

**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL TIKANMA SARILIĞINDA
BETA-GLUKAN'IN AKUT AKCİĞER HASARINA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ ÖZGÜR KORDON

BOLU

2010

**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL TIKANMA SARILIĞINDA
BETA-GLUKAN'IN AKUT AKCİĞER HASARINA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ ÖZGÜR KORDON

DANIŞMAN

PROF. DR. HAYRİ ERKOL

BOLU

2010

TEŞEKKÜR

Bu tezin planlanması, yürütülmesi ve sunuma hazırlanmasında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez danışmanlığımı yürüten değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hayri ERKOL'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. Cavit ÇÖL'e,

Tezin bütün aşamalarında yardımlarını eksik etmeyen, uzmanlık eğitimimde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nurettin KAHRAMANSOY'a,

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Neriman Şengül, Doç. Dr. Oğuz HASDEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Oktay BÜYÜKAŞIK'a,

Deney aşamalarında, laboratuvarını kullanımımıza açan, yardımlarını eksik etmeyen ve histopatolojik değerlendirmeleri yapan Prof. Dr. Aysel KÜKNER'e,

Tezin bütün aşamalarında desteğini hiç eksik etmeyen Dr. Tülin FIRAT'a,

Deney süresince yardım eden ve özveriyle çalışan Nilüfer ULAŞ'a,

Tezin biyokimyasal çalışmalarına destek veren Doç. Dr. Erdiç SERİN'e,

Özveriyle geç saatlere kadar çalışan Dr. Fatih ÖZCAN'a

Deneyin bütün aşamalarında destek veren Dr. Murat BOZGEYİK'e,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım değerli asistan arkadaşlarıma,

Asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım, servis ve ameliyathane hemşire ve personeline, poliklinik sekreterimize ve personelimize,

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hiç eksik etmeyen çok değerli KORDON ailesi bireylerine,

Uzmanlık eğitimim ve tez aşamalarında sıkıntılarım hep yanımda olan eşim IŞIL'a ve bana çalışma şevki veren sevgili kızım DURU'ya,

Sonsuz teşekkürler...

Dr. A. Özgür KORDON

BOLU – 2010

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. KARACİĞERİN ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ	4
2.2. SAFRA YOLLARI ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ.....	6
2.3. SAFRA FİZYOLOJİSİ	8
2.4. BİLİRUBİN METABOLİZMASI	9
2.5. TIKANMA SARILIĞI.....	11
2.5.1. <i>Tıkanma Sarılığının Nedenleri.....</i>	<i>12</i>
2.5.2. <i>Tıkanma Sarılığında Ortaya Çıkan Değişiklikler</i>	<i>13</i>
2.5.2.1. Genel Değişiklikler.....	13
2.5.2.2. Karaciğerdeki Histopatolojik Değişiklikler	16
2.5.2.3. Gastrointestinal Sistemde Ortaya Çıkan Değişiklikler	17
2.5.2.4. İmmün Sistemde Ortaya Çıkan Değişiklikler	17
2.5.3. <i>Tıkanma Sarılığı, Endotoksemi ve Akciğer Hasarı</i>	<i>18</i>
2.6. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR) VE ANTİOKSİDANLAR	19
2.6.1. <i>Serbest Oksijen Radikalleri (SOR).....</i>	<i>19</i>
2.6.1.1. Süperoksit (O_2^-)	21
2.6.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	21
2.6.1.3. Hidroksil Radikal ($OH^\cdot$).....	22
2.6.1.4. Nitrik Oksit ($NO^\cdot$).....	22
2.6.2. <i>Oksidatif hasarda SOR'nin rolü</i>	<i>23</i>
2.6.2.1. DNA	23
2.6.2.2. Lipidler	23
2.6.2.3. Proteinler.....	23
2.6.3. <i>Antioksidanlar</i>	<i>24</i>
2.6.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	24
2.6.3.2. Katalaz.....	24
2.6.3.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	24
2.6.3.4. Diğer glutasyon ilişkili sistemler.....	25
2.6.3.5. Düşük molekül ağırlıklı antioksidan bileşikler	25
2.7. LİPİD PEROKSİDASYONU.....	25
2.8. OKSİDATİF STRES	26
2.9. LİPİD PEROKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	27

2.10.	ANTIÖKSİDAN AKTİVİTENİN ÖLÇÜLMESİ.....	28
2.11.	MYELOPEROKSİDAZ (MPO).....	28
2.12.	BETA-GLUKAN	29
	<i>Fungal Beta-glukanların muhtemel etki mekanizması.....</i>	<i>30</i>
2.12.1.	<i>İmmün Stimülasyon</i>	<i>32</i>
2.12.1.1.	Doğal İmmüniteye Etkileri.....	32
2.12.1.2.	Adaptif İmmüniteye Etkileri.....	33
2.12.2.	Antioksidan Etkiler	33
2.12.3.	Hematopoetik Aktivite / İmmünmodülatör fonksiyonlar / Radyoprotektif Etkiler.....	34
2.12.4.	Doku Yenilenmesi ve Tamiri	34
2.12.5.	Adjuvant Etkiler	34
2.12.6.	Antineoplastik Etki	35
2.12.7.	Hiperkolesterolemi, Diabetes Mellitus, Hipertansiyon ve Yara İyileşmesine Etkisi:.....	36
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1.	CERRAHI TEKNİK:	38
3.2.	BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER:.....	39
3.2.1.	Serum Ölçümleri:.....	39
3.2.2.	Doku Ölçümleri:	40
3.3.	BRONKOALVEOLAR LAVAJ (BAL) SIVISI İNCELEMESİ:	41
3.4.	HİSTOPATOLOJİK İNCELEME:	41
3.5.	İSTATİSTİKSEL ANALİZ:	42
4.	BULGULAR.....	43
4.1.	HİSTOPATOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI:.....	43
4.1.1.	Karaciğer Dokusunun Histopatolojik Bulguları:	43
4.1.2.	Akciğer Dokusunun Histopatolojik Bulguları:.....	44
4.2.	BİYOKİMYASAL İNCELEME SONUÇLARI:.....	49
5.	TARTIŞMA	54
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
7.	KAYNAKLAR.....	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ALP:** Alkalen Fosfataz
ALT: Alanin Amino Transferaz
ARDS: Erişkin Tipi Solunum Zorluğu Sendromu
AST: Aspartat Amino Transferaz
BAL: Bronko Alveolar Lavaj
DC: Dentritik Hücre
DİC: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
GPx: Glutasyon Peroksidaz
GR: Glutasyon Redüktaz
GSH: Glutasyon
GSSG: Okside Glutasyon
KCFT: Karaciğer Fonksiyon Testleri
LDH: Laktat Dehidrogenaz
LPO: Lipid Hidroperoksit
LPS: Lipopolisakkarit
MDA: Malonil Dialdehit
MPO: Myeloperoksidaz
NAC: N-Asetil Sistein
NK: Natural Killer
PAMPs: Pathogen Associated Molecular Patterns
PGE2: Prostaglandin E2
PMNL: Polimorfonükleer Lökosit
PRRS: Pattern Recognition Receptors
RES: Retikulo Endotelyal Sistem
SOD: Süperoksit Dismutaz
SOR: Serbest Oksijen Radikalleri
Th: T Helper
TS: Tıkanma Sarılığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1: KARACİĞERİN SEGMENTER ANATOMİK GÖRÜNÜMÜ	5
ŞEKİL 2: SAFRA YOLLARI ANATOMİSİ	7
ŞEKİL 3: SOR VE ANTİOKSİDANLAR	21
ŞEKİL 4: 1,6 DALLI BETA-1,3-D-GLUKAN MOLEKÜL YAPISI.....	29
ŞEKİL 5: BETA-GLUKANA ARACILIK EDEN SİNYAL İLETİM YOLLARI	31
ŞEKİL 6: FUNGAL BETA-GLUKANLARIN DOĞAL VE ADAPTİF İMMÜNİTEYE ETKİLERİ	32
ŞEKİL 7: LAPAROTOMİ YAPILARAK KOLEDOKUN EKSPLORE EDİLMESİ VE LİGASYON YAPILMASI.....	39
ŞEKİL 8: GRUP KARACİĞER DOKUSU	43
ŞEKİL 9: GRUP KARACİĞER DOKUSU	44
ŞEKİL 10: GRUP 2 AKCİĞER DOKUSU	45
ŞEKİL 11: GRUP 2 AKCİĞER DOKUSU	45
ŞEKİL 12: GRUP 3 VE GRUP 4 AKCİĞER DOKUSU.....	46
ŞEKİL 13: GRUP 5 AKCİĞER DOKUSU	46
ŞEKİL 14: GRUP 3 VE 4 KARACİĞER DOKUSU.....	48
ŞEKİL 15: GRUP 5 KARACİĞER DOKUSU	48
ŞEKİL 16: SERUM SOD VE MPO DEĞERLERİ GRAFİĞİ.....	51
ŞEKİL 17: AKCİĞER DOKU MDA, LPO VE GLUTATYON DEĞERLERİ GRAFİĞİ.....	52

TABLOLAR DİZİNİ

TABLO 1: MAJÖR SOR MOLEKÜLLERİ	20
TABLO 2: BİLİNER BETA-GLUKAN RESEPTÖRLERİNİN KAYNAĞI VE ETKİLERİ	31
TABLO 3: AKCİĞER DOKUSUNUN HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA SONUÇLARI	47
TABLO 4: AST,ALT,GGT,ALP DEĞERLERİ	49
TABLO 5: LDH, T.BİL, D.BİL, T.PRT, ALB DEĞERLERİ	50
TABLO 6: SERUM SOD VE MPO DEĞERLERİ	51
TABLO 7: AKCİĞER DOKU MDA, LPO VE GLUTATYON DÜZEYLERİ	52
TABLO 8: BAL SIVISINDA LDH DÜZEYLERİ	53

ÖZET

Ali Özgür KORDON, Deneysel Tıkanma Sarılığında Beta-Glukanın Akut Akciğer Hasarına Etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Bolu, 2010. Tıkanma sarılığı, sık görülmesi ve yüksek morbidite ve mortalite oranları nedeniyle genel cerrahinin önemli konularından biridir. Tıkanma sarılığında ortaya çıkan endotoksemi, bakteriyel translokasyon, lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri, kardiyovasküler disfonksiyon, pulmoner hasar, renal ve hepatik disfonksiyon ve sepsis gibi komplikasyonların major sebepleridir. Bu komplikasyonlardan biri olan pulmoner disfonksiyon ve ilerleyen süreçte gelişen ARDS sonucu mortalite artmaktadır. Beta-glukanlar güçlü immün stimülatör ve antioksidan olarak bilinmektedir. Güçlü immün stimülatör ve antioksidan özellikleri nedeniyle, beta-glukanın tıkanma sarılığında ortaya çıkan akciğer hasarını önlemede etkili olacağı düşünüülerek bu çalışma planlandı.

Çalışmada, 35 adet Wistar Albino cinsi rat, her grupta 7 rat olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Grup 1’de, sadece laparotomi yapıldı. Grup 2’ de, laparotomi yapılarak koledok ligasyonu yapıldı. Grup 3’ de, koledok ligasyonu yapıldıktan sonra 10 gün beta-glukan tedavisi verildi. Grup 4’ de, ligasyon öncesi ve sonrası 10 gün beta-glukan verildi. Grup V de ise, sadece ligasyon öncesi 10 gün beta-glukan verildi. Tüm gruplarda, ligasyon sonrası 11. gün ratlar kurban edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

Bulgular değerlendirildiğinde, beta-glukan verilen gruplarda, karaciğer fonksiyon testlerine olumlu etkileri olduğu görüldü. Grup 2’de, lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve nötrofil infiltrasyonu göstergesi olan, doku MDA ve LPO, serum MPO değerlerinin arttığı, doku GSH ve serum SOD değerlerinin azaldığı görüldü. Ligasyon sonrası beta-glukan verilen gruplarda ise doku MDA ve LPO, serum MPO değerlerinin anlamlı olarak düştüğü, doku GSH ve serum SOD değerlerinin anlamlı olarak arttığı görüldü. Histopatolojik olarak, beta-glukan verilen gruplarda akciğer hasarının daha az olduğu görüldü.

Sonuç olarak, bu çalışmada, tıkanma sarılığında beta-glukanın akciğer hasarına karşı koruyucu ve tedavi edici etkisi olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tıkanma Sarılığı, Beta-glukan, Akciğer Hasarı

ABSTRACT

Ali Özgür KORDON, The Effect of Beta-glucan on Acute Lung Injury in experimental obstructive jaundice, Medical Speciality Thesis, Bolu, 2010.

Obstructive jaundice is one of the important issues of general surgery as its high incidence and the rate of morbidity and mortality is high. Endotoxemia, bacterial translocation, lipid peroxidation, and free oxygen radicals that occur in obstructive jaundice are the major reasons of complications such as cardiovascular dysfunction, pulmonary injury, renal and hepatic dysfunction and sepsis . Because of pulmonary dysfunction and ARDS in the following period, mortality increases. Beta-glucans are known as powerful immune stimulators and as antioxidants. Because of these effects, this study is planned as it is thought to be effective in the prevention of lung injury in obstructive jaundice.

In our study, 35 Wistar Albino rats were divided into five groups which were 7 rats in each group randomly. Only laparotomy was performed in group I. Bile duct ligation was performed by laparotomy in group II. The rats in group III were treated with beta-glucan for 10 days after bile duct ligation. The rats in group IV were treated with beta-glucan for 10 days before and after bile duct ligation. The rats in group V were treated with beta-glucan for 10 days before bile duct ligation. All rats in each group were sacrificed and blood and tissue samples were collected at eleventh day after bile duct ligation.

Results showed that beta-glucans were found to have positive effects on liver functions in obstructive jaundice. Tissue MDA and LPO, serum MPO values increased and tissue GSH and serum SOD values were found to decrease as an indicator of lipid peroxidation, oxidative stress and neutrophil infiltration in group II. Tissue MDA and LPO, serum MPO values decreased and tissue GSH and serum SOD were found to increase in groups treated with beta-glucan. Histopathological evaluation showed that groups treated with beta-glucan were found to be less damage in lung.

As a result of this study, beta-glucan has a protective and treatment effects against lung injury in obstructive jaundice.

Key words: Obstructive jaundice, beta-glucan, lung injury

1. GİRİŞ

Tıkanma sarılığı operatif teknikler ve etkili geniş spektrumlu antibiyotiklerdeki gelişmelere karşın, pek çok sisteme olumsuz yönde etkileri olması, sık görülmesi ve yüksek morbidite ve mortalite oranları olması nedeniyle Genel Cerrahinin önemli problemlerinden biridir. Kardiyovasküler disfonksiyon, periferik vazokonstriksiyon, gastrointestinal kanama, koagülopati, renal ve hepatik disfonksiyon ve sepsis bu morbidite ve mortaliteye etki eden major komplikasyonlardandır (1).

Tıkanma sarılığı bulunan hastalarda uygulanan cerrahi girişimlerden sonra, yara iyileşmesinde gecikme gibi minör sorunların yanı sıra renal yetmezlik ve multiorgan yetmezliği gibi ağır komplikasyonlar da hastaların hayatını tehdit etmektedir. Bu komplikasyonların gelişiminde, bakteriyel translokasyon ve endotokseminin önemli rolünün olduğu bilinmektedir (2).

Tıkanma sarılığında, safra tuzlarının sindirim kanalında normalde sağladıkları anti-endotoksin etkinin ortadan kalkması nedeniyle, portal sisteme geçen endotoksin miktarında artma olmaktadır. Bu artan endotoksinler, tıkanma sarılığı nedeniyle, zaten işlevleri bozulan Kupfer hücreleri tarafından yeterli fagositoz yapılamaması nedeniyle, sistemik dolaşıma geçmektedirler. Ortaya çıkan endotoksemi inflamatuvar yanıtı tetiklemekte, böylece kontrol edilemeyen inflamatuvar yanıt ve artan Serbest oksijen radikalleri (SOR), akciğer hasarına ve fibrozisine, multiorgan disfonksiyonuna ve ilerleyen dönemde ölüme neden olabilmektedir (3,4).

Bakteriyel translokasyon, intestinal lümeninden mezenterik lenf nodlarına ve sistemik dolaşıma, özellikle gram-negatif bakterilerin geçişi olarak tanımlanır. Bakteriyel translokasyon için üç ana etyolojik faktör vardır: 1- İntestinal mukozal bariyerin değişmesi, 2- İntestinal bakteri florasının değişmesi ve 3- Konakçının immün defans mekanizmasının değişmesidir. Retiküloendotelyal sistem (RES), bakteriyel disseminasyonun önlenmesinde merkezi bir rol oynar. RES kandan mikroorganizmaları ve endotoksinleri temizler ve infeksiyonlara karşı savunur. RES'in önemli bir parçası olan hepatik makrofajların fonksiyonu tıkanma sarılığı sırasında baskılanır (5).

Tıkanma sarılığı oluşturulmuş deney hayvanlarında, doku hasarının patogeneziindeki diğer sebepler, lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen

radikallerinin oluşumudur (6).

Ana safra kanalı bağlanmış deney hayvanlarında SOR'ni ortamdan uzaklaştıran glutatyon, katalaz ve superoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır. Böylece, SOR'nin oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar (7). SOR tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur. Aktive olmuş polimorfonükleer lökositler; SOR, arasıdonik asit ürünleri ve elastaz gibi proteolitik enzimleri salgılar (8,9).

Aktive olmuş ve küçük hava yollarında birikmiş olan inflamatuvar hücreler, reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını arttırırken bu radikallerin ortamdan uzaklaştırılmasını sağlayan faktörleri de azaltır. Böylece, akciğer hasarını ve fibrozisini gerçekleştirir (10).

SOR'nin çoğu, hastalıkların primer sebebi olmasalar da patogeneezlerinde rol oynar ve doku hasarını arttırırlar. Bu nedenle, antioksidanlar klinikte kullanılmaktadır. SOR ile ilişkili tek veya çoklu organ tutulumu olan birçok hastalık tanımlanmıştır. Erişkin tipi solunum zorluğu sendromunda (ARDS) alveolar epitel hasarı, mikrosirkülatuvar hasar, alveolar ve interstisyel ödem olmaktadır. Erken dönemde nötrofil, geç dönemde mononükleer hücre infiltrasyonu sonucunda, bu hücrelerden açığa çıkan SOR, ARDS den sorumlu tutulmaktadır (11).

Akaike ve arkadaşları, fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada influenza virüs enfeksiyonunda süperoksit dismutaz (SOD) enziminin nötrofiller ve ksantin oksidaz enzimi tarafından oluşturulan doku hasarını önleyerek mortaliteyi azalttığını göstermişlerdir (12).

Glukanlar, fungusların ve bazı bakterilerin hücre duvarının majör içeriği olan glukoz polimerleridirler. β -glukanlar güçlü immün stimülatörler olarak kabul edilmektedirler. Hem doğal immüniteyi hem de adaptif immüniteyi etkilemektedirler. Literatürde, β -glukanların antioksidan etkilerinin yanısıra anti tümör aktivitesi olduğunu, antiviral, antibakteriyel, antifungal aktivitelerinin olduğunu, hiperkolesterolemi üzerine yararlı etkileri olduğunu, kan glukoz konsantrasyonunu düşürdüğünü, kan basıncını kontrol ettiğini, yara iyileşmesine yararlı etkileri olduğunu ve skar dokusunu azalttığını gösteren yayınlar bulunmaktadır (13).

Çözülebilir β -glukanlar oral olarak alındığında gastrointestinal sistemden

emilerek sistemik dolaşıma katılmaktadırlar. Dolaşıma katılan β -glukan, monosit ve nötrofiller üzerindeki reseptörlere kompetitif olarak bağlanır. Güçlü bir makrofaj stimülatörü olduğundan makrofaj sitotoksitesini ve fagositik kapasitesini arttırmaktadır (14).

Tıkanma sarılığı sonucu önce karaciğerde, daha sonra da akciğer gibi birçok organda fonksiyonel ve histopatolojik hasar oluştuğu bilinmektedir. Oluşan hasarın önlenmesi, azaltılması veya geri döndürülmesi hastalardaki morbidite ve mortalite açılarından önemlidir.

Bu çalışma, deneysel tıkanma sarılığı modelinde beta-glukan ile arttırılmış immün modülasyonun akciğer üzerine koruyucu etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

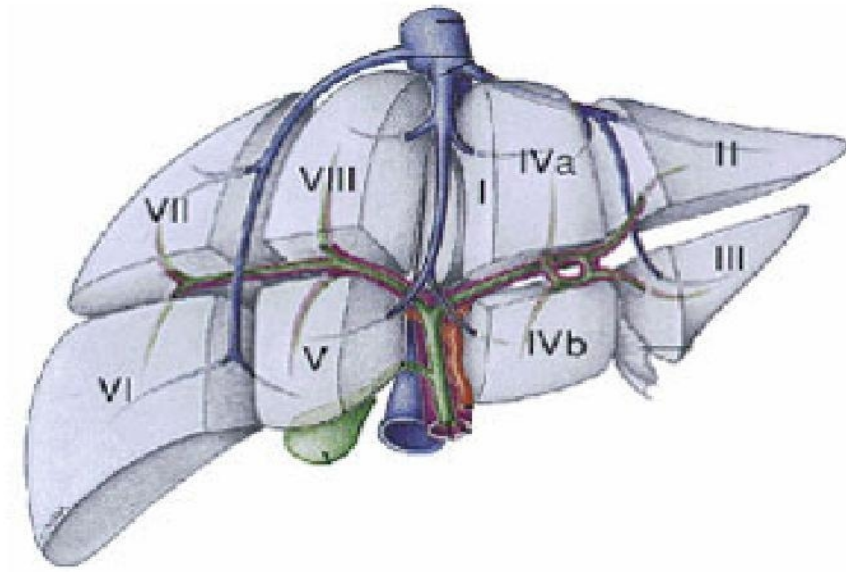
2.1. Karaciğerin Anatomi ve Histolojisi

Vücudumuzun en önemli organlarından biri olan karaciğer, 1200-1600gr arasında değişen ağırlığı ile en büyük organımızdır. Vücut ağırlığımızın yaklaşık %2'sini oluşturur. Karaciğer, karın boşluğunun üst tarafında sağ hipokondrium ve epigastriumdan sol hipokondriuma kadar uzanır. Üzeri Glisson kapsülü adı verilen peritonla örtülüdür. Karaciğerin arka-alt bölümünde v.cava inferior ve hepatik venlere yakın bölümü peritonsuzdur. Buraya çıplak alan (bare area) adı verilir.

Karaciğerin viseral ve diyafragmatik olmak üzere iki yüzü vardır. Diyafragmatik yüzün üstte diyafragma ile, viseral yüzün ise hepatik fleksura, transvers kolon, safra kesesi, duodenum, mide ve özofagus ile komşuluğu vardır (15,16). Peritonun karaciğer üzerinde oluşturduğu Glisson kapsülü iki yaprağa ayrılarak diyafragmaya yapışır. Böylece, ön ve arka koroner ligamanlar oluşur. Koroner ligamanlar sağ ve solda birleşerek sağ ve sol trianguler ligamanları oluştururlar. Koroner ligamanların önde birleşmesi ile falsiform ligaman oluşur. Ligamentum Teres Hepatis falsiform ligaman içindedir. Genel olarak embriyolojik dönemden kalan sol umbilikal ven kalıntısının oluşturduğu bağıdır (17,18).

Fransız cerrah Couinaud'un yaptığı fonksiyonel anatomi tanımı, karaciğerin segmenter anatomisi için en uygun yaklaşımdır. Fonksiyonel anatomi portal ven ve major hepatik venlerin dağılımı esas alınarak yapılmıştır. Orta hepatik venin bulunduğu çizgi Cantlie çizgisine uyar (ana fissür). Cantlie çizgisi karaciğeri iki ana loba ayırır. Sağ karaciğer lobu, sağ hepatik venin bulunduğu portal fissür ile anterior (anteromedial) ve posterior (posterolateral) sektörlere ayrılır. Hepatik fissürler, sağ karaciğerdeki sektörleri, inferior ve süperior segmentlere ayırır. Sol karaciğer, sol portal fissür ile medial ve lateral sektörlere ayrılır. Buna göre posterior sektör segment 2'den, sol medial sektör segment 3 ve segment 4'ten, sağ anterior sektör segment 5 ve segment 8'den, sağ posterior sektör ise segment 6 ve segment 7'den oluşur (18)(Şekil-1).

Karaciğerin arteriyel beslenmesi A.hepatika propria'dan olur. Trunkus çöliakus'un bir dalı olan a.hepatika communis'ten çıkarak, hepatoduodenal ligaman içinde vena porta ve koledok ile birlikte uzanır. Porta hepatis seviyesinde sağ ve sol iki dala ayrılır. Vena portanın dalları ile birlikte karaciğer içinde dağılır (16).



Şekil 1: Karaciğerin segmenter anatomik görünümü (15)

Karaciğerin, portal ve hepatik olmak üzere iki ana grup veni vardır. Portal ven, splenik ven, süperior mezenterik ven ve inferior mezenterik venin birleşmesi ile oluşur. Hilusta, sağ ve sol iki dala, bazen de üç dala ayrılır. Portal ven, karaciğer içinde segmentlere göre dağılır. Sentral venler, birleşerek vena hepatikaları oluştururlar. Karaciğerin sağ lobunun kanı, sağ hepatik ven ile v. cava inferior'a boşalır. Sol hepatik ven, karaciğer sol lobunun 2. ve 3. segmentlerinin kanını alır ve orta hepatik venle birleşerek v. Cava inferior'a dökülür (15,16).

Karaciğerin derin lenf damarlarının çoğu, porta hepatis'e gelerek buradaki hepatik lenf düğümlerine, bunların bir kısmı da, safra kesesi boynunun etrafındaki lenf nodülleri ile bursa omentalis çevresindeki lenf nodüllerine açılır. Hepatik lenf nodlarından çıkan lenf damarları da çöliak lenf nodlarından geçerek ductus thoracicus'a açılırlar. Derin lenf damarlarının bir kısmı, v. hepatica'ları takip ederek diafragmadaki foramen vena cava'ya gelirler. Daha sonra süperior frenik lenf nodlarına, buradan da parasternal lenf nodlarına açılırlar. Karaciğerin yüzeysel lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e giren derin lenf damarları ile birleşerek hepatik lenf nodlarına, daha sonra da çöliak lenf nodlarına açılırlar. Buralardan çıkan lenf damarları da sağ truncus lymphaticus ve daha sonra da ductus thoracicus'a açılırlar (17).

Karaciğerin inervasyonu medulla spinalis'in T9 ve L1 segmentlerinden gelen sempatik liflerle ve vagus sinirinden gelen parasempatik liflerle olur.

Karaciğerin histolojisinde lobül yapısı görülür. Lobül yapısının ortasında bir hepatik ven dalı yani santral ven bulunur. Santral venden periferie doğru ışınal tarzda uzanan sinüzoidler ve parankim hücreleri bulunur. Klasik bir lobül, altıgen şeklindedir. Bu altıgenin köşelerinde de portal ven, hepatik arter ve safra kanalının bulunduğu portal triadlar yerleşmiştir. Portal ven ve hepatik arterin uç dalları sinüzoidlerle temas halindedir. Sinüzoidler terminal hepatik venüllere drene olurlar. Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasında disse aralığı bulunur. Endotel tabakası hücreleri arasında da fagositoz fonksiyonu olan Kupfer hücreleri bulunur (15,17).

Safra yolları, kanaliküller olarak başlar. Hepatositler tarafından oluşturulan safra, bu kanaliküllere drene olur. Daha sonra, safra bu kanaliküller ile intralobüler duktuslara, oradan da daha büyük safra kanallarına dökülerek ekstrahepatik safra yollarını oluştururlar (17,18).

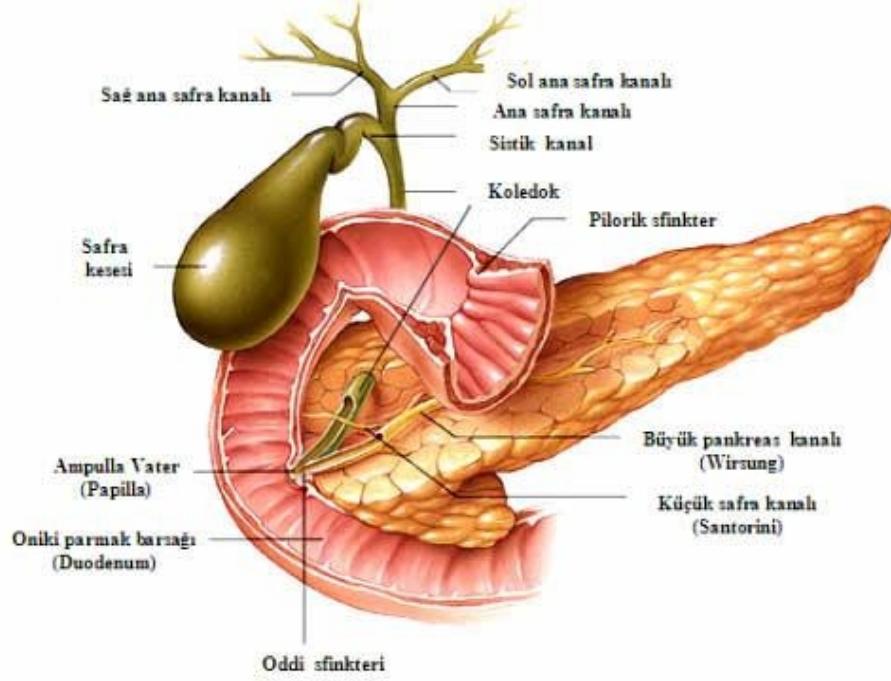
2.2. Safra Yolları Anatomi Ve Histolojisi

Safra yolları ve karaciğer, ön barsağın ventral yüzündeki divertikülden oluşmuştur. Bu divertikülün kranial bölümünden karaciğer, kaudal bölümünden pankreas ve ara bölümünden de safra kesesi meydana gelir.

Ekstrahepatik safra yolları sağ ve sol hepatik kanallarla başlar. Sağ ve sol hepatik kanallar birleşerek, duktus hepaticus communis'i oluştururlar. Duktus hepaticus communis, sistik kanal ile birleştikten sonra duktus koledokus olarak uzanır (17,18)

Klinik uygulamada, ekstrahepatik safra kanalı üç kısımda incelenir (19). Ekstrahepatik safra kanallarının üst ya da proksimal kısmı, sağ ve sol hepatik duktuslarla başlar ve sistik kanalla koledokun birleşim yerine kadar devam eder. Ekstrahepatik safra kanallarının orta kısmı, koledoktan başlar ve pankreas üst sınırına kadar devam eder. Ekstrahepatik safra kanallarının distal kısmı ise pankreasın üst sınırından ampuller bölgeye uzanan koledokun intrapankreatik kısmıdır ve bu bölgenin değişik anatomik ve klinik özellikleri vardır (19,20) (Şekil-2).

Koledok yaklaşık 9 cm uzunluğunda olup duodenumun 2. kıtasının arka yüzünden duodenuma açılır. İnsanların %90'ında, koledok duodenuma açılmadan önce pankreas kanalıyla birleşir ve yaklaşık 1 cm.'lik bir ortak kanal oluştururlar. Bu ortak kanal Oddi sfinkteriyle çevrilidir.



Şekil 2: Safra yolları anatomisi (21)

Koledok 4 ana bölüme ayrılır:

- Supraduodenal bölüm
- Retroduodenal bölüm
- İntrapankreatik veya retropankreatik bölüm
- İntramural veya intraduodenal bölüm

Safra kesesi karaciğerin alt yüzüne yerleşmiş 50cc. kadar hacmi olan bir organımızdır. Fundus, korpus, infundibulum ve boyun olmak üzere dört anatomik bölümü vardır. Boyun kısmı, aşağı doğru cepleşerek infundibulum veya Hartman cebini oluşturur. Kese ile karaciğer arasında, doğrudan ilişkili olan küçük safra kanalları olabilir. Bunlara *Luschka kanalları* denir.

Ekstrahepatik safra yollarının yukarıda bahsedilen anatomik yapısı, insanların sadece 1/3'ünde bulunur. Safra yollarının varyasyonları oldukça sık görülmektedir (19). Sistik kanal yaklaşık 3-5 cm uzunluğunda ve 2-4 mm çapındadır. İnsanların %75'inde koledoka dik bir açı yaparak birleşir. Hemen arkasında sağ hepatik arter bulunur. Sistik kanalın hepatik kanalla birleşmesi çok değişkenlik gösterir. Sistik kanal hepatik kanala paralel seyredebilir, yapışık olabilir, duodenuma hepatik kanal ile birlikte açılabilir (16,17).

2.3. Safra Fizyolojisi

Karaciğerin önemli fonksiyonlarından biri de, günlük 600-1200 ml safra salgılamasıdır. Safranın iki önemli görevi vardır. Bunlardan birincisi, yağların sindirim ve emilimindeki işlevidir. Safra asitleri yağların pankreas lipazı tarafından parçalanabilecek küçük parçalara ayrılmasını sağlarlar. Ayrıca yağların sindirim ürünlerinin barsak mukozasından emilim ve taşınmasına yardım ederler. Safranın ikinci işlevi ise kolesterol ve bilirubin gibi yıkılım ürünlerinin atılmasının sağlanmasıdır (22).

Karaciğerden safra salgılanması iki aşamada gerçekleşir. Birincisi hepatositler tarafından safranın üretilmesidir. Bu ilk salgıda safra asitleri, kolesterol ve diğer organik maddeler bulunur. İkinci aşama ise üretilen safranın interlobüler septumlara ve buradan da safra kanallarına akışıdır. Safra kanallarından geçerken bu salgya sodyum ve bikarbonat iyonları da eklenir. Büyük safra kanallarına geçen safra salgısı ya duodenuma dökülür ya da safra kesesinde depolanır. Safra salgısı, duodenumda gereksinim doğuncaya kadar safra kesesinde depolanır ve konsantre edilir. Safra kesesinin hacmi 50 ml kadardır (22,23). Safranın bileşiminde safra tuzları, bilirubin, kolesterol, lesitin ve normal plazma elektrolitleri bulunur. Safra kesesinde konsantre edilme aşamasında, kalsiyum iyonları hariç su ve elektrolitlerin büyük kısmı safra kesesi mukozası tarafından emilir. Safra tuzlarının diğer bileşenleri olan kolesterol ve lesitin safra kesesi tarafından absorbe edilmez. Böylece, safra kesesinde safra ileri derecede konsantre edilmiş olur (22).

Yemeklerden yaklaşık 30 dakika sonra, yağ içeren besinlerin duodenuma geçmesiyle kese duvarında ritmik kontraksiyonlar başlar ve safra duodenuma boşalır. Aynı anda, ortak safra kanalında da bir kontraksiyon ve Oddi sfinkterinde gevşeme olur. Safra kesesinde, kontraksiyonları başlatan en güçlü uyaran kolesistokinin hormonudur. Bunun dışında safra kesesi vagus ve enterik sinir sistemindeki asetilkolin salgılayan sinir lifleri tarafından da uyarılır. Safra kesesinin etkili boşalabilmesi için hem safra kesesinde kontraksiyon olmalı hem de Oddi sfinkterinde gevşeme olmalıdır. Buna yardım eden üç faktör vardır (22):

- Kolesistokinin Oddi sfinkterinde gevşetici etkiye sahiptir.
- Safra kesesinde başlayan peristaltik dalgalar distale doğru ilerleyerek Oddi sfinkterinde gevşemeye yardım eder.

- Peristaltik dalganın duodenum duvarına ilerlemesi, hem Oddi sfinkterinde hem de duodenumda gevşemeye neden olur. Sonuç olarak safra duodenumdaki peristaltik dalgaların gevşeme fazı ile senkron olacak şekilde duodenuma dökülür.

Karaciğer hücreleri her gün yaklaşık 0.6 gr safra tuzu sentezler. Safra tuzlarının ön maddesi daha sonra kolik asit ve kenodeoksikolik asite dönüşen kolesteroldür. Bu asitler de daha sonra glisin ve taurin ile birleşerek gliko ve tauro konjuge safra asitlerini oluştururlar. Safra tuzlarının barsak lümeninde iki önemli etkileri vardır. Bunlardan birincisi emülsifiye edici (deterjan etkisi) fonksiyonlarıdır. Bu etki ile partiküllerin yüzey gerilimini azaltarak yağların küçük parçalara ayrılması ve karıştırılması sağlanır. İkinci etkileri ise yağ asitlerinin, monogliseritlerin, kolesterol ve diğer lipidlerin barsak kanalından emilimine yardım eder. Bunu lipidlerle miçel denilen kompleksler oluşturarak yaparlar. Miçeller safra tuzlarının elektriksel yükleri nedeniyle ileri derecede çözünür maddelerdir. Lipidler bu yapı içinde mukozadan geçebilme özelliği kazanarak absorbe olurlar. Barsağa geçmiş olan safra tuzlarının yaklaşık %94 kadarı, distal ileumdan aktif transportla geri emilir. Portal kana geçen safra tuzları böylece tekrar karaciğere geçer. Safra tuzlarının bu dolaşımına entero hepatik dolaşım denir (19).

Safranın normal salınma basıncı 12-25 cmH₂O kadardır. Bu basınç 30 cmH₂O üzerine çıktığında karaciğerden safra salgısı inhibe olur. Basınç yükselince başta kolesterol olmak üzere safra tuzları ve fosfolipidlerin karaciğerden salınımı azalır. Normal bir safra akımının olabilmesi için ekstrahepatik safra yolu basıncının 10-15 cmH₂O olması gerekir (19).

2.4. Bilirubin Metabolizması

Normal serum bilirubin düzeyi 0.5-1.0 mg/dl arasındadır. Günde yaklaşık 4 mg/kg bilirubin yapılır. Bunun %80-85'i yaşlanmış eritrosit hücresi içindeki hemoglobinin hem grubunun katabolizmasından kaynaklanır. Hem grubu retiküloendotelyal sistemde parçalanarak biliverdine, bu da okside olarak suda erimez bir tetrapiröl olan bilirubine dönüşür. Bilirubinin %15-20'si de kemik iliğinde olgunlaşmakta olan eritrosit hücrelerinin yıkımından ve sitokrom P-450 ve sitokrom-C gibi eritrosit kökenli hemoproteinlerin hem gruplarından oluşur (20).

Plazmaya salınan bilirubin, albumine bağlı olarak karaciğere taşınır.

Karaciğerde bilirubinin üç evresi vardır: Alım, Konjugasyon, Safra içine atılım.

Non-konjuge bilirubin, suda erimez ve safraya atılmaz. Ancak, polar olmayan bu molekül yağdan zengin ortamda erir ve kolaylıkla kan-beyin engelinden ve plasentadan geçer. Bilirubin, bir şeker olan glukuronik asitle bağlanarak suda çözünür özellik kazanır ve safraya atılabilir. Karaciğerin endoplazmik retikulumunda, UDP-glukuronil transferaz enziminin katalize ettiği bir işlemle, bilirubin mono ve diglukuronidler oluşur. Konjuge bilirubinin, safraya atılımının bozulduğu durumlarda, pigment hepatositlerden plazmaya geri geçer. Konjuge bilirubin hem suda erir, hem de non-konjuge bilirubine oranla albumine daha gevşek bağlanır. Böylece, plazma düzeyleri yükseldiğinde, glomerullardan kolaylıkla süzülür ve idrara geçer. Non-konjuge bilirubin, glomerullardan süzülmez ve idrarla atılamaz. Safra ile atılan konjuge bilirubin, barsaktan geri emilmez. Ancak, barsaktaki bakterilerin etkisiyle ürobilinojen adı verilen renksiz tetrapirellere dönüştürülür. Ürobilinojenin, yaklaşık %20'si geri emilerek enterohepatik dolaşıma katılır ve az bir bölümü de idrarla atılır. Dışkıdaki ürobilinojenin çoğu, barsak bakterileri tarafından okside edilerek sterkobiline döner. Dışkının tipik rengini veren de bu maddedir (20,22).

Sarılığın Sınıflandırılması

1)Non-konjuge (indirekt) hiperbilirubinemi

a-Aşırı yapım

- Hemoliz
- İnefektif eritropoez

b-Karaciğerin azalmış alımı

- İlaçlar
- Yenidoğan sarılığı

c-Azalmış konjugasyon

- Gilbert sendromu
- Crigger-Najjar sendromu tip I ve II
- Yenidoğan sarılığı
- Hepatosellüler hastalık
- İlaç inhibisyonu

2)Konjuge (Direkt) hiperbilirubinemi

a-Karaciğer salgılama bozukluğu

- Ailesel hastalıklar (Dubin-Johnson Sendromu, Rotor Sendromu, benign tekrarlayan kolestaz, gebelik sarılığı)
- Karaciğer hücre hastalığı
- İlaça bağlı kolestaz
- Primer bilier siroz
- Sepsis
- Ameliyat sonrası sarılık

b-Eksrahepatik Safra Yolu Obstrüksiyonu (Tıkanma Sarılığı)

2.5. Tıkanma Sarılığı

Sarılık, bilirubinin sklera, deri ve muköz membranlarda birikimi ile kendini gösteren bir klinik tablodur. Tıkanma sarılığı ise; safra yollarının, herhangi bir seviyesinde çeşitli patolojilere bağlı olarak safra akımının kısmen veya tamamen durması ile ortaya çıkan klinik tablodur. Sarılıklı hastalarda serum bilirubin düzeyi 2-3 mg/dl'nin üzerine çıktığında, deri ve skleralardaki sararma klinik olarak görülür hale gelir. Sarılığın yoğunluğu ve hiperbilirubineminin derecesi, plazmadan hücreler arası sıvıya difüzyon hızı ve pigmentin dokularda bağlanması gibi pekçok faktöre bağlıdır.

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında, safra barsağa geçemeyince safra tuzları ve bilirubin birikir. Safra tuzları ve bilirubinin toksik etkileri olup sistemik ve hepatik fonksiyonlarda değişiklikler oluştururlar (23). Safra yolu tıkanıklığında, safra basıncı artar ve karaciğerde histopatolojik değişiklikler görülür. Safra yolu tıkanıklığı uzun sürerse siroz gelişimine öncülük eder. Safra yolunun akut tıkanıklıklarında, en erken bulgu kanaliküler kolestaz olup daha sonra safra duktus hücreleri proliferer olur. Olay kronikleşirse, periduktal bağ dokusu artışı ve fibröz tabakalar ortaya çıkar (24). Bu durum, periportal ve periseptal alanlarda değişikliklerle kendini gösterir. Devam eden kolestaz neticesi, karaciğerde yapısal anomaliler ve nodüler parankimal hiperplazi görülür. Sonuç olarak obstrüktif bilier sirozun tipik görüntüsü oluşur (25). Siroz patogenezinde temel patoloji olan karaciğer fibrozu, karaciğerde başta kollagen

olmak üzere, hücre dışı matriks proteinlerinin birikimi ile karakterizedir. Hücre dışı matriks proteinleri hasarlı karaciğerdeki disse aralığındaki satellit hücreler tarafından üretilirler. Bunlar da, karaciğer fibrozunu oluşturur. Üretilen hücre dışı matriks proteinleri; kollagen tip-1, tip-3 tip-4 ile fibronektin, laminin ve proteoglikanlardır. Bunlardan en çok üretileni de, kollagen tip-1 ve tip-3'dür (26).

2.5.1. Tıkanma Sarılığının Nedenleri

Tıkanma sarılığı konjenital ve edinsel patolojilere bağlı olarak ortaya çıkabilir (27).

Konjenital Nedenler:

- Safra kanalı agenezisi, hipoplazisi veya stenozu
- Koledok ve pankreas duktusları-duodenum birleşim anomalileri
- Koledok kisti, koledokosel

Edinsel Nedenler:

- Safra Taşları
- Neoplazmlar
 - Safra kanalları, pankreas, duodenum, ampulla, safra kesesi veya karaciğerin primer tümörleri
 - Safra kanallarını komprese eden veya direkt olarak invaze eden sekonder tümörler
- Striktürler
 - Postoperatif (iyatrojenik)
 - Kronik pankreatit ile ilişkili
 - Posttravmatik
 - Ampuller stenoz ile ilişkili
 - Sklerozan kolanjite bağlı (primer veya sekonder)
 - Koledok veya hepatik safra kanallarında
 - Safra kesesinde (Mirizzi sendromu)
 - Bilio-enterik anastomoz disfonksiyonu
- Diğer nedenler:
 - Parazitler
 - Arteriyel anevrizmalar

- Duodenum divertikülleri

2.5.2. Tıkanma Sarılığında Ortaya Çıkan Değişiklikler

2.5.2.1. Genel Değişiklikler

Tedavi edilmeyen tıkanma sarılığının komplikasyonları arasında kolanjit, koagülasyon defektleri, biliyer fibrozis, siroza ilerleyen karaciğer hasarı ve multiorgan yetmezlik vardır. Tıkanma sarılığı teşhis edildiği zaman, genellikle cerrahi ve radyolojik girişimler tavsiye edilir. Bununla birlikte preoperatif değerlendirme ve postoperatif bakımdaki ilerlemelere rağmen, tıkanma sarılığının düzeltilmesi için yapılan cerrahi işlem %10-25'lik bir mortalite oranı taşır ve majör komplikasyon oranı da %56'dır (27-29). Postoperatif komplikasyonların çoğu, sepsis, renal yetmezlik ve pulmoner disfonksiyonla ilgilidir. Ayrıca yara iyileşmesi gecikmiş olup, herniasyon ve evisserasyon sık görülmektedir.

Tıkanma sarılığında, karşılaşılan en önemli sorunlardan biri, hemodinamik dengenin bozulmasıdır. Tıkanma sarılığında, hipodipsi, ekstrasellüler sıvı depleasyonu, su ve sodyumu düzenleyici hormonlarda değişiklikler ve artmış renal yetmezlik insidansı sık görülür. Sarılıklı hastalarda vücut su kompartmanlarının ölçüldüğü bir çalışmada, total vücut suyunun azaldığı gösterilmiştir (30). Bu hastalarda postoperatif renal yetmezlik insidansında (hemodiyalize rağmen sıklıkla öldürücüdür) bir artış olduğu bildirilmiştir (27). 24 saatlik kreatinin klirensindeki postoperatif düşüşün fazla olması, preoperatif serum bilirubin seviyeleri ile ilgilidir (32). Bu düşüşü açıklamak için şoka karşı artmış duyarlılık ve hemodinamik değişiklikler, bilirubin veya safra asitlerinin direkt toksik etkisi, immun kompleksler içeren IgA ve IgG'nin glomerül bazal membranlarında birikimi ve sistemik endotokseminde artış gibi faktörler öne sürülmektedir (27).

Tıkanma sarılığına eşlik eden hemodinamik değişiklikler, akut tübüler nekrozu başlatabilen posthemorajik nekroza yatkınlık oluştururlar. Ayrıca, tıkanma sarılığı oluşturulan deney hayvanlarının iskemik renal hasara daha duyarlı oldukları gösterilmiştir. Hipodipsiye bağlı volüm kaybı meydana gelir ve buna muhtemelen atrial natriüretik peptidde bir artış eşlik eder (27). Bilirubin veya diğer safra pigmentleri direkt bir toksik etki sergileyebilirler veya anoksi yada hipotansiyonun renal etkilerini potansiyelize edebilirler (32,33).

Tıkanma sarılığı olan hastalarda ve deney hayvanlarında sistemik endotoksemi bildirilmiştir. Bu muhtemelen portal venöz kandan yetersiz endotoksin klirensi ve gastrointestinal sistemden artmış endotoksin absorpsiyonu nedeniyle oluşur. Ekzojen safra asitleri oral olarak verildiği zaman bildirilen renal fonksiyonlardaki iyileşme, safra asitlerinin, intraluminal endotoksini bağlama ve inaktive etme yeteneklerine bağlı olabilir (26). Preoperatif internal biliyer drenaj da renal fonksiyonu anlamlı şekilde artırır (34).

Tıkanma sarılığı ile renal disfonksiyon ilişkisinde dikkatle üzerinde durulması gereken bir özellik de antibiyotik kullanımıdır. Sarılıklı hastalarda kullanılacak aminoglikozid grubu antibiyotiklerin nefrotoksisite riskini arttırdığı ve eş zamanlı furosemid kullanımı ile sonuçların daha da kötüleştiği bildirilmektedir. Bu yüzden, gelişebilecek renal yetmezliğin önlenmesi için preoperatif dikkatli resusitasyon, sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması ve anestezi-cerrahi işlem sırasında gereğinde mannitol verilmesi ile postoperatif renal disfonksiyon sıklığının azaltılabileceği vurgulanmıştır (26).

Tıkanma sarılığı olan hastalarda, kardiyovasküler instabilite, hipotansiyon ve şoka predispozisyon bildirilmiştir. Şok ve azalmış vasküler cevaba artmış duyarlılık için hem santral hem de periferik mekanizmalar sorumlu gibi görünmektedir. Norepinefrin ve Anjiotensin II'ye cevap keskin değildir ve sistemik vazodilatasyon vardır (26). Köpeklerde kısalmış sol ventrikül ejeksiyon zamanı ve uzamış preejeksiyon periyodu sol ventrikül fonksiyonunda anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Ayrıca safra asitleri, izole rat kalp modelinde myokard kontraktilitesini azaltmaktadır (35). Dolaşım, artmış bir kardiyak outputla birlikte hiperdinamiktir (26).

Anoreksi ve kilo kaybı, özellikle maligniteye bağlı uzun süreli tıkanma sarılığının göze çarpan özelliklerindendir. Hipodipsiye ikincil volüm kaybı ve safra tuzlarının diüretik etkileri, kilo kaybını artırır. Ratlarda, safra kanalı ligasyonundan sonraki ilk haftada, anoreksi ve besin alımında bozulma görülür. Safra kanalı ligasyonundan sonraki ilk 2-3 gün sırasında, negatif nitrojen dengesi meydana gelir. Besin alımı ve kilo alımı devam ettikçe normale döner. Serum albumini ve hematokrit düşer. Bu değişiklikler internal biliyer drenajla geriye döner(26). Anemi, bilirubin sebepli hemolize bağlı olarak gelişebilir (36).

Sarılıklı hastalarda evisserasyon ve herni oluşumu insidansında artış olduğu

bildirilmiştir (37). Yara iyileşmesinin erken safhalarındaki, fibroblast ve makrofaj infiltrasyonu, sarılıklı hastalarda belirgin derecede bozulmuştur. İnsizyon hatlarındaki iyileşmede anjiogenez gecikmiştir(38). Bozulmuş yara iyileşmesinde safra asidinin mi, yoksa unkonjuge bilirubinin mi, sitotoksik etkilerinin sorumlu olduğu bilinmemektedir.

Karakteristik koagülasyon bozuklukları multifaktöriyeldir. Faktör II, VII, IX ve X sentezi için esansiyel bir kofaktör olan vitamin K, intestinal sistemden emilim için safra tuzlarına ihtiyaç duyar. Endojen depolar sınırlı olmasına rağmen, tekrar döngü mekanizması, klinik eksikliğin belirtilerinin gelişmesi için gereken zamanı uzatır (26). Fibrinojen eksikliği, şiddetli karaciğer yetmezliği ile birlikte sık görülür (39). Sıklıkla, dissemine intravasküler koagülasyon (DİC) ile ilgili olan hipofibrinolizis yaygındır. Splenomegali veya DİC'e sekonder trombositopeni oluşabilir. Zamanla siroz ve karaciğer yetmezliği, karaciğerde yapılan pıhtılaşma faktörlerinin seviyelerinde düşüşe yol açar ve koagülopati, vitamin K verilmesine rağmen dirençli hale gelir (26).

Hem safra kesesi, hem de ortak safra kanalı, taş yoksa normalde sterildirler. Koledokolithiazis ile pozitif kültür insidansı %75-90 arasında değişir. Bakteriyel proliferasyonun olduğu biliyer obstrüksiyon, kolanjit ile sonuçlanır. Süpüratif kolanjitte mortalite oranı, tıkanma sarılığında cerrahi veya endoskopik girişim yoksa %100'dür. Süpüratif kolanjitteki bu yüksek mortalite oranı, genelde sistemik bakteriyemi ile sonuçlanmasından kaynaklanmaktadır. Cerrahiye rağmen, %20-50' lik mortalite oranları bulunmaktadır. En yaygın mikroorganizmalar enterik kaynaklı ve çoğu seride E.coli baskın olan mikroorganizmadır. Klebsiella ve enterokoklar da yaygındır. Bakteroides ve klostridyum dahil olmak üzere anaeroblar daha az tespit edilmektedir. Kanda ve safrada yüksek seviyelere ulaşan ve bilinen patojenlere karşı invitro etkinlik gösteren antibiyotiklerin kullanımına rağmen septik komplikasyonların insidansı hala yüksektir (26,40).

Tıkanma sarılığının tedavisi için yapılan cerrahiden sonraki mortalite oranları, kolanjit olmasa bile yüksektir. Bildirilen mortalite oranları %8-20 arasında değişir. Elektif cerrahide yüksek mortalite oranları, daha yaşlı ve altta yatan bir malignansisi olan hastalarda, anoreksi veya malnütrisyonla birlikte uzamış hastalığı olanlarda görülür. Ayrıca, total serum bilirubini 20 mg/dl nin üzerinde olduğu zaman

daha yüksek mortalite oranları bildirilmiştir (41). Diğer risk faktörleri arasında, hematokrit ve düşük preoperatif serum albumini sayılabilir (35). Pankreas karsinoması olan hastalarda, anormal glukoz tolerans testi mortaliteyi artırır (41). Bu durum, hepatik ve metabolik değişikliklerden ziyade, pankreatik disfonksiyonu yansıtabilir.

Cerrahiden önce, ne yaş, ne de malignite varlığı düzeltilemeyeceği için, çabalar preoperatif olarak hepatik fonksiyonel kapasitenin iyileştirilmesi ve nutrisyonel bozuklukların düzeltilmesi üzerinde odaklanmıştır. Preoperatif biliyer dekompresyonun morbidite ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (26).

2.5.2.2. Karaciğerdeki Histopatolojik Değişiklikler

Akut Değişiklikler: Akut biliyer obstrüksiyonun başlıca özellikleri kanaliküler kolestaz ve portal kanal değişiklikleridir. Akut ekstrahepatik biliyer obstrüksiyonda görülen en erken değişiklik, sentrilobüler kanaliküler kolestazdır. Bunu çeşitli parankimal ve portal değişiklikler izler. Çoğunlukla, portal traktın kenarları boyunca görülen safra kanalikülleri proliferasyonu her ne kadar değişmez bir bulgu ve obstrüksiyonun karakteristiği olsa da, spesifik değildir. Periduktal portal ödem ve marjinal kanaliküler proliferasyon, değişik derecelerde portal alanların çoğunluğunu tutar. Ancak en belirgin tutulum daha büyük kanallarda gözlenir. Bu kanaliküller, artmış intralüminal basınca yanıt olarak, mevcut safra kanallarından köken almaktadırlar. İntraasiner safra kanallarının epitelinde irregülerite, fokal hiperplazi, ödem veya hepsi birden izlenebilir. Sıklıkla proliferen olan kanaliküllerde az miktarda nükleer atipi görülür. Duktal kolestazda safra pigmentleri intralüminal çöküntüler oluşturarak biliyer epitelini boyarlar. Bu durum biliyer obstrüksiyonun göstergesi olup, ancak olguların %10'unda bulunur. Staza bağlı safranin çevre dokuya ekstrasvazasyonu, ksantogranüloamatöz yanıtı provoke ederek, periportal safra infarktına neden olabilir. Ancak bu durum geç bir bulgu olup, histopatolojik incelemede nadiren bulunur. Safranin portal trakt çevresine ekstrasvazasyonu, nötrofil infiltrasyonuna neden olur. Nötrofiller sıklıkla kanaliküller çevresinde küme oluştururlar. İnflamatuar elamanlar içinde bir miktar mononükleer hücre bulunmakla birlikte, baskın olan hücre tipi nötrofillerdir. Akut biliyer obstrüksiyonun tam gelişmiş tablosu portal ödem, kolestaz, safra kanalikül proliferasyonu ve portal PNL

birikimidir (41-45).

Kronik Değişiklikler: Temel özellikler kronik kolestaz ve fibrozistir. Akut biliyer obstrüksiyondan farklı olarak, fibrozis daha fazladır. Ayrıca PMNL içeren portal infiltrasyonda daha fazla sayıda lenfosit bulunur. Kanaliküllerin, kolanjiollerin ve intraasiner safra kanallarının lümeninde uzun süre kalan safra, olasılıkla suyun emilmesine bağlı olarak yoğunlaşır ve bir tabaka haline gelir. Kronik kolestatik durumlarda, safra stazı temelde periportal olma eğilimindedir. Kronik kolestazda görülen diğer değişiklikler; farklı derecelerde kolanjiosellüler proliferasyon ve porta-portal bağlantısı bulunan periportal fibrozistir. Uzun süren tıkanma sarılığında interlobüler safra kanalları yok olabilir. Bu durumda, kronik obstrüktif değişiklikleri sirozdan ayırmak imkansız hale gelir. Son aşama olarak mikronodüler biliyer siroz oluşur (41-45).

2.5.2.3. Gastrointestinal Sistemde Ortaya Çıkan Değişiklikler

Yapılan çalışmalarda, sarılık oluşturulan ratlarda ülser insidansının arttığı, gastrik mukozal kan akımı ile gastrik mukozal potansiyel farkının azaldığı, ancak gastrik pH'nın değişmediği gösterilmiştir. Gastrik mukozal lezyonların gelişiminde oksijen radikallerinin de rolü olduğu ileri sürülmektedir (42,43). Tıkanma sarılığında, yükselen bilirubin ve safra asidinin gastrik mukozada bikarbonat sekresyonunu inhibe ederek, akut gastrik mukozal lezyonların oluşumunda önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (44).

2.5.2.4. İmmün Sistemde Ortaya Çıkan Değişiklikler

İmmün sistem, yabancı materyallerin tanınmasını ve cevap oluşturulmasını sağlar. Bu tanıma fonksiyonu, immün sisteme özgüdür ve RES'in nonspesifik cevabının tersidir. RES ve immün sistem hücreleri, myeloid ve lenfoid progenitörleri üreten ortak bir pluripotent hematopoetik kök hücresinden köken alırlar. RES'in temel hücresi olan makrofajlar, myeloid progenitörlerden köken alırlar ki, bunlardan kanın eritroid ve myeloid elementleri de doğar. İmmün sistemin temel ünitesi olan lenfositler, lenfoid progenitörlerden köken alırlar. Nonspesifik konakçı defans mekanizmasındaki baskılanmaya ek olarak, tıkanma sarılığında immün sistemde de anlamlı bir baskılanma tespit edilmiştir (26). RES esas olarak karaciğer, dalak, akciğerler ve kemik iliğinde yerleşmiş olan doku makrofajlarının bir toplamıdır.

Bakteriler, immün kompleksler ve hücresel debrisler gibi özel maddelerin eliminasyonundan sorumludur.

Kupfer hücreleri, karaciğerdeki non-parankimal hücrelerin yaklaşık üçte birini ve sabit doku makrofajlarının %80-90 ını oluştururlar. Kupfer hücreleri, yabancı materyallerin fagositozu, antijen sunumu ve biyoaktif maddelerin sekresyonu gibi çeşitli spesifik fonksiyonlarını gerçekleştirmek için hepatik sinüzoitlere komşu bir şekilde yerleşmişlerdir. Klinik ve deneysel çalışmalar, RES'in sayılan tüm bu fonksiyonlarının, uzun süreli tıkanma sarılığında şiddetli derecede baskılandığını ortaya çıkarmıştır (1).

Peritoneal makrofajlar, barsak serozasına ulaşan transloke bakterilere karşı en erken defans hattını oluşturan mononükleer fagositik sisteminin bir komponentidir. Yapılan deneysel çalışmalarda, safra kanalı ligasyonundan 7 gün sonra peritoneal makrofaj fonksiyonunun anlamlı olarak baskılandığı tesbit edilmiştir. Naturel killer (NK) hücreleri, ön duyarlılık gerektirmeksizin spontan sitotoksiste özellikleri sergileyebilen büyük granüler lenfositlerdir. NK hücrelerinin, lenfokinler ürettikleri bilinmektedir ve bakteri invazyonuna karşı doğal savunma sisteminde kritik bir rol oynadıkları düşünülmektedir. Nonspesifik ve spesifik konakçı savunma sistemleri arasında bir bağlantı sağlayan NK hücrelerinin fonksiyonunun tıkanma sarılığında baskılandığı tespit edilmiştir (46,47).

2.5.3. Tıkanma Sarılığı, Endotoksemi ve Akciğer Hasarı

Tıkanma sarılığında, endotoksemi gelişiminde iki etkenin katkısı olduğu varsayılmaktadır. Birincisi, sindirim kanalında safra tuzlarının normalde sağladıkları anti-endotoksin etkinin yokluğuna bağlı olarak kalın barsaklarda oluşan büyük endotoksin havuzundan portal dolaşıma endotoksin emilmesidir (48). İkincisi ise, tıkanma sarılığında hepatik Kupfer hücrelerinin fagositik işlevinin bozulması nedeni ile barsaklardan kaynaklanan ve zaten artmış olan endotoksinin sistemik dolaşıma geçmesidir. Ortaya çıkan sistemik endotoksemi, sonuçta organ işlevlerinin bozulmasına neden olacak şekilde inflamatuvar yanıtı aktive eder. Plazma bilirübin düzeyi yüksek veya düşük olan hastalar arasında, portal endotoksin düzeyi açısından anlamlı fark bulunamamışsa da, sistemik endotoksemi bilirübin düzeyi yüksek olanların %55'inde saptanırken düşük olanların ise yalnızca %11'inde saptanabilmiştir. Endotoksinin, barsaktan kaynaklandığını düşündürecek şekilde

portal endotokseminin (%38-67), sistemik endotoksemiden (%35-45) daha fazla olduğu bulunmuştur.

Bu varsayımı temel alan tedavi yollarında; taurokolat, Na-deoksikolat ve Na-kenodeoksikolat gibi safra asitlerinin oral replasmanı denenmiş, sonuçta bu ajanların barsaklardan portal dolaşıma endotoksin emilmesini engellediği saptanmıştır. Deneysel tıkanma sarılığında, bakteriyel translokasyon sıklığı koledok bağlanmasından 3-7 gün sonra %33, 2 hafta sonra ise %47'dir. Obstrüksiyonun kendisinden ziyade, barsak lümeninde safra yokluğu bakteriyel translokasyonun nedeni gibi görünmektedir.

Tıkanma sarılığı, ratlarda pulmoner intravasküler fagositozu ve endotoksin sensitivitesini artırır. Chang ve Ohara'nın yaptığı bir çalışmada tıkanma sarılığı olan ratların akciğer parankiminde pulmoner kapillerlerde lateks partikülü içeren büyük mononükleer makrofaj benzeri hücreler saptanmıştır. Tıkanma sarılığı olan bu ratlarda, pulmoner intravasküler fagositozun arttığı, akciğer ödeme neden olduğu, bunun da sarılıklı hastalarda sepsis ve ARDS'ye yatkınlığa sebep olduğu bildirilmektedir (49).

Özdülger ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, çekum ligasyonu ve ponksiyonu sonrası sepsis modelinde meydana gelen akciğer apoptotik hasarında, bir antioksidan olan N-Asetil Sistein'in (NAC) koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, akciğer dokusunda MPO ve MDA seviyeleri, nitrit /nitrat seviyeleri ölçülmüştür. Sonuç olarak, antioksidan olan NAC'in, endotoksemili ve sepsisli ratlarda akciğer dokusunda lipid peroksidasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ettiği, böylelikle akciğer histopatolojisini koruduğu tespit edilmiştir (50).

2.6. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) ve Antioksidanlar

SOR, ister normal fizyolojik konsantrasyonlarda olsun, isterse aşırı miktarlarda olsun, bütün aerobik mikroorganizmalar tarafından, oksidatif stress olarak adlandırılan duruma karşı indirgenir ve biçimlendirilirler. Bu reaktif oksijen partikülleri, DNA, aterosklerozise yol açan lipoproteinlerin de dahil olduğu protein ve lipidlerin bütünlüğünü tehdit ederler (51-54).

2.6.1. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

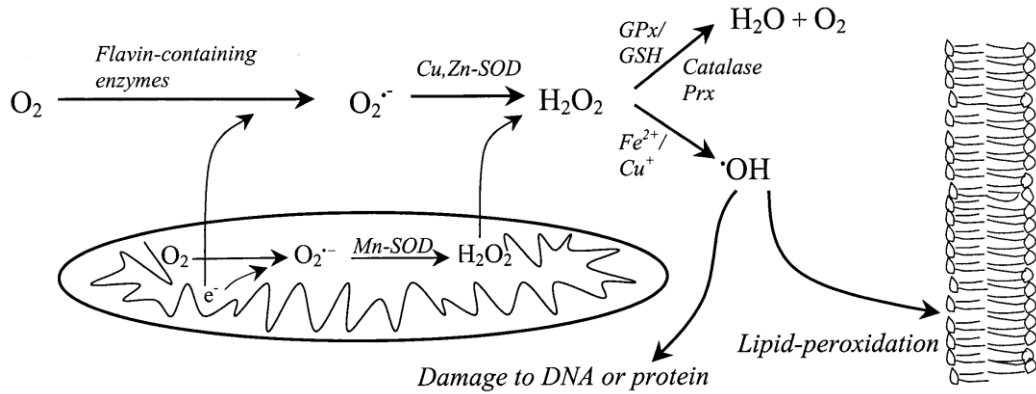
SOR, oksijenden köken alan çok sayıda kimyasal reaktif molekülü içerir.

Serbest radikaller, yörüngelerinde eşlenmemiş elektron içeren moleküllerdir. Serbest radikaller, serbest radikal formasyonunun zincir reaksiyonunu başlatmak için hızlıca reaksiyona girerler. Yeni biçimlenen radikal, zincir reaksiyonunu durdurmak için, ya eşlenmemiş elektronunu yok etmek için başka bir radikalle reaksiyona girer, ya da antioksidanlar gibi serbest radikal temizleyicisi ile reaksiyona girerler. Hidroksil radikali gibi bazı moleküller aşırı reaktif iken, süperoksit ve hidrojen peroksit daha az reaktiftir (45-48). Tablo-1’de, en yaygın intraselüler SOR, esas hücrel kaynakları ve bu SOR’ni temizleyen ilgili enzimatik antioksidanlar ile birlikte verilmiştir.

Tablo 1: Majör SOR molekülleri

<i>SOR Molekülü</i>	<i>Esas Kaynak</i>	<i>Enzimatik Savunma Sistemi</i>	<i>Ürün</i>
Süperoksit (O₂⁻)	Elektron transport zincirinden elektronların kaçağı Aktive fagositler Ksantin oksidaz Flavoenzimler	Süperoksit dismutaz(SOD) Süperoksit redüktaz	H₂O₂ + O₂ H₂O₂
Hidrojen peroksit(H₂O₂)	SOD sonucu süperoksitten Nötrofillerde NADPH-oksidad Glukoz oksidaz Ksantin oksidaz	Glutatyon peroksidad Katalaz Peroksiredoksinler(Prx)	H₂O + GSSG H₂O + O₂ H₂O
Hidroksil radikal(OH[•])	Metallerin (Fe ve Cu) katılmasıyla O₂⁻ ve H₂O₂ den		
Nitrik oksit(NO)	Nitrik oksit sentaz	Glutatyon / TrxR	GSNO

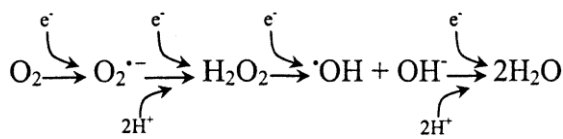
Intraselüler seviyede, SOR formasyonu ve metabolizması şekil-3’deki gibi özetlenebilir.



Şekil 3: SOR ve antioksidanlar (59)

2.6.1.1. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)

Elektron eklenmesi yoluyla moleküler oksijenden oluşan süperoksit, serbest radikal olmasına rağmen, çok reaktif değildir. Lipid membranları geçme yeteneklerinin olmaması nedeniyle, üretildikleri bölümde kalırlar. Süperoksit formasyonu, özellikle elektrondan zengin aerobik çevrede, iç mitokondriyal membran civarında kendiliğinden meydana gelir (Şekil 3). Süperoksit, iskemi-reperfüzyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavoenzimler tarafından endojen olarak üretilirler (59). Diğer süperoksit üreten enzimler, lipooksijenaz ve siklooksijenazdır (60,61). İki molekül süperoksit hızlı bir şekilde moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüşür ve SOD bu reaksiyonu hızlandırır.

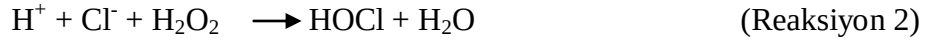


(Reaksiyon 1)

2.6.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

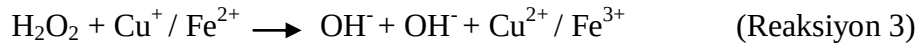
Hidrojen peroksit serbest radikal değildir fakat, yinede biyolojik membranları geçebilme yeteneği nedeniyle çok önemlidir. Nötrofillerin fagozomlarında bulunan miyeloperoksidaz enziminin etkisiyle, daha reaktif olan hipokloröz asit üretimine ve en önemlisi, metallerin eklenmesi ve oksidasyon yoluyla hidroksil formasyonuna aracılık eder (62). Diğer önemli fonksiyonu, hücre içi sinyal molekülü gibi rol

oyunarak taşınmasıdır (63,64). H_2O_2 , yukarıda bahsedildiği gibi üretildiği zaman, katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksin olarak adlandırılan en az üç antioksidan sistemle uzaklaştırılır (65-67).

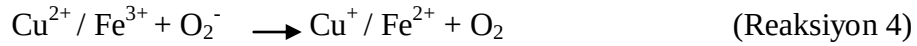


2.6.1.3. Hidroksil Radikal ($OH^\cdot$)

Güçlü bir reaktif olması nedeniyle, biyolojik sistemlere, diğer serbest radikallerden daha fazla zarar verebilmektedir (56,68). Hidroksil radikali, fenton reaksiyonu olarak bilinen, metal iyonlarının katalizlediği reaksiyonla H_2O_2 den oluşur.



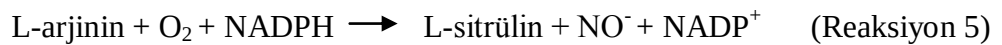
Süperoksit de bu metal iyonlarının geri dönüşümünde rol oynar.



Bu reaksiyon 3 ve 4 ün tamamına Haber-Weiss reaksiyonu denir ve yaşayan hücreler için spesifik mekanizmadır. Geçiş metalleri hidroksil radikalının biçimlendirilmesinde önemli rol oynar (57,68).

2.6.1.4. Nitrik Oksit ($NO^\cdot$)

Nitrik oksit, serbest radikal ailesinin değişik bir üyesidir. Eşlenmemiş elektronu olmasına rağmen, biyomoleküllerin çoğuyla kolay kolay reaksiyona girmez. Diğer yandan, peroksil ve alkil radikalleri ile kolaylıkla reaksiyona girer. Aslında serbest radikal temizleyicisi gibi görev yapmaktadır. Hücre membranlarında, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (69,70). Gerçi, eğer süperoksit radikali, nitrik oksitle paralel olarak çok büyük miktarlarda üretilirse, çok sitotoksik olan peroksinitrit yapmak için ikisi birbirleriyle tepkimeye girerler. Peroksinitrit, birçok inflamatuvar hastalıkta olduğu gibi, direkt olarak veya reaksiyon ürünleri yoluyla, LDL yi okside eder, seruloplazmini parçalayarak bakır iyonlarını serbestleştirir ve genellikle farklı proteinlerdeki tirozin rezidülerine saldırır. Enzimatik olarak nitrik oksit sentaz ile L-arjininden sentezlenir.



NO, fizyolojik konsantrasyonlarda, damar düz kaslarını gevşeten guanilat siklaz ve protein kinazı uyaran hücre içi haberci olarak görev yapar. Hücre membranlarını geçebilme yeteneği vardır ve diğer hücrelere sinyal iletimi yapar (71).

2.6.2. Oksidatif hasarda SOR'nin rolü

SOR'nin, yüksek reaktiviteleri nedeniyle zarar verme eğilimleri vardır ve aynı zamanda toksik, mutajenik ve karsinojeniktirler.

2.6.2.1. DNA

SOR'nin, DNA'nın kimyasal değişikliği yoluyla olan mutajenik etkileri gösterilmiştir. SOR ve özellikle hidroksil nedeniyle, DNA'nın bölünmesi, DNA protein çapraz bağlantıları ve pürinlerin oksidasyonu gibi birçok değişiklikler oluşmaktadır. DNA tamir sistemi, hemen DNA'yı yenileyemezse, mutasyon nedeniyle replikasyon süresince yanlış baz eşleşmeleri oluşur. Bu mekanizma, oksidatif strese maruz kalan kişilerde kanser prevalansının artmasını açıklamaktadır (54,58). SOR, hücrenin veya bütün organizmanın yaşlanmasında önemli faktör olarak görülmektedir (72-75).

2.6.2.2. Lipidler

Poliansatüre yağ asitleri, çok sayıda çift bağları nedeniyle, SOR'nin saldırısı için mükemmel hedeflerdir. Bu oksidasyon, aterosklerotik plak oluşumu için de temel oluşturur. Plak oluşum mekanizması, düşük molekül ağırlıklı lipoproteinlerin oksidasyonu ile başlar. Partiküller, *scavenger* reseptör yoluyla subendotelyal fagositler tarafından alınırlar. Subendotelyal bölgede bu fagositik hücrelerin birikimi, bu bölgede plak oluşumuyla sonuçlanır. Kardiyovasküler hastalıklardan korunmada, lipid peroksidasyonunu azaltmak önemlidir (76,77).

2.6.2.3. Proteinler

SOR'nin, invitro olarak çeşitli aminoasit rezidüleri ile reaksiyona girdikleri gösterilmiştir (75,78). En duyarlı aminoasitler, sülfür veya selenyum içeren rezidülerdir. Trx, Grx ve GSH gibi genel antioksidan sistemler veya metionin sülfoksit redüktaz gibi özel sistemlerin hepsi, böyle reaksiyonlardan proteinleri korumayı desteklerler.

2.6.3. Antioksidanlar

2.6.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, bulunan ilk gerçek SOR metabolize eden enzimdir (94). Ökaryotik hücrelerde, O_2^- , mitokondrideki tetramerik Mn-SOD ve sitozoldeki dimerik Cu/Zn-SOD olmak üzere, metal içeren iki SOD izoenzimi tarafından H_2O_2 'e metabolize edilir. Mitokondride, respiratuar zincirden elektron kaçağı nedeniyle, süperoksit nispeten fazla oluşur. Mn-SOD, Cu, Zn-SOD'nin aksine oksidatif stres tarafından ve hatta tiyoredoksin tarafından uyarılır (79). Sitozolik Zn, Cu-SOD, Mn-SOD'ye göre daha az önemli gibi görünmektedir. Bu enzimin eksik olduğu transgenik hayvanlar adapte olabilmekte ve fenotipik olarak normal görünmektedirler (80). Mn-SOD eksikliği olan fareler doğum sonrası en kısa zamanda ölürlere veya yaygın nörodejenerasyon görülür (81). Eninde sonunda ölümcül olan nörodejeneratif hastalık amiyotrofik lateral skleroz (ALS), sitozolik SOD geninde mutasyon nedeniyle oluşuyor olabilir (82,83).

2.6.3.2. Katalaz

Çoğu organizmaların katalazları, demir içeren enzimlerdir. Katalazın baskın olarak bulunduğu yer, hidrojen peroksite, dismutasyonla su ve moleküler oksijene katalizlendiği peroksizomlardır. Katalaz, aynı zamanda fenol ve alkol gibi farklı substratları da detoksifiye eder. Katalazın antioksidan rollerinden birisi de, Cu ve Fe tarafından katalizlenen fenton reaksiyonunda, hidrojen peroksitten oluşan hidroksil radikalının riskini azaltmaktır (55,57). Katalaz, kendisini inaktivasyondan koruyan ve etkisini artıran NADPH'a bağlanır (84,85). Olgun eritrositlerde NADPH'ın azalmasıyla seyreden glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliğinde, hemoliz, daha önceden inanıldığı gibi glutatyon redüktaz/glutatyon peroksidaz eksikliğinden ziyade katalazın inhibisyonundan kaynaklanmaktadır.

2.6.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Memelilerde, tamamı selenosistein içeren dört farklı GPx bulunmaktadır. GPx-1 ve GPx-4, çoğu dokuda bol miktarda bulunan sitozolik enzimlerdir (58,86). GPx-4 ün spermilerin olgunlaşması sürecinde, tamamıyla farklı üç fonksiyonu vardır. GPx-2 ve GPx-3 esas olarak, sırasıyla gastrointestinal sistemde ve böbrekte

bulunurlar (58,87). Bütün GPx'lar, substrat olarak glutatyon kullanarak hidrojen peroksitin indirgenmesini katalize ederler. Aynı zamanda, hücre membranlarındaki lipid peroksitler gibi, diğer peroksitleri de alkole indirgerler. GPx, fizyolojik koşullar altında da antioksidan olarak yüksek öneme sahip iken, diğer antioksidanlar oksidatif stres durumlarında önem kazanmaktadır (88,89).

2.6.3.4. Diğer glutatyon ilişkili sistemler

Glutatyon (GSH), canlı aerobik hücrelerde, milimolar konsantrasyonda en bol bulunan tiol bazlı antioksidandır. Esas fonksiyonu, sülfidril tampon olaraktır. Okside glutatyon (GSSG), NADPH bağımlı flavoenzin olan glutatyon redüktaz (GR) tarafından indirgenir. GSH'la yakından ilişkili proteinlerin diğer bir sınıfı da fonksiyon olarak tioredoksinlerle (Trx) çakışan glutaredoksinler (Grx) dir. Grx ile Trx arasındaki major fark, Grx, GSH tarafından indirgenir ve oksidatif stresde oluşan karışık protein disülfidlerinin indirgenmesini sağlar. Hücresel antioksidan savunmada önemli role sahiptir (90).

2.6.3.5. Düşük molekül ağırlıklı antioksidan bileşikler

Biyolojik öneme sahip antioksidanlar olarak kabul edilen, çok sayıda düşük molekül ağırlıklı bileşik vardır. Bunlardan bazıları, vitamin C, vitamin E, farklı selenyum bileşikleri, lipoik asit ve ubiquinondur.

2.7. Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikallerinin, membranlarda etkisi sonucu, lipid peroksidasyonu oluşur. Günümüzde, birçok hastalığın patogeneğinde, lipid peroksidasyonu sorumlu tutulmaktadır (91).

Lipid peroksidasyonunun biyolojik etkileri, özellikle poliansatüre yağ asitlerinin bulunduğu hücre membranlarında ve lizozom, mitokondri gibi organellerde görülür ve biyolojik membranlarda artmış peroksidasyon, doymamış, doymuş yağ asidi oranında bir düşmeye neden olur. Bu reaksiyon sonucu yağ asidi hidroperoksitleri ve aldehit bileşikleri oluşarak doku yıkımı görülür (92). Organizmada, lipid peroksidasyonu üç basamakta gerçekleşir (91-93):

1. Başlangıç

Serbest radikal oluşturacak şekilde, enerji aktarımı oluşması ile başlar.

Lipidlerde, poliansatüre yağ asitleri, oksidasyona oldukça duyarlıdır ve reaksiyon sonucu yağ asidi radikali oluşur. Başlangıç fazından sonra uygun koşullar olursa, serbest radikalın tetikleyici rolü sonucu farklı radikal ürünleri ortaya çıkar (92,93).

2. İlerleme

Başlangıç aşamasının ürünü olan yağ asidi radikaline, oksijenin eklenmesi ile lipid peroksil radikali oluşur. İlerleme fazında, lipid peroksil radikallerinden lipid hidroperoksitler ve diğer radikal ürünleri oluşur. Lipid hidroperoksitler, genellikle demir ve bakır gibi metallerin varlığında anstabil olup lipid alkoksiradikaller ve lipid peroksil radikallere dönüşür (92). Hidroksil radikal, lipid peroksil radikallerin ve alkoksil radikallerin çoğu poliansatüre yağ asitlerinin direkt oksidasyonuna neden olabilir. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı sonucunda, lipid peroksidasyonunu ilerleten radikaller ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler gibi radikal olmayan ürünler oluşur (91,92).

3. Sonlanma

Bu reaksiyonlar sonucu oluşan hidroperoksitler, aldehitler ve epoksitler gibi lipid peroksidasyon ürünleri ve direkt olarak serbest radikaller, protein, enzim ve nükleik asitlerle reaksiyona girip onları inaktive eder (91-93).

2.8. Oksidatif stres

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin hücrede aktif olarak bulunduğu yerde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluştuğu bilinmektedir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler, enzimlerin aktif olarak bulunduğu yerden başka bir alana geçerek moleküler oksijenle etkileşir ve SOR'ni oluştururlar.

Hücrede oluşan SOR, antioksidan savunma sistemleri olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar.

Ancak bazen hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla SOR oluşabilir. Organizmada hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla SOR meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stresin, serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarıyla, birçok hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Oksidatif stresin, hastalıkların patogeneğinde rolü anlaşıldıkça bu alandaki çalışmalar da yoğunlaşmıştır. Oksidatif stres çalışmalarında, serbest radikallerin artışı veya antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği araştırılmaktadır. Bunun için plazma, serum, eritrosit, doku örnekleri gibi çeşitli materyallerde analiz yapmaya uygun yöntemler geliştirilmiştir.

Serbest radikaller, son derece reaktif ve kısa ömürlüdürler. Bu yüzden, direkt olarak ölçülmeleri zordur. Serbest radikalleri direkt olarak ölçen tek analitik teknik spin rezonans spektrometrisidir. Spin rezonans spektrometrisi, ileri teknik donanım gerektirir. Ayrıca, çok duyarlı olmaması ve mikromolar düzeyde sabit konsantrasyonlarda serbest radikaller gerektirmesi nedeniyle, kullanımı yaygın değildir.

Serbest radikal üretimi artışının belirlenmesi için bunların lipidlerle, proteinlerle ve DNA ile reaksiyonları sonucu oluşan çeşitli ürünlerin ölçümü gibi indirekt yöntemler kullanılır. Bu yöntemler arasında, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin ölçümü en çok kullanılan yöntemdir (94).

2.9. Lipid peroksidasyon ürünlerinin ölçülmesi

Oksidatif stres çalışmalarında, organizmada serbest radikal üretimi artışının belirlenmesi için, çeşitli biyolojik materyallerde lipid peroksidasyonunun çeşitli ürünlerinin konsantrasyonları sıklıkla ölçülmektedir.

Serbest oksijen radikallerin başlattığı lipid peroksidasyon zincir reaksiyonu sonucunda, lipid hidroperoksitleri (LPO) ve konjuge dienler oluşur. LPO ve konjuge dienler de daha sonra alkan aldehytler, alken aldehytler, hidroksialken aldehytler, malonildialdehit (MDA) ve uçucu hidrokarbonlar oluşturmak üzere parçalanırlar.

Serbest radikal üretimi artışının belirlenmesi için LPO ölçümü, konjuge dienlerin ölçümü, MDA dışındaki aldehytlerin ölçümü, uçucu hidrokarbonların ölçümü, lipid peroksidasyonu fluoresan ürünlerinin ölçümü ve MDA ölçümü yapılabilir.

LPO ölçümü, çeşitli tekniklerle plazmada yapılır. Konjuge dienlerin ölçümü, biyolojik materyallerde heme proteinleri gibi bazı maddelerin varlığından dolayı zordur. Ayrıca, normalde insan plazmasında mevcut olan düşük düzeylerdeki konjuge dienler de ölçümü zorlaştırırlar.

MDA dışındaki aldehitlerin ölçümü, genellikle zaman alıcı, pahalı ve rutin olarak kullanılmaya uygun olmayan metodları gerektirir. MDA ölçümü, lipid peroksidasyonunun derecesinin belirlenmesi için, en sık başvurulanan testtir. MDA ölçümü, en yaygın olarak tiyobarbitürik asit yöntemiyle yapılır (94).

2.10. Antioksidan aktivitenin ölçülmesi

Oksitativ stres çalışmalarında, organizmada antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliğini araştırmak için çeşitli biyolojik materyalde çeşitli antioksidanların aktiviteleri veya konsantrasyonları sıklıkla ölçülmektedir. Enzim olan ve enzim olmayan birçok antioksidan çeşitli yöntemlerle ölçülmektedir (94).

- Redükte glutatyon (GSH) ölçümü
- Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ölçümü
- Glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi ölçümü
- Glutatyon S-transferaz aktivitesi ölçümü
- Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü
- Katalaz aktivitesi ölçümü
- β - karoten ölçümü
- Vitamin C (askorbik asit) ölçümü
- Vitamin E (α -tokoferol) ölçümü

2.11. Myeloperoksidaz (MPO)

Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde, bir heme enzimi olan MPO ihtiva ederler. Polimorf lökositlerin % 90'dan fazlasını oluşturan nötrofiller kompleman fragmanları, reaktif oksijen radikalleri, ve sitokinler tarafından aktive edilirler. Dokuya gelen aktive lökositler MPO, elastaz, proteaz, kollojenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler hem dokudaki hasarı arttırır, hem de daha fazla radikal oluşmasına neden olur.

İnflamasyon durumunda, MPO ekstrasellüler ortama salınır. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun göstergesi olarak MPO aktivitesinin ölçülmesi duyarlı bir testtir (95).

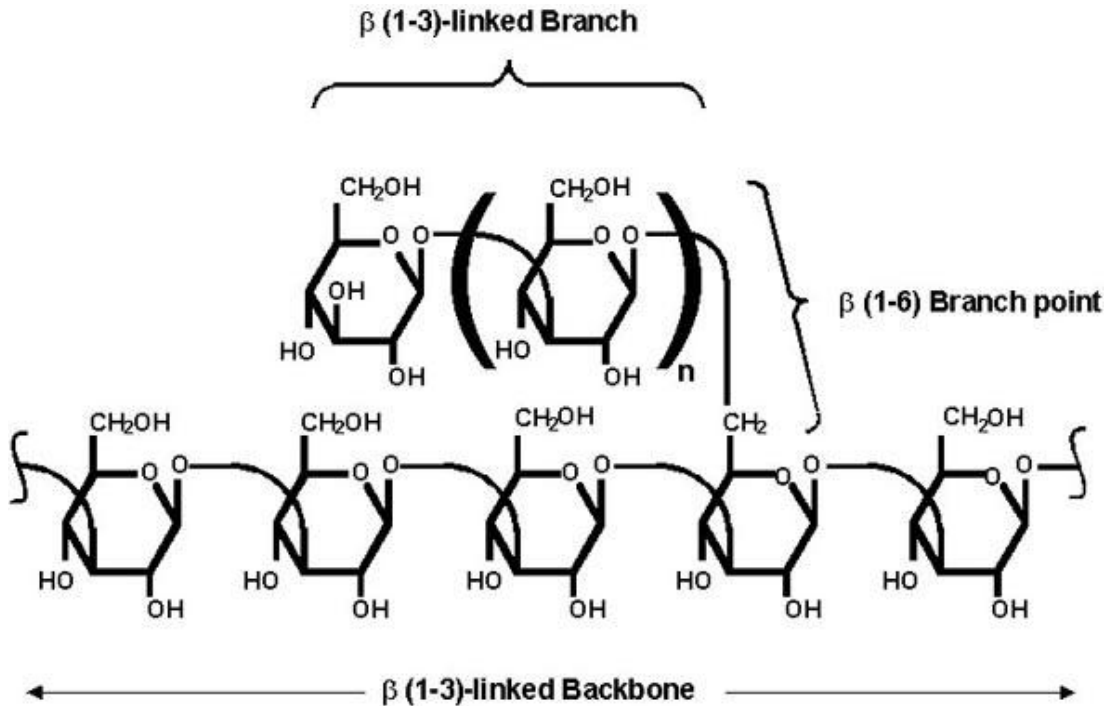
MPO'ın aracılık ettiği antimikrobal sistem, çeşitli bakteri, mantar, virüs,

mikoplazma, çok hücreli organizmalar ve memeli hücrelerine karşı etkilidir. MPO çeşitli bileşikleri okside edebilen bir enzim-substrat kompleksi oluşturmak için, substratı olan hidrojen peroksit ile birleşir. Bunlardan oluşan komplekslerin oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla mikroorganizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir ve bunlar hücre ölümüne yol açar.

Nötrofillerin primer fonksiyonu fagositoz ve mikroorganizmaların sindirimi olmasına rağmen, bu hücrelerden toksik ajanların sızıntısı ve sekresyonu yakın hücrelere zarar verir ve fagositik kaynaklı oksidanlar, ototoksik, immünoşüpresif ve mutajenik etki gösterir (96).

2.12. Beta-glukan

Beta-glukanlar, doğada mantarlarda, bitkilerde ve bazı mikroorganizmalarda bulunan polisakkarit polimerleridir. D-glukoz homopolimerleridir ve mantarlar ve bazı bitki hücrelerinin majör yapı komponentleridir. Farklı etki seviyelerine sahip, değişik tipte beta-glukanlar bulunmaktadır. Mantarların hücre duvarı glukanları, yapısal olarak 1,3 glukopiranozil bağlarından oluşanlar ve 1,6 bağlarla dallanma yapanlar olmak üzere iki farklı içeriktedirler (97)(Şekil 4). Beta-1,3-D-glukanlar, molekül ağırlıklarından ve 1,6 bağlarının derecesinden etkilenen güçlü immün stimülatördürler (98).



Şekil 4: 1,6 dallı beta-1,3-D-glukan molekül yapısı

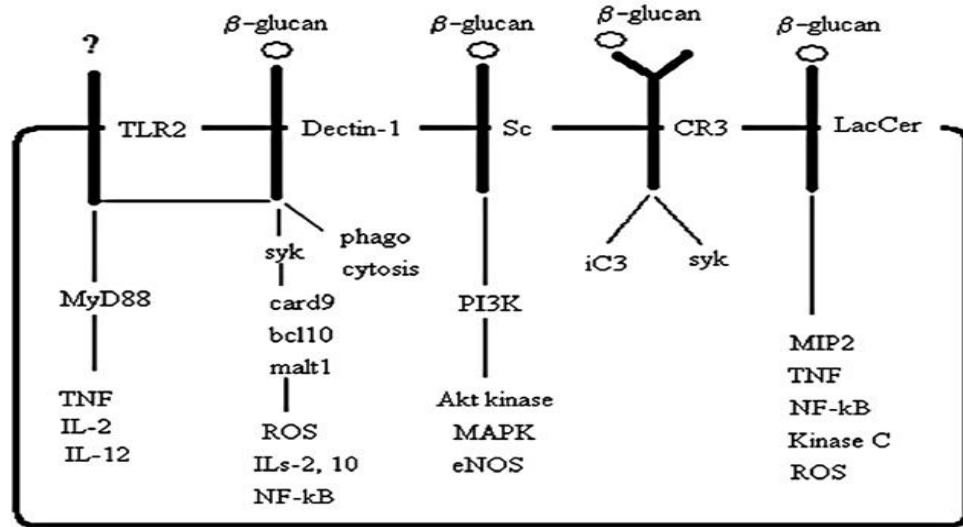
Yaygın olarak kullanılan beta-glukan preparatları *Saccharomyces cerevisia*' dan elde edilenlerdir. Oral ve intravenöz olarak alınan beta-1,3-D-glukanların her ikisi de aynı mekanizmayla etki ederler. İntravenöz çözülebilir beta-1,3-glukan, direkt olarak kemik iliğindeki granülositlere etki eder. Oral olarak alınanlar ise granülositlere etki etmek için, makrofajlar tarafından gerçekleştirilen bir ara basamağa ihtiyaç duyarlar (99).

Beta-glukanların insan sağlığına olumlu birçok etkisi gösterilmiştir;

- İmmün stimülasyon: İmmüniteyi güçlendirir, makrofajları ve komleman sistemi aktive ederler,
- Antioksidan: Güçlü intrasellüler serbest radikal temizleyicisidirler,
- Radyoprotektif: İyonize radyasyona karşı immün sistemi korurlar,
- Hematopoietik aktivite: İmmünmodülatör fonksiyonları vardır,
- Doku yenilenme ve tamiri: Doku hasarının onarımını hızlandırırlar,
- Adjuvant etkiler: Antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiparazitiklerin etkilerini güçlendirirler,
- Anti-neoplastik etki: Makrofajların, mutasyona uğramış hücreleri tanımasını ve yoketmesini, sonuç olarak immün kaskadın bu hücrelere odaklanmasını sağlar,
- Hiperkolesterolemi, Diabetes Mellitus, Hipertansiyon ve Yara iyileşmesine etkisi

Fungal Beta-glukanların muhtemel etki mekanizması

Multiselüler organizmalar, kendine ait olmayan yabancı yapıları (*Pathogen-Associated Molecular Patterns(PAMPs)*) tanımasını sağlayan, *Pattern Recognition Receptors* (PRRS) olarak adlandırılan reseptörlere sahiptirler. Fungal beta-glukanlar, PAMPs gibi davranarak, immün yanıtı başlatan hücre yüzey reseptörleri tarafından tanınırlar. İnsanlarda da, böyle görev yapan reseptörler tespit edilmiştir. Bunlar, Dectin-1, Komplement Reseptör 3 (CR3), Scavengers Reseptör, Lactosylceramide (LacCer) ve Toll-Like Reseptördür (TLR) (100). Bunların rolleri ve beta-glukanla etkileşimlerinin sonucu tablo 2 ve şekil 6'da verilmiştir. Bulgular doğal immün yanıtı aktive etmede en önemlisinin dectin-1 olduğunu göstermektedir (115,116).



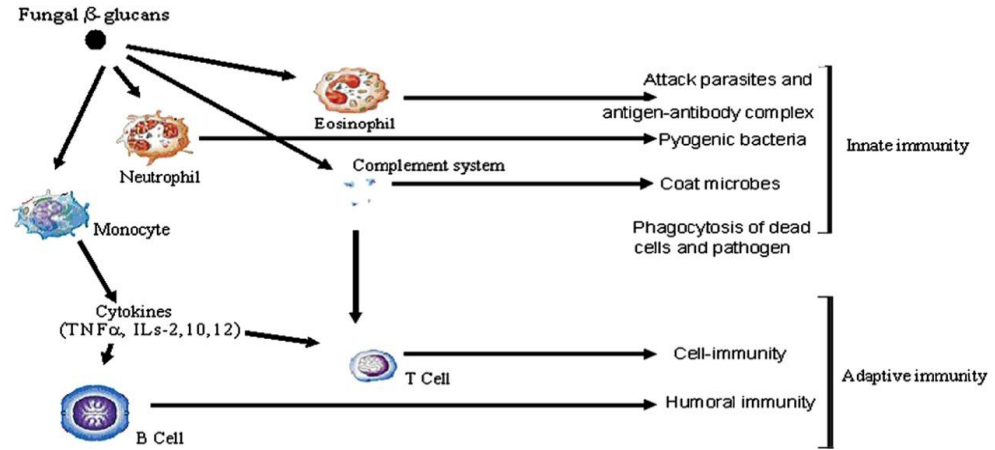
Şekil 5: Beta-glukana aracılık eden sinyal iletim yolları (13)

Tablo 2: Bilinen beta-glukan reseptörlerinin kaynağı ve etkileri (13)

Receptor type	Chemical nature	Affected cells	Effects on immune response
Dectin-1	Glycoprotein	Monocytes Macrophages Neutrophils DC cells T-cells	Phagocytosis Endocytosis ROS production Cytokines (TNF-a, IL-2, 10, 12) MIP-2
CR3	A heterodimer Consist of CD11b and CD18 chains	Myeloid NK Neutrophils Lymphocytes	Tumour cytotoxicity
Scavenger	A heterogeneous group of molecules	Myeloid Endothelial	Immunity
LacCer	Glycosphingolipid containing a hydrophobic ceramide lipid and a hydrophilic sugar	Neutrophils Epithelial	ROS Anti-microbial Cytokines (NF-kB) Lyn kinase
TLR	A novel protein family with associated protein MyD88	Macrophages DC cells Lymphocytes Epithelial	Cytokines (NF-kB, TNF-a, L12)

2.12.1. İmmün Stimülasyon

Beta-glukanlar insan vücudunda sentezlenemezler. İmmün sistemimiz tarafından fark edilerek hem doğal immüniteyi hemde adaptif immüniteyi tetiklemektedirler (100) (Şekil 5).



Şekil 6: Fungal beta-glukanların doğal ve adaptif immüniteye etkileri (13)

2.12.1.1. Doğal İmmüniteye Etkileri

Makrofajlar üzerinde, beta-1,3-D-glukanı bağlayan spesifik reseptörler tespit edilmiştir (101,102). Matür makrofajlar, santral sinir sistemini de içine alan neredeyse bütün dokularda bulunurlar. Bu reseptörler, kemik iliğinden başlayan makrofaj başkalaşım döngüsünün tamamında görülmektedir. Bu hücreler, beta-1,3-D-glukan ile karşılaştıklarında fagositozis, sitokinlerin salınması ve antijenlerin işlenmesini de içeren bütün fonksiyonları aktive olur. Makrofajlar, genel sağlık bütünlüğünün sürdürülmesinde, intestinal floranın devamlılığında, antienfektif ve antitümör korumada geniş kapsamlı göreve sahiptirler. β-glukanla yapılan araştırmaların çoğu in vitro ve parenteral olarak yapılmış olmasına karşın, daha sonra yapılan çalışmalar β-glukanın oral kullanımının da aynı şekilde etkili olduğunu göstermiştir (103-105).

Dr. Browder ve arkadaşlarının çalışmalarında β-glukanın pankreatitli farelerde yaşam süresini arttırdığı tespit edildi. Makrofajların fonksiyonunu artırdığı bilinen plazma interlökin-1 seviyesini artırmaktadır. Ayrıca IL-2, IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF-α salgılanmasında artırmaktadır (106-108). Pretus ve arkadaşları glukanın travmalı hastalarda yararlı etkileri olduğunu gösterdiler (109). Prostaglandin E2

(PGE2), travma sonrası makrofajlardan salınırlar ve travma kaynaklı immün süpresyona katkıda bulunurlar. Sonuç olarak, birçok çalışmada glukanlar gibi makrofajları aktive eden immünmodulatorlerin, travmayı takiben makrofaj PGE2 sentezini ve salınmasını arttırdıkları, kemik iliği proliferasyonun baskılanmasını azalttığı gösterilmiştir. Natural Killer (NK) hücreleri kanda dolaşarak kanserli ve virüsle enfekte hücreleri yok etmektedirler. Beta-glukanlar, NK hücrelerinin sitotoksik aktivitelerini artırmaktadırlar (110). Bakteriyel hücreleri sararak, onların fagositler tarafından yok edilmelerini sağlayan tip3 komplement reseptörlerini (CR3) aktive etmektedirler (111).

2.12.1.2. Adaptif İmmüniteye Etkileri

Adaptif immün sistem B ve T hücrelerinden oluşmaktadır. B hücreleri, humoral immüniteye aracılık eden antikorları üretirken, T hücreleri hücre sel immüniteyi uyarmaktadır (112). Sitokinler, T hücrelerinin sırasıyla hücre sel ve humoral immüniteye aracılık eden T helper-1 (Th-1) ve T helper-2 (Th-2) hücrelerine dönüşmesini sağlarlar (113). Adaptif immünite, immün yanıtın aktive olması için, T hücrelerine antijen sunan ve monositlerden köken alan Dendritik Hücreleri de (DC) içerirler (112). Beta-glukanlar DC' i uyarırlar (114).

2.12.2. Antioksidan Etkiler

Deneysel ve klinik çalışmalar göstermiştir ki, dokuları tahrip eden olaylar (enfeksiyon, travma, anoksi...vs), sitokinleri salgılayan monositler ve makrofajlar tarafından fark edilirler. Bu sitokinler, büyük miktarlarda toksik oksitleyici maddeler salıveren inflamatuvar hücreleri aktive ederler. Hücre membran hasarı ve yıkımının en önemli sebebi, SOR'nin aracılık ettiği lipid peroksidasyonudur. Bu aşamada, hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleri indirgenir ve takiben membran bütünlüğü bozulur (117). Membran peroksidasyonu, membran akışkanlığını ve geçirgenliğini değiştirir, protein bozulmasını artırır ve sonuçta hücre lizisi gerçekleşir (118). Beta-1,3-D-glukan tedavisi, lipid preoksidasyonunu baskılar ve glutatyon havuzunun yeniden dolmasını sağlar. Bu da beta-1,3-D-glukanın oksidatif hasara karşı koruyucu etkisini doğrulamaktadır. Ayrıca beta-1,3-D-glukanın lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyesindeki artışı inhibe ederek kontrol seviyelerine döndürdüğü gösterilmiştir (117).

2.12.3. Hematopoetik Aktivite / İmmünmodülatör fonksiyonlar / Radyoprotektif Etkiler

Hematopoetik yanıtın rekonstrüksiyonu, ileri kanser hastalarında kemoterapi ve/veya gama irradyasyon ve hipoplastik aneminin tedavisi gibi ileri tıbbi tedavilerde önemlidir. Son zamanlarda, periferik kan veya kord kanındaki hematopoietik progenitörlerin kullanım teknikleri, sitokinlerin kullanımının ilerlemesiyle gelişmiştir. Beta-glukanların, hem klinik, hem de hayvan deneyi çalışmalarında çeşitli immünmodülatör etkiler gösterdiklerine inanılmaktadır. Harada ve ark. yaptıkları çalışmada, siklofosfamid ile indüklenmiş lökopenili farelerde ileri hematopoietik yanıt olduğunu gösterdiler (119).

Hofer ve Pospisil hem partiküle, hem de çözülebilir beta-1,3-D-glukanın, akut radyasyon hastalığının gidişatında olumlu etkilerinin olduğunu gösterdiler (120).

2.12.4. Doku Yenilenmesi ve Tamiri

Makrofajların fonksiyonlarını artıran immünmodülatörlerin, deneysel hayvan ve insan yara iyileşmesi modellerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (121). Bu arttırılmış iyileşmenin tam mekanizması bilinmemektedir. Portera ve arkadaşları deneysel hayvan modeli çalışmalarında, cilt insizyonundan veya kolon anastomozundan önce bir doz beta-1,3-D-glukan fosfat verildiğini, postoperatif dönemde ikinci glukan fosfat dozunun verildiğini, beta-1,3-D-glukan verilen hayvanlarda cilt yarası modelinde gerilme kuvvetinin % 42 arttığını, kolon anastomoz modelinde ise kolon gerilme kuvvetinin % 34 arttığını tespit edildiğini, sonuç olarak makrofajların beta-1,3-D-glukan ile modülasyonunun deneysel kolon ve cilt yarasında kollajen biyosentezi ve gerilme kuvvetini arttırdığını bildirdiler (121).

2.12.5. Adjuvant Etkiler

Beta-glukanlar antibiyotikler, antifungaller, antiviraller ve antiparazitiklerin etkilerini güçlendirmektedirler. Benach ve ark. beta-1,3-D-glukanın adjuvant etkisini araştırdıkları çalışmalarında önce değişik fare gruplarına beta-1,3-D-glukan ve aşı yapıldığını, birinci gruptaki farelere sadece beta-1,3-D-glukan, ikinci gruba beta-1,3-D-glukan ve aşı, üçüncü gruba sadece aşı yapıldığını ve dördüncü grubun kontrol grubu olduğunu, iki hafta sonra bütün farelerin *Babesia microti* 'ye karşı dirençlerini

test ettiklerini, glukon ve aşı yapılan gruptaki farelerde pik paraziteminin diğer gruplardan belirgin şekilde düşük olduğunu tespit ettiklerini, sonuç olarak beta-1,3-D-glukanın patojenlere karşı savunmaya ve aynı zamanda aşının bağışıklığının daha iyi olmasına yardımcı olduğunu gösterdiğini bildirdiler (122). Vetvicka ve ark. yaptıkları çalışmada, hepatit virüsü enjekte edilen farelerde beta-glukanın hücre nekrozisini inhibe ederek ve fagositik aktiviteyi artırarak enfekte hücrelerin yaşam sürelerini arttırdığını gösterdiler (111). Ara ve ark. yaptıkları çalışmada HIV DNA aşısı verilen insanlarda, beta-glukanın Th hücre aracılı interferon-gama (IFN- γ) ve komplement sistem aktivasyonu ile immün yanıtı arttırdığını gösterdiler (123). Jung ve ark. domuz influenza virüsü ile enfekte domuz hücrelerinde beta-glukanın viral nükleik asit seviyesini azalttığını ve IFN- γ ve nitrik oksit seviyelerini artırdığını tespit ettiler (124).

Bazı beta-glukanların, bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkinliği vardır. Markova ve ark. rat modelinde beta-glukanın makrofaj seviyesini arttırarak *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonunu azalttığını ve in vitro çalışmalarda *Mycobacterium tuberculosis*’e karşı makrofajların öldürme kabiliyetini arttırdıklarını gösterdiler (125). *Bacillus anthrax* enfeksiyonuna karşı IL-2 ve IL-10 seviyesini arttırdığını ve tedavide etkili olduğunu gösterdiler (126). Deneysel intraperitoneal olarak enfekte edilen farelerde *Streptococcus pneumoniae* tip 4 enfeksiyonuna etkili olduğu gösterildi (127). Liang ve ark. metisilin gibi beta-laktam antibiyotiklere dirençli *Staphylococcus aureus* enfeksiyonunda beta-glukanların yaşam süresini % 80 arttırdığını ve tedavide etkili olduğunu gösterdiler (128). Bir diğer çalışmada, beta-glukanın gine domuzlarında metisiline dirençli *S. aureus* ve *S.epidermidis* enfeksiyonlarında etkili olduğu gösterildi (129).

Beta-glukanlar, *Candida albicans* ve *P.carinii* enfeksiyonuna karşı konakçı hücrelerini korumaktadırlar (130-133). İn vitro çalışmalarda, *P.brasiliensis* enfeksiyonunda, beta-glukan peritoneal makrofajların aktivitelerini artırmıştır (134).

2.12.6. Antineoplastik Etki

Beta-glukanların, antitümör etkilerinin ilk olarak 50 yıl önce gösterilmesinin ardından birçok tümör üzerinde dikkat çekici kesin etkilerini gösteren deneysel çalışmalar yapılmıştır (111). Beta-1,3-D-glukanın antineoplastik etkileri, hayvan ve

insan modellerinde gösterilmiştir. Beta-1,3-D-glukanlar tümör hücrelerine karşı, komplement sistemini aktive eden antitümör antikorları stimüle ederek tümör gerilemesine yardımcı olurlar. Çeşitli klinik çalışmalarda, tedavide yararlı etkileri gösterilmesine karşın bilgiler henüz başlangıç aşamasındadır ve tedavide kullanımı tartışmalıdır. Ancak, Japonya’da bazı beta-glukanların kanser tedavisinde klinik kullanımı onaylanmıştır. Bazı fungal beta-glukanların kanser progresyonunda yararlı etkileri olduğu görülmüştür (135-137). Monoklonal antikor tedavisi, kanser oluşumunda kilit bileşenleri hedef almaktadır. Fungal beta-glukanlar, kanser tedavisinde monoklonal antikorlarla sinerjistik etki yapmaktadırlar. Monoklonal antikorlarla birlikte verilen oral beta-glukanların, nöroblastomalı farelerde tümör regresyonunu ve surviyi artırdığı gösterilmiştir (103,104,138). Beta-glukanlar, kemoterapi ve radyoterapi alan hastalarda, toleransı arttırmakta ve sitotoksik etkinin geri dönüşümünü hızlandırmaktadır (119). Ayrıca intraperitoneal verilen beta-glukan, tüm vücuda radyasyon alan tümörlü farelerde mortaliteyi azaltmakta, lökosit ve lenfosit sayısını artırmaktadır. Gastrik kanserli hastalarda yapılan klinik çalışmalarda, bir beta-glukan türevi olan lentinanın ortalama yaşam süresini artırdığı gösterilmiştir (139).

2.12.7. Hiperkolesterolemi, Diabetes Mellitus, Hipertansiyon ve Yara İyileşmesine Etkisi:

Beta-glukanlar, kan kolesterol düzeyini düşürmede etkili görünmektedir fakat hangi mekanizmayla yaptığı hala belirsizdir (140).

Bazı fungal beta-glukanlar, yemek sonrası kan glukoz konsantrasyonunu düşürebilmektedir. Mide boşalmasını geciktirerek, kan glukoz konsantrasyonunu kademeli olarak arttırdığı düşünülmektedir (141).

Bazı fungal beta-glukanlar kan basıncını kontrol edebilmektedir. İntravenöz olarak verildiklerinde, *Pleurotus sajor-caju* ekstraktı, sıçanlarda ortalama kan basıncını düşürmektedir (142).

Beta-glukanlarla uyarılan aktive makrofajların, cerrahi ve travma sonrası yara iyileşmesini artırdığı ve skar dokusunu azalttığı, insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (121,143). Beta-glukan preparatları, artmış NF-1 ile birlikte prokollajen mRNA ve kollajen biyosentezini uyarmaktadır (144).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, tıkanma sarılığında ortaya çıkan oksidatif stres sonucu oluşan doku hasarında güçlü bir antioksidan ve immünstimülatör olan beta-glukanın, akciğer hasarı üzerine etkinliğinin araştırılması amacıyla yapıldı.

Deneysel çalışma için Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 2009/06 sayılı proje ile onayı alındı. Çalışmada, toplam 35 adet Wistar Albino cinsi 300-350 gr erişkin erkek rat kullanıldı. Denekler, deney laboratuvarında iki hafta karantinada tutuldu. Karantina sonrası deneye başlandı. Tüm denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında (22°C) tutuldu, standart palet rat yemi ile beslendi ve şebeke suyu verildi. Düzenli olarak kafes bakımları yapıldı.

Çalışmada, ratlar herbiri rasgele 7 ratdan oluşan 5 gruba ayrıldı. Deneysel tıkanma sarılığı modeli koledok ligasyonu ile gerçekleştirildi. Gruplar Grup 1 (Sham grubu), Grup 2 (Kontrol grubu), Grup 3 (Koledok ligasyonu + Beta-glukan grubu) olarak; β -glukan kullanılırken ortaya çıkan tıkanma sarılığı durumunda, güçlenen immün sistemin hasarı azaltmaktaki etkinliğinin, ligasyon sonrası beta-glukan tedavisine başlanmasına göre üstünlüğü olup olmadığının araştırılması amacıyla da ek olarak Grup 4 (Beta glukan + Koledok ligasyonu + Beta glukan grubu) ve Grup 5 (Beta glukan + Koledok ligasyonu grubu) planlanmıştır.

Grup 1 (SHAM grubu, n=7): Bu gruptaki ratlara sadece laparotomi yapıldı. Koledok eksplore edilerek görüldü ve müdahale edilmeden batın kapatıldı. Gavaj ile 10 gün serum fizyolojik (SF) verildi. Bu grup, cerrahi stres ve anestezinin ratlar üzerine etkisinin ekarte edilebilmesi için planlandı.

Grup 2 (Kontrol grubu, n=7): Bu gruptaki ratlara laparotomi yapılarak koledok eksplore edildi ve 4/0 ipek ile birkaç mm aralıkla 2 defa bağlanarak ligasyon yapıldı. Bu grupta herhangi bir tedavi uygulanmadı. Gavaj ile 10 gün SF verildi.

Grup 3 (Koledok ligasyonu + Beta-glukan grubu, n=7): Bu grupta laparotomi yapılarak koledok eksplore edildi ve Grup 2'deki gibi ligasyon yapıldı. Ligasyonu takiben ratlara 10 gün boyunca *Saccharomyces cerevisiae* mayasından elde edilen mikropartiküle formda beta-glukanın (İmmuneks 50 mg cap., Mustafa Nevzat, İstanbul), SF içinde eritilerek hazırlanmış solüsyonu 50 mg/kg/gün dozunda, günde tek doz gavaj ile verildi.

Grup 4 (Beta glucan + Koledok ligasyonu + Beta glucan grubu, n=7) :

Bu grupta, 10 gün pretreatment şeklinde *Saccharomyces cerevisiae* mayasından elde edilen mikropartiküle formda beta-glucanın (İmmuneks 50 mg cap., Mustafa Nevzat, İstanbul), SF içinde eritilerek hazırlanmış solüsyonu 50 mg/kg/gün dozunda, günde tek doz gavaj ile verildi. 11. gün laparotomi yapılarak koledok eksplore edildi ve Grup 2'deki gibi ligasyon yapıldı. Ligasyonu takiben 10 gün daha aynı dozda beta-glucan tedavisine devam edildi.

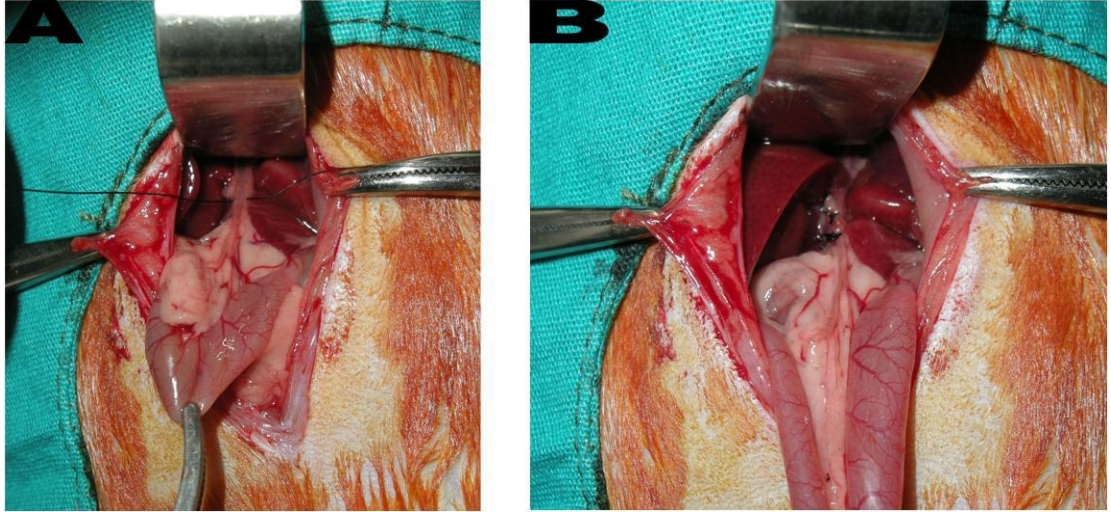
Grup 5 (Beta glucan + Koledok ligasyonu, n=7) :

Bu grupta, 10 gün pretreatment şeklinde *Saccharomyces cerevisiae* mayasından elde edilen mikropartiküle formda beta-glucanın (İmmuneks 50 mg cap., Mustafa Nevzat, İstanbul), SF içinde eritilerek hazırlanmış solüsyonu 50 mg/kg/gün dozunda, günde tek doz olarak gavaj ile verildi. Takiben 11. gün laparotomi yapılarak koledok eksplore edildi ve Grup 2'deki gibi ligasyon yapıldı. Ligasyon sonrası, tedavi kesilerek ratlar 10 gün takip edildi.

3.1. Cerrahi Teknik:

Deney hayvanlarına yapılan cerrahi ve tıbbi girişimlerin tamamı, aynı gruptaki her denek için aynı gün içinde, aynı cerrahi ekip tarafından, genel anestezi altında ve steril koşullarda gerçekleştirildi. Genel anestezi için tüm deneklere 50 mg/kg dozda Ketamin HCl (Ketalar 50 mg/ml, Eczacıbaşı, İstanbul) intramusküler ve 10 mg/kg dozunda Xylazine HCl (Rompun 20 mg/ml, Bayer, İstanbul) intramusküler uygulandı.

Obstrüktif sarılık modeli oluşturulurken cerrahi ligasyon tekniği kullanıldı. Bu amaçla tüm deneklere orta hattan yaklaşık 3 cm'lik laparotomi yapıldıktan sonra non-travmatik eksplorasyonla koledok bulundu. Grup 1'de ligasyon yapılmadan batın kapatıldı. Diğer gruplarda ise, koledok 4/0 ipek ile karaciğere yakın olarak birkaç mm aralıkla iki defa bağlanarak ligasyon yapıldı (Şekil 7). Karın ön duvarı, bütün gruplarda 3/0 ipek sütürlerle tek tek primer olarak kapatıldı. Tüm gruplardaki ratlara, ligasyon sonrası 11. gün yeniden anestezi verilerek re-laparotomi + sternotomi yapılarak batın ve toraks eksplore edildi. Vena cava inferior'dan kan alınarak kardiyak arrest oluşturmak yoluyla ratlar kurban edildi. Kurban sonrası, akciğerler ve karaciğer non-travmatik olarak çıkarıldı.



Şekil 7: Laparotomi yapılarak koledokun eksplere edilmesi(A) ve 4/0 ipek ile karaciğere yakın olarak iki defa bağlanarak ligasyon yapılması(B)

Sağ akciğer alt ve orta lobu, homojenatında MDA, Glutasyon ve LPO bakılmak üzere -80°C 'ye konuldu. Sağ akciğer üst lob histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu. Sol akciğere ise EDTA'lı 5 cc SF trakeadan verilmek suretiyle bronkoalveoler lavaj (BAL) yapıldı ve alınan sıvı $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 280 g'de 10 dakika santrifüj edilerek mikroskopik inceleme ve LDH bakılması için ayrıldı.

Karaciğer sağ lobu ise histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu.

3.2. Biyokimyasal Ölçümler:

3.2.1. Serum Ölçümleri:

Alınan kan, biyokimya çalışmaları için jelsiz biyokimya tüplerine konuldu ve kanlar oda ısısında 30 dakika bekletilerek pıhtılaşması sağlandıktan sonra 3500 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serumlar, birinde MPO ve SOD çalışılmak; diğerinde AST, ALT, GGT, LDH, ALP, Total Protein, Albumin, Total Bilirubin ve Direkt Bilirubin çalışılmak üzere iki adet 1,5 cc'lik şeffaf kapaklı serum saklama tüplerine ayrılarak çalışma gününe kadar -80°C 'de saklandı.

Serumda AST, ALT, GGT, LDH, ALP, Total Protein, Albumin, Total Bilirubin ve Direk Bilirubin ölçümleri otoanalizörde (Abbott Architect C8000, Chicago, USA) çalışıldı.

MPO Ölçümü: Serum MPO ölçümü, Myeloperoxidase Enzyme Immunoassay Test Kit (Katalog no: BC-1129, BioCheck Inc, Foster City, CA, USA) kullanılarak 450 nm’de spektrofotometrik olarak yapıldı. Test sonuçları 0, 2.5, 5, 10, 20 ve 40 ng/ml konsantrasyonlarda MPO standartları ve bu konsantrasyonların absorbansları kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

SOD Ölçümü: Serum SOD ölçümleri, Superoxide Dismutase Assay Kit (Katalog no:706002, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) kullanılarak 450 nm’de spektrofotometrik olarak yapıldı. Test sonuçları 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 U/ml konsantrasyonlarda SOD standartları ve bu konsantrasyonların absorbansları kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

3.2.2. Doku Ölçümleri:

Çıkarıldıktan sonra -80°C’de muhafaza edilen sağ akciğer alt ve orta lobuna ait dokular, her çalışma için ayrı ayrı, kitlerde belirtilen uygun solüsyonlarla homojenat haline getirildi.

MDA Ölçümü: Doku homojenatında MDA ölçümü, Bioxytech MDA-586 kiti (Katalog no:21044, Oxis Research, Burlingame, CA, USA) kullanılarak 586 nm’de spektrofotometrik olarak yapıldı. Test sonuçları 0, 0.5, 1, 2, 3 ve 4 μ M konsantrasyonlarda MDA standartları ve bu konsantrasyonlardaki absorbansları kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

LPO Ölçümü: Doku homojenatında LPO ölçümü, Lipid Hydroperoxide Assay Kit (Katalog no:705003, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) kullanılarak 500 nm’de spektrofotometrik olarak yapıldı. Test sonuçları 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4 ve 5 nM konsantrasyonlarda LPO standartları ve bu konsantrasyonlardaki absorbansları kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

Glutasyon Ölçümü: Doku homojenatında glutasyon ölçümü, Glutathione Assay Kit (Katalog no:703002, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) kullanılarak 410 nm’de spektrofotometrik olarak yapıldı. Test sonuçları 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 ve 16 μ M konsantrasyonlarda glutasyon standartları ve bu konsantrasyonlardaki absorbansları kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

MPO, MDA, LPO, SOD ve Glutasyon ölçümlerinde, mikropalak yıkayıcı olarak Thermo Scientific Wellwash 4 MK 2 (Thermo Scientific, Massachusetts, ABD), mikropalak okuyusu olarak Biorad Benchmark Plus (Bio-Rad Laboratories Inc, California, ABD) kullanıldı.

3.3. Bronkoalveolar Lavaj (BAL) Sıvısı İncelemesi:

Akciğer dokusu çıkarıldıktan sonra, sol akciğer ayrılarak, trakeadan EDTA'lı 5 cc SF, doku hasarına yol açmamak için basınçsız olarak enjekte edildi ve geriye alınan sıvı steril kapta toplandı. Sıvı +4°C'de 280 g'da 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen sıvının alt kısmından mikroskopik inceleme için yayma yapılarak giemsa ile boyandı. Sıvının süpernatant kısmından otoanalizörde LDH bakıldı.

3.4. Histopatolojik İnceleme:

Karaciğer sağ lob ve akciğer sağ üst loba ait dokular %10'luk formaldehitde 48 saat tespit edildi. Dokular dereceli etil alkol serilerinden geçirildikten sonra ksilol ile şeffaflandırıldı ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak genel değerlendirme ve skorlama yapmak için Hematoksilen-Eozin, bağ doku artışını değerlendirmek için Masson'nun Trikrom boyamaları yapılarak ışık mikroskopunda incelendi. Gruplara ait akciğer dokularında, PMNL infiltrasyonu, ödem, hemoraji ve pulmoner yapılardaki dejenerasyon değerlendirilerek histopatolojik skorlamalar yapıldı (2).

Akciğer dokusundaki skorlama aşağıdaki şekilde yapıldı:

Skor-0 = Normal akciğer histolojisi,

Skor-1 = Az sayıda lökosit infiltrasyonu, kapillerlerde dolgunluk,

Skor-2 = Orta derecede lökosit infiltrasyonu, perivasküler ödem, pulmoner yapılarda kısmi bozulma, hemoraji,

Skor-3 = Şiddetli ve yaygın lökosit infiltrasyonu, yaygın pulmoner yapı yıkımı ve hemoraji,

Karaciğer dokusundaki skorlamada modifiye edilmiş histolojik aktivite indeksi (HAI) kullanılmıştır (145-147).

Karaciğer dokusundaki skorlama aşağıdaki şekilde yapıldı:

Skor-0 = Normal karaciğer histolojisi,

Skor-1 = Birkaç portal alanda az derecede lökosit infiltrasyonu, az sayıda lokal inflamasyon alanı,

Skor-2 = Çok sayıda portal alanda lökosit infiltrasyonu, lokal inflamasyon alanları, lokal nekroz alanları,

Skor-3 = Çok sayıda portal alanda lökosit infiltrasyonu, yaygın inflamasyon alanları, yaygın nekroz alanları,

Grupların tümündeki deneklere ait akciğer ve karaciğer kesitleri, deney grupları bilinmeden değerlendirilerek skorlandı ve ortalamaları alındı. Elde edilen değerlerin istatistiksel olarak anlamlılığı araştırıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz:

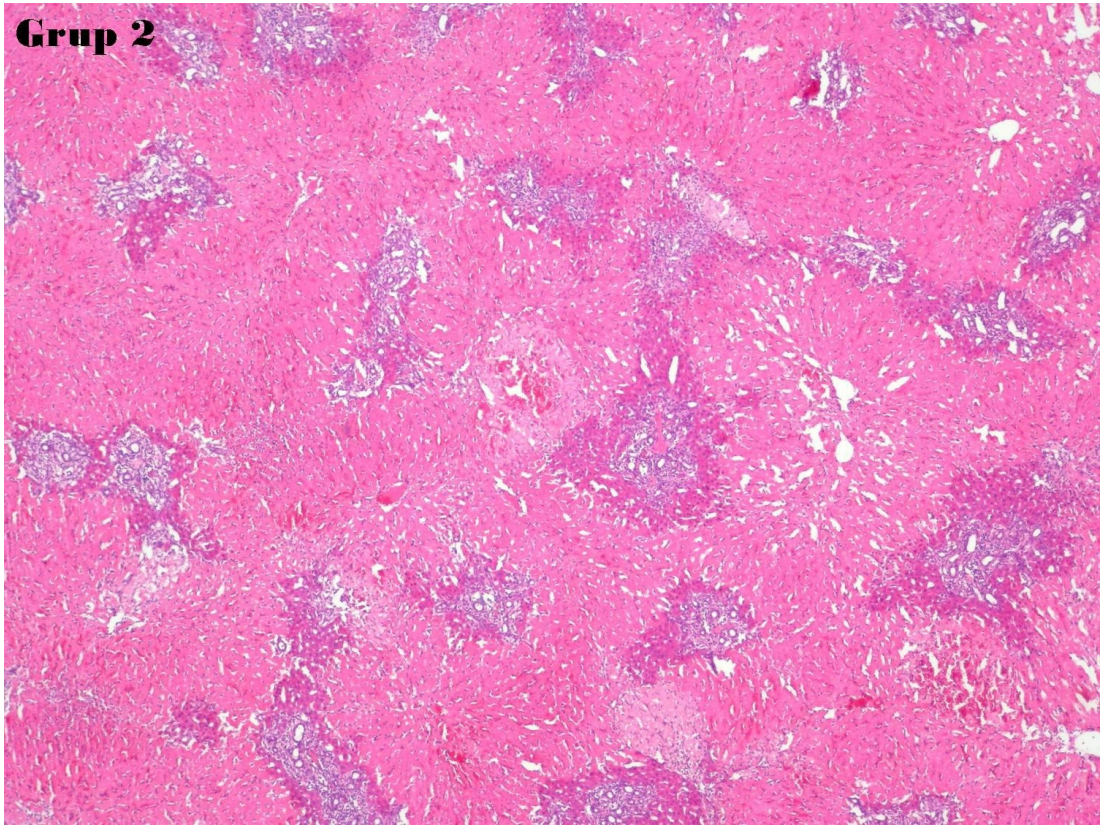
Elde edilen veriler SPSS for Windows 15.0 istatistik paket programına kayıt edildi ve istatistiksel karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

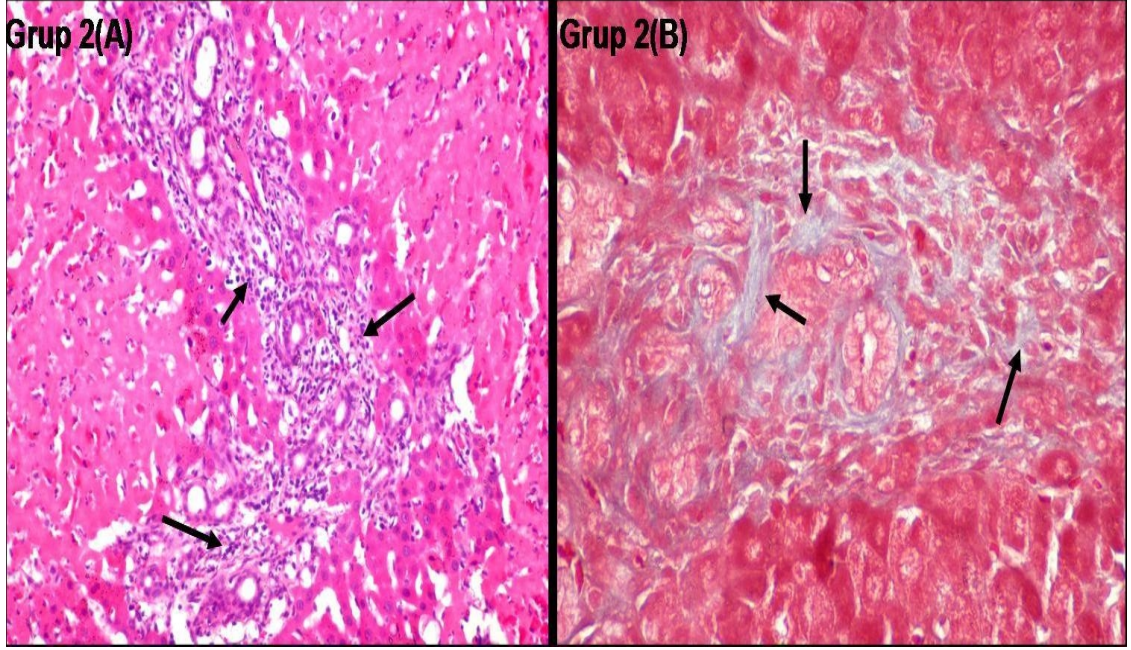
4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları:

4.1.1. Karaciğer Dokusunun Histopatolojik Bulguları:

Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2'deki deneklerin karaciğer dokularında tıkanma sarılığında görülen değişikliklerden portal alanlarda safra kanalı proliferasyonu, nekrotik alanlar, kanallar çevresindeki bağ dokuda nötrofil infiltrasyonu, lokal inflamasyon alanları ve bazı portal alanlarda bağ doku artışı saptandı (Şekil-8,9). Deneklerin bir kısmında bu bulguların daha şiddetli olduğu, nekrotik alanların artmış olduğu, portal alanlar arasında artmış safra kanallarının oluşturduğu köprüleşmeler izlendi. Portal alan çevresindeki hepatositlerde mitotik aktivitenin artmış olduğu gözlemlendi.



Şekil 8: Grup 2'de karaciğerde nekroz alanları ve portal alanlardaki safra kanal proliferasyonu yaygın olarak görülmektedir. Hematoksilen-Eozin X4.

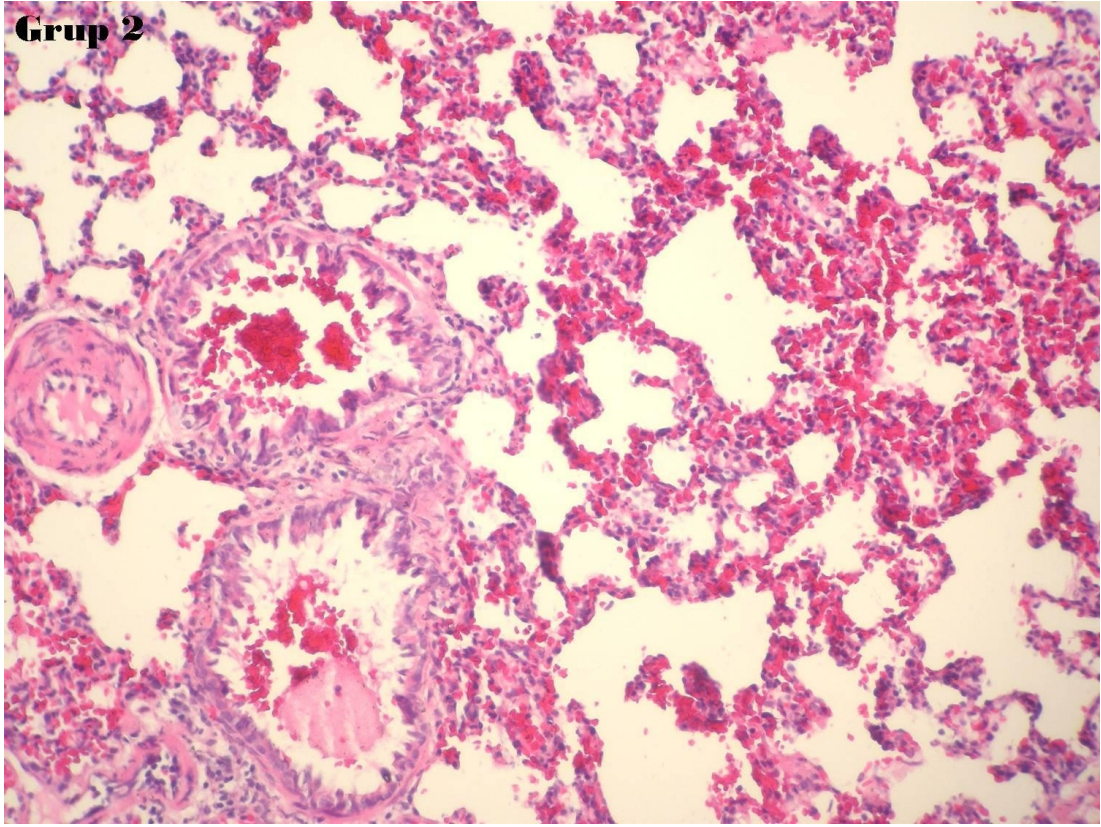


Şekil 9: Grup 2’de safra kanal proliferasyon alanlarında artmış inflamasyon hücreleri (→), Hematoksilen-Eozin X20 (A). Grup 2’de prolifer olmuşt safra kanalları arasında belirgin bağ dokusu yoğunluğu görülmekte (→), Masson Trikrom X40 (B).

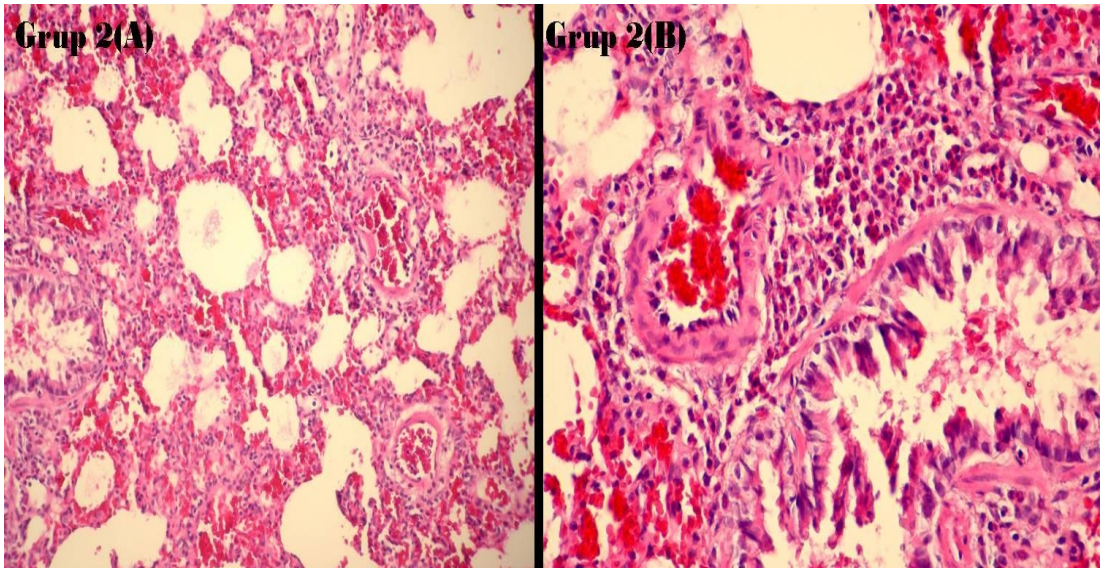
4.1.2. Akciğer Dokusunun Histopatolojik Bulguları:

Grup 1 ile Grup 2 karşılaştırıldığında, Grup 2’deki ratların akciğer dokularında, akciğer hasarının göstergesi olan pulmoner kapillerlerde dolgunluk, hemoraji, epitel yapısı bozulmuş bronşioller (Şekil-10) ve perivasküler lökosit infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil-11). Kontrol grubundaki bazı deneklerde kanamanın yaygın olduğu, bronş ve bronşiollerin içerisinde, çok sayıda eritrosit bulunduğu, bazılarının epitellerinin döküldüğü tespit edildi (Şekil-11).

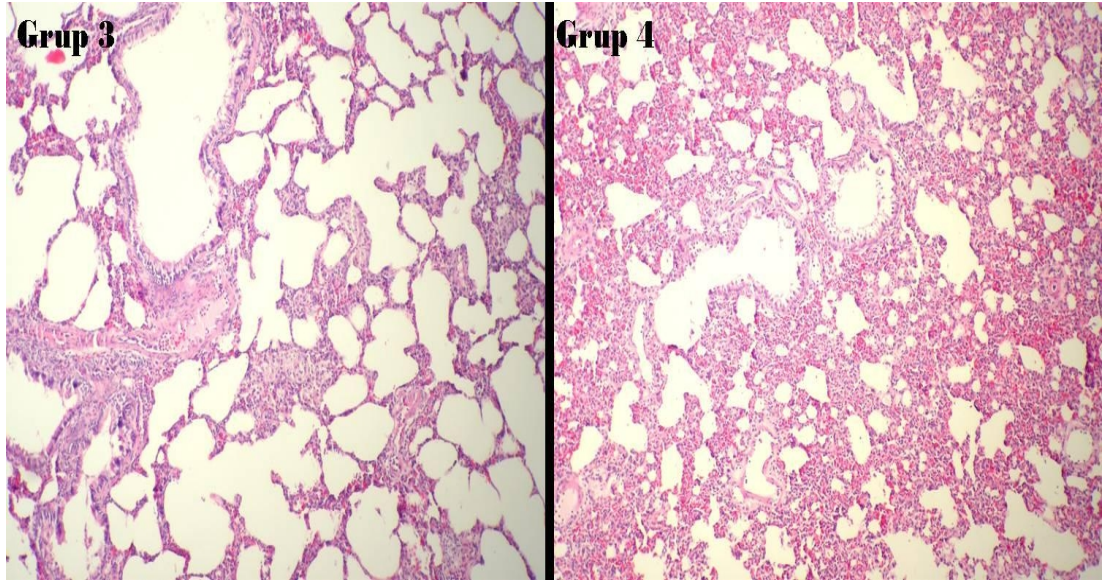
Grup 3, 4 ve 5’de, kapiller dolgunluk izlenirken, yaygın hemorajiler ve nötrofil infiltrasyonu görülmedi (Şekil-12,13). Grup 2 ile karşılaştırıldığında hasarın Grup 3, 4 ve 5’de daha az olduğu ancak, birbirlerine üstünlüklerinin olmadığı görüldü.



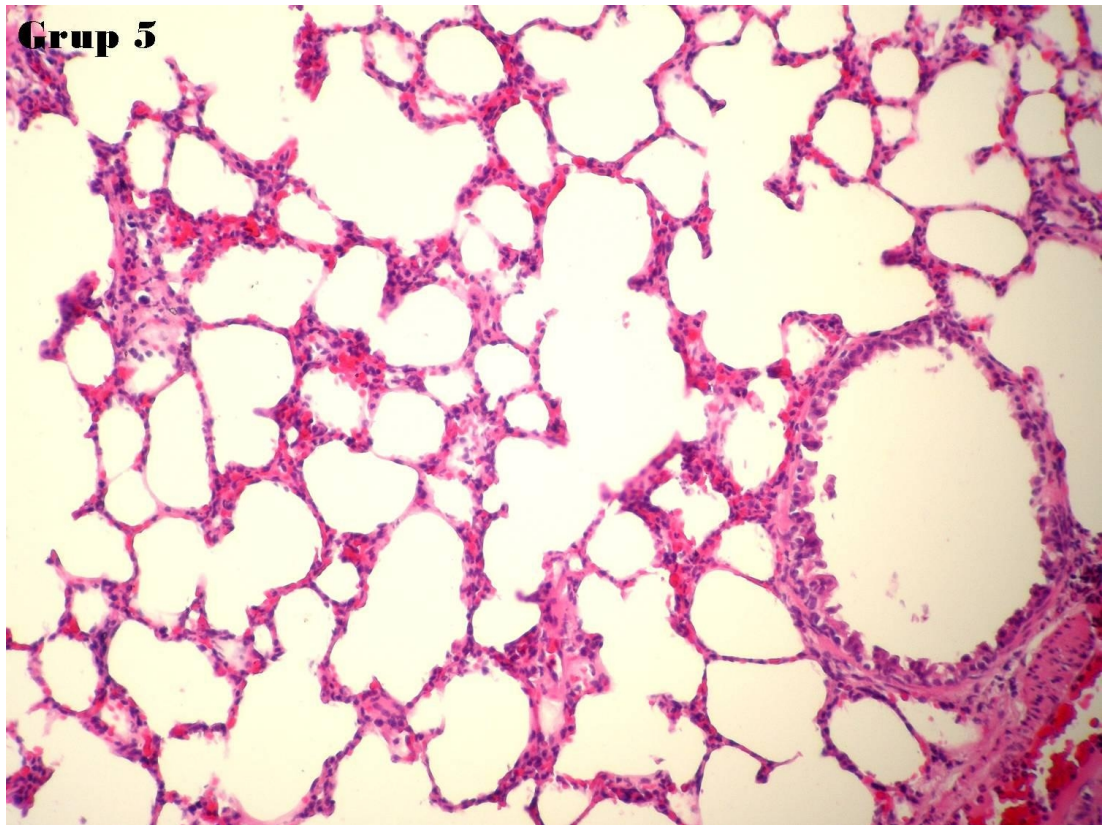
Şekil 10: Grup 2’de bazı bronşiollerde eritrosit ve sıvı birikimi görülmekte, Hematoksilen-Eozin X10.



Şekil 11: Grup 2’ye ait akciğer dokusunda kapiller dolgunluk ve hemoraji belirgin izlenmekte (A), Hematoksilen-Eozin X20. Bronşiol ve pulmoner arter çevresinde nötrofil infiltrasyonu (B), Hematoksilen-Eozin X40.



Şekil 12: Grup 3 ve Grup 4 akciğer dokusunda kapiller dolgunluğun yer yer devam ettiği ancak yaygın hemorajinin olmadığı görülmekte. Hematoksilen-Eozin X10.



Şekil 13: Grup 5'e ait akciğer dokusu Grup 3 ve Grup 4'e gruba benzemektedir. Hematoksilen-Eozin X10

Gruplara ait akciğer dokularında, PMNL infiltrasyonu, ödem, hemoraji ve pulmoner yapılardaki dejenerasyon değerlendirilerek yapılan histopatolojik skorlama sonuçları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3: Akciğer dokusunun histopatolojik skorlama sonuçları (median±std error)

	Akciğer Histopatolojik Skor
Grup 1	0.00 ± 0.00
Grup 2	2.43 ± 0.20
Grup 3	1.14 ± 0.26
Grup 4	0.57 ± 0.20
Grup 5	1.00 ± 0.21

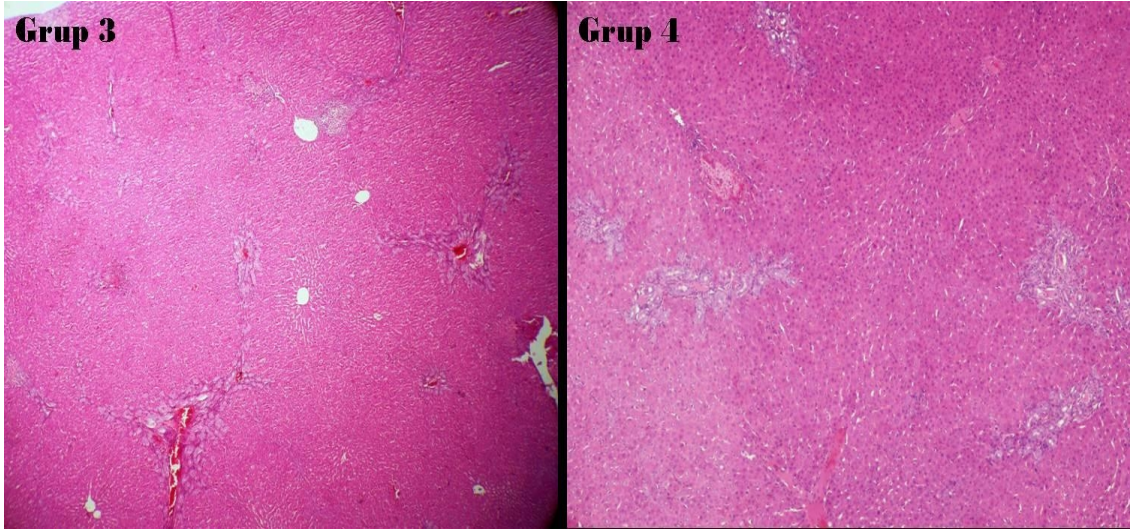
Bu sonuçlara göre yapılan değerlendirmede, Grup 2 ile Grup 3, 4 ve 5 karşılaştırıldığında, bu gruplarda istatistiksel olarak anlamlı iyileşme bulunmuştur. Grup 3, 4 ve 5 sırasıyla $p=0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$

Grup 3, 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise birbirlerine istatistiksel olarak anlamlı üstünlükleri bulunmamıştır. Grup 3 ile 4 arasında $p=0.275$, grup 3 ile Grup 5 arasında $p=0.986$, grup 4 ile Grup 5 arasında $p=0.555$.

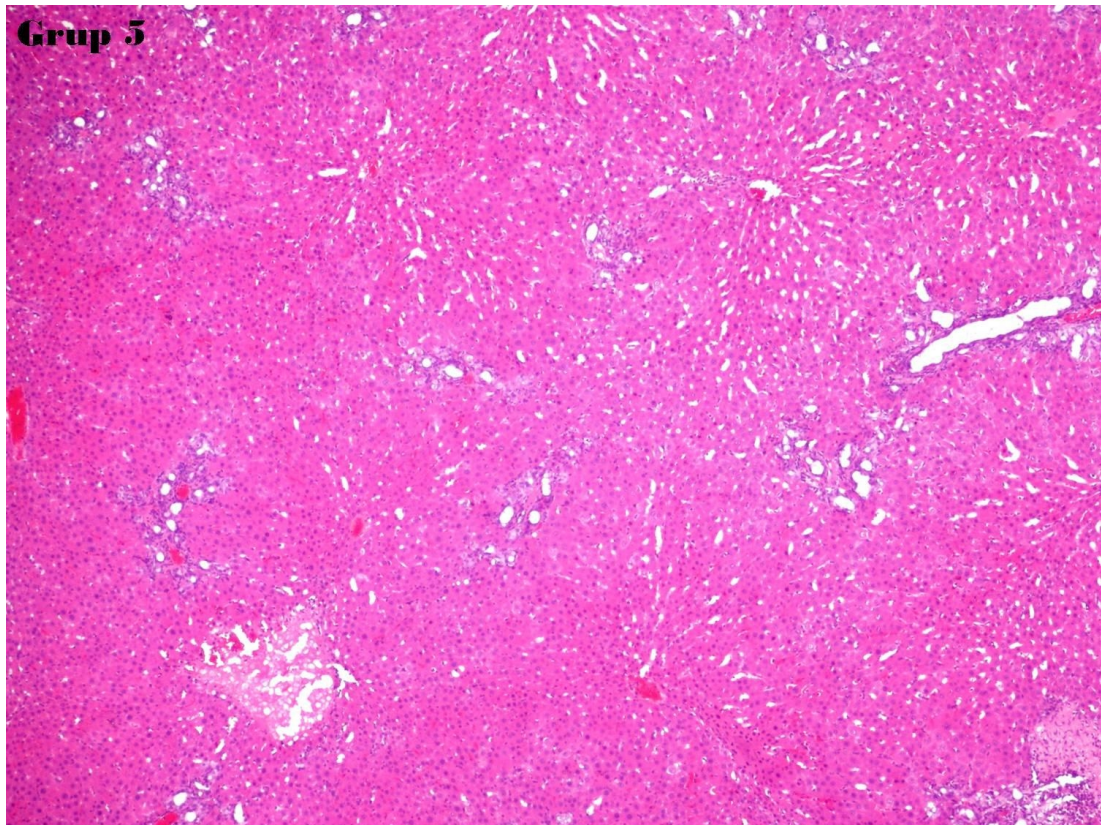
Grup 3, 4 ve 5’deki deneklerin karaciğer histopatolojisi incelendiğinde ise;

Gruplardaki karaciğer dokularının hasar şiddeti birbirlerine benzemektedir. Üçüncü grupta, portal alanlardaki safra kanalı proliferasyonunun, kontrol grubuna göre azalmış olarak varlığını sürdürdüğü görüldü. Lokal inflamasyon alanları, portal alandaki inflamasyon, nekroz alanları 3. grupta oldukça az sayıda izlendi (Resim-14). Grup 4’de de grup 3’e benzer şekilde safra kanal proliferasyonu, inflamasyon ve nekroz alanlarının kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü (Resim-14).

Beşinci gruba ait karaciğer dokularında, safra kanal proliferasyonu, inflamasyon ve lokal nekroz alanlarının 3. ve 4. gruba göre daha fazla görüldüğü ancak, kontrol grubuna göre hasarın daha az olduğu tespit edildi (Şekil-15).



Şekil 14: Grup 3 ve 4’de karaciğer dokusunda portal alanlardaki safra kanal proliferasyonunun azalmış olarak varlığını sürdürdüğü, grup 2 ye göre oldukça azalmış lokal inflamasyon ve nekroz alanları izlenmekte. Hematoksilen-Eozin X4



Şekil 15: Grup 5 karaciğer dokusu. Hematoksilen-Eozin X4

Mitotik hepatositler, Grup 3, 4 ve 5’de çok az sayıda görüldü. Grup 3, 4 ve 5’deki deneklerin bir kısmında sadece safra kanal proliferasyonu tespit edilirken, nekroz, inflamasyon ve fibrozis gözlenmedi.

4.2. Biyokimyasal İnceleme Sonuçları:

Elde edilen sonuçlardan AST, ALT, GGT, ALP değerleri Tablo 4’de, LDH, T.Bil, D.Bil, T.Prt, Alb değerleri Tablo 5’de, serum MPO ve SOD değerleri tablo 6’da, doku MDA, LPO ve Glutatyon değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 4: AST,ALT,GGT,ALP değerleri (median±std error)

	AST(U/L)	ALT(U/L)	GGT(IU/L)	ALP(IU/L)
GRUP 1	175,00 ± 37,98	63,42 ± 6,98	4,00 ± 0,00	235,71 ± 12,02
GRUP 2	4440,71 ± 230,13	1431,85 ± 56,33	26,14 ± 1,29	338,57 ± 24,20
GRUP 3	355,57 ± 29,40	105,42 ± 11,51	20,00 ± 0,37	238,42 ± 60,69
GRUP 4	466,57 ± 78,04	165,42 ± 30,88	15,28 ± 2,80	312,42± 28,58
GRUP 5	1015,14 ± 208,70	355,42 ± 65,63	33,42 ± 3,33	311,85 ± 18,20

Grup 2 ile Grup 3, 4 ve 5 karşılaştırıldıklarında;

Grup 3’de AST, ALT ve GGT değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük iken (sırasıyla p=0.002, 0.002, 0.007), ALP değerinde istatistiksel anlamlı fark bulunmadı (p=0.142).

Grup 4’de AST, ALT ve GGT değerleri grup 3’de olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.002, 0.002, 0.006) düşük iken, ALP değerinde anlamlı fark bulunmadı (p=0.443).

Grup 5’de AST ve ALT değerleri istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.002, 0.002) düşük iken, GGT ve ALP değerlerinde anlamlı fark bulunmadı. (sırasıyla p=0.062, 0.277).

Grup 3, 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında;

Grup 3 ve 4 arasında AST, ALT, GGT ve ALP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0.482, 0.225, 0.243, 0.180).

Grup 3’ de grup 5’e göre AST, ALT ve GGT değerleri istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.003, 0.002, 0.024) düşük bulunurken, ALP değerinde anlamlı fark bulunmadı (p=0,142).

Grup 4’de grup 5’e göre AST, ALT ve GGT değerleri istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.035, 0.035, 0.006) düşük bulunurken, ALP değerinde anlamlı fark bulunmadı (p=0,949).

Tablo 5: LDH, T.Bil, D.Bil, T.Prt, Alb değerleri (median±std error)

	LDH(IU/L)	T. BİL(mg/dl)	D. BİL(mg/dl)	T. PRt(g/dl)	ALB(g/dl)
GRUP 1	1730,00 ± 279,32	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00	6,07 ± 0,31	3,55 ± 0,08
GRUP 2	3927,42 ± 222,93	10,35 ± 0,43	9,23 ± 0,40	4,92 ± 0,03	2,9 ± 0,05
GRUP 3	716,85 ± 155,68	8,81 ± 0,34	7,86 ± 0,37	5,20 ± 0,097	2,80 ± 0,07
GRUP 4	1563,71 ± 238,69	3,64 ± 0,48	2,93 ± 0,44	5,41 ± 0,12	3,15 ± 0,042
GRUP 5	903,57 ± 262,58	10,12 ± 0,81	9,13 ± 0,69	5,54 ± 0,11	3,07 ± 0,08

Grup 2 ile Grup 3, 4 ve 5 karşılaştırıldıklarında;

Grup 3’de LDH, T.bil, D.bil değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla p=0.002, 0.018, 0.035) ve T.prt değeri anlamlı olarak yüksek (p=0.030) bulunurken, Alb değerinde anlamlı fark bulunmadı (p=0.290).

Grup 4’de LDH, T.bil, D.bil değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla p=0.002, 0.002, 0.002) ve T.prt ve Alb değerleri anlamlı yüksek (sırasıyla p=0.009, 0.006) bulundu.

Grup 5’de LDH değeri istatistiksel olarak anlamlı (p=0.002) düşük ve T.prt değeri anlamlı (p=0.001) yüksek bulunurken, T.bil, D.bil ve Alb değerlerinde anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0.798, 0.482, 0.119).

Grup 3, 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında;

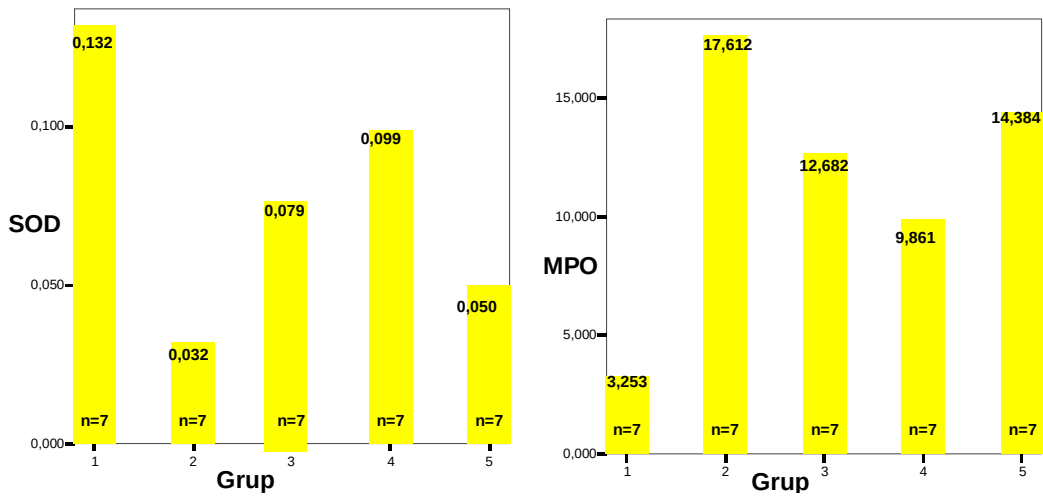
Grup 4’de grup 3’e göre T.bil, D.bil değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla p=0.002, 0.002) ve LDH, Alb değerleri anlamlı (sırasıyla p=0.013, 0.003) yüksek bulunurken, T.prt değerinde anlamlı fark bulunmadı (p=0.246).

Grup 5’de grup 3’e göre T.prt ve Alb değerleri istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.050, 0.027) yüksek bulunurken, LDH, T.bil ve D.bil değerlerinde anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0.749, 0.110, 0.142)

Grup 4’de grup 5’e göre T.bil ve D.bil değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla p=0.002, 0.002) ve LDH değeri anlamlı (p=0.025) yüksek bulunurken, T.prt ve Alb değerlerinde anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0.474, 0.512)

Tablo 6: Serum SOD ve MPO değerleri (median±std error)

	SOD (U/ml)	MPO (ng/ml)
GRUP 1	0,132 ± 0,009	3,253± 0,86
GRUP 2	0,032 ± 0,007	17,612 ± 1,34
GRUP 3	0,079 ± 0,005	12,682 ± 0,37
GRUP 4	0,099 ± 0,008	9,861 ± 0,67
GRUP 5	0,050 ± 0,007	14,384 ± 0,86

**Şekil 16: Serum SOD ve MPO değerleri grafiği**

Grup 2 ile Grup 3, 4 ve 5 karşılaştırıldıklarında;

SOD değeri, Grup 3 ve 4'de istatistiksel olarak anlamlı yüksek (sırasıyla $p=0.003$, 0.002) bulunurken, grup 5'de anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.063$)

MPO değeri, Grup 3 ve 4'de istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla $p=0.003$, 0.002) bulunurken, grup 5'de anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.073$)

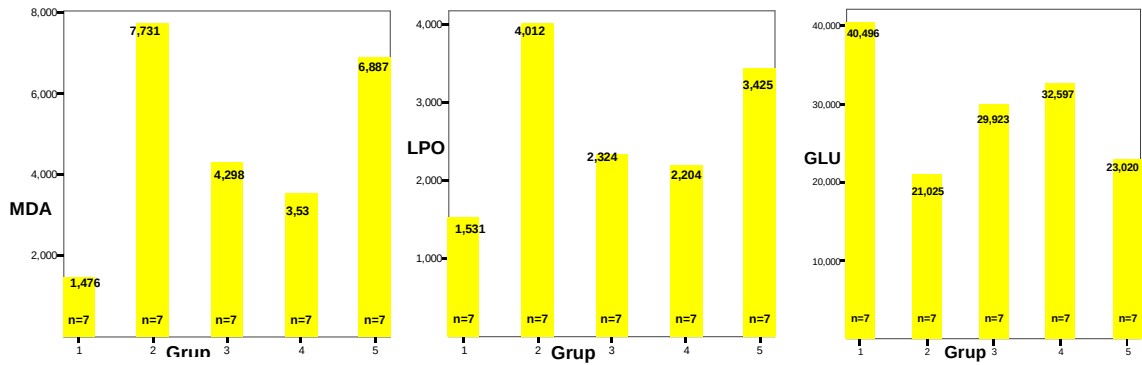
Grup 3, 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında;

SOD değeri, grup 3 ve 4'de, grup 5'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek (sırasıyla $p=0.011$, 0.004) bulunurken, Grup 3 ve 4 arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.110$).

MPO değeri, grup 4'de, grup 3 ve 5'e göre istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla $p=0.002$, 0.002) bulunurken, Grup 3 ve 5 arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.141$).

Tablo 7: Akciğer doku MDA, LPO ve Glutasyon düzeyleri (median±std error)

	MDA (μM)	LPO (nM)	GLUTATYON(μM)
GRUP 1	1,476 ± 0,31	1,531 ± 0,03	40,496 ± 1,48
GRUP 2	7,731 ± 0,83	4,012 ± 0,42	21,025 ± 1,35
GRUP 3	4,298 ± 0,30	2,324 ± 0,09	29,923 ± 1,84
GRUP 4	3,530 ± 0,30	2,204 ± 0,16	32,597 ± 2,10
GRUP 5	6,887 ± 0,59	3,425 ± 0,32	23,020 ± 2,04

**Şekil 17: Akciğer doku MDA, LPO ve Glutasyon grafiği**

Grup 2 ile Grup 3, 4 ve 5 karşılaştırıldıklarında;

Grup 3'de, MDA ve LPO değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla p=0.025, 0.004) ve Glutasyon değeri anlamlı olarak yüksek (p=0.04) tespit edildi.

Grup 4'de MDA ve LPO değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük (sırasıyla p=0.006, 0.003) ve Glutasyon değeri anlamlı yüksek (p=0.002) tespit edildi.

Grup 5'de, MDA, LPO ve Glutasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (sırasıyla p=0.225, 0.338, 0.655).

Grup 3, 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında;

Grup 3'de grup 4'e göre, MDA, LPO ve Glutasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (sırasıyla p=0.064, 0.338, 0.406).

Grup 3'de grup 5'e göre MDA ve LPO değerleri istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.003, 0.004) düşük ve Glutasyon değeri anlamlı (p=0.035) yüksek bulundu

Grup 4'de grup 5'e göre MDA ve LPO değerleri istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla p=0.002, 0.006) düşük ve GSH değeri anlamlı (p=0.018) yüksek bulundu.

Tablo 8: BAL sıvısında LDH düzeyleri (median $\pm$ std error)

	LDH (IU/ml)
GRUP 1	8,28 $\pm$ 0,18
GRUP 2	11,14 $\pm$ 0,26
GRUP 3	9,71 $\pm$ 0,28
GRUP 4	9,00 $\pm$ 0,30
GRUP 5	9,28 $\pm$ 0,28

Grup 2 ile Grup 3, 4 ve 5'in BAL sıvısı LDH düzeyleri karşılaştırıldıklarında, Grup 3, 4 ve 5'de LDH seviyesinin anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0.008, 0.002, 0.003).

Grup 3, 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, LDH seviyeleri açısından anlamlı fark olmadığı tespit edildi (sırasıyla p=0.133, 0.177, 0.601).

Giemsa ile boyalı BAL sıvısı yaymalarının mikroskopik incelemesinde ise, Grup 2'de Grup 1'e göre PMNL sayısının daha fazla olduğu, Grup 3, 4 ve 5 ise Grup 2 ile karşılaştırıldığında, PMNL sayısının daha az olduğu, ancak Grup 3, 4 ve 5 arasında anlamlı değişiklik olmadığı görüldü.

5. TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı ve hiperbilirubinemi birçok araştırmaya konu olan, çeşitli sistemik etkilere sahiptir. Yara iyileşmesinde gecikme, RES baskılanması, sekonder biliyer siroz, sepsis, renal, kardiyovasküler ve pulmoner yetmezlik bu etkilerden bazılarıdır. Endotoksemi, tıkanma sarılığı sürecinde ve postoperatif dönemde komplike patofizyolojik değişikliklerin majör nedenlerinden birisidir (2).

Tıkanma sarılığında, safra tuzlarının sindirim kanalında normalde sağladıkları anti-endotoksin etkinin ortadan kalkması nedeniyle, portal sisteme geçen endotoksin miktarında artma olmaktadır. Bu artan endotoksinler, tıkanma sarılığı nedeniyle zaten işlevleri bozulan Kupfer hücreleri tarafından yeterli fagositoz olmaması nedeniyle sistemik dolaşıma geçmektedirler. Ortaya çıkan endotoksemi inflamatuvar yanıtı tetikler. Kontrol edilemeyen inflamatuvar yanıt ve artan SOR akciğer hasarına, multiorgan disfonksiyonuna ve ilerleyen süreçte ölüme neden olabilir (3,4).

RES, bakteriyel disseminasyonun önlenmesinde merkezi bir rol oynar. RES, kandan mikroorganizmaları ve endotoksinleri temizler ve infeksiyonlara karşı savunur. RES'in önemli bir parçası olan hepatik makrofajların fonksiyonu tıkanma sarılığı sırasında baskılanır (5). Patofizyolojik mekanizma, RES fagositik fonksiyonunun baskılanması, kompleman sistemin aktive olması, endotel hasarı ve dejenere granülositlerin birikimi nedeniyle pulmoner vasküler tıkanıklıklarla ilişkilendirilebilir. Obstrüktif kolanjitli hastalarda, pulmoner hasarın histopatolojik göstergesi olan pulmoner lökosit infiltrasyonu görülür. Safra kanal obstrüksiyonuna yanıt olarak üretilen SOR, uzak organ hasarında etkisi olan ECAM (endotelyal hücre adezyon molekülü) ve VCAM-1(vasküler hücre adezyon molekülü) salınımı ve inflamatuvar yanıtı neden olur. Bu nedenlerle, endotoksemi ve RES disfonksiyonunun, tıkanma sarılığında ARDS gelişmesinde önemli role sahip olduğu söylenebilir (148).

Lipopolisakkarit (LPS), çeşitli aerobik gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki lipoidal glukozamid yapısında bir disakkarittir (149-152). Günümüzde, yapısı ve katıldığı biyolojik mekanizmalar çok iyi tanımlanmış olan LPS, gram negatif bakteri öldüğü veya bölündüğünde ortama salınmaktadır (153). LPS'nin lipid A birimi, endotoksisite denilen inflamatuvar ve hemodinamik değişikliklerden sorumlu tutulmaktadır (149,154,155). Endotoksin, hepatositlerde sentezlenen

lipoprotein bağlayıcı protein (LBP) ile birleşir (156,157). LBP, bir akut faz reaktanı proteindir. Bu yapı, monosit, makrofaj, lenfosit gibi hücrelerin yüzeyinde lokalize olan CD14 molekülü ile birleşir (153,158,159). Bu birleşme sonucu, hücre içinde nükleustaki NF-kB aktivasyonuna yola açan bir sinyal ortaya çıkar. TNF-a, IL-8 ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu artar. Sitokinlerin etkisi ile septik şokun klinik belirtileri karşımıza çıkmaktadır. Hayvan ve insanlarda LPS enjeksiyonunu takiben bütün bu klinik belirtilerin ortaya çıkması, sepsis sendromunda LPS'nin rolünü gösterir niteliktedir (160-163). Tıkanma sarılığında artan bakteriyel translokasyon ve endotoksemi de sepsis tablosuna ilerlemektedir.

Tıkanma sarılığı oluşturulmuş deney hayvanlarında, doku hasarının patogeneğinde, lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu da sorumludur (6). SOR tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur. Aktive olmuş polimorfonükleer lökositler (PMNL), SOR, araşidonik asit ürünleri ve elastaz gibi proteolitik enzimleri salgılar (8,9). Aktive olmuş ve küçük hava yollarında birikmiş olan inflamatuvar hücreler reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını arttırırken, bu radikallerin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayan faktörleri de azaltır. Böylece akciğer hasarına ve fibrozisine katkıda bulunur (10).

ARDS'de alveolar epitel hasarı, mikrosirkülatuar hasar, alveolar ve interstisyel ödem önemli özelliklerdir. Erken dönemde nötrofil, geç dönemde mononükleer hücre infiltrasyonu sonucunda, bu hücrelerden açığa çıkan SOR, ARDS'den sorumlu tutulmaktadır (11). Alveolar epitelyal hücreler, akciğer sıvı dengesinin ve bütünlüğünün sürdürülmesi için önemlidir. Hava yolları ve alveollerdeki epitel, koruyucu bariyer görevi yapmaktadır. Alt respiratuvar sistem, gerek lokal olarak üretilen, gerekse inhale edilen oksidanların hasarına daha duyarlıdır. Hasar sonucu epitel seçici geçirgenliğini kaybeder, böylece su, iyonlar ve makromoleküllere karşı daha geçirgen hale gelir. Epitelyal geçirgenliğin artması, akciğer hasarında ilk gelişen olaylardan birisidir. Bu durum, inflamatuvar süreci ilerleterek, kan, interstisyum ve alveolar boşluk arasında inflamatuvar ve zarar verici mediatörlerin geçişini kolaylaştırır. Nötrofil/endotel ilişkisi, akciğer hastalıklarında inflamatuvar yanıtın ilerleyişinde gerekli olaylardır. GSH nonenzimatik hücre içi antioksidandır. Endotel hücre GSH/GSSG oranının değişmesi, nötrofil/endotel

adezyonunun artmasıyla ilişkili olan farklı hücre yüzey adezyon moleküllerinin salınmasını sağlar. GSH'nin oksidasyonunu sağlayan ajanlar, ICAM-1 (hücrelerarası adezyon molekülü) ve VCAM-1 in artışı yoluyla, nötrofillerin endotel hücrelerine yapışmasını arttıırırlar. Bu nedenle, GSH redoks dengesindeki değişiklik, kronik akciğer inflamasyonu ile ilişkili olan nötrofil adezyonunun önemli mekanizması olabilir. Bununla birlikte, GSH seviyesinde azalma, VEGF (vasküler endotel büyüme faktörü) ve fonksiyonel reseptöründe azalmaya neden olur. VEGF ve fonksiyonel reseptöründe azalma, amfizem ve KOAH (kronik obstruktif akciğer hastalığı) gibi inflamatuvar akciğer hastalıklarının patogeneziyle bağlantılı olabilecek apoptozis ile ilişkilendirilir (10).

Beta-glukanlar, fungusların ve bazı bakterilerin hücre duvarının majör içeriği olan glukoz polimerleridirler. β -glukanlar güçlü immün stimülatörler olarak kabul edilmektedirler (13). Çözülebilir β -glukanlar oral olarak alındığında gastrointestinal sistemden emilerek sistemik dolaşıma katılmaktadırlar. Güçlü bir makrofaj stimulatörüdür. Bu sayede makrofaj sitotoksitesini ve fagositik kapasitesini arttırmaktadır (14).

Tıkanma sarılığı sonucu önce karaciğerde, bahsedilen mekanizmalarla ilerleyen süreçte akciğerde ve birçok organda fonksiyonel ve histopatolojik hasar olduğu bilinmektedir. Oluşan hasarın önlenmesi, azaltılması veya geri döndürülmesi hastalardaki morbidite ve mortalite açılarından önemlidir. Literatürde, tıkanma sarılığında beta-glukanın akciğer hasarına etkisi konusunda çalışma yapıldığı gözlenmemiştir.

Çalışmamızda, histopatolojik incelemede, kontrol grubundaki deneklerde karaciğerde şiddetli hasar tespit edilirken, beta-glukan verilen gruplarda bu hasar daha az görüldü. Yapılan skorumla ile istatistiksel olarak da, bu hasar beta-glukan verilen bütün gruplarda anlamlı olarak daha az bulundu. Beta-glukan verilen gruplar arasında Grup 4'de diğerlerine göre düzelme daha belirgin görünmesine rağmen istatistiksel olarak fark tespit edilmedi.

Kontrol grubundaki deneklerin akciğerlerinde, pulmoner kapillerlerde dolgunluk, hemoraji, bronşiol epitel yapısında bozulma ve perivasküler nötrofil infiltrasyonu tespit edildi (Şekil 10-11). Beta-glukan verilen gruplarda ise her üç grupta da birbirine benzer derecede kapiller dolgunluk izlenirken, yaygın hemoraji ve

nötrofil infiltrasyonu görülmedi. Akciğer hasarının, kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü (Şekil 12-13). Yapılan histopatolojik skorlamada Grup 3, 4 ve 5’de hasarın azlığı istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (Tablo 3). Karaciğer dokusunda olduğu gibi akciğerde de Grup 3, 4 ve 5’in istatistiksel olarak birbirlerine üstünlüğü gözlenmedi.

Ling Z ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada, koledok ligasyonu sonrası, *Salvia Miltiorrhizae* ile tedavi edilen ratlarda multiorgan hasarını incelediklerini, karaciğerde ve akciğer dokusunda sadece histopatolojik olarak değerlendirme yapıldığını, biyokimyasal değerlendirmenin yapılmadığı, *Salvia Miltiorrhizae* verilen grupta doku hasarının daha az olduğunun tespit edildiği, *Salvia Miltiorrhizae* nin tıkanma sarılığında multiorgan hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu sonucuna varıldığını bildirmişlerdir (164). Bizim çalışmamızda da, koledok ligasyonu yapılarak tıkanma sarılığı oluşturulan ve beta-glukan verilen gruplarda akciğer hasarı değerlendirildi (Tablo 3). Kontrol grubundaki ratların akciğer dokularında pulmoner kapillerlerde dolgunluk, hemoraji, epitel yapısı bozulmuş bronşiolle ve perivasküler lökosit infiltrasyonu gözlemlendi; beta-glukan verilen Grup 3, 4 ve 5’de ise, kapiller dolgunluk izlenirken, yaygın hemorajiler ve nötrofil infiltrasyonu görülmedi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasarın Grup 3, 4 ve 5’de daha az olduğu, ancak birbirlerine üstünlüklerinin olmadığı görüldü. Yapılan histopatolojik skorlamayla Grup 3, 4 ve 5’de hasarın daha az olduğu istatistiksel olarak da gösterildi. Benzer şekilde karaciğerde de Grup 3, 4 ve 5’de hasarın kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edildi (Şekil 14-15).

Tıkanma sarılığında karaciğer fonksiyon testlerinde de değişiklikler olmaktadır. AST, ALT, GGT, ALP, LDH, total bilirubin ve direkt bilirubin düzeylerinin arttığı ve total protein, albumin düzeylerinin düştüğü bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak ligasyon grubunda AST, ALT, GGT, ALP, LDH, total ve direkt bilirubin düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ve total protein, albumin düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü görüldü (Tablo 4-5). Dinelek’in yaptığı “Deneysel tıkanma sarılığında modelinde beta-glukanın bakteriyel translokasyonu önlemede etkinliği” isimli tez çalışmasında, koledok ligasyonu sonrası 10 gün boyunca, 10 mg/kg dozunda beta-glukan verilen ratlarda, AST, ALT, ALP, LDH, total bilirubin ve direkt bilirubin düzeylerinde azalma olduğu; ancak

sadece ALP ve total bilirubin düzeylerindeki düşmenin anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak, Dinelek'in çalışmasında beta-glukanın, bizim çalışmamıza göre daha düşük dozda (10mg/kg) kullanılması nedeniyle belirsiz etkinlik görülmüş olabilir. Bizim çalışmamızda beta-glukan dozu 50 mg/kg olarak kullanıldı. Grup 3'de AST, ALT, GGT, LDH, total bilirubin ve direkt bilirubin düzeylerinde anlamlı düşme tespit edildi. Total protein düzeyinde anlamlı yükselme görüldü. ALP düzeyinde ise düşme gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Grup 4'de AST, ALT, GGT, LDH, total bilirubin ve direkt bilirubin, düzeylerinde anlamlı düşme tespit edildi. Albumin düzeyinde de anlamlı artma görülürken ALP düzeyinin benzer şekilde azaldığı ancak anlamlı olmadığı görüldü. Sadece ligasyon öncesi beta-glukan verilen Grup 5'de ise AST, ALT, LDH düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ve total protein değerinin anlamlı olarak arttığı tespit edildi (Tablo 4-5). Toklu ve arkadaşları tarafından, asetaminofen kaynaklı karaciğer toksisitesi modelinde, beta-glukanın bizim çalışmamızda olduğu gibi 50 mg/kg dozunda 10 gün verildiğinde, bizim çalışmamıza benzer şekilde AST, ALT ve LDH değerlerini anlamlı olarak düşürdüğü bildirilmiştir (165). Bulgular değerlendirildiğinde, tıkanma sarılığında, beta-glukanın 10 gün süreyle 50 mg/kg dozunda kullanıldığında KCFT üzerine olumlu sonuçlarının olduğu görülmektedir. Ancak, optimal tedavi dozu ve optimal tedavi süresinin tespit edilebilmesi için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

Süperoksit dismutaz, oksidatif stres gibi durumlarda oluşan süperoksit radikalini, moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e çeviren, kritik öneme sahip metalloenzim yapısında bir hücresel antioksidandır. Tıkanma sarılığında SOD düzeyinin azaldığı literatürde bilinmektedir (166,167). Bayrak ve arkadaşları çalışmalarında böbrek iskemi-reperfüzyonunda beta-glukanın SOD düzeyini arttırdığı ve reperfüzyon hasarından koruduğu tespit edilmiştir (168). Bizim çalışmamızda da, literatürle uyumlu olarak kontrol grubunda SOD düzeyinin azaldığı tespit edildi, beta-glukan verilen grup 3 ve 4'de ise SOD düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görüldü (Tablo 6).

Araştırmalar, SOR'nin hasarlı dokularda nötrofil toplanmasında rol oynadığını ve aynı zamanda aktive nötrofillerin de SOR kaynağı olduğunu göstermektedir. SOR, hipokloröz asit üretirler. Bu da normal hücrelerin hasarına ve bağ dokusunun yok edilmesine neden olmaktadır. Böylelikle, doku hasarına neden

olan proteazların aktivasyonu ve antiproteazların deaktivasyonu başlatılır. Nötrofil kaynaklı MPO, bu hasarın göstergesidir. Nötrofil infiltrasyonu ile MPO aktivitesi arasında korelasyon mevcuttur ve MPO aktivitesinin yüksek olması nötrofil infiltrasyonunu göstermektedir (169-173). Literatürde, tıkanma sarılığında karaciğerde ve uzak organlarda nötrofil infiltrasyonunun olduğu, dolayısıyla MPO aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (2,174). Şener ve ark.'nın yaptıkları deneysel çalışmada, bası ülseri oluşturulan ratlarda, 25 mg/kg lokal ve 50 mg/kg oral olarak verilen beta-glukanın, MPO düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir (175). Babayiğit ve ark.'nın yaptıkları deneysel çalışmada, çekal ligasyon ve delme modeliyle oluşturulan abdominal sepsis modelinde, akciğer hasarını değerlendirmek için MPO düzeyine bakılmış, beta-glukan verilen grupta MPO düzeyinin düştüğü görülmüştür (176). Bizim çalışmamızda da, literatür ile desteklendiği gibi kontrol grubunda MPO düzeyinin anlamlı olarak arttığı ve beta-glukan verilen 3. ve 4. gruplarda MPO düzeyinin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (Tablo 6). Bu bulgular değerlendirildiğinde, tıkanma sarılığında beta-glukanın nötrofil infiltrasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu görülmektedir.

Lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarı ve yıkımında önemli nedenlerden birisidir. Membran peroksidasyonu, membran akışkanlığını ve geçirgenliğini değiştirir ve hatta protein bozulma oranını artırır. Sonuç olarak hücre lizisine sebep olur (118). MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve artmış olması lipid peroksidasyonunun göstergesidir. Tıkanma sarılığında MDA düzeyinin arttığı literatürden bilinmektedir (6,174,177-180). Bu da tıkanma sarılığında, lipid peroksidasyonu olduğunu göstermektedir. Şener ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, ratlarda çekal ligasyon ve delme modeliyle oluşturulan sepsiste, 10 gün boyunca 50 mg/kg beta-glukan verilen gruplardaki deneklerde akciğer, karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve diafragmada doku MDA düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (117). Toklu ve arkadaşlarının deneysel yanık modelinde uzak organ hasarını değerlendirdikleri çalışmada, oral ve topikal olarak verdikleri beta-glukanın, deride, akciğerde, karaciğerde, ileumda ve böbrekte doku MDA düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir (181). Bayrak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, böbrek iskemi-reperfüzyon modelinde, 10 gün 50 mg/kg oral beta-glukan verilen ratlarda, serumda ve böbrek dokusunda MDA düzeylerinin azaldığı ortaya konulmuştur (168). Bu

bulgulara dayanılarak beta-glukanın lipid peroksidasyonunu azalttığı sonucuna varılmaktadır. Bizim çalışmamızda, kontrol grubunda, akciğer dokusunda MDA seviyelerinin arttığı görüldü. Bu sonuç tıkanma sarılığında akciğerde lipid peroksidasyonu olduğunu kanıtlamaktadır. Beta-glukan verilen 3. ve 4. gruplarda ise akciğer dokusunda MDA seviyesinde anlamlı azalma olduğu tespit edildi. Bu bulgular göz önüne alındığında, tıkanma sarılığında beta-glukanın akciğerde lipid peroksidasyonunu azalttığı ve böylece doku hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 7).

LPO (Lipit Hidroperoksit), lipid peroksidasyon ara ürünlerindendir ve MDA gibi lipid peroksidasyonunun göstergesidir ve MDA'ya göre daha duyarlıdır. Çalışmamızda, kontrol grubunda akciğer dokusunda LPO düzeyinin de, MDA düzeyinde olduğu gibi anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. LPO düzeyindeki bu artış da, lipid peroksidasyonu varlığını doğrulamaktadır. Benzer şekilde, beta-glukan tedavisi verilen Grup 3 ve Grup 4'de akciğer dokusunda LPO düzeyleri anlamlı olarak düşük bulundu. Bu bulgu da, tıkanma sarılığında beta-glukanın lipid peroksidasyonunu ve akciğer hasarını azalttığını göstermektedir (Tablo 7).

Glutatyon, oksidatif stresin de dahil olduğu zararlı uyaranlara karşı önemli bir hücre içi koruyucu bileşendir. Redükte GSH, endojen non-protein sülfidril havuzunun ana bileşeni olduğu zaman, sitoplazmadaki serbest radikaller temizlenir. Açıkta duran sülfidril grubu sayesinde (non-protein sülfidriller hücreye zarar veren çeşitli elektrofilik radikaller ve metabolitleri bağlar) bunu başarır. Redükte GSH konsantrasyonunun devamlılığını sağlayabilen antioksidanlar hücresel defans mekanizmasını onarır, lipid peroksidasyonunu bloke eder ve oksidatif hasara karşı organları korur. Tıkanma sarılığında, GSH'ın azaldığı literatürde birçok çalışmada gösterilmiştir (6,177-180). Şener ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada, 21 gün süreyle intraperitoneal olarak nikotin verilen ratlarda, kronik nikotin etkisine bağlı olarak böbrek ve mesanede doku GSH seviyelerinin düştüğü ve beta-glukan verilen grupta ise doku GSH seviyelerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (182). Şener ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka deneysel çalışmada, asetaminofen kaynaklı karaciğer toksisitesinde, beta-glukan verilen grupta GSH düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (165). Toklu ve arkadaşları ratlarda deneysel metotreksat kaynaklı oksidatif organ hasarı modelinde, ileumda, karaciğerde ve böbrekte beta-glukan

verilen grupta GSH düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (183). Bizim çalışmamızda da, kontrol grubunda akciğer dokusunda GSH seviyesinin anlamlı derecede düştüğü, beta-glukanla tedavi edilen Grup 3 ve Grup 4’de, akciğer dokusunda GSH seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi (Tablo 7). Bu bulgular, beta-glukanın tıkanma sarılığında güçlü bir antioksidan ajan olarak rol oynadığını ve oksidatif hasara karşı akciğer dokusunda koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Literatür araştırmasında, tıkanma sarılığında akciğer hasarına yönelik BAL sıvısı incelenmesi yapıldığını gösteren çalışmaya rastlanmadı. Akciğer doku hasarı göstergesi olarak BAL sıvısında LDH, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, lizozomal asit hidrolaz, alkalin fosfataz bakılmakta, lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu mekanizma olan glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz bakılmakta ve inflamasyon göstergesi olarak da hücre sayımı yapılmaktadır (184). Babayiğit ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada çekal ligasyon ve delme modelinde beta-glukanın akciğer hasarına etkisini araştırdılar; beta-glukan verilen grupta BAL sıvısında total hücre sayısının sepsis grubuna göre daha az olduğunu tespit ettiler (176). Bizim çalışmamızda, akciğer doku hasarını göstermek amacıyla BAL sıvısında LDH düzeyine ve inflamatuvar hücrelerin gözlenmesi için de mikroskopik değerlendirme yapıldı. Grup 3, 4 ve 5’de, kontrol grubuna göre LDH düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğu, ancak Grup 3, 4 ve 5’in birbirlerine üstünlüğü olmadığı tespit edildi (Tablo 8). Giemsa ile boyalı yayma değerlendirmesinde ise, ligasyon yapılan bütün gruplarda sham grubuna göre PMNL sayısının daha fazla olduğu, ancak Grup 3, 4 ve 5’de değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu bulgular tıkanma sarılığında ortaya çıkan akciğer hasarının Grup 3, 4 ve 5’de daha az olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, deneysel tıkanma sarılığında beta-glukan kullanımının;

- ✓ Histopatolojik olarak, kontrol grubundaki ratların akciğer dokularında görülen pulmoner kapillerlerde dolgunluk, hemoraji, epitel yapısı bozulmuş bronşioler ve perivasküler lökosit infiltrasyonu bulgularını Grup 3, 4 ve 5’de azalttığı,

- ✓ Grup 3, 4 ve 5’de akciğerlerdeki histopatolojik değişikliklerin daha az görülmesinin yapılan skorlama ile de istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

- ✓ Karaciğer fonksiyon testlerine olumlu etkilerinin bulunduğu (AST, ALT, GGT, LDH, T.bilirubin, D.bilirubin değerlerini azalttığı ve T.prt, Albumin değerlerini arttırdığı),

- ✓ Akciğer dokusunda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA ve LPO düzeylerini azalttığı,

- ✓ Serumda nötrofil infiltrasyonu göstergesi olan MPO düzeyini azalttığı,

- ✓ Antioksidanlardan olan serumda SOD ve akciğer dokusunda GSH düzeylerini arttırdığı tespit edildiğinden;

Tıkanma sarılığında beta-glukanın akciğer hasarı üzerine koruyucu ve tedavi edici etkisi bulunmaktadır.

İmmünstimülan özelliği nedeniyle halen klinik olarak kullanılmakta olan beta-glukanın, tıkanma sarılığında morbidite ve mortaliteyi azaltmak amacıyla standart tedavi protokollerinde yer alabilmesi için daha ileri klinik çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Sheen-Chen SM, Chau P, Harris HV. Obstructive Jaundice Alters Kupffer Cell Function. *J. Surg. Res.* 1998; 80: 205–209
2. Akca T, Canbaz H, Tataroğlu C, ve ark. The Effect of N-Acetylcysteine on Pulmonary Lipid Peroxidation and Tissue Damage. *J. Surg. Res.* 2005; 129: 38-45
3. Papakostas C, Bezirtzoglou E, Pitiakoudis M, Polychronidis A, Simopolulos C. Endotoxemia in the portal and the systemic circulation in obstructive jaundice. *Clin. Exp. Med.* 2003; 3(2): 124-128
4. White JS, Hoper M, Parks RW, Clements WDB, Diamond T. Patterns of Bacterial Translocation in Experimental Biliary Obstruction. *J. Surg. Res.* 2006; 132: 80–84
5. Doğan U, Karabulut Z, Hamamcı O, ve ark. N-asetilsistein'in tıkanma sarılığında bakteriyel translokasyona, karaciğer ve ileumdaki yapısal değişikliklere etkisi. *Türk. J. Surg.* 2005; 21(1): 15-20
6. Orellana M, Rodrigo R, Thielemann L, Guajardo V. Bile duct ligation and oxidative stress in the rat: effects in liver and kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology.* 2000; 126: 105–111
7. Ogetman Z, Dirlik M, Caglikulekci M, ve ark. The effect of aminoguanidine on blood and tissue lipid peroxidation in jaundiced rats with endotoxemia induced with LPS. *J Invest Surg.* 2006; 19(1): 19-30.
8. Tsai LY, Lee KT, Lu FJ. Biochemical events associated with ligation of the common bile duct in Wistar rats. *J Formos Med Assoc.* 1997; 96(1): 17-22.
9. Cicalese L, Caraceni P; Nalesnik MA, Borle AB, Schraut WH. Oxygen free radical concent and neutrophil infiltration are important determinants in mucosal injury after rat small bowel transplantation. *Transplantation.* 1996; 62(2): 161-166.
10. Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J.* 2000; 16(3): 534-554
11. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenezi ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve*

- Transplantasyon Dergisi. 1997; 3-4: 96-101.
12. Akaike T, Ando M, Oda T, ve ark. Dependence on O₂-generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection in mice. J Clin Invest. 1990; 85: 739-745
 13. Chen J, Seviour R. Medicinal importance of fungal β -(1,3),(1,6)-glucans. Mycological Research. 2007; 111: 635-652
 14. Rice PJ, Adams EL, Osment-Skelton T, ve ark. Oral Delivery and Gastrointestinal Absorption of Soluble Glucans Stimulate Increased Resistance to Infectious Challenge. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2005; 314: 1079-1086
 15. Emre A. Karaciğerin Cerrahi Anatomisi: Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002; 1083-1086
 16. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi. 1995; 341-344
 17. Müslümanoğlu M. Safra Kesesi Selim Hastalıkları. Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002; 1177-1180
 18. Gazzaniga M. Eksrahepatik Safra Yollarının Cerrahi Anatomisi. Sayek, İ (editör). Temel Cerrahi. Ankara: Güneş Kitabevi. 2004; 1355-1358
 19. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1996; 827-829
 20. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter JC. Sarılık, bilirubin metabolizması. Mısırlıoğlu S (çeviren). Cecil Essentials Of Medicine. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1995; 323
 21. Safra yolları ve komşu organların anatomisi. Dobrucalı A. (http://www.drahmetdobrucali.com/images/resimler/safra_yolu_anatomisi). (12.02.2010)
 22. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter JC. Karaciğer Hastalığında Laboratuvar Testleri. Mısırlıoğlu S (çeviren). Cecil Essentials Of Medicine. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1995; 320-322
 23. Kahng KU, Roslyn JJ. Jaundice. Zinner MJ (editör). Maingot's abdominal operations. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1997; 315-351

24. Randall G, Lee MD. Cholestasis and biliary obstruction. *Diagnostic Liver Pathology*. St. Louis: Mosby Company, 1994; 81-107
25. Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology*. 1990; 99: 466-477.
26. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med*. 2000; 21: 49-98
27. Carol EH, Scott-Conner, Grogan JB. The Pathophysiology of Biliary Obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J. Surg. Res*. 1994; 57: 316-336
28. Conner MJ, Sievert C, Bettin K. Enhanced hepatic bacterial clearance in partial biliary obstruction. *Gastroenterology*. 1984; 80: 1197
29. Conner MJ, Sumner H, Schwartz M. The clinical and pathologic correlations in mechanical biliary obstruction and acute cholangitis. *Ann Surg*. 1982; 195(4): 419-423
30. Sitges-Serra A, Carulla X, Píera C, et al. Body water compartments in patients with obstructive jaundice. *Br J Surg*. 1992; 79(6): 553-536
31. Beter OS. Renal and cardiovascular dysfunction in liver disease. *Kidney International*. 1986; 29: 598—607
32. Rodrigo R, Avalos N, Orellana M, Bosco C, Thielemann L. Renal Effects of Experimental Obstructive Jaundice: Morphological and Functional Assessment. *Arch Med Res*. 1999; 30(4): 275–285
33. Dillingham MA, Beter OS, Anderson RJ. Sodium taurocholate increases hydraulic conductivity in rabbit collecting tubule. *Kidney Int*. 1988; 33: 782-786
34. Wang Q, Gurusamy KS, Lin H, Xie X, Wang C. Preoperative biliary drainage for obstructive jaundice. *The Cochrane Library*. 2008; 3: 1-49
35. Rodrigo R, Avalos N, Orellana M, Bosco C, Thielemann L. Renal Effects of Experimental Obstructive Jaundice: Morphological and Functional Assessment. *Arch Med Res*. 1999; 30: 275–285
36. Pennington C, Ross P, Bouchier A. Serum bile acids in the diagnosis of hepatobiliary disease. *Gut*. 1997; 18: 903

37. Biondo-Limoes MLP, Araujo CFR, Henrique J, ve ark. Jaundice in second intention wound healing in rats. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(3): 176-185
38. Çağlıkülekçi M, Özçay N, Oruç T, ve ark. The effect of recombinant growth hormone on intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructive jaundice. *Turk J Gastroenterology.* 2002; 13 (1): 17-23
39. Stocker R, Glazer AN, Ames BN. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987; 84: 5918
40. Pitt HA, Couse NF. Biliary sepsis and toxic cholangitis. Moody FG (editör). *Surgical treatment of digestive disease.* Chicago: Yearbook Medical Publishers, 1990; 332
41. Barwick KW, Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology.* Ackerman LW (editör). St Louis-Missouri: Mosby-Year Book Inc. 1996; 857-942
42. Ito H, Asahi H, Horiuchi S. Role of oxygen radicals in the pathogenesis of acute gastric mucosal lesion under obstructive jaundice (abstract). *Nippon Geka Gakkai Zasshi*, 1993; 94(3): 225- 233
43. Koss LG, Zajicek J. Aspiration biopsy, Koss LG (editör). *Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases.* Philadelphia: JB Lippincott Company. 1992; 1234-1402
44. Lee MD. Cholestasis and biliary obstruction. *Diagnostic Liver Pathology.* St. Louis: Mosby Company, 1994; 81-107
45. Snover DC. Nonneoplastic liver disease. Sternberg SS (editör). *Diagnostic Surgical Pathology.* New York: Raven Press Ltd. 1994;1459-1516
46. Nehez L, Andersson R. Compromise of Immune Function in Obstructive Jaundice. *Eur J Surg* 2002; 168: 315–328
47. Gujral JS, Liu J, Farhood A, ve ark. Functional importance of ICAM-1 in the mechanism of neutrophil-induced liver injury in bile duct-ligated mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004; 286: 499–507
48. Aldemir M, Geyik M, Kökoğlu Ö, ve ark. Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats . *J. Surg.* 2003; 73: 722-726
49. Chang SW, Ohara N. Chronic Biliary Obstruction Induces Pulmonary Intravascular Phagocytosis and Endotoxin Sensitivity in rats. *J. Clin. Invest.*

1994; 94: 2009-2019.

50. Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, ve ark. The protective effect of N-Acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *Shock*. 2003; 19(4): 366-372
51. Li D, Mehta JL. Oxidized LDL, a critical factor in atherogenesis. *Cardiovascular Research*. 2005; 68: 353-354
52. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000; 899: 191–208
53. Yla-Herttuala S. Oxidized LDL and atherogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999; 874: 134–137
54. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21:361-370
55. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen?. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999; 893: 13–18
56. Goodyear-Bruch C, Pierce JD. Oxidative Stress in Critically Ill Patients. *Am J Crit Care*. 2002; 11: 543-551
57. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 1999; 31: 261–272
58. Mates JM, Perez-Gomez C, DeCastro IN. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*. 1999; 32: 595–603
59. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*. 2001; 31: 1287–1312
60. Kontos HA, Wei EP, Ellis EF, ve ark. Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ. Res.* 1985; 57: 142–151
61. McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: The Role of Superoxide Anion. *Hypertension*. 1999; 34: 539–545
62. Winterbourn CC, Kettle AJ. Reactions of süperoxide with myeloperoxidase and its products. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2004; 57: 31-33
63. Rhee SG. Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Exp. Mol. Med.* 1999; 31: 53–59
64. Arita Y, Harkness SH, Kazaz JA, ve ark. Mitochondrial localization of catalase

- provides optimal protection from H₂O₂-induced cell death in lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 290: 978-986
65. Chae HZ, Ki HJ, Kang SW, Rhee SG. Characterization of three isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in the presence of thioredoxin. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1999; 45: 101–112
 66. Chae HZ, Kang SW, Rhee SG. Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods Enzymol.* 1999; 300: 219–226
 67. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu. Rev. Nutr.* 1996; 16: 33–50
 68. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1987; 1: 358–364
 69. Rubbo H, Radi R, Anselmi D, et al. Nitric oxide reaction with lipid peroxyl radicals spares alpha-tocopherol during lipid peroxidation. Greater oxidant protection from the pair nitric oxide/alpha-tocopherol than alpha-tocopherol/ascorbate. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 10812–10818
 70. Hogg N, Kalyanaraman B. Nitric oxide and low-density lipoprotein oxidation. *Free Radic. Res.* 1998; 28: 593–600
 71. Ignarro LJ. Haem-dependent activation of guanylate cyclase and cyclic GMP formation by endogenous nitric oxide: a unique transduction mechanism for transcellular signaling. *Pharmacol. Toxicol.* 1990; 67: 1–7
 72. Cortopassi GA, Wong A. Mitochondria in organismal aging and degeneration. *Biochim. Biophys. Acta.* 1999; 1410: 183–193
 73. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993; 90: 7915–7922
 74. Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 19633–19636
 75. Butterfield DA, Koppal T, Howard B, et al. Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitron and vitamin E. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998; 854: 448–462

76. Ohta K, Yachie A. Role of Heme Oxygenase-1 in Cardiovascular Diseases: A Novel Target for Molecular Intervention. *J Endovasc. Ther.* 2001; 8: 444–446
77. Frei B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1999; 222: 196–204
78. Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metab. Rev.* 1998; 30: 225–243
79. Das KC, Lewis-Molock Y, White CW. Elevation of manganese superoxide dismutase gene expression by thioredoxin. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1997; 17: 713–726
80. Ohlemiller KK, McFadden SL, Ding DL, et al. Targeted deletion of the cytosolic Cu/Zn-superoxide dismutase gene (Sod1) increases susceptibility to noise-induced hearing loss. *Audiol. Neurotol.* 1999; 4: 237–246
81. Copin JC, Gasche Y, Chan PH. Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase does not prevent neonatal lethality in mutant mice that lack manganese superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med.* 2000; 28: 1571–1576
82. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature.* 1993; 362: 59–62
83. Orrell RW. Amyotrophic lateral sclerosis: copper/zinc superoxide dismutase (SOD1) gene mutations. *Neuromuscul. Disord.* 2000; 10: 63–68
84. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984; 81: 4343–4347
85. Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 13908–13914
86. Haan JB, Bladier C, Griffiths P, et al. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 22528–22536
87. Dreher I, Jakobs TC, Kohrle J. Cloning and characterization of the human selenoprotein P promoter. Response of selenoprotein P expression to cytokines in liver cells. *J Biol Chem.* 1997; 272: 29364–29371

88. Jones DP, Kennedy FG. Function of glutathione peroxidase in decomposition of hydrogen peroxide in isolated liver and heart cell. Larsson A (editör). Function of glutathione: Biochemical, physiological, toxicological and clinical aspects. New York: Raven Pres. 1983: 109-116
89. Kelner MJ, Bagnell R. Alteration of endogenous glutathione peroxidase, manganese superoxide dismutase, and glutathione transferase activity in cells transfected with a copper-zinc superoxide dismutase expression vector. Explanation for variations in paraquat resistance. J. Biol. Chem. 1990; 265: 10872–10875
90. Lillig CH, Berndt C, Holmgren A. Glutaredoxin systems. Bioch Bioph Acta. 2008; 1304–1317.
91. Comporti M. Lipid Peroxidation and Biogenic Aldehydes: From the Identification of 4-Hydroxynonenal to Further Achievements in Biopathology. Free Rad Res. 1997; 28: 623-635
92. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation : its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr. 1993; 57: 715-724
93. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. Bioch Bioph Res Com. 2005; 338: 668-676
94. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar. Altınışık M. (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>). (12/02/2010).
95. Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. Biochemistry. 2004; 69: 4-9
96. Özbal Y. Temel immünoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 2000; 51-53
97. Brown GD, Gordon S. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. Immunity. 2003; 19(3): 311-315
98. Cleary JA, Kelly GE, Husband A. The effect of molecular weight and beta-1,6 linkages on priming of macrophages function in mice by (1,3)-beta-glucan. Imm Cell Biol. 1999; 77(5): 395-403
99. Hong F, Yan J, Baran J.T, Allendorf DJ, ve ark. Mechanism by which orally administered beta-1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. J. Immunol. 2004; 173 (2): 797-806.

100. Brown GD, Gordon S. Immune recognition of fungal β -glucans. *Cell Micro.* 2005; 7: 471–479
101. Czop JK, Austen KF. A β -glucan inhibitable receptor on human monocytes: its identity with the phagocytic receptor for particulate activators of the alternative complement pathway. *J. Immunol.* 1985; 134: 2588-2593.
102. Mueller A, Raptis J, Rice PJ, ve ark. The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1,3) β -glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology.* 2000; 10(4): 339-346
103. Cheung NK, Modak S, Vickers A, Knuckles B. Orally administered β -glucans enhance anti-tumor effects of monoclonal antibodies. *Cancer Immunol. Immunother.* 2002; 51: 57.
104. Cheung NK, Modak S. Oral (1-3), (1-4)- β -D-glucan synergizes with antiganglioside GD2 monoclonal antibody 3F8 in the therapy of neuroblastoma. *Clin. Cancer Res.* 2002; 8: 1217.
105. Hong F, Yan J, Baran JT, ve ark. Mechanism by which orally administered β -1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *J. Immunol.* 2004; 173 (2): 797-806.
106. Berner MD, Sura ME, Alves BN, Hunter KW Jr. IFN- γ primes macrophages for enhanced TNF- α expression in response to stimulatory and non-stimulatory amounts of microparticulate β -glucan. *Immunology Letters.* 2005; 98: 115–122.
107. Brown GD. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Imm.* 2006; 6: 33–43.
108. Du Z, Kelly E, Mecklenbrauker I, ve ark. Selective regulation of IL-10 signaling and function by zymosan. *J Imm.* 2006; 176: 4785–4792.
109. Pretus HA, Browder IW, Lucore P, ve ark. Macrophage activation decreases macrophage prostaglandin E2 release in experimental trauma (Abstract). *J. Trauma.* 1989; 29(8): 1152-1157.
110. Garcia-Lora A, Martinez M, Pedrinaci S, Garrido F. Different regulation of PKC isoenzymes and MAPK by PSK and IL-2 in the proliferative and cytotoxic activities of the NKL human natural killer cell line. *Cancer Immunol Immunother.* 2003; 52: 59–64.

111. Vetvicka V, Yvin JC. Effects of marine β -1,3 glucan on immune reactions. *Int Imm.* 2004; 4: 721–730.
112. Munz C, Steinman RM, Fujii S. Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity. *J Exp Med.* 2005; 202: 203–207.
113. Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Imm.* 2003; 3: 133–146.
114. Kanazawa M, Mori Y, Yoshihara K, ve ark. Effect of PSK on the maturation of dendritic cells derived from human peripheral blood monocytes. *Imm Lett.* 2004; 91: 229–238.
115. Herre J, Gordon S, Brown GD. Dectin-1 and its role in the recognition of β -glucans by macrophages. *Mol Imm.* 2004; 40: 869–876.
116. Willment JA, Marshall AS, Reid DM, ve ark. The human β -glucan receptor is widely expressed and functionally equivalent to murine Dectin-1 on primary cells. *Eur J Imm.* 2005; 35: 1539–1547.
117. Sener G, Toklu H, Ercan F, Erkanli G. Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int. Imm.* 2005; 5(9): 1387-1396.
118. Garcia JJ, Reiter RJ., Guerrero JM, ve ark. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Lett.* 1997; 408: 297– 300.
119. Harada T, Miura N, Adachi Y, ve ark. Effect of SCG, 1,3-beta-D-glucan from *Sparassis crispa* on the hematopoietic response in cyclophosphamide induced leukopenic mice. *Biol Pharm Bull.* 2002; 25(7): 931-9.
120. Hofer M. and Pospisil M. Glucan as stimulator of hematopoiesis in normal and gamma-irradiated mice. *Int J Immunopharmacol.* 1998; 19(9-10): 607-609
121. Portera CA, Love EJ, Memore L, ve ark. Effect of macrophage stimulation on collagen biosynthesis in the healing wound. *Am Surg.* 1997; 63(2): 125-31.
122. Benach JL, Habicht GS, Holbrook TW, Cook JA. Glucan as an adjuvant for a murine *Babesia microti* immunization trial. *Infect Imm.* 1982; 35(3): 947-51.
123. Ara Y, Saito T, Takagi T, ve ark. Zymosan enhances the immune response to DNA vaccine for human immunodeficiency virus type-1 through the activation of complement system. *Immunology.* 2001; 103: 98–105.

124. Jung K, Ha Y, Ha SK, ve ark. Antiviral effect of *Saccharomyces cerevisiae* β -glucan to swine influenza virus by increased production of interferon-gamma and nitric oxide. *J Vet Med B Infect Dis and Vet Public Health*. 2004; 51: 72–76.
125. Markova N, Kussovski V, Drandarska I, ve ark. Protective activity of Lentinan in experimental tuberculosis. *Int Immunopharmacol*. 2003; 3: 1557–1562.
126. Vetvicka V, Tereyama K, Mandeville R, ve ark. Orally-Administered Yeast β 1,3-glucan Prophylactically Protects Against Anthrax Infection and Cancer in Mice. *JANA*. 2002; 5: 1-5
127. Hetland G, Ohno N, Aaberge IS, Lovik M. Protective effect of β -glucan against systemic *Streptococcus pneumoniae* infection in mice. *FEMS Immol Med Microbiol*. 2000; 27: 111–116
128. Liang J, Melican D, Cafro L, ve ark. Enhanced clearance of a multiple antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in rats treated with PGG-glucan is associated with increased leukocyte counts and increased neutrophil oxidative burst activity. *Int J Immunopharmacol*. 1998; 20: 595–614
129. Kernodle DS, Gates H, Kaiser AB. Prophylactic anti-infective activity of poly-[1-6]-b-D-glucopyranosyl-[1-3]-b-D-glucopyranose glucan in a guinea pig model of staphylococcal wound infection. *Antimic Agents and Chem*. 1998; 42: 545–549
130. Hobson RP, Munro CA, Bates S, ve ark. Loss of cell wall mannosylphosphate in *Candida albicans* does not influence macrophage recognition. *J Biol Chem*. 2004; 279: 39628–39635
131. Gantner BN, Simmons RM, Underhill DM. Dectin-1 mediates macrophage recognition of *Candida albicans* yeast but not filaments. *The EMBO Journal*. 2005; 24: 1277–1286
132. Steele C, Marrero L, Swain S, ve ark. Alveolar macrophage mediated killing of *Pneumocystis carinii* f. sp. muris involves molecular recognition by the dectin-1 b-glucan receptor. *Journal of Experimental Medicine*. 2003; 198: 1677–1688.,
133. Viriyakosol S, Fierer J, Brown GD, Kirkland TN. Innate immunity to the pathogenic fungus *Coccidioides posadasii* is dependent on toll-like receptor 2 and Dectin-1. *Infection and Immunity*. 2005; 73: 1553–1560

134. Pelizon AC, Kaneno R, Soares AM, Meira DA, Sartori A. Immunomodulatory activities associated with β -glucan derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Physiological Research*. 2005; 54: 557–564
135. Takaku T, Kimura Y, Okuda H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action. *Journal of Nutrition*. 2001; 131: 1409–1413
136. Nam SW, Park JY, Ramasamy A, ve ark. Molecular changes from dysplastic nodule to hepatocellular carcinoma through gene expression profiling. *Hepatology*. 2005; 42: 809–818
137. Liu J, Gunn L, Hansen R, Yan J. Combined yeast-derived β -glucan with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy. *Experimental and Molecular Pathology*. 2009; 86: 208–214
138. Yan J, Allendorf DJ, Brandley B. Yeast whole glucan particle (WGP) β -glucan in conjunction with antitumour monoclonal antibodies to treat cancer. *Expert Opinion in Biological Therapy*. 2005; 5: 691–702
139. Shimizu K, Watanabe S, Watanabe S, ve ark. Efficacy of oral administered superfine dispersed lentinan for advanced pancreatic cancer. *Hepato-gastroenterology*. 2009; 56: 240–244
140. Nicolosi R, Bell SJ, Bistran BR, ve ark. Plasma lipid changes after supplementation with β -glucan fiber from yeast. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999; 70: 208–212
141. Lo HC, Tsai FA, Wasser SP, Yang JG, Huang BM. Effects of ingested fruiting bodies, submerged culture biomass, and acidic polysaccharide glucuronoxylomannan of *Tremella mesenterica* Retz.:Fr. on glycemic responses in normal and diabetic rats. *Life Science*. 2006; 78: 1957–1966
142. Tam SC, Yip KP, Fung KP, Chang ST. Hypotensive and renal effects of an extract of the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. *Life Science*. 1986; 38: 1155–1161
143. Mayell M. Maitake extracts and their therapeutic potential. *Altern Med Rev*. 2001; 6: 48–60

144. Wei D, Zhang L, Williams DL, Browder IW. Glucan stimulates human dermal fibroblast collagen biosynthesis through a nuclear factor-1 dependent mechanism. *Wound Repair and Regen.* 2002; 10: 161–168
145. Coban S, Yildiz F, Terzi A ve ark. The Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) Against Cholestatic Liver Injury in Rats. *J Surg Res* 2009;1-6
146. Ferrer TJ, Webb JW, Wallace BH ve ark. Interleukin-10 Reduces Morbidity and Mortality in Murine Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS). *J Surg Res.* 1998; 77: 157–164
147. Knodell RG, Ihsak KG, Black WC ve ark. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *J Hepatol.* 2003; 38(4): 382-386
148. Morise Z, Ueda M, Kitajima M, ve ark. Reactive oxygen species and vascular cell adhesion molecule-1 in distant organ failure following bile duct obstruction in mice. *Dig. Dis. Sci.* 2002; 47: 607
149. Bone RC. The sepsis syndrome. *Clin Chest Med.* 1996; 17: 175–181.
150. Houdijk APJ, Boermeester MA, Wesdorp RIC, Erik Hack C, Leeuwen PAM. Tumor necrosis factor unresponsiveness after surgery in bile duct ligated rats. *Am J Physiol.* 1996; 271: 980-986.
151. Marsh CB, Wewers MD. The pathogenesis of sepsis. *Clin Chest Med.* 1996; 17: 183–197.
152. Vincent J.L. Definition and pathogenesis of septic shock. Rietschel ET, Wagner H (editörler). *Pathology of Septic Shock.* Berlin, Springer-Verlag. 1996:1-13.
153. Rietschel ET. Bacterial endotoxin: chemical constitution, biological recognition, host response and immunological detoxification. Rietschel ET, Wagner H(editörler). *Pathology of Septic Shock.* Berlin, Springer-Verlag. 1996: 40–81
154. Brandtzaeg P. Significance and pathogenesis of septic shock. Rietschel ET, Wagner H (editörler). *Pathology of Septic Shock.* Berlin, Springer-Verlag. 1996: 14–38.
155. Howard M, Muchamuel T, Andrade S, Menon S. Interleukin-10 protect mice from lethal endotoxemia. *J Exp Med.* 1993; 177: 1205–1208.
156. Schumann RR, Leong SR, Flagg GW, ve ark. Structure and Function of lipopolysaccharide binding protein. *Science.* 1990; 249: 1429–1431.

157. Tobias PS, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide binding protein and CD 14 in LPS dependent macrophage activation. *Immunobiol.* 1993; 187: 227–232.
158. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 1990; 249: 1431–1433.
159. Ziegler-Heitbrock HWL, Ulevitch RJ. CD14, cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol Today.* 1993; 14: 121–125.
160. Haziot A, Chen S, Ferrero E. The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *J Immunol.* 1988; 141: 547–552.
161. Beaux AC, Goldie AS, Ross JA, Carter D, Fearon KCH. Serum concentrations of inflammatory mediators related to organ failure in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg.* 1996; 83: 349–353
162. Roumen RMH, Hendricks T, Van der Ven-Jongekrijg J, ve ark. Cytokine patterns in patients after major surgery hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. *Ann Surg.* 1993; 218: 769–776.
163. Sayan M, Alponat A, Yavuz N, ve ark. The effect of oral sodium taurocholate on endotoxemia and intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructive jaundice. *Jpn J Surg.* 1997; 27: 953–957.
164. Ling Z, Xiping Z, Fengmei Q, Ping Y, Qihui C. Protective Effects of *Salvia Miltiorrhizae* on Multiple Organs of Rats with Obstructive Jaundice. *Mediators Inflamm.* 2009; 2009: 602935-602943
165. Toklu HZ, Şehirli AÖ, Ögünç A, Çetinel Ş, Şener G. Acetaminophen-induced toxicity is prevented by β -D-glucan treatment in mice. *Eur J Pharmacol.* 2006; 543: 133–140
166. Cruz A, Tasset I, Ramirez LM, ve ark. Effect of melatonin on myocardial oxidative stress induced by experimental obstructive jaundice. *Rev Esp Enferm Dig.* 2009; 101: 460-463.
167. Demirbilek S, Tas E, Gürnlüoğlu K, ve ark. Fluvastatin reduced liver injury in rat model of extrahepatic cholestasis. *Pediatr Surg Int.* 2007; 23:155–162
168. Bayrak Ö, Turgut F, Karataş ÖF, ve ark. Oral β -Glucan Protects Kidney against Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Am J Nephrology.* 2008; 28: 190-196

169. Kettle AJ, Winterbourn CC. Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox Rep.* 1997; 3: 3–15.
170. Zimmerman BJ, Grisham MB, Granger DN. Role of oxidants in ischemia-reperfusion induced granulocyte infiltration. *Am J Physiol.* 1990; 258: 185– 190
171. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci.* 2000; 7: 444– 458.
172. Sullivan GW, Sarembock IJ, Linden J. The role of inflammation in vascular diseases. *J Leukoc Biol.* 2000; 67: 591– 602.
173. Laight DW, Lad N, Woodward B, Waterfall JF. Assessment of myeloperoxidase activity in renal tissue after ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol.* 1994; 292: 81– 88.
174. Dirlik M, Karahan A, Canbaz H, ve ark. Effects of Sulfasalazine on Lipid Peroxidation and Histologic Liver Damage in a Rat Model of Obstructive Jaundice and Obstructive Jaundice With Lipopolysaccharide-Induced Sepsis. *Current Therap Res.* 2009; 70(4) : 299-315
175. Şener G, Sert G, Şehirli AÖ, ve ark. Pressure ulcer-induced oxidative organ injury is ameliorated by β -glucan treatment in rats. *Int İmmunopharmacol.* 2006; 6: 724-732
176. Babayiğit H, Küçük C, Sözüer E, ve ark. Protective effect of β -glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. *Intensive Care Med.* 2005; 31: 865-870
177. Alptekin N, Mehmetçik G, Uysal M, Toker GA. Evidence for oksidative stress in the hepatic mitochondria of bile duct ligated rats. *Pharmacol Res.* 1997; 36(3): 243-247
178. Cruz A, Padillo FJ, Tunez I, ve ark. Melatonin protects against renal oxidative stress after obstructive jaundice in rats. *Eur J of Pharmacol.* 2001; 425: 135-139
179. Ara C, Kırımlıoğlu H, Karabulut A, ve ark. Protective Effect of Resveratrol Against Oxidative Stress in Cholestasis. *J Surg Res.* 2005; 127: 112–117
180. Dulundu E, Özel Y, Topaloğlu U, ve ark. Grape seed extract reduces oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *Hepatology.* 2007; 22: 885-892
181. Toklu HZ, Şener G, Jahovic N, ve ark. β -glucan protects against burn-induced

- oxidative organ damage in rats. *Int Immunopharmacol.* 2006; 6: 156– 169
182. Şener G, Toklu HZ, Çetinel Ş. β -Glucan protects against chronic nicotine-induced oxidative damage in rat kidney and bladder. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2007; 23: 25–32
183. Şener G, Demiralp E, Çetiner M, Ercan F, Yeğen BÇ. β -glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. *Eur J Pharmacology.* 2006; 542: 170–178
184. Henderson F. Use of bronchoalveolar lavage to detect lung damage. *Environ. Health Persp.* 1984; 56: 115-129