

TC
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

STREPTOZOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN
FARELERDE SEVOFLURAN VE FULLERENOL C60'IN ALT
EKSTREMİTE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA KALP
VE AKCİĞER ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ender Örnek

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Metin Alkan

ANKARA

TEMMUZ 2023

TC
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**STREPTOZOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN
FARELERDE SEVOFLURAN VE FULLERENOL C60'IN ALT
EKSTREMİTE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA KALP
VE AKCİĞER ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ender Örnek

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Metin Alkan

ANKARA

TEMMUZ 2023

KABUL

**TC
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma Prof. Dr. Ömer Kurtipek, Prof. Dr. Metin Alkan ve Prof. Dr. Yusuf Ünal'dan oluşan jüri tarafından 10.07.2023 tarihinde uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca engin bilgilerinden yararlandığım başta tez danışmanın Prof. Dr. Metin Alkan olmak üzere tüm değerli hocalarım, uzman abla ve abilerime,

Beş yıllık eğitim hayatını çekilebilir kılan çok sevgili asistan arkadaşlarıma,

Yaşamım boyunca beni destekleyerek bugünlere gelmemi sağlayan çok kıymetli annem, babam, kız kardeşim, abim ve diğer tüm akrabalarıma,

Kendisini tanıdığım andan itibaren bir insan olarak tamamlanma hissini bana yaşatan, en zor zamanlarda en yüce fedakarlıkları yaparak beni ayakta tutan sevgili eşim Şenay Örnek'e,

Hayatımın tek anlamı olan, kelimelere dökemeyeceğim kadar çok sevdiğim canım oğlum Teoman'a,

Sonsuz saygı, sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ender Örnek

İÇİNDEKİLER

KABUL	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İskemi Reperfüzyon Hasarı	2
2.1.1. İskemi	2
2.1.2. Reperfüzyon	4
2.1.3. Patofizyoloji	5
2.1.4. Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı	19
2.1.5. Kalp İskemi Reperfüzyon Hasarı	21
2.2. Sevofluran	23
2.3. Fullerenler	25
2.4. Diabetes Mellitus (Diyabet)	30
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	34
3.1. Denek Seçimi	34
3.2. Kullanılan Yöntem	34
3.3. Deney	35
3.3.1. Deney Grupları	37
3.4. Biyokimyasal İnceleme	42
3.5. Histolojik İnceleme	44

3.6. İstatistiksel Analizler	47
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ	83
7. KAYNAKLAR	84
8. ÖZET	104
9. SUMMARY	108
10. ÖZ GEÇMİŞ	112

KISALTMALAR

- ADP:** Adenozin Difosfat
AIF: Apoptoz İndükleyici Faktör
AKS: Akut Koroner Sendrom
ALI: Akut Akciğer Hasarı
AMI: Akut Miyokard Enfarktüsü
AMP: Adenozin Monofosfat
ARDS: Akut Respiratuar Distres Sendromu
ATP: Adenozin Trifosfat
CABG: Koroner Arter Bypass Greft
CaMK: Kalsiyum Kalmodulin Protein Kinaz
CO: Karbonmonoksit
DNA: Deoksiribonükleik Asit
ERK: Ekstraselüler Sinyalle Düzenlenen Kinaz
HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
HOO: Hidroperoksil
H₂S: Hidrojen Sülfid
ICAM: İntraselüler Adezyon Molekülü
JNK: Jun N-terminal Kinaz
LIRI: Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı
MAPK: Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
MODS: Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu
MRI: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

O₂⁻: Süperoksit

OH⁻: Hidroksil

ONOO⁻: Peroksinitrit

ONOOH: Peroksinitrik Asit

PAF: Platelet Aktive Edici Faktör

PCI: Perkütan Koroner Girişim

PKC: Protein Kinaz C

PVR: Pulmoner Vasküler Direnç

RIPK: Reseptör Etkileşimli Serin/Treonin Protein Kinaz

RNS: Reaktif Nitrojen Türleri

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

TGF: Transforme Edici Büyüme Faktörü

TNF: Tümör Nekroz Faktör

TRAIL: TNF İlişkili Apoptoz İndükleyici Ligand

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deney Grupları	35
Tablo 2. Histolojik Derecelendirme	46
Tablo 3. Fare kalp dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]	53
Tablo 4. Fare akciğer dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]	58
Tablo 5. Fare kalp dokusu oksidan durum bulguları [Ort $\pm$ SH]	60
Tablo 6. Fare akciğer dokusu oksidan durum bulguları [Ort $\pm$ SH]	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Mitokondride ROS oluşum yolları	9
Şekil 2. İskemi reperfüzyon hasarının mekanizmasına genel bakış	19



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubu H&E boyalı kalp doku kesiti mikrografları	50
Resim 2. D grubu H&E boyalı kalp doku kesiti mikrografları	50
Resim 3. DİR grubu H&E boyalı kalp doku kesiti mikrografları	51
Resim 4. DİR-S grubu H&E boyalı kalp doku kesiti mikrografları	52
Resim 5. FUL-DİR grubu H&E boyalı kalp doku kesiti mikrografları	52
Resim 6. FUL-DİR-S grubu H&E boyalı kalp doku kesiti mikrografları	53
Resim 7. Kontrol grubu H&E boyalı akciğer doku kesiti mikrografları	55
Resim 8. D grubu H&E boyalı akciğer doku kesiti mikrografları	55
Resim 9. DİR grubu H&E boyalı akciğer doku kesiti mikrografları	56
Resim 10. DİR-S grubu H&E boyalı akciğer doku kesiti mikrografları	56
Resim 11. FUL-DİR grubu H&E boyalı akciğer doku kesiti mikrografları	57
Resim 12. FUL-DİR-S grubu H&E boyalı akciğer doku kesiti mikrografları	57

1. GİRİŞ

Dokularda herhangi bir nedenle kan akımının durması sonucu meydana gelen geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz doku hasarı iskemi adını almaktadır. İskeminin giderilmesi amacıyla dokuya kan akımının tekrar sağlanması, var olan durumu kötüleştirerek reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır.

Sebebi ne olursa olsun gelişen iskemi reperfüzyon hasarı sonucunda iskeminin gerçekleştiği dokunun etkilenmesinin yanında, oluşan inflamatuvar mediyatörler ve reaktif oksijen türleri sebebiyle uzak organlarda da hasar meydana gelebilmektedir. Diyabet gibi toplumda yaygın olarak görülen hastalıklar da damar yapısını bozarak bu hasarı kötüleştirmektedir.

Karmaşık patofizyolojik süreçlerin rol aldığı bu durumla alakalı çalışmaların sayısı son yıllarda artarak hem bu etkilenimin nedenleri hem de bunu önlemenin yolları araştırılmıştır. İskemi reperfüzyon hasarını önlemek için potansiyel olarak kullanılabilecek moleküllerle alakalı literatürde pek çok çalışma vardır. Bu çalışmayla, son yıllarda iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu özelliği yaygın olarak araştırılan fullerenlerin uzak organ hasarındaki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Abdominal aortaya yapılan girişimler sırasında özellikle risk altında olan alt ekstremitelerde gelişen iskemi reperfüzyon hasarı, akciğer ve kalp gibi uzak organlarda da doku hasarı oluşturabilmektedir. Bu çalışmada farelerde alt ekstremitelerde iskemi reperfüzyon hasarı oluşturularak fullerenol C₆₀'ın akciğer ve kalp üzerindeki koruyucu etkilerinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.1.1. İskemi

İskemi; belirli bir dokudaki kan akışının azalması veya tamamen kesilmesi sonucu dokunun oksijene erişiminin engellenmesine bağlı olarak gelişen doku hasarına verilen isimdir.

Arter ve ven kavramları ile bunların farklı işlevlerini ilk ortaya koyan isim milattan önce 4. yüzyılda Antik Yunanistan'da yaşayan Praxagoras olmuştur. Arterlerin kalpten başlayarak hava taşıdığını, venlerin ise karaciğerden kaynaklanıp kan taşıdığını öne sürmüştür (1).

Milattan önce 5. ve 4. yüzyılda yaşayan Hipokrat, vücutta birbiriyle uyum içinde olan kan, mukus, sarı safra ve siyah safra olmak üzere dört farklı sıvının bulunduğu 4 sıvı kuramını ortaya koymuş, bu sıvılardaki dengesizliklerin hastalıklara yol açtığını belirtmiştir (2).

Milattan önce 4. yüzyılda Aristoteles, kalpten çıkan büyük bir damarı gözlemlemiş ve buna aorta adını vermiştir (3).

Milattan önce 3. yüzyılda yaşayan Erasistratus tüm organların sinir, arter ve ven olmak üzere üç kanala sahip olduğunu belirtmiş; kalbin arter ve venlerin kaynağı olduğunu, arterlerin normalde havayla dolu olup kanın ise venlerde dolaştığını öne sürmüştür (4,5)

Milattan sonra ikinci yüzyılda yaşamış olan Galen, arterlerin daha önceden inanılanın aksine havayla değil, 'ruh' ile aşılanmış kanla dolu olduğunu ifade etmiş, arter ve venlerin görünmez arteriovenöz bağlantı veya anastomozlar sayesinde birbiriyle ilişkili olduğunu söyleyerek kapiller dolaşıma ışık tutmuştur (6,7).

İbn-i Sina, yüzyıllarca tıp biliminin temel taşı olarak kullanılan Tıbbın Kanunu (El-Kanun fi't-Tıb) adlı kitabında aortanın vücuttaki en büyük arter olduğunu belirtmiş, aortanın dallarını tanımlayarak inen aortanın iki uç dal ile sonlandığını ortaya koymuştur (8).

16. yüzyılda yaşayan William Harvey arter ve venlerde aynı kanın dolaştığını belirtmiştir. Daha önceden inanılanın aksine vücutta dolaşan kanın yenilen gıdalardan oluşturulup tüketilmediğini, damarlarda sürekli bulunduğunu ortaya koymuştur (9).

1661 yılında Marcello Malpighi kurbağa akciğerleri üzerinde çalışırken kapilleri gözlemlemiş, böylece dolaşım sistemindeki eksik parçayı tamamlamıştır (10).

Arteriyel tıkanıklıklarla ilgili yazılı ilk metinler milattan önce 2600'lü yıllara dayanmaktadır. Bu devirde yaşayan Huang Ti kanın damar içinde pıhtılaşması durumunda yararlı bir şekilde akmayı durduracağını, ayakta pıhtılaşan kanın ise ağrı ve üşümeye sebep olacağını söyleyerek arteriyel trombozlara değinmiştir (11).

Milattan sonra 6. yüzyılda Bizanslı hekim Aetius anevrizmalarla ilgili çalışmalar yapmış, anevrizmatik bir brakial arterden pıhtı oluşumunu çıkarmıştır (12,13).

İskemi terimi ilk olarak 19. yüzyılın başlarında, arteriyel kan akımının obstrüksiyonuna bağlı olarak dokulara yetersiz kan teminini belirtmek için kullanılmıştır. Bu tarihten itibaren çalışmalar özellikle iskemi–reperfüzyon mekanizmalarını anlamaya ve bunu önlemeye yönelik olarak yapılmıştır. Son 30 yılda bildirilen bulgular özellikle etkileyici olmuştur ve iskemi sırasında meydana gelen moleküler, hücresel, dokuya özgü ve sistemik olaylara ilişkin anlayışı büyük ölçüde artırmıştır (14).

2.1.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon, belirli bir süre iskemiye maruz kalan doku ya da organların kan akışının tekrar sağlanarak oksijenlenmesi olayıdır.

Reperfüzyon nispeten yeni bir kavram olup konuyla alakalı ilk çalışmalar 1960'lı yıllarda yapılmış, doku kanlanması tekrar sağlanmasıyla oluşan sistemik şok ve asidoz tablosu deklemping şoku olarak adlandırılmıştır (15).

Reperfüzyon kavramı ise ilk kez 1975 yılında Cerra ve ark. tarafından kullanılmıştır (16).

İskemik bir organa kan akışının tekrar sağlanması geri dönüşümsüz hücresel hasarı önlemek için gerekli olsa da reperfüzyon doku hasarını, iskeminin tek başına neden olduğundan daha fazla artırabilir. Örneğin, üç saatlik kedi barsak iskemisini

takiben bir saatlik reperfüzyondan sonraki histolojik hasar değişiklikleri, tek başına dört saatlik iskemiden sonra gözlemlenen değişikliklerden çok daha kötüdür (17).

2.1.3. Patofizyoloji

İskemi miyokard enfarktüsü, kardiyopulmoner bypass kullanılan kalp cerrahisi, organ nakli, serbest doku nakli, vasküler cerrahi (cross klemp) ve ortopedik cerrahi (turnike) dahil olmak üzere çok çeşitli rutin cerrahi işlem sırasında indüklenir. Ayrıca, şok veya büyük travmalarda kanıtlandığı gibi hipoperfüzyona yol açan diğer durumlar da doku iskemisinin önemli tetikleyicilerindendir (18).

Tüm organ ve dokuları etkileyebilmesi sebebiyle iskemi günümüzde mortaliteye en sık neden olan tıbbi durumdur (19). İskemik olayların büyük bir kısmından tromboembolik veya aterotrombotik vazooklüzif hastalıklar sorumludur. Cinsiyet, yaş, kalıtsal özellikler, diabetes mellitus, hipertansiyon, metabolik sendrom, obezite, sigara, kronik alkolizm, hiperlipidemi, folat eksikliği, hiperhomosisteinemi, sedanter yaşam tarzı, obstrüktif uyku apnesi gibi uyku bozuklukları ve madde bağımlılığı iskemi reperfüzyon hasarı için risk faktörleridir (20).

İskemi esas olarak oksijen yokluğundan kaynaklanan hücre ölümüne sebep olurken, reperfüzyon hem lokal hasarı artıran hem de sistemik hasara yol açan çok çeşitli inflamatuvar yanıtlar üretir (21).

Farklı doku ve organlar iskemiye değişken derecede hassasiyet göstermektedir. Tüm doku ve organlarda süresi dokuya göre değişmekle birlikte kısa süreli iskemide hücreler tamir mekanizmaları sayesinde canlılıklarını korurlar.

Buna geri dönüşümlü hasar denmektedir. İskemi süresi uzarsa hücre ölümleri hızlanmakta, etkilenen dokuda yapısal ve fonksiyonel kayıplar meydana gelmektedir. Bu da geri dönüşümsüz hasar olarak adlandırılır. Organları geri dönüşümsüz hasardan korumak için dokuya özgü geri döndürülebilir iskemi süresinin aşılmasından önce dokuya kan akışının tekrar sağlanması son derece önemlidir (14,20).

Dokuda iskemi sırasında ilk metabolik değişiklik, oksijen yokluğunda ATP sentezinin bozulması ve enerjiden zengin fosfat bileşiklerinin ADP ve AMP yoluyla adenozine ve son olarak hipoksantine parçalanmasının bir sonucu olarak enerjinin tükenmesidir (18).

Serbest radikaller, dış kabuğunda bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan moleküllerdir. Oksidatif hasara neden olan maddelerin tümü serbest radikaller olmadığından bu moleküllere genel olarak reaktif oksijen türleri (ROS) denilmektedir. Reaktif oksijen türleri iskemi reperfüzyon hasarının oluşumunda başroldedir (22).

Reaktif oksijen türleri, lipid peroksidasyonu ile hücre zarlarına doğrudan zarar veren güçlü oksitleyici ve indirgeyici maddelerdir. Ayrıca ROS, eikozanoid (örn; tromboksan A₂ ve Lökotrien B₄) sentezi için önemli bir öncü olan araşidonik asidi oluşturmak üzere plazma membran fosfolipaz A₂'yi aktive ederek lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisi uyarır. ROS benzer şekilde nükleer faktör-kB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yoluyla lökosit adezyon molekülü ve sitokin gen ekspresyonunu uyarır. ROS böylece doğrudan hücre hasarına neden

olmasının yanı sıra, iskemi reperfüzyondan sonra lökosit aktivasyonunu, kemotaksisi ve lökosit-endotel yapışmasını artırır (23).

İskemi reperfüzyon hasarının oluşumunda çeşitli reaktif oksijen türlerinin katkısı vardır. Bunlardan süperoksit (O_2^-), iskemi sırasında O_2 'in indirgenmesiyle oluşur. Süperoksit kendisi hücre hasarına yol açtığı gibi diğer ROS moleküllerinin oluşumunu da tetikler (24). Vücutta O_2^- 'den süperoksit dismutaz enzimi ile elde edilen hidrojen peroksit (H_2O_2) hücrede toksik özellik göstermektedir. Ayrıca bu molekül Fenton reaksiyonu ile hidroksil (OH) radikaline dönüştürülür. Yine süperoksit radikali asidik ortamda hidroperoksil (HOO) radikaline dönüşür. Süperoksit ve diğer ROS moleküllerinin NO ile reaksiyona girmesiyle peroksinitrit ($ONOO^-$) ve diğer reaktif nitrojen türleri (RNS) meydana gelir. Peroksinitrit kendi başına hücre hasarı yapmasının yanı sıra peroksinitrik asit ($ONOOH$) ve OH radikallerinin üretiminde de rol alarak sitotoksik özellik göstermektedir (20).

Vücutta reaktif oksijen türleri; ksantin oksidaz aracılığıyla, NADPH enzim sistemiyle, nitrik oksit sentaz aktivitesiyle ve mitokondride ATP üretiminde görev alan elektron taşıma zinciri üzerinden oluşabilir (25).

Fizyolojik koşullar altında, hipoksantin, ksantin dehidrojenaz enzimi tarafından ksantine dönüştürülür. Ancak iskemi geliştiğinde ksantin dehidrojenaz enzimi yapı değişikliğine uğrayarak ksantin oksidaz enzimine dönüşmektedir (26). Ksantin oksidaz da reaktif oksijen türlerinin oluşumuna sebep olmaktadır (27). Bu esnada hücrede pürin sentez yollarının aksaması sonucu ksantin ve hipoksantin birikimi iskemi hasarı için karakteristiktir (28). Hücrede hipoksi arttıkça ksantin

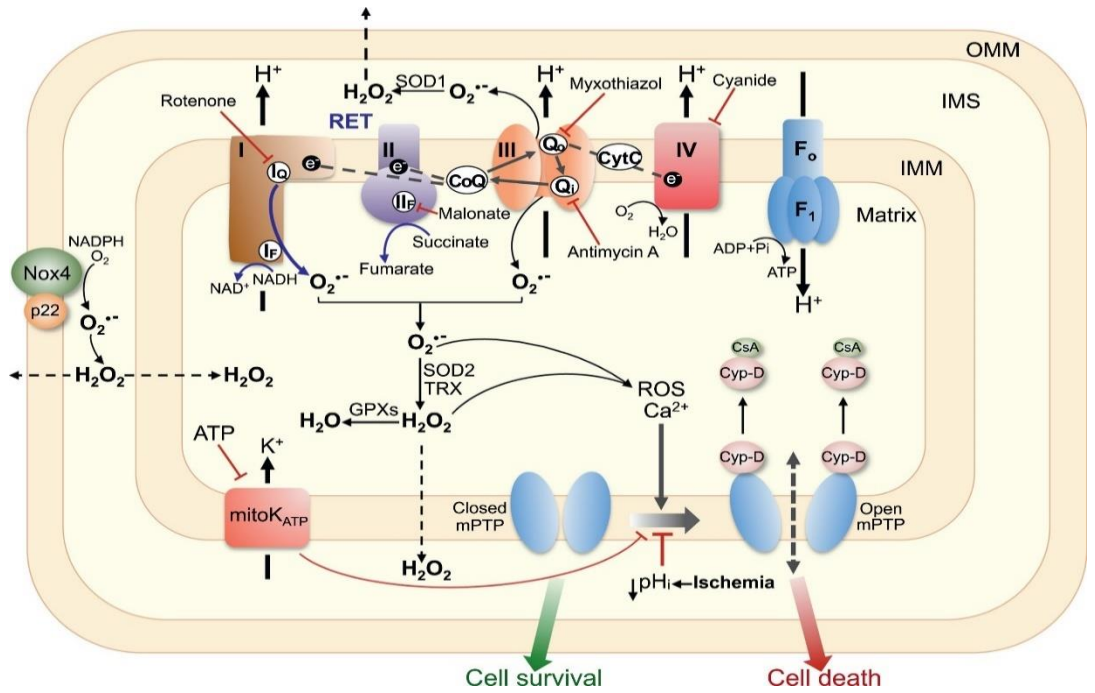
oksidaz aktivitesi de artmaktadır (29). Reperfüzyon sonucu ortama gelen O_2 , ROS moleküllerinin oluşumunu hızlandırır (20).

Metabolizmada önemli görevleri olan nitrik oksit sentaz (NOS) da ROS oluşumu için bir diğer kaynaktır (30). Bu enzim oksijen varlığında L-arjinini nitrik oksit (NO) ve sitriline çevirir (31). NO iskemi hasarında hücrede koruyucu özellik göstermektedir. Tetrahidrobiopterin (BH_4), nitrik oksit sentazın kofaktörü olup enzimin yapısal ve fonksiyonel devamlılığı için hayati önem taşımaktadır. Ortamda BH_4 seviyeleri azaldığında NOS konformasyonel değişikliğe uğrayarak yeterince NO oluşturmaz. Yapısı değişen NOS, süperoksit (O_2^-) oluşumunu tetikler. Aynı zamanda var olan NO molekülleri süperoksit ile reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) radikalini açığa çıkarır. Bu moleküller de iskemide hücre ve doku hasarını arttırıcı etki gösterir (32,33).

İskemi reperfüzyon hasarı esnasında mitokondride ROS oluşumu aşırı hale gelmektedir. Mitokondride elektron taşıma zincirinde görevli kompleks 1 ve kompleks 3, süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumundan başlıca sorumludur. Hücrelerde kullanılmak üzere dokuya gelen O_2 'nin büyük kısmı mitokondride elektron taşıma zincirinde kullanılarak serbest oksijen radikali oluşturmadan H_2O 'ya dönüştürülür. Gelen O_2 'nin %5 kadarı ise süperoksit (O_2^-) ve hidroperoksil (HO_2) serbest radikallerine indirgenir. Bu fizyolojik bir süreçtir ve oluşan radikaller birbiriyle denge içerisinde olup hücre korunması için sinyalizasyon görevi yürüterek hücreyi koruyucu etki gösterirler. Bu şekilde mitokondriyal solunumun normal bir şekilde yürütülüp ATP'nin üretildiği durumlarda ROS molekülleri, antioksidan savunma mekanizmalarıyla başa

çıkılabilecek düzeydedir. Ancak iskemi gibi hücrede asidoz yapan durumlarda bu denge HO_2 lehine bozularak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumunu artırır. Fazla miktarda üretilen H_2O_2 , hidroksil (OH^-) radikaline dönüşür (29,34-37).

Metabolizmada ROS üretiminden sorumlu bir diğer enzim NADPH'tır. Bu enzimin farkı sadece iskemide değil normal fizyolojide de ROS üretiminden sorumlu olmasıdır. NADPH enzimleri dolaşım sisteminde oldukça fazla bulunurlar ve ROS üretimi yaparlar (38-40). İskemi ve reperfüzyon aşamalarında hücrede NADPH enzimlerini aktive etme potansiyeli olan platelet aktive edici faktör (PAF), fosfolipaz A_2 , araşidonik asit, tromboksanlar ve lökotrienler gibi çeşitli kimyasal mediatörler üretilmektedir (29). Aynı şekilde kompleman sistemin aktivasyonu, makrofajlar ve mast hücrelerinden salınan çeşitli sitokinler ve anjiyotensin II de NADPH aktivasyonunu artırır (41-43).



Şekil 1. Mitokondride ROS oluşum yolları (35)

ROS molekülleri oldukça reaktiftir ve bu sebeple kısa yarı ömürleri vardır. ROS, nükleik asitler, proteinler, karbonhidratlar ve lipitler dahil olmak üzere tüm biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilir. Bu moleküller membran hasarı lipid peroksidasyonu, protein hasarı gibi etkiler gösterir (44).

Uzun süreli hipoksinin membran potansiyelini değiştirdiği, iyonların dağılımını bozduğu, hücre içi hacmi arttırdığı, membran akışkanlığını azalttığı ve endotel hücre iskeleti organizasyonunu bozduğu bilinmektedir. Bu değişikliklere enerji depolarının tükenmesi, belirli biyoaktif ajanların (örn. prostasiklin, nitrik oksit) üretiminin azalması ve diğerlerinin (örn. endotelin, tromboksan A₂) aşırı üretimi eşlik edebilir. Benzer şekilde hipoksik endotel hücrelerinde, bazı genler indüklenirken (örn. adezyon molekülleri, sitokinler), bazı genler (örn. cNOS, trombomodulin) baskılanır (45).

Dokulara kan akışı azaldığında, hücreler anaerobik metabolizmaya geçer. Hücre içerisinde H⁺, laktat ve NADH⁺ birikirken hücre pH'ında ve ATP üretiminde azalma gerçekleşir. Sonuç olarak, Na⁺/H⁺ değiştirici, hücre içinde biriken hidrojen iyonlarını sodyum iyonları karşılığında hücre dışına çıkarır. Oksijen iletiminin bozulması, hücreleri anaerobik olarak ATP üretmeye zorlar, ancak bu üretim ATPazların (örneğin, Na⁺/K⁺ ATPaz) işlevini sürdürmek için yetersiz düzeydedir. Bu durum, endoplazmik retikuluma aktif Ca⁺⁺ geri alımının azalması sonucunda hücresel kalsiyum aşırı yüklenmesine sebep olur. Hücre, intraselüler alanda artan kalsiyumu mitokondriye göndererek bu durumla baş etmeye çalışır. Mitokondride artan Ca⁺² sebebiyle, mitokondri iç zarındaki porlar (mitochondrial permeability transition pore – mPTP) açılır. Bu porların açılması ve ROS oluşumu birbiriyle sıkı

bir ilişki içerisinde. Oksidatif stres mitokondri porlarının açılmasını arttırdığı gibi bu kanalların açılması da ROS oluşumunu tetiklemektedir. Mitokondriyal mimarinin bozulması; hücresel şişme, krista düzensizlikleri ve matriks boşluğunda ozmofilik birikimlerin oluşmasıyla aynı zamanda meydana gelir. Mitokondriyal porların ve anyon kanallarının açılması sonucu kaybolan mitokondriyal membran potansiyeli ATP üretimini daha fazla bozar. İskemik bölgedeki kapiller endotel hücreleri iskemi sırasında şişer ve böylece kapiller lümen çapını azaltır, bu da nötrofillerin bu mikrodamarlarda sıkışmasını kolaylaştırır. Bu durum reperfüzyon sırasında kötüleşerek arteriyel kanın ve farmakolojik ajanların iskemik bölgeye verilmesini sınırlandırmanın yanı sıra biriken metabolik atıkların uzaklaştırılmasını da önler (14,20,46,47).

Hipoksiye verilen bu endotelyal hücre yanıtlarının çoğu, reperfüzyon ile şiddetlenir. İnflamatuvar yollar aktifleşerek iskemi reperfüzyon hasarına neden olurlar. Reperfüzyon hasarı oluşumunda birçok patolojik sürecin rolü vardır. Oksijen molekülü, arteriyel kan akımının sağlanmasıyla iskemik dokuya gelir, böylece sitotoksik reaktif oksijen türlerinin oluşumu için eksik olan substrat sağlanır (20).

İskemik reperfüzyon hasarı aşamalarında protein kinazların çok önemli rolleri vardır. Bu enzimlerin bazıları; protein kinaz C (PKC), mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK), kalsiyum kalmodulin protein kinaz (CaMK) ve reseptör etkileşimli serin/treonin protein kinaz (RIPK)'dır (48).

Protein kinaz C 1977 yılında keşfedilmiş olup 10 alt türü bulunur. Bu enzimin alt türlerinden bazıları iskemi reperfüzyonda hasarı tetikleyici rol alırken bazı türleri ise koruyucu etki göstermektedir (49-51). Özellikle PKC δ ve PKC ϵ iskemi reperfüzyon hasarında rol alan en önemli protein kinazlardır.

MAPK ailesi de birçok farklı elemandan oluşmaktadır. İskemi reperfüzyon hasarında bu ailede bulunan p38, p44/42, ERK, JNK gibi çeşitli üyeler rol oynar. Bunlar içerisinde en önemlilerinden biri p38 MAPK'dır ve iskemi reperfüzyon gibi inflamatuvar süreçlerde rol almaktadır (52). Yapılan çalışmalarda bu kinaz ailesinin inhibisyonunun iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu olduğu gösterilmiştir (53,54).

RIP kinaz ailesi nekroz ve nekroptozdaki inflamatuvar yollarda ve programlı hücre ölümünde önemli roller oynamaktadır (55). RIP kinaz alt türlerinin inhibisyonunun iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu özellikte olduğu gösterilmiştir (56,57).

İskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisinde inflamatuvar mediatörlerin de önemli rolü bulunmaktadır. Nötrofiller inflamatuvar alana ilk gelen lökositlerdir. Lökositlerin inflamatuvar dokuya geliş süreçlerindeki aşamalar genel olarak; tutunma, yuvarlanma, yapışma (adezyon), sürünme (crawling) ve göç (transmigration) sırasını izler (58). Nötrofillerin adezyonunda görev alan ICAM-1 (intraselüler adezyon molekülü), CD11/CD18 adezyon molekülleri ve selektinlerin inhibe edilmesinin iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (59,60).

İskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisinde inflamasyonun diğer hücrelerinden olan makrofajlar da rol oynamaktadır (61). Çeşitli organlarda yapılan çalışmalarda, inflamasyonun erken döneminden itibaren tüm aşamalarda yer alan makrofajların, iskemi reperfüzyon hasarında önemli görevlerinin olduğu ve iskemik alanda bu hücrelerin sayıca azalmasının iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (62,63).

Doğal antikorların iskemi reperfüzyon hasarındaki rolleri gösterilmiştir. Özellikle IgM'nin süreçteki yeri çok önemlidir. Farelerde yapılan bir çalışmada doğal antikorların üretildiği B1 hücrelerinde eksiklik olan farelerde intestinal iskemi reperfüzyon hasarının daha az olduğu gösterilmiştir (64).

Kompleman sistemi 30'a yakın molekülün rol aldığı inflamasyonun önemli bir sürecidir. Kompleman sisteminin aktivasyonunda klasik, alternatif ve lektin yolağı olmak üzere üç yol bulunur. Bu yollar birbiriyle etkileşim içerisinde ve birbirini tamamlayıcı olarak çalışırlar (65). Kompleman sisteminin iskemi patofizyolojisindeki rolü ilk olarak 1971 yılında Hill ve ark. tarafından ortaya konmuştur (66). İskemi ve reperfüzyon hasarı aşamalarında kompleman sisteminin lokal aktivasyonu gerçekleşir (67). İskemi reperfüzyon hasarının erken dönemlerinde gerçekleşen bu kompleman aktivasyonu sonucunda kompleman faktör 3a (C3a), kompleman faktör 5a (C5a), anaflatoksinler ve membran atak kompleksi (C5b-9) gibi biyolojik olarak aktif maddeler salınır (68).

Nötrofiller ve aktive olan kompleman sistemi, iskemi reperfüzyon hasarının oluşumunda tek başlarına veya beraber etki ederek katkıda bulunur (69).

Bir dokuyu besleyen arterdeki tıkanıklığın giderilmesine rağmen yeterli perfüzyonun sağlanamaması ‘no reflow fenomeni’ olarak adlandırılır. İskemi reperfüzyon hasarı oluşumunda no reflow fenomeninin rolü vardır. Bu durum ilk olarak 1967 yılında tavşanlarda yapılan beyin iskemi reperfüzyon çalışmasında ortaya konmuştur (70). Daha sonra yapılan çalışmalarla iskelet kası, deri, karaciğer, böbrek ve kalp gibi diğer organlarda da no reflow fenomeni gösterilmiştir (71-75). No reflow fenomeninin patofizyolojisinde, iskeminin oluşmasıyla birlikte damarlardaki endotel hasarı sonucu yapı bütünlüğü bozulmakta bu da damar dışına sıvı kaçağına sebep olmaktadır. Bu sıvı kaçağı damarları mekanik olarak sıkıştırmakta ve mikrovasküler yapıyı bozmaktadır. İskemide gelişen bu hasar reperfüzyonla kötüleşmekte, ortama ulaşan inflamatuvar mediatörler doku ödemi ve endotel hasarını arttırmaktadır. İnflamasyonda rol alan nötrofil ve diğer hücreler damar içerisinde trombüs oluşumunu tetiklemekte, sonuç olarak da damarda tıkanıklığa sebep olmaktadır (76).

İskemi reperfüzyon hasarının dokularda nekroz, apoptoz, mikrovasküler fonksiyon bozukluğu ve ödem gibi ortak bulguları görülmekle beraber tüm organlar iskemi reperfüzyon hasarına farklı yanıt vermektedir (77-79).

Kısa süreli iskemide hücreler ROS üretimi ve hücre hasarını sınırlayıcı mekanizmaları kullanarak hasarı tamir edebilmektedir. Ancak uzun süreli iskemi reperfüzyon hasarı sonucu zarar gören hücrede apoptoz, otofaji, nekroz ve nekroptoz yolları devreye girer (80).

İskemi reperfüzyon hasarı sonucu ekstresek ve intrensek apoptoz yolları devreye girer. Apoptozun karakteristik morfolojik bulguları nükleer piknoz (kromatin kondensasyonu) ve karyoreksis (nükleer fragmentasyon), membran bütünlüğü bozulmadan hücre kabarcıklaşması ve hücre büzüşmesidir. Apoptoz patofizyolojisinde mitokondri ve endoplazmik retikulumdan hücre içine salgılanan Ca^{+2} 'nin önemli bir rolü vardır. Kalsiyumun hücrede birikmesiyle proapoptotik sitokrom c, kaspaz sistemini aktive ederek kaspaz bağımlı apoptotik hücre ölümünü başlatır. Hücre hasarı sonucu mitokondrideki porların açılmasıyla hücre içerisinde miktarı artan apoptoz indükleyici faktör (AIF), endonükleaz G ve BNIP₃ apoptoza neden olan bir diğer molekül grubudur. Ekstresek yolda ise hücrede geri dönüşümsüz hasar oluşmasıyla hücre membranında; tümör nekroz faktör ilişkili apoptoz indükleyici ligand (TRAIL) reseptörü, CD95, tümör nekroz faktör (TNF) reseptörü gibi apoptozu uyarıcı reseptörlerin yer almasıyla apoptoz başlatılır. Kaspaz enzimleri ile hücre ölümü gerçekleşir (79,81-83).

İskemik dokudaki hücre stresi çok fazla olduğunda nekroz ile hücre ölümü gerçekleşir. Hücre parçalanması, organların şişmesi ve mitokondriyal fonksiyon kaybı, nekrozun ana özellikleridir ve bu süreç iskemik dokuda çok sayıda lokal inflamatuvar yanıtı indükler. Nekrozun programlanmış şekline ise nekroptoz denir ve iskemi reperfüzyon hasarında ana hücre ölüm yollarından bir tanesidir. Hücrede geri dönüşümsüz hasar meydana geldiğinde ekspresyonu artan TNF reseptörü, RIPK adı verilen protein kinazları aktive eder. Fonksiyonel hale gelen bu proteinler de NADPH oksidazları uyararak ve mitokondriyal oksidasyonu artırarak ölüm yolağını başlatır. Çeşitli hücrel reaksiyonlar sonucu nekrozom protein

kompleksi meydana gelir. Sonuç olarak hücre programlı bir şekilde ölüme gider (84-89).

Otofaji, makromoleküllerin ve sitoplazmada hasar görmüş organelerin membran vezikülleriyle parçalandığı biyolojik bir süreçtir. Hücrede iskemi reperfüzyon hasarı varlığında otofaji mekanizmaları da devreye girer. Ayrıca hasarlı moleküllerin yıkımından elde edilen kaynaklar iskemi durumunda hipoksik ve enerjisiz kalan hücrelere yaşamaları için ihtiyaç duydukları metabolitleri sağlar. Bu etkiyi göstermek için yapılan çalışmalarda klorokin ile otofajinin inhibe edildiği durumlarda iskemi reperfüzyon hasarının arttığı gösterilmiştir. Otofaji başlıca hormonlar tarafından kontrol edilir. Hücrede enerji yokluğunda, otofaji ile ilişkili genlerin sentezlediği otofaji ilişkili proteinlerin etkisiyle hücrede otofajik membranlar oluşmaya başlar. Otofagozomların lizozomla birleşmesiyle hasarlı protein ve diğer moleküller parçalanır (85,90).

Lokal doku iskemisini takiben reperfüzyondan sonra diğer organlarda hasar görülmesi uzak organ hasarı olarak adlandırılır. Çoklu organ yetmezliği sendromu (MODS) kritik hastalarda önemli bir mortalite sebebidir. MODS gelişiminde dolaşımsal şokun yanı sıra barsak, karaciğer, iskelet kası ve aorta iskemi-reperfüzyon hasarının rol aldığı gösterilmiştir. Reperfüzyon sonrası gelişen bu durumda ksantin oksidaz, lökositler, inflamatuvar mediatörler (TNF- α , tromboksan B₂) ve kompleman sistemi rol oynamaktadır (20,45).

İskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisinin anlaşılmasıyla birlikte önceden iskemi-reperfüzyonla alakalı olduğu bilinmeyen orak hücreli anemi ve

Alzheimer gibi birçok hastalıkta da bu mekanizmanın rol aldığı anlaşılmıştır (91-94).

İskemi reperfüzyon hasarını önlemede antioksidan savunma mekanizmalarının önemli bir yeri vardır. En etkili antioksidan enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalazdır (95).

Vücutta katalaz aktivitesi ilk olarak 19. yüzyılda gözlemlenmiş, 1900 yılında ise hidrojen peroksiti oksijen ve suya dönüştüren bu enzim için katalaz ismi kullanılmıştır (96). Antioksidan özelliğinin yanı sıra kanser hücrelerindeki koruyucu etkileri de çalışmalara konu olmuştur (97).

Süperoksit dismutaz 1939 yılında keşfedilmiş, antioksidan aktivitesi ise 1969 yılında kanıtlanmıştır (98). İlerleyen yıllarda süperoksit dismutazın tedavide kullanılmasının iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (99).

Bir diğer antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz 1957 yılında keşfedilmiştir (100). Şu ana kadar 8 türü bulunan bu enzimin farklı organlardaki antioksidan aktivitesi çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (101-104).

Enzimatik olmayan antioksidanlar grubunda Vitamin C, Vitamin E, karotenoidler, tiyol antioksidanlar (glutatyon, tioredoksin ve lipoik asit), doğal flavonoidler, epifiz bezinden salgılanan bir hormon olan melatonin ve diğer bileşikler bulunur (105).

Antioksidan moleküller içerisinde bahsedilmesi gereken bir diğer grup, hücrede herhangi bir sebeple oksidatif hasar meydana geldikten sonra devreye giren ‘de novo’ enzimlerdir. Bu enzimler serbest radikallerin verdiği zararı tamir ederek

hasar görmüş hücre zarını yeniden oluştururlar. Ayrıca hasar görmüş DNA, protein ve lipidleri onarırlar, tamir edilemeyecek derecede hasarlanmış olanları ise ortamdan uzaklaştırırlar. Bu grupta DNA tamir enzimleri (polimerazlar, glikozilazlar, nükleazlar) ve proteolitik enzimler (proteinazlar, proteazlar, peptidazlar) bulunur (106).

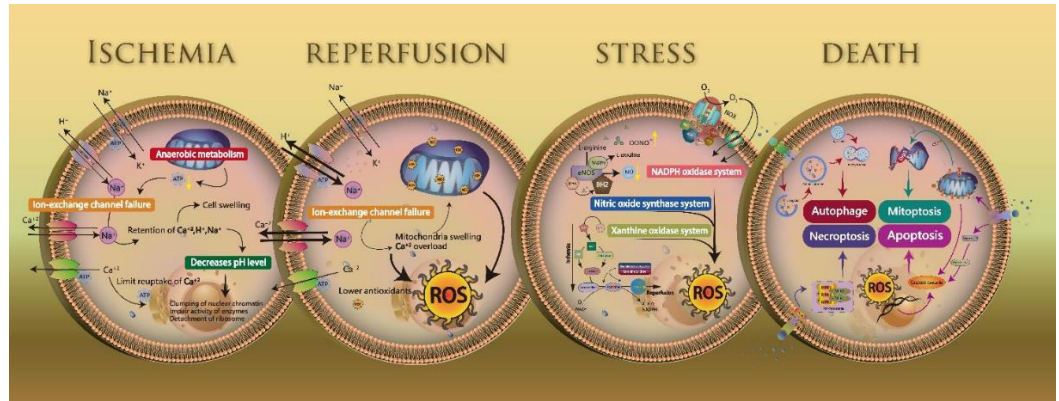
İskeminin ortaya konmasından sonraki uzun yıllar boyunca kısa süreli iskemi periyotlarının dokularda anlamlı değişiklikler yapmadığı düşünülmekteydi. Ancak 1986 yılında Murry ve ark. köpek kalpleri üzerinde 5 dakikalık aralıklı iskemi reperfüzyon aşamalarından sonra 40 dakikalık iskemi uyguladığında, infarkt alanının anlamlı bir şekilde azaldığını gözlemlemişler ve buna iskemik ön koşullandırma (preconditioning) adını vermişlerdir (107). Aralıklı iskemi ataklarının ne kadar sürmesi gerektiğiyle ilgili yapılan çalışmalarda 1-2 dakikalık iskemi sürelerinin ön koşullandırma için yeterli olmadığı gösterilmiştir (108,109). İlk olarak kalpte gösterilmesine rağmen iskemik ön koşullandırmanın iskelet kası, böbrek, karaciğer ve beyin gibi diğer organlarda da iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu bir mekanizma olarak rol aldığı gösterilmiştir (110-113).

Adenozin, ön koşullandırmanın sinyal iletim mekanizmalarında görev aldığı gösterilen ilk moleküldür. Kısa iskemi periyotları sırasında adenozin seviyeleri yükselmekte, potasyum kanallarının da rol aldığı mekanizmalarla hücre iskemik hasara karşı korunmaktadır (114,115).

İskemik ön koşullandırmada opioid reseptörleri de görev almaktadır. Opioid reseptör antagonisti olan naloksonun iskemik ön koşullandırmayı bloke ettiği gösterilmiştir (116).

Bradikinin, iskemik ön koşullandırmayı tetikleyen bir diğer moleküldür. Bu mediatörün ön koşullandırmadaki etkisi ortamdaki adenozin varlığı ile artmaktadır (117).

Adenozin ve bradikinin gibi mediatörler, dokuda protein kinaz C aktivitesini artırarak iskemik ön koşullandırmaya neden olurlar. Protein kinaz C'nin, iskemik dokuda ATP bağımlı K^+ kanallarını fosforile ederek etki gösterdiği düşünülmektedir (118). Yapılan çalışmalarda PKC'nin inhibe edilmesinin iskemik ön koşullandırmayı engellediği gösterilmiştir (119).



Şekil 2. İskemi reperfüzyon hasarının mekanizmasına genel bakış (85)

2.1.4. Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

Akciğerlerde iskemik reperfüzyon hasarı sonucu gelişen duruma LIRI (Lung Ischemia Reperfusion Injury) denilmektedir. LIRI, endotelial ve epitelyal işlev bozukluğu, mikrovasküler permeabilite artışı, kompleman sistemin aktivasyonu,

çeşitli sitokinlerin salınımı, nötrofil, makrofaj ve inflamasyonda rol alan diğer hücrelerin aktivasyonu, aşırı ROS oluşumu, hücre içi kalsiyum artışı, pulmoner ödem, bozulmuş oksijenizasyon, pulmoner vasküler direnç (PVR) artışı ve pulmoner hipertansiyon ile karakterizedir (120,121).

Akciğer iskemi reperfüzyon hasarı (LIRI); akciğer transplantasyonu, kardiyopulmoner bypass, ateroskleroz, travma ve pulmoner tromboemboli gibi sebeplerle gelişebilir (122-126). LIRI sebeplerinden biri olan akciğer transplantasyonu yapılan hastaların yaklaşık %15'i iskemi reperfüzyon hasarına bağlı greft kaybı yaşamaktadır (127).

Akciğer diğer organlardan farklı olarak hipoksik iskeminin yanı sıra hipoksi olmadan da iskemi gelişebilen tek organdır. Alveolar oksijen, hipoksi gelişimini önleyerek aerobik metabolizmayı sürdürmeye yardım eder (128).

İskemi ve reperfüzyon sırasında damar geçirgenliği ve endotel bütünlüğünün bozulması ile pulmoner vasküler dirençteki artış sonucu gelişen pulmoner ödem gaz alışverişini bozarak alveolo-arteriyel oksijen gradiyentini ve peak havayolu basıncını arttırarak ventilasyonu zorlaştırır. Bu esnada oluşan iskemik hasar, akut akciğer hasarı (ALI)'dan ARDS'ye kadar çeşitli tablolara sebep olabilir. Sonuç olarak iskemi reperfüzyon patofizyolojisinde rol alan mekanizmalar burada da devreye girerek programlı hücre ölümüne sebep olmaktadır (129).

Günümüzde LIRI tedavisinde ARDS'de olduğu gibi destek tedavi ön planda olup duruma spesifik bir tedavi bulunmamaktadır. Ancak hiperbarik oksijen

tedavisi, nitrik oksit (NO), hidrojen, hidrojen sülfid (H_2S), karbonmonoksit (CO), sürfaktan ve prostaglandinler gibi tedavi yaklaşımları denenmektedir (129).

2.1.5. Kalp İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemik kalp hastalıkları akut (AKS- Akut Koroner Sendrom) veya kronik olarak ortaya çıkmaktadır. Akut koroner sendromlar; anjina pektoris, akut miyokard enfarktüsü (AMI) ve ani kardiyak ölüm olarak gruplandırılır. Kalpte iskemi reperfüzyon hasarının klasik örneği akut miyokard enfarktüsüdür. AMI dünyada mortalite nedenleri arasında birinci sıradadır (130).

Kalpde iskemi esnasında diğer organlarda olduğu gibi oksijen yokluğuyla mitokondrideki oksidatif fosforilasyon hızla durur. Hücrelerin ATP üretimi için anaerobik metabolizmayı kullanmaya başlaması hücrede hidrojen ve laktat artışına sebep olur. Bunun sonucunda asidoz gelişir. Bu durum hücrelerin kasılma özelliğini bozarak ventriküler aritmi oluşumuna zemin hazırlar (131).

İskemiye maruz kalan miyositlerde şişme, membran bütünlüğünde bozulma ve mitokondride kalsifikasyon izlenirken reperfüzyonun sağlanmasıyla hücredeki şişme belirginleşir ve kontraksiyon bantları gelişir. Kontraksiyon bantları hiperkonsantre sarkomer segmentlerinin miyosit içerisinde belirli bölgelerde kümelenmesiyle oluşan yapılardır (132,133).

İskemi ile oluşan geri dönüşümsüz hasar subendokardiyal miyokarddan başlayarak dalga şeklinde subepikardiyuma doğru ilerlemektedir. İlk 15 dakikalık iskemi zamanında miyositlerin canlılığı sürdürülebilirken 20. dakikadan itibaren miyositlerde kalıcı hasar ve hücre ölümü görülmeye başlamaktadır. 40 dakikalık

iskemi ile subendokardiyal nekroz görülürken üç saat sonunda nekroz subendokardiyal dokuya tamamen yayılmakta ve subepikardiyal miyokardiyumda fokal tutulum başlamaktadır. 6 saat sonunda nekroz tüm duvar boyunca yayılmaktadır (134).

İskemide hasarın yayılımını önlemek için reperfüzyon şart olsa da diğer organlarda olduğu gibi kalpte de reperfüzyonun kendisi hasara sebep olmaktadır. ROS artışı, kalsiyum yüklenmesi ve inflamatuvar sistem aktivasyonu sonucu fonksiyon bozukluğu, aritmiler ve hücre ölümünde hızlanma görülmektedir (135).

Kalpte iskemi sırasında geri dönüşümsüz hasar oluşmadan reperfüze olan miyositlerde ortaya çıkan fonksiyon kaybı ilk olarak 1975 yılında gösterilmiş olup, 1982 yılında Braunwald ve ark. tarafından miyokardiyal stunning (sersemleme) olarak adlandırılmıştır (136,137). Miyokardiyal stunningde reperfüzyon başladığı için kontraksiyon bozukluğu kendiliğinden düzelir ve özel bir tedavi gerektirmez. İhtiyaç halinde inotropik ajanlar kullanılabilir. Azalmış koroner kan akımına bağlı olarak miyositlerde gelişen adaptif kontraktilite kaybı ise miyokardiyal hibernasyon olarak adlandırılır. Bu durum subakut olarak gelişebileceği gibi aralıklı iskemi ataklarına bağlı stunning periyotları sonucunda da gelişebilir. Devam eden iskekiye bağlı gelişen miyokardiyal hibernasyonda tıkanıklığın en kısa zamanda açılması miyosit canlılığının korunması açısından son derece önemlidir (138).

İskemik kalp hastalıklarının tedavisinde tıkalı damarların açılması için koroner arter bypass greft (CABG) ameliyatları, trombolitikler, perkütan koroner

girişim (PCI) gibi seçenekler kullanılabilir. Miyokard yenilenmesi için kök hücre tedavilerine yönelik araştırmalar da günümüzde devam etmektedir (139).

2.2. Sevofluran

Sevofluran 1970’li yılların başında üretilen halojenli inhalasyon anesteziğidir (140). Sevofluran kendine has bir kokusu olan renksiz, volatil, yanıcı olmayan sıvı bir anesteziktir. Kaynama noktası 58.6 °C ve buhar basıncı 157 mmHg’dır. Sevofluranın kan/gaz partisyon katsayısı düşüktür (0.69). Bu sebeple alveolar sevofluran konsantrasyonu daha çabuk yükselerek anestezi başlangıcını hızlandırır (141).

Sevofluran havayolu irritasyonu yapmaması ve keskin olmayan kokusu sebebiyle günümüzde anestezi indüksiyonunun inhalasyon yoluyla yapılacağı durumlarda en uygun seçenektir (142).

Sevofluranın sistemik etkileri detaylı olarak ortaya konmuştur. Sevofluran bronşiyal düz kas kontraksiyonlarını azaltarak bronkodilatasyon yapar. Bu sebeple astımlı hastalarda güvenle kullanılabilir. Kan basıncını doza bağlı olarak azaltır ancak kardiyak outputu korur. Kalp hızına etkisi minimaldir. Serebral vasküler direnci azaltarak intrakraniyal basıncı arttırır (143).

Sevofluran %95 ile %98 oranında akciğerlerde metabolize edilerek vücuttan atılır. Kalan kısım karaciğerde metabolize edilir. Karaciğerde oluşan metabolitler glukronik asitle konjuge edilerek böbreklerden atılır (141).

Sevofluran, karbondioksit absorbanı ile temas ettiğinde Compound A adı verilen metaboliti oluşur. Compound A’nın farelerde renal hasar yaptığı

gösterilmiştir. Ancak insan çalışmalarında Compound A'nın kalıcı bir renal hasara sebep olduğu gösterilememiştir (144).

Sevofluranın iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü çeşitli çalışmalara konu olmuştur. Yapılan çalışmalarda sevofluranın iskemi reperfüzyon hasarına karşı birçok doku ve organda koruyucu özellikte olduğu belirlenmiştir (145).

Toller ve ark. köpeklerde kalp iskemisi üzerine yaptığı çalışmada sevofluran ve iskemik ön koşullandırmanın iskemide koruyucu olduğunu göstermiştir (146).

Sıçan kalpleri üzerinde yapılan çalışmalarda sevofluranın miyokard iskemisi esnasında yapısal bütünlüğün korunmasına yardımcı olduğu, mitokondriyal porların açılımını engellediği, oksidatif stresi azalttığı, mitofaji aktivasyonunu baskıladığı ve tüm bu mekanizmalarla iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu olduğu gösterilmiştir (147).

Sevofluran iskemik damar duvarında glikokaliks tabakasının dökülmesini engelleyerek endotelial adezyon molekülleri için doğal bir koruyucu görevi görerek hücre adezyonunu engellemektedir (148). Sevofluranın antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri vardır. Bu sebeple doku ve organları strese bağlı gelişebilecek hasardan korumaktadır (149).

Serebral iskemi reperfüzyon hasarında inflamasyondan sorumlu makrofaj ve mikrogliya hücrelerinin çok önemli görevleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda sevofluran ile ön koşullandırılan sıçanlarda serebral iskemi sırasında inflamatuvar hücre yanıtlarının azaltılarak nöronal apoptozun engellendiği gösterilmiştir (150).

Sevofluran karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında platelet – nötrofil birleşimini ve proinflatuar sitokin salınımını önleyerek koruyucu etki göstermektedir (151).

Sistemik yan etkilerinin azlığı, kullanım yaş grubunun genişliği ve iskemi reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkilerinden dolayı sevofluran, anestezi indüksiyon ve idamesinde iyi bir tercihtir.

2.3. Fullerenler

Fullerenler benzersiz kimyasal ve fiziksel özellikler gösteren, sadece karbon (C) atomundan oluşan son derece simetrik, kafes şeklinde nano moleküllerdir (152).

Fullerenler, Kroto ve ark. tarafından 1985 yılında yıldızlararası uzayla alakalı deneyler sırasında grafitin lazer ile buharlaştırılması sonucu şans eseri elde edilmiştir (153). 1990 yılında Krätschmer ve ark. oluşturulan fulleren moleküllerini saflaştırarak makroskobik boyutlarda fulleren üretmişlerdir (154).

Fulleren, grafit ve elmaştan sonra karbonun keşfedilen üçüncü allotropudur. Grafitten elde edilen heterojen fulleren karışımı kütle spektrometrisi ile incelendiğinde en fazla oranda 60 C içeren fulleren 60 molekülünün bulunduğu görülmüştür. Bu molekülü 70 C atomlu fulleren izotopu takip etmektedir (155).

Fullerenler C_n şeklinde ifade edilir ve buradaki n yapıdaki karbon atom sayısını ifade etmektedir. C_{60} , 60 C atomu içerir. Bu C atomları birbirine tekli veya ikili bağlarla bağlanır. Bir fulleren molekülünde 12 adet pentagon bulunur. Yapıdaki heksagon sayısı ise değişkendir ve $(n-20) / 2$ formülüyle hesaplanır. Bu pentagon ve

heksagonlar fulleren moleküllerinin futbol topuna benzeyen küre şeklinin oluşmasında son derece önemlidir (156).

Fullerenler teorik olarak birçok alanda kullanılma potansiyeli göstermelerine rağmen suda çözünememeleri ve organik çözücülerdeki düşük çözünürlükleri kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bunun üstesinden gelmek için çözdürücü bir ajan kullanmak (örn; N-vinilpirolidon, siklodekstrinler) veya molekülün kimyasal modifikasyonu ile fullerene hidrofilik özellik kazandırmak düşünülmüştür. Bu amaçla moleküle amino veya hidroksil grupları eklenerek olumlu sonuç alınmıştır (157).

Fullerenlerin kullanım alanları çok geniş olup bunlardan bazıları; istenmeyen hücrelerde toksisite, iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan etki, görüntüleme tekniklerinde kontrast artırıcı ajan, kanser tedavisi, ilaç taşıyım sisteminde taşıyıcı, biyosensör, antiviral ve antibakteriyel etki olarak sıralanabilir (158).

Fullerenler hücrede yüksek konsantrasyonda bulunduğu süperoksit başta olmak üzere ROS üretimini artırarak lipid peroksidasyonu, mitokondri depolarizasyonu ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Bu özellikleriyle fullerenler hücre için toksik etki göstermektedir. Ancak fulleren 60'ın herhangi bir dozunda DNA oksidasyonu, protein oksidasyonu ve mitokondriyal dehidrogenaz salınımı ise gösterilmemiştir (159).

Fullerenler, iskemi reperfüzyon hasarında salınımları artan ve protein, lipid, DNA ve diğer hücre elemanlarının yıkımında görev alan ROS molekülleriyle reaksiyona girerek hasarı önleyici etki göstermektedir (160).

Her fullerene molekülü 20 veya daha fazla reaktif oksijen radikalini bağlayabilir. Bu özellikleriyle iyi bir antioksidan olan E vitamininden 100 kat etkilidir. Antioksidan özellik, suda çözünebilen fullerene türevlerinde daha belirgindir (156).

Transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), iskemi reperfüzyon hasarında ROS oluşumunu indükleyerek apoptozu tetiklemektedir. Karboksifulleren (C60) ise TGF- β 'nın oluşumunu uyardığı ROS'ları elimine ederek karaciğerde antiapoptotik özellik göstermekte ve iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu rol oynamaktadır (161).

Sıçan beyinlerinde yapılan bir çalışmada reperfüzyon esnasında polihidroksile fullerene uygulanan sıçanlarda iskemi alanlarında anlamlı küçülme tespit edilmiştir. Ayrıca iskemide seviyeleri düşen süperoksit dismutaz gibi enzimlerin fullerene uygulanan grupta iskemik alandaki düzeylerinde artış görülmüştür. Benzer şekilde iskemi sırasında düzeyleri artan malondialdehit ve nitrat türevlerinin seviyeleri fullerene uygulanan sıçan beyinlerinde anlamlı olarak azalmıştır (162).

Fullerenler böbrek iskemisinde de koruyucu etkiye sahiptir. Sıçan böbreklerinde yapılan bir çalışmada iskemi reperfüzyon sırasında glukozamine fullerene uygulanan sıçanlarda, kemilüminesans yoluyla ölçülen ROS düzeylerinin

anlamli derecede azaldigi gosterilmiştir. Ayrıca anti-apoptotik genlerden olup iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etki gösteren bcl-2 ve bcl-xl ekspresyonunun, fulleren uygulanan grupta anlamli olarak arttigi tespit edilmiştir (163).

Köpek ince barsaklarında yapılan bir diğ er çalışmada ise iskemi reperfüzyon hasarı esnasında lipid peroksidasyonu sonucu ortamdaki seviyeleri yükselen konjuge alkenler ve malondialdehit ile hasar esnasında doku düzeyi azalan glutatyon seviyelerine bakılmış tir. Fullerenol uygulanan grupta konjuge alken ve malondialdehit seviyeleri anlamli olarak azalırken, glutatyonun ise arttigi gösterilmiştir (164).

Sıç an çizgili kaslarında da iskemi hasarına fullerenin etkisi araştırılmış tir. Bu amaçla sıç an kanında kreatin fosfokinaz ve laktat dehidrogenaz enzim seviyelerine bakılmış tir. Normalde kaslarda kreatin fosfokinaz ve laktat dehidrogenaz enzimi yüksek oranda bulunur. Miyosit hasarı olduğ unda ise bu enzim seviyeleri kanda yükselmektedir. Suda çözünen bir fulleren türevi uygulanan sıç anlarda ise bu enzimlerin kan düzeylerinin anlamli olarak azaldigi gösterilmiştir. Ayrıca bir simülasyon modeliyle soleus kasının kasılmaları karşılaştırıldığında, iskemi ile kasılma gücü önemli ölçüde azalan kasa fulleren uygulandığında kasılma gücünde anlamli bir iyileş me gözlenmiştir (165).

Çeş itli fulleren molekülleri, manyetik rezonans görüntülemeye (MRI) kontrast arttırıcı ajan olarak kullanılmaktadır. Benzer şekilde bazı tümör hücrelerine yüksek afiniteleri kullanılarak veya lazer ış ınlama ile tümör hücrelerinde

fotoakustik görüntüleme elde edilerek kanser tanısı koymada kullanılabilir. Fullerenlerin ışığa maruz bırakıldığında ROS oluşturma özelliği vardır. Bu özellik fullerenleri etkili bir sitotoksik ajan haline getirmektedir. Işık maruziyeti ile bu özellikleri tetiklenen fullerenler bazı tümörlerin tedavisinde fotodinamik terapide kullanılmaktadır. Lazer ışınlama yöntemi ile ısıları arttırılan fullerenler fototermal tedavide de kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda fullerenlerin radyoterapi ve kemoterapi alanlarında da kullanılabileceği gösterilmiştir (166).

Fulleren, ilaç taşıyıcı sistemlerde de görev almaktadır. Bir taşıyıcı nanopartikül kullanıldığında ilaçların farmakokinetiklerini önemli ölçüde değiştirmektedir (167). Kemoterapi ve fotodinamik terapinin beraber kullanımını amaçlayan bir çalışmada melanom oluşturulan farelere, geliştirilen doxorubisin (DOX) yüklenmiş polietilenimin türevi C₆₀ (C₆₀-PEI-DOX) uygulanmış, sonuçta sadece kemoterapötik tedavi alan farelere göre melanom boyutlarında anlamlı oranda daha fazla küçülme tespit edilmiştir (168).

Fullerenlerin bir diğer kullanım alanı HIV üzerinedir. Wudl ve ark. yaptıkları çalışmada C₆₀ fullerenin HIV için spesifik olan HIV proteazı inhibe ettiğini göstermiştir. Ancak fullerenin suda çözünürlüğünün olmaması anti-HIV etkinliğini azaltmıştır. Bunun için birçok farklı fulleren türeviyle yapılan çalışmalarda en iyi anti-HIV sonucu dendrofulleren ile elde edilmiştir (169,170).

Fullerenlerin antimikrobiyal aktiviteleri de araştırılmıştır. Suda çözünebilen bir fulleren türevi olan karboksifulleren fareler üzerinde denenmiştir. Yapılan çalışmada *Streptococcus pyogenes* enfeksiyonunda intraperitoneal olarak

karboksifulleren uygulanan farelerde cilt lezyonu ve ölüm oranlarının azaldığı gösterilmiştir. Bu antimikrobiyal mekanizmanın, karboksifullerenin ortama gelen nötrofillerin sağ kalımını uzatması ve nötrofillerin bakterisidal etkilerini artırması yollarıyla olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak karboksifullerenin Grup A Streptokok enfeksiyonlarında antimikrobiyal özellik gösterdiği ortaya konmuştur (171).

2.4. Diabetes Mellitus (Diyabet)

Diabetes mellitus (diyabet), insülin eksikliği ya da etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik metabolizma hastalığıdır (172).

Diyabetin 4 tipi mevcuttur. Bunlar; pankreasta insülin üretiminden sorumlu beta hücrelerinin yıkımı sonucu insülinin üretilmediği tip I, vücutta insüline direnç gelişen ve bu durumla başa çıkmak için yeterli insülinin üretilmediği tip II, hamilelikte ortaya çıkan gestasyonel diyabet ve ilaçlar ya da genetik defektler sonucu insülin etki mekanizmasının bozulduğu grup olarak sıralanabilir (173).

Tip I diyabet tüm vakaların %5-10'undan sorumludur. Otoimmün, genetik ve çevresel faktörler sonucu oluşan tip I diyabeti önleme yolu henüz bulunamamıştır. Tip II diyabet ise vakaların %90-95'inden sorumludur. Tip II diyabete insülin direnci vardır. Bu direncin üstesinden gelmeye çalışan pankreas yeterli insülini üretilmediğinde insülin üretimini azaltır ya da tamamen durdurur (173).

Diyabet için risk faktörleri tipe göre değişmektedir. Tip I diyabetin risk faktörleri; ırk, aile öyküsü ve çocukluk döneminde geçirilen bazı viral hastalıklardır. Tip II diyabetin risk faktörleri ise aile öyküsü, yaş, hipertansiyon, vücut kitle indeksi artışı, ırk, gestasyonel diyabet öyküsü, düşük doğum ağırlığı, sedanter yaşam, kötü beslenme, sigara ve alkol kullanımı olarak sıralanabilir (173).

2016 yılında 4,4 milyon katılımcıyla yapılan bir meta analizde 1980 yılından 2014 yılına gelindiğinde diyabetin dünya genelinde prevalansı erkeklerde %4,3'ten %9'a; kadınlarda ise %5'ten %7,9'a yükselmiştir. Dünya üzerinde diyabet tanısı konan yetişkin sayısı ise 1980 yılında 108 milyonken 2014 yılında neredeyse 4 katına çıkarak 422 milyona yükselmiştir (174).

Diyabet tanısı kan glukoz seviyesine bakılarak konulmaktadır. Bunun için birkaç yöntem mevcuttur. Açlık glukozu iki farklı gün yapılan ölçümlerde 126 mg/dl (7 mmol/l) veya üzerinde çıkarsa diyabet tanısı konur. Benzer şekilde farklı iki günde yapılan 75 gramlık oral glukoz tolerans testi yüklemesinden 2 saat sonra ölçülen kan glukoz düzeyi 200 mg/dl veya üzerindeyse de diyabet tanısı konur. Diyabet semptomları olan bir hastada herhangi bir zamanda alınan kanda glukoz düzeyi 200 mg/dl veya üzerindeyse başka hiçbir doğrulama gerektirmeksizin diyabet tanısı konur. Glikolize hemoglobin (HbA1c) düzeyi iki farklı gün ölçümde %6,5 ve üzerinde olan hastalara da diyabet tanısı konulmaktadır (175).

Diyabetin pek çok uzak organ komplikasyonu mevcuttur. Diyabet komplikasyonları mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır. Mikrovasküler komplikasyonlar nöropati, retinopati ve nefropatiden oluşur.

Makrovasküler komplikasyonlar ise kardiyovasküler hastalık, serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı olarak sıralanabilir (176,177).

Periferik arter hastalıklarından olan diyabetik ayak sendromu, ayak bileği ve distalinde ülserle karakterize, nöropati, enfeksiyon ve değişken derecede iskemi ile ilişkili ciddi bir diyabet komplikasyonudur. Bu sendrom hayat kalitesinde azalma, ayak amputasyonu ve buna bağlı olarak engelliliğe sebep olmaktadır. Ayak ülserinin varlığı diyabette morbidite ve mortalite açısından önemli bir risk faktörüdür. Bu sendromda iskemi ve inflamasyon çok önemli roller oynamaktadır (178).

Diyabette iskemi reperfüzyon hasarına yatkınlık artmaktadır. Diyabetteki iskemi reperfüzyon hasarına abartılı yanıtın mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır ancak hiperglisemiye bağlı aşırı ROS oluşumu ve endojen antioksidan savunma mekanizmalarının tükenişinin hasarda rol aldığı düşünülmektedir. Diyabette artan intraselüler glukoz, mitokondriyal membran potansiyelini artırmaktadır. Bu potansiyelin artışı, süperoksit üreten elektron taşıma zinciri elemanlarının (örn; ubisemikinon) yarı ömrünü uzatmaktadır. Bunun sonucunda da süperoksit oluşumu artmaktadır. Hiperglisemi aynı zamanda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltarak iskemi reperfüzyon hasarına yatkınlık oluşturur (179).

Ayrıca iskemik ön koşullandırmanın diyabetik hastalarda yapılamadığı gösterilmiştir. Ön koşullandırmada önemli rol oynayan adenozinin aktivitesi diyabetli hastalarda düşük olarak bulunmuştur (179).

Tüm bu etkileri ile sistemik bir hastalık olan diyabetin tedavisinde yaşam tarzı değişiklikleriyle beraber Amerikan Diyabet Birlięi, glikolize hemoglobinin %7'nin altında tutulması, yemek öncesi kapiller plazma glukoz seviyesinin 70-130 mg/dl sınırlarında tutulması ve yemek sonu kapiller plazma glukoz düzeyinin 180 mg/dl'nin altında tutulmasını önermektedir. Ayrıca kan basıncının 130/80 mmHg'nin altında tutulması, LDL'nin 100 mg/dl'nin altında, trigliseritin 150 mg/dl'nin altında ve HDL'nin erkeklerde 40 mg/dl kadınlarda ise 50 mg/dl'nin üzerinde tutulması önerilmektedir. Bu amaçla insülin ve oral antidiyabetik ilaçların kombinasyonu diyabet tedavisinde hasta bazlı olarak kullanılmaktadır (180).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 24.06.2023 tarih ve G.Ü.ET-23.066 kod numaralı etik kurul onayı alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir.

3.1. Denek Seçimi

Bu çalışma için 46 adet erişkin erkek Swiss cinsi albino fare kullanılmıştır. Fareler 21 °C'de sirkadiyen ritimlerine uygun olarak 12 saat gece 12 saat gündüz şartlarında tutulmuştur. Farelerin anestezi almadan 2 saat önce oral alımları kesilmiştir.

Araştırma için fareler kontrol grubunda altı diğer gruplarda sekizer adet olmak üzere rastgele 6 gruba ayrılmıştır (Kontrol [Sham], Diyabet- Kontrol, Diyabet- İskemi, Diyabet- İskemi - Fullerenol C₆₀, Diyabet- İskemi- Sevofluran, Diyabet- İskemi- Fullerenol C₆₀ - Sevofluran).

Deney, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GÜDAM) bünyesindeki hayvan laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Kullanılan Yöntem

Deney için 46 adet fare kontrol grubunda 6 diğer gruplarda sekizer fare olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol (sham) grubu (n=6), ikinci grup diyabet- kontrol grubu (n=8), üçüncü grup diyabet- iskemi grubu (n=8), dördüncü grup diyabet- iskemi- fullerenol C₆₀ grubu (n=8), beşinci grup diyabet-

iskemi- sevofluran grubu (n=8), altıncı grup diyabet- iskemi- fullerenol C₆₀ - sevofluran grubu (n=8) olarak ayrılmıştır.

Tablo 1. Deney Grupları

Grup I	Kontrol (Sham) (K)	n=6
Grup II	Diyabet-Kontrol (D)	n=8
Grup III	Diyabet-İskemi (DİR)	n=8
Grup IV	Diyabet-İskemi-Fullerenol C ₆₀ (FUL-DİR)	n=8
Grup V	Diyabet-İskemi-Sevofluran (DİR-S)	n=8
Grup VI	Diyabet-İskemi- Fullerenol C ₆₀ - Sevofluran (FUL-DİR-S)	n=8

3.3. Deney

Deney gruplarının belirlenmesinden sonra diyabet oluşturulacak farelere intraperitoneal olarak tek doz 55 mg/kg streptozosin enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 72 saat sonra farelerin kuyruk venlerinden kan şekeri bakılmıştır. Kan şekeri 250 mg/dl veya üzerinde gelen fareler diyabetik kabul edilmiştir. Sonraki dört hafta boyunca diyabetin fareler üzerinde kronik etkilerinin gözlenmesi için farelerin rutin bakımları sağlanmıştır. Bu esnada farelerde kilo kaybını ve ketoasidoz gelişimini önlemek için 1-3 U/gün dozunda insülin tedavisi uygulanmıştır. Ardından fareler rastgele 6 gruba ayrılmıştır.

Rastgele gruplara ayrılan farelere deney başlangıcında intramüsküler enjeksiyon yoluyla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Deney ısıtma lambası altında, fareler supin pozisyona getirilerek yapılmıştır. Aseptik koşullarla ciltleri hazırlanan farelere orta hat laparotomi yapılmıştır. Barsaklar ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra infrarenal abdominal aorta (İAA) eksplore edilmiştir. İAA çevre dokulardan ayrıldıktan sonra travma oluşturmayacak biçimde mikrovasküler bir klemp konularak alt ekstremité iskemisi oluşturulmuştur. 120 dakikanın sonunda İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırılarak 120 dakika boyunca reperfüzyon sağlanmıştır. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu iskemi reperfüzyon süresi boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır. İskemi; aorta klemplendikten sonra distalde kalan aortada pulsasyonun kaybolmasıyla doğrulanmıştır. Reperfüzyon ise klemp kaldırıldıktan sonra klempin distalinde pulsasyonun geri gelmesiyle teyit edilmiştir. Farelerin kalp ve akciğerleri alınarak histolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapılmıştır. Alınan dokulardan histolojik değerlendirme yapılacak örnekler %10'luk nötral formaldehitte, biyokimyasal değerlendirme yapılacak örnekler ise -70 °C'de sıvı azot içerisinde muhafaza edilmiştir. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak kurban edilmiştir.

3.3.1. Deney Grupları

I. Kontrol (Sham) Grubu (K, Grup I, n=6)

Bu grupta diyabet oluşturulmayan farelere intramüsküler yolla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Fareler ısıtma lambası altında ve supin pozisyondayken ciltleri aseptik olarak hazırlanmıştır. Orta hat laparotomi yapıldıktan sonra iskemi oluşturulmadan batın ıslak gazlı bez yardımıyla kapatılarak iki saat beklenmiştir. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu süre boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır. İki saat sonunda anestezi altında farelerin kalp ve akciğerleri alınarak bu dokularda histolojik ve biyokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme için dokular %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisine konulmuştur. Biyokimyasal değerlendirme için ise dokular sıvı azot içerisinde -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

II. Diyabet- Kontrol Grubu (D, Grup II, n=8)

Diyabet oluşturulan gruptaki farelere intramüsküler yolla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Fareler ısıtma lambası altında ve supin pozisyondayken ciltleri aseptik olarak hazırlanmıştır. Orta hat laparotomi yapıldıktan sonra iskemi oluşturulmadan

batın ıslak gazlı bez yardımıyla kapatılarak iki saat beklenmiştir. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu süre boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır. İki saat sonunda anestezi altında farelerin kalp ve akciğerleri alınarak bu dokularda histolojik ve biyokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme için dokular %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisine konulmuştur. Biyokimyasal değerlendirme için ise dokular sıvı azot içerisinde -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

III. Diyabet- İskemi Grubu (DİR, Grup III, n=8)

Diyabet oluşturulan gruptaki farelere intramüsküler yolla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Fareler ısıtma lambası altında ve supin pozisyondayken ciltleri aseptik olarak hazırlanmıştır. Farelere orta hat laparotomi uygulandıktan sonra barsaklar ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılarak infrarenal abdominal aorta (İAA) eksplore edilmiştir. İAA çevre dokulardan ayrıldıktan sonra travma oluşturmayacak biçimde mikrovasküler bir klemp konularak alt ekstremité iskemisi oluşturulmuştur. 120 dakikanın sonunda İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırılarak 120 dakika boyunca reperfüzyon sağlanmıştır. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu iskemi reperfüzyon süresi boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır. İki saat sonunda anestezi altında farelerin kalp ve

akciğerleri alınarak bu dokularda histolojik ve biyokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme için dokular %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisine konulmuştur. Biyokimyasal değerlendirme için ise dokular sıvı azot içerisinde -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

IV. Diyabet- İskemi- Fullerenol C₆₀ Grubu (FUL-DİR, Grup IV, n=8)

Diyabet oluşturulan gruptaki farelere intraperitoneal olarak 100 µg/kg dozda fullerenol C₆₀ uygulanmıştır. Otuz dakika sonra intramüsküler yolla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Fareler ısıtma lambası altında ve supin pozisyondayken ciltleri aseptik olarak hazırlanmıştır. Orta hat laparotomi yapıldıktan sonra iskemi oluşturulmadan batın ıslak gazlı bez yardımıyla kapatılarak iki saat beklenmiştir. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu süre boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır. İki saat sonunda anestezi altında farelerin kalp ve akciğerleri alınarak bu dokularda histolojik ve biyokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme için dokular %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisine konulmuştur. Biyokimyasal değerlendirme için ise dokular sıvı azot içerisinde -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

V. Diyabet- İskemi- Sevofluran Grubu (DİR-S, Grup V, n=8)

Diyabet oluşturulan gruptaki farelere intramüsküler yolla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Fareler ısıtma lambası altında ve supin pozisyondayken ciltleri aseptik olarak hazırlanmıştır. Farelere orta hat laparotomi uygulandıktan sonra barsaklar ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılarak infrarenal abdominal aorta (İAA) eksplore edilmiştir. İAA çevre dokulardan ayrıldıktan sonra travma oluşturmayacak biçimde mikrovasküler bir klemp konularak alt ekstremité iskemisi oluşturulmuştur. 120 dakikanın sonunda İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırılarak 120 dakika boyunca reperfüzyon sağlanmıştır. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu iskemik reperfüzyon süresi boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır.

İskemik ve reperfüzyon süresince fareler saydam yapıda, üzerinde gaz giriş çıkışına olanak sağlayan delik bulunan kapalı bir fanus içerisinde bekletilmiştir. Bu esnada bir gaz hattı düzeneği kurularak fanus içerisine, basınçlı oksijen tankından akım ölçer aracılığıyla oksijen ve standart volatil ajan vaporizatörü aracılığıyla farelerde minimum alveolar konsantrasyon (MAK) 1 olacak şekilde %2,3 sevofluran verilmiştir. İki saat sonunda anestezi altında farelerin kalp ve akciğerleri alınarak bu dokularda histolojik ve biyokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak kurban edilmektedir. Histolojik inceleme için dokular %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisine

konulmuştur. Biyokimyasal değerlendirme için ise dokular sıvı azot içerisinde -70 °C’de muhafaza edilmiştir.

VI. Diyabet- İskemi- Fullerenol C₆₀- Sevofluran Grubu (FUL-DİR-S, Grup VI, n=8)

Diyabet oluşturulan gruptaki farelere intraperitoneal olarak 100 µg/kg dozda fullerenol C₆₀ uygulanmıştır. Otuz dakika sonra intramüsküler yolla 5 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Alfazyne %2, Ege Vet.) ve 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon, Parke Davis, USA) uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Fareler ısıtma lambası altında ve supin pozisyondayken ciltleri aseptik olarak hazırlanmıştır. Farelere orta hat laparotomi uygulandıktan sonra barsaklar ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılarak infrarenal abdominal aorta (İAA) eksplore edilmiştir. İAA çevre dokulardan ayrıldıktan sonra travma oluşturmayacak biçimde mikrovasküler bir klemp konularak alt ekstremité iskemisi oluşturulmuştur. 120 dakikanın sonunda İAA’daki mikrovasküler klemp kaldırılarak 120 dakika boyunca reperfüzyon sağlanmıştır. Periton boşluğundan sıvı ve ısı kaybını en aza indirmek için batının açık olduğu iskemi reperfüzyon süresi boyunca peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulanıp batın insizyonu ıslak gazlı bezle geçici olarak kapatılmıştır.

İskemi ve reperfüzyon süresince fareler saydam yapıda, üzerinde gaz giriş çıkışına olanak sağlayan delik bulunan kapalı bir fanus içerisinde bekletilmiştir. Bu esnada bir gaz hattı düzeneği kurularak fanus içerisine, basınçlı oksijen tankından akım ölçer aracılığıyla oksijen ve standart volatil ajan vaporizatörü aracılığıyla

farelerde minimum alveolar konsantrasyon (MAK) 1 olacak şekilde %2,3 sevofluran verilmiştir. İki saat sonunda anestezi altında farelerin kalp ve akciğerleri alınarak bu dokularda histolojik ve biyokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Dokuları alınan fareler abdominal aortadan kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme için dokular %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisine konulmuştur. Biyokimyasal değerlendirme için ise dokular sıvı azot içerisinde -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. Biyokimyasal İnceleme

Farelerin sakrifikasyonu sonrasında elde edilen kalp ve akciğer doku örneklerinden Total Oksidatif Durum (TOS), Total Antioksidan Durum (TAS), bunların bir oransal karşılaştırması olan Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve Paraoksonaz-1 (PON-1) ölçülmüştür.

TOS ölçümünde, TOS kiti (RelAssay Diagnostic[®], Türkiye) kullanılmıştır. TOS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, 500 ml reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 ml örnek karıştırılıp spektrofotometre (NanoDrop[®] ND-1000) ile 530 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır (A1). Karışıma 25 ml reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenmiştir. Tüp parafilmle kaplanarak 37 °C'deki sıcak su banyosunda (Şimşek Laborteknik[®]) 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 530 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır (A2). Standart ölçümü için kitte verilen, 10 µmol/L hidrojen peroksit (H₂O₂) ekivalan/ litre içeren standart çözeltisi kullanılmıştır. İlk ve ikinci ölçümler üçer defa yapılarak ortalaması alınmıştır. İkinci

absorbans değerinden (A2) ilk absorbans değeri (A1) çıkarılarak absorbans değişimi (Δ Abs) hesaplanmıştır. TOS düzeyleri kitte belirtilen formülle hesaplanmış ve mmol H₂O₂ Eq/L olarak ifade edilmiştir.

$$\text{TOS} = [(\Delta\text{Abs örnek}) / (\Delta\text{Abs standart})] \times \text{Standart Konsantrasyonu (10 } \mu\text{mol/L)}$$

Total antioksidan seviye ölçümünde, TAS kiti (RelAssay Diagnostic®, Türkiye) kullanılmıştır. TAS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, 500 ml reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 ml örnek karıştırılıp spektrofotometre ile (NanoDrop® ND-1000), 660 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır (A1). Ependorf tüpündeki karışıma 75 ml reaktif 2 (renkli 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit), (ABTS) solüsyonu eklenmiştir. Tüp parafilmle kaplanarak, 37 °C deki sıcak su banyosunda (Şimşek Labortechnik®) 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 660 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır (A2). Standart ölçümü için, 1 mmol/L konsantrasyondaki Trolox Eq çözeltisi örnek yerine kullanılmıştır. İlk ve ikinci ölçümler üçer defa yapılarak ortalaması alınmıştır. İkinci absorbans değerinden (A2) ilk absorbans değeri (A1) çıkarılarak absorbans değişimi (Δ Abs) hesaplanmıştır. TAS düzeyleri kitte belirtilen formülle hesaplanmış ve mmol Trolox Eq/L olarak ifade edilmiştir.

$$\text{TAS} = [(\Delta\text{Abs H}_2\text{O} - \Delta\text{Abs Örnek}) / (\Delta\text{Abs H}_2\text{O} - \Delta\text{Abs Standart})]$$

Oksidatif Stres İndeksi (OSI) oksidatif stresin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir ve Toplam Oksidan Status (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak tarif edilir. Örneklerin OSI değerleri hesaplanırken TAS düzeyleri μmol birimine çevrilmiştir. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edilmiştir.

$$[\text{OSI (Arbitrary 34 Unit)} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equivalent/ L}) / \text{TAS (mmol Trolox Equivalent/L)} \times 100].$$

Paraoksonaz 1 aktivitesi ölçümünde paraokson substrat olarak kullanılmıştır. Serum PON-1 seviyeleri, modifiye Eckerson yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. İlk paraokson hidroliz oranları (0-dietil-0-p-nitro-fenilfosfat; Sigma Chemical Co., Londra, İngiltere), 37 ° C'de 405 nm'de serbest kalan p-nitrofenol ölçülerek belirlenmiş ve sonuçlar U/L olarak verilmiştir.

3.5. Histolojik İnceleme

Sakrifiye edilen farelerden alınan kalp ve akciğer doku örnekleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içerisinde tespit edildikten sonra derecesi artan etil alkol serilerinden (%70, %80, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilmiştir. Bu işlemin sonunda ksilolde şeffaflandırma işlemi yapılan dokular parafin içerisine gömülerek parafin bloklar elde edilmiştir. Parafin bloklardan mikrotom ile (Leica RM2245, Germany) 4 μm kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitler hematoksiyen-eozin (H&E) ile boyanarak entellan ile kapatılmıştır. Hazırlanan kesitlerden Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskopunda elde edilen

görüntüler, Leica LAS V4.12 programında değerlendirilmiştir. Örneklerin hepsi deney gruplarından habersiz olan aynı histolog tarafından incelenmiştir.

H&E ile boyanan akciğer doku kesitlerinde histopatolojik değişiklikler Kao ve ark.'nın daha önceki bir çalışması (2011_doi: 10.1016/j.jss.2011.03.028) temel alınarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla akciğer hasarı, rastgele seçilen 10 alanda alveolar duvar ödemi, hemoraji, vasküler konjesyon ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu parametrelerinin 0'dan 5'e kadar skorlanmasıyla (0, normal; 5, şiddetli) ve bu skorların toplanmasıyla elde edilen toplam hasar skoru ile belirtilmiştir (0–5: normal ya da minimal hasar; 6–10: hafif hasar; 11–15: orta düzeyde hasar; 16–20: şiddetli hasar).

H&E ile boyanan kalp doku örnekleri 200× ve 400× büyütmelerde incelenerek miyokard hasarı yarı kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme için daha önceki benzer iki çalışma (Papoutsidakis ve ark. 2010_DOI: 10.5114/aoms.2011.22070; Takhtfooladi ve ark. 2015_ DOI: 10.5935/abc.20150059) örnek alınarak mikroskobik kanama, ödem, nötrofil infiltrasyonu, eozinofil infiltrasyonu, çizgilenme kaybı ve nekroz parametreleri Tablo 2'de belirtildiği gibi skorlanmıştır. Yaklaşık 10 alanda bu parametreler değerlendirilerek her bir parametre için elde edilen skorların toplamı ile de her bir örneğe ait hasar skoru belirlenmiştir.

Tablo 2. Histolojik derecelendirme (Papoutsidakis ve ark.)

	0	1	2	3	Büyütme
Nekroz	Yok ya da 3'ten daha az görüntü alanında 1-3 nekrotik hücre	En az 3 alanda her bir alanda 3 ya da daha az nekrotik hücre; ya da en fazla 3 alanda 4-6 nekrotik hücre	En az 4 alanda her bir alanda 4-6 nekrotik hücre; ya da en fazla 3 alanda 6'dan fazla nekrotik hücre	En az 4 alanda her bir alanda 6'dan fazla nekrotik hücre	400×
Polimorfo nükleer lökosit	Yok ya da 3'ten daha az görüntü alanında 1-3 hücre	En az 3 alanda her bir alanda 3 ya da daha az hücre ya da en fazla 3 alanda 4-6 hücre	En az 4 alanda her bir alanda 4-6 hücre; ya da en fazla 3 alanda 6'dan fazla hücre	En az 4 alanda her bir alanda 6'dan fazla hücre	400×
Eozinofil	Yok ya da 3'ten daha az görüntü alanında 1-3 hücre	En az 3 alanda her bir alanda 3 ya da daha az hücre ya da en fazla 3 alanda 4-6 hücre	En az 4 alanda her bir alanda 4-6 hücre; ya da en fazla 3 alanda 6'dan fazla hücre	En az 4 alanda her bir alanda 6'dan fazla hücre	400×
Çizgilenme kaybı	Yok ya da 3'ten daha az görüntü alanında 1-5 hücre	En az 3 alanda her bir alanda 5 ya da daha az hücre ya da en fazla 3 alanda 5-10 hücre	En az 4 alanda her bir alanda 5-10 hücre; ya da en fazla 3 alanda 6'dan fazla hücre	En az 4 alanda her bir alanda 10'dan fazla hücre	400×
Ödem	Yok	En az 3 alanda alanın %10'dan daha azı ya	En az 3 alanda alanın %10-30'u ya da 3'ten	En az 3 alanda alanın %30'undan fazlası	250×

		da 3'ten daha az alanda alanın %10'undan fazlası	daha az alanda alanın %30'undan fazlası		
Mikroskobik kanama	Yok	En az 3 alanda alanın %10'dan daha azında mevcut ya da 3'ten daha az alanda alanın %10'undan fazlasında mevcut	En az 3 alanda alanın %10-30'unda mevcut ya da 3'ten daha az alanda alanın %30'undan fazlasında mevcut	En az 3 alanda alanın %30'undan fazlasında mevcut	250×

3.6. İstatistiksel Analizler

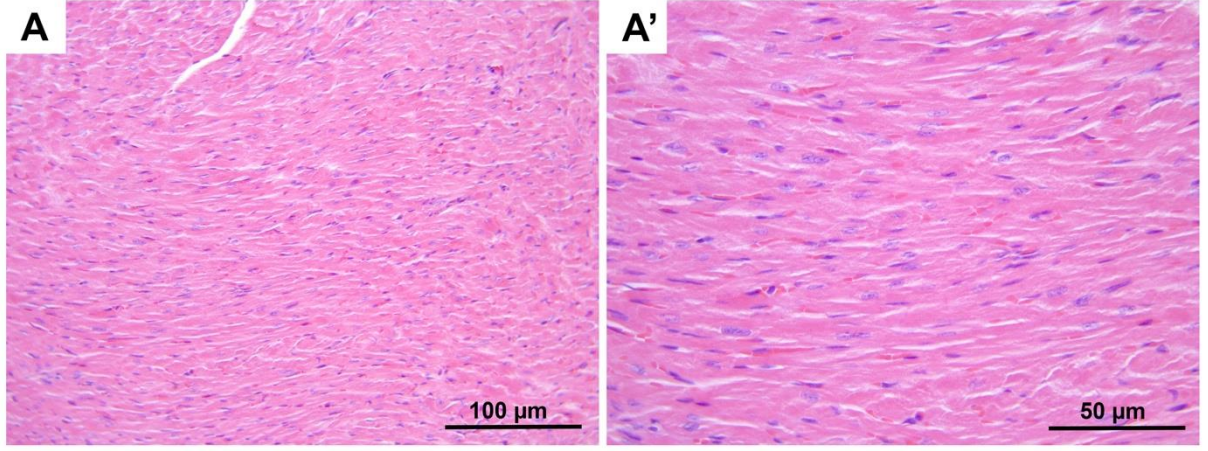
Çalışma verileri SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 22 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelenmiştir. Bulgular ortalama $\pm$ standart hata (SH) olarak verilmiştir. Veriler Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık tespit edilen değişkenler, Bonferoni düzeltmeli Mann-Withney U testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için toplam tip I hata düzeyi %5 olarak kullanılmış, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

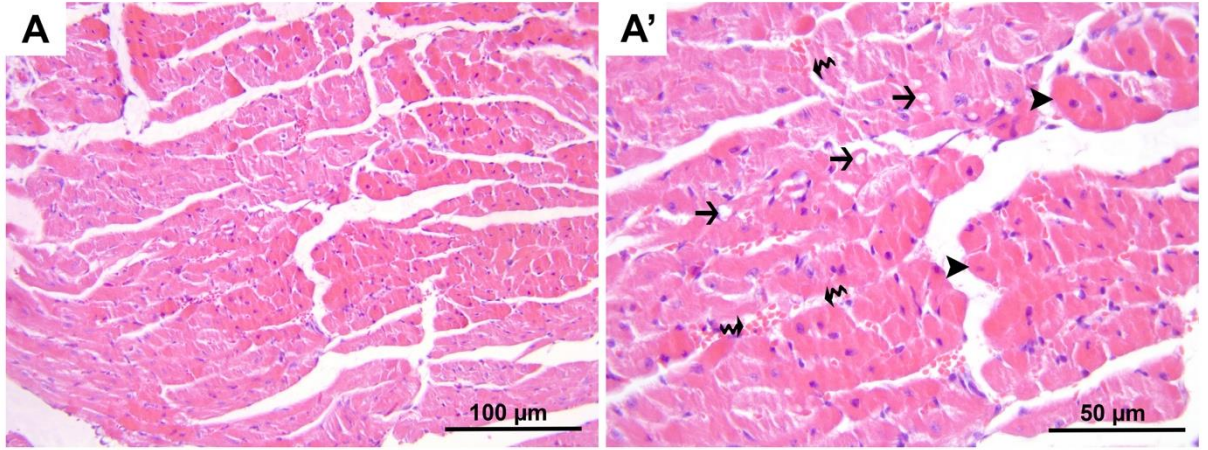
4.1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Kalp doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde, kontrol grubunda, boyutları ve sitoplazmik boyanma özellikleri benzer olan ve normal boyutlarda ökromatik nükleuslara sahip kardiyomiyositler izlenmiştir (Resim 1). D grubu hayvanların örneklerinde, kardiyomiyosit dejenerasyonun farklı morfolojik görünüşleri dikkati çekmiştir. Hipereozinofilik sitoplazmalarıyla belirgin, yer yer atrofik yer yer hipertrofik olan kardiyomiyositlerin yanı sıra bazı kardiyomiyositlerde değişen düzeylerde ve boyutlarda sitoplazmik vakuoller görülmüştür. Ayrıca, kardiyomiyositler arası mesafenin interstisyel ödem nedeniyle açıldığı ve bazı alanlarda buna eritrosit ekstrasvazasyonunun da eşlik ettiği izlenmiştir (Resim 2). Kontrol ile karşılaştırıldığında DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S grubu hayvanların örneklerinde ve ayrıca D grubu ile karşılaştırıldığında da DİR grubunda nekrotik kardiyomiyosit düzeyinin belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşın DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında nekrotik hücrelerin DİR grubuna göre belirgin daha az olduğu gözlenmiştir (Tablo 3). İR sonucu tüm İR gruplarında belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu gözlenmiştir. Özellikle DİR grubuna ait örneklerde D grubuyla karşılaştırıldığında daha belirgin olan kardiyomiyosit dejenerasyonunun yanı sıra konjesyone damarlar ve yer yer de mikroskobik kanama odakları dikkati çeken bulgular olarak görülmüştür (Resim 3A, 3B ve 3B'). Bunlardan başka, yer yer eritrosit ekstrasvazasyonunun da eşlik ettiği interstisyel ödemin daha yaygın ve şiddetli

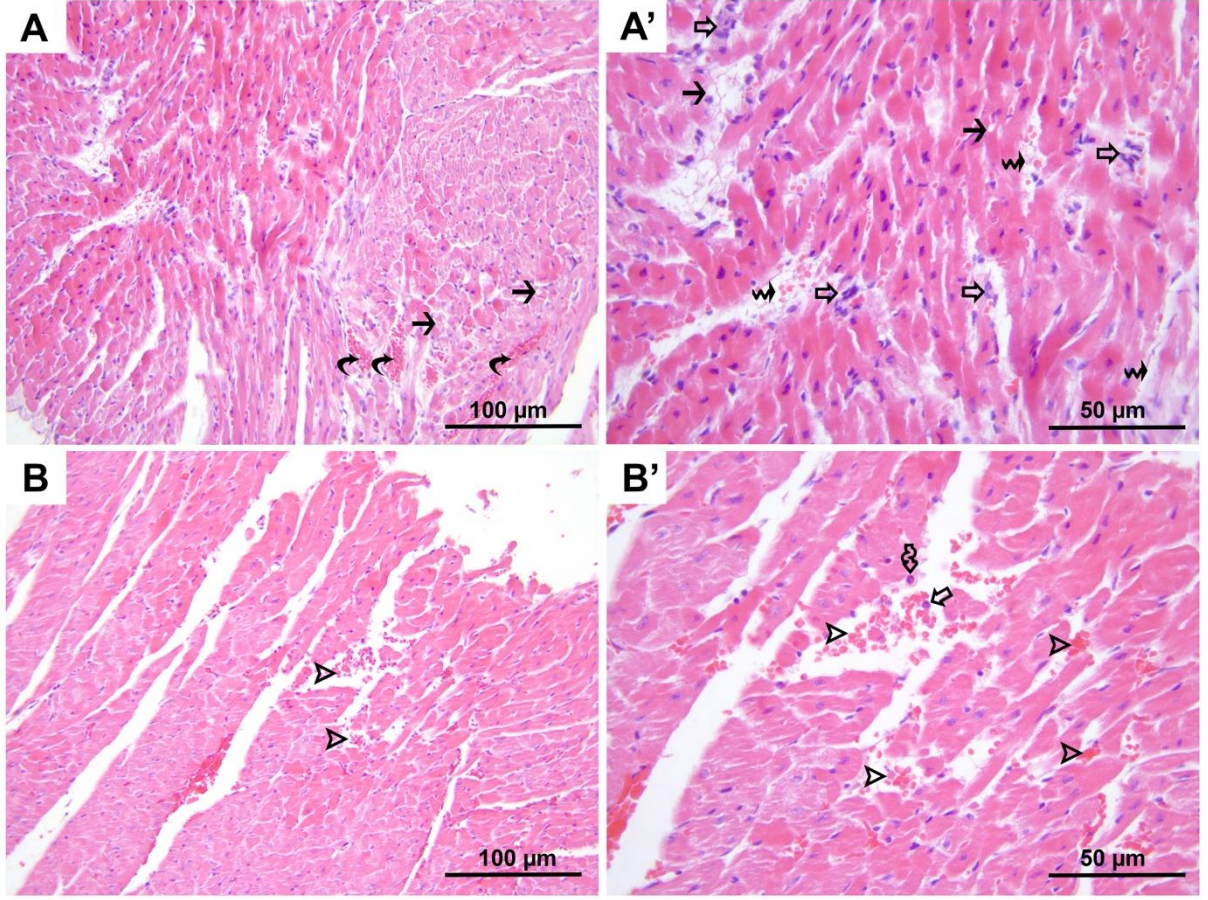
olması ve ayrıca odaklar halinde polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu yine DİR grubunun D grubu ile karşılaştırıldığında dikkati çeken önemli bulgular olarak izlenmiştir (Resim 3A'). DİR, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarının kalp doku örneklerinde kontrol ve D grubu örnekleriyle karşılaştırıldığında belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu görülmüş iken; DİR grubu ile karşılaştırıldığında infiltrasyon düzeyinin FUL-DİR grubunda belirgin olarak düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3). DİR grubunda yine kontrol ve D grubu ile karşılaştırıldığında belirgin eozinofil artışı gözlenmiş iken (Resim 3B'); DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında eozinofil düzeyi DİR grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük bulunmuştur. Tüm grupların örneklerinde interstisyel ödemin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak artmış olduğu gözlenmiştir. DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna kıyasla interstisyel ödem daha şiddetli iken; FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuyla karşılaştırıldığında interstisyel ödem belirgin olarak düşük düzeyde tespit edilmiştir (Resim 2, 3, 4, 5, 6). Çizgilenme kaybı ve mikroskobik kanama bakımından gruplar arası anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Toplam hasar skoru göz önüne alındığında, kontrol grubuna göre tüm gruplarda kardiyak hasar skorunda belirgin artış görülmüştür. DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarının kardiyak hasar skoru D grubuna göre belirgin yüksek bulunurken; DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S grubunda bu hasarın DİR grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak az olduğu izlenmiştir (Tablo 3).



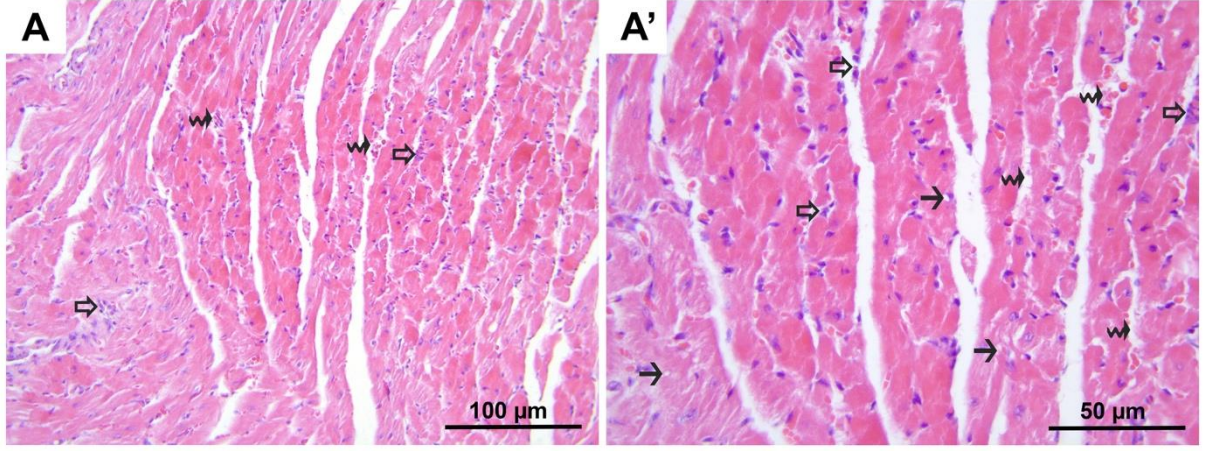
Resim 1. Kontrol grubuna ait H&E boyalı kalp doku kesiti temsili mikrografları. Normal boyutlarda ökromatik nükleusa sahip, homojen boyut ve sitoplazmik boyanma özellikleri sergileyen kardiomyositler görülüyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



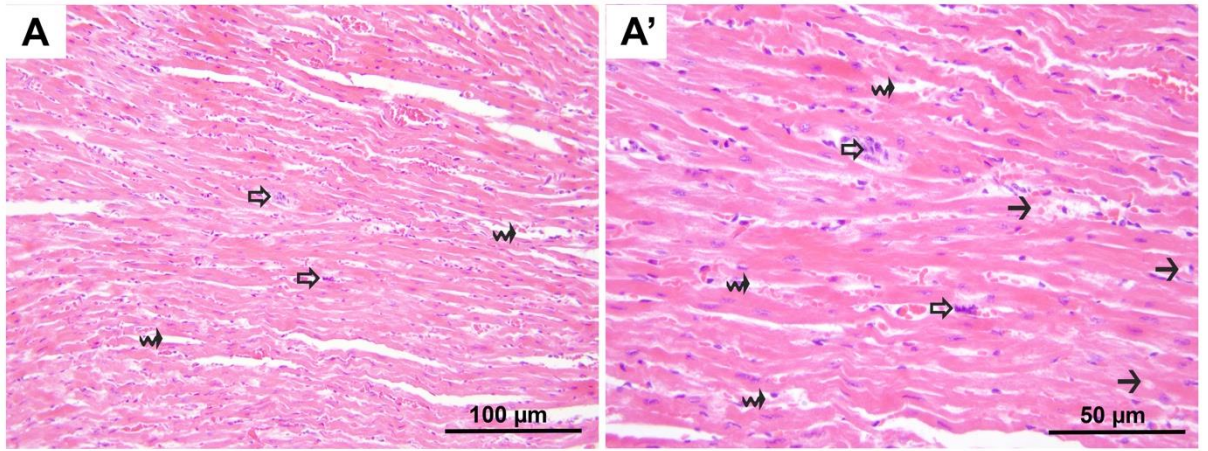
Resim 2. D grubuna ait H&E boyalı kalp doku kesiti temsili mikrografları. Kardiomyositlerin boyutlarının ve sitoplazmik boyanma özelliklerinin farklılıklar gösterdiği, yer yer hipereozinofilik sitoplazmalı, atrofik ya da hipertrofik olabilen kardiomyositlerin (**siyah ok başları**) yanı sıra bazı hücrelerin de sitoplazmalarında değişen boyutlarda vakuoller (**siyah oklar**) dikkati çekiyor. Kardiomyositler arası mesafenin açıldığı interstisyel ödeme (**siyah dalgalı oklar**) yer yer eritrosit ekstrasvazasyonu eşlik ediyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



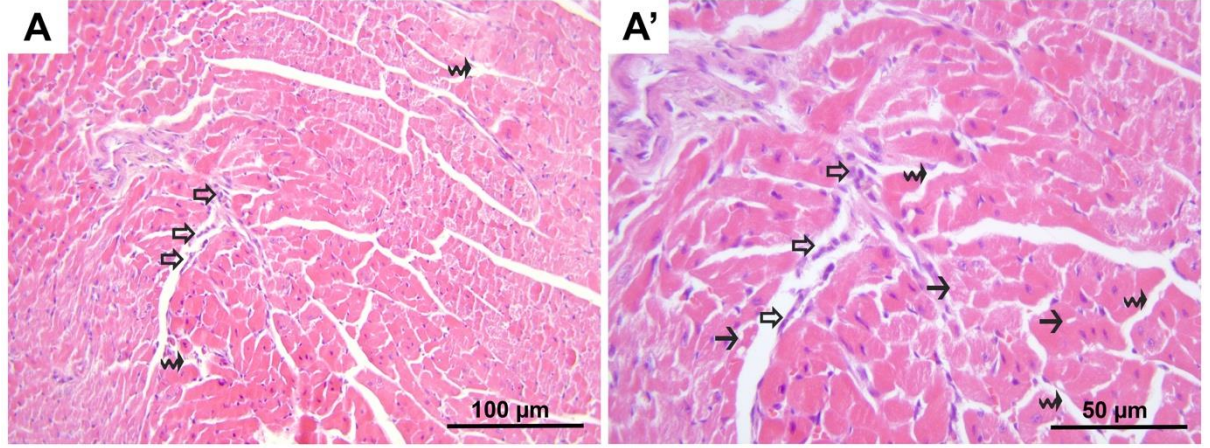
Resim 3. DİR grubuna ait H&E boyalı kalp doku kesiti temsili mikrografları. Kardiyomiyositlerde hipereozinofili yanı sıra yer yer şiddetli olabilen vakuolizasyon (**siyah oklar, A ve A'**) görülüyor. Konjesyonun (**siyah kıvrık oklar, A**) yanı sıra mikroskobik kanama odakları (**içi boş ok başları, B ve B'**) dikkati çekiyor. Kontrol ve D gruplarıyla karşılaştırıldığında belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (**içi boş oklar, A' ve B'**) izleniyor. Yer yer eritrosit ekstravazasyonunun da eşlik ettiği interstisyel ödemin (**siyah dalgalı oklar, A'**) daha yaygın ve şiddetli olduğu ve ayrıca nötrofillerle birlikte lezyon alanında eozinofillerin de yer aldığı (**içi boş dalgalı ok, B'**) dikkati çekiyor. A ve B, 200× büyültme; A' ve B', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



Resim 4. DİR-S grubuna ait H&E boyalı kalp doku kesiti temsili mikrografları. Kardiyomiyositlerde hipereozinofili yanı sıra vakuolizasyon (siyah oklar, A') ile karakterize dejeneratif değişiklikler görülüyor. Yer yer eritrosit ekstrevasyonunun ya da polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun da eşlik edebildiği interstisyel ödem (siyah dalgalı oklar, A ve A') dikkati çekiyor ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (içi boş oklar, A ve A') izleniyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



Resim 5. FUL-DİR grubuna ait H&E boyalı kalp doku kesiti temsili mikrografları. İskemi reperfüzyon yapılan diğer gruplarla karşılaştırıldığında vakuoler dejenerasyon gösteren kardiyomiyositlerin (siyah oklar, A'), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun (içi boş oklar, A ve A') ve interstisyel ödemin (siyah dalgalı oklar, A ve A') görece daha az olduğu dikkati çekiyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



Resim 6. FUL-DİR-S grubuna ait H&E boyalı kalp doku kesiti temsili mikrografları. Kardiyomiyositlerde vakuolizasyon (*siyah oklar, A'*), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (*içi boş oklar, A ve A'*) ve interstisyel ödemin (*siyah dalgalı oklar, A ve A'*) DİR ve DİR-S gruplarıyla karşılaştırıldığında daha hafif düzeyde olduğu dikkati çekiyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.

Tablo 3. Fare kalp dokusu histopatolojik bulguları [Ort ± SH]

	Grup K (n=6)	Grup D (n=7)	Grup DİR (n=7)	Grup DİR-S (n=7)	Grup FUL-DİR (n=7)	Grup FUL-DİR-S (n=7)	P**
Nekroz	0.57±0.30	1.43±0.37	3.00±0.00*,&	1.83±0.48*,+	1.43±0.20+	1.71±0.36*,+	0.001
Polimorfonükleer lökosit	0.00±0.00	0.43±0.20	2.33±0.33*,&	2.00±0.26*,&	1.43±0.27*,&,+	1.72±0.28*,&	<0.0001
Eozinofil	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.21*,&	0.00±0.00+	0.00±0.00+	0.00±0.00+	0.028
Çizgilenme kaybı	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	-
Ödem	0.14±0.14	1.00±0.22*	2.33±0.21*,&	2.00±0.26*,&	1.43±0.20*,+	1.57±0.20*,+	<0.0001
Mikroskopik kanama	0.14±0.14	0.43±0.20	0.83±0.31	0.50±0.22	0.71±0.18	0.57±0.20	0.285
Toplam hasar skoru	0.86±0.34	3.86±0.63*	8.83±0.70*,&	6.33±0.56*,&,+	5.00±0.58*,+	5.71±0.52*,&,+	<0.0001

p**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

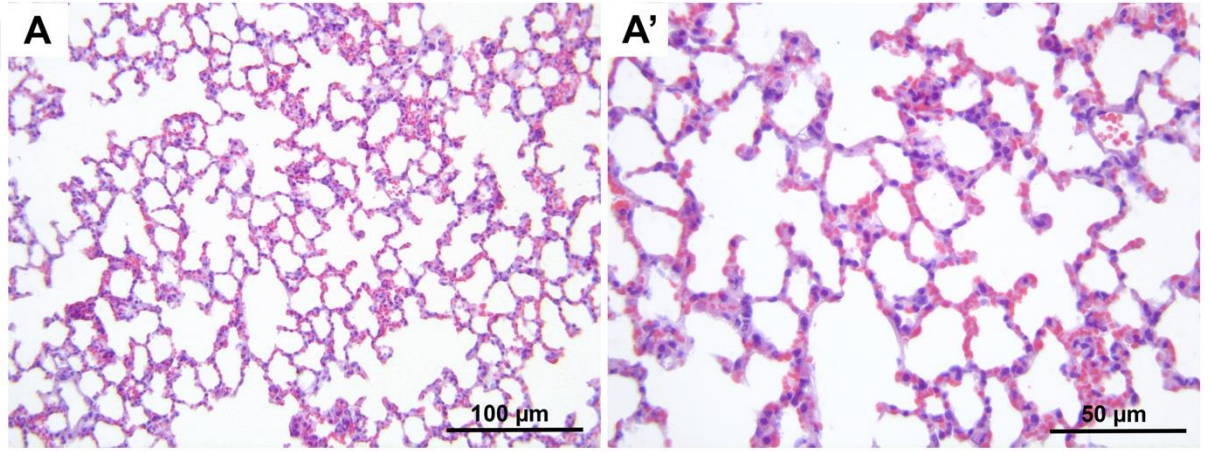
* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup D ile karşılaştırıldığında

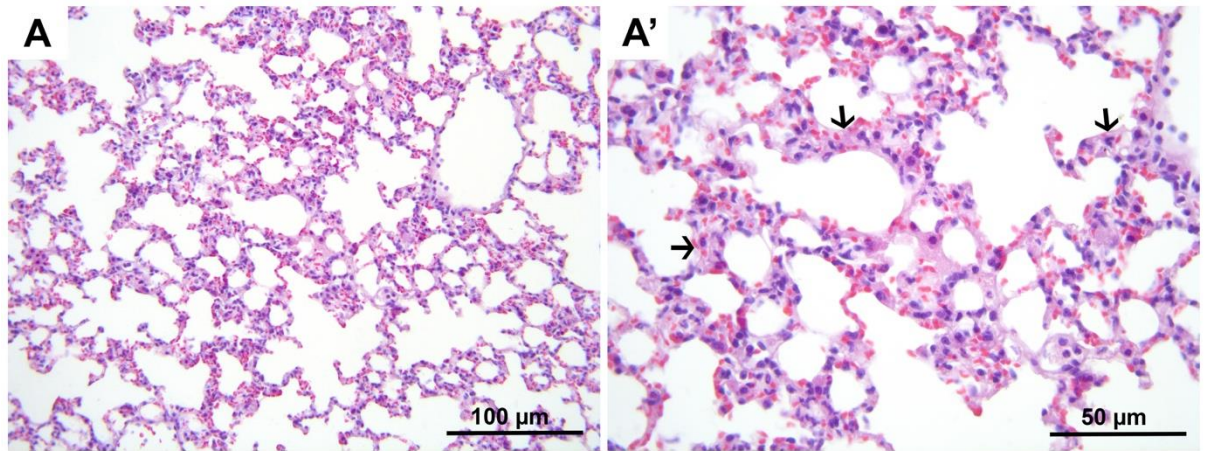
+ $p < 0.05$: Grup DİR ile karşılaştırıldığında

Akciğer dokularının histopatolojik değerlendirmesinde, kontrol ile karşılaştırıldığında alveolar duvar ödeminin tüm gruplarda belirgin olarak arttığı görülmüştür. Kontrol grubu akciğer örnekleri görece normal kalınlıkta alveol duvarına sahipken (Resim 7), D grubundan doku örneklerinde alveolar duvar kalınlaşması ve bir miktar da polimorfonükleer ve mononükleer lökosit infiltrasyonu dikkati çekmiştir (Resim 8). Alveolar duvar ödemi DİR, DİR-S gruplarında D grubuna göre daha belirgin iken; FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuyla karşılaştırıldığında daha hafif düzeyde bir alveolar duvar ödemi gözlenmiştir. DİR grubunda kontrol ve D grupları ile karşılaştırıldığında belirgin alveolar hemoraji görülmüş iken; DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında alveolar hemorajinin DİR grubuna göre anlamlı derecede hafif olduğu görülmüştür. Bununla birlikte DİR-S grubunda hemoraji düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. DİR ve DİR-S gruplarında hem kontrol hem de D grubuyla karşılaştırıldığında; FUL-DİR-S grubunda ise sadece kontrol grubuna göre belirgin vasküler konjesyon gözlenmiştir. Vasküler konjesyonun DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre belirgin olarak az olduğu da dikkati çekmiştir. Tüm gruplarda polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu kontrole göre belirgin olarak fazla izlenmiştir. DİR grubunda polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ayrıca D grubuna göre de anlamlı düzeyde yüksek iken (Resim 9); DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise DİR grubu ile karşılaştırıldığında polimorfonükleer lökosit infiltrasyon düzeyi belirgin olarak düşük bulunmuştur (Resim 10, 11 ve 12). Akciğer dokusu toplam hasar skoru

değerlendirildiğinde ise tüm grupların akciğer hasar skoru kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Yanı sıra, DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarının akciğer hasarı D grubuyla karşılaştırıldığında belirgin düzeyde şiddetli iken, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarının akciğer hasarı skorları DİR grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük tespit edilmiştir (Tablo 4).

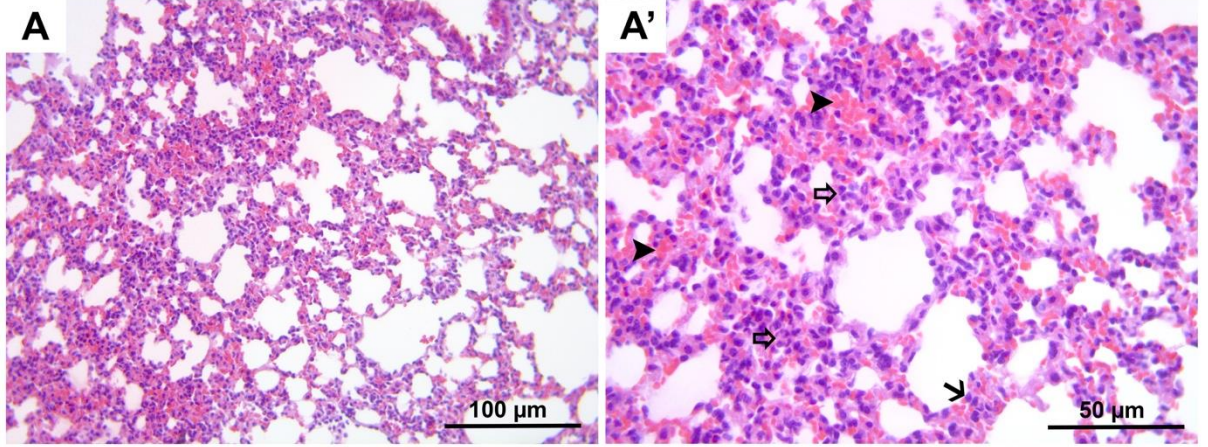


Resim 7. Kontrol grubuna ait H&E boyalı akciğer doku kesiti temsili mikrografları. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksin-eozin boyası.

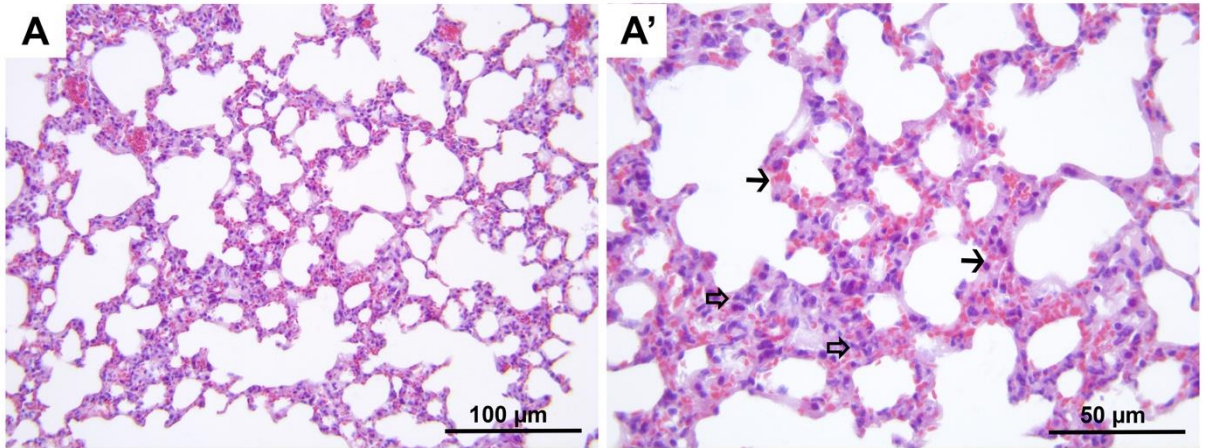


Resim 8. D grubuna ait H&E boyalı akciğer doku kesiti temsili mikrografları. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin düzeyde şiddetli akciğer hasarı gözlemlenmektedir.

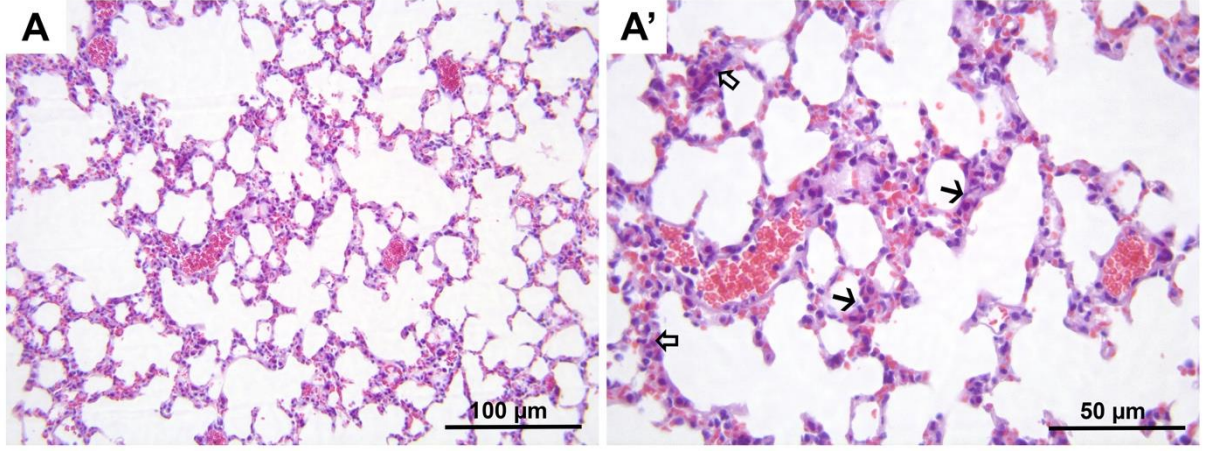
karşılaştırıldığında alveolar duvar kalınlığının (**siyah oklar, A'**) görece arttığı dikkati çekiyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



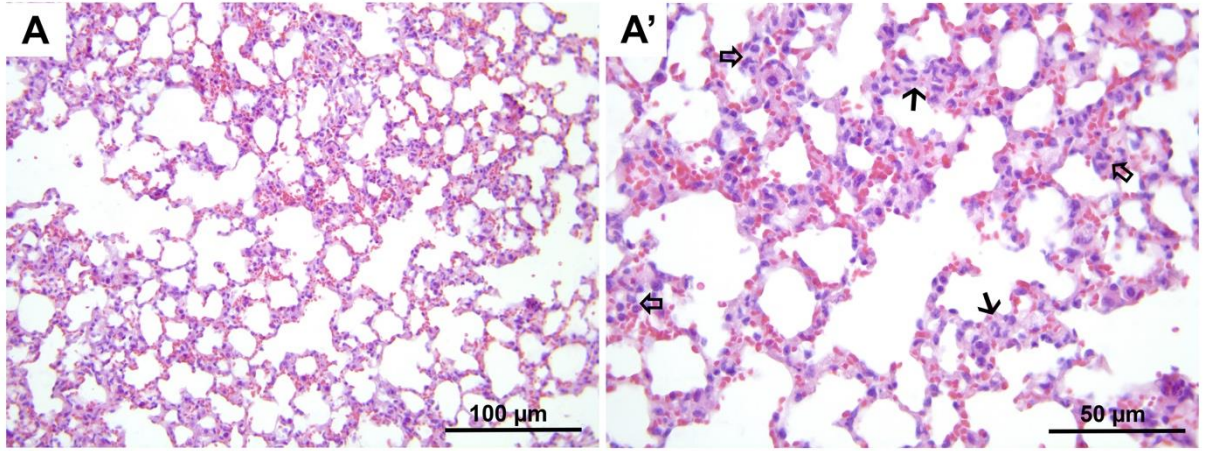
Resim 9. DİR grubuna ait H&E boyalı akciğer doku kesiti temsili mikroyrafları. Tüm gruplarla karşılaştırıldığında belirgin hemoraji (**siyah ok başları, A'**), polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (**içi boş oklar, A'**) ve alveol duvarı ödemi (**siyah ok, A'**) dikkati çekiyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



Resim 10. DİR-S grubuna ait H&E boyalı akciğer doku kesiti temsili mikroyrafları. Kontrol ve D grubuyla karşılaştırıldığında belirgin alveol duvar ödemi (**siyah oklar, A'**) görülürken, DİR grubuna göre daha az polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (**içi boş oklar, A'**) gözleniyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



Resim 11. FUL-DİR grubuna ait H&E boyalı akciğer doku kesiti temsili mikrografları. DİR grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak az düzeyde alveol duvar ödemi (**siyah oklar, A'**) ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu (**içi boş oklar, A'**) görülüyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.



Resim 12. FUL-DİR-S grubuna ait H&E boyalı akciğer doku kesiti temsili mikrografları. DİR grubuna göre alveol duvar ödeminin (**siyah oklar, A'**) ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun (**içi boş oklar, A'**) belirgin olarak daha az olduğu görülüyor. A, 200× büyültme; A', 400× büyültme. H&E, hematoksilin-eozin boyası.

Tablo 4. Fare akciğer dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup D (n=7)	Grup DİR (n=7)	Grup DİR-S (n=7)	Grup FUL-DİR (n=7)	Grup FUL-DİR-S (n=7)	P**
Alveolar duvar ödemi	0.67 $\pm$ 0.23	1.63 $\pm$ 0.24*	2.82 $\pm$ 0.22*,&	2.33 $\pm$ 0.20*,&	1.66 $\pm$ 0.27*,+	1.87 $\pm$ 0.13*,+	<0.0001
Hemoraji	0.26 $\pm$ 0.10	0.42 $\pm$ 0.18	1.48 $\pm$ 0.30*,&	0.70 $\pm$ 0.20*,+	0.47 $\pm$ 0.14+	0.61 $\pm$ 0.16+	0.001
Vasküler konjesyon	0.77 $\pm$ 0.12	1.04 $\pm$ 0.17	2.20 $\pm$ 0.11*,&	1.58 $\pm$ 0.17*,&+	1.22 $\pm$ 0.16+	1.30 $\pm$ 0.21*,+	<0.0001
Polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu	1.02 $\pm$ 0.13	1.93 $\pm$ 0.20*	3.55 $\pm$ 0.41*,&	2.55 $\pm$ 0.24*,+	2.20 $\pm$ 0.17*,+	2.51 $\pm$ 0.19*,+	<0.0001
Toplam hasar skoru	2.73 $\pm$ 0.28	5.02 $\pm$ 0.50*	10.05 $\pm$ 0.44*,&	7.17 $\pm$ 0.40*,&+	5.56 $\pm$ 0.36*,+	6.30 $\pm$ 0.32*,&+	<0.0001

p**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup D ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Grup DİR ile karşılaştırıldığında

4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları

Gruplar kalp dokusu TAS düzeyi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.045$). TAS düzeyi DİR grubunda K ve D gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur ($p=0.007$, $p=0.031$, sırasıyla). Ayrıca DİR grubunda D grubuna göre de TAS düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.012$), (Tablo 5).

Gruplar kalp dokusu TOS düzeyi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür ($p=0.011$). TOS düzeyi DİR grubunda K ve D gruplarına göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur ($p < 0.0001$, $p=0.004$, sırasıyla). Ayrıca FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR

grubuna göre TOS düzeyi anlamlı azalmış olarak saptanmıştır ($p=0.004$, $p=0.005$, sırasıyla), (Tablo 5).

Gruplar kalp dokusu OSI açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.0001$). OSI düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur ($p<0.0001$, $p<0.0001$, sırasıyla). Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSI anlamlı azalmış olarak saptanmıştır ($p=0.006$, $p<0.0001$, $p<0.0001$, sırasıyla), (Tablo 5).

Gruplar kalp dokusu PON-1 enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.0001$). PON-1 enzim aktivitesi DİR, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur ($p<0.0001$, $p=0.029$, $p<0.0001$, $p<0.0001$, sırasıyla). Benzer olarak PON-1 enzim aktivitesi DİR, DİR-S, ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak izlenmiştir ($p<0.0001$, $p<0.0001$, $p<0.0001$, sırasıyla). Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesi düzeyinin anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır ($p=0.037$, $p<0.0001$, $p=0.007$, sırasıyla), (Tablo 5).

Tablo 5. Fare kalp dokusu oksidan durum bulguları [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup D (n=7)	Grup DİR (n=7)	Grup DİR-S (n=7)	Grup FUL-DİR (n=7)	Grup FUL-DİR-S (n=7)	P**
TOS	1.25 $\pm$ 0.37	2.62 $\pm$ 0.36	10.06 $\pm$ 2.99*,&	5.40 $\pm$ 2.50	2.63 $\pm$ 0.59+	2.83 $\pm$ 1.05+	0.011
TAS	0.51 $\pm$ 0.10	0.49 $\pm$ 0.11	0.23 $\pm$ 0.04*,&	0.29 $\pm$ 0.04*	0.40 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.02	0.045
OSİ	2.26 $\pm$ 0.37	6.40 $\pm$ 1.47	51.19 $\pm$ 15.37*,&	20.48 $\pm$ 8.87+	7.26 $\pm$ 1.53+	6.44 $\pm$ 1.93+	<0.0001
PON	12.70 $\pm$ 0.89	13.77 $\pm$ 1.10	28.91 $\pm$ 2.85*,&	24.05 $\pm$ 0.75*,&,+	17.63 $\pm$ 1.95*,+	22.46 $\pm$ 0.78*,&,+	<0.0001

p** : ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup D ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Grup DİR ile karşılaştırıldığında

Gruplar akciğer dokusu TAS düzeyi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür ($p < 0.0001$). TAS düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur ($p < 0.0001$, $p = 0.002$, $p = 0.008$, sırasıyla). Benzer şekilde TAS düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna göre anlamlı düşük olarak saptanmıştır ($p < 0.0001$, $p = 0.027$, sırasıyla). Ayrıca DİR grubunda FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarına göre TAS düzeyi anlamlı olarak yüksek izlenmiştir ($p = 0.004$, $p = 0.035$, sırasıyla), (Tablo 6).

Gruplar akciğer dokusu TOS düzeyi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0.0001$). TOS

düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur ($p<0.0001$, $p=0.027$, sırasıyla). Benzer şekilde TOS düzeyi DİR grubunda D grubuna göre anlamlı artmış olarak izlenmiştir ($p<0.000$). Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre TOS düzeyinde anlamlı azalma saptanmıştır ($p<0.001$, $p=0.002$, $p<0.0001$, sırasıyla), (Tablo 6).

Gruplar akciğer dokusu OSİ açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.0001$). OSİ düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur ($p<0.0001$, $p=0.017$, $p=0.039$, sırasıyla). Benzer şekilde OSİ düzeyi DİR grubunda D grubuna göre anlamlı artmış olarak saptanmıştır ($p<0.0001$). Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ’de anlamlı olarak azalma izlenmiştir ($p<0.0001$, tümü), (Tablo 6).

Gruplar akciğer dokusu PON-1 enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark gösterilmiştir ($p<0.0001$). PON-1 enzim aktivitesi DİR grubunda K ve D gruplarına göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur ($p<0.0001$, tümü). Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesi düzeyinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir ($p=0.009$, $p<0.0001$, $p<0.0001$, sırasıyla), (Tablo 6).

Tablo 6. Fare akciğer dokusu oksidan durum bulguları [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup D (n=7)	Grup DİR (n=7)	Grup DİR-S (n=7)	Grup FUL-DİR (n=7)	Grup FUL-DİR-S (n=7)	P**
TOS	23.97 $\pm$ 4.01	27.93 $\pm$ 6.19	60.94 $\pm$ 6.75*,&	39.12 $\pm$ 3.97*,+	30.90 $\pm$ 2.35+	37.22 $\pm$ 2.45+	<0.0001
TAS	1.59 $\pm$ 0.04	1.51 $\pm$ 0.03	1.24 $\pm$ 0.08*,&	1.35 $\pm$ 0.04*,&	1.45 $\pm$ 0.02+	1.39 $\pm$ 0.03*,+	<0.0001
OSİ	15.02 $\pm$ 2.43	18.55 $\pm$ 4.12	55.09 $\pm$ 7.40*,&	28.73 $\pm$ 2.14*,+	21.29 $\pm$ 1.51+	26.78 $\pm$ 1.82*,+	<0.0001
PON	34.80 $\pm$ 2.11	34.07 $\pm$ 1.07	16.80 $\pm$ 3.60*,&	27.28 $\pm$ 2.14	35.21 $\pm$ 3.51+	32.08 $\pm$ 2.46+	<0.0001

p**: ANOVA testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında

& $p < 0.05$: Grup D ile karşılaştırıldığında

+ $p < 0.05$: Grup DİR ile karşılaştırıldığında

5. TARTIŞMA

İskemi, dokulara kan temininin herhangi bir sebeple bozulması sonucu ortaya çıkan patolojik bir durumdur. Hipoksi sebebiyle yeterli besin maddelerini alamayan ve yeterli enerjiyi üretemeyen hücrelerde önce geri dönüşümlü, sürecin uzamasıyla beraber geri dönüşümsüz hücresel hasar meydana gelmektedir.

Reperfüzyon hasarı ise kan akışının tekrar sağlanmasına rağmen hücresel hasarın arttığı klinik tablodur. Karmaşık patofizyolojik süreçlerin rol aldığı reperfüzyon hasarında en önemli mekanizmalar oksijenin ortama gelişiyle beraber açığa daha fazla çıkan reaktif oksijen türleridir.

Çalışmamızda iskemi reperfüzyon modeli, diyabetik farelerin abdominal aortası klemplenerek oluşturulmuştur. Gruplara ayrılan diyabetik farelerde, 120 dakika iskemi ve 120 dakika reperfüzyon uygulanarak iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulmuş ardından fulleren ve sevofluranın kalp ile akciğer üzerindeki histolojik ve biyokimyasal etkilerine bakılmıştır.

Histolojik değerlendirme için H&E ile boyanan kalp ve akciğer doku kesitleri 200x ve 400x büyütmelemlerde incelenmiştir. Akciğer dokusu için değerlendirme kriterleri olarak rastgele seçilen 10 alanda alveolar duvar ödemi, hemoraji, vasküler konjesyon ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu parametreleri kullanılmıştır. Bu parametrelerin 0'dan 5'e kadar skorlanmasıyla (0, normal; 5, şiddetli) ve bu skorların toplanmasıyla elde edilen toplam hasar skoru ile hasarın derecesi belirtilmiştir. Kalp dokusunda ise değerlendirme kriterleri olarak

mikroskopik kanama, ödem, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, eozinofil infiltrasyonu, çizgilenme kaybı ve nekroz parametreleri kullanılmıştır.

Kalp doku örneklerinin histolojik incelemesinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında, aynı zamanda D grubu ile karşılaştırıldığında da DİR grubunda nekrotik kardiyomiyosit düzeyinin belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Benzer şekilde nekrotik hücrelerin DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre belirgin olarak daha az olduğu gözlenmiştir.

İR oluşturulan tüm gruplarda belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu gözlenmiştir. DİR, DİR-S, FUL-DİR, ve FUL-DİR-S gruplarının kalp doku örneklerinde kontrol ve D grubu örnekleriyle karşılaştırıldığında belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu görülmüş iken; DİR grubu ile karşılaştırıldığında infiltrasyon düzeyinin FUL-DİR grubunda belirgin olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

İnterstisyel ödemin tüm gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna kıyasla interstisyel ödem daha şiddetli bulunmuş iken; FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna kıyasla interstisyel ödem belirgin olarak düşük düzeyde tespit edilmiştir.

DİR grubunda kontrol ve D grubuna göre belirgin eozinofil artışı gözlenmiştir. DİR grubuyla karşılaştırıldığında ise DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında eozinofil düzeyi belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Gruplar arasında çizgilenme kaybı ve mikroskopik kanama açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Toplam hasar skoru incelendiğinde, tüm gruplarda kontrol grubuna göre kardiyak hasar skorunda belirgin artış görülmüştür. DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarının kardiyak hasar skoru D grubuna göre belirgin yüksek bulunurken; DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S grubunda bu hasarın DİR grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede az olduğu izlenmiştir.

Akciğer dokusunun histolojik incelemesinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında alveolar duvar ödeminin tüm gruplarda belirgin olarak arttığı görülmüştür. Alveolar duvar ödemi DİR, DİR-S gruplarında D grubuna göre daha belirgin iken; FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuyla karşılaştırıldığında daha hafif düzeyde bir alveolar duvar ödemi gözlenmiştir.

DİR grubunda kontrol ve D grupları ile karşılaştırıldığında belirgin alveolar hemoraji görülmüş iken; DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında alveolar hemorajinin DİR grubuna göre anlamlı derecede hafif olduğu görülmüştür.

DİR ve DİR-S gruplarında hem kontrol hem de D grubuyla karşılaştırıldığında; FUL-DİR-S grubunda ise sadece kontrol grubuna kıyasla belirgin vasküler konjesyon gözlenmiştir. Vasküler konjesyonun DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre belirgin olarak az olduğu izlenmiştir.

Tüm gruplarda polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu kontrol grubuna göre belirgin derecede fazla olarak izlenmiştir. DİR grubunda polimorfonükleer lökosit

infiltrasyonu ayrıca D grubuna göre de anlamlı düzeyde yüksek iken; DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise DİR grubu ile karşılaştırıldığında polimorfonükleer lökosit infiltrasyon düzeyi belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Tüm grupların akciğer hasar skoru kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Ayrıca, DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarının akciğer hasar skoru D grubuyla karşılaştırıldığında belirgin düzeyde yüksek iken, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarının akciğer hasarı skorları DİR grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük tespit edilmiştir.

Biyokimyasal değerlendirme için ise akciğer ve kalp dokularında TOS, TAS, OSİ ve PON-1 enzim aktivitesi parametreleri kullanılmıştır. Kalp dokusundaki TAS düzeyleri karşılaştırıldığında DİR grubunda K ve D grubuna göre TAS düzeylerinde anlamlı azalma görülmüştür. TOS düzeyleri açısından gruplardaki kalp dokuları karşılaştırıldığında fullerenol ve sevofluran uygulanan gruplarda DİR grubuna göre TOS seviyelerinde anlamlı azalma saptanmıştır. Kalp dokusunda OSİ oranları karşılaştırıldığında DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ’de anlamlı azalma saptanmıştır. Benzer şekilde PON-1 enzim aktivitesi iskemi reperfüzyon ile anlamlı artmış olarak; DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesi düzeyi anlamlı azalmış olarak tespit edilmiştir.

Akciğer dokusundaki TAS düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur. Benzer şekilde TAS düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna göre anlamlı düşük olarak saptanmıştır. Ayrıca

DİR grubunda FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarına göre TAS düzeyi anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. TOS düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Benzer şekilde TOS düzeyi DİR grubunda D grubuna göre anlamlı artmış olarak izlenmiştir. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre TOS düzeyinde anlamlı azalma saptanmıştır. Akciğer dokusundaki OSİ düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Benzer şekilde OSİ düzeyi DİR grubunda D grubuna göre anlamlı artmış olarak saptanmıştır. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ’de anlamlı olarak azalma izlenmiştir. Gruplar akciğer dokusu PON-1 enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, DİR grubunda K ve D gruplarına göre enzim aktivitesi anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesi düzeyinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Foroshani ve ark. sıçan beyinlerinde yaptıkları bir çalışmada serebral iskemi reperfüzyon hasarında fullerenin koruyucu rolünü araştırmışlardır. İnfarkt hacmi ve iskemiye bağlı beyin ödemi sonucu beyin ağırlığının artması parametreleri kullanılarak iskemi reperfüzyon hasarının derecesi değerlendirilmiştir. Fulleren ile tedavi edilen sıçan grubunda infarkt hacmi ve beyin ağırlığının azaldığı gösterilmiştir. Sonuç olarak fullerenin serebral iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (181). Aryafar ve ark. sıçan beyinlerinde iskemi reperfüzyon hasarıyla ilgili yaptıkları deneyde fulleren C₆₀’ın infarkt hacmi ve beyin ödemi üzerine etkilerini araştırmıştır. Orta serebral arter oklüzyonu ile

iskemi yapıldıktan sonra oral olarak fulleren verilen grupta infarkt hacminin ve beyin ağırlığının anlamlı olarak azaldığı dolayısıyla iskemiye bağlı ödemin de daha az oranda geliştiği gösterilmiştir (182). Foroshani ve ark. sıçan beyinlerinde yaptıkları bir başka çalışmada serebral iskemide fullerenolün etkisini araştırmıştır. Kan beyin bariyeri (KBB) geçirgenliği ile interlökin 6 (IL-6) ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) seviyeleri bu araştırma için kullanılmıştır. Ayrıca nöronal defekt skoru (NDS) ve iskemik hemisferdeki ödem düzeyi de değerlendirilmiştir. Yapılan ölçümlerde fullerenol verilen grupta KBB geçirgenliği, NDS ve iskemik hemisfer ödeminin anlamlı olarak azaldığı; IL-6 ve MMP-9 RNA ekspresyonunun da önemli ölçüde baskılandığı gösterilmiştir. Sonuç olarak fullerenolün KBB yapısını koruyarak, ödemi azaltarak ve inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu azaltarak iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu rol oynadığı ortaya konmuştur (183).

Bizim çalışmamızda da literatürdeki serebral ödem bulgularına benzer şekilde; kalp dokusunda iskemi reperfüzyon hasarı ile meydana gelen interstisyel ödemin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm gruplarda anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna kıyasla interstisyel ödem daha şiddetli iken; FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuyla karşılaştırıldığında interstisyel ödem belirgin derecede düşük düzeyde izlenmiştir.

Fluri ve ark. sıçanlarda serebral iskemi reperfüzyon hasarı ile ilgili yaptıkları çalışmada glukozamine fullerenin iskemi reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla infarkt hacmi, nörolojik semptomlar, serebral immünreaktivite ile sitokinler ve toll like reseptör 4 (TLR- 4) üretimine bakılmıştır.

Fulleren ile tedavi edilen grupta infarkt hacminde belirgin azalma ve nörolojik semptomlarda iyileşme tespit edilmiştir. Aynı zamanda iskemi reperfüzyon hasarında ekspresyonları artan Interlökin 1 β ve TLR-4 düzeylerinin de fulleren ile tedavi edilen grupta azaldığı gösterilmiştir (184).

Lai ve ark. köpek ince barsakları üzerinde yaptıkları bir deneyle fulleren C₆₀'ın iskemi reperfüzyon hasarına etkisini araştırmıştır. Süperior mezenterik arter ve ven klemplenerek iskemi oluşturulmuş, reperfüzyondan 60 dakika sonra kan ve doku örnekleri alınmıştır. Biyokimyasal olarak konjuge alkenler, malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri ölçülmüştür. Alınan doku örneklerinde de histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Fulleren ile tedavi edilen grupta alkenler ve MDA düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı, GSH düzeyinin ise arttığı gösterilmiştir. Histopatolojik olarak ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu sonuçlarla fulleren C₆₀'ın iskemi reperfüzyon hasarında serbest radikalleri toplayıcı görevi ile koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (164).

Çalışmamızda biyokimyasal olarak kalp ve akciğer dokusunda TAS, TOS, OSİ ve PON-1 enzim aktivitesi parametrelerine bakılmıştır. Kalp dokusunda gruplar arasında TAS düzeyleri kıyaslandığında DİR grubunda kontrol ve D gruplarına göre TAS düzeyinde anlamlı azalma gösterilmiştir. Ayrıca DİR grubunda D grubuna göre TAS düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Lin ve ark. sıçan beyinlerinde yaptıkları deneyde serebral iskemi reperfüzyon hasarında karboksifullerenin nöroprotektif etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla fulleren intravenöz ve intraserebroventriküler yolla sıçanlara verilmiştir.

Değerlendirmede kortikal infarkt alanı ile lipid peroksidasyon ürünleri ve glutatyon düzeyleri kullanılmıştır. İntravenöz fulleren verilen grupta kortikal infarkt alanında belirgin bir azalma görülmemişken, intraserebroventriküler yolla fulleren alan grupta anlamlı azalma gösterilmiştir. Ayrıca fulleren uygulanan grupta lipid peroksidasyon ürünlerinin yükselişi azalmış, iskemi ile tükenen glutatyon seviyeleri ise yükselmiştir. Sonuç olarak intraserebroventriküler karboksifulleren tedavisinin beyin iskemi reperfüzyon hasarında oksidatif yanıtı azaltarak koruyucu olduğu gösterilmiştir (185). Kim ve ark. serebral iskemi oluşturulan sıçanlarda hidroksifullerenin koruyucu etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla dokuda lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeylerine bakılmış, ayrıca hipokampal alandaki nöronal yoğunluğa bakılarak hücre canlılığı değerlendirilmiştir. Fulleren tedavisi alan grupta MDA düzeylerinin tedavi almayan gruba göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Benzer şekilde hidroksifulleren tedavisi alan grupta hipokampal nöron yoğunluğu daha fazla bulunmuş, tedavinin hücre canlılığını koruduğu değerlendirilmiştir. Sonuç olarak hidroksifullerenin sıçan beyinde iskemi reperfüzyon hasarına bağlı oluşan oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azaltarak koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur (186). Wang ve ark. fare beyinlerinde iskemi reperfüzyon hasarı üzerine yaptıkları bir çalışmada karboksifullerenin etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla kan beyin bariyeri (KBB) geçirgenliği ve infarkt hacmi değerlendirilmiştir. Fulleren tedavisi uygulanan fare grubunda KBB yapısının bütünlüğünü koruduğu ve infarkt hacminin fulleren uygulanmayan gruba oranla anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (187).

Bizim çalışmamızda yer alan grupların kalp dokusundaki TOS düzeyleri karşılaştırıldığında; DİR grubunda kontrol ve D grubuna göre TOS düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır. Ayrıca FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre TOS düzeyi anlamlı azalmış olarak bulunmuştur.

Darabi ve ark. fullerolün sıçan beyinlerinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarındaki etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla reperfüzyondan sonraki 24. saatte beyin infarktı, γ - glutamil transpeptidaz (GGT) RNA seviyeleri, glutatyon içeriği ve katalaz aktivitesi değerlendirilmiştir. Fullerol ile ön tedavi alan grupta infarkt hacminin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Katalaz aktivitesi fullerol alan grupta önemli ölçüde artmıştır. İskemiye bağlı yükselen GGT mRNA düzeyleri ise fullerol ile anlamlı ölçüde azalmıştır. Bu sonuçlar beyin iskemi reperfüzyon hasarında fullerol tedavisinin, antioksidan savunma sistemini iyileştirerek ve GGT ekspresyonunu azaltarak koruyucu özellikte olduğu gösterilmiştir (188). Darabi ve ark. sıçan beyinlerinde yaptıkları bir başka araştırmada fullerenolün iskemi reperfüzyon hasarındaki antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla hasar oluşturulan sıçan beyinlerinde infarkt hacmi ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi değerlendirilmiştir. Fullerenol ile tedavi edilen grupta infarkt hacminin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. İskemi ile azalan SOD aktivitesi ise fullerenol uygulanması ile anlamlı ölçüde artmıştır. Bu sonuçlar fullerenolün iskemi reperfüzyon hasarında SOD aktivitesini arttırarak koruyucu özellik gösterdiğini ortaya koymaktadır (189).

Yaptığımız çalışmada OSİ açısından kalp doku örnekleri karşılaştırıldığında DİR ve DİR-S gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış görülmüştür. Ayrıca

DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ düzeyinde anlamlı azalma saptanmıştır.

Kartal ve ark. alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan diyabetik sıçanlarda fulleren C₆₀'ın iskelet kası üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu amaç için miyosit ve endotel hücrelerindeki apoptozda rol oynayan kaspaz 3 seviyeleri ile kas dokusundaki miyosit hasarı ve inflamasyon değerlendirilmiştir. Fulleren uygulanmayan grupta kaspaz 3 seviyelerinde anlamlı artış saptanmıştır. Benzer şekilde kas dokuda inflamasyon ve miyosit hasarı, fulleren uygulanmayan grupta belirgin olarak artmış olarak değerlendirilmiştir. Sonuçta fulleren C₆₀'ın alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında kas dokusu üzerinde koruyucu etkileri olduğu ortaya konmuştur (190).

Yaptığımız çalışmada kalp doku örnekleri histolojik olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında nekrotik kardiyomiyosit düzeyinin belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Aynı şekilde D grubu ile karşılaştırıldığında DİR grubunda da nekrotik hücre oranı yüksek bulunmuştur. Buna karşın DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında nekrotik hücrelerin DİR grubuna göre belirgin daha az olduğu gözlenmiştir.

Chen ve ark. sıçan akciğerleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, fulleren C₆₀'ın, akciğer makrofajlarında iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir. Bu hücrelerde iskemi reperfüzyon hasarında sodyum nitroprussit (SNP) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) artmakta, bu artışla beraber hücre canlılığı belirgin şekilde azaltmaktadır. Fulleren C₆₀ ön tedavisi ile canlılıktaki bu

azalmanın önemli ölçüde durdurulduğu tespit edilmiştir. SNP ve H_2O_2 'nin uyardığı ROS üretimi de fulleren tedavisi ile azalmıştır. Ayrıca H_2O_2 ve SNP'nin sebep olduğu mitokondri membran potansiyeli düşüşünün de fulleren C_{60} tedavisi ile tersine döndürüldüğü gösterilmiştir (191).

Bizim çalışmamızda akciğer dokularındaki polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyon düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre tüm gruplarda PMNL infiltrasyonun arttığı tespit edilmiştir. DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise DİR grubuna göre PMNL infiltrasyon düzeyleri belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Lai ve ark. sıçan akciğerleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, fulleren C_{60} 'ın akciğer iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisini araştırmıştır. Bu amaçla kontrol ve fulleren C_{60} olarak iki gruba ayrılan sıçanlarda iskemi öncesinde ve sonrasında pulmoner arter basıncı (P_{pa}), pulmoner venöz basınç ve akciğer ağırlığı (W) ölçülerek pulmoner kapiller basınç ve filtrasyon katsayısı (K_{fc}) hesaplanmıştır. Kontrol grubunda iskemi ile P_{pa} , K_{fc} , ve W ölçümlerinde artış tespit edilmiştir. Fulleren C_{60} grubunda ise bu ölçümlerde kontrol grubuna göre azalma gösterilmiştir. İskemide arttığı gösterilen parametrelerdeki bu azalma, fulleren C_{60} molekülünün akciğer iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu olduğunu ortaya koymuştur (192).

Yaptığımız çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında alveolar duvar ödeminin tüm gruplarda belirgin olarak arttığı görülmüştür. D grubuna kıyasla DİR ve DİR-S gruplarında artış belirgin iken; FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR

grubuna oranla daha hafif düzeyde alveolar duvar ödemi izlenmiştir. Benzer şekilde DİR grubunda kontrol ve D grubuyla karşılaştırıldığında belirgin alveolar hemoraji görülmüştür. DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında alveolar hemorajinin DİR grubuna göre anlamlı derecede hafif olduğu gözlenmiştir.

Vani ve ark. polihidroksile fullerenin sıçan beyinde iskemi reperfüzyon hasarına etkisini çalışmışlardır. Sıçanlar dört gruba ayrılmış, orta serebral arter (MCA) oklüzyonu ile iskemi oluşturulmuştur. Değerlendirme ölçütü olarak infarkt hacmi, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) ve nitrat içeriği ile süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi değerlendirilmiştir. Fulleren verilen grupta infarkt hacminin belirgin bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. İskemi ile düzeylerinde artış görülen MDA ve nitrat türevleri seviyelerinin de fulleren uygulanan grupta azaldığı ortaya konmuştur. İskemide düzeyleri azalan GSH ve SOD aktivitesinin ise fulleren uygulanan grupta belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (193).

Çalışmamızda akciğer dokularındaki TAS düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur. Benzer şekilde TAS düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edilmiştir. Ayrıca FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında TAS düzeyi DİR grubuna göre anlamlı düşük olarak belirlenmiştir.

Nozdrenko ve ark. sıçan iskelet kaslarında yaptıkları iskemi reperfüzyon çalışmasında fulleren C₆₀'ın etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla soleus kasında uygulanan iskemi sonrası bu kasın kasılma kuvveti, kas gücü, kas yorgunluğu, tam olmayan tetaniden tam tetaniye geçiş parametrelerindeki değişiklik ile kreatin,

kreatin kinaz (CK), laktat, laktat dehidrogenaz (LDH), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve katalaz düzeyleri ölçülmüştür. İskemi reperfüzyon hasarı sonucu soleus kasında kasılma kuvveti ve kas gücü belirgin olarak azalmıştır. İskemi öncesi fulleren C_{60} verilen grupta ise kasılma kuvveti ve kas gücünün %60'lara yakın arttığı gösterilmiştir. Aynı şekilde iskemi reperfüzyon hasarında kas yorgunluğunun iskemi süresiyle orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. Fulleren C_{60} uygulanan grupta kas gerilme yanıtında artış, dolayısıyla kas yorgunluğunda azalma ortaya konmuştur. Normal fizyolojide görülen tetaniler, iskemi reperfüzyon hasarında kasta oluşan fonksiyon kaybına bağlı olarak tam olmayan tetaniden tam tetaniye doğru kaymaktadır. Fulleren C_{60} 'ın ise kas fizyolojisini iyileştirerek tam tetaniye geçişleri azalttığı ortaya konmuştur. Biyokimyasal olarak iskemi reperfüzyon hasarına bağlı düzeyleri artan kreatin, CK, laktat ve LDH düzeylerinin fulleren C_{60} tedavisi sonrasında anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Benzer şekilde iskemi reperfüzyon hasarına bağlı olarak ortamda H_2O_2 ve katalaz seviyesi artarken fulleren C_{60} tedavisi ile bu oksidan maddelerin düzeyinin azaldığı ortaya konmuştur (194).

Bizim çalışmamızda kalp doku örnekleri incelendiğinde mikroskobik kanama ve çizgilenme kaybı açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Chiang-Ting ve ark. sıçan böbreklerinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı fulleren C_{60} tedavisinin etkilerini araştırmışlardır. İskemi reperfüzyon hasarında apoptoz ile programlanmış hücre ölümünün arttığı gösterilmiş olup apoptozu önleyici moleküllerin sentezinin artması hasara karşı koruyucu olarak kabul

edilmiştir. Bu amaçla apoptozu uyaran bax ile antiapoptotik moleküllerden olan bcl-2 ve bcl-xL üretimi fulleren uygulanmayan ve uygulanan gruplarda karşılaştırılmıştır. Deney sonucunda bax üretiminin gruplar arası fark göstermediği, bcl-2 ve bcl-xL üretiminin ise fulleren C₆₀ ön tedavisi alan sıçanlarda arttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak böbrek iskemi reperfüzyon hasarında fulleren C₆₀'ın apoptozu önleyerek koruyucu etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (195). Chiang-Ting ve ark. sıçan böbreklerinde yaptıkları bir başka çalışmada hekza(sülfobütil)fullerenin iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçan böbreklerinde anti apoptotik olarak görev yapan bcl-xL üretiminin hekza(sülfobütil)fulleren tedavisi alan grupta arttığı, dolayısıyla apoptozun azaldığı gösterilmiştir (163). Huang ve ark. sıçan beyinlerinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı hekza sülfobütil fulleren C₆₀'ın etkilerinin araştırmıştır. Fulleren uygulanan grupta infarkt hacminin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir. Benzer şekilde fulleren uygulanan sıçanlarda antioksidan mekanizmalarda rol oynayan nitrik oksit (NO) düzeylerinin arttığı, laktat dehidrogenazın (LDH) ise azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında fulleren tedavisinin serebral iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan etkilerle koruyucu olduğu sonucuna ulaşılmıştır (196).

Bizim çalışmamızda gruplar arasında kalp dokusu PON-1 enzim seviyeleri karşılaştırıldığında DİR, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış görülmüştür. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir.

Kip ve ark. diyabetik sıçanlarda alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarı ile ilgili yaptıkları bir çalışmada fulleren C₆₀'ın eritrositler üzerine etkisini araştırmıştır. Bu amaçla iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlardan eritrosit örnekleri alınarak deformabilite indeksi hesaplanmıştır. İskemi oluşturulan grupta deformabilite indeksi anlamlı olarak yüksek çıkmıştır. Fulleren tedavisi alan grupta ise anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (197).

Bizim çalışmamızda kalp ve akciğer dokularındaki histolojik toplam hasar skoru değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre tüm grupların hasar skorunda artış görülmüştür. DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarının hasar skorları D grubuna göre belirgin yüksek bulunmuştur. DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarındaki hasar skorları ise DİR grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak az izlenmiştir.

Yassin ve ark. sıçan alt ekstremitede oluşturulan iskemi reperfüzyonun uzak organlara (akciğer, karaciğer ve böbrek) etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla plazmada tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) düzeylerine bakılmıştır. Ayrıca uzak organ hasarını değerlendirmek için plazma üre, kreatin, ALT, AST ve LDH seviyeleri değerlendirilmiştir. İskemi reperfüzyon oluşturulan grupta TNF- α ve IL-6 düzeylerinin belirgin olarak yükseldiği gösterilmiştir. Benzer şekilde iskemi reperfüzyon yapılan farelerde kontrol grubuna göre üre, kreatin, ALT, AST ve LDH seviyeleri de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarından sonra meydana gelen morbidite ve mortalitenin, hasara bağlı uzak organ tutulumu sebebiyle olabileceği belirtilmiştir (198).

Harkin ve ark. domuzlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında ön koşullandırmanın akciğerdeki etkilerine bakmışlardır. Bu amaçla alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarı gerçekleştirilmek üzere üç gruba ayrılan domuzlardan bir gruba beşer dakikalık aralıklarla iskemik ön koşullandırma yapılmıştır. Değerlendirmede inflamasyon için TNF- α ve IL-6 düzeyleri ölçülmüş, akciğer hasarı için miyeloperoksidaz aktivitesi ile akciğerlerin ıslak-kuru doku ağırlık oranına bakılmıştır. İskemi reperfüzyon hasarında düzeyleri artan maddelerden IL-6 seviyelerinin ön koşullandırma yapılan grupta anlamlı azaldığı, TNF- α düzeylerinde ise belirgin bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Aynı şekilde akciğer miyeloperoksidaz düzeyinin ön koşullandırma uygulanan grupta daha az yükseldiği saptanmıştır. İskemi reperfüzyon hasarıyla akciğer ödemeine bağlı olarak artan akciğer ıslak-kuru doku ağırlık oranının da ön koşullandırma ile azaldığı dolayısıyla inflamasyona bağlı ödemin azaldığı ortaya konmuştur. Sonuç olarak alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında yapılan ön koşullandırmanın sistemik inflamasyonu azaltarak akciğer hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (199).

Bizim çalışmamızda gruplardaki akciğer dokuları TOS düzeyleri açısından kıyaslandığında DİR ve DİR-S gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edilmiştir. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre TOS düzeyinde anlamlı azalma saptanmıştır.

Olguner ve ark. yaptıkları çalışmada sıçan alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında ön koşullandırmanın akciğer üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla dört gruba ayrılan sıçanlarda akciğer doku miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi,

polimorfonükleer lökosit (PMNL) sayısı, akciğer hasar skoru ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) düzeyleri değerlendirilmiştir. PMNL sayısı, TBARS düzeyi ve MPO aktivitesi iskemi reperfüzyon hasarı ile artarken kontrol grubu ve ön koşullandırma yapılan grupta anlamlı farklılıklar saptanmamıştır. Benzer şekilde akciğer hasarı skoru ve TBARS düzeyleri iskemi ile artarken ön koşullandırma yapılan grupta kontrol grubuna göre anlamlı artış saptanmamıştır. Sonuç olarak alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında ön koşullandırma yapılmasının, lipid peroksidasyonunu azaltarak akciğer üzerinde koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur (200).

Bizim çalışmamızda akciğer dokularındaki polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyon düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre tüm gruplarda PMNL infiltrasyonun arttığı tespit edilmiştir. DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise DİR grubuna göre PMNL infiltrasyon düzeyleri belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Mansour ve ark. farelerde yaptıkları bir deneyde alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarının akciğer, karaciğer ve böbreklerdeki etkilerine bakmışlardır. Bu amaçla dokulardaki maksimum mitokondriyal solunum (V_{max}), kompleks II, III, IV aktivitesi (V_{succ}) ve kompleks IV aktivitesi (V_{TMDP}) değerlendirilmiştir. Alt ekstremitte yapılan iskemi reperfüzyon hasarının akciğer mitokondrilerindeki V_{max} , V_{succ} ve V_{TMDP} 'yi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Karaciğer mitokondrilerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Böbrek mitokondrilerinde ise alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarından sonra V_{max} ve V_{succ} değerlerinde anlamlı artış tespit edilmiştir. Sonuç olarak alt ekstremitte iskemi reperfüzyon

hasarında akciğer mitokondriyal disfonksiyonunun yeni bir gösterge olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur (201).

Yaptığımız çalışmada akciğer dokularında OSİ düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Ayrıca DİR-S FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ düzeylerinde anlamlı azalma saptanmıştır.

Gyurkovics ve ark. sıçanlarda oluşturulan alt ekstremite iskemi reperfüzyon modelinde art koşullandırmanın akciğer ve böbrek üzerine etkilerini araştırmıştır. Art koşullandırma reperfüzyon başladıktan sonra aralıklı iskemi periyotları oluşturularak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla TNF- α , kreatin, kreatin kinaz (CK), LDH, AST düzeylerine bakılmış ayrıca dokulardaki histolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. Deney sonunda art koşullandırma yapılan grupta böbrek ve akciğer dokularındaki histopatolojik değişikliklerde iskemi grubuna göre anlamlı azalma saptanmıştır. Plazma CK, AST ve LDH seviyelerinde yükselme olmakla beraber iskemi ve art koşullandırma grupları arasında belirgin farklılık gözlenmemiştir. Benzer şekilde iki grupta da akut böbrek hasarı gelişmiştir ancak kreatin düzeyleri art koşullandırma yapılan grupta iskemi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. İskemi reperfüzyon hasarında seviyeleri artan TNF- α da art koşullandırma yapılan grupta anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Sonuç olarak alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarında art koşullandırmanın böbrek ve akciğer gibi uzak organlarda koruyucu olduğu gösterilmiştir (202).

Bizim çalışmamızda kalp dokusunda tüm iskemi reperfüzyon gruplarında

belirgin PMNL infiltrasyonu izlenmiştir. DİR, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında kontrol ve D grubuna göre PMNL infiltrasyonu anlamlı artmış olarak bulunmuştur. DİR grubuna kıyasla FUL-DİR grubunda ise PMNL infiltrasyon düzeyinin belirgin olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Song ve ark. sıçanlarda alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında art koşullandırmanın akciğer üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla serum serbest radikal düzeyi, histolojik değişiklik derecesi, akciğer ıslak/kuru ağırlık oranı (W/D) ile TNF- α , IL-6, sitokin ve kemokin düzeyleri değerlendirilmiştir. Akciğer W/D oranı iskemi reperfüzyon hasarında ödeme bağlı olarak artarken art koşullandırma yapılan grupta bu oranda anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Benzer şekilde dokuların histolojik değerlendirmesinde art koşullandırma yapılan grupta inflamatuvar değişikliklerin anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. TNF- α ve IL-6 düzeyleri de art koşullandırma yapılan grupta iskemi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Kemilüminesans yöntemiyle ölçülen ROS düzeylerinin art koşullandırma ile anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Aynı şekilde sitokin ve kemokin düzeyleri art koşullandırma ile belirgin derecede azalmıştır. Sonuç olarak sıçan alt ekstremitte iskemi reperfüzyon modelinde art koşullandırmanın akciğer hasarını azaltarak koruyucu etkide bulunduğu gösterilmiştir (203).

Bizim çalışmamızda grupların akciğer dokusunda PON-1 enzim aktivitesi karşılaştırıldığında DİR grubunda kontrol ve D grubuna göre enzim aktivitesinde belirgin artış tespit edilmiştir. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesinde anlamlı azalma izlenmiştir.

Ding ve ark. sıçan kalp dokusunda yaptıkları bir çalışmada miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarında fullerolün koruyucu etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla histolojik olarak miyositlerin morfoloji ve sayısına, biyokimyasal olarak ise CK ve LDH düzeylerine bakılmıştır. İskemi reperfüzyon hasarı ile sayıları azalan ve morfolojileri bozulan kardiyomiyositlerin fulleren tedavisi ile sayılarında artış ve morfolojilerinde iyileşme görülmüştür. Benzer şekilde iskemi reperfüzyon hasarı ile seviyeleri yükselen CK ve LDH'ın fulleren tedavisi ile anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir (204).

Bizim çalışmamızda kalp dokusunda kontrol ve D grubuna göre DİR grubunda belirgin eozinofil artışı izlenmiştir. DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında eozinofil düzeyi DİR grubuna göre belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Akciğerde vasküler konjesyonun kontrol grubuna göre DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında arttığı gösterilmiştir. DİR grubuna göre ise DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında vasküler konjesyonda belirgin azalma dikkati çekmiştir.

6. SONUÇ

Belirli bir doku veya organda kan akımındaki azalmaya bağı olarak oksijenasyonun bozulması ve kan akımının düzeltilmesini takiben reperfüzyona bağı klinik durumun kötüleşmesi İR hasarı olarak adlandırılır. Bu çalışmada diyabetik farelerde abdominal aorta klemplenmesi ile gerçekleştirilen alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında sevofluran ve fullerenol C₆₀'ın kalp ve akciğer üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan incelemelerde sevofluran ve fullerenol C₆₀ verilen gruplardaki histolojik olarak PMNL infiltrasyonu ve eozinofil düzeylerinde azalma, nekrotik kardiyomiyosit ve alveolar hemoraji düzeylerinde düşüş, interstisyel ve alveolar ödem seviyelerinde azalma, vasküler konjesyon ve toplam hasar skorunda belirgin düşüş gösterilmiştir. Benzer şekilde akciğer ve kalp dokularında TAS, TOS, OSI ve PON-1 düzeylerinin sevofluran ve fullerenol C₆₀ verilen gruplarda anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak sevofluran ve fullerenol C₆₀, kalp ve akciğer dokularında iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu özellik göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Konstantine P. Panegyres and Peter K. Panegyres, "The Ancient Greek Discovery of the Nervous System: Alcmaeon, Praxagoras and Herophilus," *Journal of Clinical Neuroscience* 29 (July 1, 2016): 21–24, <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2015.10.047>.
2. Konstantinos Kalachanis and Ioannis Michailidis, "The Hippocratic View on Humors and Human Temperament" 2 (January 1, 2015): 1–5.
3. Mohammad-Hossein Azizi, Touraj Nayernouri, and Farzaneh Azizi, "A Brief History of the Discovery of the Circulation of Blood in the Human Body," *Archives of Iranian Medicine* 11, no. 3 (May 2008): 345–50.
4. W. C. Aird, "Discovery of the Cardiovascular System: From Galen to William Harvey," *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, State of the Art 2011, 9 (July 1, 2011): 118–29, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04312.x>.
5. Martin H. Atkinson, "Man's Changing Concepts of the Heart and Circulation," *Canadian Medical Association Journal* 91, no. 11 (September 12, 1964): 596–601.
6. M Karamanou et al., "Galen's (130-201 AD) Conceptions of the Heart," n.d.
7. Ares Pasipoularides, "Galen, Father of Systematic Medicine. An Essay on the Evolution of Modern Medicine and Cardiology," *International Journal of Cardiology* 172, no. 1 (March 1, 2014): 47–58, <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.12.166>.
8. P. Mazengenya and R. Bhikha, "A Critical Appraisal of 11th Century Treatise by Ibn Sina (Avicenna) on the Anatomy of the Vascular System: Comparison with Modern Anatomic Descriptions," *Morphologie* 102, no. 337 (June 1, 2018): 61–68, <https://doi.org/10.1016/j.morpho.2018.03.001>.
9. Domenico Ribatti, "William Harvey and the Discovery of the Circulation of the Blood," *Journal of Angiogenesis Research* 1, no. 1 (September 21, 2009): 3, <https://doi.org/10.1186/2040-2384-1-3>.
10. Charlotte Hwa and William C. Aird, "The History of the Capillary Wall: Doctors, Discoveries, and Debates," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 293, no. 5 (November 2007): H2667–79, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00704.2007>.

11. S. T. Anning, "THE HISTORICAL ASPECTS OF VENOUS THROMBOSIS," *Medical History* 1, no. 1 (January 1957): 28–37, <https://doi.org/10.1017/S0025727300020743>.
12. Gregory Tsoucalas et al., "Theories About Blood Coagulation in the Writings of Ancient Greek Medico-Philosophers," *Current Pharmaceutical Design* 22 (December 5, 2016), <https://doi.org/10.2174/1381612822666161205120848>.
13. "The History of Aneurysm: Being a Contribution to the Study of the Origin, Growth and Progress of Ideas in Medicine - ProQuest," accessed May 5, 2023, <https://www.proquest.com/docview/2231087491?pq-origsite=gscholar&fromopenview=true>.
14. Theodore Kalogeris, Christopher P. Baines, Maik Krenz, Chapter Six - Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury, *International Review of Cell and Molecular Biology*, Academic Press, Volume 298, 2012, Pages 229-317, ISSN 1937-6448, ISBN 9780123943095.
15. Arthur E. Baue and William W. McClerkin, "A Study of Shock Acidosis and the Declamping Phenomenon," *Annals of Surgery* 161, no. 1 (January 1965): 41–45.
16. F. B. Cerra et al., "Hemorrhagic Infarction: A Reperfusion Injury Following Prolonged Myocardial Ischemic Anoxia," *Surgery* 78, no. 1 (July 1975): 95–104.
17. "Contributions of Ischemia and Reperfusion to Mucosal Lesion Formation | American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology," accessed May 1, 2023, https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpgi.1986.250.6.G749?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrsref.org#.
18. Bernhard Dorweiler et al., "Ischemia-Reperfusion Injury," *European Journal of Trauma and Emergency Surgery* 33, no. 6 (December 1, 2007): 600–612, <https://doi.org/10.1007/s00068-007-7152-z>.
19. "Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association | Circulation," accessed May 7, 2023, <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIR.0000000000000757>.
20. Theodore Kalogeris et al., "Ischemia/Reperfusion," in *Comprehensive Physiology*, ed. Ronald Terjung, 1st ed. (Wiley, 2016), 113–70, <https://doi.org/10.1002/cphy.c160006>.
21. S. Pasupathy and S. Homer-Vanniasinkam, "Ischaemic Preconditioning Protects Against Ischaemia/Reperfusion Injury: Emerging Concepts," *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 29, no. 2 (February 1, 2005): 106–15, <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2004.11.005>.

22. Holger K. Eltzschig and Charles D. Collard, "Vascular Ischaemia and Reperfusion Injury," *British Medical Bulletin* 70 (2004): 71–86, <https://doi.org/10.1093/bmb/ldh025>.
23. Charles D. Collard and Simon Gelman, "Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury," *Anesthesiology* 94, no. 6 (June 1, 2001): 1133–38, <https://doi.org/10.1097/00000542-200106000-00030>.
24. Edward T. Chouchani et al., "A Unifying Mechanism for Mitochondrial Superoxide Production during Ischemia-Reperfusion Injury," *Cell Metabolism* 23, no. 2 (February 9, 2016): 254–63, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.009>.
25. D. N. Granger, "Role of Xanthine Oxidase and Granulocytes in Ischemia-Reperfusion Injury," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 255, no. 6 (December 1988): H1269–75, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1988.255.6.H1269>.
26. "NADPH Oxidases as a Source of Oxidative Stress and Molecular Target in Ischemia/Reperfusion Injury | SpringerLink," accessed May 8, 2023, <https://link.springer.com/article/10.1007/s00109-012-0963-3>.
27. Eric E. Kelley et al., "Hydrogen Peroxide Is the Major Oxidant Product of Xanthine Oxidase," *Free Radical Biology and Medicine* 48, no. 4 (February 15, 2010): 493–98, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.012>.
28. E. Harmsen, J. W. de Jong, and P. W. Serruys, "Hypoxanthine Production by Ischemic Heart Demonstrated by High Pressure Liquid Chromatography of Blood Purine Nucleosides and Oxypurines," *Clinica Chimica Acta* 115, no. 1 (August 27, 1981): 73–84, [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(81\)90108-X](https://doi.org/10.1016/0009-8981(81)90108-X).
29. D. Neil Granger and Peter R. Kvietys, "Reperfusion Injury and Reactive Oxygen Species: The Evolution of a Concept," *Redox Biology* 6 (December 1, 2015): 524–51, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.020>.
30. Melanie E. Armitage et al., "Translating the Oxidative Stress Hypothesis into the Clinic: NOX versus NOS," *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)* 87, no. 11 (November 2009): 1071–76, <https://doi.org/10.1007/s00109-009-0544-2>.
31. Amer F. Samdani, Ted M. Dawson, and Valina L. Dawson, "Nitric Oxide Synthase in Models of Focal Ischemia," *Stroke* 28, no. 6 (June 1997): 1283–88, <https://doi.org/10.1161/01.STR.28.6.1283>.

32. T. Murohara et al., "Nitric Oxide Synthase Modulates Angiogenesis in Response to Tissue Ischemia." (American Society for Clinical Investigation, June 1, 1998), <https://doi.org/10.1172/JCI1560>.
33. Brian W. Roberts et al., "Nitric Oxide Donor Agents for the Treatment of Ischemia/Reperfusion Injury in Human Subjects: A Systematic Review," *Shock* 39, no. 3 (March 2013): 229, <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e31827f565b>.
34. Maureen McMichael and Rustin M. Moore, "Ischemia–Reperfusion Injury Pathophysiology, Part I," *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 14, no. 4 (December 1, 2004): 231–41.
35. Susana Cadenas, "ROS and Redox Signaling in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Cardioprotection," *Free Radical Biology and Medicine* 117 (March 1, 2018): 76–89, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.024>.
36. Lance B Becker, "New Concepts in Reactive Oxygen Species and Cardiovascular Reperfusion Physiology," *Cardiovascular Research* 61, no. 3 (February 15, 2004): 461–70, <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.10.025>.
37. Lea Bleier et al., "Generator-Specific Targets of Mitochondrial Reactive Oxygen Species," *Free Radical Biology and Medicine* 78 (January 1, 2015): 1–10, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.511>.
38. Donna L. Carden and D. Neil Granger, "Pathophysiology of Ischaemia–Reperfusion Injury," *The Journal of Pathology* 190, no. 3 (2000): 255–66, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6).
39. Bernard Lassègue and Kathy K. Griendling, "NADPH Oxidases: Functions and Pathologies in the Vasculature," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 30, no. 4 (April 2010): 653–61, <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.181610>.
40. "Upregulation of NAD(P)H Oxidase 1 in Hypoxia Activates Hypoxia-Inducible Factor 1 via Increase in Reactive Oxygen Species - PubMed," accessed May 8, 2023, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15110393/>.
41. S. Simone et al., "Complement-Dependent NADPH Oxidase Enzyme Activation in Renal Ischemia/Reperfusion Injury," *Free Radical Biology and Medicine* 74 (September 1, 2014): 263–73, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.003>.
42. Francis J. Miller et al., "Cytokine Activation of Nuclear Factor Kappa B in Vascular Smooth Muscle Cells Requires Signaling Endosomes Containing Nox1 and ClC-3," *Circulation Research* 101, no. 7

- (September 28, 2007): 663–71,
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.151076>.
43. Aurelie Nguyen Dinh Cat et al., “Angiotensin II, NADPH Oxidase, and Redox Signaling in the Vasculature,” *Antioxidants & Redox Signaling* 19, no. 10 (October 1, 2013): 1110–20, <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4641>.
 44. Tilman Grune, Thomas Reinheckel, and Kelvin J. A. Davies, “Degradation of Oxidized Proteins in Mammalian Cells,” *The FASEB Journal* 11, no. 7 (1997): 526–34, <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.7.9212076>.
 45. P. Vallet et al., “Neuronal Expression of the NADPH Oxidase NOX4, and Its Regulation in Mouse Experimental Brain Ischemia,” *Neuroscience* 132, no. 2 (2005): 233–38, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.12.038>.
 46. “Ion Transport and Energetics During Cell Death and Protection | Physiology,” accessed May 10, 2023, <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physiol.00044.2007>.
 47. Fabio Di Lisa vd., “Mitochondrial Pathways for ROS Formation and Myocardial Injury: The Relevance of P66Shc and Monoamine Oxidase”, *Basic Research in Cardiology* 104, sy 2 (01 Mart 2009): 131-39, <https://doi.org/10.1007/s00395-009-0008-4>.
 48. Stephen C Armstrong, “Protein kinase activation and myocardial ischemia/reperfusion injury”, *Cardiovascular Research* 61, sy 3 (15 Şubat 2004): 427-36, <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.09.031>.
 49. Alexandra C. Newton, “Protein kinase C: poised to signal”, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 298, sy 3 (Mart 2010): E395-402, <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00477.2009>.
 50. Fiorenzo Battaini ve Daria Mochly-Rosen, “Happy Birthday Protein Kinase C: Past, Present and Future of a Superfamily”, *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 55, sy 6 (Haziran 2007): 461-66, <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.05.005>.
 51. Grant R. Budas, Eric N. Churchill, ve Daria Mochly-Rosen, “Cardioprotective Mechanisms of PKC Isozyme-Selective Activators and Inhibitors in the Treatment of Ischemia-Reperfusion Injury”, *Pharmacological Research, Emerging aspects on Protein Kinase C Therapeutics*, 55, sy 6 (01 Haziran 2007): 523-36, <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.04.005>.
 52. Luis H. Toledo-Pereyra vd., “Molecular Signaling Pathways in Ischemia/Reperfusion”, *Experimental and Clinical Transplantation:*

Official Journal of the Middle East Society for Organ Transplantation
2, sy 1 (Haziran 2004): 174-77.

53. Mahmood Khan et al., "C-Phycocyanin Protects against Ischemia-Reperfusion Injury of Heart through Involvement of P38 MAPK and ERK Signaling," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 290, no. 5 (May 2006): H2136-45, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01072.2005>.
54. "Curcumin Protects against Regional Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury through Activation of RISK/GSK-3 β and Inhibition of P38 MAPK and JNK - PubMed," accessed May 12, 2023, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22396328/>.
55. J. Dong et al., "Strategies for Targeting Complement Inhibitors in Ischaemia/Reperfusion Injury," *Molecular Immunology* 36, no. 13-14 (1999): 957-63, [https://doi.org/10.1016/s0161-5890\(99\)00118-2](https://doi.org/10.1016/s0161-5890(99)00118-2).
56. Shelly A. Cruz et al., "Dabrafenib, an Inhibitor of RIP3 Kinase-Dependent Necroptosis, Reduces Ischemic Brain Injury," *Neural Regeneration Research* 13, no. 2 (February 2018): 252-56, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.226394>.
57. Yu-Fang Song et al., "The Circular RNA TLK1 Exacerbates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury via Targeting MiR-214/RIPK1 through TNF Signaling Pathway," *Free Radical Biology and Medicine* 155 (August 1, 2020): 69-80, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.05.013>.
58. "Neutrophil Recruitment and Function in Health and Inflammation | Nature Reviews Immunology," accessed May 12, 2023, <https://www.nature.com/articles/nri3399>.
59. Wei Li, Nijasri Charnnarong Suwanwela, and Suthiluk Patumraj, "Curcumin Prevents Reperfusion Injury Following Ischemic Stroke in Rats via Inhibition of NF- κ B, ICAM-1, MMP-9 and Caspase-3 Expression," *Molecular Medicine Reports* 16, no. 4 (October 1, 2017): 4710-20, <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7205>.
60. "Hu23F2G, an Antibody Recognizing the Leukocyte CD11/CD18 Integrin, Reduces Injury in a Rabbit Model of Transient Focal Cerebral Ischemia - ScienceDirect," accessed May 12, 2023, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014488698968765>.
61. Li Li and Mark D. Okusa, "Macrophages, Dendritic Cells, and Kidney Ischemia-Reperfusion Injury," *Seminars in Nephrology, Macrophages and Kidney Disease*, 30, no. 3 (May 1, 2010): 268-77, <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2010.03.005>.

62. Sang-Kyung Jo et al., "Macrophages Contribute to the Initiation of Ischaemic Acute Renal Failure in Rats," *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 21, no. 5 (May 2006): 1231–39, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfk047>.
63. Michael H. Davies, Joshua P. Eubanks, and Michael R. Powers, "Microglia and Macrophages Are Increased in Response to Ischemia-Induced Retinopathy in the Mouse Retina," *Molecular Vision* 12 (May 10, 2006): 467–77.
64. W. G. Austen et al., "The Role of Complement and Natural Antibody in Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury," *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 16, no. 1 (2003): 1–8, <https://doi.org/10.1177/039463200301600101>.
65. William B. Gorsuch et al., "The Complement System in Ischemia–Reperfusion Injuries," *Immunobiology*, XXIV. International Complement Workshop, 217, no. 11 (November 1, 2012): 1026–33, <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.07.024>.
66. Jeffrey H. Hill and Peter A. Ward, "THE PHLOGISTIC ROLE OF C3 LEUKOTACTIC FRAGMENTS IN MYOCARDIAL INFARCTS OF RATS," *The Journal of Experimental Medicine* 133, no. 4 (March 31, 1971): 885–900.
67. John Silke, James A. Rickard, and Motti Gerlic, "The Diverse Role of RIP Kinases in Necroptosis and Inflammation," *Nature Immunology* 16, no. 7 (July 2015): 689–97, <https://doi.org/10.1038/ni.3206>.
68. S. A. Woodcock et al., "Soluble P-Selectin Moderates Complement Dependent Injury," *Shock (Augusta, Ga.)* 14, no. 6 (December 2000): 610–15, <https://doi.org/10.1097/00024382-200014060-00007>.
69. Thiruma V. Arumugam et al., "THE ROLE OF THE COMPLEMENT SYSTEM IN ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY," *Shock* 21, no. 5 (May 2004): 401.
70. Guido Majno et al., "NO REFLOW AFTER CEREBRAL ISCHÆMIA," *The Lancet*, Originally published as Volume 2, Issue 7515, 290, no. 7515 (September 9, 1967): 569–70, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(67\)90552-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(67)90552-1).
71. J W May et al., "The No-Reflow Phenomenon in Experimental Free Flaps," *Plastic and Reconstructive Surgery* 61, no. 2 (February 1, 1978): 256–67, <https://doi.org/10.1097/00006534-197802000-00017>.
72. William J. Quiñones-Baldrich et al., "Skeletal Muscle Function after Ischemia: 'No Reflow' versus Reperfusion Injury," *Journal of Surgical*

- Research* 51, no. 1 (July 1, 1991): 5–12, [https://doi.org/10.1016/0022-4804\(91\)90062-Q](https://doi.org/10.1016/0022-4804(91)90062-Q).
73. Anthony Koo et al., “Contribution of No-Reflow Phenomenon to Hepatic Injury after Ischemia-Reperfusion: Evidence for a Role for Superoxide Anion,” *Hepatology* 15, no. 3 (1992): 507–14, <https://doi.org/10.1002/hep.1840150325>.
 74. W. H. Johnston and H. Latta, “Glomerular Mesangial and Endothelial Cell Swelling Following Temporary Renal Ischemia and Its Role in the No-Reflow Phenomenon,” *The American Journal of Pathology* 89, no. 1 (October 1977): 153–66.
 75. Robert A. Kloner, Charles E. Ganote, and Robert B. Jennings, “The ‘No-Reflow’ Phenomenon after Temporary Coronary Occlusion in the Dog,” *Journal of Clinical Investigation* 54, no. 6 (December 1974): 1496–1508.
 76. Claire Bouleti, Nathan Mewton, and Stéphane Germain, “The No-Reflow Phenomenon: State of the Art,” *Archives of Cardiovascular Diseases* 108, no. 12 (December 1, 2015): 661–74, <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2015.09.006>.
 77. Robert P. Hebbel, “Ischemia-Reperfusion Injury in Sick Cell Anemia: Relationship to Acute Chest Syndrome, Endothelial Dysfunction, Arterial Vasculopathy, and Inflammatory Pain,” *Hematology/Oncology Clinics of North America* 28, no. 2 (April 2014): 181–98, <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2013.11.005>.
 78. Roberta A. Gottlieb, “Cell Death Pathways in Acute Ischemia/Reperfusion Injury,” *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 16, no. 3–4 (2011): 233–38, <https://doi.org/10.1177/1074248411409581>.
 79. Fernando Lopez-Neblina, Alexander H. Toledo, and Luis H. Toledo-Pereyra, “Molecular Biology of Apoptosis in Ischemia and Reperfusion,” *Journal of Investigative Surgery* 18, no. 6 (January 1, 2005): 335–50, <https://doi.org/10.1080/08941930500328862>.
 80. James D. McCully et al., “Differential Contribution of Necrosis and Apoptosis in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury,” *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 286, no. 5 (May 2004): H1923–1935, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00935.2003>.
 81. Brad R.S. Broughton, David C. Reutens, and Christopher G. Sobey, “Apoptotic Mechanisms After Cerebral Ischemia,” *Stroke* 40, no. 5 (May 2009): e331–39, <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.531632>.

82. Susan Elmore, "Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death," *Toxicologic Pathology* 35, no. 4 (June 2007): 495–516, <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>.
83. Guido Kroemer, Lorenzo Galluzzi, and Catherine Brenner, "Mitochondrial Membrane Permeabilization in Cell Death," *Physiological Reviews* 87, no. 1 (January 2007): 99–163, <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2006>.
84. Andreas Linkermann and Douglas R. Green, "Necroptosis," *New England Journal of Medicine* 370, no. 5 (January 30, 2014): 455–65, <https://doi.org/10.1056/NEJMr1310050>.
85. Meng-Yu Wu et al., "Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury," *Cellular Physiology and Biochemistry* 46, no. 4 (April 20, 2018): 1650–67, <https://doi.org/10.1159/000489241>.
86. A. Linkermann et al., "Necroptosis in Immunity and Ischemia-Reperfusion Injury," *American Journal of Transplantation* 13, no. 11 (November 1, 2013): 2797–2804, <https://doi.org/10.1111/ajt.12448>.
87. Suchan Liao et al., "The Possible Roles of Necroptosis during Cerebral Ischemia and Ischemia / Reperfusion Injury," *Archives of Biochemistry and Biophysics* 695 (November 30, 2020): 108629, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108629>.
88. Manolis Pasparakis and Peter Vandenabeele, "Necroptosis and Its Role in Inflammation," *Nature* 517, no. 7534 (January 15, 2015): 311–20, <https://doi.org/10.1038/nature14191>.
89. Christopher C.T. Smith and Derek M. Yellon, "Necroptosis, Necrostatins and Tissue Injury," *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 15, no. 9 (2011): 1797–1806, <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01341.x>.
90. Man Jiang et al., "Autophagy Is a Renoprotective Mechanism During in Vitro Hypoxia and in Vivo Ischemia-Reperfusion Injury," *The American Journal of Pathology* 176, no. 3 (March 1, 2010): 1181–92, <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090594>.
91. Venkatasubramaniam S. Kalambur et al., "Microvascular Blood Flow and Stasis in Transgenic Sickle Mice: Utility of a Dorsal Skin Fold Chamber for Intravital Microscopy," *American Journal of Hematology* 77, no. 2 (2004): 117–25, <https://doi.org/10.1002/ajh.20143>.
92. U. Raymond Osarogiagbon et al., "Reperfusion Injury Pathophysiology in Sickle Transgenic Mice," *Blood* 96, no. 1 (July 1, 2000): 314–20, <https://doi.org/10.1182/blood.V96.1.314>.

93. Guo-Qing Zheng et al., "Tau as a Potential Novel Therapeutic Target in Ischemic Stroke," *Journal of Cellular Biochemistry* 109, no. 1 (January 1, 2010): 26–29, <https://doi.org/10.1002/jcb.22408>.
94. Ryszard Pluta, "Alzheimer Lesions after Ischemia-Reperfusion Brain Injury," *Folia Neuropathologica* 42, no. 3 (January 1, 2004): 181–86.
95. JosÉ M. MatÉs, Cristina Pérez-Gómez, and Ignacio Núñez De Castro, "Antioxidant Enzymes and Human Diseases," *Clinical Biochemistry* 32, no. 8 (November 1, 1999): 595–603, [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(99)00075-2).
96. Oscar Loew, "A New Enzyme of General Occurrence in Organisms," *Science* 11, no. 279 (May 4, 1900): 701–2, <https://doi.org/10.1126/science.11.279.701>.
97. Christophe Glorieux and Pedro Buc Calderon, "Catalase, a Remarkable Enzyme: Targeting the Oldest Antioxidant Enzyme to Find a New Cancer Treatment Approach," *Biological Chemistry* 398, no. 10 (October 1, 2017): 1095–1108, <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0131>.
98. Joe M. McCord and Irwin Fridovich, "Superoxide Dismutase: AN ENZYMIC FUNCTION FOR ERYTHROCUPREIN (HEMOCUPREIN)," *Journal of Biological Chemistry* 244, no. 22 (November 25, 1969): 6049–55, [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5).
99. Maram K. Reddy and Vinod Labhasetwar, "Nanoparticle-Mediated Delivery of Superoxide Dismutase to the Brain: An Effective Strategy to Reduce Ischemia-Reperfusion Injury," *The FASEB Journal* 23, no. 5 (2009): 1384–95, <https://doi.org/10.1096/fj.08-116947>.
100. Gordon C. Mills, "HEMOGLOBIN CATABOLISM: I. GLUTATHIONE PEROXIDASE, AN ERYTHROCYTE ENZYME WHICH PROTECTS HEMOGLOBIN FROM OXIDATIVE BREAKDOWN," *Journal of Biological Chemistry* 229, no. 1 (November 1, 1957): 189–97, [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)70608-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)70608-X).
101. Xin Gen Lei, Wen-Hsing Cheng, and James P. McClung, "Metabolic Regulation and Function of Glutathione Peroxidase-1," *Annual Review of Nutrition* 27, no. 1 (2007): 41–61, <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093716>.
102. Sung Soo Chung et al., "Glutathione Peroxidase 3 Mediates the Antioxidant Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ in Human Skeletal Muscle Cells," *Molecular and Cellular Biology* 29, no. 1 (January 1, 2009): 20–30, <https://doi.org/10.1128/MCB.00544-08>.

103. Matilde Maiorino et al., "Understanding Mammalian Glutathione Peroxidase 7 in the Light of Its Homologs," *Free Radical Biology and Medicine* 83 (June 1, 2015): 352–60, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.017>.
104. Zheng Chen et al., "Glutathione Peroxidase 7 Suppresses Cancer Cell Growth and Is Hypermethylated in Gastric Cancer," *Oncotarget* 8, no. 33 (April 29, 2017): 54345–56, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17527>.
105. Mark R McCall and Balz Frei, "Can Antioxidant Vitamins Materially Reduce Oxidative Damage in Humans?," *Free Radical Biology and Medicine* 26, no. 7 (April 1, 1999): 1034–53, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00302-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00302-5).
106. O. M. Ighodaro and O. A. Akinloye, "First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid," *Alexandria Journal of Medicine* 54, no. 4 (2018): 287–93, <https://doi.org/10.4314/bafm.v54i4>.
107. C E Murry, R B Jennings, and K A Reimer, "Preconditioning with Ischemia: A Delay of Lethal Cell Injury in Ischemic Myocardium.," *Circulation* 74, no. 5 (November 1986): 1124–36, <https://doi.org/10.1161/01.CIR.74.5.1124>.
108. Rainer Schulz et al., "Ischemic Preconditioning in Pigs: A Graded Phenomenon," *Circulation* 98, no. 10 (September 8, 1998): 1022–29, <https://doi.org/10.1161/01.CIR.98.10.1022>.
109. Tetsuo Matsubara et al., "Three Minute, but Not One Minute, Ischemia and Nicorandil Have a Preconditioning Effect in Patients with Coronary Artery Disease," *Journal of the American College of Cardiology* 35, no. 2 (February 2000): 345–51, [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(99\)00539-2](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(99)00539-2).
110. Camilla M. A. Carroll et al., "Acute Ischemic Preconditioning of Skeletal Muscle Prior to Flap Elevation Augments Muscle-Flap Survival," *Plastic and Reconstructive Surgery* 100, no. 1 (July 1997): 58.
111. Jin Deok Joo et al., "Ischemic Preconditioning Provides Both Acute and Delayed Protection against Renal Ischemia and Reperfusion Injury in Mice," *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 17, no. 11 (November 2006): 3115–23, <https://doi.org/10.1681/ASN.2006050424>.
112. J. M. Lloris-Carsí et al., "Preconditioning: Effect upon Lesion Modulation in Warm Liver Ischemia," *Transplantation Proceedings* 25, no. 6 (December 1993): 3303–4.

113. C Heurteaux et al., "Essential Role of Adenosine, Adenosine A1 Receptors, and ATP-Sensitive K⁺ Channels in Cerebral Ischemic Preconditioning.," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, no. 10 (May 9, 1995): 4666–70.
114. J. A. Auchampach and G. J. Gross, "Adenosine A1 Receptors, KATP Channels, and Ischemic Preconditioning in Dogs," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, May 1, 1993, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1993.264.5.H1327>.
115. R. D. Lasley et al., "Effects of Ischemic and Adenosine Preconditioning on Interstitial Fluid Adenosine and Myocardial Infarct Size," *The American Journal of Physiology* 269, no. 4 Pt 2 (October 1995): H1460-1466, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1995.269.4.H1460>.
116. T. Miki, M. V. Cohen, and J. M. Downey, "Opioid Receptor Contributes to Ischemic Preconditioning through Protein Kinase C Activation in Rabbits," *Molecular and Cellular Biochemistry* 186, no. 1–2 (September 1998): 3–12.
117. Mahiko Goto et al., "Role of Bradykinin in Protection of Ischemic Preconditioning in Rabbit Hearts," *Circulation Research* 77, no. 3 (September 1995): 611–21, <https://doi.org/10.1161/01.RES.77.3.611>.
118. Alon Eisen et al., "Ischemic Preconditioning: Nearly Two Decades of Research. A Comprehensive Review," *Atherosclerosis* 172, no. 2 (February 1, 2004): 201–10, [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(03\)00238-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(03)00238-7).
119. M E Speechly-Dick, M M Mocanu, and D M Yellon, "Protein Kinase C. Its Role in Ischemic Preconditioning in the Rat.," *Circulation Research* 75, no. 3 (September 1994): 586–90, <https://doi.org/10.1161/01.RES.75.3.586>.
120. Victor E. Laubach and Ashish K. Sharma, "Mechanisms of Lung Ischemia-Reperfusion Injury," *Current Opinion in Organ Transplantation* 21, no. 3 (June 2016): 246–52, <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000304>.
121. Willem A. den Hengst et al., "Lung Ischemia-Reperfusion Injury: A Molecular and Clinical View on a Complex Pathophysiological Process," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 299, no. 5 (November 2010): H1283–99, <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00251.2010>.
122. Toyofumi Fengshi Chen-Yoshikawa, "Ischemia–Reperfusion Injury in Lung Transplantation," *Cells* 10, no. 6 (June 2021): 1333, <https://doi.org/10.3390/cells10061333>.

123. Tohru Kuratani et al., “Experimental Study in a Rabbit Model of Ischemia-Reperfusion Lung Injury during Cardiopulmonary Bypass,” *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 103, no. 3 (March 1, 1992): 564–68, [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(19\)34999-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(19)34999-2).
124. Hiromichi Nakagawa et al., “Intestinal Ischemia/Reperfusion-Induced Bacterial Translocation and Lung Injury in Atherosclerotic Rats with Hypoadiponectinemia,” *Surgery* 145, no. 1 (January 1, 2009): 48–56, <https://doi.org/10.1016/j.surg.2008.07.018>.
125. György Haskó and Da-Zhong Xu, “Adenosine A2A Receptor Activation Reduces Lung Injury in Tra...: Critical Care Medicine,” accessed May 14, 2023, https://journals.lww.com/ccmjjournal/Fulltext/2006/04000/Adenosine_A_sub.00028.aspx.
126. Chaosheng Deng et al., “Inflammatory Response and Pneumocyte Apoptosis during Lung Ischemia–Reperfusion Injury in an Experimental Pulmonary Thromboembolism Model,” *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 40, no. 1 (July 1, 2015): 42–53, <https://doi.org/10.1007/s11239-015-1182-x>.
127. Marc de Perrot et al., “Ischemia-Reperfusion-Induced Lung Injury - PubMed,” accessed May 14, 2023, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12588712/>.
128. Renata Salatti Ferrari and Cristiano Feijó Andrade, “Oxidative Stress and Lung Ischemia-Reperfusion Injury,” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015 (2015): 1–14, <https://doi.org/10.1155/2015/590987>.
129. Paul D. Weyker et al., “Lung Ischemia Reperfusion Injury: A Bench-to-Bedside Review - Paul D. Weyker, Christopher A. J. Webb, David Kiamanesh, Brigid C. Flynn, 2013,” accessed May 14, 2023, <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1089253212458329>.
130. Connie W. Tsao et al., “Heart Disease and Stroke Statistics—2022 Update: A Report From the American Heart Association,” *Circulation* 145, no. 8 (February 22, 2022): e153–639, <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001052>.
131. L. Maximilian Buja, “Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury,” *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 14, no. 4 (2005): 170–75, <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2005.03.006>.
132. Robert A. Kloner et al., “Effect of a Transient Period of Ischemia on Myocardial Cells,” *The American Journal of Pathology* 74, no. 3 (March 1974): 399–422.

133. R. S. Vander Heide et al., "Energy Dependence of Contraction Band Formation in Perfused Hearts and Isolated Adult Myocytes.," *The American Journal of Pathology* 125, no. 1 (October 1986): 55–68.
134. K. A. Reimer et al., "The Wavefront Phenomenon of Ischemic Cell Death. 1. Myocardial Infarct Size vs Duration of Coronary Occlusion in Dogs," *Circulation* 56, no. 5 (November 1977): 786–94, <https://doi.org/10.1161/01.cir.56.5.786>.
135. James L. Park and Benedict R. Lucchesi, "Mechanisms of Myocardial Reperfusion Injury," *The Annals of Thoracic Surgery* 68, no. 5 (November 1, 1999): 1905–12, [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)01073-5](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)01073-5).
136. G R Heyndrickx et al., "Regional Myocardial Functional and Electrophysiological Alterations after Brief Coronary Artery Occlusion in Conscious Dogs.," *Journal of Clinical Investigation* 56, no. 4 (October 1975): 978–85.
137. E Braunwald and R A Kloner, "The Stunned Myocardium: Prolonged, Postischemic Ventricular Dysfunction.," *Circulation* 66, no. 6 (December 1982): 1146–49, <https://doi.org/10.1161/01.CIR.66.6.1146>.
138. Gerd Heusch, "Myocardial Stunning and Hibernation Revisited," *Nature Reviews Cardiology* 18, no. 7 (July 2021): 522–36, <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00506-7>.
139. L. Maximilian Buja and Richard S. Vander Heide, "Pathobiology of Ischemic Heart Disease: Past, Present and Future," *Cardiovascular Pathology* 25, no. 3 (May 1, 2016): 214–20, <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2016.01.007>.
140. Richard F. Wallin et al., "Sevoflurane: A New Inhalational Anesthetic Agent," *Anesthesia & Analgesia* 54, no. 6 (December 1975): 758.
141. Stefan De Hert and Anneliese Moerman, "Sevoflurane," *F1000Research* 4, no. F1000 Faculty Rev (August 25, 2015): 626, <https://doi.org/10.12688/f1000research.6288.1>.
142. M. Doi and K. Ikeda, "Airway Irritation Produced by Volatile Anaesthetics during Brief Inhalation: Comparison of Halothane, Enflurane, Isoflurane and Sevoflurane," *Canadian Journal of Anaesthesia = Journal Canadien D'anesthesie* 40, no. 2 (February 1993): 122–26, <https://doi.org/10.1007/BF03011308>.
143. Edmond I. Eger, "New Inhaled Anesthetics," *Anesthesiology* 80, no. 4 (April 1, 1994): 906–22, <https://doi.org/10.1097/00000542-199404000-00024>.

144. Brenda A. Gentz and T. Philip Malan, "Renal Toxicity with Sevoflurane," *Drugs* 61, no. 15 (December 1, 2001): 2155–62, <https://doi.org/10.2165/00003495-200161150-00001>.
145. Ji Li et al., "Protective Effects of Sevoflurane in Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury," *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 29, no. 2 (June 2016): 300–307, <https://doi.org/10.1177/0394632016638346>.
146. W. G. Toller et al., "Sevoflurane Reduces Myocardial Infarct Size and Decreases the Time Threshold for Ischemic Preconditioning in Dogs," *Anesthesiology* 91, no. 5 (November 1999): 1437–46, <https://doi.org/10.1097/00000542-199911000-00037>.
147. Peng Yu et al., "Protective Effect of Sevoflurane Postconditioning against Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury via Ameliorating Mitochondrial Impairment, Oxidative Stress and Rescuing Autophagic Clearance," *PLOS ONE* 10, no. 8 (August 11, 2015): e0134666, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134666>.
148. Daniel Chappell et al., "Sevoflurane Reduces Leukocyte and Platelet Adhesion after Ischemia-Reperfusion by Protecting the Endothelial Glycocalyx," *Anesthesiology* 115, no. 3 (September 1, 2011): 483–91, <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3182289988>.
149. Inge K. Herrmann et al., "Volatile Anesthetics Improve Survival after Cecal Ligation and Puncture," *Anesthesiology* 119, no. 4 (October 1, 2013): 901–6, <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3182a2a38c>.
150. Xiao-Qian Li et al., "Sevoflurane Preconditioning Ameliorates Neuronal Deficits by Inhibiting Microglial MMP-9 Expression after Spinal Cord Ischemia/Reperfusion in Rats," *Molecular Brain* 7 (September 4, 2014): 69, <https://doi.org/10.1186/s13041-014-0069-7>.
151. Tiago F. Granja et al., "Adenosine Receptor Adora2b Plays a Mechanistic Role in the Protective Effect of the Volatile Anesthetic Sevoflurane during Liver Ischemia/Reperfusion," *Anesthesiology* 125, no. 3 (September 1, 2016): 547–60, <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000001234>.
152. Francesco Giacalone and Nazario Martín, "Fullerene Polymers: Synthesis and Properties," *Chemical Reviews* 106, no. 12 (December 1, 2006): 5136–90, <https://doi.org/10.1021/cr068389h>.
153. H. W. Kroto et al., "C60: Buckminsterfullerene | Nature," accessed May 17, 2023, <https://www.nature.com/articles/318162a0>.
154. W. Krätschmer et al., "Solid C60: A New Form of Carbon," *Nature* 347, no. 6291 (September 1990): 354–58, <https://doi.org/10.1038/347354a0>.

155. Roger Taylor et al., "Isolation, Separation and Characterisation of the Fullerenes C₆₀ and C₇₀: The Third Form of Carbon," *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, no. 20 (January 1, 1990): 1423–25, <https://doi.org/10.1039/C39900001423>.
156. B C Yadav and Ritesh Kumar, "Structure, Properties and Applications of Fullerenes," n.d.
157. Eiichi Nakamura and Hiroyuki Isobe, "Functionalized Fullerenes in Water. The First 10 Years of Their Chemistry, Biology, and Nanoscience," *Accounts of Chemical Research* 36, no. 11 (November 1, 2003): 807–15, <https://doi.org/10.1021/ar030027y>.
158. Saba Goodarzi et al., "Fullerene: Biomedical Engineers Get to Revisit an Old Friend," *Materials Today* 20, no. 8 (October 1, 2017): 460–80, <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>.
159. Christie M. Sayes et al., "The Differential Cytotoxicity of Water-Soluble Fullerenes," *Nano Letters* 4, no. 10 (October 1, 2004): 1881–87, <https://doi.org/10.1021/nl0489586>.
160. Susanna Bosi et al., "Fullerene Derivatives: An Attractive Tool for Biological Applications," *European Journal of Medicinal Chemistry* 38, no. 11 (November 1, 2003): 913–23, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.09.005>.
161. Y. L. Huang et al., "Blockage of Apoptotic Signaling of Transforming Growth Factor-Beta in Human Hepatoma Cells by Carboxyfullerene," *European Journal of Biochemistry* 254, no. 1 (May 15, 1998): 38–43, <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2540038.x>.
162. Javad Rasouli Vani et al., "Polyhydroxylated Fullerene Nanoparticles Attenuate Brain Infarction and Oxidative Stress in Rat Model of Ischemic Stroke," *EXCLI Journal* 15 (June 20, 2016): 378–90, <https://doi.org/10.17179/excli2016-309>.
163. Chiang-Ting Chien et al., "Forced Expression of Bcl-2 and Bcl-X_L by Novel Water-Soluble Fullerene, C₆₀(Glucosamine)₆, Reduces Renal Ischemia/Reperfusion-Induced Oxidative Stress," *Fullerene Science and Technology* 9, no. 1 (February 26, 2001): 77–88, <https://doi.org/10.1081/FST-100000167>.
164. Hong-Shiee Lai, Wei-Jao Chen, and Long-Yong Chiang, "Free Radical Scavenging Activity of Fullerenol on the Ischemia-Reperfusion Intestine in Dogs," *World Journal of Surgery* 24, no. 4 (April 1, 2000): 450–54, <https://doi.org/10.1007/s002689910071>.
165. D. M. Nozdrenko et al., "C₆₀ Fullerene as Promising Therapeutic Agent for the Prevention and Correction of Skeletal Muscle Functioning

- at Ischemic Injury,” *Nanoscale Research Letters* 12, no. 1 (February 14, 2017): 115, <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1876-4>.
166. Zhiyun Chen et al., “Applications of Functionalized Fullerenes in Tumor Theranostics,” *Theranostics* 2, no. 3 (March 1, 2012): 238–50, <https://doi.org/10.7150/thno.3509>.
 167. Theresa M. Allen and Pieter R. Cullis, “Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream,” *Science (New York, N.Y.)* 303, no. 5665 (March 19, 2004): 1818–22, <https://doi.org/10.1126/science.1095833>.
 168. Jinjin Shi et al., “A Tumoral Acidic PH-Responsive Drug Delivery System Based on a Novel Photosensitizer (Fullerene) for in Vitro and in Vivo Chemo-Photodynamic Therapy,” *Acta Biomaterialia* 10, no. 3 (March 1, 2014): 1280–91, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.037>.
 169. W. W. Win et al., “Methyl 1,2-Dihydrofullerenecarboxylate,” *The Journal of Organic Chemistry* 59, no. 20 (1994): 5871.
 170. Michael Brettreich and Andreas Hirsch, “A Highly Water-Soluble Dendro[60]Fullerene,” *Tetrahedron Letters* 39, no. 18 (April 30, 1998): 2731–34, [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)00491-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00491-2).
 171. Nina Tsao et al., “Inhibition of Group A Streptococcus Infection by Carboxyfullerene,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45, no. 6 (June 2001): 1788–93, <https://doi.org/10.1128/AAC.45.6.1788-1793.2001>.
 172. Dinççağ, Nevin. Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. *İç Hastalıkları Dergisi*, 2011, 18.4: 181-223.
 173. Anjali D Deshpande, Marcie Harris-Hayes, and Mario Schootman, “Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications,” *Physical Therapy* 88, no. 11 (November 1, 2008): 1254–64, <https://doi.org/10.2522/ptj.20080020>.
 174. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), “Worldwide Trends in Diabetes since 1980: A Pooled Analysis of 751 Population-Based Studies with 4.4 Million Participants,” *Lancet (London, England)* 387, no. 10027 (April 9, 2016): 1513–30, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00618-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00618-8).
 175. Silvio E. Inzucchi, “Diagnosis of Diabetes,” *New England Journal of Medicine* 367, no. 6 (August 9, 2012): 542–50, <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1103643>.
 176. Edward W Gregg, Naveed Sattar, Mohammed K Ali, The changing face of diabetes complications, *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, Volume 4, Issue 6, 2016, Pages 537-547, ISSN 2213-8587.

177. Konstantinos Papatheodorou et al., "Complications of Diabetes 2017," *Journal of Diabetes Research* 2018 (March 11, 2018): e3086167, <https://doi.org/10.1155/2018/3086167>.
178. Antonino Tuttolomondo, Carlo Maida, and Antonio Pinto, "Diabetic Foot Syndrome as a Possible Cardiovascular Marker in Diabetic Patients," *Journal of Diabetes Research* 2015 (2015): 268390, <https://doi.org/10.1155/2015/268390>.
179. Anne Lejay et al., "Ischemia Reperfusion Injury, Ischemic Conditioning and Diabetes Mellitus," *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 91 (February 1, 2016): 11–22, <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.12.020>.
180. Lawrence Blonde, "Current Antihyperglycemic Treatment Guidelines and Algorithms for Patients with Type 2 Diabetes Mellitus," *The American Journal of Medicine*, Current Issues in the Treatment of Type 2 Diabetes, 123, no. 3, Supplement (March 1, 2010): S12–18, <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2009.12.005>.
181. Mahsa Sarami Foroshani ve Mohammad Taghi Mohammadi, "Functionalized Fullerene Materials (Fullerol Nanoparticles) Reduce Brain Injuries during Cerebral Ischemia-Reperfusion in Rat" 4, sy 1 (2016).
182. Masiha Aryafar vd., "Water-soluble fullerene derivatives (C60(OH)18-22) decrease infarct volume and edema after middle cerebral artery occlusion in rats", *Journal of Experimental Animal Science* 2 (17 Ocak 2016): 80.
183. Mahsa Sarami Foroshani vd., "Fullerenol Nanoparticles Decrease Blood-Brain Barrier Interruption and Brain Edema during Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury Probably by Reduction of Interleukin-6 and Matrix Metalloproteinase-9 Transcription", *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 27, sy 11 (01 Kasım 2018): 3053-65, <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.06.042>.
184. Felix Fluri vd., "Fullerenols and Glucosamine Fullerenes Reduce Infarct Volume and Cerebral Inflammation after Ischemic Stroke in Normotensive and Hypertensive Rats", *Experimental Neurology* 265 (01 Mart 2015): 142-51, <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.01.005>.
185. Anya Maan-Yuh Lin vd., "Local Carboxyfullerene Protects Cortical Infarction in Rat Brain", *Neuroscience Research* 43, sy 4 (01 Ağustos 2002): 317-21, [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(02\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(02)00056-1).
186. Young Kim vd., "Neuroprotective effects of hydroxyfullerene in rats subjected to global cerebral ischemia", *Molecular and Cellular Toxicology* 4 (30 Eylül 2008): 218-23.

187. Y. H. Wang vd., "Inhibition of Middle Cerebral Artery Occlusion-Induced Focal Cerebral Ischemia by Carboxyfullerene", *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 14, sy 1 (01 Ocak 2004): 45-49, [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(04\)50004-7](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(04)50004-7).
188. Shamsi Darabi ve Mohammad Taghi Mohammadi, "Fullerol Potentiates the Brain Antioxidant Defense System and Decreases γ -Glutamyl Transpeptidase (GGT) mRNA during Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury", *European Journal of Nanomedicine* 9, sy 1 (01 Ocak 2017): 25-32, <https://doi.org/10.1515/ejnm-2016-0024>.
189. Mohammad Taghi Mohammadi, Zeinab Sadat Sobhani, ve Shamsi Darabi, "Fullerenol Nanoparticles Decrease Brain Infarction Through Potentiation of Superoxide Dismutase Activity During Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury", *Razavi International Journal of Medicine* 4, sy 4 (01 Ekim 2016): 31-36, <https://doi.org/10.17795/rijm41736>.
190. Hakan Kartal vd., "The Effect of Fullerenol C60 on Skeletal Muscle after Lower Limb Ischemia Reperfusion Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats", *Journal of Surgery and Medicine* 4, sy 6 (01 Haziran 2020): 451-55, <https://doi.org/10.28982/josam.756665>.
191. Ya-Wen Chen vd., "Fullerene derivatives protect against oxidative stress in RAW 264.7 cells and ischemia-reperfused lungs", *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 287, sy 1 (Temmuz 2004): R21-26, <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00310.2003>.
192. Y. -L. Lai, P. Murugan, ve K. C. Hwang, "Fullerene Derivative Attenuates Ischemia-Reperfusion-Induced Lung Injury", *Life Sciences* 72, sy 11 (31 Ocak 2003): 1271-78, [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02374-3](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02374-3).
193. Javad Rasouli Vani vd., "Polyhydroxylated fullerene nanoparticles attenuate brain infarction and oxidative stress in rat model of ischemic stroke", *EXCLI Journal* 15 (20 Haziran 2016): 378-90, <https://doi.org/10.17179/excli2016-309>.
194. Dmytro Nozdrenko vd., "Protective Effect of Water-Soluble C60 Fullerene Nanoparticles on the Ischemia-Reperfusion Injury of the Muscle Soleus in Rats", *International Journal of Molecular Sciences* 22, sy 13 (Ocak 2021): 6812, <https://doi.org/10.3390/ijms22136812>.
195. Chiang-Ting Chien vd., "Novel Water-Soluble Hexa(sulfobutyl)fullerene Attenuates Apoptosis Formation After Ischemic Renal Failure", *Fullerene Science and Technology* 7, sy 4 (01 Temmuz 1999): 529-40, <https://doi.org/10.1080/10641229909351359>.

196. Shiang Suo Huang vd., “Neuroprotective Effect of Hexasulfobutylated C60 on Rats Subjected to Focal Cerebral Ischemia”, *Free Radical Biology and Medicine* 30, sy 6 (15 Mart 2001): 643-49, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00505-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00505-0).
197. Gülay Kip vd., “Effect of Fullerenol C60 on Erythrocyte Deformability During Ischaemia-Reperfusion Injury of Lower Extremity in Diabetic Rats”, *GAZI MEDICAL JOURNAL* 30, sy 4 (2019), <https://doi.org/10.12996/gmj.2019.96>.
198. Magdi M. I. Yassin vd., “Lower Limb Ischemia-Reperfusion Injury Triggers a Systemic Inflammatory Response and Multiple Organ Dysfunction”, *World Journal of Surgery* 26, sy 1 (Ocak 2002): 115-21, <https://doi.org/10.1007/s00268-001-0169-2>.
199. Denis W. Harkin vd., “Ischemic Preconditioning before Lower Limb Ischemia—Reperfusion Protects against Acute Lung Injury”, *Journal of Vascular Surgery* 35, sy 6 (01 Haziran 2002): 1264-73, <https://doi.org/10.1067/mva.2002.121981>.
200. Ç. Olguner vd., “Ischemic Preconditioning Attenuates the Lipid Peroxidation and Remote Lung Injury in the Rat Model of Unilateral Lower Limb Ischemia Reperfusion”, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 50, sy 2 (2006): 150-55, <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2006.00938.x>.
201. Z. Mansour vd., “Remote Effects of Lower Limb Ischemia-Reperfusion: Impaired Lung, Unchanged Liver, and Stimulated Kidney Oxidative Capacities”, *BioMed Research International* 2014 (2014): 1-7, <https://doi.org/10.1155/2014/392390>.
202. Endre Gyurkovics vd., “Postconditioning of the Lower Limb—Protection Against the Reperfusion Syndrome”, *Journal of Surgical Research* 169, sy 1 (01 Temmuz 2011): 139-47, <https://doi.org/10.1016/j.jss.2009.10.014>.
203. Shi-Qiu Song vd., “Post-conditioning through lower limb ischemia-reperfusion can alleviate lung ischemia-reperfusion injury”, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 8, sy 9 (15 Eylül 2015): 14953-61.
204. M Ding vd., “FULLEROL Alleviates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Reducing Inflammation and Oxidative Stress in Cardiomyocytes via Activating the Nrf2/HO-1 Signaling Pathway”, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 24, sy 18 (01 Eylül 2020): 9665-74, https://doi.org/10.26355/eurrev_202009_23056.

8. ÖZET

Amaç: Bu çalışmada streptozotosin ile diyabet oluşturulan farelerde sevofluran ve Fullerenol C₆₀'ın alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarında kalp ve akciğer üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 46 adet farede altı tanesi hariç diğerlerine tek doz intraperitoneal streptozotosin uygulanarak diyabet oluşturulmuştur. Ardından fareler 6 gruba ayrılmıştır. Gruplar kontrol (n=6), diyabet-kontrol (n=8), diyabet-iskemi (n=8), diyabet-iskemi-fullerenol C₆₀ (n=8), diyabet-iskemi-sevofluran (n=8) ve diyabet-iskemi-fullerenol C₆₀-sevofluran (n=8) olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ve diyabet-kontrol grubundaki farelere orta hat laparotomi yapılmış, 120 dakika sonunda fareler sakrifiye edilmiştir. Diyabet-iskemi grubundaki farelere orta hat laparotomi yapıldıktan sonra 120 dakika alt ekstremitte iskemisi oluşturulmuş, ardından 120 dakika reperfüzyon yapılarak fareler sakrifiye edilmiştir. Diyabet-iskemi-fullerenol C₆₀ grubunda işlem öncesi farelere intraperitoneal olarak 100 µg/kg fullerenol C₆₀ uygulanmıştır. 30 dakika beklenerek orta hat laparotomi yapıldıktan sonra 120 dakika alt ekstremitte iskemisi oluşturulmuş, ardından 120 dakika reperfüzyon yapılarak fareler sakrifiye edilmiştir. Diyabet-iskemi-sevofluran grubundaki farelere orta hat laparotomi yapıldıktan sonra 120 dakika alt ekstremitte iskemisi oluşturulmuş, ardından 120 dakika reperfüzyon yapılarak fareler sakrifiye edilmiştir. İskemi ve reperfüzyon süresince bu gruptaki farelere belirli oranda sevofluran ve oksijen verilmiştir. Diyabet-iskemi-fullerenol C₆₀-sevofluran grubunda işlem öncesi farelere intraperitoneal olarak 100 µg/kg

fullerenol C₆₀ uygulanmıştır. 30 dakika beklenerek orta hat laparotomi yapıldıktan sonra 120 dakika alt ekstremite iskemisi oluşturulmuş, ardından 120 dakika reperfüzyon yapılarak fareler sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki farelere de iskemi ve reperfüzyon süresince belirli oranda sevofluran ve oksijen verilmiştir. Sakrifiye edilen tüm farelerin akciğer ve kalpleri alınarak dokularda biyokimyasal ve histolojik değerlendirme yapılmıştır.

Bulgular: Kalp doku örneklerinin histolojik incelemesinde nekroz ve eozinofil sayısının iskemi reperfüzyon uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre arttığı, DİR'e göre ise DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Benzer şekilde ödem ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun iskemi reperfüzyon hasarı uygulanan gruplarda arttığı gösterilmiştir. DİR grubuna kıyasla FUL-DİR grubunda polimorfonükleer lökosit sayıları, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise ödemin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Çizgilenme kaybı ve mikroskobik kanama bulgularında gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Toplam hasar skorunda ise DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR'e göre anlamlı azalma gösterilmiştir.

Akciğer doku örneklerinin histolojik incelemesinde alveolar hemoraji, vasküler konjesyon ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu bulgularının iskemi reperfüzyon ile arttığı gösterilmiştir. DİR grubuna kıyasla DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında bu bulguların anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. İskemi ile artan alveolar duvar ödeminin de FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR'e göre belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir. Benzer şekilde akciğer hasar

skorunun iskemi ile artığı, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında ise DİR'e göre anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir.

Kalp dokusu örneklerinin biyokimyasal değerlendirmesinde TAS düzeyi DİR grubunda kontrol ve D gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur. Ayrıca DİR grubunda D grubuna göre de TAS düzeyi anlamlı olarak düşük saptanmıştır. TOS düzeyleri ise DİR grubunda kontrol ve D gruplarına göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Ayrıca FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre TOS düzeyi anlamlı azalmış olarak saptanmıştır. OSİ düzeyi kıyaslandığında DİR ve DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artış görülmüştür. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ anlamlı azalmış olarak saptanmıştır. PON-1 enzim aktivitesi DİR, DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Benzer olarak PON-1 enzim aktivitesi DİR, DİR-S, ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak izlenmiştir. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesi düzeyinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Akciğer doku örneklerinin biyokimyasal değerlendirmesinde TAS düzeyi DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur. Benzer şekilde TAS düzeyi DİR ve DİR-S gruplarında D grubuna göre anlamlı düşük olarak saptanmıştır. Ayrıca DİR grubunda FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarına göre TAS düzeyi anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. TOS düzeyi kıyaslandığında DİR ve DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artış

gözlenmiştir. TOS düzeyi DİR grubunda D grubuna göre anlamlı artmış olarak izlenmiştir. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre TOS düzeyinde anlamlı azalma saptanmıştır. Gruplar akciğer dokusu OSİ düzeyleri DİR, DİR-S ve FUL-DİR-S gruplarında K grubuna göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Benzer şekilde OSİ düzeyi DİR grubunda D grubuna göre anlamlı artmış olarak saptanmıştır. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre OSİ’de anlamlı olarak azalma izlenmiştir. Akciğer dokusunda PON-1 enzim aktivitesi DİR grubunda K ve D gruplarına göre anlamlı artmış olarak bulunmuştur. Ayrıca DİR-S, FUL-DİR ve FUL-DİR-S gruplarında DİR grubuna göre PON-1 enzim aktivitesi düzeyinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarına bağlı akciğer ve kalpte oluşan uzak organ hasarı, sevofluran ve fulleranol C₆₀ molekülleri ile önemli ölçüde azaltılabilmektedir.

9. SUMMARY

Objectives: In this study, it was aimed to investigate the effects of sevoflurane and Fullerenol C₆₀ on heart and lung tissues in lower extremity ischemia-reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetes mellitus mice.

Materiel and Methods: Diabetes was induced by administering a single dose of intraperitoneal streptozocin to all but six of 46 mice. Then the mice were divided into 6 groups. The groups were control (n=6), diabetes-control (n=8), diabetes-ischemia (n=8), diabetes-ischemia-fullerenol C₆₀ (n=8), diabetes-ischemia-sevoflurane (n=8) and diabetes. -ischemia-fullerenol C₆₀-sevoflurane (n=8). Mice in the control group and diabetes-control group underwent midline laparotomy and were sacrificed after 120 minutes. After midline laparotomy was performed on the mice in the diabetes-ischemia group, lower extremity ischemia was created for 120 minutes, followed by reperfusion for 120 minutes and the mice were sacrificed. In the diabetes-ischemia-fullerenol C₆₀ group, 100 µg/kg fullerenol C₆₀ was administered intraperitoneally to the mice before the procedure. After waiting for 30 minutes, midline laparotomy was performed, and lower extremity ischemia was created for 120 minutes, followed by 120 minutes of reperfusion, and the mice were sacrificed. After midline laparotomy was performed on the mice in the diabetes-ischemia-sevoflurane group, lower extremity ischemia was created for 120 minutes, followed by reperfusion for 120 minutes and the mice were sacrificed. During ischemia and reperfusion, a certain amount of sevoflurane and oxygen was given to the mice in this group. In the diabetes-ischemia-fullerenol C₆₀-sevoflurane

group, 100 µg/kg fullereneol C₆₀ was administered intraperitoneally to the mice before the procedure. After midline laparotomy was performed by waiting 30 minutes, lower extremity ischemia was created for 120 minutes, followed by 120 minutes of reperfusion, and the mice were sacrificed. Mice in this group were also given sevoflurane and oxygen at a certain rate during ischemia and reperfusion. Lungs and hearts of all sacrificed mice were taken and biochemical and histological evaluations were made in the tissues.

Results: In the histological examination of heart tissue samples, it was shown that necrosis and eosinophil count increased in ischemia-reperfusion treated groups compared to the control group, and significantly decreased in DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to DIR. Similarly, it has been shown that edema and polymorphonuclear leukocyte infiltration increased in the groups that underwent ischemia-reperfusion injury. Compared to the DIR group, polymorphonuclear leukocyte counts were significantly reduced in the FUL-DIR group, and edema was significantly reduced in the FUL-DIR and FUL-DIR-S groups. There was no significant difference between the groups in findings such as loss of streaking and microscopic bleeding. Total damage score was significantly decreased in DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to DIR.

Histological examination of lung tissue samples showed that alveolar hemorrhage, vascular congestion and polymorphonuclear leukocyte infiltration increased with ischemia reperfusion. Compared to the DIR group, these findings were found to be significantly reduced in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups. It has been shown that alveolar wall edema, which increases with ischemia,

is significantly reduced in the FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to DIR. Similarly, it was observed that the lung injury score increased with ischemia and decreased significantly in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to DIR.

In the biochemical evaluation of heart tissue samples, TAS level was found to be significantly lower in the DIR group compared to the control and D groups. In addition, TAS level was found to be significantly lower in the DIR group compared to the D group. TOS levels were found to be significantly increased in the DIR group compared to the control and D groups. Additionally, the TOS level was found to be significantly decreased in the FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the DIR group. When the OSI level was compared, a significant increase was observed in the DIR and DIR-S groups compared to the K group. In addition, OSI was found to be significantly decreased in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the DIR group. PON-1 enzyme activity was found to be significantly increased in the DIR, DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the K group. Similarly, PON-1 enzyme activity was observed to be significantly increased in the DIR, DIR-S, and FUL-DIR-S groups compared to the K group. In addition, it was determined that the PON-1 enzyme activity level was significantly reduced in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the DIR group.

In the biochemical evaluation of lung tissue samples, TAS level was found to be significantly lower in the DIR, DIR-S and FUL-DIR-S groups compared to the K group. Similarly, TAS level was found to be significantly lower in the DIR

and DIR-S groups compared to the D group. In addition, TAS level was observed to be significantly higher in the DIR group compared to the FUL-DIR and FUL-DIR-S groups. When the TOS level was compared, a significant increase was observed in the DIR and DIR-S groups compared to the K group. TOS level was observed to be significantly increased in the DIR group compared to the D group. Additionally, a significant decrease in TOS level was detected in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the DIR group. Lung tissue OSI levels were found to be significantly increased in the DIR, DIR-S and FUL-DIR-S groups compared to the K group. Similarly, OSI level was found to be significantly increased in the DIR group compared to the D group. Additionally, a significant decrease in OSI was observed in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the DIR group. PON-1 enzyme activity in lung tissue was found to be significantly increased in the DIR group compared to K and D groups. In addition, it was determined that the PON-1 enzyme activity level was significantly reduced in the DIR-S, FUL-DIR and FUL-DIR-S groups compared to the DIR group.

Conclusion: Distant organ damage in the lung and heart tissues due to lower extremity ischemia-reperfusion injury can be significantly reduced by sevoflurane and fullerenol C₆₀ molecules.

10. ÖZ GEÇMİŞ

Adı :Ender
Soyadı : Örnek
Doğum Yeri ve Tarihi :
Eğitimi :Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi 2016
Eskişehir Fen Lisesi 2009
Yabancı Dil :İngilizce
Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar :TARD