumlarda, hangi gruplara arasında fark olduğunu belirlemek için de; normal dağılan parametreler için Holm-Sidak testi, normal dağılmayan parametreler için de Student-Newman-Keuls ve Dunn testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler Ort±SD değerleri olarak verildi. Sayısal değişkenler arası ilişkiler Spearman Korelasyon Analizi ile değerlendirildi. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

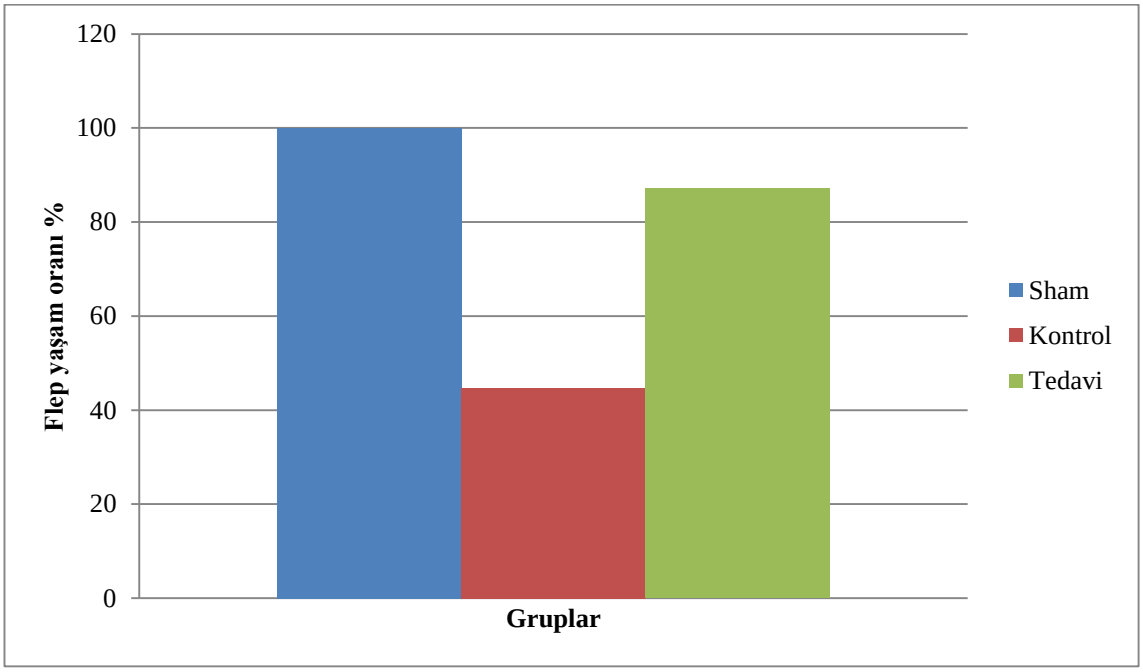
4.1. Flep canlılığının topografik ölçülmesi

Post operatif 7. günde dijital fotoğraf makinesi ile görüntüleme yapılarak yaşayan flep kısımları ve fleplerde oturmuş olan nekroz alanları AutoCAD programı yardımı ile hesaplandı. Sham grubunda (n=10), canlılık oranları **%100±0**, Kontrol grubunda (İ/R grubu, n=10) canlılık oranları **%44,7± 9,8**, Tedavi grubunda (İ/R+β–glukan, n=10) canlılık oranları **%87,1± 5,6** olarak bulundu(Tablo-2).

Tablo 2. Gruplarda Canlı Alan Yüzdeleri (%)

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:10)**	**Tedavi Grubu (n:10)**
1	100	55	87
2	100	39	95,8
3	100	42	88
4	100	58	78
5	100	37	82,8
6	100	33	80
7	100	55	87
8	100	37	89
9	100	36	90
10	100	55	94
Ort±SD	**100±0** [a]	**44,7± 9,8** [b]	**87,1± 5,6** [c]
([a,b,c]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			

Yaşayan flep oranlarının yapılan istatistiksel değerlendirmesinde 3 grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur **(p<0.001**). Gruplar arasındaki farkın saptanması amacı ile yapılan istatistiksel değerlendirmede İ/R ve İ/R+β–glukan grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır **(p<0.05) (Şekil-22).**



Şekil 22: Gruplarda ortalama flep canlılık yüzdesi

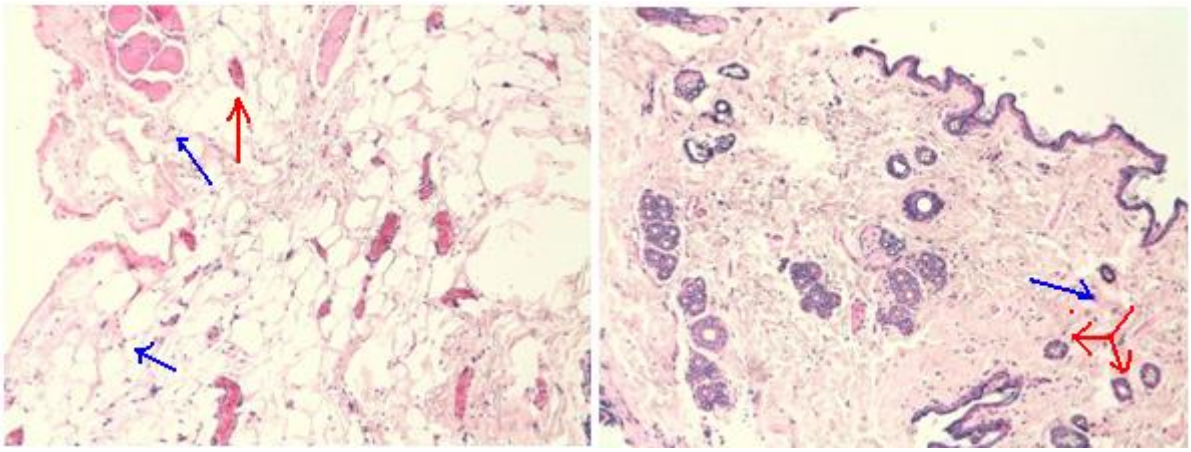
Her gruba ait postoperatif 7. günde çekilen fotoğraflarda flep canlılık oranlarının birer örneği Şekil 23 'te görülmektedir.



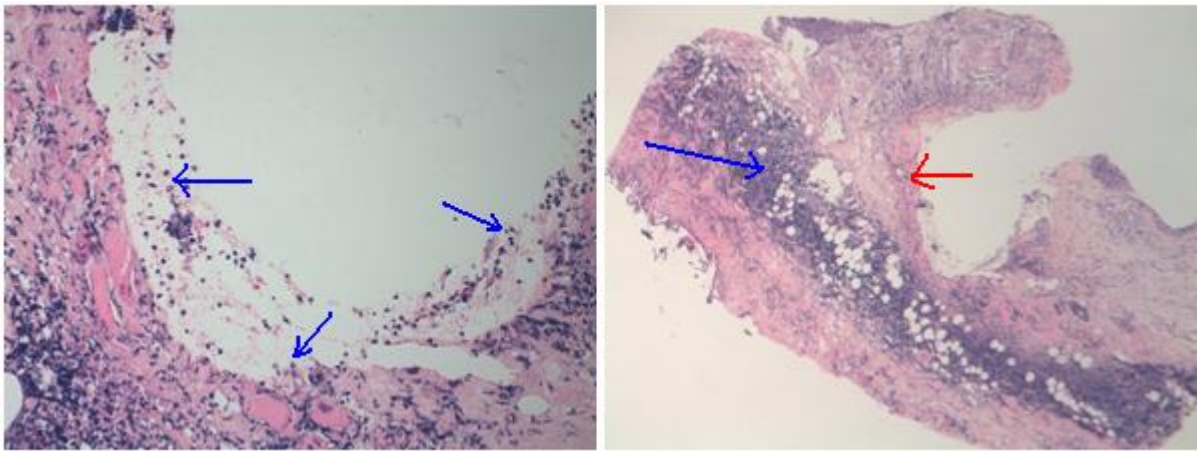
Şekil 23: Gruplara ait flep yaşam oranı örnekleri.

4.2. Histopatolojik bulgular

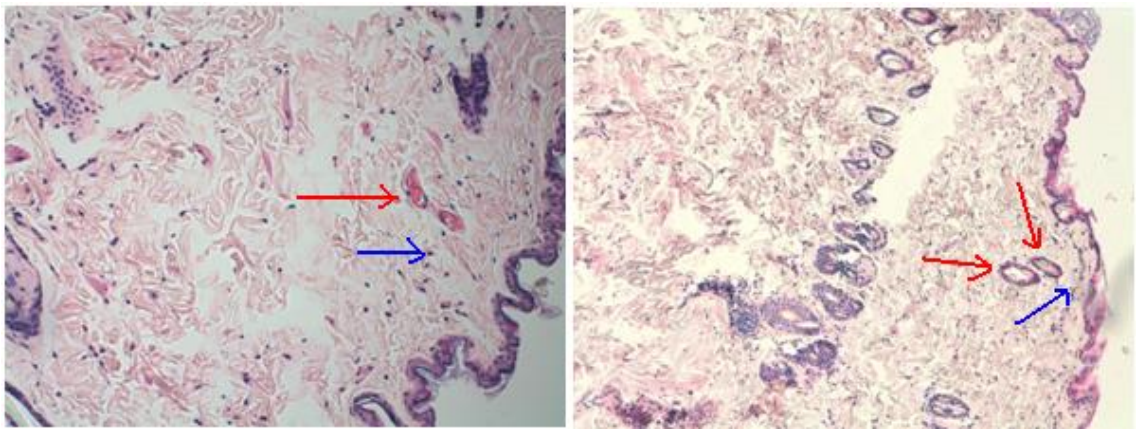
Hematoksilen eozinle (H&E) boyanmış kesitlerde 100'lük büyütmede nötrofil infiltrasyonu ve damar çapı bulguları değerlendirildi. Beş farklı alanda ölçülen değerlerin ortalaması alındı. Genel olarak iskemi reperfüzyon yapılmayan sham grubunda nötrofil infiltrasyonunun az olduğu ve damar çaplarının normal olduğu görüldü (Şekil 24). İ/R grubunda nötrofil infiltrasyonunun yaygın olduğu aşırı enflamasyon dikkat çekerken (Şekil 25), tedavi grubunda nötrofil infiltrasyonunun çok daha az olduğu ve damar çaplarının sham grubuna yakın büyüklükte olduğu görüldü (Şekil 26).



Şekil 24: Sham grubunda nötrofil infiltrasyonu ve damar çapları. Farklı 2 kesitte mavi ok ile nötrofiller ve kırmızı ok ile normal yapıda damar yapıları görünmekte.



Şekil 25**:** Kontrol grubunda nötrofil infiltrasyonu ve damar çapları. Farklı 2 kesitte mavi ok ile yaygın nötrofi infiltrasyonu ve kırmızı ok ile azalmış damar yapıları görünmekte.



Şekil 26: Tedavi grubunda nötrofil infiltrasyonu ve damar çapları. Farklı 2 kesitte mavi ok ile azalmış nötrofi infiltrasyonu ve kırmızı ok ile azalmış damar yapıları görünmekte.

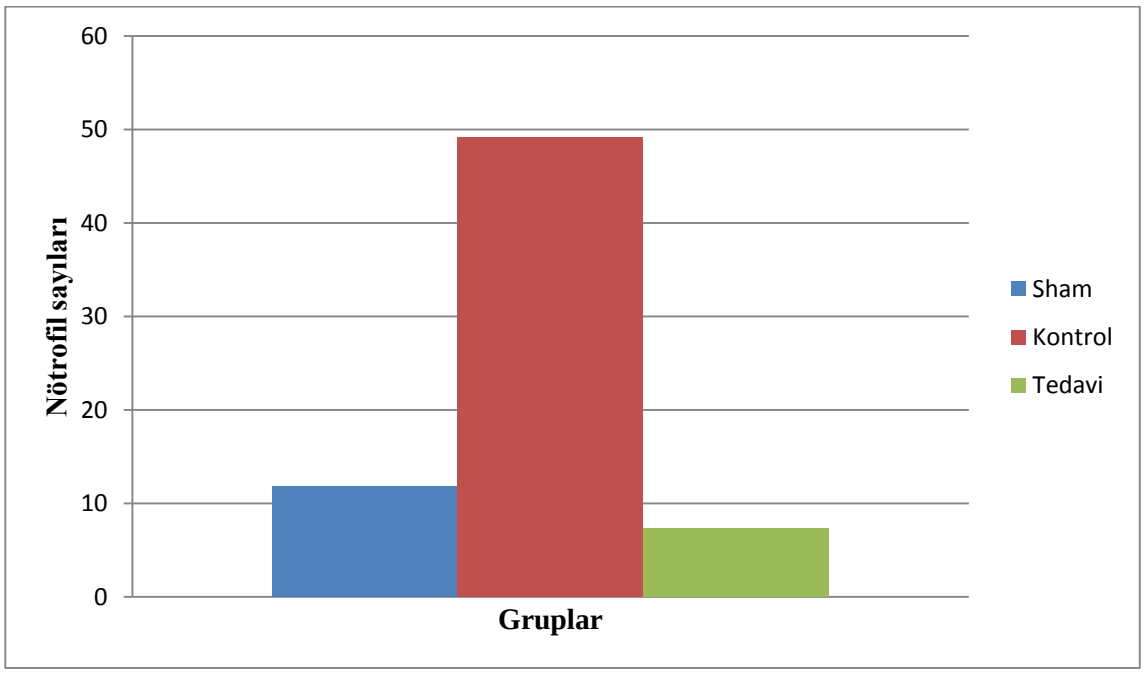
4.2.1. Nötrofil sayımı

Hematoksilen Eozin boyası ile boyanan preparatlarda nötrofil sayımı 100'lük büyütme ile yapıldı ve beş farklı alanda ölçülen değerlerin ortalaması alındı. Bu sonuçlara göre grupların ortalama nötrofil sayısı; Sham grubunda **11,8±2,9**, Kontrol grubunda **49,1± 14,5**, Tedavi grubunda **7,3± 3,0** olarak bulundu (Tablo-3).

Tablo 3. Gruplardaki nötrofil sayıları

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:10)**	**Tedavi Grubu (n:10)**
1	7	33	8
2	12	55	4
3	15	45	6
4	16	28	12
5	10	57	10
6	11	70	11
7	8	35	9
8	12	61	5
9	15	65	4
10	12	42	4
Ort±SD	**11,8±2,9** [a]	**49,1± 14,5** [b]	**7,3± 3,0** [a]
([a,b]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; nötrofil sayısı, kontrol grubunda sham grubuna ve tedavi grubuna göre anlamlı derecede yüksek seviyede bulundu**(p<0,001)**. Tedavi ve sham grubu arasında ise fark bulunmadı **(p>0,05)** (Şekil-27).



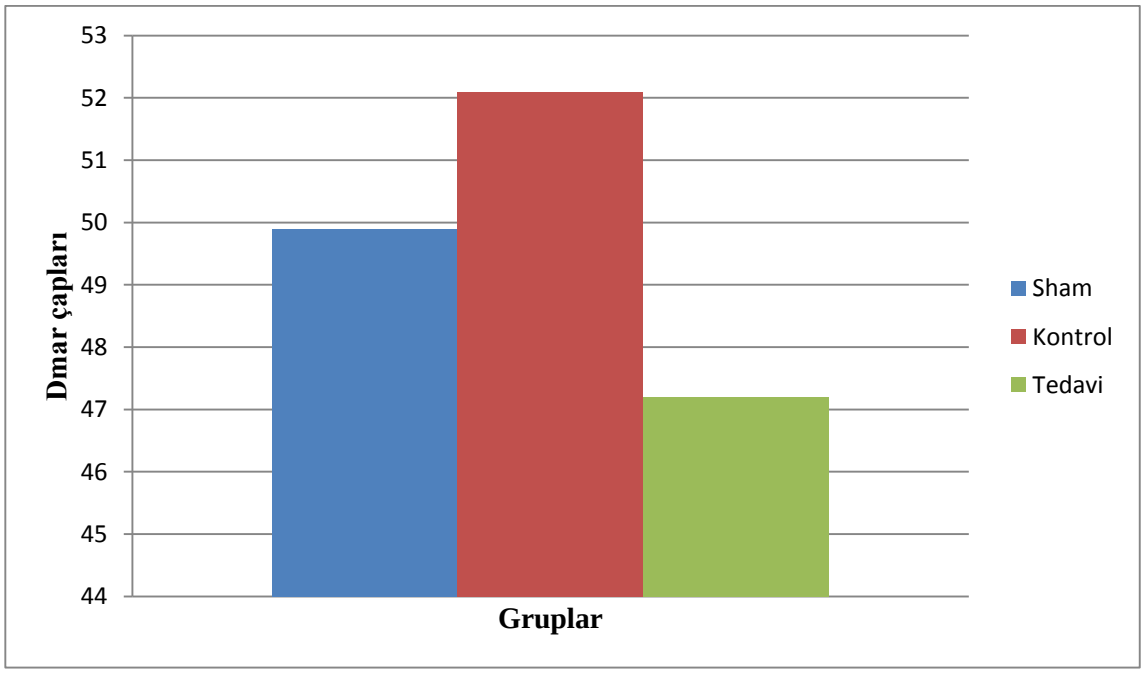
Şekil 27: Gruplardaki ortalama nötrofil sayıları

4.2.2. Damar çapı ölçümü

Damar çapları 200'lük büyütme ile beş farklı sahada bakıldı, mikron olarak ölçüm yapıldı. Ölçülen damarların ortalama değeri alındı. Bu sonuçlara göre gruplardaki ortalama damar çapları; Sham grubunda **49,9±7,4** µ, Kontrol grubunda **52,1±6,5** µ, Tedavi grubunda **47,2±7,3** µ olarak bulundu (Tablo-4). Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında bu değerler arasında anlamlı bir fark bulunamadı(P = 0,145) (Şekil-28).

Tablo 4. Grupların Damar Çapları(µ)

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:10)**	**Tedavi Grubu (n:10)**
1	42	45	48
2	50	56	36
3	58	50	45
4	61	40	60
5	37	52	50
6	47	61	54
7	53	46	47
8	50	57	45
9	56	63	42
10	45	55	48
Ort±SD	**49,9±7,4** [a]	**52,1±6,5** [a]	**47,2±7,3** [a]
([a]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			



Şekil 28. Grupların ortalama damar çapları(µ)

4.3. Biyokimyasal bulgular

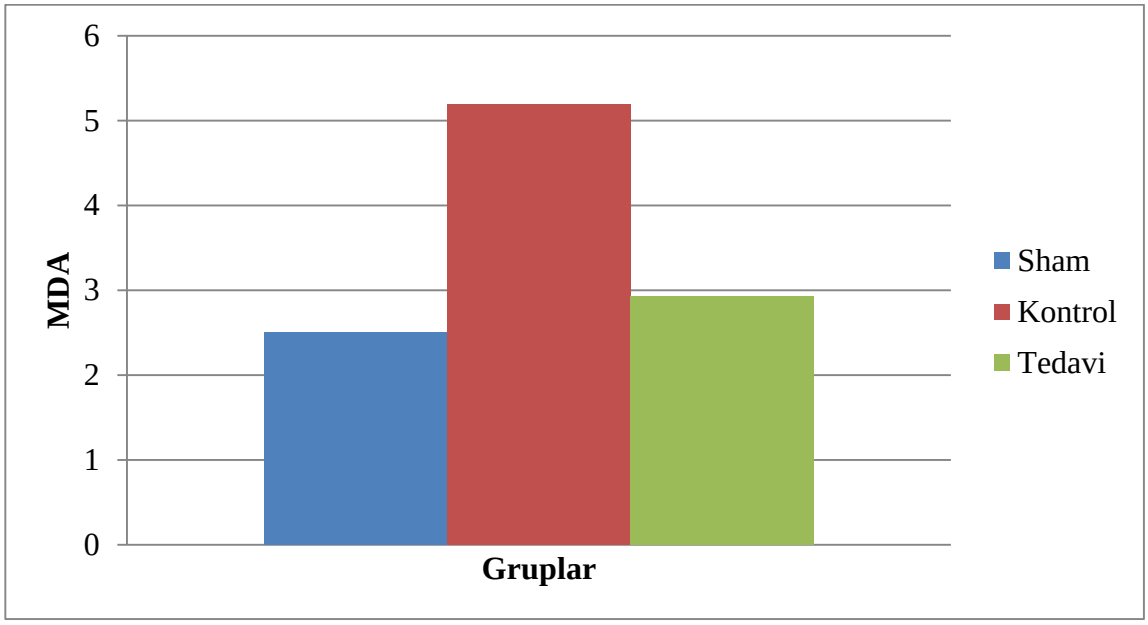
4.3.1. Malondialdehit (MDA) düzeyi

Ortalama MDA düzeyleri; Sham grubunda **2,51±1,63** nmol/mg protein, Kontrol grubunda **5.19±2,44** nmol/mg protein, Tedavi grubunda **2,93±0,94** nmol/mg protein olarak bulundu(Tablo-5). Kontrol grubunda ve tedavi grubunda ikişer örnek incelemeye uygun olmadığından değerlendirmeye alınmamıştır.

Tablo 5. Grupların MDA değerleri (µM/mg protein)

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:8)**	**Tedavi Grubu (n:8)**
1	0,80	-	3,47
2	1,86	4,88	2,04
3	5,02	3,34	3,00
4	5,81	-	4,09
5	1,93	5,55	3,03
6	2,79	9,26	4,12
7	1,03	2,03	-
8	1,92	5,70	-
9	1,99	7,78	2,03
10	1,97	3,04	1,67
Ort±SD	**2,51±1,63** [a]	**5.19±2,44** [b]	**2,93±0,94** [a]
([a,b]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, tedavi ve kontrol grupları**(p=0.025)** ile sham ve kontrol grupları**(p=0.017)** arasında anlamlı fark saptanırken, tedavi ve sham grupları arasında anlamlı fark saptanmadı**(p=0,05)** (Şekil-29).



Şekil 29: Gruplarda ortalama Malondialdehit düzeyleri (µM/mg protein)

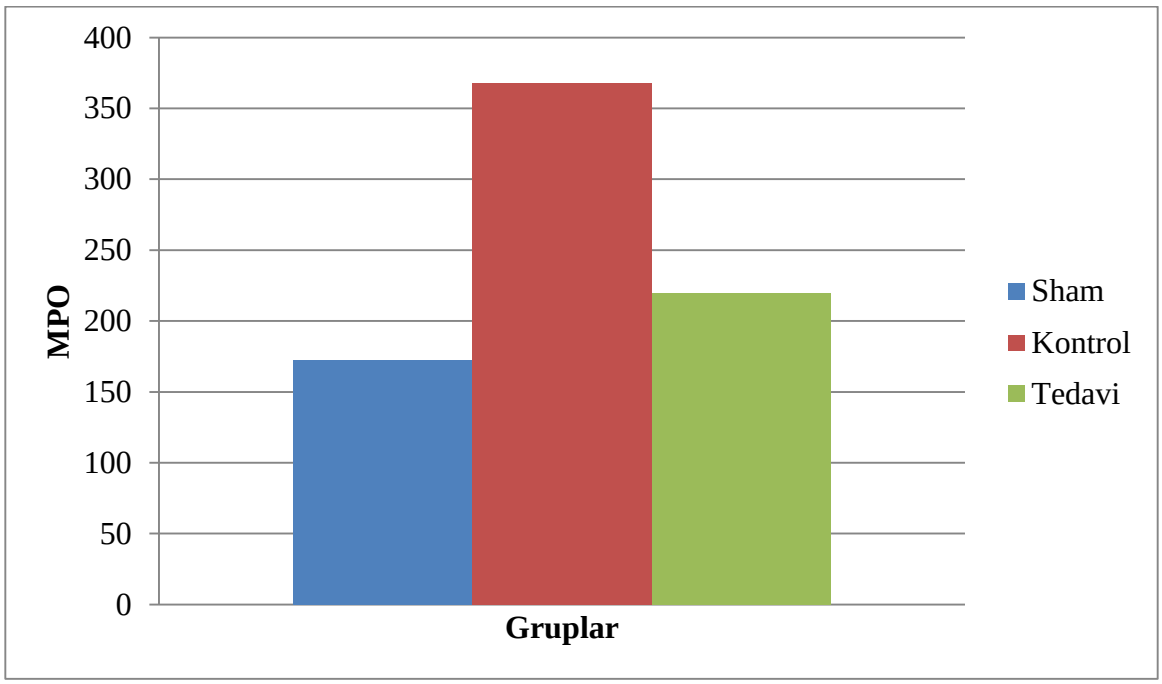
4.3.2. Myeloperoksidaz (MPO) düzeyi

Grupların ortalama MPO düzeyi; Sham grubunda **172,7±98** pg/ml, Kontrol grubunda **368±88** pg/ml, Tedavi grubunda **220,7±146** pg/ml olarak bulundu (Tablo-6). Kontrol grubunda ve tedavi grubunda ikişer örnek incelemeye uygun olmadığından değerlendirmeye alınmamıştır.

Tablo 6: Grupların MPO değerleri (pg/ml)

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:8)**	**Tedavi Grubu (n:8)**
1	28,5	-	203,9
2	276,3	337,5	22,5
3	248,1	319,3	185
4	472,3	-	-
5	66,2	377,7	310,8
6	187,5	479,4	-
7	56,2	235,3	291,7
8	214,7	449,2	158,8
9	410,4	459,2	125,6
10	246,4	286,1	83,3
Ort±SD	**172,7±98** [a]	**368±88** [b]	**220,7±146** [a]
([a,b]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, tedavi ve kontrol grupları**(p=0.025)** ile sham ve kontrol grupları**(p=0.017)** arasında anlamlı fark saptanırken, tedavi ve sham grupları arasında anlamlı fark saptanmadı**(p=0,05)** (Şekil-30).



Şekil 30. Gruplarda ortalama myeloperoksidaz düzeyleri(pg/ml)

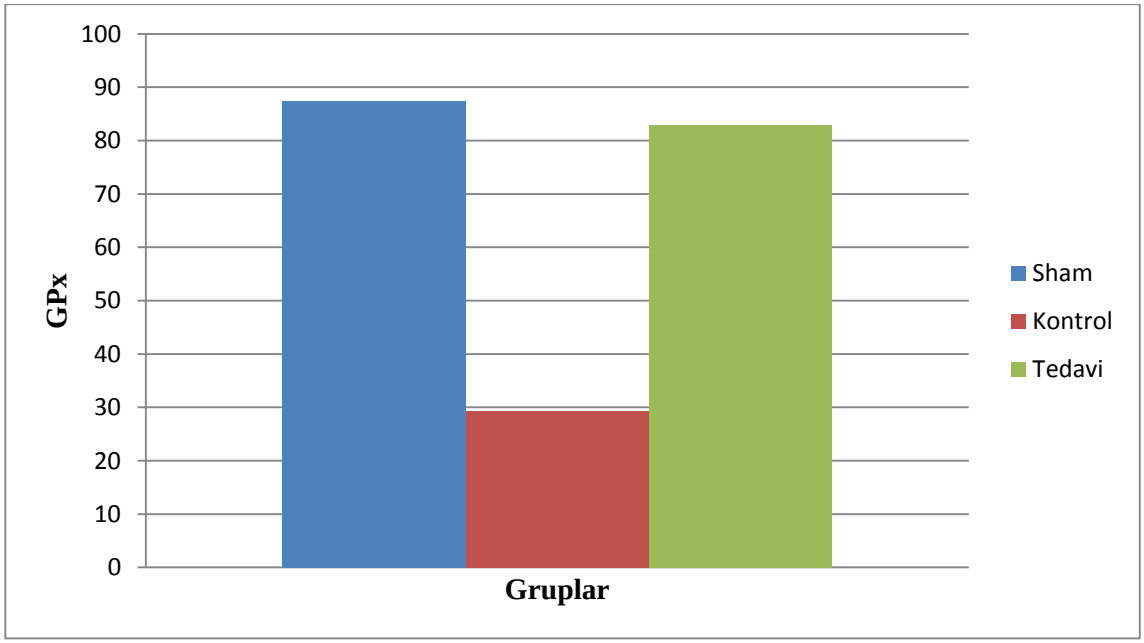
4.3.3. Glutatyon peroksidaz(GPx) düzeyi

Grupların ortalama GPx düzeyi; Sham grubunda **87,4±60,8** U/g, Kontrol grubunda **29,3±22,6** U/g, Tedavi grubunda **82,9±60,2** U/g olarak bulundu (Tablo-7).

Tablo 7. Grupların GPx değerleri (U/g)

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:10)**	**Tedavi Grubu (n:10)**
1	219	47,5	50,7
2	52,5	23	237,2
3	45,4	24,9	64,7
4	25,4	85,5	30,7
5	98,3	21,1	43,5
6	107,4	7,2	43,7
7	155,1	28,8	63,3
8	54,4	17,2	80,6
9	32,4	10	102,3
10	84,2	28,2	112,3
Ort±SD	**87,4±60,8** [a]	**29,3±22,6** [b]	**82,9±60,2** [a]
([a,b]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında sham ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre GPx düzeyi daha yüksek seviyede ölçüldü. Sham ve tedavi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanırken **(p=0.002)**, sham ve tedavi gruplarının kendi arasında anlamlı fark bulunamadı **(p>0,05)** (Şekil–31).



Şekil 31: Gruplarda ortalama glutatyon peroksidaz düzeyleri(U/g)

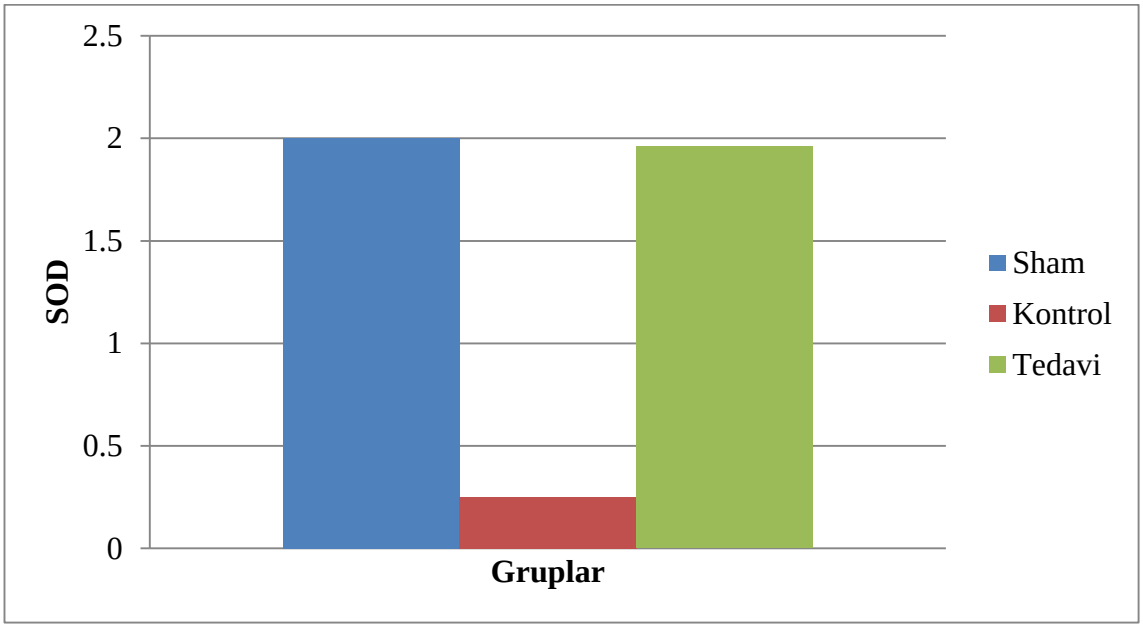
4.3.4. Süperoksit dismutaz (SOD) düzeyi

Grupların ortalama SOD düzeyi; Sham grubunda **2,0± 2,65** U/g, Kontrol grubunda **0,24±0,21** U/g, Tedavi grubunda **1,96±0,98** U/g olarak bulundu (Tablo-8).

Tablo 8. Grupların SOD değerleri (U/g)

	Sham Grubu (n:10)	**Kontrol Grubu (n:10)**	**Tedavi Grubu (n:10)**
1	3,27	0,58	0,16
2	1,38	0,17	8,96
3	1,51	0,17	1,77
4	0,57	0,60	0,03
5	2,89	0,05	0,62
6	2,43	-0,08	0,18
7	3,07	0,4	0,98
8	1,36	0,007	1,99
9	0,69	-0,21	2,33
10	2,50	0,24	3,06
Ort±SD	**2,0± 2,65** [a]	**0,24±0,21** [b]	**1,96±0,98** [a]
([a,b]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)			

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında sham ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre SOD düzeyi daha yüksek seviyede ölçüldü. Sham ve tedavi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanırken **(p<0.001)**, sham ve tedavi gruplarının kendi arasında anlamlı fark bulunamadı **(p>0,05)** (Şekil-32).



Şekil 32: Gruplarda ortalama süperoksit dismutaz düzeyleri(U/g)

Çalışılan tüm parametrelerin gruplara göre istatiksel olarak değerlendirilmesi tablo 9'da toplu halde gösterilmiştir.

Tablo 9: İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları Genel Tablosu

	Gruplar			
	Sham Ort±SD	**Kontrol Ort±SD**	**Tedavi Ort±SD**	***p***
Foto oran	100 ± 0[a]	44,7± 9,8[c]	87,1± 5,6[b]	**<0,001**
Nötrofil	11,8±2,9[a]	49,1± 14,5[b]	7,3± 3,0[a]	**<0,001**
Damar Çapı	49,9±7,4[a]	52,1±6,5[a]	47,2±7,3[a]	**0,145**
MDA	2,51±1,63 [a]	2,93±0,94 [b]	5.19±2,44 [a]	**0,010**
MPO	172,7±98 [a]	220,7±146 [b]	368±88 [a]	**0,007**
SOD	2,0± 2,65[a]	0,24±0,21[b]	1,96±0,98[a]	**<0,001**
GPx	87,4±60,8[a]	29,3±22,6[b]	82,9±60,2[a]	**0,002**
([a,b,c]: Aynı harfin yer aldığı gruplarda istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.)				

Flep canlılığı, MDA, MPO, GPx, SOD, nötrofil ve damar çapları arasındaki ilişkiler (Tablo 10):

Tüm gruplarda flep canlılığı ile MDA arasındaki ilişki incelendiğinde, negatif korelasyon bulundu (rho=-0.674,p<0.001).

Tüm gruplarda flep canlılığı ile SOD arasındaki ilişki incelendiğinde, pozitif korelasyon bulundu (rho0.791,p <0.001).

Tüm gruplarda flep canlılığı ile GPx arasındaki ilişki incelendiğinde, pozitif korelasyon bulundu (rho 0.697,p <0.001).

Tüm gruplarda flep canlılığı ile MPO arasındaki ilişki incelendiğinde, negatif korelasyon bulundu (rho= -0.523,p=0.006).

Tüm gruplarda flep canlılığı ile nötrofil sayısı arasındaki ilişki incelendiğinde, negatif korelasyon bulundu (rho= -0.617,p<0,001).

Tüm gruplarda flep canlılığı ile damar çapı arasındaki ilişki incelendiğinde, negatif korelasyon bulundu (rho=-0.310, p=0.096).

Tüm gruplarda nötrofil sayısı ile MPO seviyeleri arasındaki ilişki incelendiğinde, pozitif korelasyon bulundu (rho=0,852, p<0,001).

Tablo 11: Tüm parametrelerin birbirleriyle olan korelasyonu

			MDA	SOD	MPO	Flepyasamı	Nötrofil	GPx	Damarçapı
Spearman's rho	MDA	Correlation Coefficient	1,000	-,785**	,748**	-,674**	,665**	-,805**	,690**
		Sig. (2-tailed)	.	,000	,000	,000	,000	,000	,000
		N	26	26	24	26	26	26	26
	SOD	Correlation Coefficient	-,785**	1,000	-,850**	,791**	-,759**	,904**	-,647**
		Sig. (2-tailed)	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000
		N	26	30	26	30	30	30	30
	MPO	Correlation Coefficient	,748**	-,850**	1,000	-,523**	,852**	-,921**	,805**
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	.	,006	,000	,000	,000
		N	24	26	26	26	26	26	26
	Flepyasamı	Correlation Coefficient	-,674**	,791**	-,523**	1,000	-,617**	,697**	-,310
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	,006	.	,000	,000	,096
		N	26	30	26	30	30	30	30
	Nötrofil	Correlation Coefficient	,665**	-,759**	,852**	-,617**	1,000	-,850**	,608**
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000
		N	26	30	26	30	30	30	30
	GPx	Correlation Coefficient	-,805**	,904**	-,921**	,697**	-,850**	1,000	-,764**
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000
		N	26	30	26	30	30	30	30
	Damarçapı	Correlation Coefficient	,690**	-,647**	,805**	-,310	,608**	-,764**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,096	,000	,000	.
		N	26	30	26	30	30	30	30

(Spearman's Korelasyon Analizi) (**anlamlı p değeri=0,01)

5. TARTIŞMA

İskemi, dokuların hipoksik kalması nedeniyle ortaya çıkan ve toksik metabolitlerin birikimi nedeniyle bir dizi reaksiyon sonucunda hücre ölümüne kadar giden bir süreçtir. Reperfüzyon ise kan akımının tekrar sağlanması ile doku oksijenasyonunun eski haline dönmesini ifade eder. Reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri, endotel hücrelerinde şişme, vazokonstruksiyon ve artmış kapiller geçirgenlik gibi değişikliklere yol açarak mikrodolaşımı bozar (119).

İ/R hasarı ile yalnız flep cerrahisinde karşılaşılmaz. Hipovolemik şok, inme, miyokard infarktüsü, organ nakli İ/R hasarının görüldüğü farklı alanlardır (16,119). Bu nedenle İ/R hasarını anlamaya ve önlemeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Bu hasarda rol oynayan birçok madde vardır. Serbest radikaller, nötrofiller, mast hücreleri, araşidonik asit metabolitleri, NO, sitokinler ve apoptozis bu süreçte başlıca kilit rol oynamaktadır. Bu nedenle İ/R hasarını önlemeye yönelik yapılan çalışmalarda bu maddeler hedef alınmış ve pek çok ajan kullanılmıştır (16).

Serbest radikallere karşı antioksidanlar (süperoksit dismutaz(60), allopürinol (120,121), deferoksamin (122), vitamin C (123,124), selenyum (125), Carvedilol (126)), araşidonik asit metabolizmasını düzenlemeye yönelik ajanlar (iloprost (127)), trombolitik ajanlar (ürokinaz, doku plazminojen aktivatörü/TPA (128)), tromboksan sentetaz inhibitörleri (129)), NO prekürsör ve donörleri (130-134), mast hücrelerine karşı antihistaminikler (135), apoptozis inhibisyonu için kaspaz inhibitörü (136), sildenafil (137), PG-E1 (138) , pentoksifilin (139), eritropoetin (140) bu ajanlara örnektir. Var olan tedavilerin her

biri spesifik olayları inhibe ettiği için, aynı tedavide farklı hedeflere yönelerek birden fazla basamağı etkileyen tedavi stratejisine gereksinim vardır.

İskemi reperfüzyon sonrası oluşan hasardan primer olarak nötrofiller sorumlu tutulmuştur (141,142). Bu sebeple zaman içerisinde araştırmacılar nötrofil ile endotel arasındaki etkileşime engel olunursa oluşacak reperfüzyon hasarının önüne geçilebilir düşüncesiyle araştırmalar yapmışlardır. Nötrofiller lizozomlarında yüklü miktarda oksijen türevleri barındırırlar. İskemi reperfüzyon hasarında bu türevler endotel hasarına sebep olmaktadır. Bu yüzden nötrofil birikimini engelleyen ve flep yaşayabilirliğini artıran bazı maddeler üzerinde de çalısmalar yapılmıstır. Bir immünsüpresif olan siklosporin ve FK506 (143), nötrofil yuvarlanma ve monoklonal adezyon molekülleri (anti-CD18, leukocyte L-selektin monoklonal antibadi, Anti-ICAM-1, (144,146)), N-asetilsistein (147), Taflavin (148), Trombospondin (149) nötrofil üzerine yapılan çalışmalardan bazılarıdır.

Güngör ve arkadaşları (150) yapmış olduğu çalışmada, resveratrolün nötrofil istilasını önleyerek rat inferior epigastrik arter flebinde yaşam oranını arttırdığını göstermişlerdir.

Çetinkale ve arkadaşları (26) yayınlamış oldukları bir çalışmada 'iskemi-reperfüzyon hasarına uğratılmış ada fleplerinin yaşamında nötrofillerin önemli bir role sahip olduklarını, artmış nötrofil infiltrasyonunun, artmış malondialdehid ve myeloperoksidaz seviyeleri ile ilişkili olduğunu' bildirmişlerdir. Yine, Vries ve arkadaşları (151) yayınlamış oldukları bir çalışmada 'iskemi-reperfüzyon hasarının önemli bir özelliğinin nötrofil göçü olduğunu' bildirmişlerdir.

Lee ve arkadaşları (152) siklofosfamidin oluşturduğu nötropeninin myokutan fleplerde dolaşımı arttırdığını göstermişlerdir. Kolşisinin çalışıldığı bir çalışmada ise, kolşisinin mikrotübiline bağlanarak hücrelerin depolarizasyonuna neden olduğu ve bu etkisi nedeniyle nötrofil hareketini inhibe ederek iskemi-reperfüzyon hasarında olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (153).

Cerrahi ilerlemelere rağmen iskemi-reperfüzyon hasarı flep cerrahisinde önemli bir problem olmaya devam etmektedir. İskemi-reperfüzyon hasarı özellikle parsiyel flep kaybına sebep olmaktadır. Deneysel olarak etkinliği kanıtlanmış pek çok yöntem ile İ/R

hasarının azaltılabileceği gösterilmişken bunlardan pek azı klinik olarak kullanılabilmektedir. Bunun en önemli sebebi deneysel olarak etkinliği gösterilen birçok ajanın klinik olarak temin edilebilmesinin veya uygulanabilmesinin güç olmasıdır. Bir ajanın klinikte rutin kullanıma girebilmesi için ucuz, etkili ve kullanımı pratik bir ajan olması gerekmektedir.

β-glukan'ın antioksidan özelliği (68,95,114-116) ve başka organlarda İ/R hasarına faydalı etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (69,154-156). β-glukan yalnızca antioksidan değil, aynı zamanda antitümöral (157,158), anti-enfektif (80,99,159-161), anti-lipit (111,162), anti-diyabetik (70,94-96), anti-toksik ve protektif (109,110,163), özelliklere sahiptir. Muhtemelen güçlü etkinliğini de farklı basamaklara etki edebilme yeteneğinden almaktadır.

Biz bu çalışmada deri fleplerinde İ/R hasarının önlenmesinde β-glukanın etkinliğini araştırmayı amaçladık. Yapılan literatür çalışmasında β-glukanın böbrek(69), karaciğer (154), akciğer (155), ve ince barsak (156) gibi yaşamsal organlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkili olduğunu gördük ve deri fleplerinde İ/R hasarının önlenmesinde β-glukan etkinliğini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Bu amaçla ratda inferior epigastrik flep modelini kullandık. Bu flep modelini kullanmamızın nedeni iyi tanımlanmış, sabit anatomik yapısının olması, diseksiyonunun kolay olması ve tekrarlanabilir bir model olmasıdır (118). Deney modelimizde iskemi süresini 8 saat, reperfüzyon süresini 12 saat olarak belirledik. Çünkü deri fleplerinde kritik iskemi süresinin 6-12 saat olduğu saptanmıştır. Bu kritik süre aşıldıktan sonra ortama oksijen gelmesi iskemik hasara reperfüzyon hasarının eklenmesine neden olmaktadır (16). Deri fleplerinde İ/R hasarının araştırıldığı farklı çalışmalarda da iskemi süresi 8 ila 12 saat arasında değişmektedir (32.164.165). Bioyararlanımı daha yüksek olduğu için β-glukan oral olarak verildi. Oral uygulanım sonrası β-glukan 30 dk içerisinde ileumdan absorbe olmaktadır ve humoral ve sellüler immun sistemi etkilemektedir (80). β-glukanın dozu(50mg/kg/gün) daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan efektif dozlar baz alınarak belirlendi (69,154,155). Bu çalımada β-glukanı deneklere 10 gün önce vermeye başladık. Çünkü İ/R hasarı oluştuktan sonra β-glukanın flepteki dolaşımsal problemler nedeniyle olumlu etkisini gösteremeyeceği kanısındayız. Bu nedenle İ/R hasarında β-glukanın etkisini gösterebilmek için β-glukan tedavisi cerrahiden 10 gün önce

başlanmıştır. Bu şekilde β-glukan tedavisi altındaki deneklerde İ/R hasarının etkisi, hiçbir tedavi almayan deneklerdeki İ/R hasarının etkisiyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmada inferior epigastrik arter flebinde, β-glukanın İ/R hasarında flep yaşamına topografik olarak ve histopatolojik olarak etkisi, iskemi reperfüzyon esnasında ortaya çıkan serbest radikallerden hücreyi korumada rol aldığı bilinen bazı enzimlerin aktiviteleri (SOD, GPx enzim düzeyi) ile nötrofil akümilasyonunu gösteren MPO ve lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA miktarı tayin edildi.

Flep cerrahisinde karşılaşılan önemli problemlerden birisi İ/R hasarıdır. Özellikle damar endotelinde başlayan hasar tüm dokuyu etkilemektedir. Çalışmamızda inferior epigastrik arter flebinde 8 saat iskemi sonrası kontrol grubunda canlılık yüzdesi **%44,7±9,8** olarak bulundu. Bu değerin daha önce yapılan çalışmalarla(166,167) benzer bulunması yapılan cerrahi yöntemin uygun olduğunu gösterdi. Tedavi grubunda ise flep canlılık yüzdesi %**87,1±5,6** olarak bulundu. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında β-glukan verilen grupta flep yaşamında anlamlı bir artış olduğu görüldü**(p<0.05)**.

Doku morfolojisini saptamak ve β-glukanın nötrofiller üzerine etkisi olup olmadığını araştırmak için hematoksilen-eozin boyama yapılmıştır. Nötrofillerin İ/R hasarında lokal inflamatuar yanıtın önemli bir parçası olduğu ve serbest radikal ürettikleri gösterilmiştir (26,168). Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde kontrol grubunda sham grubuna göre istatiksel olarak anlamlı bir şekilde nötrofil infiltrasyonu saptandı **(p<0,05)**. Tedavi grubunda ise kontrol grubuna göre nötrofil sayısının anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü**(p<0,05)**. β-glukan tedavisi nötrofil sayısını iskemi reperfüzyon periyodu geçirmemiş olan Sham grubundan daha aşağıya çekmiş olmasına rağmen tedavi ile sham grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Nötrofil düzeylerindeki düşüşün flep canlılığı ile negatif korelasyon gösterdiği görüldü **(rho= -0.617,p<0.001).**

Damar çapları oranlarının değerlendirilmesinde tedavi grubunda en az olmasına rağmen gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanamadı **(p= 0,145).** Flep yaşamı ile damar çapları arasında ise negatif bir korelasyon saptandı**(rho= -0.310, p=0.096).** İlk bakışta damar çapı azalmasının flep kanlanmasını ve flep canlılık oranını da azaltacağı beklenir. Bizim çalışmamızda bunun aksine olan bulgular, eldeki veriler ve literatür bilgisiyle

açıklanamamakla birlikte, şu şekilde bir spekülasyon yapılabilir: Damar çapı en geniş olan kontrol grubunda flep nekrozu en fazladır. Bu durum vazodilatasyonun her zaman kan akımında artış olacağı anlamına gelmediğini gösterebilir. Sabit damar içi kan basıncına rağmen genişlemiş damarlarda akım hızı azalarak kan, damar içinde göllenebilir ve doku perfüzyonu azalabileceği gibi, nötrofillerin damar duvarına temas süresi ve diapedezis artarak dokudaki sayılarının artışına, bu da MPO miktarının artışına sekonder doku hasarı artışına da neden olmuş olabilir. Aksine damar içi kan basıncı yine sabit iken daralan damarlarda kan akım hızının artışı doku perfüzyonunu artırmış olabilir ve ayrıca nötrofillerin doku içine geçişi de azalmış olabilir. Bizim bulgularımızdaki damar çapındaki artışa rağmen flep kaybı bu şekilde açıklanabilir. Ayrıca, β-glukanın diğer faydalı etkilerinin (antioksidan, anti PNL) damar daraltarak oluşturduğu negatif etkiye baskın olduğunu da öne sürmek mümkündür.

Serbest oksijen radikallerinin stabil olmaması ve yarı ömürlerinin kısa olması sebebiyle direkt ölçümü mümkün olmamaktadır. Lipoperoksidasyonun sabit bir son ürünü olan MDA, hücre membranındaki lipidler üzerindeki serbest radikal etkisinin ölçülebilen kimyasal bir belirtecidir. Bu nedenle İ/R olgularında serbest radikal aktivitesini tespit etmek için MDA kullanılmaktadır (7,8).

Toklu ve arkadaşlarının(168) yaptığı bir çalışmada yanığın indüklediği oksidatif hasarda β-glukanın olumlu etkileri görülmüştür. Çalışmada MDA ve TNF-alfa(inflamatuar proçeste pivot rol oynar) değerlerinin düşük olduğu ve GSH aktivitesinin ise yüksek olduğu görülmüş. Hem lokal hem de sistemik uygulamada β-glukanın tedavi edici etkisi görülmüştür.

Şener ve arkadaşlarının (169) yaptığı bir çalışmada, β-glukanın bası yarasının indüklediği oksidatif hasarı azalttığını göstermişler. Özellikle MDA değerlerindeki düşüşün ve GSH değerlerindeki artışın, β-glukanın güçlü antioksidan özelliğini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Firat ve arkadaşları (170), ratlarla yaptıkları çalışmada, deride oluşturulan yanık sonrası doku MDA seviyelerinde istatiksel olarak anlamlı bir düşme ve doku GSH düzeylerinde yine istatiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptayarak staz zonunun kurtarıldığını göstermişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada β-glukan uygulanan grupta kontrol grubuna göre

angiogenesizin arttığı, fibroblast proliferasyonunun arttığı ve nötrofil infiltrasyonunun azaldığı görülmüştür.

Kayalı ve arkadaşları (68), β-glukanın spinal kord yaralanmasında lipit peroksidasyonunu azalttığını ve antioksidan özelliği ile koruyucu etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Ekstremite iskemi reperfüzyon hasarında kullanılan β-glukanın GSH, NO ve SOD'u arttırdığı MDA'yı ise anlamlı derecede düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca GSH ile NO değerlerindeki artış ve MDA değerlerindeki düşüşün, n-asetilsistein ve koenzim Q10 kullanılan gruplara göre daha anlamlı olduğu görülmüştür (171). Bu durum bize β-glukanın yaygın olarak kullanılan antioksidanlardan daha potent olduğunu göstermektedir.

Aydogan ve arkadaşlarının(154) karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında β-glukanın etkisiyle ilgili çalışmasında, β-glukanın MDA'yı azaltıp Katalaz'ı arttırdığı ve buna bağlı olarak da hepatik intra sellüler vakuolizasyonu, sinüzoidal dilatasyonu, konjesyonu ve fokal nekrozu azalttığı gösterilmiştir.

Başka bir çalışmada ise Şenol ve arkadaşları(155) abdominal aortik iskemi reperfüzyon hasarında β-glukanın akciğerde koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada β-glukan verilen grupta alveolar konjesyonun, intra-alveolar hemorajının ve PMNL infiltrasyonunun az olduğu göstermişlerdir. Kontrol grubuna göre SOD'un, MPO'un ve Katalaz aktivitesinin yükseldiği, MDA'nın ise düşmüş olduğu da biyokimyasal olarak gösterilmiştir.

Lipit peroksidasyonunu artıran kronik nikotin kullanımı (172), kontrast maddenin sebep olduğu nefropati (173), silah sanayide kullanılan uranyumun sebep olduğu mitokondriyal hasar (174) gibi pek çok oksidan hasarda β-glukanın antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı, lipit peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda da β-glukan verilen grupta MDA değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir düşme saptandı**(p=0,025).** MDA değerlerindeki azalma, β-glukanın yüksek antioksidan etkisi ile hücre membranını koruyup lipit oksidasyonunu önlediğini

göstermiştir. Ayrıca MDA değerlerindeki anlamlı azalma flep canlılığı ile de negatif korelasyon göstermiştir. **(rho=.-0.674, p<0.001).**

β-glukanın, yapılan bir çalışmada akciğerde oluşan İ/R hasarını önlediği gösterilmiştir (155). Bu çalışmada β-glukanın PMNL infiltrasyonunu azaltması MPO seviyelerindeki düşüş ile ilişkilendirilmiştir. Yine, Bedirli ve arkadaşlarının (175) deneysel sepsis modelinde akciğerde oluşan hasarda β-glukanın MPO seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda nötrofil istilasına bağlı olarak MPO düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (**p=0,007).** Tedavi grubunda ise kontrol grubuna göre MPO seviyelerinde anlamlı bir şekilde azalma görüldü **(p=0,025).** Ayrıca flep yaşamı ile MPO seviyeleri arasında negatif bir korelasyon saptandı **(rho= -0.523, p=0.006).** MPO ve nötrofil sayıları arasında ise pozitif korelasyon bulunmuştur **(rho=0,852, p<0,001).** Bu sonuçlar bize β-glukan tedavisinin nötrofil ve MPO seviyelerini paralel şekilde azaltarak yani hem nötrofil akümülasyonu hem de nötrofil fonksiyonunu azaltarak flep yaşamını artırdığını göstermektedir. β-glukan'ın nötrofilik infiltrasyonu ve MPO'yu azaltarak koruyucu etki gösterdiği literatürde başka çalışmalarda da saptanmıştır (176,177).

Yeniden oksijenasyon, zararlı oksijen radikallerinin fazla miktarda üretilmesine yol açıp, doğal antioksidan savunma mekanizmasını tahrip eder ve başta reperfüze olan organ olmak üzere tüm vücutta oksidatif yükü arttırıp doku hasarına neden olur. Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini en aza indirmek amacıyla savunma sistemleri bulunmaktadır. Normal şartlar altında SOD ve GPx serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif hasarı önler. Fakat iskemi reperfüzyon hasarında bu etki azalmaktadır. β-glukan, yüksek antioksidan etkisi ile SOD ve GPx seviyelerini yükselterek oksidatif hasarı azaltmıştır. Tedavi grubunda SOD ve GPx seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır (**p<0.001), (p=0.002)**. Flep yaşamı ile antioksidan enzim seviyelerinin korelasyonuna bakıldığında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur (**rho=0.803,p<0.001), (rho=0,697, p<0,001)**. Ayrıca β-glukanın, serbest radikallerin lipit peroksidasyonu ile membran hasarı yapmasını önlemiş olması ve membran stabilizasyonunu arttırması, MDA değerlerindeki düşüşe bağlanabilir.

Irami ve arkadaşları (156) yapmış oldukları çalışmada İnce barsak iskemi reperfüzyon hasarında β-glukanın bakteriyal translokasyonu önlediği, TNF-alfa, IL-1beta, İL6 gibi inflamatuar sitokinlerini düşürdüğü ve İL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinleri arttırdığı göstermiştir. β-glukan'ın bu etkisi diğer çalışmalarda da gösterilmiştir (90,168). Başka bir çalışmada ise IL-1 ve TNF-alfanın serbest oksijen radikallerinin uyarımı ile E-selektin ve L-selektin salınımını artırarak nötrofil yuvarlanmasını indüklediği gösterilmiştir (58,59). Bu sonuçlara dayanarak β-glukanın IL-1 ve TNF-alfa'nın seviyesini düşürerek nötrofil yuvarlanmasını azalttığını söyleyebiliriz. Bu şekilde nötrofil endotele tutunamamakta ve yoğun akümülasyon önlenmiş olmaktadır. Bizim çalışmamızda da nötrofil akümülasyonunu gösteren myeloperoksidaz seviyeleri düşük bulunmuştur. Ayrıca yapılan bir çalışmada serbest oksijen radikallerinin nötrofil yuvarlanmasını indüklediği gösterilmiştir (59). β-glukan antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz seviyelerini arttırarak antioksidan etki göstermiş ve bu yolla da nötrofil yuvarlanmasının önünü kesmiştir. Bu sonuçlar bize β-glukan verilen grupta nötrofile bağlı doku hasarının neden daha az olduğunu göstermektedir.

Makrofajlar üzerinde bulunan Dectin-1 reseptörü, β-glukan ile bağlanma sonucunda aktive olarak fagositoz, endositoz ve hücre içi oksidatif mekanizmaları da içeren hücresel faaliyetleri artırmaktadır (85,86,90,91). Ayrıca β- glukanların makrofaj fonksiyonlarını artırarak immun defansı kuvvetlendirdiği saptanmıştır (93). Tüm bu etkiler bize, β-glukanın antioksidan ve immun modülatör fonksiyonlarını göstermektedir ve tedavi grubundaki flep canlılığının neden daha fazla olduğunun ek bir göstergesidir.

Sonuç olarak β-glukanın oksidatif stres parametrelerine etkisi literatürle uyumlu bulundu. MDA ve MPO düzeyleri kontrole göre düşmüştü, SOD ve GPx düzeyleri ise yükselmişti ve bu sonuçlar bizi, β-glukanın rat inferior epigastrik arter flebinde İR hasarı üzerinde koruyucu bir etkisi olduğu kanısına vardırdı. Çalışmamız histopatolojik yönden incelendiğinde, kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı farkla iskemi reperfüzyon hasarının olduğu görüldü. Tedavi grubundaki histopatolojik incelemede, β-glukanın nötrofil istilasını anlamlı bir şekilde azalttığı saptandı. Bu nedenlerden dolayı çalışmamız, deneysel açıdan β-glukanın İ/R hasarında olumlu etkilerinin araştırılmaya değer olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada deri fleplerinde gelişen İ/R hasarına karşı β-glukanın etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular aşağıda sıralanmıştır:

1- Rat inferior epigastrik arter flebinde uygulanan İ/R modelinde β-glukan yaşayan flep oranlarını artırmaktadır.

2- Reperfüzyon sonrası 12. saatte alınan örneklerde β-glukan, nötrofil infiltrasyonunu baskılamaktadır.

3- β-glukan, İ/R modelinde oksidatif stres ve lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyelerini düşürmüştür.

4- β-glukan, İ/R modelinde nötrofil akümülasyonunu gösteren MPO seviyelerini düşürmüştür.

5- β-glukan, İ/R modelinde antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksit seviyelerini arttırmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda β-glukanın deri fleplerinde İ/R hasarını önlemede yaşayan flep oranını belirgin olarak arttırması nedeni ile son derece etkili olduğunu söyleyebiliriz. β-glukan oldukça güçlü bir antioksidan madde olması ve yapılan deneysel çalışmalarda bu etkinliğini kanıtlamış olması nedeni ile klinik uygulama açısından son derece ümit vericidir.

KAYNAKLAR

1- Place MJ, Herber SC, Hardesty RA. Basic techniques and principles in plastic surgery. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM, eds. Grabb and Smith's Plastic Surgery, 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997: 13-25.

2- Wei FC, Celik N. Perforator flap entity Clin Plastic Surg 30: 325– 329, 2003

3- O'Brien BM, Morrison WA, Gumley GJ. Principles and Techniques of Mikrovascular Surgery. McCarty JG, May JW eds. Plastic Surgery, Vol 1 General Principles. New York: W.B Saunders Company 1990:412-73

4- Soutar DS. Free Flaps in Reconstructive Surgery. Annals of the Royal Collage of Surgeon of England 1989;71.169–74

5- Wang WZ. Investigation of reperfusion injury and ischemic preconditioning in microsurgery. Microsurgery. 2009;29(1):72-9.

6- Kayser MR, Hodges PL: Surgical flaps. Select Read Plast Surg 8:1-58, 1995

7- Cormack GC, Lamberty BGH: Introduction and the microcirculation. In: The Arterial Anatomy of Skin Flaps, Editor: , Churchill Livingstone, 1994, 1-32

8- Taylor GI, Palmer JH: The vascular territories (Angiosomes) of the body: Experimental study and clinical applications. Br J Plast Surg 40: 113-141, 1997

9- Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM, Zelt RG: An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical Applications. Plast Reconstr Surg 89(3): 408-418, 1992

10- Pang CY, Forrest CR, Morris SF: Pharmacological augmentation of skin flap viability: A hypothesis to mimic the surgical delay phenomenon or a wishful thought. Ann Plast Surg 22: 293-306, 1999

11- Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: Mc Carthy JG, ed. Plastic Surgery. Philadelphia: WB Saunders, 1990:275-328.

12- McGregor IA, Morgan G. Axial and random pattern flaps. Br J Plast Surg 1973; 26:202-213.

13- Mathes SJ, Nahai F., Classification of the vascular anatomy of muscles: experimental and clinical correlation, Plast Reconstr Surg. 1981 Feb;67(2):177-87.

14- Blondeel PN, Van Laduytk K, Hamdi M ve arkadaşları. Perforator flap terminology update 2002. Clin Plast Surg 2003; 30.343-6.

15- Demir R., 2008. Random Paternli Deri Fleplerinde Sildenafil'in Antioksidan Etkisinin Arastirilmasi. (Biyoloji, Yuksek Lisans Tezi) Ondokuz Mayis Üniversitesi, Samsun.

16- Vedder NB. Flap Physiology. In: Mathes SJ, editor. Plastic Surgery, volume I, 2nd edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006; 483-506.

17- Watterson PA, Bostwick J, Hester TR ve arkadaşları. TRAM flap anatomy correlated with a 10-year clinical experience with 556 patients. Plast Reconstr Surg 1995; 95: 1185-94.

18- Festenstein GN, Heaton FW, Lowe JS ve arkadaşları. A constituent of the unsaponifiable portion of animal lipids (lambda max 272. m mμ) Biochem J 1955; 59: 558-66.

19- Reinisch JF. The pathophysiology of skin flap circulation. The delay phenomenon. Plast Reconstr Surg 1974; 54:585-98

20- Sasaki GH, Pang CY. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flaps in rats. Plast Reconstr Surg 1980; 65:152-8.

21- Pang CY, Neligan PC, Forrest CR. Hemodynamics and vascular sensivity to circulating norepinephrine in normal skin and delayed and acute random skin flaps in the pig. Plast Reconstr Surg 1986; 78:75-84.

22- Hjortdal VE, Hauge E, Hansen ES. Differential effects of venous stasis and arterial insufficiency on tissue oxygenation in myocutaneous island flaps: an experimental study in pigs. Plast Reconstr Surg 1992; 89:521-9.

23- Hjortdal VE, Sincilair T, Kerrigan CL ve arkadaşları. Venous ischemia in skin flaps: microcirculatory intravascular thrombosis. Plast Reconstr Surg 1994; 93:366-374.

24- Pang CY, Forrest CR, Neligan PC, et al. Augmentation of blood flow in delayed random skin flaps in the pig : effect of length of delay period and angiogenesis.Plast Reconstr Surg 78:68-74, 1986.

25- Karacaoglu E, Yuksel F, Turan SO, Zienowicz RJ. Chemical delay: an alternative to surgical delay experimental study. Ann Plast Surg 49(1): 73-80, 2002.

26- Jurell G. Adrenergic nerves and the delay phenomenon. Ann Plast Surg 17(6): 493-497, 1986.

27- Kayser MRMD. Surgical flaps. Selected Readings in Plastic Surgery 1999; 9(2).

28- Hosnuter M[1], Babucçu O, Kargi E, Altinyazar C.Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. Ann Plast Surg. 2003 Apr;50(4):398-402.

29- Mitchell RN, Cotran RS. Hücre zedelenmesi, ölümü ve adaptasyonu. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, editörler; Temel Patoloji. Altıncı edisyon. (içinde). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2000: 3-24.

30- Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. British J of Surgery. 1994; 81: 637-647.

31- Semenza GL. Cellular and molecular dissection of reperfusion injury ROS within and without. Circ Res. 2000;86: 117-118.

32- Kristian T, Siesjö BK. Calcium-related damage in ischemia. Life Sci 1996;59(5-6):357-

33- Kılınç K. , Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002; 33: 110-118.

34- Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet 1994 Sep 10;344(8924):721-4.

35- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 1999.

36- Papa S, Skulachev VP. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. Mol Cell Biochem. 1997; 174: 305-9.

37- Wood ZA, Poole LB, Karplus Pa. Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. Science 2003; 300:650-3

38- Beyer RE.An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. Biochell Cell Biol 1992 Jun;70(6):390-403.

39- Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. Am J Med 1991 Sep 30;91(3C):2S-13S.

40- Robinson BS, Hii CS, Ferrante A. Activation of phospholipase A2 in human neutrophils by polyunsaturated fatty acids and its role in stimulation of superoxide production. Biochem J. 1998 Dec 15;336 (Pt 3):611-7.

41- Parks DA, Granger DN. Xanthine oxidase: biochemistry, distrubution and physiology. Acta Physiol Scand Suppl 1986:548:87-99.

42- Jarasch ED, Bruder G, Heid HW. Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells. Acta Physiol Scand Suppl 1986; 548: 39-46.

43- Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischaemia. Am J Physiol 1986 Oct; 251(4 Pt 1):G567-74.

44- Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. Klinik Gelişim 1995; 8: 3906-3911.

45- Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen kosullar. Klinik Gelisim 1998;11: 336-341.

46- Uchida K. Cellular response to bioactive lipid peroxidation products. Free Radic Res 2000 Dec; 33(6):731-7.

47- Cutler RG, Mattson MP. Measuring oxidative stress and interprenting its clinical relevance for humans. In: Cutler RG, Rodriguez H, eds. Critical reviews of oxidative stress and aging: Advances in basic science, diagnostics and intervention. Singapore: World Scientific Publishing, 2003: 137.

48- Lenton KJ, Therriault H, Fülöp T, et al. Glutathione and ascorbate are negatively correlated with oxidative DNA damage inhuman Iymphocytes. Carcinogenesis, 1999 Apr; 20(4): 607-13.

49- Perez HD, Weksler BB, Goldstein IM. Generation of a chemotactic lipid from a arachidonic acid by exposure to a superoxide-generating system. Inflammation. 1980 Sep;4(3):313-28.

50- Vedder NB, Harlan JM. Neutrophil-endothelial interactions. In: Shoemaker WC, Ayres SM, Grenvik A,Holbrook PR, eds. Textbook of Critical Care,4th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1999:570-577.

51- Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) to specificity and diversity. Cell 1991Dec 20;67(6):1033-6

52- Kubes P, Ibbotson G, Russell J, et al. Role of platelet-activating factor in ischemia/reperfusion-induced leukocyte adherence. Am J Physiol. 1990 Aug;259(2 Pt 1):G300-5.

53- Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB ve arkadaşları. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. J Clin Invest. 1974; 54: 1496-508

54- Im MJ, Manson PN, Bulkley GB, et al. Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. Ann Surg. 1985 Mar;201(3):357-9.

55- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr. 2001 Oct;74(4):418-25.

56- Kargi E[1], Babuccu O, Hoşnuter M, Payasli C, Ayoğlu F.The effect of combined use of vitamin C, vitamin E, and ibuprofen on flap viability: an experimental study. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg. 2005;14(5-6):116-20.

57- Kim SY, Song HJ, Lee YY, et al. Biomedical Issues of Dietary fiber beta Glucan. J Korean Med Sci 2006; 21: 781-789.

58- Kirmaz C, Bayrak P, Yilmaz O, et al. Effects of glucan treatment on the Th1/Th2 balance in patients with allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. Eur Cytokine Netw 2005; 16: 128-134.

59- Abel g, czop jk. Stimulation of human monocyte ß-glucan receptors by glucan particles induces production of tnf-alpha and ıl-1 ß. Int j ımmunopharmacol 1992; 14: 1363-1373.

60- Rasmussen lt, seljelid r. Novel immunomodulators with pronounced in vivo effects caused by stimulation of cytokine release. J cell biochem 1991; 46: 60-68.

61- Bobek P, Galbavy S. Effect of pleuran (beta-glucan from Pleurotus ostreatus) on the antioxidant status of the organism and on dimethylhydrazine-induced precancerous lesions in rat colon. Br J Biomed Sci. 2001; 58(3): 164–168.

62- Gödekmerdan A. Tip I Aşırı Duyarlılık Reaksiyonlarında Beta-Glukan'ın Th Polarizasyonuna Etkisinin Araştırılması. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Ens. İmmunoloji AbD Doktora Tezi, Elazığ; 2004.

63- Suzuki I, Sakurai T, Hashimoto K. Inhibition of experimental pulmonary metastasis of Lewis Lung Carcinoma by orally administered beta-glucan in mice. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1991; 39(6): 1606–1608.

64- Chihara G. Recent progress in immunopharmacology and therapeutic effects of polysaccharides. Dev Biol Stand. 1992; 77: 191–197.

65- Zekovic DB, Kwiatkowski S, Vrvic MM, Jakovljevic D, Moran CA. Natural and modified (1→3)-β-D-Glucans in health promotion and disease alleviation. Crit Rev Biotechnol 2005; 25(4): 205–230.

66- Vetvicka, V., Yvin, J.C., 2004. Effects of marine _-1,3 glucan on immune reactions. Int. Immunopharmacol. 4, 721–730.

67- Li B, Allendorf DJ, Hansen R, Marroquin J, Ding C, Cramer DE ve ark. Yeast β-glucan amplifies phagocyte killing of İC3b-opsonized tunor cells via complement receptor 3-syk-phosphatidylinositol 3-kinase pathway. J Immunol 2006; 177: 1661–1669.

68- Kayali H, Özdağ MF, Kahraman S, Aydın A, Gönül E, Sayal A ve ark. The antioksidant effect of Beta-glucan on oxidative stress status in experimental spinal cord injury in rats. Neurosurg Rev 2005; 28(4): 298–302.

69- Bayrak Ö, Turgut F, Karataş OF, Çimentepe E, Bayrak R, Çatal F ve ark. Oral beta-glucan protects kidney against ischemia/reperfusion injury in rats. Am J Nephrol. 2008; 28(2): 190–196.

70- Chen J, Raymond K. Beta-glucans in the treatment of diabetes and associated cardiovascular risks. Vascular Health and Risk Management 2008; 4(6): 1265–1272.

71- Karaduman D. Beta-Glukan ve Taksol Etkisiyle Fare (Mus musculus) Karaciğerinde Oluşan Histolojik Değişikliklerin Işık Mikroskobu Düzeyinde Araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Samsun; 2006.

72- Bedirli A, Gokahmetoglu S, Sakrak O, Ersoz N, Ayangil D, Esin H. Prevention of intraperitoneal adhesion formation using beta-glucan after ileocolic anastomosis in a rat bacterial peritonitis model. Am J Surg. 2003; 185:339-43.

73- Rice, P.J., Adams, E.L., Ozment-Skelton, T., Gonzalez, A.J., Goldman, M.P., Lockhart, B.E., Barker, L.A., Breuel, K.F., DePonti, W.K., Kalbfleisch, J.H., Ensley, H.E.,Brown, G.D., Gordon, S., Williams, D.L., 2005. Oral Delivery and Gastrointestinal Absorption of Soluble Glucans Stimulate Increased Resistance to Infectious Challenge. The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics, 314, 1079–1086.

74- Novak, M., Vetvicka, V., 2008. beta-Glucans, History, and the Present:Immunomodulatory Aspects and Mechanisms of Action. Journal of Immunotoxicology, 5, 47–57.

75- Williams DL, Mueller A, Browder W, Glucan-based macrophage stimulators: A review of their anti-infective potential. Clin Immunother 1996; 5: 392-399.

76- Yan J., Vetvicka V., Xia Y., Hanikyrova M., Mayadas T.N., Ross G.D., Critical role of kupffer cell CR3 (CD11b/CD18) in the clearance of igM-opsonized eryhtrocytes of soluble beta-glucan. Immunopharmacol. 2000;46: 39-54

77- Brown G.D., Taylor P.R., Reid D.M., Willment J.A., Willliams D.L., Martinez-Pomares L., Wong S.Y., Gordon S., Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. J Exp Med. 2002;196(3): 407-12.

78- Hahn P.Y., Evans S.E., Kottom T.J., Standing J.E., Pagano R.E., Limper A.H., Pneumocystis carini cell wall beta-glucan induced release of macrophage inflammatory protein-2 from alveolar epithelial cells via a lactosylceramide-mediated mechanism. J Biol Chem. 2003;278:2043-2050.

79- Brown G.D., Gordon S., İmmune recognation of fungal beta-glucans. Cell Microbiol. 2005;7(4):471-479.

80- Brown G.D., GORDON S., Fungal beta-glucans and mammalian ımmunıtity. Immunity.2003;19:311-315.

81- Brown G.D., Herre J., Williams D.L., Willmwnt J.A., Marshall A.S., Gordon S., Dectin-1 mediates the biological effects of beta-glucans. J Exp Med.2003;197(9): 1119-1124.

82- Hunter K.W., JR., Dupre's., Redelman D., Microparticulate beta-glucan upregulates the expression of B7.1, B7.2, B7-H1, but not B7-DC on cultured murine peritoneal macrophages. Immunol Lett. 2004;93(1):71-8

83- Akramiene D., Kondrotas A., Didziapetriene J., Kevelaitis E., Effects of beta-glucans on the immune system. Medicina. 2007; 43(8): 597-606

84- Gardiner T. A review: Beta-glucan biological activities. Glyco Science 2000; 1(32): 1–6.

85- Yadomae T. Structure and biological activities of fungal beta–1,3-glucans. Yakugaku Zasshi 2000; 120(5): 413–431. Erişim 10.08.2008

86- Yan J, Vetvicka V, Xia Y, Coxon A, Carroll MC, Mayadas TN ve ark. Betaglucan, a ''spesific'' biologic response modifier that uses antibodies to target tumors for cytotoxic recognition by leukocyte complement receptor type 3 (CD11b/CD18). J Immunol 1999; 163(6): 3045–3052.

87- Jung K, Ha Y, Ha SK, Han DU, Kim DW, Moon WK ve ark. Antiviral effect of Saccharomyces cerevisiae beta-glucan to swine influenza virus by increased production of interferon-gamma and nitric oxide. J Vet Med B 2004; 51(2): 72–76.

88- Werner JL, Requisite role for the dectin-1 beta-glucan receptor in pulmonary defense against Aspergillus fumigatus. J Immunol. 2009 Apr 15;182(8):4938-46.

89- Hetland G, Sandev P. B-1,3-glucan reduces growth of Mycobacterium tuberculosis in macrophage cultures. FEMS Immunol. And Med. Microbiol. 2002; 33:41-5.

90- Şener G, Toklu H, Ercan F, Erkanlı G. Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. Int Immunopharmacol 2005; 5(9): 1387–1396.

91- Tzianabos AO, Cisneros RL. Prophylaxis with the immunomodulator PGG glucan enhances antibiotic efficacy in rats infected with antibiotic-resistant bacteria. Ann N Y Acad Sci. 1996; 797:285-7.

92- Chen J, Seviour R. Medicinal importance of fungal β-(1→3), (1→6)-glucans. Mycological Research. 2007; 635-52.

93- Braaten JT, Scott FW, Wood PJ, Riedel KD, Wolynetz MS, Brule D ve ark. High beta-glucan oat bran and oat gum reduce postprandial blood glucose and insulin subjects with and without type 2 diabetes. Diabetic Med. 1994; 11(3): 312–318.

94- Tabby L, Gugolz E, Wursch P. Effects of breakfast cereals containing various amounts of beta-glucan fibers on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. Diabetes Care 1996; 8: 831–834. Erişim 10.01.2007

95- Wursch P, Pi-Sunger Fx. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in betaglucan. Diabetes Care 1997; 20(11): 1774–1780.

96- Behall K, Scholfield D, Hallfrisch J. Barley β-glucan reduces plasma glucose and insulin responses compared with resistant starch in men. Nutr Res 2003; 26(12): 644–650.

97- Cerci C., Yildirim M., The Effects of Topical and Systemic Beta Glucan Administration on Wound Healing Impaired by Corticosteroids. Wounds. 2008;20(12)

98- Gulcelik A M., Glucan Improves Impaired Wound Healing in Diabetic Rats. WOUNDS.2010;22(1):12-16.

99- Burgaleta C, Golde DW. Effect of glucan on granulopoiesis and macrophage genesis in mice. Cancer Res. 1977 Jun;37(6):1739-42.

100- Wolk m, danon d. Promotion of wound healing by yeast glucan evaluated on single animals. 1985; 63: 73-80.

101- Mueller A, Raptis J, Rice PJ, Kalbfleisch JH, Stout RD, Ensley HE Browder W, Williams DL. The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1 fi 3) -beta-d-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. Glycobiology 2000;10:339–46.

102- Kougias P, Wei D, Rice PJ, et al. Normal human fibroblasts express pattern recognition receptors for fungal (1?3)-?-D-glucans. Infec Immun. 2001;69(6):3933–3938.

103- Mutsaers SE, Bishop JE, McGrouther G, Laurent GJ. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. Int J Biochem Cell Biol. 1997;29(1):5–17

104- Eastwood M, Porter R, Khan U, McGrouther G, Brown R. Quantitative analysis of collagen gel contractile forces generated by dermal fibroblasts and the relationship to cell morphology. J Cell Physiol. 1996;166(1):33–42.

105- Wei D, Zhang L, Williams DL, et al. Glucan stimulates human dermal fibroblast collagen biosynthesis through a nuclear factor-1 dependent mechanism. Wound Repair Regen 2002; 10: 161-168.

106- Adams DS, Pero SC, Petro JB, Nathans R, Mackin WM, Wakshull E. PGG-Glucan activates NF-kappa B-like and NF-IL-6-like transcription factor complexes in a murine monocytic cell line. J Leukoc Biol 1997;62.865–73.

107- AdamsDS, NathansR,PeroSC,SenA,WakshullE.Activation of a Rel-A/ CEBP-beta-related transcription factor heteromer by PGG-Glucan in a murine monocytic cell line. J Cell Biochem 2000;77.221–33.

108- Pachen ML, MacVittie TJ. Comparative effects of soluble and particulate glucans on survival in irradiated mice. J Biol Response Mod 1986; 5(1): 45–60.

109- Gu YH, Takagi Y, Nakamura T, et al. Enhancement of radioprotection and anti-tumor immunity by yeast-derived beta-glucan in mice. J Med Food 2005;8.154.

110- Aarsæther E, Rydningen M, Engstad RE, et al. Cardioprotective effect of pretreatment with b-glucan in coronary artery bypass grafting. Scand Cardiovasc J 2006;40.298.

111- Sandvik A, Wang YY, Morton HC, et al. Oral and systemic administration of b-glucan protects against lipopolysaccharideinduced shock and organ injury rats. Clin Exp Immunol 2007; 148:168

112- Ceyhan AM, Akkaya VB, lec¸olSeCG, Ceyhan BlM, zgu¨ner FO and Chen W. Protective effects of b-glucan against oxidative injury induced by 2.45-GHz electromagnetic radiation in the skin tissue of rats. Arch. Dermatol. Res. (2012) 304: 521-7.

113- Babincova M, Bacova Z, Machova E, Kogan G. Antioxidant properties of carboxymethyl glucan: Comparative analysis. J Med. Food 2002; 5(2): 79–83.

114- Babincova M, Bacova Z, Machova E, Kogan G. Antioxidant properties of carboxymethyl glucan: Comparative analysis. J Med. Food 2002; 5(2): 79–83.

115- Sener G, Eksioglu-Demiralp E, Cetiner M, Ercan F, Yegen BC. Beta-glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. Eur J Pharmacol. 2006;542:170–8.

116- Toklu HZ, Sehirli AO, Velioglu-Ogu¨nc A, Cetinel S and Sener G. Acetaminophen-induced toxicity is prevented by b-D-glucan treatment in mice. Eur. J. Pharmacol. (2006) 543: 133-40.

117- Portera ca, love ej, memore l, et al. Effect of macrophage stimulation on collagen biosynthesis in the healing wound. 1997; 63: 125-31.

118- Petry JJ, Wortham KA. The anatomy of the epigastric flap in the experimental rat. Plast Reconstr Surg. 1984 Sep;74(3):410-3.

119- Van den Heuvel MG, Buursman WA, Bast A, et al. Review: Ischemia-reperfusion injury in flap surgery. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2009 Jun;62(6):721-6.

120- Tamir G, Yaffe B, Pri-Chen S, et al. The effect of allopurinol on experimental island skin flap survival under prolonged periods of arterial ischaemia. Br J Plast Surg. 1994 Apr;47(3):155-7.

121- Moura T, Marques AA, Bernal SO, Gagliocca GD, Gemperli R, Ferreira MC. Study of the Effect of Streptokinase and Allopurinol on Island Skin Flaps Submitted to Prolonged Ischemia – Experimental Study İn Rats. Rev Assoc Med Bras 2009;55(5):601–5

122- Angel MF, Narayanan K, Swartz WM, et al. Deferoxamine increases skin flap survival: additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. Br J Plast Surg. 1986 Oct;39(4):469-72.

123- Kwon ST, Jeong JH, Eun SC, et al. The effects of mega-dose ascorbic acid on skin flap survival: experimental study on rats. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2009 Dec;62(12):e641-2. Epub 2009 Feb1.

124- Zaccaria A, Weinzweig N, et al. Vitamin C reduces ischemiareperfusion injury in rat epigastric island skin flap. Ann Plast Surg 1994; 33: 620-623.

125- Yousuf S, Atif F, Ahmad M, Hoda MN, Khan MB, Ishrat T, Islam F. Selenium plays a modulatory role against cerebral ischemia-induced neuronal damage in rat hippocampus. Brain Research 2007; 1147: 218-225.

126- Tadolini B, Franconi F. Carvedilol inhibition of lipid peroxidation. A new antioxidative mechanism. Free Radic. Res. 1998; 29, 377-387.

127- Senderoff DM, Israeli D, Zhang WX, et al. .Iloprost improves survival of ischemic experimental skin flaps. Ann Plast Surg. 1994 May;32(5):490-5.

128- Maeda M, Fukui A, Tamai S: Combined therapy with antithrombotic agents and radicalscavengers for reperfusion injury of flaps. J Reconstr Microsurg 1991; 7: 233-243.

129- Mellow CG, Knight KR, Angel MF, et al. The effect of thromboxane synthetase inhibition on tolerance of skin flaps to secondary ischemia caused by venous obstruction. Plast Reconstr Surg. 1990 Aug;86(2):329-34.

130- Mittermayr R, Valentini D, Fitzal F, Hallstrom S, Gasser H, Redl H. Protective effect of a novel NO-donor on ischemia/ reperfusion injury in a rat epigastric flap model. Wound Repair Regen 2003; 11:3–10.

131- Knox LK, Stewart AG, Hayward PG, Morrison WA. Nitric oxide synthase inhibitors improve skin flap survival in the rat. Microsurgery 1994;15.708–711

132- Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu QY, Kirschner RE. The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. Plast Reconstr Surg. 1997 Oct;100(5):1227-33.

133- Cordeiro PG, Santamaria E, Hu QY. Use of a nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia-reperfusion injury. Plast Reconstr Surg. 1998 Nov;102(6):2040-8; discussion 2049-51.

134- Khiabani KT, Kerrigan CL. The effects of the nitric oxide donor SIN-1 on ischemia-reperfused cutaneous and myocutaneous flaps. Plast Reconstr Surg. 2002 Jul;110(1):169-76.

135- Cordeiro PG, Lee JJ, Mastorakos D, Hu QY, Pinto JT, Santamaria E. Prevention of ischemia-reperfusion injury in a rat skin flap model: the role of mast cells, cromolyn sodium, and histamine receptor blockade. Plast Reconstr Surg. 2000 Feb;105(2):654-9.

136- Iwata A, Harlan JM, Vedder NB, et al. The caspase inhibitor z-VAD is more effective than CD18 adhesion blockade in reducing muscle ischemia-reperfusion injury: implication for clinical trials. Blood. 2002 Sep 15;100(6):2077-80.

137- Das A, Xi L, Kukreja RC., 2005. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions

adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. J Biol Chem. Apr 1;280(13):12944-55.

138- Hashimoto I, Nakanishi H, Shono Y, et al. The features of thrombus in a microvesselinjury model and the antithrombotic efficacy of heparin, urokinase, and prostaglandin E1. Plast Reconstr Surg 2003; 111: 2307-2313.

139- Freitas FAS, Piccinato CE, Cherri J, Marchesan WG. Effects of Pentoxifilline and Heparin on Reperfusion Injury Island Skin Flaps in Rats Exposed to Tobacco. Journal of Surgical Research 2010;164:139–45

140- Saray A, Özakpınar R, Koç C, et al: Effects of chronic and short –term erythropoietintreatment on random flap survival in rats: an experimental study. Laryngoscope 2003; 113: 85-89.

141- Del Maestro, RF., Thaw, H.H, Björk, J., et all. Free radicals as mediators of tissue injury. Acta physiol. Scand. Suppl. 492:43,1980

142- Manson, P.N., Anthenelli, R.M., Im, M.J., et all. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps Ann. Surg. 198:87,1983

143- Kubes P, Hunter J, Granger DN. Effects of cyclosporin A and FK506 on ischemia/reperfusion-induced neutrophil infiltration in the cat. Dig Dis Sci. 1991 Oct;36(10):1469-72.

144- Cetin C, Kose AA, Aral E, et al. Protective effect of fucoidin(a neutrophil rolling inhibitor) on ischemia reperfusion injury: experimental study in rat epigastric island flaps. Ann Plast Surg 2001;47.540-6.

145- Siemionow M, Demirkan F, Rockwell WB, Lister GD: Anti- ICAM-1 antibodies protect allografts against microvascular and parenchymal cell damage. J Hand Surg 1997;22(5): 922-30.

146- Ueda K, Nozawa M, Nakao M, Miyasaka M, Byun SI, Tajima S. Sulfatide and Monoclonal Antibodies Prevent Reperfusion İnjury in Skin Flaps. Journal of Surgical Research 2000;88:125–9

147- Nakano H, Nagasaki H, Barama A, Boudjema K, Jaeck D, Kumada K, Tatsuno M, Baek Y, Kitamura N, Suzuki T, Yamaguchi M: The effects of N-acetylcysteine and anti-intercellular adhesion molecule-1 monoclonal antibody against ischemiareperfusion injury of the rat steatoticliver produced by a choline-methionine-deficient diet. 1997;26: 670-678.

148- Luo XY, Takahara T, Hou J, Kawai K, Sugiyama T, Tsukada K, Takemoto M, TakeuchiM, Zhong L, Li XK: Theaflavin attenuates ischemia-reperfusion injury in a mouse fatty liver model. Biochem Biophys Res Commun. 2012; 417: 287-293.

149- Maxhimer JB, Shih HB, Isenberg JS, Miller TW, Roberts DD. Trombospondin- 1-CD47 Blockade Following Ischemia Reperfusion Injury is Tissue Protective. Plast Reconstr Surg 2009;124(6):1880–9

150- Güngör M. Deri Fleplerinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Resveratrolün Etkinliğinin Değerlendirilmesi, CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Uzmanlık Tezi, Manisa;2011.

151- Vries B, Kohl J, Leclercq WK, et al. Complement factor C5a mediates renal ischemia-reperfusion injury independent from neutrophils. J Immunol 2003;170(7): 3883-9.

152- Lee, C., Kerrigan C.L., Picardi-Ami, L.A., Jr. Cyclophosphamide-induced neutropenia: Effect on postischemic skin flap survival. Plast. Recons. Surg.

153- Reibman J, Haines KA, Rich AM, Cristello P, Giedd KN, Weissmann G. Colchicine inhibits ionophore- induced formation of leukotriene B4 by human neutrophils: the role of microtubules. J Immunol. 1986 Feb 1;136(3):1027-32

154- Aydogan MS., Yucel A., Effects of Oral beta- Glucan on Liver Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. Transplant Proc. 2013 Mar;45(2):487-91.

155- Gulmen S, Kiris I, Kocyigit A, Glucan Protects against Lung Injury Induced by Abdominal Aortic Ischemia-Reperfusion in Rats. J Surg Res. 2010 Dec;164(2):e325-32

156- Irami Araújo-Filho., Amália Cínthia Meneses Rêgo., Prevention of bacterial translocation using β-(1-3)-D-glucan in small bowel ischemia and reperfusion in rats. Acta Cir. Bras. vol.21 suppl.4 São Paulo 2006

157- Cheung NK, Modak S, Vickers A, et al. Orally administered beta-glucans enhance anti-tumor effects of monoclonal antibodies. Cancer Immunol Immunother 2002;51.557.

158- Chan GC, Chan WK, Sze DM. The effects of b-glucan on human immune and cancer cells. J Hematol Oncol 2009;10.2–25.

159- Vetvicka V, Terayama K, Ostroff G, et al. Orally-administered yeast β-1,3- glucan prophylactically protects against antrax infection and cancer in mice. J of the Amer Nutraceutical Assc 2002; 5(2): 1–20.

160- Nakagawa Y, Ohno N, Murai T. Suppression by Candida Albicans b-Glucan of cytokine release from activated from human monocytes and from T cells in the presence of monocytes. J Infect Dis 2003;187:710.

161- Williams DL, Ha T, Li C, Kalbfleisch JH, Laffan JJ, Ferguson DA. Inhibiting early activation of tissue nuclear factor-nD and nuclear factor interleukin 6 with (1-3)-h-d-glucan increases long-term survival in polymicrobial sepsis. Surgery 1999; 126,54–65.

162- Nicolosi R, Bell SJ, Bistrian BR, et al. Plasma lipid changes after supplementation with b-glucan fiber from yeast. Am J Clin Nutr 1999;70.208.

163- Wei D, Williams D, Browder W. Activation of AP-1 and SP1 correlates with wound growth factor gene expression in glucan– treated human fibroblast. Int Immunopharmacol 2002;2:1163,

164- Askar I, Oktay MF, Gurlek A, et al. Protective effects of some antineoplastic agents on ischemia-reperfusion injury in epigastric island skin flaps. Microsurgery. 2006;26(3):193-9

165- Gideroglu K, Yilmaz F, Aksoy F, et al. Montelukast protects axial pattern rat skin flaps against ischemia/reperfusion injury. J Surg Res. 2009 Dec;157(2):181-6. Epub 2008 Aug 27.

166- Aslan C., Melikoglu C., Effect of epigallocatechin gallate on ischemia-reperfusion injury: an experimental study in a rat epigastric island flap. Int J Clin Exp Med 2014;7(1):57-66

167- Coskunfirat K., Cinpolat A., Comparing Different Postconditioning Cycles After Ischemia Reperfusion Injury in the Rat Skin Flap. Ann Plast Surg 2014;72: 104Y107

168- Toklu HZ, Şener G, Jahovic N, Uslu B, Arbak S, Yeğen BÇ. B-glucan protects against burn-induced oxidative organ damage in rats. Int Immunopharmacol 2006; 6(2): 156–169.

169- Şener G, Sert G, Şehirli AÖ, Arbak S, Uslu B, Gedik N, Ayanoğlu-Dulger G. Pressure ulcer-induced oxidative organ injury is ameliorated by β-glucan treatment in rats. Int Immunopharmacol 2006; 6(5): 724–732.

170- Firat C, et al. b-Glucan treatment prevents progressive burn ischaemia in the zone of stasis and improves burn healing: An experimental study in rats. Burns2012),doi:10.1016/j.burns.2012.02. 031

171- Bolcal C, Yildirim V, Doganci S, Sargin M, Aydin A, Eken A et al. Protective Effects of Antioxidant Medications on Limb Ischemia Reperfusion Injury. Journal of Surgical Research. 2007; 139(2):274-9.

172- Şener G, Toklu HZ, Çetinel Ş. B-Glucan protects against chronic nicotineinduced oxidative damage in rat kidney and bladder. Environ Toxicol Pharmacol 2007; 23: 25–32.

173- Koc E, Reis KA, Ebinc FA, Pasaoglu H. Protective effect of beta-glucan on contrast induced-nephropathy and a comparison of beta-glucan with nebivolol and N-acetylcysteine in rats Clin Exp Nephrol. 2011 Oct;15(5):658-65.

174- Shaki F., Pourahmad J., Mitochondrial Toxicity of Depleted Uranium: Protection by Beta-Glucan. Iran J Pharm Res. 2013 Winter; 12(1): 131–140.

175- Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H, et al. Beta-glucan attenuates inflammatory cytokine release and prevents acute lung injury in an experimental model of sepsis. Shock 2007;27.397.

176- Babayigit H, Kucuk C, Sozuer E, et al. Protective effect of b – glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. Intensive Care Med 2005;31.865.

177- Laight DW, Lad N, Woodward B, Waterfall JF. Assessment of myeloperoxidase activity in renal tissue after ischemia/reperfusion. Eur J Pharmacol 1994;292.81– 8.

T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Fatih KILIÇ'a ait "**Rat Abdominal Epigastrik Arter Flebinde Beta-Glukan'ın İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi''** adlı çalışma jürimiz tarafından **Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi** Anabilimdalı Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:…/…/2015

JÜRİ		**İmza**
Başkan	**:**	.....
Üye	:	.....
Üye	**:**	.....