



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**OLEANOLİK ASİT'İN SIÇAN İNFERİOR EPİGASTRİK
ARTER CİLT ADA FLEBİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINA ETKİSİ**

Dr. Mustafa Melih CANLI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2023



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**OLEANOLİK ASİT'İN SIÇAN İNFERİÖR EPİGASTRİK
ARTER CİLT ADA FLEBİNDE İSKEMİ REPERFÜZYON
HASARINA ETKİSİ**

Dr. Mustafa Melih CANLI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nesrin Tan BAŞER

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA – 2023

TEŞEKKÜR

Plastik cerrahi uzmanlık eğitimim boyunca tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, beni bir şeyi başarmak için istemenin yeterli olduğuna inandırıp, yüreklendiren, aynı zamanda kişilik olarak ve hayati anlamda da bana çok şey katan çok değerli danışman hocam, sayın Prof. Dr. Nesrin Tan BAŞER'e;

Engin bilgi ve tecrübeleriyle bilimsel veya herhangi bir konuda bizlere en doğru yolu göstermekten hiç kaçınmayan değerli hocam sayın Prof. Dr. Sinan ÖKSÜZ'e;

Ayrıca eğitimim süresince üzerimde emekleri olan Prof. Dr. Mustafa DEVECİ ve Doç. Dr. Doğan ALHAN'a;

Lisans eğitimimden bu yana büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi, deneyimleriyle her türlü konuda bana yol gösteren, bilime bakış açılarını ve insani değerlerini kendime örnek aldığım, abilerim Uzm. Dr. Sedat AVŞAR başta olmak üzere, Uzm. Dr. Ahmet Gürhan DÜLGAR, Uzm. Dr. Selçuk YÜCE ve kıymetli ablam Uzm. Dr. Nevra SEYHAN'a;

Beş senelik asistanlığım süresince yol arkadaşı olduğum, bu tezin hazırlanmasında çok büyük yardımları olan çalışma arkadaşlarım Dr. Emrah KÖKSAL ve Dr. Simay ERŞAHİN'e, eğitim sürem boyunca desteklerini ve yardımlarını her zaman yanımda hissettiğim Dr. Özlem ZÜRAP'a ve tüm asistan arkadaşlarım, hemşireler ve tüm sağlık personellerine teşekkür ederim.

Ayrıca bu tezin oluşmasında büyük yardım ve emekleri olan SBÜ Gülhane Eczacılık Fakültesi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayhan SAVAŞER ve Arş. Gör. Filiz ATALAY'a;

SBÜ Gülhane EAH Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Eğitim Sorumlusu Prof. Dr. Gülçin ŞİMŞEK'e;

Dr. Öğr. Gör. Okan Ali AKSOY ve Uzm. Vet. Hekim Berk Alp GÖKSEL olmak üzere tüm Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına teşekkür ederim.

Bütün öğrenim hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak her zaman yanımda olan, beni her zaman en iyisini yapabileceğime inandıran, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve sonuna kadar yanımda olacaklarına inandığım, haklarını asla ödeyemeyeceğim hayatımdaki en değerli varlıklar kıymetli Ailemin üyeleri canım annem Gülçin CANLI ve babam Ahmet CANLI'ya;

Sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım...

Mustafa Melih CANLI

Ankara - 2023



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI.....	3
2.1.1. Flep Cerrahisinde İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	3
2.1.2. İskemi.....	4
2.1.2.1. Adenozin trifosfat (ATP) ve mitokondriyal fonksiyon.....	4
2.1.3. Reperfüzyon.....	5
2.1.3.1. Reaktif oksijen türleri	5
2.1.3.2. Nitrik oksit (NO).....	7
2.1.3.3. Endotelin	8
2.1.3.4. Sitokinler.....	8
2.1.4. Doku Yıkımı	11
2.1.4.1. Proteazlar ve metalloproteinazlar	11
2.1.4.2. İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında apoptotik hücre ölümü	12
2.1.4.3. “No-reflow” fenomeni	13
2.1.5. Terapötik Yaklaşımlar	13
2.1.5.1. İskemik önkoşullama	13
2.1.5.2. İskemik son şartlandırma	14
2.1.5.3. İnhaler anesteziklerin koşullandırma etkileri.....	16
2.1.5.4. Farmakolojik tedaviler	16
2.2. OLEANOLİK ASİT	18
2.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Yapı	19

2.2.2. Oleanolik Asitin Gıda ve Tıbbi Bitkilerde Oluşumu	20
2.2.3. Oleanolik Asitin Ekstraksiyonu, İzolasyonu ve Karakterizasyonu	20
2.2.4. Oleanolik Asit ve Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	21
2.2.4.1. Oleanolik Asit ve Türevlerinin Anti-Tümör/Anti-Kanser Etkileri	21
2.2.4.2. Anti-Diyabetik Aktivite	22
2.2.4.3. Antimikrobiyal etkinlik.....	23
2.2.4.4. Hepato-koruyucu etki.....	24
2.2.4.5. Antioksidan Aktivite	25
2.2.4.6. Anti-enflamatuvar Etkinlik	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. DENEY PROTOKOLÜ.....	27
3.1.1. Araştırmanın Türü.....	27
3.1.2. Araştırma Yeri ve Ortamı	27
3.1.3. Grupların Oluşturulması	28
3.2. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM.....	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
7. KAYNAKLAR.....	48
8. ÖZGEÇMİŞ	57
9. EKLER.....	60
Ek-1: TEZ KONUSU ONAY FORMU, HAKEM ONAYLARI VE DEKANLIK ONAYI.....	60
Ek-2: GÜLHANE HADYЕК KARARI.....	70
Ek-3: GÜLHANE HADYЕК ONAYI	71
Ek-4: TÜЕК TEZ ONAYI.....	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	:	Adenozin trifosfat
CDDO	:	2-siyano-3,12-dioksooleana-1,9 (11)-dien-28-oik asit
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
ICAM-1	:	Hücreler arası adezyon molekülü-1
IL-1	:	İnterlökin 1
IL-6	:	İnterlökin 6
IL-8	:	İnterlökin 8
İRH	:	İskemi reperfüzyon hasarı
MMP	:	Matris metaloproteinazlar
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentetaz
PAF	:	Platelet aktive edici faktör
PI3K/AKT	:	Fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
SOD	:	Süperoksit dismutaz
TAK	:	Total antioksidan kapasite
TNF-α	:	Tümör nekroz faktörü-alfa
TOS	:	Total oksidan stres
VCAM-1	:	Vasküler hücre adezyon molekülü-1

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Reaktif oksijen türleri ve bu türlerin oluşum kaynakları	6
Tablo 2.	Çalışma grupları	31
Tablo 3.	Deneklerin TAK değerleri (mmol/L)	37
Tablo 4.	Deneklerin TOS değerleri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L)	37
Tablo 5.	Deneklerin patolojik incelemeleri sonucunda elde edilen enfamasyon, ödem ve nekroz şiddetlerinin derecelendirilmesi	38
Tablo 6.	Gruplardan elde edilen TOS, TAK, enfamasyon, ödem ve nekroz verilerinin karşılaştırılması	39

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	İskemi sırasında metabolik yolların düzensizliği (a). Reperfüzyon sırasında reaktif oksijen türlerinin üretilmesi (b).	4
Şekil 2.	Nötrofil yuvarlanması, endotele yapışma ve ekstrasvazasyon.....	10
Şekil 3.	Oleanolik asit ve bazı türevlerinin yapıları.....	19
Şekil 4.	Örneklem sayısının hesaplanması için kullanılan G*Power analizi.....	28
Şekil 5.	Oleanolik asitin ticari formu.....	29
Şekil 6.	Flep alanının işaretlenmesi	32
Şekil 7.	Flep diseksiyonu	33
Şekil 8.	Flep elevasyonu ve epigastrik arter, ven ve siniri	33
Şekil 9.	Sham grubunda flebin yerine iade edilmesi	34
Şekil 10.	Kontrol ve oleanolik asit grubunda iskeminin oluşturulması.....	34
Şekil 11.	Grupların TAK verilerinin karşılaştırılması	40
Şekil 12.	Grupların TOS verilerinin karşılaştırılması.....	40
Şekil 13.	Grupların patolojik inceleme sonucunda elde edilen enflamasyon verilerinin karşılaştırılması	41
Şekil 14.	Grupların patolojik inceleme sonucunda elde edilen ödem verilerinin karşılaştırılması.....	41

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) kullanılarak oluşturulan iskemi reperfüzyon modelinde, preoperatif olarak uygulanan oleanolik asitin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini ortaya koymak amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu araştırma, 350-550 gr aralığındaki 21 adet erkek Wistar Albino sıçanı ile gerçekleştirildi. Her grupta 7'şer olmak üzere 3 grupta toplam 21 sıçan kullanılmıştır. Sham grubu (grup 1) standart barınma ve beslenme koşullarında, kontrol grubu (grup 2) intraperitoneal yol ile verilen fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) (1 mL/kg vücut ağırlığı) ve Oleanolik asit grubu (grup 3), intraperitoneal yol ile verilen oleanolik asit (8 mg/kg/gün) ile 5 gün boyunca tedavi edilmiştir. Altıncı günde tüm sıçanlardan genel anestezi altında inferior epigastrik arter cilt ada flebi eleve edildi. Sham grubunda flep herhangi bir iskemiye maruz kalmadan yerine iade edilmiştir. Kontrol ve oleanolik asit gruplarında ise ikişer saat iskemi ve reperfüzyon oluşturuldu. Çalışma sonunda bütün deneklerden, patolojik ve biyokimyasal inceleme amacıyla flep distalinden ikişer adet 1,5x1,5 cm boyutlarında örnek alındı. Biyokimyasal incelemelerde total oksidan stres ve total antioksidan kapasite seviyeleri, patolojik incelemelerde ise dokunun enflamasyon, ödem ve nekroz durumu değerlendirildi.

Bulgular: Biyokimyasal incelemelerden elde ettiğimiz verilere göre total oksidan stres, kontrol grubunda $3,53 \pm 0,42$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L iken oleanolik asit kullanılan grupta $1,13 \pm 0,52$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L olarak saptandı ve iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$). Total antioksidan kapasite ise kontrol grubunda $0,49 \pm 0,2$ mmol/L iken oleanolik asit uygulanan grupta $0,71 \pm 0,11$ mmol/L ve iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,048$). Patolojik incelemeler sonucunda örneklerin hiçbirinde nekroz gelişmedi. Gruplar arasında enflamasyon ve ödem görülmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). Ancak örneklerin incelenmesi sonucunda enflamasyon ve ödem derecelendirmesinde sham grubu ile oleanolik asit grubu benzer saptanır iken kontrol grubunda hem enflamasyonun hem de ödemin belirgin olarak daha fazla olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Çalışmamız sonucunda; oleanolik asit kullanımının flep dokusunda antioksidan kapasiteyi artırdığı ve oksidatif stresi azalttığı gösterildi. Ayrıca oleanolik asit kullanımının, enflamasyon ve ödemde belirgin bir azalma sağladığı saptandı. Flep cerrahileri sırasında ortaya çıkan ve flep başarısızlığının en önemli nedenlerinden biri olan iskemi reperfüzyon hasarından flebi korumak için oleanolik asit kullanımı umut verici bir tedavi yöntemi olarak görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Oleanolik asit, iskemi reperfüzyon, kasık flebi, inferior epigastrik arter cilt flebi



ABSTRACT

THE EFFECT OF OLEANOLIC ACID ON ISCHEMIA REPERFUSION DAMAGE IN THE RATS INFERIOR EPIGASTRIC ARTERY SKIN FLAP MODEL

Aim: In our study, it was aimed to reveal the effects of preoperatively applied oleanolic acid on ischemia-reperfusion injury in the ischemia-reperfusion model created using a rat inferior epigastric artery skin island flap (groin flap).

Materials and Methods: This study was carried out with 21 male Wistar Albino rats weighing 350-550 gr. A total of 21 rats were used in 3 groups, 7 in each group. Sham group (group 1) under standard housing and feeding conditions, control group (group 2), phosphate buffered saline (PBS) given intraperitoneally (1 mL/kg body weight) and oleanolic acid group (group 3), given intraperitoneally treated with oleanolic acid (8 mg/kg/day) for 5 days. On the sixth day, the inferior epigastric artery skin island flap was elevated from all rats under general anesthesia. In the sham group, the flap was replaced without any ischemia, and in the control and oleanolic acid groups, two-hour ischemia and reperfusion were created. At the end of the study, two 1.5*1.5 cm samples were taken from the distal flap of all subjects for pathological and biochemical examination. Total oxidant stress and total antioxidant capacity levels were evaluated in biochemical examinations, and inflammation, edema and necrosis of the tissue were evaluated in pathological examinations.

Results: According to the data obtained from biochemical studies, the total oxidant stress was 3.53 ± 0.42 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L in the control group, while it was 1.13 ± 0.52 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L in the oleanolic acid group. The difference was statistically significant ($p=0.002$). While the total antioxidant capacity was 0.49 ± 0.2 mmol/L in the control group, it was 0.71 ± 0.11 mmol/L in the oleanolic acid-administered group, and this difference between the two groups was statistically significant ($p=0.048$). As a result of pathological examinations, necrosis did not develop in any of the samples. There was no statistically significant difference between the groups in terms of inflammation and edema ($p>0.05$). However, as a result of the examination of the samples, the sham group and the oleanolic acid group were found

to be similar in inflammation and edema grading, while both inflammation and edema were observed to be significantly higher in the control group.

Conclusion: As a result of our study, it was shown that the use of oleanolic acid increased the antioxidant capacity and reduced oxidative stress in flap tissue. In addition, it was determined that the use of oleanolic acid provided a significant reduction in inflammation and edema. The use of oleanolic acid seems to be a promising treatment method to protect the flap from ischemia-reperfusion injury, which is one of the most important causes of rejection during flap surgeries.

Keywords: Oleanolic acid, ischemia reperfusion, inguinal flap, inferior epigastric artery skin flap

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, doku veya organa lokal kan akımının kesilmesi ile oluşan kompleks bir olaydır. Reperfüzyon ise, iskemi sonrası oluşan hasarın geri dönmesi için kan akımının tekrar sağlanması olarak tanımlanır. Reperfüzyonun, oksijen desteğini yeniden sağlaması, metabolik artık ürünleri uzaklaştırması, hücre için gerekli besinleri taşıması beklenir. Bazen ise durum beklendiği gibi olmaz ve reperfüzyon sonrası paradoks olarak doku hasarını derinleştiren etkiler ortaya çıkar. Buna iskemi reperfüzyon hasarı (İRH) denir (1).

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi açısından bakıldığında ezilme yaralanmaları, sirküler yanıklar ve travmatik amputasyonlar sebebiyle dokular iskemiye maruz kalmakta; fasiyotomiler, revaskülarizasyon ve replantasyon operasyonları sayesinde revaskülarizasyon sağlanmaktadır. Yumuşak doku defektlerini onarmak veya vücudun herhangi bir bölgesinin şekil veya fonksiyonel rekonstrüksiyonu için yapılan serbest doku nakillerinde ve son zamanlarda popülerlik kazanan uzuv ve yüz transplantasyonu operasyonlarında da operasyon doğası gereği dokular belirli iskemi ve reperfüzyon süreçlerine maruz kalmaktadır. İskemi reperfüzyon hasarı ise doku sağ kalımlarını etkileyerek, operasyon başarısını düşürmektedir (2, 3).

Oleanolik asit, başlıca zeytin (*Olea europaea* L.) meyvesi olmak üzere 1620'den fazla bitki çeşidinden elde edilen biyolojik olarak aktif bir pentasiklik terpentendir. Pentasiklik triterpenler genellikle biyoaktif (antitümör, antiviral, antidiyabetik ve anti-enflamatuar) olup büyük terapötik potansiyele sahip moleküllerdir. Çin'de, oleanolik asit on yıllar boyunca tezgah üstü hepatoprotektif ilaç olarak kullanılmıştır (4). Oleanolik asit ve türevleri, çoklu hastalıklar için farmasötik kullanımlarını destekleyen çok çeşitli biyolojik aktiviteler sunmaktadır (4). Oleanolik asit, birçok tümör hücre hatlarına karşı potansiyel anti-tümör aktivitesi sergilemektedir. Oleanolik asidin erken/geç apoptotik evrelerde, hücrelerin deoksiribonükleik asit (DNA) basamağı ve nükleer morfolojisindeki değişim göz önünde bulundurularak, belirgin bir şekilde apoptozu uyatabildiği rapor edilmiştir (5). Oleanolik asidin, apoptoz antagonistik proteinlerin (Bcl-2, Bcl-xL ve survivin)

regülasyonu ile in vitro koşullarda dirençli kanser hücre hatları üzerinde zamana ve doza bağlı bir şekilde anti-proliferatif ve proapoptotik etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (6). Oleanolik asit, karaciğerde fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B (PI3K/AKT) ve hem oksijenaz-1 ekspresyonunu indükler ve oleanolik asit ön tedavisi, iskemik karaciğerde oksidatif stres hasarını, hem oksijenaz 1/sestrin 2'nin yukarı regülasyonu yoluyla önemli ölçüde azaltır (7). Oleanolik asitin proinflatuar sitokinlerin [interferon- γ , interlökin-6 (IL-6) ve miyeloperoksidaz] seviyelerini düşürürken, anti-enflatuar sitokinlerin interlökin-10 (IL-10) seviyelerini artırdığı; iskemi reperfüzyon kaynaklı apoptotik hücre ölümünü önlediği ve nükleer faktör eritroid ile ilişkili faktör 2 ve γ -glutamilsistein ligazın, mRNA ekspresyon seviyelerindeki düşüşleri önlediği kanıtlanmıştır (8). Oleanolik asitin ayrıca vasküler endotelial hücrelerde PI3K/AKT/endotelial nitrik oksit sentaz (endotelial NOS, eNOS) sinyal yolunu aktive ederek oksidatif stresi azalttığı da bildirilmiştir (9).

İlk olarak 2006 yılında kalp dokusunda oleanolik asidin İRH üzerine etkisi araştırılmış ve kardiyoprotektif etkisi gösterilmiştir (10). Ardından çalışmalar 2009 yılında Cho ile devam etmiş, oleanolik asidin beyin dokusunda anti-iskemik etkisi araştırılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır (11). Ardından 2016 yılında karaciğer dokusunda iskemi-reperfüzyon çalışmaları yapılmış ve Hao tarafından oleanolik asidin karaciğer dokusu üzerinde İRH'den koruyucu etkileri kanıtlanmıştır (7). Yine 2016 yılında Long, oleanolik asidi böbrek dokusu ve İRH için çalışmış ve antioksidan, antiapoptotik ve antienflatuar etkileri ile İRH'den koruyucu etkisinin mevcut olduğunu göstermiştir (8). Yang ve arkadaşları 2021 yılında, böbrek dokusunda mevcut İRH'den koruyucu etkinin PI3K/AKT sinyal yolağının inhibisyonu ile gerçekleştiğini göstermiştir (9). Son olarak yine 2021 yılında Shi tarafından beyin dokusunda oleanolik asidin serebral İRH'de koruyucu etkisi gösterilmiştir (12).

Çalışmamızın amacı, sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) kullanılarak oluşturulan iskemi reperfüzyon modelinde, preoperatif ve postoperatif olarak uygulanacak olan oleanolik asitin İRH üzerine etkilerini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

İskemi-reperfüzyon hasarı, iskemik kalan dokulara kan akışının yeniden sağlanmasını takiben hücresel işlev bozukluğunun ve apoptozisin paradoksal artması olarak tanımlanmaktadır. İskemik dokuları kurtarmak için kan akışının yeniden sağlanması esastır. Bununla birlikte, reperfüzyonun kendisi daha fazla hasara neden olarak organın canlılığını ve fonksiyonları tehdit edebilmektedir. İskemi-reperfüzyon hasarı; kalp, akciğer, böbrek, bağırsak, iskelet kası ve beyin dahil olmak üzere çok çeşitli organlarda meydana gelmekte; yalnızca iskemik organın kendisinde değil, aynı zamanda uzak organlarda sistemik hasara neden olabilmektedir ve böylece potansiyel olarak çoklu organ yetmezliğine yol açabilmektedir. Reperfüzyon hasarı, geniş doku yıkımıyla sonuçlanan çok faktörlü bir süreçtir.

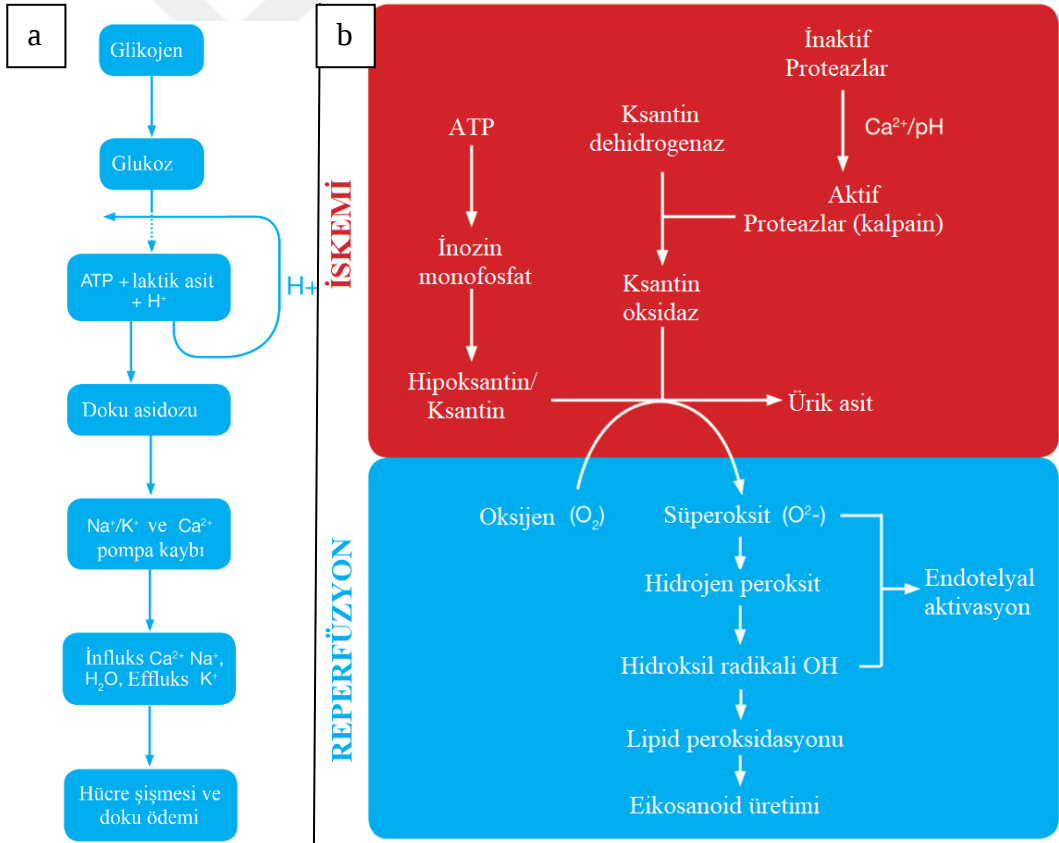
2.1.1. Flep Cerrahisinde İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Flep cerrahisi rekonstrüktif cerrahide uygulanan spesifik bir nakil tipidir. Bu cerrahi, dokunun, hastanın vücudunun başka bir yerine transfer edildiği bir otolog nakil şeklindedir. Serbest flep nakli vakalarının %90-95'inde başarılı sonuçlar elde edilmektedir (13). Flep cerrahisi genellikle başarılı olsa da flep kayıplarının en önemli sebebi halen postoperatif İRH'dır. Bazen bu sonuç, hasta için travmatik olabilen kısmi veya tam flep kaybına neden olabilmektedir. Ayrıca, İRH aynı zamanda nakledilen doku veya organların işlev bozukluğunun da önemli bir nedenidir, nakledilen organın başarısızlığına yol açar ve transplantın hem akut hem de kronik olarak daha yüksek oranda reddedilmesine yol açar (14, 15). Otolog transplantasyon, diğer transplantasyon türlerinden farklıdır, çünkü rejeksiyona neden olan immünolojik reaksiyonlar bu nakil tipinde gözlenmemektedir. Bu nedenle, serbest flep modelleri, İRH'nin izole etkilerini incelemek için ideal modellerdir.

2.1.2. İskemi

2.1.2.1. Adenozin trifosfat (ATP) ve mitokondriyal fonksiyon

İskemi durumunda doku, temel yaşamsal işlevlerini sürdürebileceğinden daha az kanlanır. İskemik dokuda oksijen, glikoz ve metabolizma için gerekli diğer maddelerin yetersizliği gözlenmektedir. Metabolik fonksiyondaki düzensizlikler bu iskemik fazda başlamaktadır. İskemi durumunda enerji üretimi için, mitokondriyal anaerobik glikoliz ile glikojen parçalanmakta ve laktik asitle birlikte iki molekül ATP üretilmektedir. Bu durum da doku pH'sinde bir düşüşe neden olmakta ve daha sonra ATP üretimini engelleyecek şekilde negatif geri besleme ile yolak inhibe edilmektedir (Şekil 1a). Sonrasında ise ATP sırasıyla adenozin difosfat, adenozin monofosfat ve inosin monofosfata ve daha sonra adenosin, inosin, hipoksantin ve ksantine ayrılmaktadır (Şekil 1b).



Şekil 1. İskemi sırasında metabolik yolların düzensizliği (a). Reperfüzyon sırasında reaktif oksijen türlerinin üretilmesi (b).

Hücresel düzeyde ATP üretiminin olmaması, sodyum (Na), potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) pompaları dahil olmak üzere ATP'ye bağlı iyonik pompaların işlev görememesine ve transmembran iyonik gradyanların kaybolmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, sitozolik sodyum içeriği yükselmekte, ozmotik dengeyi korumaya çalışmak için onunla birlikte bir miktar su çekmekte ve hücrelerin şişmesine neden olmaktadır. İyonik dengeyi korumak için, potasyum iyonları hücreden interstisyuma kaçmaktadır. Kalsiyum ise mitokondriden sitoplazmaya ve hücre dışı boşluklara salınmaktadır, böylece kalpain dahil mitokondriyal kalsiyuma bağımlı sitozolik proteazlar aktive olmaktadır. Sonrasında ise hücresel enzimler ksantin dehidrojenazı ksantin oksidaza dönüştürmektedir (Şekil 1b). Fosfolipazlar ayrıca iskemi sırasında aktive olmakta, membran lipidlerini bozmakta ve dolaşımdaki yağ asitlerinin seviyelerini artırmaktadır.

2.1.3. Reperfüzyon

2.1.3.1. Reaktif oksijen türleri

İskemi reperfüzyon hasarı sıranda doku hasarına neden olabilen birçok reaktif oksijen türleri (ROS) bulunmaktadır. Bu ROS ve bu türlerin oluşum kaynakları Tablo 1'de gösterilmektedir. Reaktif oksijen türleri, İRH sırasında doku hasarına aracılık etmede yıkıcı bir role sahiptir. İskemi sırasında, ATP'nin degradasyonu ile hipoksantin üretilmektedir (Şekil 1b). İskemik doku reperfüze edildikten sonra, bir moleküler oksijen reaksiyonu, ksantin oksidazı katalize ederek hipoksantini ürik aside indirgemekte ve böylece oldukça reaktif süperoksit anyonu (O_2^-) oluşmaktadır (Şekil 1b). Süperoksit daha sonra hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH^-) radikale dönüştürülmektedir (Şekil 1b). Hidroksil radikal üretiminin sonucunda, proinflatuar eikosanoidlerin üretimi ve sistemik salınımı artmakta, hücre geçirgenliği bozulmakta ve en sonunda hücre ölümü ile sonuçlanan hücre zarlarının lipid yapılarının peroksidasyonu gerçekleşmektedir. İskemi reperfüzyon hasarı sırasında ROS ayrıca endotel hücrelerini aktive ederek transkripsiyon faktörü nükleer faktör-kappa B'nin aktivitesini artırmaktadır. Aktive edildikten sonra endotel hücreleri E-selektin, vasküler hücre adezyon molekülü-1, hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü, plazminojen aktivatör inhibitörü-1,

doku faktörü ve interlökin 8 (IL-8) üretmektedir. Bu adezyon molekülleri, nötrofil ve endotel arasındaki önemli etkileşimlere katkıda bulunmaktadır.

Süperoksit anyonları, iskemik doku içinde ve aynı zamanda reperfüze edilmiş dokuların venöz dolaşımında saptanabilmektedir (16). İRH sırasında uzak organların zarar görmesinde bu mekanizmanın da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ksantin oksidaz, tüm hücre ve doku tiplerinde değişen düzeylerde bulunmaktadır ve bu durum da oksidan aracılı İRH'ye karşı dokuların farklı duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir. Hayvan deneylerinde iskemiden önce allopurinol uygulamasıyla ksantin oksidaz aktivitesinin inhibisyonu gerçekleşmekte, süperoksit üretimi azalmakta ve dolayısıyla iskelet kası, beyin ve bağırsak dahil birçok dokuda reperfüzyon hasarının şiddeti azalmaktadır. İnsanlardaki sonuçlar da umut vericidir. Sistemik bir derlemede allopurinol'ün bazı çalışmalarda koroner arter baypas greftlemesinden sonra postoperatif kardiyak disfonksiyonun ve aritmilerin şiddetini azaltmada etkili olduğuna dair kanıtlar olduğu belirtilmiştir (17).

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri ve bu türlerin oluşum kaynakları

Majör ROS
Süperoksit anyonu (O_2^-)
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali (OH)
Nitrik Oksit (NO)
Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Minör ROS
Lipid hidroperoksit
Lipid peroksil radikali
Lipid alkoksil radikali
Tiyol radikali
İRH sırasında ROS kaynakları
Ksantin oksidaz sistemi
Aktif nötrofiller
Mitokondriyal elektron taşıma zinciri
Araşidonik asit metabolizması
Katekolaminlerin oto-oksidasyonu

2.1.3.2. Nitrik oksit (NO)

Nitrik oksit, L-arginin'den, NOS enzimi tarafından sentezlenen bir moleküldür. NOS enziminin konstitütif (cNOS), indüklenebilir (iNOS) ve eNOS olmak üzere üç tipi bulunmaktadır. İskemik fazın ilk 15 dakikasında NO seviyesindeki ilk artış, geçici eNOS aktivasyonundan kaynaklanmaktadır. Ardından endotel fonksiyonlarında genel bir gerilemeyle beraber fonksiyonel eNOS kaybı gözlenmekte ve böylece reaktif oksijen türlerinin artan üretimi ile birlikte NO üretimi düşmektedir. eNOS'tan üretilen NO, damar tonusunun korunması için de gereklidir. Bu nedenle, İRH'de meydana gelen eNOS seviyelerindeki azalma, İRH'de görülen yaygın bir yanıt olan vazokonstriksiyona zemin hazırlayabilmektedir. NO üretimindeki ikinci artış yaklaşık 3 saatlik reperfüzyondan sonra gözlenmekte ve iNOS'un sitokin aracılı yukarı regülasyonundan kaynaklanmaktadır.

Nitrik oksidin reperfüzyon hasarındaki patofizyolojik rolü, NO'yu oluşturan NOS tipine bağlı olarak değişkendir ve dokuya özgüdür. Bazı durumlarda NO bir antioksidan olarak görev yapmaktadır. Ancak, genellikle lipid peroksidasyonunun güçlü bir aktivatörü ve dolayısıyla hücrel membran bozulmasına aracılık eden peroksinitrit radikalini oluşturmak için süperoksit anyonu ile birleşmektedir. İskemi reperfüzyon hasarı sırasında NO üretiminin olduğunun gösterilmesi, NO'nun İRH etiolojisinde temel bir rol oynadığına dair önemli kanıtlar sağlamıştır. Miyokardiyal İRH durumunda, NO'nun düşük dozlarının koruyucu ve yüksek dozlarının zararlı olduğu gösterilmiştir. NO'nun iskelet kası İRH'sindeki etkisi ise daha az bilinmektedir. Bazı çalışmalar NO'nun sitotoksiteyi artırabileceğini öne sürerken bazıları ise ekstremitelerde İRH'sinde NO'nun faydalı olabileceğini savunmaktadır. Çelişkili sonuçlara rağmen genel kanı iskelet kası İRH'sinde NO üretiminin zararlı olduğu yönündedir ve spesifik olmayan bir NOS inhibitörü kullanılarak NOS aktivitesinin inhibisyonu, kas hasarının ciddiyetini büyük ölçüde azaltabilmektedir (18).

Farmakolojik NOS inhibisyonu ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen verilerdeki çelişkilerin ana kaynağı, kullanılan NOS inhibitörlerinin spesifik olmamasıdır. Ayrıca, bu inhibitörlerin İRH sırasında uygulanma zamanlarındaki farklılıklar ortaya paradoksal sonuçlar çıkarabilmektedir. Özet olarak, NO üretiminin arttırılması, özellikle iskemi ve erken reperfüzyon fazında koruma açısından faydalı

olabilmektedir. Reperfüzyon sırasında ve daha sonraki zamanlarda NO üretiminde iNOS kaynaklı artışın engellenmesi, İRH kaynaklı doku hasarına karşı savunma sağlamaktadır. Bununla birlikte, klinik olarak NOS inhibitörlerinin uygulanmasıyla NO metabolizmasının sistemik bozulmasının, geniş kapsamlı istenmeyen fizyolojik değişikliklere neden olması muhtemeldir.

2.1.3.3. Endotelin

Endotelinler, vasküler endotel tarafından üretilen güçlü peptit vazokonstriktörlerdir. Hipoksi, büyüme faktörleri, anjiyotensin II ve noradrenalin gibi faktörler, kalsiyum aracılı vazokonstriksiyon ile sonuçlanan endotelin üretimini uyarmaktadır. Endotelin-1, hem iskemi hem de reperfüzyon fazlarında iskelet kası İRH'sini takiben yükselmektedir ve kapiller vazokonstriksiyona, nötrofil agregasyonuna ve nötrofil-endotel etkileşimlerine aracılık etmektedir. Bosentan ve tezosentan dahil olmak üzere endotelin-1 inhibitörleri, nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmektedir; fonksiyonel kapiller yoğunluğu, mikrovasküler perfüzyonu ve dolayısıyla İRH'yi takiben doku canlılığını ve fonksiyonunu artırmaktadır (19). Ancak bu inhibitörler yaygın klinik kullanımda değildir.

2.1.3.4. Sitokinler

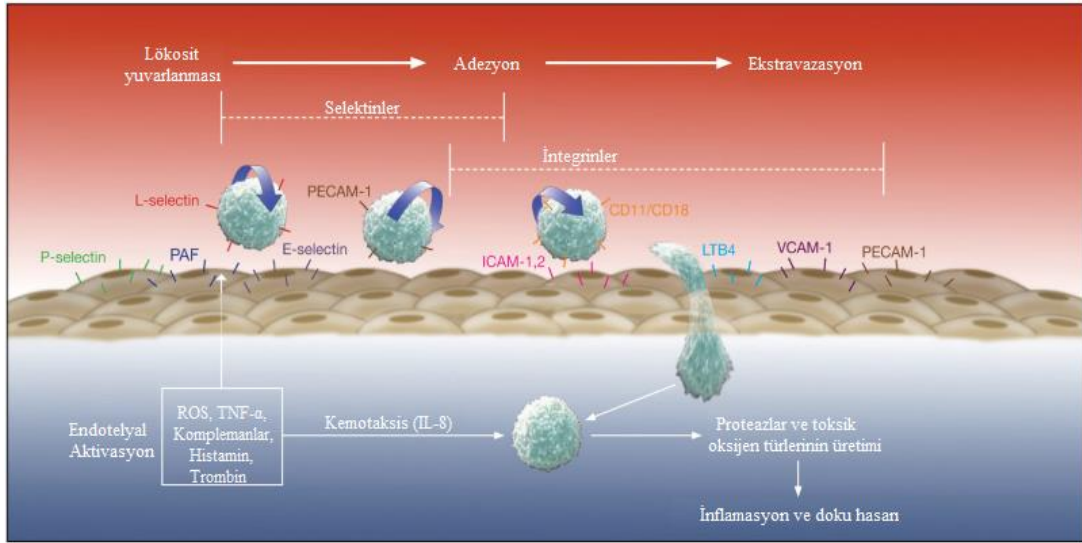
Hem hipoksi hem de İRH durumunda transkripsiyon faktörü nükleer faktör-kappa B'nin aktivitesindeki artışlarla bağlantılı olarak tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8 ve platelet aktive edici faktör (PAF) sitokinleri sistemik olarak salınmaktadır. Bu nedenle sistemik enflamatuar yanıt sendromunun ve en sonunda çoklu sistem organ yetmezliğinin gelişiminde sitokinler çok önemli rol oynamaktadır.

Tümör nekroz faktörü-alfa; aktive edilmiş makrofajlar, monositler, T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve fibroblastlar tarafından üretilen 17 kilodaltonluk proinflamatuar bir sitokindir. Salınımından sonra IL-1, IL-6, IL-8 ve PAF ekspresyonunu indükleyen güçlü bir kemoatraktan ve erken yanıt sitokindir. Serebral ve iskelet kası İRH sırasında yüksek serum TNF- α seviyeleri tespit edilmiştir. TNF- α 'nın pulmoner İRH'yi takiben nötrofil sekestrasyonunu ve geçirgenliğini arttırdığı bilinmektedir. Aortun klemplendiği bir hayvan çalışmasında serum TNF- α

seviyelerinin hızla yükseldiği, böylece akciğerlerde NO üretimini artıran ve daha ciddi akciğer hasarına yol açan iNOS'un yukarı regülasyonunu indüklediği saptanmıştır (20). Aynı çalışmada, ekstremitte iskemisinden önce TNF- α aktivitesinin inhibisyonu, pulmoner NO üretimini azaltmış ve İRH'nin şiddetini azaltmıştır. TNF- α ayrıca ROS oluşumunu indükleyebilmekte ve nötrofillerin aktif endotele bağlanmasına aracılık eden ICAM-1'in ekspresyonunu indükleyerek vasküler endotelyumun nötrofil aracılı hasarlanmaya duyarlılığını artırabilmektedir.

Hayvan modellerinde yapılan çok sayıda çalışma, İRH'nin şiddetini azaltmak için terapötik bir yaklaşım olarak TNF- α blokajının potansiyeli olduğunu göstermektedir. Anti-TNF- α antikoru, mikrovasküler hasarı önleyerek bir sıçan modelinde İRH kaynaklı pulmoner hasara karşı korumaktadır (21). Etanersept ve infliximab dahil hümanize antikorların piyasaya sürülmesi, çeşitli artrit ve enflamatuar barsak hastalığı formları dahil olmak üzere diğer TNF- α aracılı enflamatuar hastalıkların tedavisinde etkili sonuçlar sağlamıştır. Bununla birlikte, insan İRH'sinde TNF- α blokajının etkinliği klinik çalışmalar ile test edilmemiştir.

Interlökin-1 α ve IL-1 β sitokinleri İRH sırasında doku makrofajları, nötrofiller ve vasküler endotelyum tarafından üretilmektedir. IL-1 α güçlü bir kemotaktik ajandır ve hepatik İRH sırasında nötrofil infiltrasyonunu uyarmaktadır. Hem IL-1 α hem de TNF- α , ICAM-1'in vasküler endotelyum üzerindeki ekspresyon seviyelerini de artırmaktadır. Kültürde endotel hücrelerinin IL-1 α ve TNF- α 'ya maruz kalması, E-selektin sentezini indüklemektedir, bu daha sonra nötrofil yüzeyinde L-selektin ile etkileşime girerek endotel yüzeyinde yuvarlanmaya yol açmaktadır. Nötrofilin endotele kalıcı yapışması daha sonra endotelial membranlarda ICAM-1, IL-8 ve PAF'ın ekspresyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Nötrofil yuvarlanması, endotele yapışma ve ekstravazasyon

İskemi reperfüzyon hasarı sırasında sentezlenen hidrojen peroksit, trombin, lökotrien C4, lökotrien D4, IL-1 β , histamin, bradikinin ve ATP gibi çok sayıda aktive edici uyarıcı; monositler, makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, trombositler ve endotel hücreleri tarafından PAF sentezini indüklemektedir. PAF; vazokonstriksiyon, kemotaksis ve artan mikrovasküler geçirgenlik olmak üzere üç ana etkiye sahiptir ve hem hücreler arası hem de hücre içi haberci olarak işlev görmektedir. PAF, reperfüzyondan sonra iskelet kası ve renal İRH'yi takiben hızla üretilmektedir ve yaklaşık 15 dakikada zirve seviyelerini görmektedir. PAF, İRH sırasında endotel hücrelere yapışmayı bloke ettiğinden, kullanılan bir PAF-reseptör antagonisti nötrofillerin endotel hücrelere bağlanmasını artırmaktadır (22). Benzer şekilde, PAF inhibitörü leksipafant ile uygulanan ön tedavi, bir sıçan bağırsak İRH modelinde bağırsak bariyeri işlev bozukluğunun şiddetini ve ayrıca pulmoner ve karaciğer geçirgenliğini azaltmıştır (23). Bununla birlikte, leksipafantın İRH için bir farmakoterapi olarak klinik olarak yararlı olması muhtemel değildir, çünkü tek başına ince barsak İRH'sinden sonra gelişen pulmoner endotel hasarını engelleyememiştir (24).

Interlökin-6; IL-1 ve TNF- α 'ya yanıt olarak monositler, fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleri tarafından üretilen bir proinflamatuvar sitokindir. IL-6, nötrofilleri uyarmaktadır. Ayrıca ICAM-1'in endotel hücre ekspresyonunu uyarmakta ve endotel geçirgenliğini artırmaktadır. IL-6, periferik arter hastalığı olan

hastalarda hipoperfüze iskelet kasında üretilmektedir ve aort anevrizması cerrahisinde reperfüzyon sırasında bağırsaktan sistemik dolaşıma salınmaktadır (25). Renal transplantasyonda IL-6, reperfüzyonun ilk 30 dakikası sırasında reperfüze edilmiş transplante böbrekten büyük miktarlarda salınmaktadır (26).

Interlökin-8 güçlü bir nötrofil kemotaktik ve aktive edici faktördür. IL-1, TNF- α , endotoksin, histamin ve hipoksiye yanıt olarak monositler, T hücreleri, doğal öldürücü hücreler, fibroblastlar, endotel hücreleri, eozinofiller ve nötrofiller tarafından üretilmektedir. IL-8'in kemotaktik aktivitesi, endotel yoluyla aktive edilmiş nötrofillerin diapedezini indüklemektedir (Şekil 2). Yükselmiş serum IL-8 seviyeleri, insan akciğer transplantasyonunun ardından erken reperfüzyon sırasında tespit edilmiştir ve zayıf greft fonksiyonunu öngörmektedir (27). Bir anti IL-8 antikoru, bir tavşan akciğer İRH modelinde pulmoner nötrofil infiltrasyonunu ve doku hasarını önlemiştir (28).

2.1.4. Doku Yıkımı

2.1.4.1. Proteazlar ve metalloproteinazlar

Matris metalloproteinazlar (MMP), hücre dışı matrisin bileşenlerini parçalama yeteneğine sahip çinko bağımlı enzim ailesidir. MMP'ler, hücre dışı matrisin parçalanmasını veya sentezini gerektiren tüm süreçlerde doğrudan yer almaktadır. Bu enzim ailesi; yara iyileşmesinde, periodontal hastalıkta, kanser metastazında, anevrizmaların ve aterosklerotik plakların gelişimi ve reperfüzyon hasarlanması dahil olmak üzere vasküler hastalıklarda önemli roller oynamaktadır.

Pulmoner, hepatik ve kardiyak İRH'yi takiben MMP-2 ve MMP-9 artışları tespit edilmiştir. MMP'ler ayrıca kan-beyin bariyerinin ve bazal laminanın bozulması, artan kapiller geçirgenlik ve serebral ödem ile ilgili olarak serebral İRH'yi takiben yükselmektedir (29). MMP-9'un serebral İRH patofizyolojisindeki rolü hem hayvan deneylerinde hem de MMP-9 inhibitörleri kullanılan klinik deneylerde gösterilmiştir. MMP-9 inhibitörlerinin kullanımı ile serebral enfarktüs boyutları önemli ölçüde azalmaktadır (30). Ancak renal İRH'de MMP'lerin rolü daha az bilinmektedir. MMP-2, renal İRH'den 8 hafta sonra zirve seviyelerine ulaşmaktadır ve bu durum da MMP'lerin renal İRH'de geç bir role sahip olabileceğini göstermektedir (31). Ancak

bir MMP inhibitörü olan batimastat kullanımı, İRH'nin neden olduğu böbrek fonksiyon bozukluğunun şiddetini değiştirmemektedir (32).

Barr ve arkadaşları, akut iskemik inme hastalarını manyetik rezonans görüntüleme ile incelemişlerdir. Bu çalışmada inmeden 24 saat sonra manyetik rezonans görüntüleme ile ölçülen hiperintens akut reperfüzyon hasarı belirteci ile ilişkili sistemik plazma MMP-9 seviyeleri karşılaştırılmıştır (33). Plazma MMP-9 ile yüksek hiperintens akut reperfüzyon hasarı belirteci ölçümleri arasında anlamlı bir korelasyon olduğu bulunmuştur ve bu yüksek MMP-9'un iskemik felçten sonra kan beyin bariyerinin bozulmasıyla ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir. Bu sonuçlar, MMP-9 inhibisyonunun serebral hasarın şiddetini azaltmak için yararlı bir yöntem olabileceğini düşündürmektedir (33).

Yapılan başka bir çalışmada, MMP-2 ve MMP-9'un alt ekstremitte İRH'sini takiben pulmoner dokularda ve iskelet kasında tip IV kollajenin degradasyonunda hem lokal hem de sistemik bir rol oynadığını göstermiştir (34). Reperfüzyon olmadan tek başına kalıcı iskemi; bazal membran bileşenleri, tip IV kollajen ve laminin yıkımı ile ilişkili olarak MMP-2 ve MMP-9'un yükselmesine neden olmaktadır.

2.1.4.2. İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında apoptotik hücre ölümü

İskemi reperfüzyon hasarından kaynaklanan doku yıkımı, nekrotik veya apoptotik hücre ölümüne bağlı olabilmektedir. Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü; karakteristik bir hücre morfolojisine, kontrollü DNA parçalanmasına ve sonunda hücrenin ölümüne yol açan bir dizi gen ile yönetilen aktif bir süreçtir. Apoptozun İRH kaynaklı doku hasarındaki rolü son yıllarda geniş çapta araştırılmıştır. Oksidatif stres ve ROS üretimi, özellikleri serebral İRH'yi takiben kolayca tanınabilen apoptozu indüklemektedir. Benzer şekilde, renal ve kardiyak İRH'nin tümü, hasarlı dokuda tespit edilebilir apoptoz seviyeleri ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle apoptozun, bazı dokularda İRH sırasında meydana gelen hücresel hasarda temel bir rol oynadığı görülmektedir. Bununla birlikte, iskelet kası İRH'sinde apoptozun rolü tartışmalıdır (35). Knight ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, İRH'yi takiben sıçan iskelet miyositlerinde herhangi bir apoptoz kanıtı saptanmamıştır (36). Proapoptotik kaspaz enzimlerine yönelik spesifik inhibitörler kullanılarak apoptotik kaskadı bloke

etmek, hayvan modellerinde kısmen etkili olmuş, hepatik ve kardiyak İRH'yi takiben enfarktüs şiddetini ve boyutunu azaltmıştır.

2.1.4.3. “No-reflow” fenomeni

Reperfüzyonun gerçekleşmesine rağmen mikrovasküler perfüzyonun başarısız olması durumuna “no-reflow” fenomeni adı verilmektedir. Bu fenomenin nedeni tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır. Ancak çok faktörlü bir mekanizmaya sahip olduğu düşünülmektedir. Sitokinler ve aktive edilmiş nötrofiller, mikrovasküler bariyer disfonksiyonu oluşturmak için sinerjistik olarak hareket etmektedir. Geçirgenlikte ortaya çıkan artış, sıvıların ve proteinlerin eksüdasyonuna yol açarak interstisyel basıncı artırmakta ve net intravasküler basıncı azaltmaktadır. Ek olarak, CD18'e bağlı lökosit tıkaçı oluşması, kılcal damar sonrası venüllerin kısmi tıkanmasına neden olmaktadır ve bu da mikroperfüzyonun olmamasına katkıda bulunmaktadır. Nötrofillerin “no-reflow” fenomeninde hayati bir rol oynadığı düşünülmektedir.

2.1.5. Terapötik Yaklaşımlar

2.1.5.1. İskemik önkoşullama

İskemik önkoşullama, kalıcı organ iskemisinin indüklenmesinden önceki kısa ve tekrarlayan İRH epizodlarından oluşmaktadır ve doku hasarının ciddiyetini azaltmada etkilidir. Önkoşullama etkisi, hedef organ yerine uzaktan uygulanabilmektedir. Bu tedavi, iskemi başlangıcının sıkı bir şekilde kontrol edilebildiği transplantasyon, koroner baypas greftleme, elektif majör vasküler cerrahi ve flep cerrahisi prosedürleri dahil olmak üzere bir dizi operatif ortamda faydalı olabilmektedir. Bu operasyonlarda, ameliyattan önce 10 dakika boyunca turnike ile uygulanan ekstremitelerde İRH geniş çapta araştırılmaktadır ve İRH'nin şiddetini azaltmak için bir tedavi olarak umut vaat etmektedir.

İskemik önkoşullama mekanizmalarını araştırmak için hayvan modelleri kullanılmaktadır, ancak bu fenomende yer alan çoklu sinyal iletim yolları ve temel moleküler mekanizmalar halen kesin olarak bilinmemektedir. Genel olarak kısa iskemik önkoşullamanın, daha sonra mitokondriyal işlevi değiştiren bir hücre içi kinaz dizisini indüklediği kabul edilmektedir. Farelerde alt ekstremitelerde İRH modelinde

yapılan yakın tarihli bir çalışmada, tam 60 dakikalık iskemiden önce 10 dakikalık iki kısa İRH epizodunun proinflatuar nötrofil endotel etkileşimlerini azaltmada etkili olduğunu açıkça gösterilmiştir. Bu etki, hem alt ekstremitelerde hem de uzak dokularda kaydedilmiştir ve bu fenomenin sistemik olduğunu göstermiştir (37). Arka bacak ön koşullandırması yapılan bir fare modelinde, ön koşullandırma; uzvun kendisinde ve ayrıca akciğer ve ince bağırsakta doku hasarını önemli ölçüde azaltmıştır. Ön şartlandırılmış hayvanlarda ameliyat sonrası mortalite oranlarında önemli ölçüde azalma olduğu saptanmıştır (38).

İskemik önkoşullamanın etkinliğini araştıran, ancak değişen derecelerde başarı gösteren çok sayıda klinik çalışma da rapor edilmiştir. Endovasküler anevrizma onarımı işleminden önce uzak alt ekstremitelerde iskemik ön koşullandırmanın renal ve kardiyak hasarın şiddetini azaltıp azaltamayacağını belirlemeyi amaçlayan küçük bir randomize klinik çalışma yapılmıştır (39). Bu çalışmada böbrek hasarının üriner biyobelirteçlerinde önemli bir azalma tespit edilmiş olup, klinik sonuçları ile ilgili herhangi bir etki olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, operatif iskeminin derin olduğu açık abdominal aort anevrizması onarımı operasyonunda ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. İskemik önkoşullama, ameliyat sonrası miyokard hasarına, miyokard enfarktüsüne ve böbrek yetmezliğine karşı önemli ölçüde koruma sağlamıştır (40). İskemik önkoşullamanın ST yükselmeli akut miyokard enfarktüsü hastalarında gösterdiği etki klinik olarak tespit edilmiştir. Hastalar ambulanstayken randomize edilmiş ve hastaneye nakil sırasında aralıklı kol iskemisi (dört döngü manşon kafının 5 dakikalık şişirilmesi ve 5 dakikalık indirme) uygulanmıştır. Elde edilen verilere göre hastaneye yatıştan önce uzaktan iskemik şartlandırmanın miyokardiyal hasarı azalttığı ve klinik sonuçlarda iyileşmeye yol açtığı gösterilmiştir (41). Uzaktan koşullandırmanın klinik sonuçlar üzerindeki etkisini doğrulamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır ve bu terapötik modalite şu anda bir tedavi yöntemi olarak umut verici görünmektedir.

2.1.5.2. İskemik son şartlandırma

İskemik son şartlandırma, reperfüzyonun erken anlarında uygulanan kan akışının hızlı, sıralı ve aralıklı olarak kesilmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu teknik özellikle başlangıçtaki iskemik hasarın tahmin edilemediği durumlarda geçerlidir,

dolayısıyla doku hasarını sınırlamak için bu tedavi öncesinde bir önkoşullama yaklaşımı uygulanamamaktadır. Deneysel hayvan modelleri; kalp, omurilik, beyin, böbrek, karaciğer, kas, akciğer ve bağırsaklar dahil olmak üzere organ hasarının azalabildiğini başarılı bir şekilde göstermek için kullanılmıştır (42). Son şartlandırma mekanizmaları henüz tam olarak net değildir, ancak protein kinazlar, ROS, proinflamatuvar sitokinler ve NO dahil olmak üzere çoklu sinyal yollarını ve moleküllerini ve ayrıca mitokondriyal fonksiyondaki değişiklikleri içerdiği düşünülmektedir (43).

Vasküler cerrahi prosedürlerle özel olarak ilgili hayvan modelleri üzerinde çalışmalar yapılmış ve İRH'nin şiddetini azaltmak için etkili bir tedavi olarak iskemik son şartlandırmanın kullanımıyla ilgili umut vadeden sonuçlar elde edilmiştir. Aortik klempleme ile indüklenen bir alt ekstremité iskemisi sıçan modelinde, sıçanlara 180 dakikalık iskemi ve ardından reperfüzyon başlangıcında 10 saniyelik klemple kaldırmanın ardından 10 saniyelik altı döngüden oluşan son şartlandırma uygulanmıştır. Son şartlandırma, hem sistemik enflamatuvar yanıtların şiddetinde hem de uzak pulmoner ve renal hasarın derecesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur (44). Sıçanlarda yapılan benzer bir çalışmada, 60 dakikalık infrarenal aortik klempleme ve ardından reperfüzyon öncesi 4 kez 15 saniyelik aralıklı reperfüzyon; ROS üretimini, lökosit-endotel aktivasyonunu ve sitokin üretimini azaltmada etkili olmuştur (45).

Deneysel modellere dayalı olarak, iskemik son şartlandırma bu nedenle vasküler cerrahide aort cerrahisi ve revaskülarizasyon prosedürlerinden sonra reperfüzyon yaralanmalarını azaltmak için etkili bir tedavi olarak umut vaat ediyor gibi görünmektedir (46). Yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar çoğunlukla kardiyak İRH ile sınırlı olmasına rağmen, bazı klinik çalışmalar bu bulguları doğrulamaktadır. Bununla birlikte, oklüzyon ve reperfüzyon periyotlarının süresi, koruma derecesi için kritik olmaktadır ve ideal iskemik son şartlandırma ile ilgili terapötik stratejileri planlamak için faydalı algoritmaları hesaplamak üzere daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.1.5.3. İnhaler anesteziyelerin koşullandırma etkileri

Anesteziyelerin kalp cerrahisi sırasında miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon ortamında İRH'nin neden olduğu hasarın şiddetini azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, ön koşullandırmanın, iskemi sırasında koşullandırmanın ve son koşullandırmanın anestetikler tarafından sağlanan önemli kalp korumasına katkılarına ilişkin çelişkili sonuçlar mevcuttur. Korumayı sağlayan moleküler mekanizmalar ve sinyal iletim yolları, henüz tam olarak bilinmemekle birlikte aktif olarak araştırılmaktadır. Bir hayvan çalışmasında, inhaler anestetiklerin (izofluran, sevofluran veya desfluran) sıçan miyokardiyumunda 106 proteinin ekspresyonunda uzun süreli değişikliklere neden olduğunu gösterilmiştir (47). Anestezi kaynaklı son koşullandırma mekanizmaları da çok faktörlüdür. İnhaler anestetiklerin, reperfüzyon fazı sırasında koroner arterlerde nötrofil yapışmasını önlediği, dolayısıyla iskemi sonrası dokularda aktive nötrofillerin enflamatuvar etkisini önlediği bilinmektedir (Şekil 2).

Kalp cerrahisi sırasında inhaler anesteziyelerin kalbi koruyucu etkilerine dair klinik kanıtlar mevcuttur. Bir meta-analiz, koroner baypas cerrahisinde inhaler olan ve inhaler olmayan anesteziyi karşılaştıran randomize araştırmaları derlemiştir (48). Miyokard iskemisi, miyokard enfarktüsü, yoğun bakımda kalış süresi veya hastane içi mortalite açısından iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, inhaler anestezi alan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek kardiyak indeksler, daha düşük troponin I serum konsantrasyonları ve daha düşük inotropik destek gereksinimi tespit edilmiştir (48). Yakın zamanda yapılan çok merkezli bir çalışmada, inhaler anestezinin koroner baypas greftlemeden sonra mortaliteyi önemli ölçüde azalttığına dair veriler elde edilmiştir (49). Kardiyak İRH dışındaki vasküler cerrahi operasyonlarda anestezi koruma için yeterli kanıt şu anda mevcut değildir. Ancak bu konuda da inhaler anestezinin pozitif etkilerinin olması muhtemeldir ve halen aktif olarak araştırılmaktadır.

2.1.5.4. Farmakolojik tedaviler

Hem hayvan modellerinde hem de klinikte çok çeşitli farmakolojik tedaviler üzerinde çalışılmaktadır. Hayvan modellerinin çoğu, İRH'nin şiddetini azaltmada önemli ölçüde umut vaat etse de klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlarda çelişkiler

bulunmaktadır. Abu-Amara ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada karaciğer rezeksiyonu sırasında İRH'yi azaltmaya yönelik tedaviler derlenmiştir (50). Farmakolojik müdahalelerden 11'ini (metilprednizolon, multi-vitamin antioksidan infüzyonu, E vitamini infüzyonu, amrinon, prostaglandin E1, pentoksifilin, manitol, trimetazidin, dekstroz, allopürinol ve tromboksan A2 sentetaz inhibitörü) inceleyen 15 randomize çalışma belirlemişlerdir. Bazı tedaviler karaciğer enzim seviyelerini iyileştirmesine rağmen, gruplar arasında mortalite, karaciğer yetmezliği veya perioperatif morbidite açısından anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Aynı yazarlar tarafından yapılan ikinci bir derlemede ise prostaglandin E1, pentoksifilin, dopeksamin, dopamin, ulinastatin, gantaile, sevofluran ve propofolün karaciğer İRH'si sırasındaki etkileri incelenmiş ve anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır (51).

Statin tedavileri, klinik uygulamada geniş ölçüde kabul görmüştür ve hem deneysel hem de klinik olarak, statinlerin çeşitli ortamlarda İRH'nin şiddetini azaltacağına dair önemli kanıtlar vardır. Statinler; MMP'lerin, adezyon moleküllerinin ve sitokin genlerinin transkripsiyonunun azalmasına yol açan nükleer faktör kappa B aktivitesinin inhibisyonu da dahil olmak üzere, İRH kaynaklı enflamasyona karşı bir dizi hücresel yolağı inhibe etmektedir. Aktif nötrofiller üzerindeki adezyon moleküllerinin endotelial hücre yüzey reseptörlerine bağlanması da statinler ile inhibe olmaktadır. Aktif nötrofillerden MMP'lerin salgılanması da statinler tarafından inhibe edilmektedir. Endotelde, eNOS mRNA'nın ekspresyon seviyeleri artmakta ve eNOS proteini aktive edilirken, endotelin-1'in ekspresyonu inhibe edilmektedir. Tüm bu etkiler, İRH sırasında doku hasarının şiddetini iyileştirmektedir (52).

Sıçanlarda alt ekstremitte İRH'si ile ilgili yapılan bir çalışmada İRH'den önce simvastatin ile bir haftalık ön tedavinin hem iskelet kasını hem de akciğerler ve böbrekler dahil uzak organları belirgin şekilde koruduğu gösterilmiştir (53). Klinik ortamda İRH ile ilgili yapılan bir derlemede çeşitli vasküler cerrahi prosedürler geçiren hastalarda statinlerin etkinliği araştırılmıştır (54). Karotis arter stenozu olan ve statin alan semptomatik hastaların karotis endartarektomisinden sonra statin almayanlara göre daha iyi sonuçlara sahip olduğu tespit edilmiştir, ancak gruplar arasındaki farkların belirgin olmadığı saptanmıştır. Periferik arter hastalığı için uygulanan infrainguinal baypas cerrahisinde, statinlerin ameliyat sırasında İRH'ye karşı koruyabileceğine dair göstergeler saptanmasına rağmen bir yıllık mortalitede çelişkili

sonuçlar mevcuttur. Abdominal aort anevrizması onarımından sonra postoperatif komplikasyonların ciddiyeti üzerinde statin tedavisinin herhangi bir etkisi olmadığı bulunmuştur, ancak retrospektif bir gözlemsel çalışma, uzun süreli statin tedavisi alanlarda tüm nedenlere bağlı mortalitenin azaldığını göstermiştir (55). Bununla birlikte, tüm vasküler hastaların kardiyovasküler hastalıktan ikincil korunma için statin tedavisi alması gerektiğinden, kesin sonuçlar elde etmek için prospektif randomize çalışmalar artık etik olarak yapılamamaktadır.

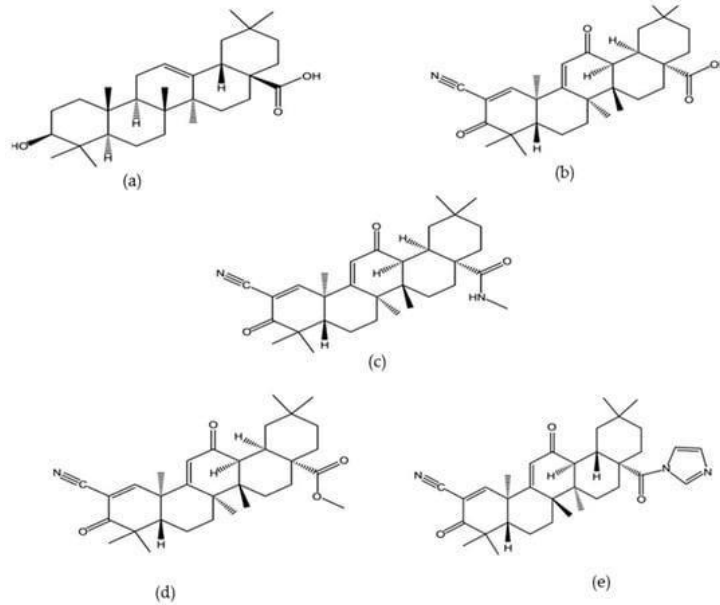
İşkemi reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla hayvan modellerinde araştırılan bazı umut verici moleküller bulunmaktadır. Oleanolik asit de bu moleküllerden biridir. Yakın tarihli yapılan bir hayvan çalışmasında serebral İRH'ye karşı oleanolik asitin hem kısa vadede hem de uzun vadede koruyucu etki gösterdiğine dair veriler elde edilmiştir (56). Oleanolik asit ile ilgili sonuçlar umut vericidir.

2.2. OLEANOLİK ASİT

Bitkiler, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kronik hastalıklar için alternatif veya tamamlayıcı ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (57). Bitkilerin bilinen terapötik etkileri, bitkilerde ve ürünlerinde bulunan biyoaktif bileşiklerin keşfi konusunda araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Birçok alışma, kronik hastalıklara karşı biyolojik aktiviteleri olan bitkilerden farklı fitokimyasallar tanımlamıştır. Oleanolik asit, çeşitli gıda ve tıbbi bitkilerden izole edilmiş doğal bir üründür (58). Zeytin bitkisi gibi Oleaceae familyasının bitkilerinde bol miktarda bulunan bir pentasiklik triterpenoiddir (59, 60). Bu bitkilerde oleanolik asit, genellikle patojenlere ve su kaybına karşı bir bariyer görevi gören epiktiklar mumda bulunmaktadır (61). Bitkilerdeki ekolojik rollerinin yanı sıra, farklı hastalıklarda oleanolik asidin antioksidan, anti-tümör, anti-enflamatuar, anti-diyabetik, anti-mikrobiyal etkiler gibi bazı farmakolojik aktiviteleri olduğu gösterilmiştir (62, 63). Oleanolik asit, hepatoprotektif etkisinden dolayı Çin'de 20 yılı aşkın bir süredir karaciğer ilacı olarak kullanılmaktadır. Oleanolik asit ve sentetik türevlerinin diğer biyolojik aktivitelerinin araştırılması, insan hastalıklarının tedavisi veya yönetimi için güçlü ilaçların geliştirilmesine yol açabilmektedir. Halihazırda, oleanolik asidin oksidatif stres ve enflamasyonu iyileştirme ve metabolik sendromu nleme yeteneği üzerine çalışmalar devam etmektedir.

2.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Yapı

Oleanolik asit, doğada serbest asit veya triterpenoid saponinlerin bir aglikonu olarak bulunan bir triterpenoiddir ve genellikle izomeri usolik asit ile birçok bitkide bulunmaktadır (64). Oleanolik asidin moleküler formülü $C_{30}H_{48}O_3$ ve moleküler ağırlığı 456,70 g/mol'dür (65). Ayrıca artırılmış etki, azaltılmış toksisite, artırılmış biyoyararlanım ve çözünürlük için yarı sentetik oleanolik asidin türevlerini elde etmek üzere ana çerçeve olarak oleanolik asidin moleküler yapısı kullanılmaktadır (66, 67). Yu ve arkadaşları, oleanolik asidi 1,3-siklopropanil fosfat ester ile reaksiyona sokarak iki yeni oleanolik asit ön ilacı tasarlamışlardır (68). Artırılmış biyoyararlanım ve tedavi sırasında uzatılmış raf ömrü gibi yararlı etkiler 1,3 siklopropan esterler kullanılarak oleanolik asit türevlerine kazandırılmaktadır. Oleanolik asidin kimyasal modifikasyonları ayrıca 2-siyano-3,12-dioksooleana-1,9 (11)-dien-28-oik asit (CDDO) gibi bazı oleanolik asit türevlerinin geliştirilmesini sağlamıştır (Şekil 3). Oleanolik asitin bu türevi oleanolik asitten 200.000 kat daha güçlü etkilere sahiptir (69). CDDO ayrıca CDDO-Metil amid, CDDO-Metil ester ve CDDO-imidazol elde etmek için metil gruplarının eklenmesiyle kimyasal olarak modifiye edilmiştir (70). Oleanolik asitten sentezlenen diğer bazı bileşikler arasında oleanolik asit vinil boronatlar, oleanolik asidin esterleri, oksimleri ve oksadiazol türevleri yer almaktadır (71, 72).



Şekil 3. Oleanolik asit ve bazı türevlerinin yapıları

a: Oleanolik asit, b: CDDO, c: CDDO-Metil amid, d: CDDO-Metil ester, e: CDDO-İmidazol (70)

2.2.2. Oleanolik Asitin Gıda ve Tıbbi Bitkilerde Oluşumu

Oleanolik asit dahil olmak üzere pentasiklik triterpenler, çeşitli yenilebilir ve tıbbi bitkilerin meyvelerinde, yapraklarında ve gövde kabuklarında yaygın olarak bulunmaktadır (73). Lantana camara ve Lisgustrum lucidum gibi şifalı bitkiler, zengin oleanolik asit kaynaklarıdır ve geleneksel olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (74, 75). Oleanolik asitin ana ticari kaynağı olan zeytin bitkisinden kolaylıkla yüksek verimle elde edilebilmektedir (76). Guinda ve arkadaşları, zeytin bitkisinin yapraklarındaki triterpen içeriğinin çoğunlukla çeşide bağlı olduğunu ve incelenen çeşitlerde en bol bulunan triterpenoidin oleanolik asit olduğunu bildirmiştir (77). Ayrıca coğrafi köken, gelişme aşaması ve çevre koşullarının bitkilerde oleanolik asit seviyesini etkileyebilecek diğer faktörler olduğu belirtilmiştir. Bahçe kekiği ve karanfil bitkileri gibi yaygın mutfak baharatları da oleanolik asit kaynaklarıdır. Elma, yenidünya, üzüm, mürver ve adaçayı, oleanolik asidin de tespit edildiği ve izole edildiği meyve bitkilerinden bazılarıdır (78).

2.2.3. Oleanolik Asitin Ekstraksiyonu, İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Oleanolik asit, “soxhlet” ekstraksiyonu (79), ultrason destekli ekstraksiyon (80) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (81) gibi ekstraksiyon teknikleri kullanılarak farklı bitkilerden ekstrakte edilmiş veya izole edilmiştir. İnce tabaka kromatografisi (74), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (75, 80) ve nükleer manyetik rezonans (82) gibi analitik ekipmanlar, oleanolik asidin karakterizasyonu ve tanımlanmasında kullanılan ekipmanlardır. Oleanolik asit izolasyonu genellikle bitkinin toz haline getirilmesi sonrasında n-heksan veya petrol eteri gibi polar olmayan bir çözücü ile yağlanması işlemlerini içermektedir (79, 83). Sonrasında ise ham ekstraktların hazırlanması, çöktürme ve kristalleştirme (74), vakumlu sıvı kromatografisi (82) ve kolon kromatografisi (84) gibi teknikler kullanılarak oleanolik asidin izolasyonu gerçekleştirilmektedir. Çoğu biyoaktif madde gibi, bir dizi parametre de oleanolik asidin ekstraksiyonu ve izolasyon verimliliği üzerinde etkilidir. Bu faktörlerden bazıları solvent seçimi, ekstraksiyon solventlerinin konsantrasyonu, solventlerin bitki materyaline oranları, sıcaklık, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon/izolasyon tekniğidir (75, 85). Bu faktörler genellikle oleanolik asidin farklı bitki kaynaklarından izolasyonunu ve ekstraksiyonunu optimize etmek için manipüle edilebilmektedir.

2.2.4. Oleanolik Asit ve Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri

2.2.4.1. Oleanolik Asit ve Türevlerinin Anti-Tümör/Anti-Kanser Etkileri

Birçok çalışma, farklı in vitro ve in vivo modellerde, oleanolik asidin tümör ve kanser büyümesine karşı anti-tümör ve anti-kanser aktivitelerini rapor etmiştir. Örneğin oleanolik asit, farelerde nakledilen tümörün büyümesini ve karaciğer hepatoselüler hücrelerinin (HepG2) çoğalmasını inhibe etmektedir. Oleanolik asidin anti-tümör aktivitesinin, tümör proteini (p53) ve siklooksijenaz-2 aracılı mitokondriyal apoptotik yolak aktivasyonunun ve hücre döngüsü durmasının yukarı regülasyonu yoluyla olduğu öne sürülmektedir (86). İkinci mitokondriyal türevli aktivatör mimetik BV6, apoptoz proteinlerinin inhibitörlerinin sentetik bir seçici antagonistidir ve dolayısıyla kanser tedavisinde terapötik bir adaydır (87). İnsan hepatoselüler hücrelerinde ikinci mitokondriyal türevli aktivatör mimetik BV6 ve oleanolik asidin bir kombinasyonu ile tedavi sonucunda apoptozis yollarında indüklenme olduğu saptanmıştır (88).

Ozmotik stres kaynaklı meme kanseri büyümesinde oleanolik asit, glikolitik enzimlerin ekspresyonunu tersine çevirmektedir ve bu tersine çevirme etkili bir şekilde kanser hücresi proliferasyonunun azalmasına yol açmaktadır (89). İnsan mesane kanseri hücrelerinde 50 µg/mL oleanolik asit ile tedavi, Akt/mTOR/S6K ve ERK1/2 (hücre büyümesi, çoğalması ve hayatta kalması için önemli olan yollar) sinyalleşmesinin inhibisyonu yoluyla proliferasyonu bastırmakta ve hücrelerin apoptozunu artırmaktadır (90).

Oleanolik asidin öne sürülen bir başka spesifik anti-tümör etkisi mekanizması, bazı kanser türlerinde önemli bir tümör baskılayıcı olduğu bulunan bir protein olan miR-122'nin aşırı ekspresyonunu indüklenmesidir (91, 92). Oleanolik asit ile 8 saat boyunca 60 µg/mL tedaviyi takiben akciğer kanseri hücrelerinde miR-122 ekspresyonunu 9,9 kata kadar indüklenebilmektedir (93).

Oleanolik asidin bir türevi olan oleanolik asit metil ester, insan serviks kanseri hücreleri (HeLa) üzerinde konsantrasyona ve zamana bağlı bir şekilde reaktif oksijen türleri üretimi yoluyla sitotoksik etkiler de sergilemektedir (67). Oleanolik asidin suda çözünürlüğünü artırma girişiminde, Ren ve arkadaşları amino ekli β-siklodekstrinler

ile oleanolik asidi tepkimeye sokarak yeni bir oleanolik asit türevi elde etmişlerdir. Çözünürlükteki önemli artışın yanı sıra, bu oleanolik asit türevinin insan kanser hücrelerinde göstermiş oldukları in vitro sitotoksosite etkisinin arttığını göstermişlerdir (94). Genel olarak, bu çalışmalar, oleanolik asit ve türevlerinin, çeşitli etki mekanizmaları yoluyla tümör ve kansere karşı değerli terapötik maddeler olabileceğini düşündürmektedir.

2.2.4.2. Anti-Diyabetik Aktivite

Diyabet, bozulmuş insülin sekresyonu ve/veya hassasiyetinden kaynaklanan karmaşık ve ilerleyici bir hastalıktır (95, 96). Gözler, böbrek, kan damarları ve sinirler gibi vücut organlarını etkileyen farklı metabolik komplikasyonlarla ilişkilidir (97, 98). Oleanolik asit, diyabet modellerinde insülin etkisini iyileştirmek, glukoneogenezi inhibe etmek ve glikoz kullanımını teşvik etmek için terapötik ajan olarak kullanılmıştır. Oleanolik asit, periferde glikoz taşınmasını yukarı regüle eden ve genellikle kilo alımına yol açan insülin veya tiyazolidindionlar gibi yaygın olarak kullanılan antidiyabetik terapötiklerin aksine adipojenik aktiviteden yoksundur (99). Bu nedenle oleanolik asit, diğer anti-diyabetik veya anti-obezite terapötik ajanlarla gözlemlenen adipojenik aktivite olmadan oldukça umut verici ve daha iyi bir terapötik modalite olma ihtimali bulunmaktadır.

İnsülin direnci ile tip 2 diyabet arasındaki ilişki uzun süredir bilinmektedir (100). İnsülin direnci, tip 2 diyabetin ayırt edici özelliğidir ve diyabet başlangıcının önemli bir göstergesidir (101). İnsüline dirençli HepG2 hücrelerinde, 25 µmol/L oleanolik asit ile tedavi, insülin reseptörü substrat 1 ve glikoz taşıyıcı 4 proteinlerinin ekspresyonunu artırarak insülin duyarlılığını iyileştirmektedir (102). İnsülin reseptörü substrat 1, insülin sinyal yollarında önemli bir faktörken; glikoz taşıyıcı 4 iskelet kası, yağ dokuları ve karaciğerde başlıca glukoz taşıyıcısıdır ve dolayısıyla her ikisi de diyabet yönetiminde terapötik hedeflerdir (103). Sıçanların adipoz dokusunda, 10 hafta boyunca 25 mg/kg/gün oleanolik asit takviyesinin uygulanması, İnsülin reseptörü substrat 1 (IRS1)/PI3K/AKT yolu yoluyla fruktoza bağlı insülin direncini de iyileştirmiştir (104).

Oleanolik asit ayrıca glukoneogenezi inhibe etme ve hepatik insülin direncini azaltma özelliği de göstermektedir. Obez diyabetik farelerin 14 gün boyunca 20

mg/kg/gün oleanolik asit ile tedavileri vücut, karaciğer ve yağ ağırlıklarında azalma, insülin sinyalleşmesinde artış ve glukoneogenezi inhibe etme ile sonuçlanmıştır (63). Benzer şekilde, erken postnatal oleanolik asit uygulamasının, fruktozla beslenen yetişkin dişi sıçanlarda alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı gelişimini azaltabildiğini göstermektedir (105). Bu kanıt aynı zamanda oleanolik asidin hepatoprotektif potansiyelini de göstermektedir.

Tip 2 diyabet tedavisinde, bazen monoterapi ile ortaya çıkan sekonder başarısızlık insidansını önlemek için genellikle kombine tedavi kullanılmaktadır (106, 107). Oleanolik asitin metformin ve insülin gibi diğer antidiyabetik ilaçlarla sinerjistik ve tamamlayıcı etkileri indükleyebildiği gösterilmiştir.

Oleanolik asidin çoklu ve tamamlayıcı mekanizmalar yoluyla antidiyabetik potansiyeline ilişkin kanıtlar göz önüne alındığında, oleanolik asit ve türevleri diyabet yönetiminde umut verici alternatif bir tedavi olabilmektedir.

2.2.4.3. Antimikrobiyal etkinlik

Oleanolik asit, bitkilerde patojenlere karşı savunmada rol oynamaktadır (60). Bu nedenle, oleanolik asidin çok çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olması beklenmektedir. İnsanlarda, antibiyotik tedavisi kronik hastalıkların komplikasyonlarından kaynaklanan sekonder enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (108). Ayrıca, patojenler sadece komplikasyon durumlarında değil, aynı zamanda kronik hastalıkların ilerleme aşamasında da ortaya çıkabilmektedir (109). Örneğin oleanolik asit, hücre zarlarına zarar vererek *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'a karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (110). Yapılan bir çalışmada oleanolik asidin çeşitli rahatsızlıklara neden olan diğer mikroorganizmalardaki işlevini daha fazla karakterize etmek için, oleanolik asit ve epi-oleanolik asit dahil olmak üzere bir dizi triterpenoid bileşik, bir tıbbi gıda bitkisi olan *Akebia trifoliata*'den tek tek izole edilmiştir (111). Bu bileşiklerin her birinin antibakteriyel aktivitesi, beş bakteri türüne karşı değerlendirilmiştir. Oleanolik asit, 62,5 µg/mL'de *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus thuringiensis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* ve *Shigella dysenteriae*'ye karşı orta düzeyde bir aktivite göstermiştir. Doz olarak 31,2 µg/mL kullanılması ise

minimum inhibe edici konsantrasyon olarak saptanmıştır. Öte yandan, 3-epioleanolik asit, daha güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilemektedir.

Jimenez-Arellanes ve arkadaşları *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı sinerjik antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için oleanolik asidi izomeri olan ursolik asit ile birleştirmişlerdir ve bu molekülü ilaca dirençli klinik tüberküloz suşu ile enfekte farelere uygulamışlardır (112). Çalışmada, pulmoner basil yükleri, interferon- γ , TNF- α ve iNOS sekresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. Oleanolik asit ve ursolik asit moleküllerinin ikisi de tek başına antimikrobakteriyel aktivite göstermesine rağmen, makrofaj hücre hatlarında tüberküloz suşlarına karşı her iki bileşiğin karışımının sinerjistik bir hücre içi aktivitesi olduğu saptanmıştır. Enfekte farelerde, her iki bileşikle tedavi sonrasında pulmoner basil yüklerinde önemli bir azalma olmuştur. Ayrıca, iNOS ve TNF- α ve interferon- γ sitokinlerinin ekspresyonunda bir artış olduğu da tespit edilmiştir.

2.2.4.4. Hepato-koruyucu etki

Oleanolik asitin dikkate değer biyoaktivitelerinden biri, karaciğerin toksisiteye karşı korunmasıdır ve şu anda Çin'de reçetesiz hepatik ilaç olarak kullanılmaktadır (66). Albino sıçanlarda, *Flaveria trinervia*'dan elde edilen oleanolik asit kullanılmış; etanolün neden olduğu karaciğer toksisitesi üzerinde önemli bir koruyucu etkiye sahip olduğu ve hepatotoksiste belirteci olan serum enzim düzeylerini normal seviyelere getirdiği saptanmıştır (113). Bu çalışma, hepato-koruyucu etkinin bir başka olası mekanizmasının oleanolik asidin antioksidan etkileri olabileceğini düşündürmüştür. İlaç etkinliğini artırmanın bir yolu olarak kombinasyon tedaviler, çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gutierrez-Rebolledo ve arkadaşları, oleanolik asidin ursolik asit ile kombine tedavide anti-tüberküloz ilaçların neden olduğu karaciğer hasarı üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir (114). Hepatoksiste, anti-tüberküloz ilaçların güçlü bir yan etkisi olarak kabul edilmektedir (115, 116). Farelere 100 ve 200 $\mu\text{g}/\text{fare}/\text{gün}$ oleanolik asit ve ursolik asit karışımının uygulanması, anti-tüberküloz ilaçların neden olduğu yağlanmayı önlemektedir ve 100 $\mu\text{g}/\text{fare}/\text{gün}$ ile tedavide daha iyi sonuçlar elde edilmektedir.

Oleanolik asit metabolizmasını değiştirmek ve tedavi sırasında raf ömrünü uzatmak amacıyla Yu ve arkadaşları iki yeni oleanolik asit türevi geliştirmişlerdir (68).

Sıçanlarda metabolizma ve biyo-dağılımın değerlendirilmesinin yanı sıra, türevlerin hepatoprotektif yeteneği de araştırılmıştır. Hepatotoksisite gelişen farelerde artmış serum hepatik enzim seviyeleri, oleanolik asit türevleri ile tedavi sonucunda anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca, yine hepatik hasarın göstergeleri olan malondialdehitin artan seviyesi ve antioksidan enzimlerin azalan aktiviteleri, sentezlenmiş oleanolik asit türevleri ile tedavi edilen farelerde tersine çevrilmiştir. Çalışma, oleanolik asit türevlerinin güçlü hepatoprotektif ve antioksidan etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

2.2.4.5. Antioksidan Aktivite

Oksidatif stresin çeşitli kronik hastalıkların patogenezinde yer aldığı bilinmektedir ve bu nedenle antioksidan tedavi, bu hastalıkların yönetimi ve tedavisi için umut verici bir stratejidir (117). Oleanolik asitin biyolojik aktivitelerine ilişkin elde edilen birçok sonuç onun antioksidan etkisine atfedilmiştir. Örneğin, *Ligustrum lucidum*'dan elde edilen oleanolik asidin, alloxan ile indüklenen diyabetik sıçanlarda malondialdehit seviyesini düşürdüğü ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir (118). Malondialdehit seviyesi (lipid peroksidasyon ürünü), SOD ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri (temel antioksidan enzimler) memeli dokularında antioksidan durumunun önemli belirleyicileridir (119). Benzer şekilde, bir in vitro çalışmada oleanolik asit, glutatyon üretimini ve temel antioksidan enzimlerin salınımını arttırmıştır (62). Ayrıca üzüm kabuğundan izole edilen oleanolik asidin antioksidan özelliği, diğer ticari antioksidan ajanları ile karşılaştırılabilir düzeyde yüksek bulunmuştur (120).

İskemi reperfüzyon hasarı sırasında flep kaybının en önemli nedenlerinden biri de doku üzerinde oksidatif stres oluşmasıdır. Oleanolik asidin gösterdiği birçok etki antioksidan etkisinden kaynaklanmaktadır ve oleanolik asidin en önemli etkilerinden birinin de antioksidan etkinliği olduğu düşünülmektedir. Bu nedenlerle flep cerrahisinde oleanolik asit uygulaması flep sağkalımını olumlu yönde etkileyebilmektedir.

2.2.4.6. Anti-enflamatuvar Etkinlik

İnflamasyon, insülin direnci ve diyabet (121), kanser (122) ve astım (123) gibi çeşitli hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde kilit bir rol oynamaktadır. İnsan

umbilikal ven endotel hücrelerinde, oleanolik asidin, yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGBI) ve hücre adezyon molekülleri (CAM'ler) ekspresyonunun salınımını inhibe ederek anti-enflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (124). Yüksek mobilite grup kutusu 1, çeşitli enflamatuvar hastalıklarda proinflamatuvar sitokinleri yukarı regüle eden bir proteindir (125). Benzer şekilde, Lee ve arkadaşları oleanolik asidin, in vivo olarak nükleer faktör-kappa B ve TNF- α (enflamasyonun biyobelirteçleri) ekspresyonunun aşağı regülasyonu yoluyla pro-enflamatuvar yanıtları hafiflettiğini bildirmişlerdir (126).

Miyokardit, kalp kasının kronik kalp yetmezliğine ilerleyebilen enflamatuvar bir hastalıktır (127). Oleanolik asidin anti-enflamatuvar sitokinlerin üretimini artırdığı, pro-enflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı ve sonuç olarak hastalığın diğer semptomlarını hafiflettiği deneysel otoimmün miyokarditli farelerde de gösterilmiştir (128). Elde edilen bu veriler ise oleanolik asidin anti-enflamatuvar etkinliğine bağlanmıştır. Ayrıca, oleanolik asit ile tedavi edilen farelerde, hepatik insülin direncinin azaldığı ve farenin karaciğerindeki IL-1, PAF, IL-6 ve TNF- α seviyelerindeki azalma saptandığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar da oleanolik asidin anti-enflamatuvar aktivite gösterdiği sonucunu desteklemektedir (63).

Başka bir oleanolik asit türevi de, enflamatuvar cilt enfeksiyonu oluşturulan sıçanlarda anti-ödemik etkiler göstermiş olup görülen bu etkinin anti-enflamatuvar aktivitenin bir sonucu olduğu düşünülmüştür (129). Bu bulgular, oleanolik asit ve türevlerinin, enflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde umut verici bir terapötik aday olduğunu göstermektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY PROTOKOLÜ

3.1.1. Araştırmanın Türü

Yaptığımız bu çalışma randomize prospektif kontrollü deneysel bir çalışma olarak planlandı. Çalışmaya, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022/20 karar numarası ile etik kurul izni ile başlandı ve “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik (Resmî Gazete, 13 Aralık 2011, Sayı:28141)” kuralları gözetilerek gerçekleştirildi.

Çalışmanın tüm maliyetleri tezin yazarı tarafından karşılanmıştır. Herhangi bir kişi veya kuruluşla çıkar çatışması yoktur.

3.1.2. Araştırma Yeri ve Ortamı

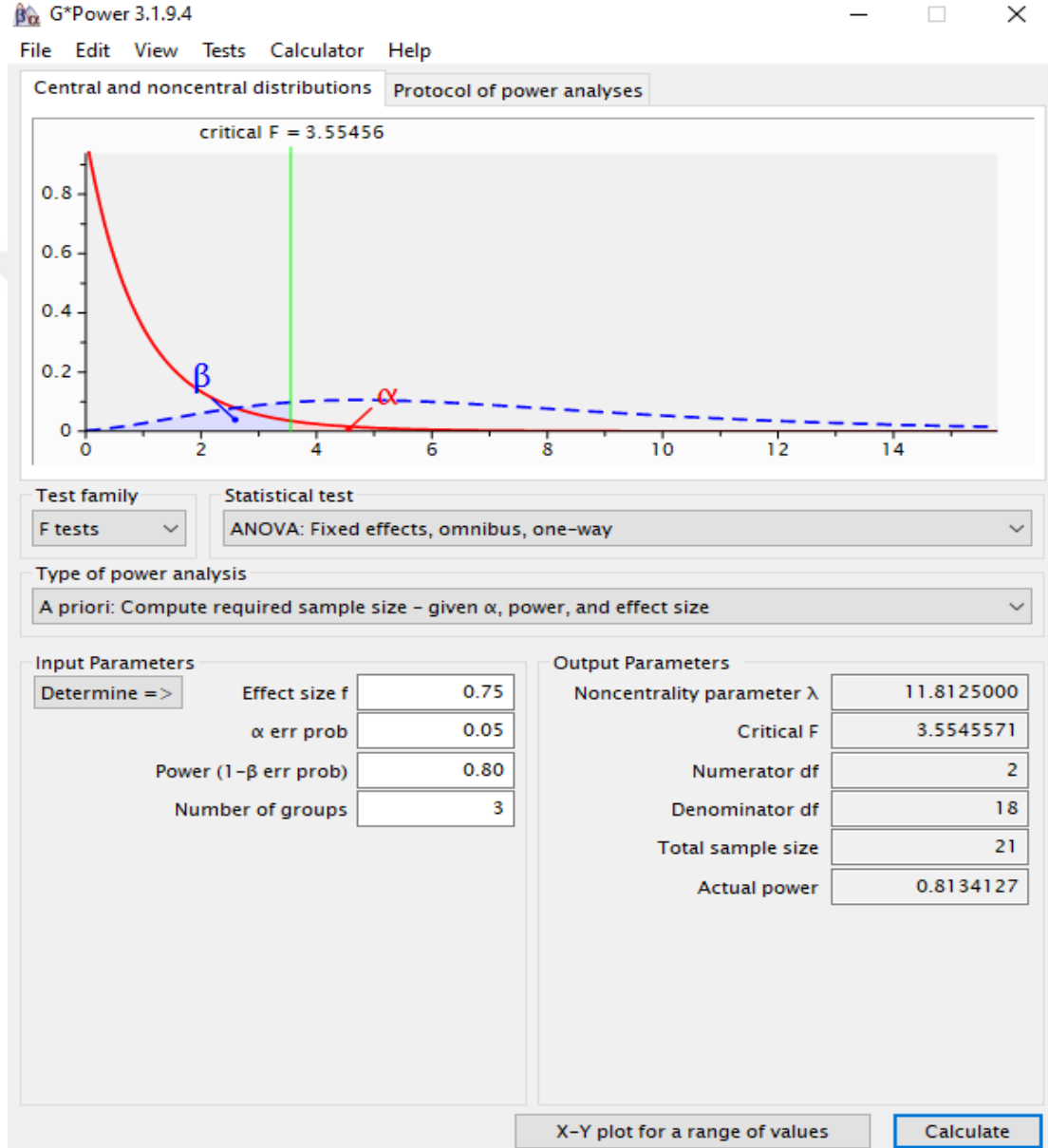
Hayvanlar Sağlık Bilimleri Üniversitesi AR-GE Merkez Başkanlığı Gülhane Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi bünyesinde temin edildi ve burada bakıldı. Çalışmacıların ve laboratuvarın Avrupa Konseyi’nin önerdiği standartlara [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS 123)] uymasına dikkat edildi. Çalışma söz konusu merkezde sürdürüldü. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu protokolü uygulandı.

Bu araştırmada 350-550 gr aralığındaki 21 adet erkek Wistar Albino sıçanı gün boyunca her biri 21-24 °C'lik sıcaklıkta %50'lik hava nemi ile bireysel bir şekilde ratlar için özel standart bir kafeste tutuldu. Bütün ratların ad libitum yiyecek ve su ile beslenmesi, 12 saatlik otomatik ışık / karanlık döngüsü korundu.

Doku patofizyolojik hücre incelemeleri SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi. Biyokimyasal doku homojenat tetkikleri ise Rel Assay Diagnostics Üretim ARGE laboratuvarında (Gaziantep, TÜRKİYE) analiz edildi.

3.1.3. Grupların Oluşturulması

G*Power Versiyon 3.1.9.4 paket programı ile tek yönlü ANOVA (sabit etkili) için örneklem hesabı yapılmıştır. Tip1 hata 0,05 ve Güç 0,80 olarak, etki büyüklüğü katsayısı Cohen f büyük düzeyde (0,75) ve grup sayısı 3 alındığında toplam örneklem sayısı 21 elde edildi. Her bir gruba 7 denek düşmektedir.



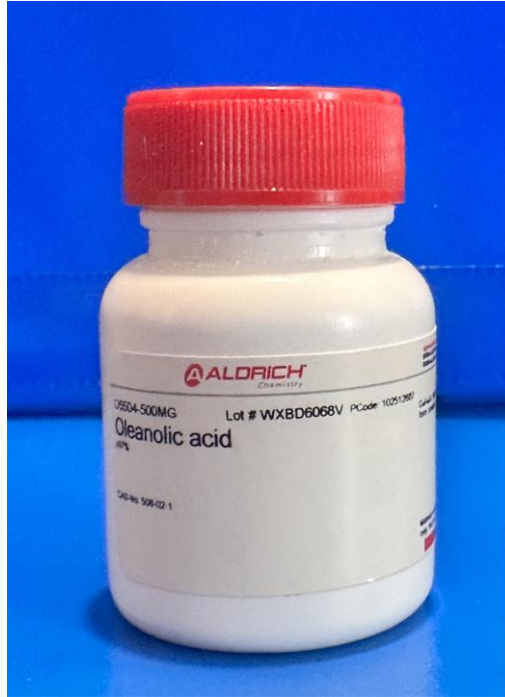
Şekil 4. Örneklem sayısının hesaplanması için kullanılan G*Power analizi

Hayvanlar randomize olarak her bir grupta 7 hayvan olacak şekilde üç gruba ayrıldı.

Hayvanlar 5 gün boyunca herhangi bir anestezi uygulaması olmadan;

- Sham grubu (grup 1), standart barınma ve beslenme koşullarında,
- Kontrol grubu (grup 2), intraperitoneal yol ile verilen fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) (1 mL/kg vücut ağırlığı) ve
- Oleanolik asit ($\geq 97\%$ saflıkta, Sigma Aldrich, USA) grubu (grup 3), intraperitoneal yol ile verilen oleanolik asit (8 mg/kg/gün) (Şekil 5)

ile tedavi edilmişlerdir.



Şekil 5. Oleanolik asitin ticari formu

Birinci grup (Sham grubu): Denekler, standart barınma ve beslenme koşullarında herhangi bir intraperitoneal uygulamaya maruz bırakılmadan 5 gün boyunca yaşatıldı. Ardından altıncı gün hayvanlar genel anesteziye alınarak, 3x6 cm boyutlarında epigastrik flep kaldırıldı (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8). Flep, herhangi bir iskemi ve reperfüzyon süresine maruz bırakılmayacak şekilde yerine iade edildi (Şekil 9) ve 4 saat bekleme süresinin ardından ratlardan histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep distalinden 1,5*1,5 cm biyopsiler alındı.

İkinci grup (Kontrol grubu): Ratlar intraperitoneal yol ile verilen fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) (1 mL/kg vücut ağırlığı) ile 5 gün boyunca tedavi edildi. Altıncı gün hayvanlar genel anesteziye alındı ve 3x6 cm boyutlarında epigastrik flep kaldırıldı (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8). Ortalama cerrahi süresi 15 dakika olarak gerçekleşti. Flep kaldırıldıktan sonra pediküle uygulanacak olan mikrocerrahi vasküler klempler ile iki saat iskemi süresi başlatıldı (Şekil 10). İki saatlik sürenin bitmesinin ardından cerrahi sütürler alındı, mikrocerrahi klempler pedikülden ayrılarak, reperfüzyon sağlandı. Ortalama cerrahi süresi 5 dakika olarak gerçekleşti. Ardından 2 saatlik reperfüzyon süresi başlatıldı. Hayvanlara bu aşamada gerekirse ek doz anestezi uygulaması yapıldı. Reperfüzyon süresinin bitiminin ardından hayvanlar 90 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin dozu ile genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Reperfüzyon süresi bitiminden sonra ratlardan histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep distalinden 1,5*1,5 cm biyopsiler alındı.

Üçüncü grup (Oleanolik asit grubu): Ratlar intraperitoneal yol ile verilen oleanolik asit (8 mg/kg/gün) ile 5 gün boyunca tedavi edildi. Oleanolik asit, günde bir kez 8 mg/kg vücut ağırlığı dozunda 1 x PBS (fosfat tamponlu tuzlu su) ile hazırlandı. Oleanolik asit ile yapılacak olan tedavi, intraperitoneal yoldan maksimum 1 mL hacim ile sağlandı. İntraperitoneal uygulama, beş gün boyunca uygulandı. Altıncı gün hayvanlar genel anesteziye alındı ve 3x6 cm boyutlarında epigastrik flep kaldırıldı (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8). Ortalama cerrahi süresi 15 dakika olarak gerçekleşti. Flep kaldırıldıktan sonra pediküle uygulanacak olan mikrocerrahi vasküler klemp ile iki saat iskemi süresi başlatıldı (Şekil 10). İki saatlik sürenin bitmesinin ardından cerrahi sütürler alındı, mikrocerrahi klemp pedikülden ayrılarak, reperfüzyon sağlandı. Ortalama cerrahi süresi 5 dakika olarak gerçekleşti. Ardından 2 saatlik reperfüzyon süresi başlatıldı. Hayvanlara bu aşamada gerekirse ek doz anestezi uygulaması yapıldı. Reperfüzyon süresinin bitiminin ardından hayvanlar 90 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin dozu ile genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Reperfüzyon süresi bitiminden sonra ratlardan histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep distalinden 1,5*1,5 cm biyopsiler alındı.

Tablo 2. Çalışma grupları

Grup 1 (Sham)	Grup 2 (Kontrol)	Grup 3 (Oleanolik asit)
Beş gün standart bakım	Beş gün intraperitoneal verilen fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) (1 mL/kg vücut ağırlığı)	Beş gün intraperitoneal yol ile verilen oleanolik asit (8 mg/kg/gün ve maksimum 1 mL hacminde)
↓	↓	↓
Altıncı gün flep elevasyonu		
Beklenmeden flebin yerine iade edilmesi	Flepte iki saat iskemi ve iki saat reperfüzyon oluşturuldu	Flepte iki saat iskemi ve iki saat reperfüzyon oluşturuldu
↓	↓	↓
Patolojik ve biyokimyasal inceleme için flepten 1,5*1,5 cm örnekler alınması		

Intraperitoneal uygulama: İntraperitoneal uygulama, ratlar koruyucu eldiven kullanılarak omuzlarının altından uygun şekilde zapturapt altındıktan sonra batın sağ alt kadrandan 30 G iğne yardımı ile 30-45 derecelik açı oluşturacak şekilde karnının geri ¼ lük kısmına negatif aspirasyonu takiben, yardımcı uygulayıcı tarafından 5 gün boyunca uygulandı.

Genel anestezi: Genel anestezi uygulaması için ratlar koruyucu eldiven kullanılarak omuzlarının altından uygun şekilde zapturapt altına alındı ve yardımcı uygulayıcı tarafından önceden hazırlanmış 80-90 mg/kg ketamin + 5-10 mg/kg ksilazin dozunda karışım batınlarının sağ alt kadrandan 30 G iğne yardımı ile 30-45 derecelik açı oluşturacak şekilde karnının geri ¼ lük kısmına negatif aspirasyonu takiben intraperitoneal olarak genel anestezi uygulandı. Genel anestezi derinliği cilt ya da parmak kıstırma yanıtları ile değerlendirildi.

Cerrahi teknik: Genel anestezinin ardından, ratların superiorda kosta kavsinden başlayarak yaklaşık 7 cm aşağıya kadar deney hayvanları için özel olarak üretilmiş 0,25 mm kesme özelliğine sahip tıraş makinesinin No:40 ucu kullanılarak tıraşlandılar. Tıraşı tamamlanan ratlar bu amaç için özel olarak hazırlanmış operasyon masasına supin pozisyonda 4 ekstremiteleri ve kuyrukları olmak üzere 5 noktadan bantlar ile tespit edildiler. Takiben ratların inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık

flebi) operasyon alanına %10 povidon iyot ile asepsisi sağlandı. Ardından ratların kasık bölgesinde tasarlanan 3x6 cm boyutlarında inferior epigastrik arter cilt ada flebi eleve edildi. Daha önceden tasarlanan flep modeline göre, orta hattın insizyona başlanıp flep medialden laterale doğru diseke edildi (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8), flep pedikülünü inferior epigastrik arter, ven ve sinir oluşturmaktadır.



Şekil 6. Flep alanının işaretlenmesi



Şekil 7. Flep diseksiyonu



Şekil 8. Flep elevasyonu ve epigastrik arter, ven ve siniri



Şekil 9. Sham grubunda flebin yerine iade edilmesi



Şekil 10. Kontrol ve oleanolik asit grubunda iskeminin oluşturulması

Patolojik inceleme: Patoloji örnekleri %4'lük formaldehit ile fikse edildi ve ardından doku parafin ile doyuruldu. Parafin emdirilmiş bloklar 4 µm kalınlıkla dilimlenerek preparatlar Hematoksilen Eozin boya ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında patolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi. Histopatolojik incelemelerde enflamasyon (PMNL sayımı ve lenfosit yoğunluğu ile), papiller dermiste ödem ve nekroz analiz edildi. Bunun için hematoksilen eozin boya kullanıldı. Histopatolojik incelemeler SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında aynı patolog tarafından kör değerlendirme şeklinde yapıldı.

Biyokimyasal inceleme: Biyokimyasal analizler için flep dokusunun iskemi-reperfüzyona en duyarlı bölgesi olan distal kısımdan bistüri yardımı ile 1,5*1,5 cm biyopsi materyali alındı. Alınan doku biyopsileri düz biyokimya tüpüne aktararak santrifüj edildikten sonra epend-off mikrosantrifüj (ependorf tüpü) tüpüne alınarak - 80 °C'de saklandı. Alınan doku örneklerinin ağırlıkları ölçüldü ve ağırlıklarının 4 katı hacimde Triton x solüsyonu ve proteaz inhibitörlerinden oluşan kokteyl ile homojenize edildi. Alınan örneklerde, TOS (total oksidan stres) ve TAK (total antioksidan kapasite) seviyeleri çalışıldı. Burada TOS seviyesi oksidan kapasiteyi yansıtırken, TAS antioksidan kapasiteyi yansıtmaktadır. TOS ve TAK düzey ölçümü yapmak üzere Rel Assay Diagnostics (Gaziantep, Türkiye) test kitleri kullanıldı.

Total oksidan stres: TOS ölçümü için, Rel Assay Diagnostics (Gaziantep, Türkiye) test kiti (Katalog No: RL0024) kullanıldı. Bu test, numunede mevcut oksidanların, demir iyonu-şelatör kompleksini demir iyonuna oksitlemesi prensibi ile çalışmaktadır. Ferrik iyon, asidik bir ortamda kromojen ile renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilişkilidir. Test kiti, H₂O₂ ile kalibre edilmiş ve litre başına mikromolar H₂O₂ eşdeğeri (µmol H₂O₂ Eşdeğeri/L) cinsinden ifade edilmektedir (130).

Total antioksidan kapasite: TAK ölçümü için, Rel Assay Diagnostics (Gaziantep, Türkiye) test kiti (Katalog No: RL0017) kullanıldı. Bu test, numunedeki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS.+ [2,2' -azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] radikalini renksiz ABTS formuna indirgemesi

prensibine dayanmaktadır. 660 nm’de absorbans değişimi numunenin total antioksidan seviyesi ile ilişkilendirilmektedir. Tahlil, bir vitamin E analoğu olan Trolox Eşdeğeri olarak adlandırılan stabil antioksidan standart solüsyonu ile kalibre edildi. Sonuçlar mmol/L cinsinden verildi (131).

3.2. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Verilerin değerlendirilmesi için IBM SPSS 21 (IBM SPSS Inc, Chicago, IL) paket programı kullanıldı. İstatistiksel kararlar 0,05 anlamlılık seviyesine göre verildi.

Sürekli veriler için ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca ve minimum – maksimum değerleri tanımlayıcı istatistik olarak kullanıldı. Sürekli verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile, varyansların homojenliği Levene’s testi ile kontrol edildi. Normal dağılım göstermeyen ikiden fazla grubun dağılımları Kruskal-Wallis ile karşılaştırılmış, anlamlı farkın bulunması durumunda farkın kaynağı Mann-Whitney U testi ile belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda sham grubu, kontrol grubu ve oleanolik asit grubu olmak üzere 3 farklı grupta 7'şer olmak üzere toplam 21 sıçanın verileri değerlendirildi. Tüm sıçanlardan elde edilen TAK değerleri Tablo 3'te ve TOS değerleri ise Tablo 4'te gösterildi.

Tablo 3. Deneklerin TAK değerleri (mmol/L)

	Sham grubu	Kontrol grubu	Oleanolik asit grubu
1	0,266	0,460	0,830
2	0,180	0,676	0,782
3	0,110	0,250	0,732
4	0,034	0,348	0,593
5	0,170	0,331	0,758
6	0,213	0,548	0,764
7	0,162	0,797	0,527

Tablo 4. Deneklerin TOS değerleri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L)

	Sham grubu	Kontrol grubu	Oleanolik asit grubu
1	0,635	4,028	1,281
2	0,515	3,444	0,783
3	0,834	3,559	1,096
4	0,295	2,939	1,006
5	0,853	3,102	2,121
6	0,443	3,584	1,185
7	0,274	4,039	0,447

Deneklerden elde edilen patolojik örneklerin incelenmesi sonucunda elde edilen enflamasyon, ödem ve nekroz verileri Tablo 5’te sunuldu. Örneklerin hiçbirinde nekroz gelişmediği saptandı.

Tablo 5. Deneklerin patolojik incelemeleri sonucunda elde edilen enflamasyon, ödem ve nekroz şiddetlerinin derecelendirilmesi

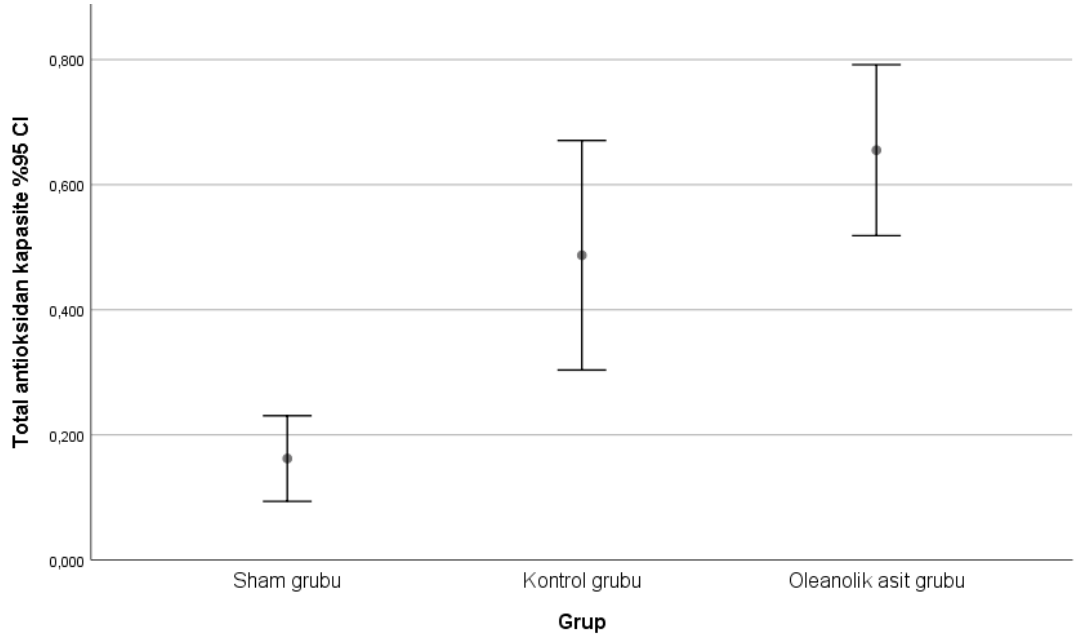
		Sham grubu	Kontrol grubu	Oleanolik asit grubu
İ n fl a m a s y o n	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	4	+	++	+
	5	++	+++	+
	6	-	++	++
	7	+	+	+
Ö d e m	1	-	+	-
	2	+	++	-
	3	+	+	+
	4	-	+++	+
	5	+	+	+
	6	-	-	+
	7	+	++	+
N e k r o z	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
	5	-	-	-
	6	-	-	-
	7	-	-	-

Gruplardan elde edilen TOS değerlerinin sham grubunda ortalama $0,55 \pm 0,24$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L, kontrol grubunda ortalama $3,53 \pm 0,42$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L ve oleanolik asit grubunda ortalama $1,13 \pm 0,52$ H_2O_2 eşdeğeri/L olduğu tespit edildi ($p=0,001$). Her üç grup arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlı bulundu. TAK'ye bakıldığında ise sham grubunda $0,16 \pm 0,07$ mmol/L, kontrol grubunda $0,49 \pm 0,2$ mmol/L ve oleanolik asit grubunda $0,71 \pm 0,11$ mmol/L değerlerine ulaşıldı ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,001$). Gruplar arasında enflamasyon ve ödem açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p>0,005$).

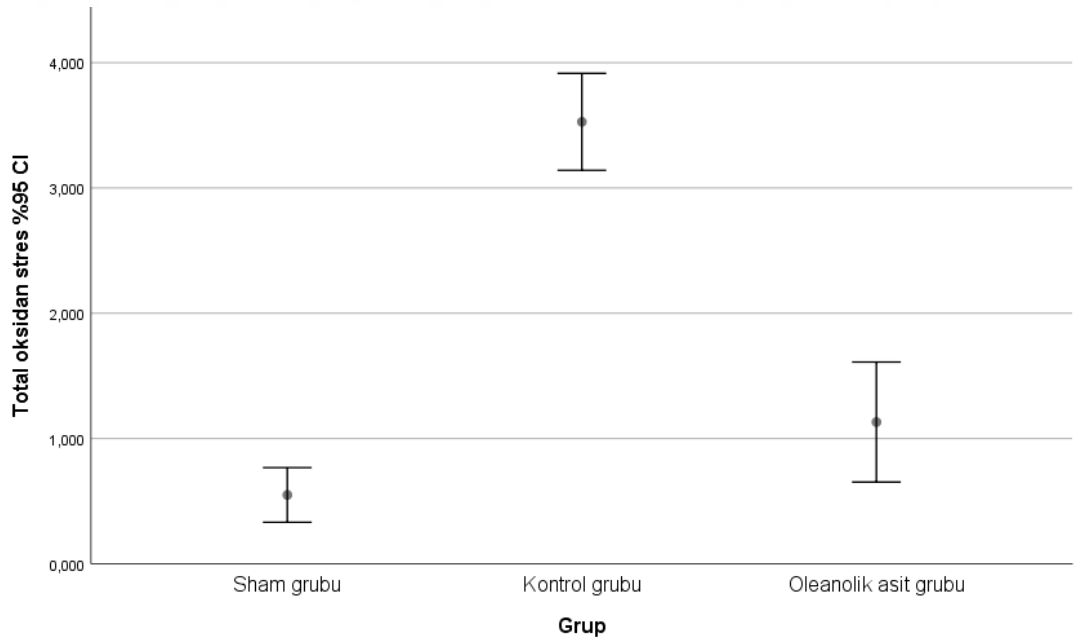
Tablo 6. Gruplardan elde edilen TOS, TAK, enflamasyon, ödem ve nekroz verilerinin karşılaştırılması

	Sham grubu (Grup 1)	Kontrol grubu (Grup 2)	Oleanolik asit grubu (Grup 3)	p
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L)				0,001
Ortalama $\pm$ Standart sapma	$0,55 \pm 0,24$	$3,53 \pm 0,42$	$1,13 \pm 0,52$	(Grup 1-2: 0,002 Grup 1-3: 0,018 Grup 2-3: 0,002)
Ortanca	0,52	3,56	1,1	
Minimum - Maksimum	0,27-0,85	2,94-4,04	0,45-2,12	
TAK (mmol/L)				0,001
Ortalama $\pm$ Standart sapma	$0,16 \pm 0,07$	$0,49 \pm 0,2$	$0,71 \pm 0,11$	(Grup 1-2: 0,003 Grup 1-3: 0,002 Grup 2-3: 0,048)
Ortanca	0,17	0,46	0,76	
Minimum - Maksimum	0,03-0,27	0,25-0,8	0,53-0,83	
İnflamasyon				0,254
Ortalama $\pm$ Standart sapma	$1 \pm 0,58$	$1,57 \pm 0,79$	$1,14 \pm 0,38$	
Ortanca	1	1	1	
Minimum - Maksimum	0-2	1-3	1-2	
Ödem				0,120
Ortalama $\pm$ Standart sapma	$0,57 \pm 0,53$	$1,43 \pm 0,98$	$0,71 \pm 0,49$	
Ortanca	1	1	1	
Minimum - Maksimum	0-1	0-3	0-1	
Nekroz				1,000
Ortalama $\pm$ Standart sapma	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Ortanca	0	0	0	
Minimum - Maksimum	0-0	0-0	0-0	

Gruplardan elde edilen TAK ve TOS değerlerinin dağılımı Şekil 11 ve Şekil 12’de gösterildi.

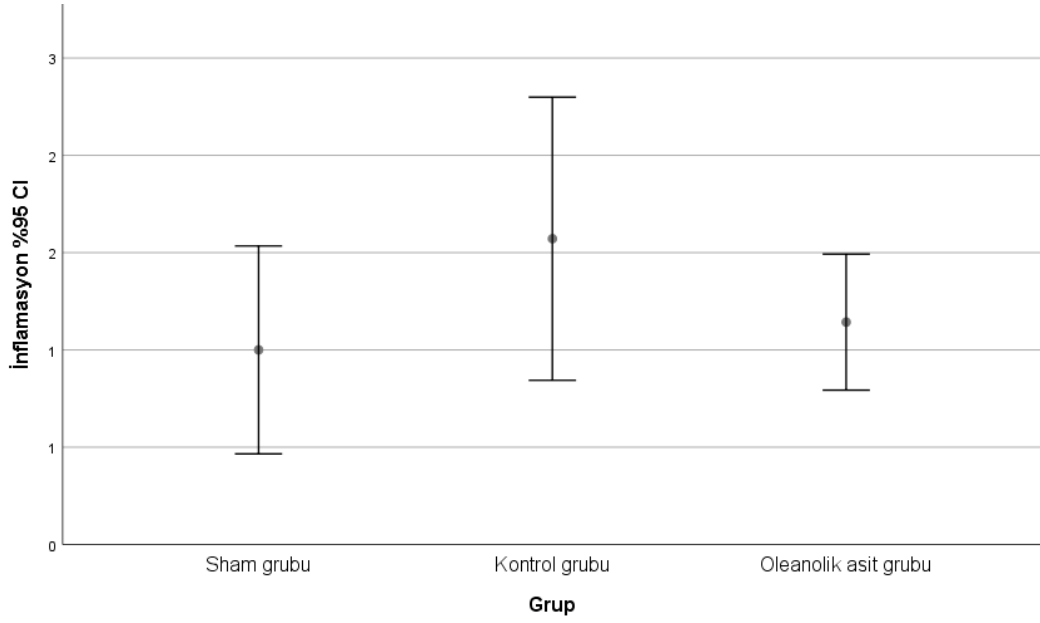


Şekil 11. Grupların TAK verilerinin karşılaştırılması

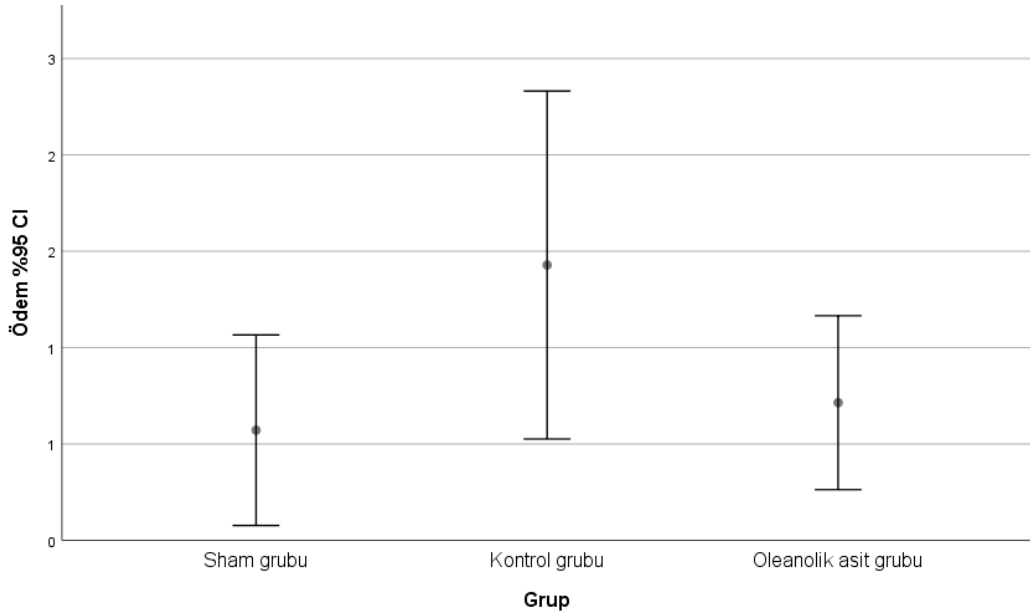


Şekil 12. Grupların TOS verilerinin karşılaştırılması

Gruplardan elde edilen enflamasyon ve ödem değerlerinin dağılımı Şekil 13 ve Şekil 14’te gösterildi.



Şekil 13. Grupların patolojik inceleme sonucunda elde edilen enflamasyon verilerinin karşılaştırılması



Şekil 14. Grupların patolojik inceleme sonucunda elde edilen ödem verilerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Oleanolik asit (3 β -hidroksi-olean-12-en-28-oik asit), doğal olarak birçok bitki türünde bulunan bir triterpenoid bileşigidir (65). Geleneksel Çin tıbbında uzun yıllardır kullanılmaktadır ve antioksidan, anti-enflamatuar, antitümör, antiviral, antidiyabetik, antihiperlipidemik, hepatoprotektif ve diğer birçok biyolojik faaliyet gösterdiği ortaya konmuştur (57). Bu nedenle, oleanolik asit, son yıllarda birçok tıbbi araştırmada ilgi odağı haline gelmiştir. Literatür incelendiğinde 1990'lı yıllarda oleanolik asit ile ilgili yaklaşık 40 araştırma yapılırken günümüzde bu sayı 300'ün üstüne çıkmıştır.

Oleanolik asit, birçok kanser hücresi hattında antitümör etkiler göstermektedir (86). Bu etkileri, kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ederek ve apoptozu artırarak gerçekleştirmektedir. Oleanolik asit ayrıca, kanser hücrelerinin invazyonunu ve metastazını da inhibe edebilmektedir. Bu nedenle, oleanolik asit kanser tedavisi için umut verici bir adaydır. Oleanolik asit, birçok virüs türüne karşı etkili bir antiviral ajandır (108). Oleanolik asit, virüs replikasyonunu inhibe ederek ve hücrenin antiviral savunmasını artırarak virüs enfeksiyonlarını önler. Bu nedenle, oleanolik asit, hepatit B ve C gibi virüslerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde umut verici bir aday olarak görülmektedir. Oleanolik asit, diyabet tedavisinde de kullanılabilir (99). Oleanolik asit, insülin duyarlılığını artırarak kan şekeri seviyelerini düşürmektedir. Oleanolik asit, lipit metabolizmasını düzenleyerek, kolesterol ve trigliserit seviyelerini düşürür. Bu özellikleri sayesinde, oleanolik asit, hiperlipidemi ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılabilir. Oleanolik asit, hepatoprotektif etkileri nedeniyle de incelenmiştir (66). Oleanolik asit, karaciğer hücrelerini korumakta ve karaciğer hasarını önlemektedir. Oleanolik asit, serbest radikalleri etkisiz hale getiren güçlü bir antioksidandır. Birçok çalışma, oleanolik asidin hücre zarını koruyarak ve oksidatif stresi azaltarak antioksidan etkilerini ortaya koymuştur (118). Bu özellikleri nedeniyle, oleanolik asitin birçok nörolojik hastalık, diyabet, kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi oksidatif stresin rol oynadığı durumlarda kullanılabileceği öne sürülmektedir. Oleanolik asit, birçok enflamatuar sitokin ve enzimi inhibe ederek enflamasyonu azaltmaktadır (124). Bu özellikleri sayesinde, oleanolik asit romatoid artrit, ülseratif kolit, astım, alerjik rinit ve diğer enflamatuar hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Oleanolik asit; anti-

enflamatuar, antitümör, antiviral, antidiyabetik, antihiperlipidemik ve hepatoprotektif etkileri nedeniyle birçok tıbbi araştırmada incelenmiştir ancak tüm bu etkilerin oleanolik asidin antioksidan etkileri sayesinde olduğu düşünülmektedir (118). Oleanolik asit, birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilir ve bu nedenle umut verici bir tıbbi ajandır. Ancak, daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır ve oleanolik asidin etkileri ve güvenliği daha fazla çalışılmalıdır. Biz de çalışmamızda oleanolik asitin cilt fleplerinin cerrahisinde gözlemlenen İRH'ye karşı koruyucu etkisini araştırdık.

Total antioksidan kapasite, bir biyolojik örnekteki antioksidanlar tarafından nötralize edilebilecek tüm serbest radikallerin miktarını ölçen bir testtir. TAK, antioksidanların varlığı ve aktivitesi hakkında bilgi vermektedir (131). Antioksidanlar, hücrelerdeki serbest radikalleri nötralize ederek oksidatif stresi azaltarak hücre hasarını önlemektedirler. Serbest radikaller, normal hücresel faaliyetler sırasında oluşurlar ve hücrelerin yaşlanması ve hasar görmesi gibi süreçlere katkıda bulunurlar. Ancak, aşırı miktarda serbest radikallerin varlığı oksidatif stresi artırarak DNA, protein ve lipitlerde hasar oluşmasına neden olabilir. İskemi reperfüzyon hasarı sırasında reaktif oksijen radikallerinin ve antioksidan moleküllerin önemli rolü düşünüldüğünde TAK ölçümünün İRH'nin şiddeti hakkında fikir verebileceği düşünülmektedir. TAK, bir biyolojik örnekteki antioksidan aktivitesinin bir ölçüsüdür ve genellikle plazma, serum veya dokularda ölçülmektedir. TAK testleri, antioksidan takviyelerinin etkinliğini değerlendirmek, amacıyla çalışmalarda kullanılmaktadır (132). Oleanolik asitin flep cerrahisindeki etkileri ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır ve bizim çalışmamız bu yönüyle pilot çalışmadır. Li ve arkadaşlarının yaptıkları hayvan çalışmasında oleanolik asidin antioksidan etkileri araştırılmıştır (133). Çalışmada TAK değeri ölçülme de SOD fonksiyonları ölçülmüştür ve oleanolik asit uygulanan hayvanlarda SOD aktivitesinin belirgin bir şekilde arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları hayvan çalışmasında oleanolik asit uygulaması ile antioksidan kapasitenin arttığı gösterilmiştir (62). Gao ve arkadaşlarının yaptıkları hayvan çalışmasında oleanolik asit uygulamasının SOD ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan etkinlik gösteren enzimlerin aktivitesinde artışa yol açtığı gözlenmiştir (118). Bu çalışmada direkt olarak TAK ölçülme de bu enzim aktivitelerinde meydana gelen artış gösterilerek oleanolik asidin antioksidan etkinliği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda en düşük

antioksidan aktivite sham grubunda idi. Kontrol grubunda ise antioksidan kapasite sham grubuna göre daha yüksek idi. En yüksek antioksidan kapasite ise oleanolik asit uygulanan grupta idi. Sham grubunda iskemi uygulanmadığından oksidatif strese artış olmaması ve antioksidan kapasitenin en düşük seviyede olması beklenmektedir. İskemi reperfüzyon hasarının ortaya çıktığı kontrol grubunda ise antioksidan kapasitede artış olduğu gözlenmiştir. Ancak en yüksek antioksidan kapasite intraperitoneal olarak oleanolik asit uygulanan grupta idi. Bu veri oleanolik asitin oksidan stresi antioksidan kapasitede artışa yol açarak engellediğini düşündürmektedir. Daha önce de yapılan çalışmalarda oleanolik asitin antioksidan kapasiteyi artırdığı gösterilmiştir (62, 118). Oleanolik asitin flep cerrahisinde gözlenen iskemi reperfüzyon durumunda antioksidan kapasiteyi artırması ile ilgili elde ettiğimiz veriler literatür verileri ile örtüşmektedir.

Reaktif oksijen türleri, vücudun solunum gibi normal oksijen kullanımı ve bazı hücre aracılı bağışıklık fonksiyonları tarafından sürekli olarak üretilmektedir (134). Normal hücre fonksiyonu için fizyolojik konsantrasyonlarda ROS gereklidir. Bununla birlikte, hücresel bileşenler tarafından etkili bir şekilde temizlenemezse fazla ROS; DNA (135), lipidler (136) ve proteinler (137) gibi birçok biyomolekül ile reaksiyona girerek membran lipidlerinin peroksidasyonunu başlatarak lipid peroksitlerin birikmesine yol açabilmektedir. Bunun sonucunda ise DNA ve proteinler hasar görmekte ve hastalık durumlarıyla sonuçlanmaktadır. Aslında, ROS 100'den fazla hastalıkla ilişkilendirilmiştir (138). İskemi reperfüzyon hasarında ise ROS miktarında artış olmakta ve oksidatif stres artmaktadır. Li ve arkadaşları oleanolik asiti intraperitoneal olarak uygulayarak oleanolik asit kullanımının oksidatif stres üzerine etkileri ile ilgili bir çalışma gerçekleştirmişlerdir (123). Çalışma sonucunda oleanolik asidin oksidatif stresi azalttığı sonucuna varılmıştır. Han ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hayvanlar üzerinde subaraknoid kanama modeli oluşturulmuş ve oleanolik asidin antioksidan etkileri incelenmiştir (139). Çalışma sonucunda oleanolik asit kullanılan hayvanlarda oksidatif stresin azaldığı ve nöronal apoptozun inhibe edildiği gözlenmiştir. Ayrıca oleanolik asidin antioksidan etkilerini Nükleer faktör eritroid ile ilişkili faktör 2/hem oksijenaz-1 yolunu aktive ederek gösterdiği gösterilmiştir. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları hayvan çalışmasında oleanolik asidin antioksidan kapasiteyi artırarak oksidan stresi azalttığı ve güçlü antioksidan etkinlik gösterdiği

sonucuna varılmıştır (62). Fernandez-Aparacio ve arkadaşları, yaptıkları derlemede oleanolik asidin oksidatif stres üzerine azaltıcı etkisini incelemişlerdir. Bu derlemede son 20 yıl içinde yayınlanan 5.000'den fazla makale incelenmiş ve oleanolik asidin oksidatif stres üzerine etkisini araştıran toplam 13 hayvan deneyi ve 3 hücre düzeyinde çalışmanın sonuçları sunulmuştur. Derlemenin sonucunda oleanolik asidin oksidatif stresi azalttığı sonucuna varılmıştır ve bunu IRS/PI3K/Akt/FoxO1 sinyal yolağını modüle ederek sağladığı belirtilmiştir (140). Çalışmamızda en yüksek oksidan stres İRH'ye maruz bırakılan kontrol grubunda idi. Oleanolik asit uygulanan grupta ise oksidan stres kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük idi. Bu durumun açıkça oleanolik asitin antioksidan etkilerinden kaynaklandığı düşünüldü. Antioksidan kapasitenin oleanolik asit uygulanan grupta en yüksek olması oksidan stresin neden oleanolik asit uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu açıklamaktadır. Oleanolik asit antioksidan kapasiteyi artırarak oksidatif streste azalma sağlamaktadır (62). Birçok çalışma oleanolik asitin oksidatif stresi azalttığı ile ilgili veriler sunmuştur (140). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz veriler de literatür verileri ile benzerlik göstermektedir.

İskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisi, bir dizi enflamatuvar yanıtın etkileşiminden kaynaklanmaktadır. İlk olarak, doku hipoksisine yanıt olarak, nötrofiller, monositler ve diğer immün hücrelerde artış oluşur. Bu durum, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, TNF- α ve IL-6) salınmasına neden olmaktadır. Bu sitokinler, vasküler endotel hücreleri ve diğer immün hücrelerdeki reseptörlere bağlanarak daha fazla nötrofil ve monosit göçüne neden olmaktadır. Bu hücreler daha sonra hasarlı dokulara migrasyon yapmakta ve burada enflamatuvar yanıtı devam ettirmektedirler. İskemi reperfüzyon hasarında uygulanan kesin bir tedavi olmamakla beraber tedavilerin odak noktası enflamasyonu baskılama üzerinedir (141, 142). Bu da enflamasyonun İRH'de ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Yan ve arkadaşlarının yaptıkları hücre çalışmasında oleanolik asidin hücre yapışmasını inhibe ederek ICAM-1 ekspresyonunu azalttığı ve enflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (143). Singh ve arkadaşlarının yaptıkları hayvan deneyinde enflamasyon ve ödem oluşturulan sıçanlarda oleanolik asidin hem enflamasyonu baskıladığı hem de ödemde azalma sağladığı gösterilmiştir (144). Lee ve arkadaşlarının yaptıkları hücresel çalışmada ise oleanolik asidin enflamasyonu azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir.

Çalışma sonucunda oleanolik asidin hiperpermeabiliteyi, hücre adhesyon moleküllerinin ekspresyonunu ve lökositlerin yapışmasını ve göçünü inhibe ederek anti-enflamatuar etkilere sahip olduğu ve böylece enflamasyon oluşturan hastalıklar için terapötik bir tedavi seçeneği olabileceği öne sürülmüştür (145). Bizim çalışmamızda gruplar arasında enflamasyon dereceleri açısından istatistiksel olarak fark olmasa da enflamasyon ve ödem değerleri iskemi uygulanmayan sham grubu ile oleanolik asit uygulanan grup ile benzer bulunmuştur. İskemi uygulanan kontrol grubunda ise hem enflamasyon hem de ödem diğer iki gruba göre belirgin derecede fazla bulunmuştur. Bu fark oleanolik asitin hem enflamasyonu hem de ödemi baskıladığını göstermektedir. Bu etkilerin özellikle oksidan stresin azalmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu moleküller anti-oksidan ve anti-enflamatuar etkiler gösterse de henüz insanlarda terapötik olarak kullanılamamaktadır. Bu durumun asıl sebebi yeterli suda çözünürlük ve biyoyararlanım ihtiyacını karşılayan oleanolik asit türevlerinin henüz üretilmemiş olmasıdır (146). Bu nedenle, sadece çözünürlük sorunlarının üstesinden gelmekle kalmayan, aynı zamanda terapötik etkilerini de iyileştirebilen yeni terpenoid türevlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Literatürde oleanolik asitin cilt fleplerinde gözlenen İRH’de koruyucu etkisine yönelik yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu konuda çalışmamız öncü çalışmadır. Çalışmamız randomize kontrollü ve prospektif bir çalışmadır. Bunlar çalışmanın güçlü yönleridir. Çalışmanın zayıf yönlerinde ise çalışmamızın klinik çalışmalar ile desteklenmeyen küçük bir hayvan grubunda yapılmış bir çalışma olması sayılabilir.

Elde ettiğimiz tüm veriler bir bütün olarak değerlendirildiğinde oleanolik asitin oksidatif stresi azalttığı ve antioksidan kapasiteyi artırdığı sonucuna varılmıştır. İnflamasyon ve ödem değerlerinde istatistiksel olarak farklılık bulunmasa da gözlemsel olarak oleanolik asit grubunda enflamasyon ve ödem değerleri sham grubuna daha yakın bulunmuştur. Bu verilerin tamamına göre oleanolik asit cilt dokusunu İRH’den koruyabilecek umut verici bir moleküldür. Çalışmamızda elde edilen sonuçların klinik, geniş çaplı randomize kontrollü çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir. Ancak henüz klinik olarak etkili bir oleanolik asit türevi geliştirilememiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- Oleanolik asit kullanımı, İRH'ye uğramış cilt fleplerinde oksidan seviyelerini azaltmaktadır.
- Oleanolik asit kullanımı, İRH'ye uğramış cilt fleplerinde antioksidan seviyelerini artırmaktadır.
- Oleanolik asit, İRH'ye uğramış cilt fleplerinde enflamasyon ve ödemi azaltmaktadır.

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler oleanolik asitin cilt fleplerinin cerrahisinde yaşanan İRH'de kullanımı konusunda umut vermektedir. Oleanolik asitin anti-oksidan etkinliği artırdığı ve oksidatif stresi azalttığı sonucuna varılmıştır. Ancak öncelikle terapötik olarak kullanılabilecek oleanolik asit türevlerinin üretilmesi ile geniş çaplı klinik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Elde ettiğimiz veriler klinik olarak doğrulandığı takdirde flep cerrahisinin geleceğinde oleanolik asitin kullanımı kendisine önemli bir yer bulacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Jancsó, G., et al., *Controlled reperfusion decreased reperfusion induced oxidative stress and evoked inflammatory response in experimental aortic-clamping animal model*. Clin Hemorheol Microcirc, 2016. **63** (3): p. 217-34.
2. Siemionow, M. and E. Arslan, *Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers*. Microsurgery, 2004. **24** (6): p. 468-75.
3. Carroll, W.R. and R.M. Esclamado, *Ischemia/reperfusion injury in microvascular surgery*. Head Neck, 2000. **22** (7): p. 700-13.
4. Lin, C., X. Wen, and H. Sun, *Oleanolic acid derivatives for pharmaceutical use: A patent review*. Expert opinion on therapeutic patents, 2016. **26** (6): p. 643-655.
5. Wei, J., et al., *Oleanolic acid arrests cell cycle and induces apoptosis via ROS-mediated mitochondrial depolarization and lysosomal membrane permeabilization in human pancreatic cancer cells*. Journal of Applied Toxicology, 2013. **33** (8): p. 756-765.
6. Shan, J.-z., et al., *Proliferation-inhibiting and apoptosis-inducing effects of ursolic acid and oleanolic acid on multi-drug resistance cancer cells in vitro*. Chinese journal of integrative medicine, 2011. **17**: p. 607-611.
7. Hao, B.-B., et al., *Oleanolic acid attenuates liver ischemia reperfusion injury by HO-1/Sesn2 signaling pathway*. Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International, 2016. **15** (5): p. 519-524.
8. Long, C., et al., *Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by oleanolic acid preconditioning via its antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activities*. Molecular Medicine Reports, 2016. **13** (6): p. 4697-4704.
9. Yang, J., et al., *Oleanolic acid improves the symptom of renal ischemia reperfusion injury via the PI3K/AKT pathway*. Urologia Internationalis, 2021. **105** (3-4): p. 215-220.
10. Du, Y. and K.M. Ko, *Effects of pharmacological preconditioning by emodin/oleanolic acid treatment and/or ischemic preconditioning on mitochondrial antioxidant components as well as the susceptibility to ischemia-reperfusion injury in rat hearts*. Mol Cell Biochem, 2006. **288** (1-2): p. 135-42.
11. Cho, S.O., et al., *Anti-ischemic activities of aralia cordata and its active component, oleanolic acid*. Arch Pharm Res, 2009. **32** (6): p. 923-32.
12. Shi, Y.J., et al., *Neuroprotective effects of oleanolic acid against cerebral ischemia-reperfusion injury in mice*. Exp Neurol, 2021. **343**: p. 113785.
13. Kerrigan, C.L. and M.A. Stotland, *Ischemia reperfusion injury: a review*. Microsurgery, 1993. **14** (3): p. 165-175.
14. Kuo, Y.-R., et al., *Nitrosoglutathione promotes flap survival via suppression of reperfusion injury-induced superoxide and inducible nitric oxide synthase induction*. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 2004. **57** (5): p. 1025-1031.

15. Kupiec-Weglinski, J.W. and R.W. Busuttil. *Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation*. Elsevier.
16. Yokoyama, K., et al., *Time course of post-ischemic superoxide generation in venous effluent from reperfused rabbit hindlimbs*. J Reconstr Microsurg, 1999. **15** (3): p. 215-21.
17. Pacher, P., A. Nivorozhkin, and C. Szabó, *Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol*. Pharmacol Rev, 2006. **58** (1): p. 87-114.
18. Cowled, P.A., et al., *Statins inhibit neutrophil infiltration in skeletal muscle reperfusion injury*. J Surg Res, 2007. **141** (2): p. 267-76.
19. Kiriş, I., et al., *Endothelin receptor antagonism by tezosentan attenuates lung injury induced by aortic ischemia-reperfusion*. Ann Vasc Surg, 2009. **23** (3): p. 382-91.
20. Tassiopoulos, A.K., et al., *Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities*. J Vasc Surg, 1997. **26** (4): p. 647-56.
21. Cowled, P. and R. Fitridge, *Pathophysiology of reperfusion injury*. Mechanisms of Vascular Disease: A Textbook for Vascular Specialists, 2020: p. 415-440.
22. Durán, W.N., et al., *Platelet-activating factor modulates leukocyte adhesion to endothelium in ischemia-reperfusion*. Microvasc Res, 1996. **51** (1): p. 108-115.
23. Sun, Z., et al., *Beneficial effects of lexipafant, a PAF antagonist on gut barrier dysfunction caused by intestinal ischemia and reperfusion in rats*. Dig Surg, 2000. **17** (1): p. 57-65.
24. Börjesson, A., et al., *Early treatment with lexipafant, a platelet-activating factor-receptor antagonist, is not sufficient to prevent pulmonary endothelial damage after intestinal ischaemia and reperfusion in rats*. Dig Liver Dis, 2002. **34** (3): p. 190-6.
25. Norwood, M.G., et al., *Interleukin 6 production during abdominal aortic aneurysm repair arises from the gastrointestinal tract and not the legs*. Br J Surg, 2004. **91** (9): p. 1153-6.
26. de Vries, D.K., et al., *Early renal ischemia-reperfusion injury in humans is dominated by IL-6 release from the allograft*. Am J Transplant, 2009. **9** (7): p. 1574-84.
27. De Perrot, M., et al., *Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. **165** (2): p. 211-5.
28. Sekido, N., et al., *Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8*. Nature, 1993. **365** (6447): p. 654-7.
29. Fujimura, M., et al., *Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 and blood-brain barrier disruption in mice after focal cerebral ischemia and reperfusion*. Brain Res, 1999. **842** (1): p. 92-100.
30. Asahi, M., et al., *Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of gene knockout and enzyme inhibition with BB-94*. J Cereb Blood Flow Metab, 2000. **20** (12): p. 1681-9.
31. Jain, S., G.R. Bicknell, and M.L. Nicholson, *Molecular changes in extracellular matrix turnover after renal ischaemia-reperfusion injury*. Br J Surg, 2000. **87** (9): p. 1188-92.

32. Ziswiler, R., et al., *Renal matrix metalloproteinase activity is unaffected by experimental ischemia-reperfusion injury and matrix metalloproteinase inhibition does not alter outcome of renal function*. *Exp Nephrol*, 2001. **9** (2): p. 118-24.
33. Barr, T.L., et al., *Blood-brain barrier disruption in humans is independently associated with increased matrix metalloproteinase-9*. *Stroke*, 2010. **41** (3): p. e123-8.
34. Roach, D.M., et al., *Up-regulation of MMP-2 and MMP-9 leads to degradation of type IV collagen during skeletal muscle reperfusion injury; protection by the MMP inhibitor, doxycycline*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2002. **23** (3): p. 260-9.
35. Cowled, P.A., et al., *Apoptotic cell death makes a minor contribution to reperfusion injury in skeletal muscle in the rat*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2001. **21** (1): p. 28-34.
36. Knight, K.R., et al., *Muscle cells become necrotic rather than apoptotic during reperfusion of ischaemic skeletal muscle*. *Int J Exp Pathol*, 1999. **80** (3): p. 169-75.
37. Szabó, A., et al., *Ischemic limb preconditioning downregulates systemic inflammatory activation*. *J Orthop Res*, 2009. **27** (7): p. 897-902.
38. Eberlin, K.R., et al., *Ischemic preconditioning of skeletal muscle mitigates remote injury and mortality*. *J Surg Res*, 2008. **148** (1): p. 24-30.
39. Walsh, S.R., et al., *Remote ischemic preconditioning for renal and cardiac protection during endovascular aneurysm repair: a randomized controlled trial*. *J Endovasc Ther*, 2009. **16** (6): p. 680-9.
40. Ali, Z.A., et al., *Remote ischemic preconditioning reduces myocardial and renal injury after elective abdominal aortic aneurysm repair: a randomized controlled trial*. *Circulation*, 2007. **116** (11 Suppl): p. I98-105.
41. Bøtker, H.E., et al., *Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial*. *Lancet*, 2010. **375** (9716): p. 727-34.
42. Zhao, Z.Q., *Postconditioning in reperfusion injury: a status report*. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2010. **24** (3): p. 265-79.
43. Kaur, S., A.S. Jaggi, and N. Singh, *Molecular aspects of ischaemic postconditioning*. *Fundam Clin Pharmacol*, 2009. **23** (5): p. 521-36.
44. Gyurkovics, E., et al., *Postconditioning of the lower limb--protection against the reperfusion syndrome*. *J Surg Res*, 2011. **169** (1): p. 139-47.
45. Sínay, L., et al., *Ischaemic postconditioning reduces peroxide formation, cytokine expression and leukocyte activation in reperfusion injury after abdominal aortic surgery in rat model*. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2008. **40** (2): p. 133-42.
46. Mockford, K.A., H.R. Girn, and S. Homer-Vanniasinkam, *Postconditioning: current controversies and clinical implications*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2009. **37** (4): p. 437-42.
47. Kalenka, A., et al., *Volatile anesthetics evoke prolonged changes in the proteome of the left ventricle myocardium: defining a molecular basis of cardioprotection?* *Acta Anaesthesiol Scand*, 2006. **50** (4): p. 414-27.

48. Symons, J.A. and P.S. Myles, *Myocardial protection with volatile anaesthetic agents during coronary artery bypass surgery: a meta-analysis*. Br J Anaesth, 2006. **97** (2): p. 127-36.
49. Bignami, E., et al., *Volatile anesthetics reduce mortality in cardiac surgery*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2009. **23** (5): p. 594-9.
50. Abu-Amara, M., et al., *Pharmacological interventions versus no pharmacological intervention for ischaemia reperfusion injury in liver resection surgery performed under vascular control*. Cochrane Database Syst Rev, 2009 (4): p. Cd007472.
51. Abu-Amara, M., et al., *Pharmacological interventions for ischaemia reperfusion injury in liver resection surgery performed under vascular control*. Cochrane Database Syst Rev, 2009. **2009** (4): p. Cd008154.
52. Laws, P.E., et al., *The role of statins in vascular disease*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2004. **27** (1): p. 6-16.
53. Cowled, P.A., et al., *Simvastatin plus nitric oxide synthase inhibition modulates remote organ damage following skeletal muscle ischemia-reperfusion injury*. J Invest Surg, 2008. **21** (3): p. 119-26.
54. Stalenhoef, A.F., *The benefit of statins in non-cardiac vascular surgery patients*. J Vasc Surg, 2009. **49** (1): p. 260-5.
55. Kertai, M.D., et al., *Association between long-term statin use and mortality after successful abdominal aortic aneurysm surgery*. Am J Med, 2004. **116** (2): p. 96-103.
56. Shi, Y.-j., et al., *Neuroprotective effects of oleanolic acid against cerebral ischemia-reperfusion injury in mice*. Experimental Neurology, 2021. **343**: p. 113785.
57. Debas, H.T., R. Laxminarayan, and S.E. Straus, *Complementary and Alternative Medicine. Disease Control Priorities in Developing Countries. The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank*. 2006.
58. Fai, Y.M. and C.C. Tao, *A review of presence of oleanolic acid in natural products*. Natura Proda Medica, 2009. **2**: p. 77-290.
59. Guinda, Á., M.C. Pérez-Camino, and A. Lanzón, *Supplementation of oils with oleanolic acid from the olive leaf (Olea europaea)*. European journal of lipid science and technology, 2004. **106** (1): p. 22-26.
60. Pollier, J. and A. Goossens, *Oleanolic acid*. Phytochemistry, 2012. **77**: p. 10-5.
61. Heinzen, H., et al., *Mass spectrometry of labelled triterpenoids: thermospray and electron impact ionization analysis*. Phytochemical Analysis, 1996. **7** (5): p. 237-244.
62. Wang, X., et al., *Antioxidant activities of oleanolic acid in vitro: possible role of Nrf2 and MAP kinases*. Chem Biol Interact, 2010. **184** (3): p. 328-37.
63. Wang, X., et al., *Oleanolic acid improves hepatic insulin resistance via antioxidant, hypolipidemic and anti-inflammatory effects*. Mol Cell Endocrinol, 2013. **376** (1-2): p. 70-80.
64. Janicsák, G., et al., *Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the Lamiaceae*. Biochemical systematics and ecology, 2006. **34** (5): p. 392-396.

65. Córdova, C., et al., *Oleanolic acid controls allergic and inflammatory responses in experimental allergic conjunctivitis*. PLoS One, 2014. **9** (4): p. e91282.
66. Zhao, H., et al., *Efficient synthesis and anti-fungal activity of oleanolic acid oxime esters*. Molecules, 2013. **18** (3): p. 3615-29.
67. Song, X., et al., *Anti-cancer activity of novel oleanolic acid methyl ester derivative in HeLa cervical cancer cells is mediated through apoptosis induction and reactive oxygen species production*. ||| Bangladesh Journal of Pharmacology, 2015. **10** (4): p. 896-902.
68. Yu, Z., et al., *Pharmacokinetics in Vitro and in Vivo of Two Novel Prodrugs of Oleanolic Acid in Rats and Its Hepatoprotective Effects against Liver Injury Induced by CCl₄*. Mol Pharm, 2016. **13** (5): p. 1699-710.
69. Suh, N., et al., *Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages*. Cancer Res, 1998. **58** (4): p. 717-23.
70. Wang, Y.-Y., et al., *Bardoxolone methyl (CDDO-Me) as a therapeutic agent: an update on its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties*. Drug design, development and therapy, 2014: p. 2075-2088.
71. Moreira, V.M., et al., *Novel oleanolic vinyl boronates: synthesis and antitumor activity*. Eur J Med Chem, 2013. **63**: p. 46-56.
72. Chen, J., et al., *Pentacyclic triterpenes. Part 3: Synthesis and biological evaluation of oleanolic acid derivatives as novel inhibitors of glycogen phosphorylase*. Bioorg Med Chem Lett, 2006. **16** (11): p. 2915-9.
73. Jäger, S., et al., *Pentacyclic triterpene distribution in various plants - rich sources for a new group of multi-potent plant extracts*. Molecules, 2009. **14** (6): p. 2016-31.
74. Vyas, N. and A. Argal, *Isolation and characterization of oleanolic acid from roots of Lantana camara*. Asian J Pharm Clin Res, 2014. **7** (Suppl 2): p. 189-191.
75. Xia, E.Q., et al., *Microwave-assisted extraction of oleanolic acid and ursolic acid from Ligustrum lucidum Ait*. Int J Mol Sci, 2011. **12** (8): p. 5319-29.
76. Shanmugam, M.K., et al., *Oleanolic acid and its synthetic derivatives for the prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical evidence*. Cancer Lett, 2014. **346** (2): p. 206-16.
77. Guinda, A., et al., *Pentacyclic triterpenoids from olive fruit and leaf*. J Agric Food Chem, 2010. **58** (17): p. 9685-91.
78. Onoja, E. and I.G. Ndukwe, *Isolation of oleanolic acid from chloroform extract of Borreria stachydea [(DC) Hutch. and Dalziel]*. J. Nat. Prod. Plant Resour, 2013. **3** (2): p. 57-60.
79. Zhou, C.-h., et al., *Effects of drying methods on the bioactive components in loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) flowers*. Journal of Medicinal Plants Research, 2011. **5** (14): p. 3037-3041.
80. Xia, E.Q., et al., *Ultrasound-assisted extraction of oleanolic acid and ursolic acid from Ligustrum lucidum Ait*. Ultrason Sonochem, 2012. **19** (4): p. 772-6.
81. Vetel, M.D., R.S. Chavan, and V.K. Rathod, *Microwave assisted extraction of ursolic acid and oleanolic acid from Ocimum sanctum*. Biotechnology and bioprocess engineering, 2014. **19**: p. 720-726.

82. Javed, S., et al., *Isolation, identification and antiproliferative activity of triterpenes from the genus Monotheca A. DC.* Records of Natural Products, 2016. **10** (6): p. 782-787.
83. Verma, S.C., et al., *Rapid extraction, isolation, and quantification of oleanolic acid from Lantana camara L. Roots using microwave and HPLC-PDA techniques.* Acta Chromatographica, 2013. **25** (1): p. 181-199.
84. Gohari, A.R., et al., *Isolation and Quantificative Analysis of Oleanolic Acid from Satureja mutica Fisch. & CA Mey.* Journal of Medicinal Plants, 2009. **8** (29): p. 65-69.
85. Khoza, B.S., et al., *The Effect of Temperature on Pressurised Hot Water Extraction of Pharmacologically Important Metabolites as Analysed by UPLC-qTOF-MS and PCA.* Evid Based Complement Alternat Med, 2014. **2014**: p. 914759.
86. Wang, X., et al., *Inhibitory effect of oleanolic acid on hepatocellular carcinoma via ERK-p53-mediated cell cycle arrest and mitochondrial-dependent apoptosis.* Carcinogenesis, 2013. **34** (6): p. 1323-30.
87. Fulda, S. and D. Vucic, *Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer.* Nat Rev Drug Discov, 2012. **11** (2): p. 109-24.
88. Liese, J., B.A. Abhari, and S. Fulda, *Smac mimetic and oleanolic acid synergize to induce cell death in human hepatocellular carcinoma cells.* Cancer Lett, 2015. **365** (1): p. 47-56.
89. Amara, S., M. Zheng, and V. Tiriveedhi, *Oleanolic Acid Inhibits High Salt-Induced Exaggeration of Warburg-like Metabolism in Breast Cancer Cells.* Cell Biochem Biophys, 2016. **74** (3): p. 427-34.
90. Mu, D.W., et al., *Oleanolic acid suppresses the proliferation of human bladder cancer by Akt/mTOR/S6K and ERK1/2 signaling.* Int J Clin Exp Pathol, 2015. **8** (11): p. 13864-70.
91. Wang, B., H. Wang, and Z. Yang, *MiR-122 inhibits cell proliferation and tumorigenesis of breast cancer by targeting IGF1R.* PLoS One, 2012. **7** (10): p. e47053.
92. Zeisel, M.B., S. Pfeffer, and T.F. Baumert, *miR-122 acts as a tumor suppressor in hepatocarcinogenesis in vivo.* J Hepatol, 2013. **58** (4): p. 821-3.
93. Zhao, X., M. Liu, and D. Li, *Oleanolic acid suppresses the proliferation of lung carcinoma cells by miR-122/Cyclin G1/MEF2D axis.* Mol Cell Biochem, 2015. **400** (1-2): p. 1-7.
94. Ren, Y., et al., *Solid inclusion complexes of oleanolic acid with amino-appended β -cyclodextrins (ACDs): Preparation, characterization, water solubility and anticancer activity.* Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2016. **69**: p. 68-76.
95. American Diabetes, A., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus.* Diabetes care, 2006. **29** (1): p. S43.
96. Szoke, E. and J.E. Gerich, *Role of impaired insulin secretion and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus.* Compr Ther, 2005. **31** (2): p. 106-12.
97. Soumya, D. and B. Srilatha, *Late stage complications of diabetes and insulin resistance.* J Diabetes Metab, 2011. **2** (9): p. 1000167.
98. Oyenih, A.B., et al., *Antioxidant strategies in the management of diabetic neuropathy.* Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 515042.

99. Sung, H.Y., et al., *Oleanolic acid reduces markers of differentiation in 3T3-L1 adipocytes*. Nutr Res, 2010. **30** (12): p. 831-9.
100. Taylor, R., *Insulin resistance and type 2 diabetes*. Diabetes, 2012. **61** (4): p. 778-9.
101. Hanley, A.J., et al., *Prediction of type 2 diabetes using simple measures of insulin resistance: combined results from the San Antonio Heart Study, the Mexico City Diabetes Study, and the Insulin Resistance Atherosclerosis Study*. Diabetes, 2003. **52** (2): p. 463-9.
102. Li, M., et al., *Oleanolic Acid Attenuates Insulin Resistance via NF- κ B to Regulate the IRS1-GLUT4 Pathway in HepG2 Cells*. Evid Based Complement Alternat Med, 2015. **2015**: p. 643102.
103. Carvalho, E., et al., *Insulin resistance with low cellular IRS-1 expression is also associated with low GLUT4 expression and impaired insulin-stimulated glucose transport*. Faseb j, 2001. **15** (6): p. 1101-3.
104. Li, Y., et al., *Oleanolic acid supplement attenuates liquid fructose-induced adipose tissue insulin resistance through the insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in rats*. Toxicol Appl Pharmacol, 2014. **277** (2): p. 155-63.
105. Nyakudya, T.T., et al., *Early Postnatal Administration Of Oleanolic Acid Attenuates The Development Of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease In Fructose Fed Adult Female Rats*. The FASEB Journal, 2017. **31**: p. 887-2.
106. Halimi, S., et al., *Combination treatment in the management of type 2 diabetes: focus on vildagliptin and metformin as a single tablet*. Vasc Health Risk Manag, 2008. **4** (3): p. 481-92.
107. Bailey, T., *Options for combination therapy in type 2 diabetes: comparison of the ADA/EASD position statement and AACE/ACE algorithm*. Am J Med, 2013. **126** (9 Suppl 1): p. S10-20.
108. Naqvi, S.B. and A.J. Collins, *Infectious complications in chronic kidney disease*. Adv Chronic Kidney Dis, 2006. **13** (3): p. 199-204.
109. O'Connor, S.M., C.E. Taylor, and J.M. Hughes, *Emerging infectious determinants of chronic diseases*. Emerg Infect Dis, 2006. **12** (7): p. 1051-7.
110. Kim, S., et al., *Antimicrobial action of oleanolic acid on Listeria monocytogenes, Enterococcus faecium, and Enterococcus faecalis*. PLoS One, 2015. **10** (3): p. e0118800.
111. Wang, J., et al., *Antibacterial oleanane-type triterpenoids from pericarps of Akebia trifoliata*. Food Chem, 2015. **168**: p. 623-9.
112. Jiménez-Arellanes, A., et al., *Ursolic and oleanolic acids as antimicrobial and immunomodulatory compounds for tuberculosis treatment*. BMC Complement Altern Med, 2013. **13**: p. 258.
113. Joy Hoskeri, H., et al., *In vivo prophylactic effects of oleanolic acid isolated from chloroform extract of Flaveria trinervia against ethanol induced liver toxicity in rats*. Arch Pharm Res, 2012. **35** (10): p. 1803-10.
114. Gutiérrez-Rebolledo, G.A., et al., *Hepatoprotective properties of oleanolic and ursolic acids in antitubercular drug-induced liver damage*. Asian Pac J Trop Med, 2016. **9** (7): p. 644-51.
115. Yew, W.W. and C.C. Leung, *Antituberculosis drugs and hepatotoxicity*. Respiriology, 2006. **11** (6): p. 699-707.

116. Tostmann, A., et al., *Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review*. J Gastroenterol Hepatol, 2008. **23** (2): p. 192-202.
117. Bajpai, V.K., I.A. Rather, and S. Shukla, *Oxidative stress: role of natural antioxidant compounds*. Microbes in Food and Health, 2016: p. 65-76.
118. Gao, D., et al., *Antidiabetic and antioxidant effects of oleanolic acid from Ligustrum lucidum Ait in alloxan-induced diabetic rats*. Phytother Res, 2009. **23** (9): p. 1257-62.
119. Ejtahed, H.S., et al., *Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients*. Nutrition, 2012. **28** (5): p. 539-43.
120. Ghafoor, K., *Antioxidant properties*. Agro FOOD Ind. Hi Tech, 2014. **25** (2).
121. Akash, M.S., K. Rehman, and S. Chen, *Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus*. J Cell Biochem, 2013. **114** (3): p. 525-31.
122. Fernandes, J.V., et al., *The role of the mediators of inflammation in cancer development*. Pathol Oncol Res, 2015. **21** (3): p. 527-34.
123. Murdoch, J.R. and C.M. Lloyd, *Chronic inflammation and asthma*. Mutat Res, 2010. **690** (1-2): p. 24-39.
124. Yang, E.J., et al., *Anti-inflammatory activities of oleanolic acid on HMGB1 activated HUVECs*. Food Chem Toxicol, 2012. **50** (5): p. 1288-94.
125. Andersson, U. and K.J. Tracey, *HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection*. Annu Rev Immunol, 2011. **29**: p. 139-62.
126. Lee, W., et al., *Anti-inflammatory effects of oleanolic acid on LPS-induced inflammation in vitro and in vivo*. Inflammation, 2013. **36** (1): p. 94-102.
127. Elamm, C., D. Fairweather, and L.T. Cooper, *Pathogenesis and diagnosis of myocarditis*. Heart, 2012. **98** (11): p. 835-40.
128. Martín, R., et al., *Oleanolic acid modulates the immune-inflammatory response in mice with experimental autoimmune myocarditis and protects from cardiac injury. Therapeutic implications for the human disease*. J Mol Cell Cardiol, 2014. **72**: p. 250-62.
129. Bednarczyk-Cwynar, B., et al., *The analgesic and anti-inflammatory effect of new oleanolic acid acyloxyimino derivative*. Eur J Pharm Sci, 2012. **47** (3): p. 549-55.
130. Erel, O., *A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status*. Clinical biochemistry, 2005. **38** (12): p. 1103-1111.
131. Erel, O., *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*. Clinical biochemistry, 2004. **37** (4): p. 277-285.
132. Sies, H., *Total antioxidant capacity: appraisal of a concept*. The Journal of nutrition, 2007. **137** (6): p. 1493-1495.
133. Li, W.F., et al., *Oleanolic acid protects against diabetic cardiomyopathy via modulation of the nuclear factor erythroid 2 and insulin signaling pathways*. Experimental and Therapeutic Medicine, 2017. **14** (1): p. 848-854.

134. Gülçin, İ., et al., *Antioxidant activity of lignans from fringe tree (Chionanthus virginicus L.)*. European Food Research and Technology, 2006. **223**: p. 759-767.
135. Marnett, L.J., *Oxyl radicals and DNA damage. carcinogenesis*, 2000. **21** (3): p. 361-370.
136. Ylä-Herttuala, S., *Oxidized LDL and Atherogenesis a*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1999. **874** (1): p. 134-137.
137. Er, S., Levine RL. *Protein oxidation*. Ann NY Acad Sci, 2000. **899**: p. 191-208.
138. Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge, [1] *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview*. Methods in enzymology, 1990. **186**: p. 1-85.
139. Han, Y., et al., *Oleanolic acid reduces oxidative stress and neuronal apoptosis after experimental subarachnoid hemorrhage by regulating Nrf2/HO-1 pathway*. Drug Development Research, 2022. **83** (3): p. 680-687.
140. Fernández-Aparicio, Á., et al., *Potential Molecular Targets of Oleanolic Acid in Insulin Resistance and Underlying Oxidative Stress: A Systematic Review*. Antioxidants, 2022. **11** (8): p. 1517.
141. Hausenloy, D.J. and D.M. Yellon, *Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target*. The Journal of clinical investigation, 2013. **123** (1): p. 92-100.
142. Lin, L., X. Wang, and Z. Yu, *Ischemia-reperfusion injury in the brain: mechanisms and potential therapeutic strategies*. Biochemistry & pharmacology: open access, 2016. **5** (4).
143. Yan, S.-L., et al., *Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in four human liver cancer cell lines*. Toxicology in vitro, 2010. **24** (3): p. 842-848.
144. Singh, G.B., et al., *Anti-inflammatory activity of oleanolic acid in rats and mice*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1992. **44** (5): p. 456-458.
145. Lee, W., et al., *Anti-inflammatory effects of oleanolic acid on LPS-induced inflammation in vitro and in vivo*. Inflammation, 2013. **36**: p. 94-102.
146. Kashyap, D., et al., *Ursolic acid and oleanolic acid: pentacyclic terpenoids with promising anti-inflammatory activities*. Recent patents on inflammation & allergy drug discovery, 2016. **10** (1): p. 21-33.

8. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel bilgiler

Adı- Soyadı : Mustafa Melih CANLI
Doğum Yeri ve Tarihi :
Uyruğu :
Medeni Durumu :
Askerlik Durumu :
İletişim Adresi ve Telefonu :
Yabancı Dili : İngilizce

II. Eğitimi

1. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği Uzmanlık Eğitimi (2018 – 2023)
2. Università degli Studi di Napoli Federico II (2013-2014)
3. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (2013-2014)
4. Çukurova üniversitesi Tıp Fakültesi (Tıp) (2008 – 2014)
5. Seyhan Rotary Anadolu Lisesi (2003 – 2007)
6. Mimar Kemal İlköğretim Okulu (1995 – 2003)

III. Unvanları

1. Tıp Doktoru – 2014

IV. Mesleki deneyimi

1. Hatay Acil Sağlık Hizmetleri 112 birimi (2014-2017)

V. Üye olduğu bilimsel kuruluşlar

1. International Society of Aesthetic Plastic Surgery (ISAPS)
2. Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Derneği (TPRECD)
3. Estetik Plastik Cerrahi Derneği (EPCD)
4. Rekonstrüktif Mikrocerrahi Derneği

VI. Bilimsel ilgi alanları

VII. Bilimsel etkinlikleri

a. Aldığı burslar

b. Ödüller

c. Projeleri

d. Verdiği konferans ya da seminer

Flepler ve Graftler– 2019

Plastik Cerrahide Deri Tümörleri– Ağustos 2019

Alt Ekstremitte Yaralanmaları ve Tedavi Seçenekleri --2020

Üst Ekstremitte Defekt Onarımları-- 2021

Alt çene Anomalileri ve Ortognatik Cerrahi – Şubat 2022

Baş ve Boyun Defektlerinde Kullanılan Bölgesel ve Lokal Flepler – 2022

e. Katıldığı paneller

VIII. Diğer bilgiler

1. Çocuklarda ileri yaşam desteği programı uygulayıcı eğitimi (03.05.2015 -- 05.05.2015)
2. Acil sağlık hizmetleri personelinin adli vakalarda maddi delillere yaklaşım eğitimi (16.02.2016)
3. Basınç Yaraları Önleme ve Bakım Sempozyumu (30.11.2018)
4. 2. Ankara Onkoplastik ve Rekonstrüktif Meme Cerrahisi (27.04.2019)
5. Kronik Yara Kursu (8.11.2019 – 9.11.2019)
6. METÜM Günleri (28.11.2019 – 29.11.2019)
7. 14.Ulusal Yara Kongresi (12.12.2019 - 15.12.2019)
8. Estetik Plastik Cerrahi Derneği 24. Ulusal Kongresi (10.01.2020 - 11.01.2020)
9. 5. Plastik Cerrahi Asistan Temel Eğitim Kursu (22.01.2020 - 25.01.2020)
10. Flep Diseksiyon Kursu (25.01.2020 - 26.01.2020)
11. FUE Europe Watch, Learn and Perform Hair Transplantation Course (18.10.2020 - 19.10.2020)

12. 6. Ulusal Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Sempozyumu (04.02.2021 – 07.02.2021)
13. 43.TPRECD Ulusal Kurultayı (10.11.2021 - 14.11.2021)
14. Closed Atraumatic Rhinoplasty Course 3, İstanbul (20.11.2021 – 24.11.2021)
15. Gülhane Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı (29.11.2021 - 10.12.2021)
16. Rekonstrüktif Mikrocerrahi Derneği Deneyim Paylaşım Kursu (20.12.2021 – 24.12.2021)
17. Üst Ekstremité Ortak Kış Sempozyumu (06.01.2022 – 09.01.2022)
18. Botti's Best Face Interactive Facial Rejuvenation Course (27.05.2022 - 29.05.2022)
19. 3. Gülhane Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı (29.11.2021 – 10.12.2021)
20. Bella Eyes Courses (14.05.2022 - 15.05.2022)
21. The International Society of Aesthetic and Plastic Surgery World Congress (20.10.2022 - 24.10.2022)
22. Closed Atraumatic Rhinoplasty Course 4, Facelift & Necklift İstanbul (26.11.2022 - 27.11.2022)

9. EKLER

Ek-1: TEZ KONUSU ONAY FORMU, HAKEM ONAYLARI VE DEKANLIK ONAYI

TEZ KONUSU ONAY FORMU (V.3)	
Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:	MUSTAFA MELİH CANLI 05535531798 drmelihcanli@gmail.com
Uzmanlık Dalı:	Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi
Eğitim Kurumu:	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	11.07.2018
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	11.07.2023
Program Mentorisinin Adı Soyadı:	Nesrin Tan BAŞER

*Tez Danışmanının Adı Soyadı:

Ünvanı: Prof.Dr.

Uzmanlık Dalı: Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi

Telefon: 05052385546

E-Posta: drntanbaser@gmail.com

Nesrin Tan BAŞER

*Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün 05.02.2020 tarihli ve 1544 sayılı yazısına istinaden aynı disiplinden ikinci bir tez danışmanı teklif edilmemelidir.

*Araştırma/Tez Konusu (Study Title)

Oleolinik asit'in sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde iskemi reperfüzyon hasarına etkisi

1-Araştırma Sorusu (Research problem)

Sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) kullanılarak oluşturulan iskemi reperfüzyon modelinde, preoperatif ve postoperatif olarak uygulanacak olan Oleolinik asit'in reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi var mıdır? Oleolinik asit uygulamasının flep sağ kalımındaki rolü nedir? Antioksidan özellikleri bilinen Oleolinik asit'in , reperfüzyon hasarı ile dokuda oluşacak oksidan ve antioksidan moleküller üzerine etkisi nedir?

2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale)

Oleanolik asit (3 β -hydroxyolean-12-en-28-oic acid), 1620'den fazla bitki çeşidinden izole edilen biyolojik olarak aktif pentasiklik bir triterpenoid bileşendir. Oleanolik asit gibi konjuge olmamış tripenoidler sıklıkla bitkilerin su kaybını önleyen ve patojenlere karşı birincil savunma bariyeri görevi yapan

epikutikular vakslarında bulunmaktadır. Örneğin; oleanolik asitler zeytin yaprakları üzerinde neredeyse mantar saldırılarına karşı fiziksel bariyer görevi gören saf kristal yapıdadırlar (Pollier ve Goossens, 2012). Çin'de, oleanolik asit on yıllar boyunca tezgah üstü hepatoprotektif ilaç olarak kullanılmıştır (Lin vd., 2016). Oleanolik asit ve türevleri, çoklu hastalıklar için farmasötik kullanımlarını destekleyen çok çeşitli biyolojik aktiviteler sunmaktadır (Lin vd., 2016). 1-Bütanol ve etil asetat içinde çözünür ve etanol, 2-propanol, metanol, asetonla daha az çözünen, uçucu olmayan açık sarı bir bileşiktir (Liu ve Wang 2007, Fan vd., 2011)

Oleanolik asitin belirgin anti-tümör etkilerine sahip olduğu ve kültürde oral epidermoid karsinoma ve kolorektal kanser HT29 hücre hattı gibi birçok hücre hattında belirgin sitotoksik aktivite sergilediği bilinmektedir (Lee vd., 2004). Bundan başka Tokuda vd. (1986), yaptıkları çalışmada oleanolik asidin anti kanser aktivitesi, başlangıçta in vivo koşullar altında fare cilt kanseri hücrelerinin tümörünün teşvik edilmesiyle tarifi etmişlerdir. Bu modelde, oleanolik asitin, fare cilt kanseri hücrelerinde çalışılan birkaç genin düzensiz gen ekspresyonunun inhibisyonu yoluyla kimyasal olarak indüklenen karsinogenezi inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Bir başka çalışmada, oleanolik asitin kronik oral uygulanması (haftada beş kez, dört hafta boyunca), sıçanlarda kolon karsinogenezisini azalttığını; oleanolik asitin tümörün başlatılmasını inhibe edebildiğini göstermiştir (Oguro vd., 1998; Furtado vd., 2008).

Literatürde daha önce oleanolik asit'in cilt dokusunda iskemi reperfüzyon hasarına etkisini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

3-Araştırma amacı (Objectives)

İskemi, doku veya organa lokal kan akımının kesilmesi ile oluşan kompleks bir olaydır. Reperfüzyon ise, iskemi sonrası oluşan hasarın geri dönmesi için kan akımının tekrar sağlanması olarak tanımlanır. Reperfüzyonun, oksijen desteğini yeniden sağlaması, metabolik artık ürünleri uzaklaştırması, hücre için gerekli besinleri taşıması beklenir. Bazen ise durum beklendiği gibi olmaz ve reperfüzyon sonrası paradoks olarak doku hasarını derinleştiren etkiler ortaya çıkar. Buna iskemi reperfüzyon hasarı denir.

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi açısından bakıldığında ezilme yaralanmaları, sirküler yanıklar ve travmatik amputasyonlar sebebiyle dokular iskemiye maruz kalmakta; fasiyotomiler, revaskülarizasyon ve replamasyon operasyonları sayesinde revaskülarizasyon sağlanmaktadır. Yumuşak doku defektlerini onarmak veya vücudun herhangi bir bölgesinin şekil veya fonksiyonel rekonstrüksiyonu için yapılan serbest doku nakillerinde ve son zamanlarda popülerlik kazanan uzuv ve yüz transplantasyonu operasyonlarında da operasyon doğası gereği dokular belirli iskemi ve reperfüzyon süreçlerine maruz kalmaktadır.

İskemi reperfüzyon hasarı ise doku sağ kalınlarını etkileyerek, operasyon başarısını düşürmektedir.

Çalışmamızın amacı, chrysin uygulamasının cilt dokusunda iskemi reperfüzyon hasarına etkilerini ortaya koymaktır.

4-Hipotez (Hypothesis)

Sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) kullanılarak oluşturulan iskemi reperfüzyon modelinde, preoperatif ve postoperatif olarak uygulanacak olan olealinik asit'in iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu etkisi mevcuttur. olealinik asit uygulaması flep sağkalımını artırmakta, bu etki oksidan moleküllerin azalması ve antioksidant moleküllerin artışı ile meydana gelmektedir.

5-Araştırma türü/tasarım (Study Design)

Deneysel çalışma

6- Araştırma yeri (Study Setting/ Location)

Hastane tabanlı, tek merkez, laboratuvar çalışması

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

7- Araştırmaya katılanlar/denekler (Study Population)

Çerinde araştırma yapılacak olan denekler SBÜ Gülhane Hayvan Deneyleri Yere Etik Kurulu onayı alındıktan sonra sağlanacak olan toplamda 15 adet 250-300 gr Wistar-Albino ratan oluşacaktır. Denekler, 3 gruba ayrılacak, 1.grup sham grup, 2.grup kontrol grubu (İskemi Reperfüzyon (I/R) grubu), 3.grup 6 mg/kg/gün olealinik asit ile tedavi (I/R+ 10 mg/kg/gün olealinik asit grubu,

8- Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenleri (Primary and Secondary Outcome) 7. günün sonunda ölçümü yapılan 3 adet biyokimyasal parametre birincil sonuç değişkenleri, 14. günün sonunda elde edilen 3 adet histopatolojik parametre ve flepteki sağ kalım yüzdesi ikincil sonuç değişkenleri olacaktır.

9- Araştırma Süreçleri (Study procedures)

- 1- Deney hayvanları 3 ayrı gruba ayrılacaktır.
- 2- Grup 1, sham grubu olarak değerlendirilecek, inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) eleve edildikten sonra, iske mi ve ilaç uygulanmadan yerine iade edilecektir.
- 3- Grup 2, kontrol grubu olarak değerlendirilecek, inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) eleve edildikten sonra, 8 saat iske mi ve 12 saat reperfüzyona maruz bırakılacaktır. Kontrol grubundaki 5 rata, işlem öncesi 7 gün ve işlem sonrası 7 gün oral gava j ile SF (%0,9 NaCl) verilecektir.
- 4- Grup 3, tedavi grubu olarak değerlendirilecek, inferior epigastrik arter cilt ada flebi (kasık flebi) eleve edildikten sonra, 8 saat iske mi ve 12 saat reperfüzyona maruz bırakılacaktır. Tedavi grubundaki 5 rata, işlem öncesi 7 gün ve işlem sonrası 7 gün oral gava j ile oleal onik asit (6 mg/kg/gün) verilecektir.
- 5- Bütün ratlardan girişim sonrası yirmi birinci saatte flep dokusundan alınacak biyopsi materyali homojenat haline getirilecek, uygun santrifü j sonrasında, MDA (malondialdehit), TAS (total antioksidan seviyesi) ve TNF-a seviyeleri çalışılacaktır. MDA ve TNF-a seviyeleri ELISA ile çalışılırken, TAS seviyesi kalorimetrik method ile ölçülecektir.
- 6- İşlem sonrası 7 günde histopatolojik analizler için flep dokusundan biyopsiler alınacaktır. Histopatolojik incelemelerde vaskularizasyon, enflamasyon (PMNL sayımı ile), nekroz, ülserasyon ve fibroblast aktivitesi (kollajen yoğunluğu ile) analiz edilecektir.
- 7- İşlem sonrası 7 günde hayvanlar sakrifiye edilecektir. Flep dokusunun canlı ve nekrotik alanları, fotoğraflanarak ve transparan asetat kağıdına izdüşümü alınarak yapılacak, bilgisayar ortamına aktarılarak sağ kalım oranı belirlenecektir.
- 8- Sağ kalım oranları, histopatolojik ve biyokimyasal analizlere ait veriler ile veri seti oluşturulacaktır.
- 9- Elde edilen verilerin anlamlılığını değerlendirilecek ve literatür ile karşılaştırılması yapılacaktır.

10- Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power)

Çalışmaya toplamda 15 (onbes) adet 250-300 gr Wistar-Albino sıçanın dahil olması hedeflenmiştir.

G*Power Versiyon 3.1.9.4 paket programı ile tek yönlü ANOVA (sabit etkili) için örneklem hesabı yapılmıştır. Tip1 hata 0,05 ve Güç 0,80 olarak, etki büyüklüğü katsayısı Cohen f büyük düzeyde (0,60) ve grup sayısı 3 alındığında toplam örneklem sayısı 15 elde edilmiştir. Her bir gruba 5 denek düşmektedir.

10- İstatistiksel yöntemler (Statistical methods)

Tanımlayıcı istatistik olarak sürekli veriler için ortalama ve standart sapma (ort $\pm$ ss), sıralı kategorik veriler için ortanca ve çeyrekler arası aralık (medyan-IQR) kullanılacaktır. Sürekli verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edilecektir.

Normal dağılan sürekli değişkenlerin grup ortalamaları tek yönlü ANOVA ile karşılaştırılacaktır. Post-hoc testi olarak Bonferroni düzeltmesi kullanılacaktır. Sıralı kategorik verilerin dağılımları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirilecektir. Post-hoc testi olarak Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanılacaktır.

IBM SPSS 21 (IBM SPSS Inc, Chicago, IL) paket programı ile veriler analiz edilecektir. İstatistiksel anlamlılık seviyesi 0,05 olarak alınacaktır.

12-Etik Öngörü (Ethical Considerations)

Çalışmamızda yapılacak cerrahi işlemler ratları yaşamsal tehlikeye atmamakla beraber, uygulanacak oral ilaçlar da deneklerde yaşamsal tehlike yaratmaz. Çalışma sonunda denekler telef edilmeyecektir. Çalışmamız denek hayvan etik kurallarına uygun planlanmıştır.

13- Anahtar kelimeler (Key words)

olestenik üst, iskemi reperfüzyon, kasık flebi, inferior epigastrik arter cilt flebi

Tez konusu onay formu açıklamaları

*Araştırma Tez Konusu (Study Title): Araştırmayı yeterince tanımlayıcı olmalı. Yapılacak çalışmanın tanımlayıcı özellikleri yer almalıdır.

1- Araştırma sorusu (Research problem): Araştırmamız yapılmasına neden olacak soru cümlesi yazılmalıdır. Sorular "neden ve nasıl" içermelidir, hedefe odaklanmış ve özgün olmalıdır. Soru basit bir evet/hayır ile açıklanamamalıdır.

2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale): Araştırma sorusuna yönelik özet literatür bilgisi ve bu araştırmanın yapılmasını haklı kılacak gerekçe yazılmalıdır.

3-Araştırma amacı (Objectives): Spesifik amaçlar ve ve hedefler belirlenmelidir. Bunlar tanımlama, karşılaştırma, uyum/benzerlik kontrolü yapmak, ilişkileri açıklamak veya benzeri amaçlar olabilir. Amaçlar bu gibi kelimelerle bitirilmelidir.

4-Hipotez (Hypothesis): Araştırma sorusuna varsayım önermesidir. Araştırmada doğruluğu test edilecektir. Bir varsayım içermeli, probleme çözüm önermeli, deney ve gözlemlere sınanmaya açık olmalı, eldeki verilerle uyumlu ve bunları açıklayıcı olmalıdır. Yeni gerçeklerin ön görüşüne olanak sağlamalıdır.

5-Araştırma türü/tasarım (Study Design): Gözlemsel/deneysel, tanımlayıcı/analitik, vaka serisi/kohort/olgu-kontrol/kesitsel, kontrollü/kontROLSÜZ, randomize/randomize olmayan, prospektif/retrospektif vb. araştırma türü tanımlanmalıdır.

6- Çalışmanın yeri (Study Setting/ Location): Araştırmanın yapıldığı yer yazılmalıdır. Hastane tabanlı/toplum tabanlı, tek merkez/çok merkez, laboratuvar çalışması gibi.

7-Çalışmaya katılanlar/denekler (Study Population): Üzerinde araştırma yapılacak deney ve kontrol gruplarının özellikleri, nereden bulunacakları, nasıl seçilecekleri belirtilmelidir. Gruplar yapılırsa grupların eşleştirilme ve seçim kriterlerini belirtiniz. Keza dahil edile ve hariç tutulma kriterleri yazılmalıdır.

8-Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenleri (Primary and Secondary Outcome): Birincil sonuç değişkeni araştırma sorusuna cevap aranılacak, sonuç göstergesidir/ölçüttür. Bu aynı zamanda örnek/popülasyon büyüklüğü, güç hesabı ve hipotezi test etmede kullanılacaktır. Bir adet veya en fazla iki adet önceden belirlenmiş olmalıdır. Birincil sonuç değişkeni çeşitli şekillerde ölçülebilir. Örnek: iki seçeneği değişken (caesarean/no caesarean, blood loss ≥ 500 mL/blood loss < 500 mL), sürekli değişken (e.g. weight - kg, blood loss - mL); skor (pain - mild, moderate, severe); olayın ortaya çıkışı (survival), and sayılar (number of infections, number of events occurring). Daha sonra ikincil sonuç değişkenleri yazılmalıdır. İkincil sonuç değişkeni, birincil sonuç değişkenleri içinde gruplanmış unsurlardan biri olabilir ya da tamamlayıcı bilgi sağlayabilecek bir başka değişken olabilir.

9-Araştırma Süreçleri (Study procedures): Araştırmanın nasıl olacağı, aşama aşama belirtilmelidir. Katılımcıların çalışmaya alınma yöntemi, grupların oluşturulması, randomizasyon yapıp yapılmayacağı, randomizasyon yapılacak ise detaylı açıklaması yazılmalıdır. Katılımcılara/deneklere hangi müdahalelerin, incelemelerin ve testlerin yapılacağı, tam anlaşılır detayda belirtilmelidir. Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenlerini ölçmek için hangi araçların (anket formları, tıbbi cihazlar, göstergeler, skalalar, vb.) kullanılacağı açık bir şekilde belirtilmeli ve bu araçların geçerliliği (validity) hakkında bilgi verilmelidir.

10-Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power): Araştırmada örnek büyüklüğü hesaplanmalıdır. Örnek büyüklüğü, kabul edilen bir istatistiksel güçte, hipotezin test edilmesi için gerekli asgari sayıdır.

11- İstatistiksel yöntemler (Statistical methods): Araştırma sorusu cevaplandırılmalı, hipotez test edilmeli ve değerlendirmeler için kullanılacak istatistiksel yöntemler belirtilmelidir.

12-Etik Öngörü (Ethical Considerations): Araştırmanın Helsinki deklarasyonu, İyi Klinik Uygulama (Good Clinical Practice) ilkelerine uygunluğu ve denek araştırma etik kuralları ile çelişmeyeceği belirtilmelidir.

13- Anahtar kelimeler (Key words): MeSH (Medical Subject Heading) uyumlu olmalıdır. En az 3, en fazla 5 kelimeden oluşmalıdır.

TEZ KONUSU HAKEM DEĞERLENDİRME FORMU

Uzmanlık Öğrencisi Adı Soyadı	MUSTAFA MELİH CANLI
Uzmanlık Öğrencisi TC Kimlik No	17647166020
Kurumu	SBÜ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ A.D.
Uzmanlık Alanı	PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
*Araştırma/Tez Konusu	DEĞERLENDİRME
1. Tez sorusu	Uygundur
2. Arka Plan ve Gerekçe	Uygundur
3. Araştırmanın amacı	Uygundur
4. Hipotez	Uygundur
5. Araştırma türü/tasarım	Uygundur
6. Araştırmanın gerçekleştirileceği yer	Uygundur
7. Araştırmanın uygulanacağı popülasyon	Uygundur
8. Birincil ve ikincil sonuçların noktaları	Uygundur
9. Araştırma Basamakları	Uygundur
10. Örneklem büyüklüğü ve istatistiksel güç	Uygundur
11. İstatistiksel yöntemler	Uygundur
12. Etik Konular	Uygundur
13. Anahtar kelimeler	Uygundur
Hakemin kararı	(.../...) Tez konusu uygundur. (.....) Tez konusu açıklanan eksiklikler giderilmesi şartı ile uygundur. Tekrar değerlendirmeye gerek yoktur. (.....) Açıklanan eksiklikler giderildikten sonra tez konusu tekrar değerlendirilmelidir. (.....) Tez konusu uygun değildir. Yeni tez konusu önerisi gönderilmelidir.
HAKEM ADI SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Burak Yılmaz
KURUMU	
TARİH	

*Bilgisayar ortamında doldurulmalıdır.

**Lütfen değerlendirmelerinizi açıklayınız.

TEZ KONUSU HAKEM DEĞERLENDİRME FORMU

Uzmanlık Öğrencisi Adı Soyadı	MUSTAFA MELİH CANLI
Uzmanlık Öğrencisi TC Kimlik No	17647166020
Kurumu	SBÜ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ A.D.
Uzmanlık Alanı	PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
*Araştırma/Tez Konusu	DEĞERLENDİRME
1. Tez sorusu	Uygundur
2. Arka Plan ve Gerekçe	Uygundur
3. Araştırmanın amacı	Uygundur
4. Hipotez	Uygundur
5. Araştırma türü/tasarım	Uygundur
6. Araştırmanın gerçekleştirileceği yer	Uygundur
7. Araştırmanın uygulanacağı popülasyon	Uygundur
8. Birincil ve ikincil sonuçlanım noktaları	Uygundur
9. Araştırma Basamakları	Uygundur
10. Örneklem büyüklüğü ve istatistiksel güç	Uygundur
11. İstatistiksel yöntemler	Uygundur
12. Etik Konular	Uygundur
13. Anahtar kelimeler	Uygundur
Hakemin kararı	(... <u>2</u>) Tez konusu uygundur. (.....) Tez konusu açıklanan eksiklikler giderilmesi şartı ile uygundur. Tekrar değerlendirmeye gerek yoktur. (.....) Açıklanan eksiklikler giderildikten sonra tez konusu tekrar değerlendirilmelidir. (.....) Tez konusu uygun değildir. Yeni tez konusu önerisi gönderilmelidir.
HAKEM ADI SOYADI	Dr. Öğ. Yr. Doç. Dr. Mustafa Ergen
KURUMU	
TARİH	

*Bilgisayar ortamında doldurulmalıdır.

**Lütfen değerlendirmelerinizi açıklayınız.



T.C.
ANKARA VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI GÜLHANE EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
GÜLHANE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
25.05.2022 16:52 - E-50687469 - 799 - 3912



00166064917

melih

Sayı : E-50687469-799
Konu : GTF Tez İnceleme ve Değerlendirme
Akademi Kurul Kararları.

DAĞITIM YERLERİNE

İlgi: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığının 18.05.2022 tarihli ve 129760 (Gülhane Barkod No: 00165890970) sayılı yazısı.

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığının "GTF Tez İnceleme ve Değerlendirme Akademi Kurul Kararları" konulu yazısı ilgi ile gönderilmiş olup, yazımız ekindedir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

Op.Dr. Ömer Faruk TANER
Başhekim a.
Başhekim Yardımcısı

Ek: İlgi Yazı.

Dağıtım:

Mikrobiyoloji ve Kl.Mikr.Kliniğine
Aile Hekimliğine
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hstl.Kliniğine
İç Hstl.Kliniğine
Adli Tıp Polikliniğine
Acil Tıp Kliniğine
Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Kliniğine
Plastik, Estetik ve Rekonstrüktif Crh.Kliniğine
Göz Hstl.Kliniğine
Kulak Burun Boğaz Hstl.Kliniğine

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: 26489679-6421-466c-8a6b-8f6b41fdec3
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Emrah Mah. Gülhane Cad. 06010

Keçiören/Ankara Personel Birimi (Yazı İşleri)

Telefon: Faks No: +90 312 304 21 00

e-Posta: nurten.muhacir@saglik.gov.tr İnternet Adresi: nurten.muhacir@saglik.gov.tr

Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/saglik-bakanligi-cbys>

Bilgi için: Nurten MUHACİR

Veri Hazırlama ve Kontrol İşl.

Telefon No: (0 312) 304 21 41



				İncelenmesi ve HPV 16 pozitif, HPV 18 pozitif, HPV 16 ve 18 pozitif hastalarla karşılaştırılması.	
63	Dr.Gizem SARI	Ankara SUAM	Şehir	İnflamatuvar bağırsak hastalığının aktivasyon ve remisyon dönemlerinde trigliserid/glukoz , trigliserid /hdl ve homa -ir değerlerinin incelenmesi	Kabul edildi.
64	Dr.Şans ODABAŞI AYDIN	Ankara SUAM	Şehir	Üreme Çağında Polikistik Over Sendromlu ve Sağlıklı Kadınların Serum Clusterin Düzeylerinin İncelenmesi	Kabul edildi.
65	Dr.Sera KAYHAN	Ankara SUAM	Şehir	Akne Vulgaris tanımlı kadın hastalarda oral izotretinoin ile oral drospirenon-etinilestradiol kullanımlarının klinik etkinliğinin retrospektif değerlendirilmesi	Kabul edildi.
66	Dr.Burak ASLUM	Ankara SUAM	Şehir	Tip-2dm hastalarında kognitif fonksiyonların MMSE(mini mental test) ile değerlendirilmesi ve hastalığın evresine göre karşılaştırılması	Kabul edildi.
67	Dr.Aylin Babuççu	Ankara SUAM	Şehir	Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen diyabetik anne bebeklerinin yatış nedenlerinin ve izlemde eşlik eden sorunların değerlendirilmesi	Kabul edildi.
68	Dr. Esra ONHAN TEKÖĞLU	Ankara Atatürk Sanatoryum SUAM		Supraklaviküler ve İnfraklaviküler brakiyal plexus bloğu uygulanan hastalarda perfüzyon indeks artışının blok başarısı postoperatif Vizüel analog ağrı skoru (VAS) ve motor blok geri dönüş süresine etkisinin incelenmesi	Kabul edildi.
69	Dr. Esra DOĞAN	Ankara Atatürk Sanatoryum SUAM		Preoperatif dönemde ultrasonoğrafik (USG) dil kökü ölçümlerinin profaren yapı ölçümlerine oranın zorhava yolu için prediktif değeri	Kabul edildi.
70	Dr. Kemal ŞİBAR	Ankara SUAM	Sağlık	Asetabulum posterior kolon kırıkları osteosentezinde talorlu kanülü vida kullanımı iyi bir alternatif olabilir mi?	Kabul edildi.
71	Dr. Yahya Melih IŞIK	Ankara SUAM	Sağlık	Ototok konduktiyonel Serumun (ACS) Siçan arka bacaklarında tendon kesisi ile oluşturulmuş deneysel modelde tendon adezyonuna etkisi	Kabul edildi.
72	Dr.Dilara ZORLU İNCÜCÜK	Ankara SUAM	Şehir	Sosyal Reçetelendirme: Türkiye'de Geriatrik Popülasyon İçin Yapılan Sosyal Müdahalelerin 1.Basamak Sağlık Hizmetleriyle Entegrasyonu İçin Bir Öneri	Kabul edildi.
73	Dr.Merve Didem EŞKİN	Ankara SUAM	Şehir	Endometriozis hastalarında serum ve peritoneal sıvı MASP-3, Adipsin,properdin ve kompleman faktör H düzeylerinin değerlendirilmesi	Kabul edildi.
74	Dr.Metin BOZKAYA	Ankara SUAM	Şehir	İnsidental paratiroidektomi olgularında peroperatif paratiroid bazı oto-transplantasyonunun postoperatif hipokalsemi gelişimine etkisinin araştırılması	Kabul edildi.
75	Dr.Mehlika KUŞVURAN KURTAY	Ankara SUAM	Şehir	Türkiye'de peripreatif dönemde görev alan doktorların hasta kan yönetme yaklaşımlarının değerlendirilmesi	Kabul edildi.
76	Dr.Bilge Büşra ÖZEK	Ankara SUAM	Şehir	Postmastektomi Lenfödem Hastalarında Komplet Dekonjestif Tedavi (KDT) nin Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT)'nin ve Düşük Yoğunluk Lazer Tedavisi (LLLT) nin Ekstremitte Hacmi, Ağrı Şiddeti, Fonksiyonel Durum ve Yaşam Kalitesi Üzerine Etkileri	Kabul edildi.
77	Dr.Mustafa Melih CANLI	GTF Plastik ve Rekonsrütif AD		Oleolilik asidin siçan inferior enigastrik arter cild ada flehinde iskemik reperpüzyon hasırına etkisi	Kabul edildi.
78	Dr.Mammad JAFAROV	GTF Plastik ve Rekonsrütif AD		Siçan tendon yara iyileşmesi modelinde topikal ve sistemik uygulanan çoklu doymamış yağ asitlerinin tendon iyileşmesi ve peritendinoz adezyonlar üzerine etkileri	Kabul edildi.
79	Dr.Yusuf RESULZADE	GTF Plastik ve Rekonsrütif AD		Kontakt raç modelinde topikal calendula officinalis ve matricaria recutita'nın yara iyileşmesi üzerine etkileri	Kabul edildi.

Ek-2: GÜLHANE HADYЕК KARARI

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

ETİK ONAYI GEÇERLİLİK SÜRESİ: 36 ay

KARAR TARİHİ : 22.09.2022

KARAR SAYISI : 22/29

SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi ABD Başkanlığından Prof.Dr. Nesrin BAŞER'in 08.09.2022 tarihli ve ETİK 2022-20 no'lu "Oleanolik Asit'in Sıçan İnferior Epigastrik Arter Cilt Ada Flebinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi" isimli çalışması Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 22.09.2022 tarih ve 2022-08 sayılı toplantıda incelenmiştir.

Araştırmadaki Deney Hayvanlarının Tür, Sayı ve kullanım amaçları projenin deney hayvanlarına ilişkin yönleri SBÜ-HADYЕК Gülhane Yönergesinin 10 uncu maddesinde belirtilen "Hayvan Deneyleri ile ilgili Etik İlkeler" dikkate alınarak hazırlandığı saptanmıştır.

SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi ABD Başkanlığından Prof.Dr. Nesrin BAŞER'in 08.09.2022 tarihli ve ETİK 2022-20 no'lu "Oleanolik Asit'in Sıçan İnferior Epigastrik Arter Cilt Ada Flebinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi" isimli çalışma Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi'ne göre Etik Kurul'un 22.09.2022 tarih ve 2022-08 sayılı toplantısında değerlendirilmiş ve 21 adet rat ile yapılması oy birliği / oy çokluğu ile uygun / uygun değildir / kararı verilerek kabul edilmiştir. / kabul edilmemiştir.

Başkan

Başkan Yardımcısı

Üye

Cüneyt GÖKSOY
Prof.Dr.

Aynur ZEKVAŞER
Prof.Dr.

İlker TAŞKİT
Prof.Dr.

Üye

Üye

Üye

Metin ŞENÇİMEN
Prof.Dr.

Meun AKINCI
Prof.Dr.

Kemal ŞİMŞEK
Doç.Dr.

Üye

Üye

Üye

Ercan ÇALIŞKAN
Doç.Dr.

Okan Ali AKSOY
Dr. Öğr.Üyesi

Hakan GENG
Dr. Öğr.Üyesi

Üye

Sivil Üye

Sivil Toplum Kuruluşu
Dernek Üyesi

Ayşe Sabriye JILHAN
Dr. Öğr.Üyesi

Betül ÇUĞ ÇULHACI

Erkan AKYOL

Ek-3: GÜLHANE HADYЕК ONAYI



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
ANKARA

GÜLHANE HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	: 22.09.2022
Toplantı Sayısı	: 2022-08
Etik Kurul Kayıt Numarası	: ETİK- 2022/20
Karar Numarası	: 22/29
Araştırma Yürütücüsü	: Prof.Dr. Nesrin BAŞER
Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı	: Rat-21 Adet
Etik Onayı Geçerlilik Süresi	: 36 Ay

SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi ABD Başkanlığından Prof.Dr. Nesrin BAŞER'in, 08.09.2022 tarihli ve ETİK 2022-20 no'lu "**Oleanolik Asit'in Sıçan Inferior Epigastrik Arter Cilt Ada Flebinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi**" isimli çalışması Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **22.09.2022 tarih ve 2022-08 sayılı** toplantıda incelenmiştir.

Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 08.09.2022 tarihli ve ETİK 2022-20 no'lu "**Oleanolik Asit'in Sıçan Inferior Epigastrik Arter Cilt Ada Flebinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi**" isimli çalışma Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi'ne göre Etik Kurul'un **22.09.2022 tarih ve 2022-08 sayılı** toplantısında değerlendirilmiş ve **21 adet rat ile** yapılması **oy birliği / oy çokluğu** ile uygun/ ~~uygun değildir~~/ kararı verilerek kabul edilmiştir. / ~~kabul edilmemiştir~~.

Prof.Dr. Cüneyt GÖKSOY
Gülhane Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı

ÇALIŞMA EKİBİ :
Dr. M. Melih CANLI
Dr. Simay ERŞAHİN

Ek-4: TÜEK TEZ ONAYI



T.C.
ANKARA VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI GÜLHANE EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ - GÜLHANE EAH TIP TA
UZMANLIK EĞİTİM KURULU (TUEK)
14/10/2022 09:56 - E-50687469 - 799 - 433



00173917991

Sayı : E-50687469-799
Konu : Araştırma İzni (Dr. M. Melih
CANLI)

Sayın : Dr. M. Melih CANLI
(Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği Birimi)

“Oleanolik Asit’in Sıçan İnförior Epigastrik Arter Cilt Ada Flebinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi” başlıklı tez çalışmanızı hastanemizde uygulama talebiniz Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Tıpta Uzmanlık Eğitimi Kurulunun 13.10.2022 tarih ve 20 no’lu toplantısında görüşülerek kabul edilmiştir.

Klinik Araştırmalar Yönetmeliğinin 23. maddesine istinaden etik kurul onayı alındıktan sonra araştırmaya başlanabilir. Aynı Yönetmeliğin 1. Bendi uyarınca araştırmanın bütçesinin karşılanmasından araştırmacılar sorumludur.

Gereğini rica ederim.

e-imzalıdır.

Prof. Dr. Cevdet Serkan GÖKKAYA
Başhekim

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: 91494211-3c66-418d-af8c-a89584316b5b — Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/saglik-bakanligi-ebys>
General Dr. Tevfik Sağlam Cd. Etik ARGE/TUEK Birimi Bilgi için: Dilek MENAY

Telefon: Faks No:

e-Posta: dilek.menay@saglik.gov.tr İnternet Adresi:
<http://www.gulhaneah.saglik.gov.tr/>

Veri Hazırlama ve Kontrol İşlt.

Telefon No: (0 312) 304 61 05

