



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN KOMPARTMAN SENDROMU
MODELİNDE SİLİBİNİN VE DEFEROKSAMİN
MOLEKÜLLERİNİN DOKU REJENERASYONU VE
FONKSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Dr. BERK KONCALIOĞLU
UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2025



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN KOMPARTMAN SENDROMU
MODELİNDE SİLİBİNİN VE DEFEROKSAMİN
MOLEKÜLLERİNİN DOKU REJENERASYONU VE
FONKSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Dr. BERK KONCALIOĞLU
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: Doç. Dr. OSMAN MERT TOPKAR

İSTANBUL 2025

ÖNSÖZ

Bilimin ve aklın yolunu göstererek bizlere her koşulda ilerlemeyi ve üretmeyi öğreten bugün bu satırları yazabiliyor olmamı mümkün kılan Ulu Önder Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e minnet ve saygıyla...

Tıp fakültesi sonrası başladığım uzmanlık eğitimimin en öğretici, en zorlu ve aynı zamanda en anlamlı dönemlerinden biri olan Marmara Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğindeki asistanlık sürecimi tamamlamanın gururunu yaşıyorum. Bu süreçte edindiğim birikimi bilimsel bir çalışmayla taçlandırmak, hem mesleki gelişimime hem de ortopedi ve travmatoloji alanına katkı sunma isteğimin bir yansımasıdır.

Bu tez çalışmasında, sıçanlarda oluşturulan deneysel kompartman sendromu modelinde silibinin ve deferoksamın moleküllerinin doku rejenerasyonu ve fonksiyon üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladım. Klinik pratiğimizde sıkça karşılaştığımız kompartman sendromuna yönelik bu deneysel modelin, ileride daha güçlü tedavi seçeneklerine zemin hazırlayacağına inanıyorum.

Uzmanlık sürecim boyunca hem bilimsel yaklaşımı hem de hekimlik duruşuyla her zaman örnek aldığım; yalnızca tezde değil tüm mesleki gelişimimde büyük katkı sağlayan, desteğini ve güvenini her zaman hissettiren değerli danışmanım Doç. Dr. Osman Mert Topkar'a gönülden teşekkür ederim.

Akademik ve pratik katkılarının yanı sıra, çözüm odaklı yaklaşımıyla eğitimimin her anında yanımda olan, kliniğimizde huzurlu bir çalışma ortamı oluşturan çok değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Deniz Gülabi'ye teşekkür ederim.

Her zaman destekleyici ve güven veren yaklaşımıyla bana güç katan değerli hocam Doç. Dr. Evrim Şirin'e içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimin histopatolojik değerlendirmelerinde titiz ve özverili katkılarıyla sürece önemli destek sağlayan Patoloji Anabilim Dalı Uzmanı Dr. Emine Çeşmecioğlu Karavin'e teşekkür ederim.

Kliniğimizde birlikte çalışma fırsatı bulduğum Prof. Dr. Hasan Hilmi Muratlı, Prof. Dr. Volkan Kılınçoğlu, Prof. Dr. Cengiz Eren Cansü, Doç. Dr. Ömer Sofulu, Doç. Dr. Özgür Baysal, Doç. Dr. Mehmet Ekinci, Op. Dr. Oytun Derya Tunç, Op. Dr. Motasım Khalid Bavaneh, Op. Dr. Turgut Dinçal, Op. Dr. Serdar Orhan, Op. Dr. İhsan Özdamar, Op. Dr. Samir İlgarlıoğlu, Op. Dr. Ufuk Arzu ve Op. Dr. Batuhan Gencer, Op. Dr. Mert Gündoğdu'na ayrı ayrı eğitimime olan katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım başta Dr. Çağrı Ata Mutlu olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, sevgisi ve desteğiyle bana güç veren değerli aileme; en kıymetli ışığım sevgili annem Fizik Öğretmeni Bilgin Nilay Koncalıoğlu, babam Emekli Albay Atıla Koncalıoğlu, kardeşim Dr. Bersun Koncalıoğlu ve amcam Emekli Tümgeneral Zekeriya Öztürk'e sonsuz sevgimle teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan, beni sabırla destekleyen; yaşam kaynağım sevgili eşim Dr. Eylem Koncalıoğlu'na teşekkür ederim. Her şey seninle anlam kazanıyor.

Henüz aramıza katılmamışken bile bana en büyük gücü veren Ata Koncalıoğlu'na teşekkür ederim. Seni sabırsızlıkla bekliyoruz.

Berk Koncalıoğlu

Haziran 2025

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda oluşturulan deneysel kompartman sendromu modelinde anti-ferroptotik özelliklere sahip silibinin ve deferoksaminin kas dokusunun rejeneratif süreçleri ve motor fonksiyonel iyileşme üzerindeki etkilerini hem histopatolojik hem de fonksiyonel düzeyde sistematik olarak değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu hayvan deneyi çalışmasına 3 aylık 42 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan dahil edildi. Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlarda kompartman sendromu modeli oluşturularak, Silibinin ve Deferoksamin'in histopatolojik ve fonksiyonel düzeydeki etkileri değerlendirildi. Toplamda 6 grup oluşturuldu ve her gruba 7 sıçan dahil edildi. Hayvanlara intraperitoneal yolla 100 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazin uygulanarak genel anestezi sağlandı. Sağ arka ekstremitelere neonatal tansiyon manşonu yerleştirilerek 140 mmHg basınçla 3 saat boyunca turnike uygulandı ve bu şekilde kompartman sendromu modeli oluşturuldu. Turnike uygulamasının ardından tedavi protokolüne başlandı. Silibinin tedavi grubuna, 200 mg/kg dozunda Silibinin gastrik gavaj yoluyla; Deferoksamin grubuna ise 100 mg/kg dozunda Deferoksamin intraperitoneal yolla, kompartman oluşturulmasının ardından günlük olarak uygulamaları başlanmış ve ilgili gruplarda 4. veya 14. güne kadar günlük olarak devam ettirilmiştir. Kontrol grupları tedavisiz izlendi. Her bir gruptaki sıçanlara, deney sonlandırma gününde eğimli tahta testi ile motor fonksiyonel değerlendirme yapılmıştır. Bu testte hayvanlar kademeli olarak eğimi artırılan bir düzleme yerleştirilmiş ve kaymadan durabildikleri maksimum açı kaydedilmiştir. Test üç kez yinelenmiş ve analiz edilmiştir. Fonksiyonel testlerin ardından tüm hayvanlara anestezi altında ötenazi protokolü olarak giyotin ile dekapitasyon işlemi gerçekleştirildi. Her hayvandan, oluşturulan kompartman sendromlu ekstremiteler ile karşı taraf sağlam ekstremiteler eksiye edilerek histopatolojik incelemeye alındı. Doku örnekleri %10'luk formaldehit içinde fikse edildi, standart doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü ve örnekler, histopatolojik incelemeler için hematoksilin-eozin (HE) ve Masson Trikrom (MTK) histokimyasal boyamaları ile değerlendirildi. Pax7 ve Myogenin immünohistokimyasal değerlendirme çalışma planına dahil edilmiş, ilgili BAP bütçe onayı alınmış olmasına rağmen antikor temininde yaşanan lojistik gecikmeler nedeniyle tez süresi içerisinde

uygulanamamıştır. Bu analizlerin yayın aşamasında tamamlanarak çalışmanın bilimsel derinliğini ve literatüre katkısını artırması planlanmaktadır. Elde edilen veriler NCSS 2020 yazılımı ile analiz edildi. Tanımlayıcı istatistiklerde ortalama, medyan ve yüzde değerleri kullanıldı. Normal dağılım değerlendirmesi Shapiro-Wilk testi ile yapıldı. Parametrik olmayan karşılaştırmalar için Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis ve Dunn-Bonferroni testleri uygulandı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Fonksiyonel değerlendirmede, silibinin ve deferoksamin tedavi gruplarında 14. gün itibarıyla anlamlı iyileşmeler gözlemlendi ($p<0,01$). Her iki ilacın uygulandığı 14. gün gruplarında fonksiyonel skorlar, hem 4. gün skorlarına hem de aynı gün kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,01$). Histopatolojik analizde, HE ve MTK skorları açısından 14. gün tedavi gruplarında anlamlı azalma saptandı ($p=0,015$ ve $p=0,001$). Özellikle deferoksamin ve silibinin gruplarında inflamasyon, fibrozis ve doku nekrozu bulgularında belirgin düzelme izlendi. Kompartman sendromu sonrası 14. günde tedavi almayan kontrol grubunun HE ve MTK skorları, tedavi gruplarına kıyasla anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$).

Sonuç: Bu çalışma, silibinin ve deferoksaminin deneysel kompartman sendromunda yalnızca doku hasarını azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda fonksiyonel olarak anlamlı düzeyde korunmasına ve iyileştirilmesine katkı sağladığını ortaya koymuştur. Her iki ajan da inflamasyon ve fibrozisi gerileterek rejeneratif süreci desteklemiş; tedavisiz gruplara kıyasla belirgin fonksiyonel kazanımlar sağlamıştır. Bu bulgular, anti-ferroptotik stratejilerin kompartman sendromuna bağlı iskelet kası hasarını önlemede ve tedavi etmede güçlü bir terapötik potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kompartman sendromu, Hayvan deneyi, Deferoksamin, Silibinin, Ferroptoz

ABSTRACT

Purpose: This study aimed to systematically evaluate the effects of silibinin and deferoxamine—agents with anti-ferroptotic properties—on skeletal muscle regeneration and motor functional recovery in a rat model of experimentally induced compartment syndrome, through both histopathological and functional assessments.

Materials and Methods: This experimental animal study included 42 male Sprague Dawley rats aged 3 months. A compartment syndrome model was induced in the right hind limbs of the animals using a neonatal blood pressure cuff inflated to 140 mmHg for 3 hours. Rats were randomly assigned to six groups, with seven animals in each group. General anesthesia was achieved via intraperitoneal injection of 100 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine. Following the ischemic insult, treatment protocols were initiated. In the silibinin treatment groups, 200 mg/kg/day of silibinin was administered via oral gavage; in the deferoxamine groups, 100 mg/kg/day of deferoxamine was administered intraperitoneally. Treatments were delivered daily until day 4 or day 14, depending on group assignment. Control groups received no active treatment. On the designated endpoint day, motor function was assessed using the inclined plane test, in which animals were placed on a gradually inclined surface and the maximum angle at which they could remain without slipping was recorded. Each test was repeated three times, and the average angle was used for analysis. After functional evaluation, all animals were euthanized under anesthesia via guillotine decapitation. From each animal, both the compartment syndrome-affected limb and the contralateral healthy limb were excised for histopathological analysis. Tissue samples were fixed in 10% formaldehyde, processed using standard histological techniques, embedded in paraffin, and evaluated with hematoxylin-eosin (HE) and Masson's trichrome (MT) staining. Pax7 and Myogenin immunohistochemical analyses were included in the original study protocol and approved by the institutional BAP grant; however, due to logistical delays in antibody procurement, these evaluations could not be performed within the thesis timeline. They are planned to be completed during the publication phase to enhance the scientific rigor and contribution of the study. Data were analyzed using NCSS 2020 statistical software. Descriptive

statistics included mean, median, and percentage values. The Shapiro-Wilk test was used to assess normality. Non-parametric comparisons were conducted using the Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis test, and Dunn-Bonferroni post hoc analysis. A p-value of <0.05 was considered statistically significant.

Results: Silibinin and deferoxamine treatment groups demonstrated significant improvements in motor function by day 14 ($p<0.01$). Functional scores in both groups were significantly higher than their respective day 4 scores and the untreated controls on day 14 ($p<0.01$). Histopathological evaluations showed a marked reduction in HE and MTK scores in the day 14 treatment groups ($p=0.015$ and $p=0.001$, respectively). Both agents were associated with notable decreases in inflammation, fibrosis, and tissue necrosis. Conversely, untreated controls exhibited significantly higher histopathological scores compared to treated animals on day 14 ($p<0.05$).

Conclusion: This study demonstrated that silibinin and deferoxamine not only mitigated tissue damage in experimental compartment syndrome but also contributed to the preservation and functional improvement of skeletal muscle. Both agents supported regenerative processes by reducing inflammation and fibrosis, resulting in significant functional gains compared to untreated groups. These findings suggest that anti-ferroptotic strategies hold strong therapeutic potential for preventing and treating skeletal muscle injury associated with compartment syndrome.

Keywords: Animal experiment, Deferoxamine, Silibinin, Ferroptosis

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kompartman Sendromunun Tanımı ve Patofizyolojisi	2
2.2. Kompartman Sendromunun Klinik Seyri ve Tanısı.....	5
2.3. Kompartman Sendromunun Tedavi Yaklaşımları	6
2.4. Hücresel Hasar Mekanizmaları.....	8
2.4.1. Geri dönüşlü hücre hasarı.....	10
2.4.2. Geri dönüşsüz hücre hasarı	10
2.5. Apoptoz: Moleküler Düzeyde Programlı Hücre Ölümü.....	11
2.6. İskemi ve Reperfüzyon	12
2.7. Kontrollü Hücre Ölüm Yolaklarının Evrimi ve Ferroptoz	13
2.7.1. Ferroptozun rol aldığı biyolojik mekanizmalar ve süreçler	15
2.7.2. Ferroptotik hücre ölümünü düzenleyen biyokimyasal yollar.....	16
2.7.2.1. Xc ⁻ / GPX4 yolağı	16
2.7.2.2. FSP1–CoQ10 (koenzim Q10) yolağı.....	17
2.7.2.3. P62–Keap1–Nrf2 yolağı	17
2.7.2.4. Demir metabolizması ve fenton reaksiyonu	17
2.7.2.5. Lipid metabolizması ve lipid peroksidasyonu	18
2.7.2.6. Farmakolojik indükleyiciler ve inhibitörler	18
2.7.3. Ferroptotik aktiviteyi modüle eden ajanlar	19
2.7.4. Kompartman sendromunda ferroptozun yeri	20
2.8. Deferoksamin.....	21
2.9. Silibinin.....	23

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Çalışma Tasarımı	27
3.2. Hayvan Sayısı	28
3.3. Deney Hayvanlarının Özellikleri	29
3.4. Kompartman Sendromu Hasar Modeli	29
3.5. Deney Planı.....	31
3.6. Deferoksamin Molekülünün Uygulama için Hazırlanışı ve Uygulanması.....	32
3.7. Silibinin Molekülünün Uygulama İçin Hazırlanışı ve Uygulanması.....	33
3.8. Kompartman Sendromu Sonrası Takip Prosedürü	35
3.9. Fonksiyonel Değerlendirme.....	35
3.10. Ötenazi Prosedürleri ve Numunelerin Elde Edilmesi	36
3.11. Histopatolojik İnceleme Prosedürü.....	38
3.12. Histopatolojik İncelemeler için Kullanılan Yöntemler.....	38
3.12.1. Hematoksilen-eozin (HE) skorlaması	38
3.12.2. Masson trikrom (MTK) skorlaması	39
3.13. İstatistiksel Analiz.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Histopatolojik Sonuçlar	41
4.1.1. HE skor sonuçları.....	42
4.1.2. MTK skor sonuçları	43
4.2. Fonksiyonel Sonuçlar.....	48
5. TARTIŞMA	51
5.1. Kompartman Sendromunda Tedavi Arayışları	51
5.2. Kompartman Sendromunda Deferoksamin ve Silibinin Yeri.....	55
5.3. Çalışmanın Kısıtlılıkları.....	56
6. SONUÇLAR	59
KAYNAKLAR	60
EKLER.....	72
EK 1. Etik Kurul Onayı	72
EK 2. Proje Bütçe Desteği	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACSL4	: Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4
AKS	: Akut Kompartman Sendromu
ATP	: Adenozin Trifosfat
BAX	: Bel ilişkili x protein
BCL-2	: B-cell lymphoma 2
CoQ10	: Koenzim Q10
DEHAMER	: Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
DFO	: Deferoksamin
FSP1	: Ferroptosis Supressor Protein 1
FTH-1	: Ferritin Heavy Chain 1
GPX4	: Glutasyon Peroksidaz 4
GSH	: Glutasyon
HE	: Hematoksilen-Eozin
HMOX1	: Hem Oksijenaz 1
HO-1	: Heme Oxygenase-1
HOMA-IR	: Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance
KEAP-1	: Kelch-like ECH-associated protein 1
MTK	: Masson Trikrom
NAC	: N-Asetil Sistein
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NOD2	: Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2
NRF2	: Eritroid 2 ilişkili Nükleer Faktör
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PRP	: Platelet-Rich Plasma
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acids
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SLC7A11	: Solute Carrier Family 7 Member 11

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Kompartman Sendromunda Doku Hasarının Gelişim Mekanizmaları	4
Şekil 2.	Kompartman Basıncının Ölçülmesi	6
Şekil 3.	Stres Karşısındaki Hücre Yanıtı	9
Şekil 4.	Hücre Hasar Bölgeleri	11
Şekil 5.	Ferroptozun Temel Moleküler Mekanizmaları ve Sinyal Düzenleyici Yolakları	15
Şekil 6.	Ferroptoz Araştırmalarının Kronolojik Gelişimi: Moleküler Mekanizmalar ve Farmakolojik Düzenleyiciler	19
Şekil 7.	Deferoksamin Aracılığıyla Hücrel Demir Regülasyonu ve Ferroptozun İnhibisyon Mekanizması	22
Şekil 8.	Silibinin Hücrel Düzeyde Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Apoptoz Üzerindeki Düzenleyici Etkileri	24
Şekil 9.	Deney Süresince Kullanılan Sprague Dawley Sıçanların Barındırıldığı Standart Polipropilen Kafes Görünümü	29
Şekil 10.	Sıçan Modelinde Non-İnvaziv Kompresyon Yöntemiyle Kompartman Sendromu Oluşturulması	30
Şekil 11.	Sıçan Modelinde Deferoksamin Uygulamasının İntraperitoneal Enjeksiyon Yöntemiyle Gerçekleştirilmesi	33
Şekil 12.	Sıçan Modelinde Silibinin Uygulamasının Oral Gavaj Yöntemiyle Gerçekleştirilmesi	34
Şekil 13.	Çalışmada Kullanılan Farmakolojik Ajanlara Ait Ticari Preparatlar	35
Şekil 14.	Eğimli Tahta Testinde Sıçanın Arka Ekstremit Motor Fonksiyonuna Bağlı Olarak Yüzeyde Tutunabildiği Maksimum Açık (B) Prensibiyle Yapılan Değerlendirme Şeması	36
Şekil 15.	Eğimli Tahta Testi	36
Şekil 16.	Deney Hayvanlarının Ötenazi İşleminde Kullanılan Laboratuvar Tipi Manuel Giyotin Düzenegi	37
Şekil 17.	Numunelerin Etiketlendirilmesi	37
Şekil 18.	Deneyel Kompartman Sendromu Modelinde Farklı Tedavi Gruplarına Ait Hematoksilen-Eozin (HE) İle Boyanmış Kas Doku Kesitleri (X100)	42
Şekil 19.	HE skorlarının dağılımı	42
Şekil 20.	Masson Trikrom (MTK) İle Boyanmış Kas Dokusu Kesitlerinde Fibrotik Değişimlerin Karşılaştırılması (X100)	43
Şekil 21.	MTK Skorlarının Dağılımı	43

Şekil 22.	Gruplara Göre HE Skorlarının Dağılımı	45
Şekil 23.	Gruplara Göre 14.Gün HE Skorlarının Dağılımı	45
Şekil 24.	Gruplara Göre MTK Skorlarının Dağılımı	47
Şekil 25.	Gruplara Göre 14.Gün MTK Skorlarının Dağılımı.....	47
Şekil 26.	Gruplara Göre Fonksiyonel Sonuçların Dağılımı	49
Şekil 27.	Gruplara Göre 4.Gün Fonksiyonel Sonuçların Dağılımı	50
Şekil 28.	Gruplara Göre 14.Gün Fonksiyonel Sonuçların Dağılımı	50



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Deney Gruplarının Uygulanan Tedaviye ve Sakrifiye Zamanına Göre Dağılımı.....	32
Tablo 2.	HE (hematoksilen eozin) Skoru	39
Tablo 3.	MTK Skoru	39
Tablo 4.	Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı	41
Tablo 5.	Gruplara Göre HE Skorlarının Karşılaştırılması.....	44
Tablo 6.	Gruplara Göre MTK Skorlarının Karşılaştırılması	46
Tablo 7.	Gruplara Göre Fonksiyonel Sonuçların Karşılaştırılması	48

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kompartman sendromu, ekstremitte kas ve sinir dokularını içeren sınırlı anatomik bölmelerde intrakompartman basıncının artmasıyla ortaya çıkan, hızlı müdahale gerektiren ciddi bir ortopedik acil durumdur. Bu patofizyolojik süreç, doku perfüzyonunun bozulmasıyla başlar; kapiller kan akışının azalması sonucunda gelişen iskemi, inflamasyon, hücresel yıkım ve fibrozis gibi geri dönüşümsüz yapısal değişikliklerle ilerler (1). Sonuç olarak, ilgili ekstremitede motor fonksiyon kaybı ve duyu bozukluklar meydana gelebilir. Kompartman sendromunun etiyolojisinde travmatik kırıklar, yumuşak doku ezilmeleri, derin yanıklar ve özellikle reperfüzyon hasarı öne çıkmaktadır. Ayrıca deprem gibi yaygın yıkıma yol açan doğal afetler sonrasında gelişen crush yaralanmaları, özellikle sismik aktivitenin yüksek olduğu bölgelerde bu sendromun toplum sağlığı açısından kritik bir problem haline gelmesine neden olmaktadır (2). Günümüzde kompartman sendromunun patofizyolojisi, iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak gelişen oksidatif stres ve hücresel yıkım süreçleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu süreçte ferroptoz adı verilen, demir bağımlı lipid peroksidasyonuna dayalı programlı hücre ölümünün önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Anti-ferroptotik ajanların iskemiye bağlı doku hasarını azaltıcı etkileri çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiş olup, bu ajanların kompartman sendromunda doku rejenerasyonu ve fonksiyonel iyileşme üzerine etkileri henüz yeterince araştırılmamıştır (3).

Bu çalışmanın temel amacı, deneysel kompartman sendromu sıçan modelinde, anti-ferroptotik etkileri literatürde tanımlanmış olan silibinin ve deferoksamin moleküllerinin kas dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler ve fonksiyonel iyileşme üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Çalışma kapsamında, hem akut fazı temsil eden 4. günde hem de iyileşme sürecini yansıtan 14. günde histolojik ve fonksiyonel değerlendirmeler yapılacaktır. Elde edilecek bulgular doğrultusunda, ferroptozu hedef alan farmakolojik ajanların kompartman sendromu tablosundaki terapötik potansiyelinin ortaya konması ve bu alandaki bilimsel literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kompartman Sendromunun Tanımı ve Patofizyolojisi

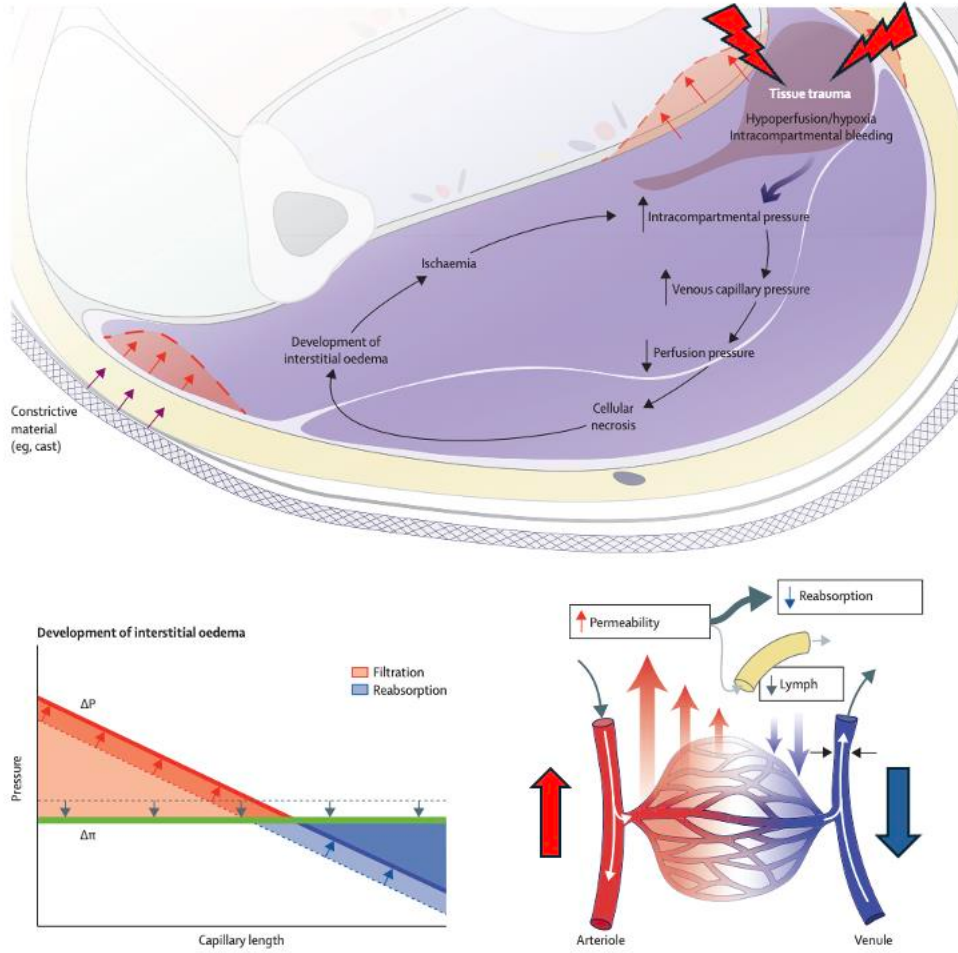
Kompartman sendromu, genellikle travmatik olayların ardından gelişen ve ekstremitelerdeki kas gruplarını çevreleyen fasya ile sınırlı anatomik alanlarda basınç artışıyla karakterize bir klinik tablodur. Bu artmış basınç, kapalı kompartman içindeki perfüzyon basıncını aşarak kas, sinir ve diğer yumuşak dokuların yeterli oksijenlenmesini engeller ve iskemiye yol açar. En sık uzun kemik kırıkları veya doğrudan travmalar sonrasında gözlemlenir. Kompartmanlar anatomik olarak alt ve üst ekstremitelerde, elde, karında, kalçada ve hatta kafatasında bile bulunabilir; kranial boşluk da fonksiyonel bir kompartman olarak değerlendirilebilir. Bu sendromun klinik özellikleri ilk kez 1881 yılında Volkmann tarafından tanımlanmış ve doku perfüzyonunun bozulduğu, anatomik sınırlarla çevrili alanlarda gelişen bir patolojik süreç olarak ele alınmıştır (4, 5). Kompartman sendromu vakalarının büyük bir kısmında, kırıklar temel neden olarak karşımıza çıkar; yapılan çalışmalarda bu durumun olguların yaklaşık %69'unda etiyolojik faktör olarak tespit edildiği bildirilmiştir (5).

Akut ekstremitte kompartman sendromu en sık travmatik olayların ardından ortaya çıkmakla birlikte, olguların yaklaşık %30'unda herhangi bir kırık saptanmaksızın da gelişebilmektedir. Bu sendromun oluşumuna neden olabilecek diğer durumlar arasında, özellikle sirküler yapıda olan termal yanıklar, cerrahi sırasında litotomi pozisyonunun uzun süreli kullanımı ve aşırı sıkı alçı uygulamaları ya da bandajlamalar yer almaktadır. (6, 7)

Kompartmanlar; kaslar, damarlar, sinirler, tendonlar ve bağ dokularını çevreleyen ve bu yapıları belirli anatomik alanlar içinde sınırlayan fibröz fasya ile çevrili bölgelerdir. Fasya yapısal olarak esnek olmadığından, bu alanlarda meydana gelen ödem, kanama ya da kas travması gibi durumlar, kompartman içi basıncın hızla artmasına neden olur. Artan basınç, dokuların perfüzyonunu bozarak, kompartman sendromu olarak adlandırılan ciddi bir klinik tablonun ortaya çıkmasına zemin hazırlar (8).

Kompartman sendromu, ya kompartmanı basıya uğratan ya da içeriğin (kan, ödem, enfeksiyon vb.) artmasına neden olan çeşitli durumlar sonucu ortaya çıkabilir. Kompartman içi basınç normal sınırların üzerine (genellikle >10 mmHg) çıktığında, doku perfüzyonunu tehdit eden bir dizi patofizyolojik mekanizma devreye girer. Artan basınç nedeniyle kapiller damarlar basıya uğrar ve dokuya yeterli kan akışı sağlanamaz. Venöz ve lenfatik drenajın bozulması (Şekil 1), ödemin artmasına ve basıncın daha da yükselmesine neden olur. Arteriyel kan akımı bir süre devam etse de, venöz çıkışın kısıtlanması bu dengesizliğin derinleşmesine yol açar. Böylece kas dokusundaki perfüzyon giderek bozulur ve iskemik hasar şiddetlenerek ilerler (9).

Kompartman içi basıncın giderek artması, özellikle arteriyol seviyesinde perfüzyonun ciddi biçimde bozulmasına neden olur ve iskemik süreci daha da ağırlaştırır. Bu evrede kapiller geçirgenlikte artış meydana gelir; plazma bileşenlerinin interstisyel alana sızması doku ödemeine zemin hazırlar. Miyosit yıkımıyla açığa çıkan ozmotik olarak aktif maddeler, damar içinden sıvı çekilmesine neden olarak intrakompartman basıncını daha da yükseltir. Literatürde bir miliosmol düzeyindeki partikülün yaklaşık 19.5 mmHg'lik bir basınç oluşturabileceği belirtilmektedir. Bu mekanizmalar zinciri, dokuya ulaşan kan miktarının daha da azalmasına neden olur. Kompartman basıncı 30 mmHg'yi aştığında, kas dokusunda geri dönüşü olmayan iskemik hasar riski artar; hücresel düzeyde hasar 4. saat civarında başlar ve bu durum 4-8 saat içinde kalıcı nekroza ilerleyebilir (9).



Şekil 1. Kompartman Sendromunda Doku Hasarının Gelişim Mekanizmaları (10)
(Kaynak: von Keudell ve ark., 2015'ten uyarlanmıştır.)

Kompartman sendromunda görülen fonksiyonel kayıplar, esasen doğrudan mekanik basıya değil, azalmış doku perfüzyonuna bağlı gelişen iskekiye dayanmaktadır. Bu nedenle bir ekstremitenin artan kompartman basıncına toleransı; pozisyonuna, sistemik tansiyona, eşlik eden kan kaybına ve arteriyel dolaşımın durumuna göre değişkenlik gösterebilir. Kompartman içi basınçtaki yükselme sonucunda ortaya çıkan iskemik süreç, kas hücre membranlarının bütünlüğünü bozarak hücre içi bileşenlerin dolaşıma geçmesine neden olur. Bunlar arasında miyogloblin, kreatin kinaz (CK), aldolaz, laktat dehidrogenaz, kalsiyum, fosfat ve potasyum gibi maddeler yer alır. Miyogloblin kan yoluyla böbreklere ulaştığında, tübül yapılarında birikerek tıkanıklık yaratabilir ve bu durum akut böbrek yetmezliğine zemin hazırlayabilir. CK düzeyleri genellikle ilk 12 saat içinde yükselir ve 1-3 gün boyunca yüksek kalabilirken, miyogloblinin kısa yarı ömrü nedeniyle geç dönemdeki

tanısal değeri sınırlıdır. Bu tablo genel olarak rabdomiyoliz olarak adlandırılır. Her ne kadar kas dokusu belirli bir yenilenme kapasitesine sahip olsa da, gelişen iskemik hasarın kalıcı hale gelmesini önleyebilmek adına erken dönemde basıncın düşürülmesi ve cerrahi dekompresyon uygulanması hayati önem taşır (5,11).

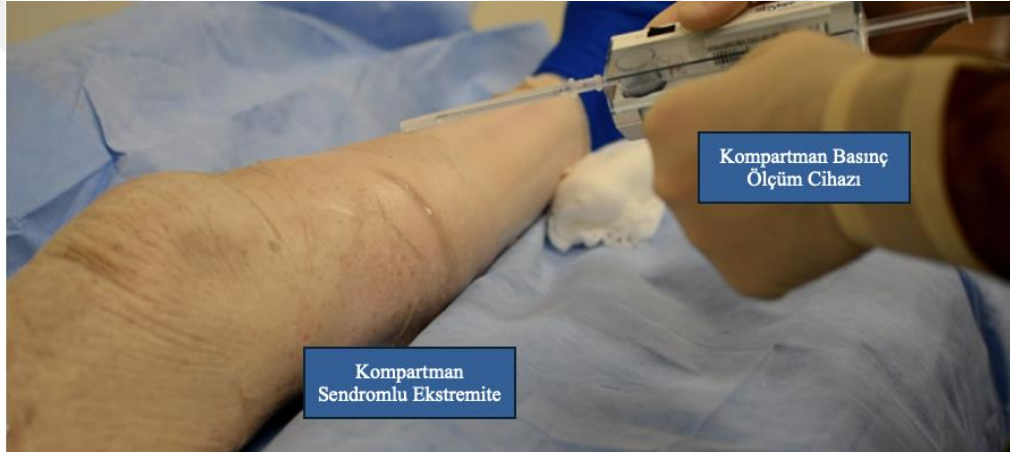
2.2. Kompartman Sendromunun Klinik Seyri ve Tanısı

Kompartman sendromu; doku içi basıncın venöz basınç düzeylerini aşmasıyla başlayan ve venöz dönüşün engellenmesi sonucu ortaya çıkan, ilerleyici iskemi ve doku hasarıyla seyreden ciddi bir klinik durumdur. Oksijen taşıyan kanın dokuya yeterince ulaşamaması ve metabolik artıkların uzaklaştırılamaması nedeniyle, şiddetli ağrı ve periferik sinir sistemine ait fonksiyon kayıpları gözlenebilir. Tanının sağlıklı bir şekilde konulabilmesi için, travmanın oluş mekanizmasını da içeren ayrıntılı bir öykü alınması büyük önem taşır. Fizik muayene sırasında klasik “5P” belirtileri — ağrı (pain), parestezi, solukluk (pallor), paralizi ve nabızsızlık (pulselessness) — dikkatle gözden geçirilmeli ve klinik değerlendirme bu bulgular üzerinden yapılmalıdır (12). Kompartman sendromunda görülen en erken ve en güvenilir klinik belirti, istirahat halinde mevcut olan ve pasif germe ile belirgin şekilde artan, travmanın şiddetiyle orantısız, lokalize edilemeyen, derin ve yoğun bir ağrıdır (5).

Parestezi, ilgili kompartmandaki kutanöz sinirlerin iskemiye bağlı fonksiyon bozukluğunun erken evresini yansıtır ve çoğu zaman geri dönüşümlüdür; ancak zamanla kalıcı hiperestezi veya anestezi gelişebilir. Solukluk ise kapiller perfüzyonun azalmasına bağlı olarak distal ekstremitelerde ortaya çıkan gergin, parlak ve ödemli bir cilt görünümüyle kendini gösterir, ancak tanı açısından her zaman şart değildir. Paralizi, iskeminin kas ve sinir dokuları üzerinde oluşturduğu hasarın geç dönem belirtisidir ve özellikle crush tipi travmalarda daha belirgin hale gelir. Nabızsızlık ise genellikle arterin doğrudan etkilendiği veya kompartman içi basıncın arteriyel basınca yaklaştığı ileri evrelerde ortaya çıkan ciddi bir bulgudur ve prognostik olarak olumsuz sonuçlarla ilişkilidir (5).

Kompartman sendromunun tanısı, çoğu olguda travmaya ilişkin ayrıntılı öykü ve tipik klinik bulgular temelinde konulabilse de, bilinç kaybı, derin sedasyon veya iletişimi engelleyen diğer klinik durumların varlığında subjektif belirtilere

güvenilemediğinden, tanısal yaklaşımda objektif yöntemlere başvurmak zorunlu hale gelir. İntrakompartman basıncının doğrudan ölçümü, tanıyı destekleyici en güvenilir yöntemlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Günümüzde bu amaçla özel olarak geliştirilmiş intrakompartman basınç ölçüm cihazları yaygın biçimde kullanılmakta olup, bu ekipmanın mevcut olmadığı durumlarda arteriyel invaziv basınç monitörizasyonu da alternatif bir değerlendirme aracı olarak tercih edilebilir (Bkz. Şekil 2). Fiziyolojik koşullarda kompartman içi basınç genellikle 10 mmHg'nin altındadır. Ancak bu basıncın 30–45 mmHg aralığını aşması, doku perfüzyonunun ciddi şekilde bozulduğuna işaret eder ve bu tablo, acil cerrahi dekompresyon yani fasiyotomi uygulanmasını gerektiren bir durum olarak değerlendirilir (5).



Şekil 2. Kompartman Basıncının Ölçülmesi (13)
(Kaynak: Halanski ve ark., 2015'ten uyarlanmıştır.)

2.3. Kompartman Sendromunun Tedavi Yaklaşımları

Kompartman sendromunda şu ana dek etkinliği bilimsel olarak kanıtlanmış tek tedavi yöntemi, intrakompartman basıncının hızlı ve kalıcı biçimde düşürülmesini sağlayan acil cerrahi fasiyotomi girişimidir. Bu müdahale, etkilenen kas kompartmanını saran cilt ve fasya tabakalarının uzunlmasına insizyonla açılması ile, baskı altındaki dokuların dekompresyonunu hedefler ve böylece dokuların yeniden yeterli düzeyde perfüze olmasına olanak tanır. Fasiyotominin zamanlaması, tedavi başarısı açısından kritik öneme sahiptir. İşlem, geri dönüşü olmayan doku nekrozları gelişmeden önce gerçekleştirilmelidir. Bu nedenle yüksek risk grubundaki olgular ile klinik bulguları belirsiz ancak şüpheli kabul edilen hastalarda, cerrahi müdahaleye erken dönemde

yönelme eğilimi ön plandadır. Literatürde erken yapılan fasiyotominin morbiditeyi azaltma ve fonksiyonel sonuçları iyileştirme konusundaki etkinliğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (14,15). Buna karşılık, geç dönemde uygulanan cerrahilerin komplikasyon oranlarının anlamlı biçimde arttığı da ayrıntılı şekilde belgelenmiştir (16).

Kompartman sendromu geliştikten sonra uygulanacak cerrahi dekompresyon (fasiyotomi) için önerilen terapötik pencere genellikle 6 ila 24 saat arasında tanımlanmaktadır. Bu zaman diliminin aşılması durumunda, iskemik süreç ilerleyerek kas ve sinir dokusunda kalıcı yapısal ve fonksiyonel kayıplara neden olabilmektedir (17).

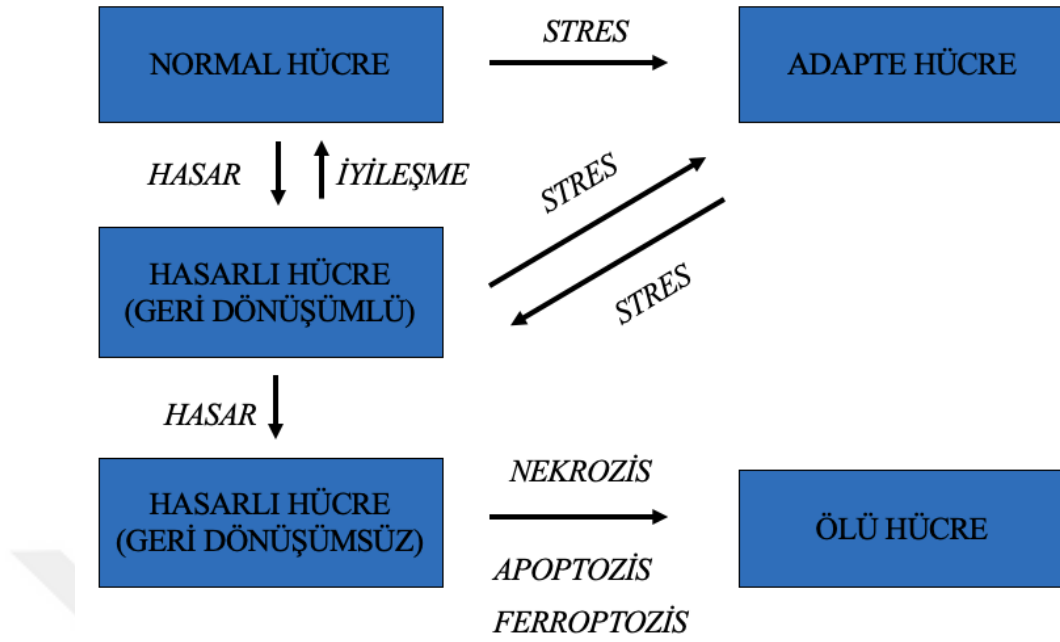
Fasiyotomi, akut kompartman sendromunun patofizyolojik sürecini durdurmada en etkili ve standardize edilmiş cerrahi müdahale olmakla birlikte, invaziv doğası nedeniyle belirli komplikasyon risklerini de beraberinde getirmektedir. Literatürde bu girişime bağlı olarak tanımlanan morbiditeler arasında geç dönem yara iyileşmesi, cilt grefti gereksinimi, estetik açıdan rahatsız edici yara izleri, postoperatif ağrı, iatrojenik sinir hasarı, kalıcı kas fonksiyon kaybı ve uzun vadede gelişebilecek kronik venöz yetmezlik gibi klinik sonuçlar yer almaktadır (18). Ayrıca, cerrahi dekompresyonun uygulanması; hastanede yatış süresinin uzaması, ek cerrahi girişim gereksinimi ve rehabilitasyon ihtiyacı gibi nedenlerle toplam sağlık bakım maliyetlerinde anlamlı bir artışa yol açmaktadır (19).

Cerrahi dekompresyona bağlı komplikasyon riski ve artan sağlık hizmeti maliyetleri, son yıllarda daha az invaziv alternatif tedavi yaklaşımlarının araştırılmasını teşvik etmiştir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda, hem tanısal hem de terapötik potansiyele sahip yöntemler değerlendirilmektedir. Odland ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, doku düzeyinde biyobelirteç konsantrasyonlarının değerlendirilmesine dayalı ultrafiltrasyon yöntemi, hem kompartman içi sıvı birikiminin azaltılması yoluyla basınç düşürülmesinde hem de erken tanı aracı olarak kullanılabileceği yönünde umut verici bulgular sunmuştur (20). Öte yandan, Lawendy ve çalışma arkadaşları, akut kompartman sendromunun patofizyolojisinde lokal ve sistemik inflamatuvar yanıtların belirleyici rol oynadığını ortaya koymuş ve bu sürecin terapötik hedeflenebilirliğine işaret etmiştir (21).

Son yıllarda yapılan moleküler düzeydeki çalışmalar, kompartman sendromunun patogenezi içerisinde ferroptozis adlı demir-bağımlı programlı hücre ölüm mekanizmasının belirleyici bir rol oynayabileceğini ortaya koymuştur. Özellikle Nrf2/Hmox1 sinyal iletim yolunun, ferroptotik süreçlerle karşılıklı etkileşim içinde olduğu, bu yolun farmakolojik olarak modülasyonunun ise doku hasarını sınırlayabileceği ileri sürülmektedir. Bu hipotezi değerlendirmek amacıyla oluşturulan sıçan kompartman sendromu modellerinde gerçekleştirilen in vivo deneysel çalışmalarda, minosiklin uygulaması ile Nrf2/Hmox1 yolunun aktivasyonunun sağlandığı ve buna bağlı olarak ferroptotik hücre ölümü süreçlerinin baskılandığı gösterilmiştir. Elde edilen bulgular, kas dokusunda gelişen hücre hasar ve nekrozun anlamlı düzeyde azaldığını ortaya koymaktadır. Bu veriler doğrultusunda, ferroptozisi hedef alan farmakolojik ajanların, cerrahi müdahalenin yerine geçmesi de, kompartman sendromu tedavisinde tamamlayıcı terapötik seçenekler arasında değerlendirilebileceği yönünde güçlü kanıtlar elde edilmiştir (22).

2.4. Hücresel Hasar Mekanizmaları

Hücreler, mikroçevredeki fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişimlere karşı dinamik bir adaptasyon kapasitesi sergileyerek hem yapısal bütünlüklerini hem de fizyolojik işlevlerini sürdürebilme yetisine sahiptir. Bu adaptif yanıtlar, çevresel stres faktörlerine karşı hücre içi sinyal yollarının aktive edilmesiyle başlatılır ve homeostatik dengenin korunmasını hedefler. Hücresel yanıt mekanizmaları; oksidatif stres, toksik ajanlar, metabolik dengesizlikler veya mekanik travma gibi dışsal tehditlere karşı, hayatta kalımı destekleyici ve hasarı sınırlayıcı niteliktedir. Ancak, stresin şiddeti hücrenin fizyolojik tamponlama kapasitesini aştığında ya da bu stresin süresi uzadığında, hücrede fonksiyonel ve yapısal bozulmalar gelişir. Bu zedelenme süreci, belirli bir eşik dahilinde geri dönüşlü olabilir; etiyolojik faktörün ortadan kaldırılması durumunda hücre normal fenotipine ve işlevine dönebilir (Şekil 3). Öte yandan, stresin yoğunluğu aşırı olduğunda veya ani şekilde geliştiğinde, hücresel bütünlük geri döndürülemez biçimde bozulur ve bu durum genellikle programlanmış hücre ölümü (apoptoz, ferroptoz gibi) ya da nekroz ile sonuçlanır (23).



Şekil 3. Stres Karşısındaki Hücre Yanıtı

Hücre hasarının gelişiminde rol oynayan başlıca etiyolojik etkenler arasında, oksijen yetersizliği sonucu ortaya çıkan hipoksi ve buna bağlı iskemik süreçler, çeşitli kimyasal toksinlere maruz kalma, enfeksiyöz ajanlarla oluşan hücresel invazyonlar, immün sistemin düzensiz ya da aşırı aktivasyonu, kalıtsal genetik anomaliler, fiziksel travmalar (mekanik etki, yüksek ısı, radyasyon vb.) ve yaşlanma sürecine bağlı dejeneratif değişiklikler bulunmaktadır. Bu faktörler, hücre düzeyinde bir dizi biyokimyasal ve moleküler bozulmayı tetikleyerek hasar sürecinin başlamasına yol açar. Söz konusu patofizyolojik süreçte en sık karşılaşılan mekanizmalar arasında; adenosin trifosfat (ATP) düzeylerinde belirgin azalma, mitokondriyal disfonksiyon, sitozolik kalsiyum konsantrasyonunda patolojik artış, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikimi, plazma ve organel zar bütünlüğünün bozulması ve DNA ile protein yapılarında geri dönüşsüz yapısal değişiklikler yer almaktadır. Bu moleküler düzeydeki bozulmalar, hücresel homeostazın sürdürülemez hale gelmesine neden olmakta ve neticede programlı ya da nekrotik hücre ölümünü tetiklemektedir (Şekil 4) (23).

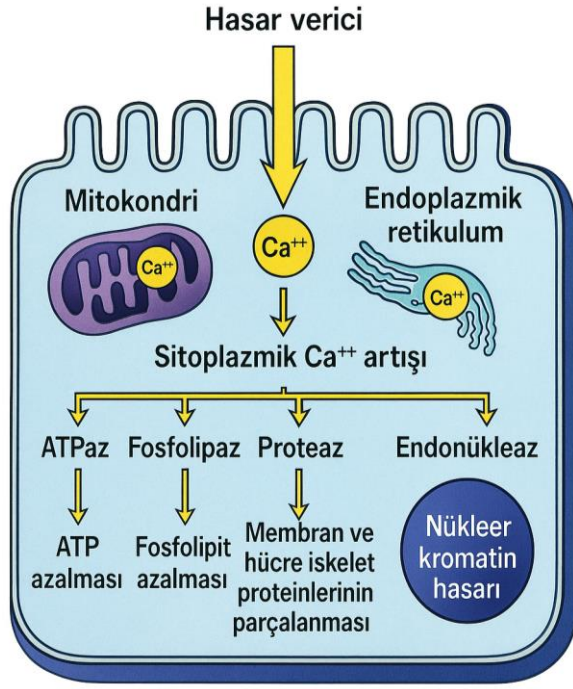
2.4.1. Geri dönüşlü hücre hasarı

Hücreler, düşük şiddette ve kısa süreli stres uyarılarına maruz kaldıklarında, oluşan yapısal ve fonksiyonel değişiklikler genellikle geri dönüşlü karakterdedir. Bu tür durumlarda hücre zarının ve nükleer membranın bütünlüğü korunmakta, hücresel homeostazı sağlayan adaptif mekanizmalar devreye girmektedir. Bu tip hasarın morfolojik yansımaları arasında en sık olarak hücre şişmesi (hidropik dejenerasyon) ve hücre içi lipid birikimine bağlı yağlı dejenerasyon tanımlanmaktadır. Enerji metabolizmasındaki bozulmaya bağlı olarak ATP sentezinde azalma, iyon dengesini düzenleyen membran pompalarının (özellikle Na^+/K^+ -ATPaz) işlevini sekteye uğratır. Bu durum hücre içine sodyum ve su geçişinin artmasına neden olarak sitoplazmik ödemin gelişmesine yol açar. Öte yandan, hipoksik koşullarda biriken hipoksantin, reperfüzyon sırasında ksantin oksidaz enzimi aracılığıyla reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüştürülür. ROS birikimi ise oksidatif stresin tetiklenmesine neden olarak, geri dönüşlü hasarın kalıcı doku hasarına ilerleme riskini artırabilir (24).

2.4.2. Geri dönüşsüz hücre hasarı

Hücresel hasarın kalıcı nitelik kazanmasında, özellikle mitokondriyal disfonksiyon ve plazma membranı bütünlüğünün kaybı belirleyici rol oynamaktadır. Enerji metabolizmasının çökmesiyle birlikte ATP rezervlerinin tükenmesi, lizozomal enzimlerin sitoplazmaya salınması, sitozolik kalsiyum düzeylerinin anormal artışı ve antioksidan savunma sistemlerinin zayıflaması, hücre yıkım sürecini hızlandıran temel olaylardır. Bu biyokimyasal bozuklukların ilerlemesi, hücre ölümünü kaçınılmaz hale getirerek nekroz, apoptoz, ferroptoz ile sonuçlanmaktadır. Hücresel hasarın patogeneğinde yer alan başlıca mekanizmalar arasında;

- ATP kaybı,
- Kalsiyum homeostazının bozulması,
- Hücre zarı ve organel membranlarında yapısal bütünlüğün yitirilmesi,
- DNA ve protein düzeyinde meydana gelen geri dönüşsüz moleküler tahribat yer almaktadır (Şekil 4) (25).



Şekil 4. Hücre Hasar Bölgeleri

2.5. Apoptoz: Moleküler Düzeyde Programlı Hücre Ölümü

Apoptozis, hücrenin çekirdek DNA'sı ile çekirdek ve sitoplazmik proteinlerinin, özgül enzimler aracılığıyla kontrollü biçimde parçalanması sonucu gerçekleşen programlı hücre ölümüdür. Bu süreçte hücre zarı bütünlüğü korunur ve hücre içeriği çevreye sızmaz; dolayısıyla inflamatuvar yanıt gelişmez (26).

Apoptozis, hücre içi veya dışı sinyallerle başlatılabilir. Hücre dışı tetikleyiciler arasında büyüme faktörü eksikliği, hipoksi ve radyasyon yer alırken; hücre içi sinyaller DNA hasarı, kemoterapiye bağlı toksisite, viral enfeksiyonlar ve telomer kısalmasıdır. Süreç, başta kaspaz ailesi olmak üzere Bcl-2, Bax, NF- κ B ve Nrf2 gibi proteinlerin katılımıyla düzenlenir (27).

Apoptozis, embriyogenez sırasında dokuların şekillenmesinde ve doku homeostazının korunmasında kritik rol oynar. Dengesizliği, hücre artışı veya kaybına bağlı patolojilere (ör. kanser, dejeneratif hastalıklar) yol açabilir (28).

Kaspazlar, apoptozisin ana efektör proteinleridir. Özellikle kaspaz-3, insan kan ve endotel hücrelerinde merkezi rol oynar. Bu enzimin aktivasyonu, DNA

fragmentasyonunu ve hücrel yıkımı tetikler; inhibisyonu ise apoptozisin baskılanmasına neden olur (29).

2.6. İskemi ve Reperfüzyon

İskemi, dokulara ulaşan arteriyel kan akımının azalmasıyla birlikte oksijen temininde azalma ve metabolik atıkların uzaklaştırılmasında yetersizlik gelişmesiyle karakterize edilen patofizyolojik bir durumdur. Bu durum hücre düzeyinde, oksidatif fosforilasyonun inhibisyonuna, enerji üretiminin anaerobik glikoliz yoluna kaymasına ve buna bağlı olarak laktat birikimi ile hücre içi pH'ın düşmesine neden olur. Gelişen asidoz, birçok hücrel enzim sisteminin inhibisyonuna ve protein sentezinin durmasına yol açar. Aynı zamanda ATP üretimindeki azalma, Na⁺/K⁺-ATPaz pompa aktivitesinin bozulmasına neden olur; bunun sonucunda sodyum ve suyun hücre içine anormal şekilde geçişi artar ve sitoplazmik ödem gelişir. Anaerobik metabolizma sonucu oluşan metabolitler ve artan osmotik yük, hücre içi sıvı birikimini daha da şiddetlendirerek hücre şişmesini derinleştirir. Uzun süreli hipoksik süreçte mitokondriyal membran potansiyeli bozulur, ATP üretimi tamamen durma noktasına gelir ve plazma membranı bütünlüğü zedelenir. Ayrıca, hücre iskeletini oluşturan sitoskeletal proteinlerin yıkımı meydana gelir. Bu olaylar zinciri, yalnızca hasarlanmış hücreyi değil, aynı zamanda çevresindeki hücreleri de etkileyebilecek apoptotik sinyallerin yayılımına neden olur. Böylece iskemi, sadece lokal hücrel hasar ile sınırlı kalmaz; programlı hücre ölümü (apoptoz) üzerinden komşu hücre popülasyonlarını da etkileyerek dokusal düzeyde daha geniş çaplı hasara yol açabilir (30).

Reperfüzyon, iskemik dokulara arteriyel kan akımının yeniden sağlanmasıyla başlayan ve başlangıçta fizyolojik iyileşme olarak kabul edilen bir süreçtir. Ancak, bu yeniden perfüzyon sırasında hücre dışı ortamda hızla artan oksijen ve metabolik substratlar, hücrel düzeyde beklenmeyen bir stres yanıtını tetikleyebilir. Bu süreçte özellikle reaktif oksijen türleri (ROS), proinflamatuvar sitokinler ve immün sistem efektörleri, iskemik doku üzerinde ikincil bir hasar mekanizması oluşturarak reperfüzyon hasarı olarak tanımlanan tabloya yol açar. Bu durum, özellikle iskeminin uzun süreli olduğu olgularda daha belirgin ve yıkıcı bir şekilde ortaya çıkar (31). ROS birikimi, mevcut mitokondriyal disfonksiyonu derinleştirerek hücre içi oksidatif

dengeyi bozar ve hücrel yıkımı hızlandırır. Aynı zamanda, sitozolik kalsiyum seviyelerindeki artış, hücre içi lizozomal enzimlerin (örneğin endonükleaz, proteaz ve fosfolipazlar) aktivasyonunu tetikler ve bu enzimlerin etkisiyle apoptotik programın başlatılması kolaylaşır. Reperfüzyon sırasında bölgeye aktif olarak göç eden inflamatuvar hücreler (özellikle nötrofiller), plazma membranı geçirgenliğini artırarak hücrel ve dokusal hasarın yayılmasına katkıda bulunur. İskemi süresince baskılanmış olan antioksidan savunma sistemleri, reperfüzyon sırasında ani ve yoğun oksidatif yükü baş edemez hâle gelir. Bu dengesizlik, başlangıçta geri döndürülebilir nitelikte olan hücre hasarının, kalıcı ve geri dönüşsüz yapısal zedelenmelere evrilmesine neden olur (32).

2.7. Kontrollü Hücre Ölüm Yolaklarının Evrimi ve Ferroptoz

Kontrollü hücre ölüm mekanizmaları, çok hücreli organizmalarda fizyolojik dengenin (homeostazın) sürdürülmesi, doku yenilenmesi ve hasarlı hücrelerin eliminasyonu gibi süreçlerde merkezi bir rol oynamaktadır. Bu mekanizmalar uzun yıllar boyunca öncelikle apoptoz ve nekroptoz başlıkları altında sınıflandırılmıştır. Ancak son yıllarda, hücre ölümüne dair moleküler düzeydeki anlayışın derinleşmesiyle birlikte apoptotik olmayan yeni kontrollü hücre ölüm yolakları da tanımlanmıştır. Bu yolaklar arasında özellikle nekroptoz, piroptoz ve ferroptoz dikkat çekici biçimde öne çıkmıştır (33, 34).

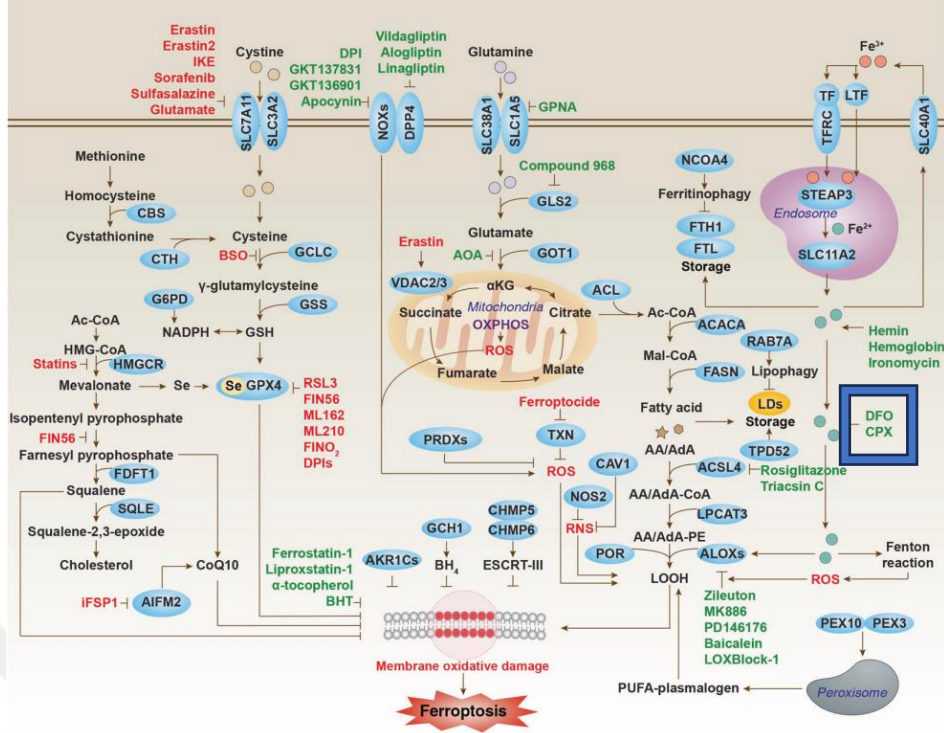
Ferroptoz, demir bağımlı lipid peroksidasyonuna bağlı olarak gerçekleşen ve morfolojik, biyokimyasal ve genetik açıdan diğer kontrollü hücre ölüm mekanizmalarından ayrılan, özgün bir hücre ölüm şekli olarak tanımlanmaktadır. Bu süreç, yalnızca patolojik koşullarda değil, aynı zamanda fizyolojik olayların düzenlenmesinde de görev alabilir. Güncel çalışmalar, ferroptozun özellikle nörodejeneratif hastalıklar, kanser, iskemi-reperfüzyon hasarı ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinde yer aldığını göstermektedir. Bu yolakların keşfi, bilimsel araştırmaların yönünü yalnızca tanı koymaya değil, aynı zamanda hücre ölümünün seçici olarak modülasyonu yoluyla yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine de yönlendirmiştir. Ancak, bu müdahalelerin sistemik düzeyde etkileri göz önünde bulundurulmalıdır; zira kontrollü hücre ölümünün

farmakolojik olarak inhibisyonu, hedeflenen hastalığın yanı sıra homeostatik dengenin bozulmasına ve farklı patolojilerin ortaya çıkmasına neden olabilecek potansiyele sahiptir (35).

Biyokimyasal yolların deneysel olarak değerlendirilmesi sürecinde, *in vivo* ve *in vitro* modeller arasında fizyolojik yanıt farklılıklarının göz önünde bulundurulması büyük önem taşımaktadır. Aynı biyolojik modelde dahi, uygulanan dozun farklılığına bağlı olarak ortaya çıkan doz-bağımlı etkiler, biyokimyasal süreçlerin yönünü değiştirebilecek kadar önemli farklılıklar gösterebilir. Bu nedenle, elde edilen verilerin yorumlanmasında veya başka modellere aktarımında, bu değişkenliklerin dikkate alınması bilimsel geçerlilik açısından kritik öneme sahiptir (36).

Ferroptoz, hücre içi demir birikimi, glutatyon (GSH) seviyesinin tüketilmesi ve glutatyon peroksidaz 4 (GPX4) enziminin inaktivasyonu ile tanımlanan, non-apoptotik bir kontrollü hücre ölüm mekanizmasıdır. GPX4, hücre içi lipid hidroperoksitleri toksik olmayan lipid alkollere indirger; bu enzimin işlev kaybı, lipid peroksidasyonunun engellenememesine ve sonucunda lipid türevli reaktif oksijen türlerinin (lipid-ROS) birikimine neden olur. Bu oksidatif birikim, hücrel membran bütünlüğünü bozarak ferroptotik hücre ölümüne yol açar. Ferroptoz terimi ilk kez Dixon ve arkadaşları tarafından 2012 yılında, demir-bağımlı non-apoptotik hücre ölümü olarak tanımlanmıştır. Bu hücre ölüm şekli; yüksek düzeyde demir yükü, lipid peroksidasyonunun artışı ve reaktif oksijen türlerinin hücre içi birikimi ile karakterizedir (37). Güncel literatür, ferroptozun tek bir doğrusal yoldan ibaret olmadığını, aksine farklı moleküler alt yollar üzerinden gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (Şekil 5). Bu alt yollar, hücre tipi, metabolik durum ve uyarıların niteliğine göre farklı biçimlerde aktive olabilmekte, böylece ferroptozun biyolojik etkileri oldukça heterojen bir seyir izleyebilmektedir. Bu alt yollar;

- Xc-/GPX4 yolağı
- FSP1-COQ10 yolağı
- P62-Keap1-NRF2 yolağı
- Demir birikimi yolağı



Şekil 5. Ferroptozun Temel Moleküler Mekanizmaları ve Sinyal Düzenleyici Yolakları (38)
(Kaynak: Tang D, Chen X, Kang R, Kroemer G. (2021) çalışmasından uyarlanmıştır.)

2.7.1. Ferroptozun rol aldığı biyolojik mekanizmalar ve süreçler

Ferroptoz kavramı günümüzde tanımlanmış, moleküler olarak karakterize edilmiş bir hücre ölüm biçimi olarak kabul edilse de, bu ölüm yoluna ait biyokimyasal etkilerin izleri, kavramsal çerçevesi netleştirilmeden önceki çalışmalarda da dolaylı olarak gözlemlenmiştir. Ferroptotik mekanizmaların ilk deneysel ipuçları, 2003 yılında tanımlanan ve hücrede özgün bir ölüm fenotipi oluşturan erastin adlı küçük molekülün keşfiyle ortaya çıkmıştır. Erastin, özellikle sistein alımını engelleyen System Xc⁻ inhibitörü olarak tanımlanmış, bu yolla glutatyon (GSH) düzeylerini azaltarak lipid peroksidasyonu artırmış ve böylece hücre ölümünü tetiklemiştir. Günümüzde erastin, klasik bir ferroptoz indükleyicisi olarak kabul edilmekte olup, ferroptoz araştırmalarının başlamasında kritik bir dönüm noktası olarak literatürde yerini almıştır (38).

Ferroptotik hücre ölümü, morfolojik olarak incelendiğinde, karakteristik yapısal değişikliklerin en belirgin şekilde mitokondri düzeyinde gerçekleştiği

gözlemlenmektedir. Bu değişiklikler arasında; mitokondriyal membran yoğunluğunda artış, mitokondri iç zar kıvrımları olan kristaların kaybı ve mitokondri hacminde belirgin küçülme yer almaktadır. Buna karşılık, hücre çekirdeği morfolojisinde herhangi bir fragmentasyon, yoğunlaşma ya da düzensizlik gözlenmemesi, ferroptozun apoptozdan farklı bir hücre ölüm yoluyla ilerlediğini güçlü biçimde ortaya koymaktadır. Bu gözlemler, ferroptozun, çekirdek hasarı oluşturmaksızın, özellikle mitokondriyal yapı ve metabolizma üzerinden etkili olan benzersiz bir ölüm mekanizması olduğunu desteklemektedir. Her ne kadar moleküler düzeyde bazı sinyal iletim yolları apoptoz ve ferroptoz arasında örtüşse de doku örneklerinde bu iki ölüm biçimine ait bulguların eş zamanlı olarak izlenebilmesi, hücrelerin çevresel veya endojen streslere yanıt olarak birden fazla kontrollü ölüm yolunu paralel veya ardışık şekilde aktive edebileceğini düşündürmektedir. Bu hipotezi destekleyen çok sayıda in vitro ve in vivo deneysel çalışma literatürde mevcuttur ve farklı hücre tipleri ile uyarılara verilen yanıtlar doğrultusunda programlı hücre ölümünün dinamik bir spektrum şeklinde işlediğini göstermektedir (39, 40).

2.7.2. Ferroptotik hücre ölümünü düzenleyen biyokimyasal yollar

Ferroptoz, lipid peroksidasyonunun aşırı birikimi sonucu hücresel bütünlüğün kaybıyla karakterize edilen kontrollü bir hücre ölüm şeklidir. Bu süreç, çeşitli biyokimyasal yollar tarafından düzenlenmekte olup; özellikle antioksidan savunma sistemleri, demir homeostazı ve lipid metabolizması ile sıkı bir ilişki içindedir (38).

2.7.2.1. Xc^- / GPX4 yolağı

Xc^- , hücre zarında yer alan bir antiport sistemidir ve hücre dışından sistin alımını sağlarken hücre dışına glutamat taşır. Sistin, glutatyon (GSH) sentezi için temel öncül olup, ferroptotik sürecin baskılanmasında kritik rol oynayan GPX4 enziminin kofaktörüdür. GPX4, hücre zarında biriken lipid hidroperoksitleri suya indirger ve böylece lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerini ortadan kaldırır. Erastin gibi ferroptoz indükleyici ajanlar, System Xc^- 'i inhibe ederek sistin alımını engeller; bunun sonucunda GSH seviyesi düşer ve GPX4 aktivitesi azalır. GPX4'ün inhibisyonu

durumunda lipid peroksitler birikir ve ferroptotik hücre ölümü kaçınılmaz hale gelir (37, 41, 42)

2.7.2.2. FSP1–CoQ10 (koenzim Q10) yolu

FSP1 (Ferroptosis Suppressor Protein 1), GPX4-bağımsız bir ferroptoz engelleyici mekanizma sunar. Bu yolda, FSP1 tarafından katalizlenen reaksiyon ile ubiquinon (CoQ10), NAD(P)H yardımıyla ubiquinol formuna indirgenir. Ubiquinol, membran lipidlerinde meydana gelen serbest radikalleri nötralize ederek lipid peroksidasyonunu engeller. Bu sistem, özellikle GPX4 inhibisyonu altında bile hücreyi ferroptotik ölümden koruyabilir. FSP1'in keşfi, GPX4 dışı antioksidan savunma sistemlerinin varlığını göstermesi açısından önemlidir ve gelecekteki farmakolojik müdahale stratejileri için yeni hedefler sunmaktadır (43).

2.7.2.3. p62–Keap1–Nrf2 yolu

Nrf2, hücre içi redoks dengesini düzenleyen başlıca transkripsiyon faktörlerinden biridir. Normal koşullarda Keap1 ile kompleks oluşturarak sitoplazmada tutulur ve proteozomal yıkıma yönlendirilir. Ancak oksidatif stres varlığında Keap1 baskılanır ve Nrf2 nükleusa taşınarak antioksidan yanıt elemanlarını aktive eder. Nrf2 aracılığıyla SLC7A11, GPX4, HO-1 ve FTH1 gibi ferroptozu baskılayan genlerin ekspresyonu artar. Ayrıca p62 proteini, Keap1 ile etkileşerek Nrf2'nin aktivasyonunu kolaylaştırır. Bu yolak, hücrelerin oksidatif strese karşı savunma kapasitesini artırarak ferroptotik süreçten korunmalarını sağlar (44).

2.7.2.4. Demir metabolizması ve fenton reaksiyonu

Ferroptozun ayırt edici özelliklerinden biri, demir bağımlı bir süreç olmasıdır. Hücre içi serbest demir (Fe^{2+}), Fenton reaksiyonu aracılığıyla hidrojen peroksiti toksik hidroksil radikallerine dönüştürerek reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu tetikler. Ferritin, hücre içi demiri depolayan protein kompleksidir; ancak ferritinofaji ile lizozomal yıkıma uğradığında, sitozolde serbest demir artışı meydana gelir. Bu demir birikimi, lipid peroksidasyonu ve ferroptotik hücre ölümünü hızlandırır.

Dolayısıyla, demir şelatörleri (ör. deferoksamin) ferroptozu baskılayıcı ajanlar arasında yer alır (45).

2.7.2.5. Lipid metabolizması ve lipid peroksidasyonu

Ferroptozun temel patofizyolojik özelliği, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) zar fosfolipidlerine dahil edilerek oksidatif hasara açık hale gelmesidir. Bu süreçte ACSL4 enzimi, PUFA'ları aktive ederken, LPCAT3 bu yağ asitlerini zar fosfolipidlerine entegre eder. Sonuçta, ROS etkisiyle bu lipidler peroksida uğrar ve hücresel bütünlük bozulur. Lipid peroksitlerin birikimi, hücre zarı geçirgenliğini artırır ve ferroptotik hücre ölümüne neden olur. Bu sürecin baskılanması, özellikle ACSL4 ekspresyonunun inhibisyonu veya lipofilik antioksidanların kullanımı ile mümkün olabilir (46).

2.7.2.6. Farmakolojik indükleyiciler ve inhibitörler

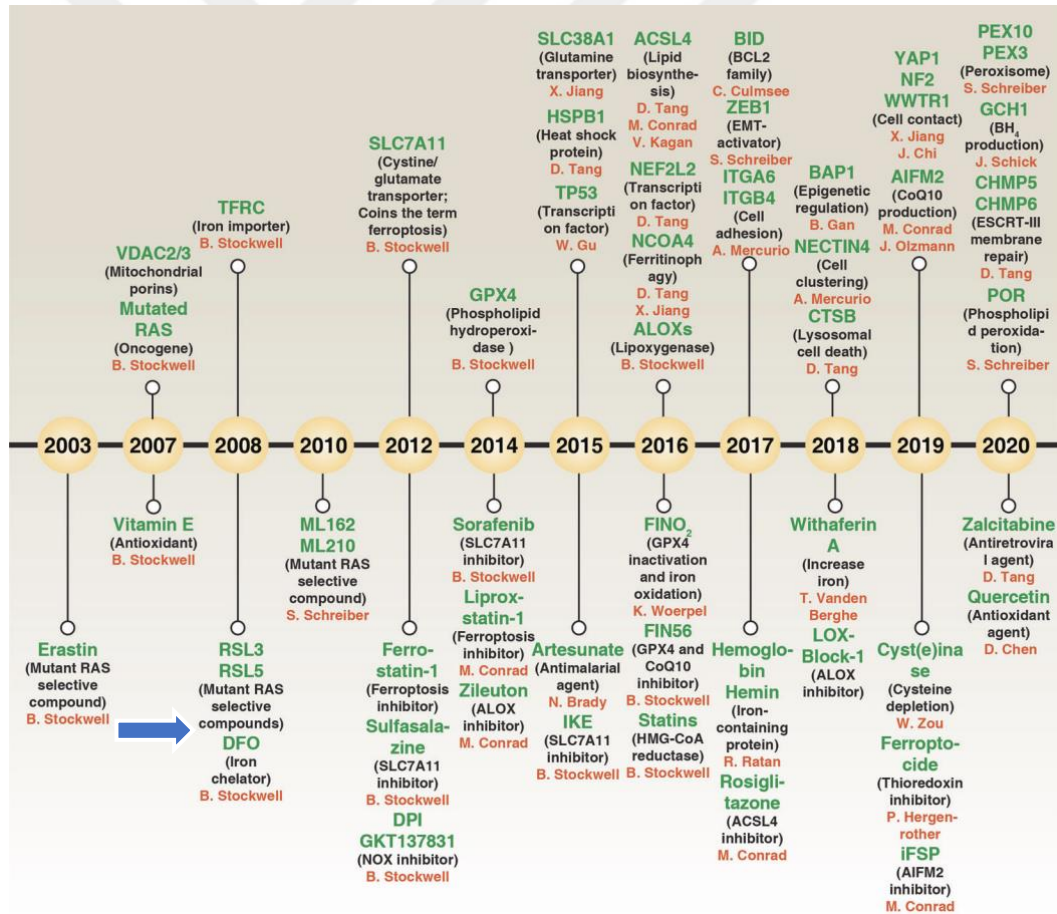
Ferroptoz, çeşitli farmakolojik ajanlarla hedeflenebilen bir süreçtir. Erastin, System Xc⁻ inhibisyonu yoluyla GSH seviyesini azaltırken; RSL3, GPX4'ü doğrudan inhibe ederek lipid peroksidasyonu tetikler. Buna karşılık, Ferrostatin-1, Liprostatin-1 ve Vitamin E (α - tokoferol) gibi lipofilik antioksidanlar lipid ROS oluşumunu önleyerek ferroptozu baskılar. Bu ajanlar, hem temel bilim araştırmalarında hem de potansiyel klinik uygulamalarda önemli modülatörlerdir (37).

Genel Değerlendirme

Ferroptoz, demir aracılı oksidatif stresin ve yetersiz antioksidan savunmanın hücresel düzeyde birleşik etkileriyle şekillenen, morfolojik olarak karakteristik ve biyokimyasal açıdan ayırt edici bir hücre ölüm formudur. Bu mekanizmanın derinlemesine anlaşılması, özellikle nörodejeneratif hastalıklar, inflamatuvar süreçler ve tümör biyolojisi gibi geniş bir yelpazedeki patolojik durumların moleküler temellerinin aydınlatılmasına katkı sağlayabilir. Ancak, hücre kültürü ortamlarında elde edilen deneysel verilerin, organizma düzeyinde karşılaşılan fizyolojik koşulları tam olarak yansıtmayabileceği ve bu nedenle translasyonel geçerlilik açısından dikkatli yorumlanması gerektiği unutulmamalıdır (37, 47).

2.7.3. Ferroptotik aktiviteyi modüle eden ajanlar

Ferroptotik hücre ölümünü hedefleyen moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik yapılan deneysel çalışmalarda, bu süreci ya aktive eden ya da baskılayan çok sayıda farmakolojik ajan tanımlanmıştır. Söz konusu bileşikler, ferroptozun temel bileşenleri olan demir metabolizması, lipid peroksidasyonu, glutatyon-GPX4 eksenine ve NAD(P)H-CoQ10 sistemi gibi çeşitli biyokimyasal yollar üzerinde etkili olmaktadır. Bu ajanların bir kısmı ferroptozu doğrudan indükleyerek sitotoksisteye yol açarken, diğerleri koruyucu etki göstererek hücre bütünlüğünü sürdürmeyi amaçlar. Bu yönüyle, ferroptoz modülatörleri yalnızca temel hücresel fizyolojiyi anlamada değil, aynı zamanda çeşitli hastalık modellerinde terapötik stratejilerin geliştirilmesinde de potansiyel sunmaktadır (Şekil 6) (48).



Şekil 6. Ferroptoz Araştırmalarının Kronolojik Gelişimi: Moleküler Mekanizmalar ve Farmakolojik Düzenleyiciler (38)

(Kaynak: Tang D, Chen X, Kang R, Kroemer G. (2021) çalışmasından uyarlanmıştır.)

2.7.4. Kompartman sendromunda ferroptozun yeri

Wang ve ark. tarafından yürütülen deneysel çalışmada, akut kompartman sendromunun (AKS) patogenezinde ferroptozun rolü çok boyutlu bir yaklaşımla incelenmiştir. Sıçan modeli kullanılarak elde edilen bulgular, hücre içi antioksidan savunma sistemlerinin önemli üyeleri olan GPX4 ve SLC7A11 gen ekspresyonlarında anlamlı düzeyde azalma olduğunu ortaya koyarken; ACS4, TFRC, COX2, NOX1 ve 4-HNE gibi ferroptotik stres belirteçlerinin belirgin şekilde arttığını göstermiştir. Histopatolojik düzeyde ise mitokondriyal yoğunluk artışı, krista kaybı ve membran bütünlüğünde bozulma gibi ferroptozis ile uyumlu morfolojik değişiklikler dikkat çekmektedir. Demir birikimi ve artan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres, hücresel yıkımı tetiklerken ferroptoz inhibitörlerinin uygulandığı gruplarda doku hasarının anlamlı düzeyde azalması, bu hücresel ölüm mekanizmasının terapötik olarak hedeflenebilirliğini desteklemektedir (49).

Benzer şekilde, akut osteofasyal kompartman sendromu (AOCS) modelinde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, ferroptoz ile ilişkili genetik düzeneklerin etkinliği ortaya konmuştur. Slc39a14, Homx1 ve Nod2 gibi demir metabolizması ve inflamatuvar yanıtla ilişkili genlerin anlamlı düzeyde artmış ekspresyonuna karşın, ferroptotik süreci inhibe eden GPX4 geninin baskılanmış olması, bu hücre ölüm yolunun AOCS patogenezinde merkezi bir role sahip olduğunu göstermektedir. RT-qPCR ile doğrulanan bu bulgular, nötrofillerin ferroptoz yoluyla programlı hücre ölümüne uğrayarak inflamatuvar yükü artırabileceğini düşündürmektedir. Ferroptozun, sadece lokal doku hasarına değil, aynı zamanda bağışıklık sistemi aktivasyonu ve immün hücre dinamiği üzerinde de belirleyici etkilere sahip olduğu vurgulanmıştır (50).

Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, ferroptozis, kompartman sendromunun iskemik, oksidatif ve immün bileşenlerini bütüncül şekilde etkileyen; tanı, prognoz ve tedavi açısından hedeflenebilir, özgün bir hücresel ölüm mekanizması olup, klinik yaklaşımda yeni moleküler hedeflerin belirlenmesine olanak sağlayabilir.

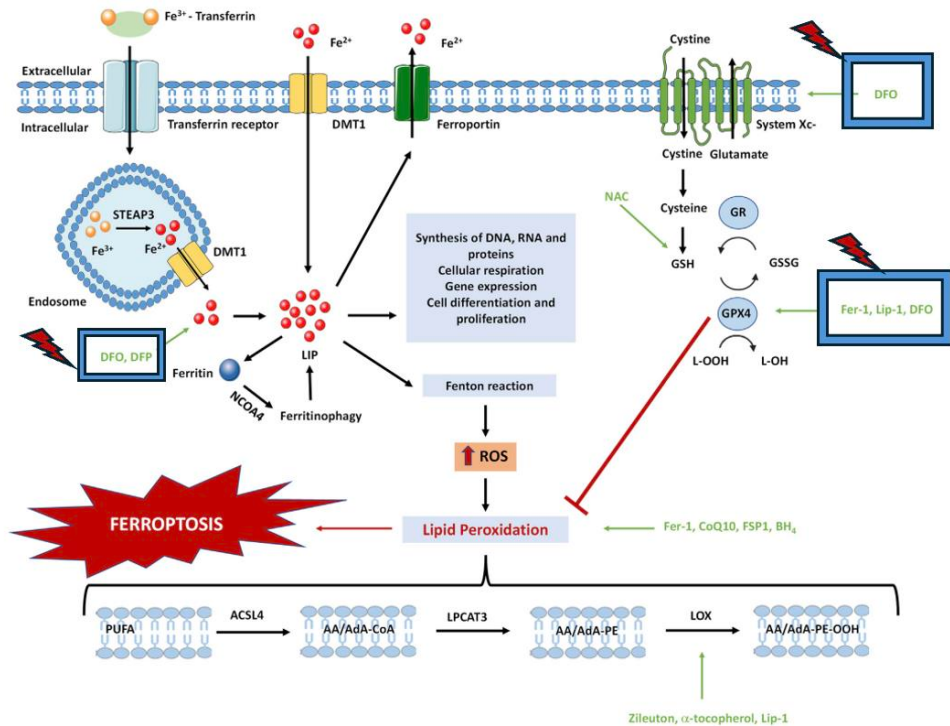
2.8. Deferoksamin

Deferoksamin (DFO), *Streptomyces pilosus* kaynaklı doğal bir siderofor olup, serbest demir iyonlarını bağlama kapasitesi sayesinde etkili bir şelatör ajan olarak tanımlanmaktadır (51). Hem iki (Fe^{2+}) hem de üç değerlikli (Fe^{3+}) demir formlarına bağlanabilir; özellikle Fe^{3+} ile oluşturduğu stabil feroksamin kompleksi, renal yolla vücuttan atılmaktadır (Şekil 7). Klinik pratikte başlıca demir şelasyonu amacıyla kullanımı onaylanan DFO, bazı çalışmalarda alüminyum birikimi gibi endikasyonlarda da deneysel olarak değerlendirilmiştir. Demir, hemoglobin, miyogloblin, sitokromlar ve çeşitli enzim sistemleri gibi biyolojik olarak kritik moleküllerin yapısında yer alan temel bir iz elementtir. Vücutta başlıca ferritin aracılığıyla depolanır ve transferrin ile taşınarak işlevsel bölgelerine ulaşır. Ancak demirin aktif bir eliminasyon mekanizması bulunmadığından, vücut demir düzeyleri esas olarak gastrointestinal emilim üzerinden, özellikle de hepsidin aracılığıyla düzenlenmektedir (52).

Hücre içindeki serbest demir birikimi, Fenton reaksiyonu yoluyla reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak nükleik asitler ve hücresel yapılar üzerinde oksidatif hasara neden olur. Bu mekanizma, ferroptoz gibi demir bağımlı programlı hücre ölüm süreçlerinin başlatılmasında temel rol oynamaktadır. Deferasiroks, FDA tarafından onaylanmış ilk oral demir şelatörü olup, demir iyonlarıyla yüksek afiniteyle bağlanarak stabil kompleksler oluşturur ve bu komplekslerin renal yolla atılmasını sağlar. Ayrıca, çinko ve bakır gibi fizyolojik açıdan kritik eser elementlerle düşük etkileşim göstermesi, deferasiroksun terapötik güvenlik profilini olumlu yönde etkilemektedir (53). Deferipron ise benzer şekilde demir şelasyon kapasitesine sahip olan ve sistemik demir yüklenmesinin azaltılmasında kullanılan başka bir oral ajan olarak dikkat çeker. Literatürde her iki şelatörün de sınırlı sayıda in vitro modelde ferroptotik süreci inhibe edici etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bu bulgular, söz konusu ajanların yalnızca klasik demir fazlalığı durumlarında değil, aynı zamanda ferroptozun farmakolojik olarak hedeflenmesinde de potansiyel taşıyabileceğini düşündürmektedir (54).

Deferoksamin (DFO), oral biyoyararlanımı düşük olduğu için klinik uygulamada parenteral yolla kullanılan bir demir şelatörüdür. Etkinliği, C vitamini ile

birlikte kullanıldığında demir mobilizasyonunun artmasına bağlı olarak kısmen azalabilir. İlacın kronik kullanımı, retinopati, sensörinöral işitme kaybı ve çocuklarda büyüme geriliği gibi doza bağlı yan etkilere neden olabilir. Uygulama sonrasında idrar renginde değişiklik gözlenmesi mümkündür. Deferoksamin, Yersinia, Vibrio ve mukormikoz etkenli enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırabilir. Başlıca endikasyonu, talasemi, orak hücreli anemi ve miyelodisplastik sendrom (MDS) gibi transfüzyon bağımlı hematolojik hastalıklarda ortaya çıkan akut ve kronik demir yüklenmesi durumlarıdır. Ayrıca, flebotomi uygulanamayan hereditör hemokromatozis olgularında ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda gelişen alüminyum toksisitesine karşı off-label olarak kullanılabilir. Genellikle iyi tolere edilen bir ilaç olan deferoksaminin ciddi renal yetmezlik ve ilaç bileşenlerine karşı aşırı duyarlılık öyküsü kontrendikasyon oluşturur. Gebelik kategorisi C olan deferoksamin, ayrıca bazı in-vivo ve in-vitro kanser çalışmalarında da potansiyel terapötik ajan olarak araştırılmaktadır (55).



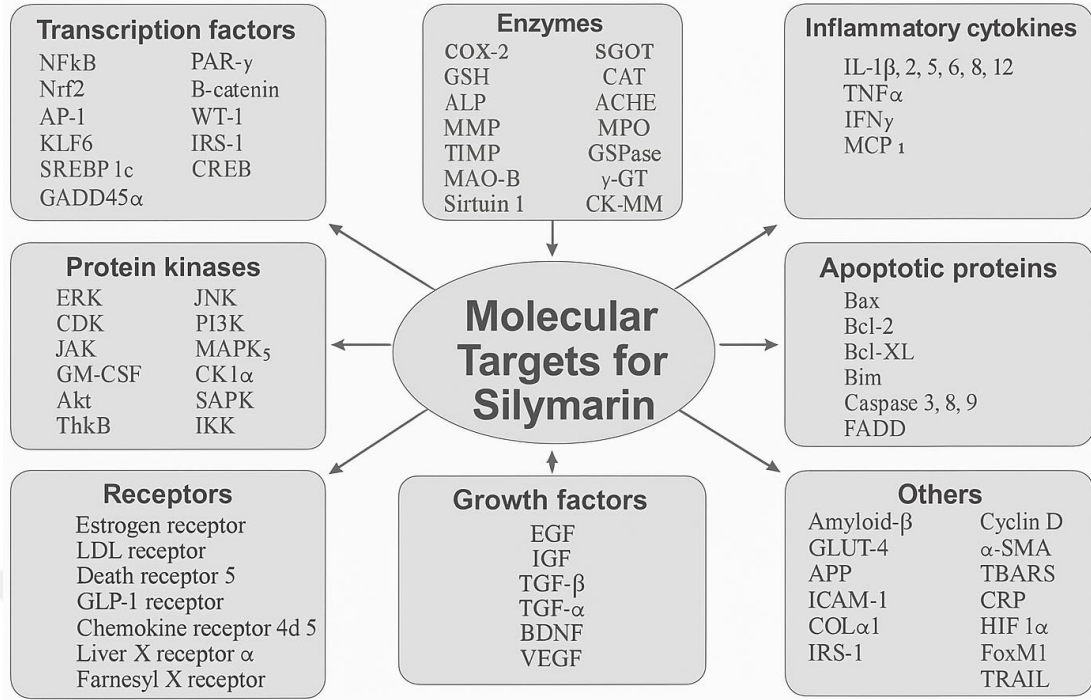
Şekil 7. Deferoksamin Aracılığıyla Hücresel Demir Regülasyonu ve Ferroptozun İnhibisyon Mekanizması (56)

(Kaynak: Costa ve ark., 2023'ten uyarlanmıştır.)

2.9. Silibinin

Silybum marianum (Milk thistle, Deve Dikeni), 2000 yılı aşkın süredir tıbbi amaçlarla kullanılan dikenli ve mor çiçekli bir bitkidir (57). Geleneksel kullanımı arasında karaciğer hastalıkları, dispepsi, varis, diyabet, menstrual düzensizlikler ve süt arttırımı gibi çok sayıda endikasyon yer alır(58). Farmakolojik etkisi, tohumlarından elde edilen silymarin kompleksine atfedilir. Silymarin; %65–80 oranında flavonolignanlar (özellikle silybin A/B, isosilybin A/B, silykristin, silydianin), %20–30 oranında ise yağ asitleri, betain, apigenin ve polifenoller içerir (59). En etkin bileşen silibininidir ve iki diastereomerden (A ve B) oluşur. Silymarin suda çözünmez, oral yolla kapsül formunda verilir, safrayla atılır ve eliminasyon yarı ömrü 6–8 saattir (60).

Prelinik ve klinik çalışmalar, silymarin ve flavonolignanlarının belirgin antioksidan, antiinflamatuvar ve pro-apoptotik özellikler sergilediğini ortaya koymuştur. Bu biyolojik etkiler; hepatoprotektif, nöroprotektif, antidiyabetik, antikanser, kardiyoprotektif, fotoprotektif ve immünomodülatör etkilere dönüşerek geniş bir farmakolojik yelpazeye katkı sağlar (şekil 8) (61). Amerika Birleşik Devletleri'nde, silymarin gibi bitkisel ürünler ilaç statüsünde değerlendirilmediği için FDA denetimi altında değildir ve kalite kontrol zorunluluğu bulunmamaktadır (62) Yüksek tedavi potansiyeli nedeniyle silymarin, yaygın kullanılan gıda takviyelerinden biri haline gelmiştir ve piyasada yaklaşık 75 farklı marka altında, tablet, kapsül ve şurup gibi çeşitli formlarda sunulmaktadır (ör. *Livergol®*, *Silipide®*, *Carsil®*, *Legalon®*, *Alrin-B®*) (63).



Şekil 8. Silibinin Hücresel Düzeyde Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Apoptoz Üzerindeki Düzenleyici Etkileri

Silibinin molekülüne ilişkin gerçekleştirilen prelinik ve klinik güvenlik çalışmaları, bu bileşiğin yüksek dozlarda dahi iyi tolere edildiğini ve ciddi advers etki profiline sahip olmadığını ortaya koymuştur. Elde edilen veriler, silibininin farmakolojik açıdan geniş bir terapötik aralığa sahip olduğunu ve yan etki potansiyelinin son derece düşük düzeyde olduğunu desteklemektedir (64).

Silibininin farmakolojik etkilerini inceleyen çok sayıda çalışmada odak noktası genellikle antioksidan yanıt yolağı ve apoptozla ilişkili belirteçler olmuştur. Ancak silibininin etkilerini ferroptoz mekanizmaları ile ilişkilendiren çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır ve literatürde görece güncel olarak yer almaktadır. Song ve ark. silibininin etanol ve asetaldehitin karaciğer hücre serilerindeki toksik etkilerine karşı koruyucu rolünü araştırdıkları in vitro modelde, bu etkinin ferroptozla ilişkili yollar üzerinden gerçekleştiğini göstermiştir (65). Yan ve ark. HepG2 hücre serisi üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, silibininin ferroptotik hücre ölümünü ACSL4 inhibisyonu aracılığıyla baskıladığını ortaya koymuştur (66). Yine 2022 yılında, hipokampal nöronal hücre kültürü modelinde yürütülen bir çalışmada, silibinin-taksifolin kombinasyonunun yalnızca ferroptozu değil, aynı zamanda çeşitli hücresel stres yanıtı yollarını da regüle ederek nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (67).

2023 yılında Du ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, sıçan insulinoma hücre hattı (INS-1) üzerinde silibininin, palmitik asit ve yüksek glukoz koşulları altında indüklenen ferroptozu anlamlı şekilde baskıladığı gösterilmiştir (68). Son dönemde yapılan araştırmalar, silymarin'in nanoformülasyonlarının karaciğer koruyucu etkisini artırabileceğini göstermektedir. Elfaky ve ark. (2022), farklı boyutlardaki silymarin nanoparçacıklarını erkek Sprague Dawley sıçanlarda test etmiş; büyük boyutlu gümüş nanoparçacıkların, küçük boyutlulara göre daha etkili hepatoprotektif etki sağladığını raporlamıştır (69). Abdullah ve ark. (2022), kitosan temelli silymarin yüklü nanoparçacıklar geliştirerek bu formülasyonun, CCl₄ ile oluşturulan karaciğer fibrozisine karşı belirgin anti-fibrotik etki gösterdiğini bildirmiştir (70). Patel ve ark. (2022) ise silibinin içeren inhalasyon yoluyla uygulanan nanoparçacıklar geliştirmiş; bu yapıların biyoyararlanımı 4 kat artırdığını ve akciğer kanseri tedavisinde potansiyel taşıdığını göstermiştir (71). Iqbal ve ark. (2022), *Silybum marianum* kullanarak biyosentezledikleri bakır oksit nanoparçacıkların, antioksidan, anti-diyabetik, antimikrobiyal ve ROS/RNS inhibisyonu gibi çok yönlü biyolojik etkiler sergilediğini belirtmiştir (72). Staroverov ve ark. (2021) tarafından geliştirilen silymarin-selenyum nanoparçacıkları, hücre içine daha iyi nüfuz etmiş ve dehidrogenaz aktivitesini artırmıştır (73). Costa ve ark. (2023) çalışmasında, ferroptozun demir birikimi ve lipid peroksidasyonuna bağlı olarak gelişen özgün bir hücre ölüm biçimi olduğu ve Alzheimer, Parkinson gibi çeşitli nörolojik hastalıklarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, doğal antioksidanlardan biri olan silymarinin, ferroptozu baskılayıcı etkileri vurgulanmış; bu etkinin demir şelasyonu, lipid peroksidasyonunu engelleme ve antioksidan sistemleri destekleme yoluyla gerçekleştiği ifade edilmiştir. Silymarin ve benzeri bileşiklerin nöroprotektif potansiyeli, gelecekteki tedavi yaklaşımları için umut verici bulunmuştur (74). Lima ve ark. (2025) silymarinin Zika virüsüne karşı hem antioksidan hem antiviral etkilerini göstermiştir. Fare modellerinde karaciğer hasarını ve viral yükü azaltmıştır (75). Almutary ve ark. (2025) silymarinin Alzheimer başta olmak üzere çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkiler gösterebildiğini ortaya koymuştur. Silymarin; A β birikimi, tau fosforilasyonu, asetilkolinesteraz aktivitesi, glutamat toksisitesi, oksidatif stres ve inflamasyonu azaltarak nöroprotektif mekanizmalar sergilemiştir (76). Miao ve ark. (2025) çalışmasında, silymarinin tip 2 diyabetli

hastalarda kardiyometabolik risk faktörlerini iyileştirmede etkili olduğu gösterilmiştir. Silymarin, özellikle açlık glukozu, HbA1c ve insülin direnci (HOMA-IR) üzerinde anlamlı düşüş sağlamış; HbA1c düzeylerini azaltmada diğer bitkisel ajanlara kıyasla en başarılı bileşen olarak öne çıkmıştır. Ayrıca trigliserid düzeylerini düşürmede de yüksek başarı oranına ulaşmıştır. Bu sonuçlar, silymarinin glisemik kontrol ve metabolik denge açısından terapötik potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır (77).

Kompartman sendromunun patogenezinde iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak gelişen inflamatuvar süreçlerin yanı sıra, son yıllarda ferroptotik hücre ölümünün de önemli bir rol oynayabileceği literatürde ortaya konmuştur. Bu kapsamda yapılan analizler, ferroptozla ilişkili gen ekspresyon profillerinin kompartman sendromu ile anlamlı şekilde ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak mevcut literatürde, bu hücre ölüm biçimini hedef alarak geliştirilmiş anti ferroptotik ajanların kompartman sendromu modelinde kullanıldığı deneysel bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Çalışmamız, bu eksikliğı gidermeyi amaçlayarak, silibinin ve deferoksaminin kompartman sendromuna bağlı doku hasarı üzerindeki potansiyel koruyucu etkilerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmektedir. Bu yönüyle çalışmamız, literatürde ilk kez bu iki ajanın kompartman sendromu modelinde anti ferroptotik ve fonksiyonel etkisini inceleyen deneysel bir araştırma niteliğı taşımaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 14.2025mar protokol kodu ile onaylanmıştır (**Ek-1**).

Bu çalışmada kullanılan deney hayvanlarının temini ve bakımı, DEHAMER bünyesinde gerçekleştirilmiştir. Tüm cerrahi ve farmakolojik uygulamalar, ilgili etik kurallar doğrultusunda DEHAMER tesislerinde yürütülmüştür. Çalışma kapsamında, araştırma konusu ile doğrudan ilişkili herhangi bir ilaç, tıbbi cihaz ya da malzeme üreticisi firmadan kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ya da manevi destek alınmamıştır.

3.1. Çalışma Tasarımı

Çalışmamızda sıçanlarda kompartman sendromu modeli oluşturulmuş ve toplamda üç ana başlık altında altı grup halinde değerlendirme yapılmıştır. Kompartman sendromu oluşturulan tüm gruplarda, 4. ve 14. günlerde olmak üzere iki farklı zaman noktasında değerlendirme yapılmıştır. Müdahale gruplarına, iskemik sürecin başlangıcından itibaren günlük olarak farmakolojik tedavi uygulanmıştır. Silibinin molekülü oral (gavaj) yolla, deferoksamin ise intraperitoneal yolla verilmiştir. Kontrol grubuna herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. Kompartman sendromunun erken dönem (4. gün) ve geç dönem (14. gün) etkileri hem fonksiyonel testler hem de histopatolojik analizlerle değerlendirilmiştir.

Gruplar şu şekilde sınıflandırılmıştır:

- 1) **Grup A (Kontrol – 4. Gün):** Kompartman sendromu oluşturulmuş, tedavi uygulanmamış, 4. günde değerlendirilmiş sıçan grubu.
- 2) **Grup B (Kontrol – 14. Gün):** Kompartman sendromu oluşturulmuş, tedavi uygulanmamış, 14. günde değerlendirilmiş sıçan grubu.
- 3) **Grup C (Silibinin – 4. Gün):** Kompartman sendromu oluşturulmuş, oral silibinin tedavisi uygulanmış, 4. günde değerlendirilmiş sıçan grubu.

- 4) **Grup D (Silibinin – 14. Gün):** Kompartman sendromu oluşturulmuş, oral silibinin tedavisi uygulanmış, 14. günde değerlendirilmiş sıçan grubu.
- 5) **Grup E (Deferoksamin – 4. Gün):** Kompartman sendromu oluşturulmuş, intraperitoneal deferoksamin tedavisi uygulanmış, 4. günde değerlendirilmiş sıçan grubu.
- 6) **Grup F (Deferoksamin – 14. Gün):** Kompartman sendromu oluşturulmuş, intraperitoneal deferoksamin tedavisi uygulanmış, 14. günde değerlendirilmiş sıçan grubu.

Fonksiyonel değerlendirme sonrası etik düzenlemelere uygun ötenaziyi takiben her hayvanın bilateral alt ekstremiteleri eksize edilmiştir. Kompartman sendromu oluşturulan taraf “deney ekstremitesi” olarak, karşı (sağlam) taraf ise “iç kontrol” olarak değerlendirilmiştir. Kas dokuları %10'luk nötral formaldehit ile fikse edilmiş, ardından histopatolojik (HE, Masson Trikrom) ve immünohistokimyasal analizler için doku takip işlemlerine alınmıştır.

3.2. Hayvan Sayısı

Benzer deneysel modellere ilişkin literatür verilerinin sınırlı olması ve çalışmamızda kullanılan bağımlı değişkenlerin sıralı düzeyde (ordinal) olması nedeniyle klasik anlamda parametrik güç analizi (power analysis) yapılması uygun bulunmamıştır. Bunun yerine, örneklem büyüklüğünü belirlemek için hayvan çalışmalarında yaygın olarak kabul gören ve özellikle standart sapma ve etki büyüklüğünün net olarak tahmin edilemediği durumlarda önerilen “resource equation” yöntemi tercih edilmiştir (78). Bu yöntemle göre, grup sayısı k olmak üzere, minimum örneklem büyüklüğü $10/k+1$ 10/ $k+1$, maksimum ise $20/k+1$ 20/ $k+1$ formülüyle hesaplanmaktadır.

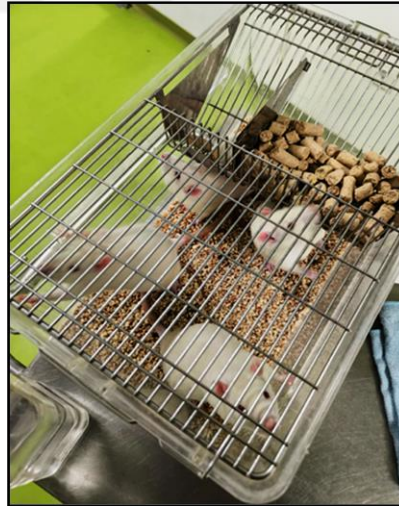
Çalışmamızda toplam 6 grup bulunması nedeniyle, önerilen grup başı minimum hayvan sayısı 2.7, maksimum ise 4.3 olarak hesaplanmıştır. Ancak çalışmamızda değerlendirilecek veriler sıralı düzeyde olduğundan, parametrik analizler yerine non-parametrik testlerin (Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U, Dunn testi) kullanılması planlanmış ve bu doğrultuda örneklem büyüklüğünün %30–50 oranında artırılması tercih edilmiştir (79). Bu nedenle her grupta 7 deney hayvanı

(toplam 42 hayvan) ile çalışılması planlanmış, ancak deney sürecinde yaşanan kayıplar nedeniyle her gruptan birer deney hayvanı eksilmiş ve analizler 6'şar deney hayvanı ile (toplam 36) gerçekleştirilmiştir. Bu örneklem büyüklüğü, benzer çalışmalarda önerilen minimum düzeylerin üzerinde olup, yapılan istatistiksel analizler için yeterli kabul edilmiştir.

3.3. Deney Hayvanlarının Özellikleri

Çalışmamızda, DEHAMER'den temin edilen toplam 42 adet Sprague Dawley soyu, 3 aylık, erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanların vücut ağırlıkları 300–350 gram aralığında olup, ortalama ağırlıkları yaklaşık 320 gram olarak ölçülmüştür.

Deney süresince sıçanlar standart sıçan yemi ve su ve ad libitum ile beslenmiştir. Her biri 4 hayvan içerecek şekilde polipropilen kafeslerde barındırılmıştır. Toplam 11 adet kafes kullanılmıştır. Kafeslerin bulunduğu ortamda 23 ± 1 °C sıcaklık, $\%55\pm10$ bağıl nem, ve 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık ışık döngüsü sağlanmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Deney Süresince Kullanılan Sprague Dawley Sıçanların Barındırıldığı Standart Polipropilen Kafes Görünümü

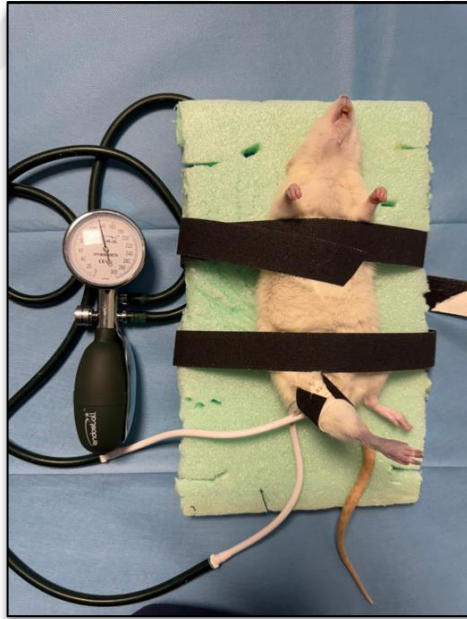
3.4. Kompartman Sendromu Hasar Modeli

Günümüzde hayvanlarda kompartman sendromu kas hasarı oluşturma modelleri çok çeşitli seçenekler göstermektedir. Geleneksel kas doku hasarı hayvan modelleri;

kardiyotoksin ajan enjeksiyonu, derin kesiler, arter ligasyonları, kas dokusunun çıkarılması gibi yöntemlerden oluşmaktadır (80,81).

Ancak bu modeller, insanlardaki kas yaralanmalarının çoğunda gözlenen klinik bulguları yansıtmakta yetersiz kalmaktadır. Çünkü bu tür durumlarda hasar gören kas dokusu zamanla ilerleyici bir şekilde dejenerasyona uğramakta ve rejeneratif olmayan bir doku ortamı oluşmaktadır. Bu çalışmada, sıçanlarda kompartman sendromu oluşturmak amacıyla, daha önce tanımlanmış non-invaziv kompresyonu esas alan model, etik kurul onayına uygun olarak modifiye edilerek uygulanmıştır (82).

Anestezi altında (intraperitoneal ketamin 100 mg/kg ve xylazine 10 mg/kg), sıçanların sağ arka ekstremitesine femuru içine alacak şekilde 140 mmHg basınç uygulayan turnike sistemi yerleştirildi. Basınç, manometre yardımıyla takip edildi ve toplam 3 saat boyunca uygulandı. Bu süre zarfında hayvanların solunumları düzenli olarak gözlemlendi (Şekil 10) (82).



Şekil 10. Sıçan Modelinde Non-İnvaziv Kompresyon Yöntemiyle Kompartman Sendromu Oluşturulması

Kompartman sendromu modeli Criswell ve ark. (2012) tarafından tanımlanan ve sıçanlarda iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturmak amacıyla uygulanan turnike modeline dayanmaktadır (82). Bu modelde olduğu gibi, çalışmamızda da femoral bölgenin tamamını kapsayan bir dış bası yöntemiyle kompresyon oluşturulmuştur. Bu

yaklaşım, yalnızca anterolateral kas gruplarını değil, aynı zamanda posterior krural kasları da etkileyerek, klinik tabloya daha yakın bir doku yanıtı elde edilmesini sağlamıştır. Böylece, modelin gerçek yaşam koşullarını yansıtmaya kapasitesi artırılmıştır.

Criswell ve ark. tarafından geliştirilen kompartman sendromu modelinde, doku yanıtı 1., 2., 4., 7., 14. ve 35. günlerde değerlendirilmiş olup, süreç hem inflamasyonun ilerleyişi hem de rejenerasyonun zamansal dinamikleri açısından detaylı şekilde karakterize edilmiştir. Çalışmamızda, deneysel hayvan kullanımı sayısını etik açıdan sınırlı tutmak amacıyla, bu zaman noktalarından klinik ve histopatolojik olarak en anlamlı bulguların izlendiği 4. ve 14. günler tercih edilmiştir. 4. gün, inflamasyonun pik yaptığı, doku hasarının belirgin olduğu akut evreyi; 14. gün ise rejenerasyonun başladığı ve merkezi çekirdekli miyofiberlerin görüldüğü erken rejeneratif/subakut dönemi temsil etmektedir. Bu yönüyle seçilen zaman noktaları, hem modelin patofizyolojisini temsil etme gücüne sahiptir hem de müdahale etkinliğinin histopatolojik ve fonksiyonel olarak değerlendirilebilmesine olanak sağlamaktadır (82).

Turnike 3 saat sonunda çıkarıldıktan sonra deney hayvanları kompartman sendromu oluşturulduktan sonraki dönemde ısı kontrollü odalarda gözlem altında tutuldu.

3.5. Deney Planı

Bu çalışma, başlangıçta her biri 7 sıçandan oluşan 6 grup halinde toplam 42 adet erkek Sprague Dawley sıçan ile planlanmıştır ancak her gruptan yaşanan kayıplar nedeni ile 36 hayvan ile sonuçlanmıştır. Tüm deney hayvanlarına deneyin 1. gününde sağ arka ekstremitede kompartman sendromu oluşturulmuş olup, sol arka ekstremitte işleme tabi tutulmamış ve iç kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Deney Gruplarının Uygulanan Tedaviye ve Sakrifiye Zamanına Göre Dağılımı

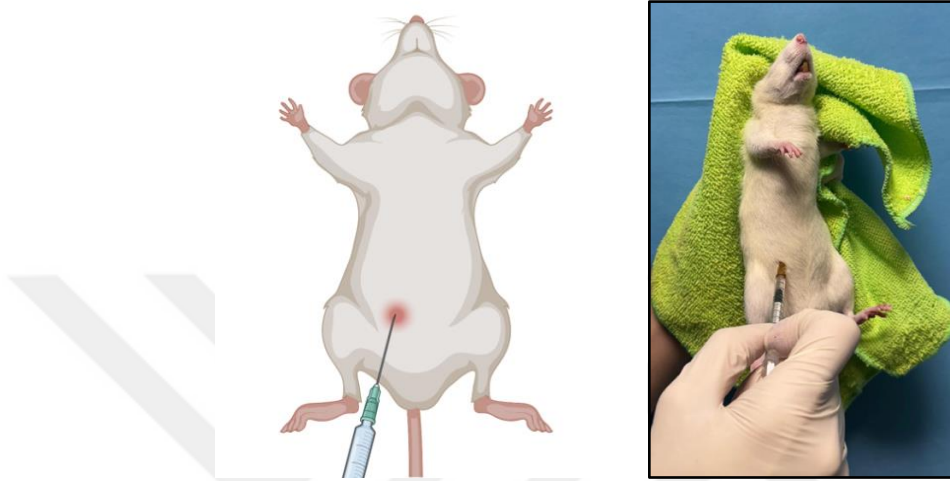
Grup	Uygulanan Tedavi	Sakrifiye Zamanı
Grup A (n=6)	Tedavisiz	4. Gün
Grup B (n=6)	Tedavisiz	14. Gün
Grup C (n=6)	Oral Silibinin	4. Gün
Grup D (n=6)	Oral Silibinin	14. Gün
Grup E (n=6)	İntraperitoneal Deferoksamin	4. Gün
Grup F (n=6)	İntraperitoneal Deferoksamin	14. Gün

Sakrifikasyon öncesinde tüm hayvanlara fonksiyonel değerlendirme yapılmıştır. Bu amaçla eğimli tahta testi kullanılarak motor fonksiyon ölçümleri gerçekleştirilmiş, ardından sıçanlar sakrifiye edilerek hem sağ (kompartman sendromlu) hem de sol (iç kontrol) arka ekstremite çıkarılmıştır (Tablo 1). Bu örnekler, histopatolojik incelemeler için hematoksil-eozin (HE), Masson Trikrom (MTK) histokimyasal boyamaları ile değerlendirilmiştir. Pax7 ve Myogenin immünohistokimyasal analizleri, çalışma planına dahil edilmiştir ancak ilgili BAP bütçe onayı alınmış olmakla birlikte, antikor temininde yaşanan lojistik gecikmeler nedeniyle tez süresi içinde uygulanamamıştır. Bu analizlerin, yayın aşamasında tamamlanarak çalışmanın bilimsel derinliğini ve literatüre katkısını artırması hedeflenmektedir.

3.6. Deferoksamin Molekülünün Uygulama için Hazırlanışı ve Uygulanması

Deferoksamin, sıçanlarda 30–100 mg/kg aralığında güvenli ve etkili dozlarda kullanılabileceği bildirilen bir demir şelatörüdür (83). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda günlük doz olarak 100 mg/kg/gün uygulanması tercih edilmiştir. Kullanılan deferoksamin, eczane üzerinden insan kullanımı için ruhsatlı ticari preparat (Desferal® (Novartis)) olarak temin edilmiştir (Şekil 13). Uygulama öncesinde ilacın ampul formu, %0.9 NaCl çözeltisi içerisinde uygun şekilde seyreltilerek intraperitoneal enjeksiyon için hazırlanmıştır. Tüm hayvanlara ilk doz, kompartman sendromu modelinin oluşturulduğu gün intraperitoneal yolla uygulandı (Şekil 11). Tüm hayvanlara dahil oldukları güne göre kompartman sendromu modelinin oluşturulduğu günden itibaren, sakrifikasyon gününe kadar olmak üzere her gün tek

doz olacak şekilde intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Uygulama öncesi her deney hayvanı tartılmış; ağırlığına uygun olacak şekilde deferoksamin dozu bireysel olarak hesaplanmıştır. Bu protokol, benzer iskemi-reperfüzyon temelli hayvan modellerinde bildirilen doz rejimlerine dayanmaktadır (83).



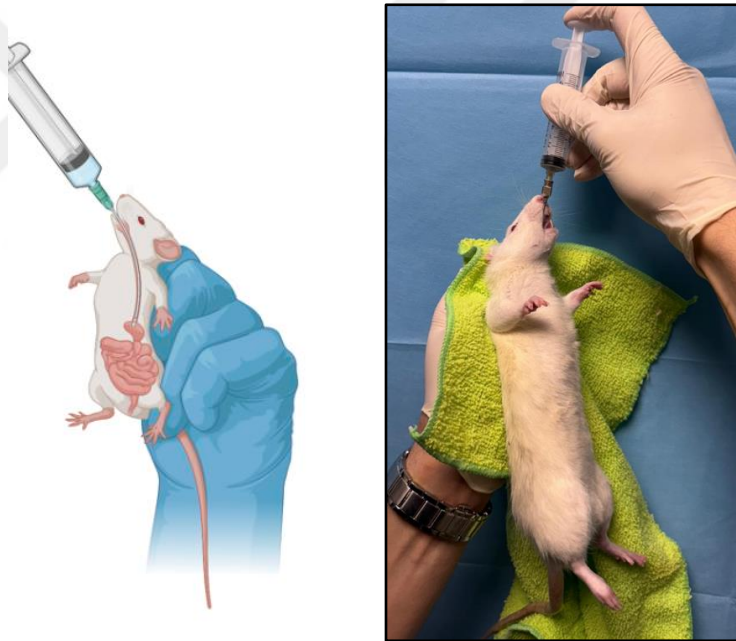
Şekil 11. Sıçan Modelinde Deferoksamin Uygulamasının İntraperitoneal Enjeksiyon Yöntemiyle Gerçekleştirilmesi

3.7. Silibinin Molekülünün Uygulama İçin Hazırlanışı ve Uygulanması

Silibinin tedavisi için Legalon® fort kapsül (Viatris, Türkiye) formu kullanılmıştır (Şekil 13). Her kapsül 140 mg silymarin içermekte olup, bunun yaklaşık %50–60'ı aktif silibinin bileşiğidir. Bu bilgi doğrultusunda, her kapsülde yaklaşık 70–84 mg silibinin içeriği olduğu kabul edilmiştir. Deney gruplarına, vücut ağırlıklarına göre hesaplanarak 200 mg/kg/gün dozunda silibinin, oral yolla (gavaj) uygulanmıştır (91). Kapsüller ezilerek uygun hacimde distile su içerisinde süspansiyon haline getirilmiş ve her hayvana bireysel doz uygulaması yapılmıştır. Oral uygulama, önceki prelinik çalışmalarda farmakokinetik olarak yeterli biyoyararlanım sağladığı için tercih edilmiştir. (89,91) Ayrıca Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından yayımlanan Silybum marianum (L.) Gaertn. fructus değerlendirme raporunda, sıçanlara oral yolla uygulanan silymarin dozlarının 2.500–5.000 mg/kg düzeylerine kadar toksisite göstermediği belirtilmiştir (90).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda kullanılan 200 mg/kg/gün silibinin dozu hem etik hem farmakolojik açıdan güvenli sınırlar içinde yer almaktadır. Her kapsülde

140 mg içerik bulunan bu preparat, kapsülden çıkarılıp içerdiği toz form hassas terazide tartılarak günlük 200 mg/kg dozunda hazırlanmıştır. Uygulama kompartman sendromu oluşturulduktan sonra günlük olarak başlanmış ve her deney hayvanında sakrifikasyon gününe kadar günlük tek doz şeklinde sürdürülmüştür. Uygulama öncesi her hayvan tartılmış; ağırlığına uygun olacak şekilde silibinin dozu bireysel olarak hesaplanmıştır. Bu yöntem ile hem doz standardizasyonu sağlanmış hem de oral yolla alımdaki bireysel farklılıklar minimize edilmiştir. Silibininin düşük biyoçözünürlüğü nedeniyle sistemik uygulamalar teorik olarak daha yüksek biyoyararlanım sunsa da literatürde bu molekülün sıklıkla per-oral olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Bu bağlamda, çalışmamızda tercih edilen uygulama yolu, hem farmakokinetik uygunluk hem de pratik uygulanabilirlik açısından literatür ile uyumlu olarak belirlenmiştir (84).



Şekil 12. Sıçan Modelinde Silibinin Uygulamasının Oral Gavaj Yöntemiyle Gerçekleştirilmesi



Şekil 13. Çalışmada Kullanılan Farmakolojik Ajanlara Ait Ticari Preparatlar *Deferoksamin (Desferal®)*, *Novartis*) (Sağ), *Silibinin (Legalon® fort, Viatris)* (Sol).

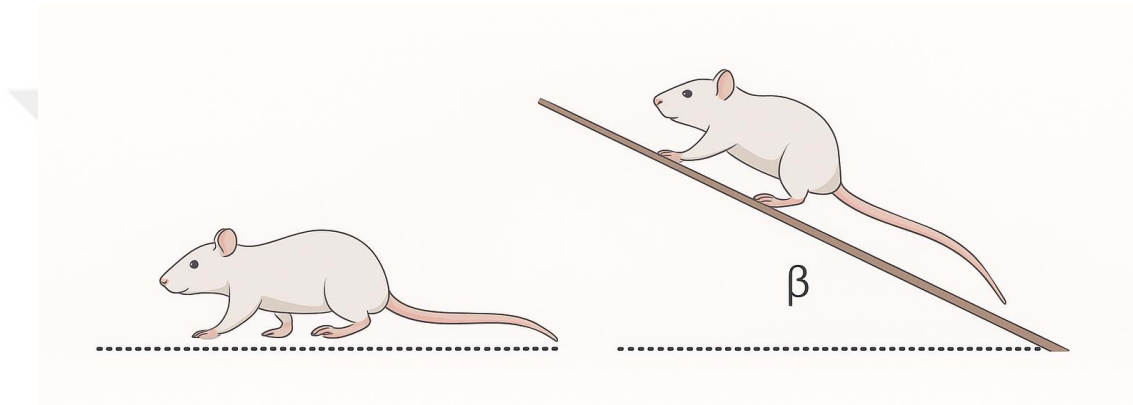
3.8. Kompartman Sendromu Sonrası Takip Prosedürü

Kompartman sendromu modelinin uygulanmasını takiben, tüm hayvanlar günlük olarak veteriner hekim gözetiminde takip edilmiştir. Takip süresince sıçanların genel klinik durumu, aktivite düzeyleri, beslenme alışkanlıkları, ağrı belirtileri, yara yeri kontrolleri ve davranışsal değişiklikleri düzenli olarak gözlemlenmiştir. Kompartman sendromu modeli oluşturulmasını takiben tüm deney hayvanlarının tedavi süresince deney hayvanlarının ağrıya dair davranışları (kamburluk, piloereksiyon, gıdaya ilgisizlik, hareket azlığı gibi) veteriner hekim tarafından düzenli olarak takip edilmiştir (85). Model sonrası süreçte, belirlenen 4. gün ve 14. gün sakrifikasyon günlerine kadar, hayvanlarda herhangi bir lokal enfeksiyon, otoamputasyon veya sistemik patoloji gelişip gelişmediği dikkatle izlenmiştir.

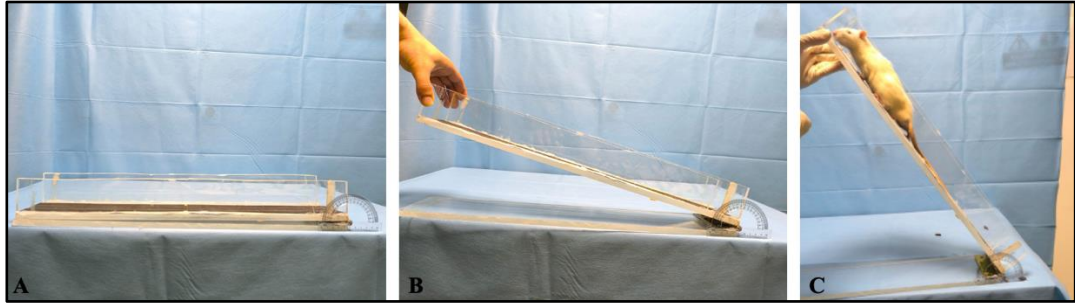
3.9. Fonksiyonel Değerlendirme

Kompartman sendromu sonrası kas fonksiyonunun değerlendirilmesi amacıyla sakrifiye öncesi tüm deney hayvanlarına eğimli tahta testi (inclined plane test) uygulandı. Bu test ile hayvanların arka ekstremitte kuvveti ve denge kabiliyetleri değerlendirildi. Testte her sıçan için test üç kez tekrarlanmış, hayvanın tahtadan kaymadan tutunabildiği maksimum açı gonyometre ile ölçülmüştür (Şekil 14,15). Ölçümler sırasında farklılıkları en aza indirmek amacıyla aynı araştırmacı tarafından değerlendirme yapılmış, üç ölçümden elde edilen en yüksek açı değeri analizde

kullanılmıştır. Her hayvan için üç ardışık ölçüm yapıldı ve en yüksek açı değeri kaydedildi. Bu yöntem, daha önce nöromusküler fonksiyon kaybı, spinal kord travması ve iskemik kas hasarı gibi modellerde motor fonksiyonları değerlendirmek için kullanılmakta olup güvenilir ve objektif bir fonksiyonel analiz aracı olarak literatürde tanımlanmıştır (86,91). Fonksiyonel değerlendirme, histopatolojik analizler öncesinde yapılmış olup, tedavi grupları ile kontrol grupları arasında karşılaştırmaya olanak sağlayacak şekilde planlanmıştır. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilerek tedavi ajanlarının fonksiyonel iyileşme üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.



Şekil 14. Eğimli Tahta Testinde Sıçanın Arka Ekstremit Motor Fonksiyonuna Bağlı Olarak Yüzeyde Tutunabildiği Maksimum Açı (B) Prensibiyle Yapılan Değerlendirme Şeması.



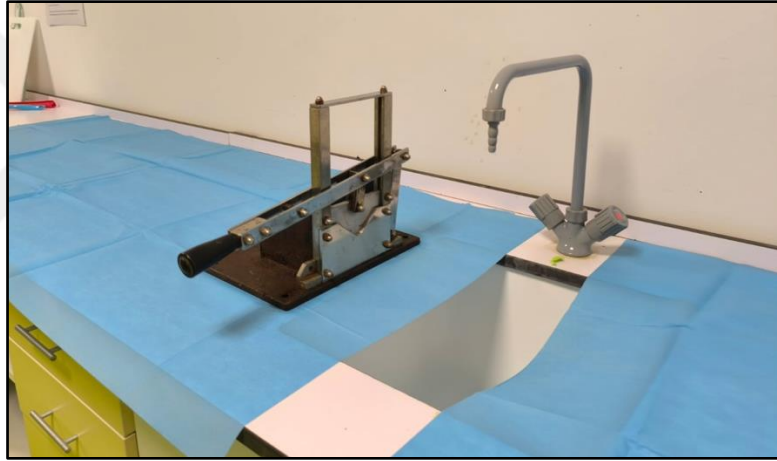
Şekil 15. Eğimli Tahta Testi (A) Başlangıç Pozisyonu (B) Eğimi Arttırılmış Tahta Pozisyonu (C) Test Uygulama Anı

3.10. Ötenazi Prosedürleri ve Numunelerin Elde Edilmesi

Çalışma süresi sonunda, deney gruplarının sakrifiye günlerinde sıçanlara fonksiyonel değerlendirme testi uygulandıktan sonra, etik kurul onayına uygun şekilde dekapitasyon yöntemi ile ötenazi uygulanmıştır. Dekapitasyon öncesi, hayvanlara

derin anestezi sağlamak amacıyla intraperitoneal yolla ketamin (100 mg/kg) ve xylazine (10 mg/kg) kombinasyonu verilmiş, derin anestezi sağlanmıştır. Fonksiyonel değerlendirmelerin ardından, hayvan refahı ilkeleri doğrultusunda hızlı ve travmatik olmayan şekilde sakrifiye işlemi gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları, anestezi altında tam bilinç kaybı sağlandıktan sonra, manüel kontrol edilen laboratuvar tipi giyotin ile servikal dekapitasyon uygulanmıştır (Şekil 16).

Ötenazi sonrası her sıçanın her iki alt ekstremitesi dikkatlice diseke edilerek çıkarılmıştır. Bu sayede hem karşılaştırmalı histopatolojik değerlendirme hem de her deney hayvanından iç kontrol alınması mümkün kılınmıştır. İşlem sonrasında dokular uygun hacimdeki kaplarla %10 nötral formalin solüsyonunda tespit edilmiştir (Şekil 17).



Şekil 16. Deney Hayvanlarının Ötenazi İşleminde Kullanılan Laboratuvar Tipi Manuel Giyotin Düzenegi



Şekil 17. Numunelerin Etiketlendirilmesi (A) Sakrifiye öncesi bireysel olarak etiketlenmiş numune kabı (B) Tüm deney hayvanlarına ait numunelerin gruplandırılması (C) Doku örneklerinin %10 nötral formalin içerisinde uygun şekilde saklandığı kap görüntüsü

3.11. Histopatolojik İnceleme Prosedürü

Histopatolojik değerlendirme amacıyla elde edilen doku örnekleri, %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içinde uygun taşıma koşulları sağlanarak Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına iletildi. Fiksasyonun ardından dokular, sırasıyla %70, %90, %96 ve %100'lük artan alkol konsantrasyonlarında dehidratasyona tabi tutuldu. Dehidratasyonu takiben, iki kez 5'er dakika süreyle ksilende bekletilerek saydamlaştırma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra dokular, 60°C sıcaklıktaki etüvde bir gece bekletilip parafinle infiltrasyon yapılarak bloklandı. Hazırlanan parafin bloklarından döner mikrotom (LEICA RM2125RT Rotocut) ile 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler, doku yapısının değerlendirilmesi ve kantitatif analizlerde kullanılmak üzere Hematoksilen-Eozin (HE) ve Masson Trikrom (MTK) boylarıyla boyandı. Boyama işleminin ardından kesitler entellan ile kapatılarak lamalar hazırlandı. Elde edilen preparatlar, Olympus BX51 (Tokyo, Japonya) marka ışık mikroskopunda incelendi.

3.12. Histopatolojik İncelemeler için Kullanılan Yöntemler

Histopatolojik analizler, kas dokusunda meydana gelen nekroz, inflamasyon ve fibrozis gibi dejeneratif değişikliklerin derecelendirilmesi amacıyla yarı kantitatif skorlama sistemi kullanılarak yapılmıştır. Değerlendirmeler, çalışmaya körlenen, deneyimli bir histopatolog (Dr. Emine Çeşmecioğlu Karavin) tarafından tek başına yapılmıştır. Aşağıda kullanılan skorlama sistemi sunulmuştur;

3.12.1. Hematoksilen-eozin (HE) skorlaması

Kas dokusundaki hücresel değişimleri (nekroz, nükleer yerleşim, inflamatuvar infiltrasyon) değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır (Tablo 2).

- Skor 0: Kas dokusunda hasar belirtisi (renk değişikliği, lifler arasında ayrılma, santral nükleus, nekroz) yok
- Skor 1: Hafif renk değişikliği, hafif artmış çekirdek sayısı mevcut
- Skor 2: Aşık çekirdek sayısı artışı, fokal nekroz

- Skor 3: Belirgin kas hücre nekrozu mevcut

Tablo 2. HE (hematoksilen eozin) Skoru

Skor	Tanım
0	Kas dokusunda hasar belirtisi (renk değişikliği, lifler arasında ayrılma, santral nükleus, nekroz) yok.
1	Hafif renk değişikliği, hafif artmış çekirdek sayısı mevcut.
2	Aşıkır çekirdek sayı artışı, fokal nekroz.
3	Belirgin kas hücre nekrozu mevcut.

3.12.2. Masson trikrom (MTK) skorlaması

Kas dokusundaki fibrotik değişiklikleri değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır (Tablo 3).

- Skor 0: Fibrozis yok, fibrotik lifler perimuskuler fizyolojik lokalizasyonda sınırlı
- Skor 1: Kas hücreleri arasında, fokal artmış ince ve kısa lifler halinde fibrozis mevcut
- Skor 2: Kas hücreleri arasında yer kaplayan kompleks fibrozis mevcut

Tablo 3. MTK Skoru

Skor	Açıklama
0	Fibrozis yok, fibrotik lifler perimuskuler fizyolojik lokalizasyonda sınırlı
1	Kas hücreleri arasında, fokal artmış ince ve kısa lifler halinde fibrozis mevcut
2	Kas hücreleri arasında yer kaplayan kompleks fibrozis mevcut

Bu skorlama sistemleri, daha önce benzer deneysel çalışmalarda kullanılan metodolojik yaklaşımlar temel alınarak oluşturulmuştur (82,87,88).

Kas rejenerasyonu sürecinin immünohistokimyasal düzeyde değerlendirilmesi amacıyla Pax7 ve Myogenin belirteçlerinin kullanılması planlanmıştır.

Pax7, kas hücre matürasyon aktivasyonunu; Myogenin ise miyojenik farklılaşmayı göstermek açısından önemli rejeneratif belirteçlerdir (82). Bu analizler için gerekli antikolar ve teknik sarf malzemelerin teminine yönelik Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPKO) tarafından

bütçe onayı alınmıştır. Ancak çalışma süreci içerisinde bu antikorların temini lojistik nedenlerle henüz gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle Pax7 ve Myogenin analizleri tez çalışmasında yer almamış, ancak ileri faz yayın aşamasında tamamlanarak sonuçlara eklenecektir. Bu durum, mevcut histopatolojik ve fonksiyonel analizlerin geçerliliğini etkilememektedir.

3.13. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri, NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2020 Statistical Software (NCSS LLC, Kaysville, Utah, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenler için merkezi eğilim ve dağılım ölçütleri (ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler) hesaplanmış; kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile özetlenmiştir. Değişkenlerin dağılım özelliklerini incelemek amacıyla Shapiro-Wilk normallik testi uygulanmış, ayrıca dağılımı görsel olarak desteklemek üzere Box Plot grafikleri kullanılmıştır.

İki bağımsız grup arasında parametrik olmayan verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi tercih edilmiştir. Üç veya daha fazla grubun analizinde Kruskal-Wallis testi uygulanmış, anlamlı farklılık tespit edilen durumlarda ikili grup karşılaştırmaları için Dunn-Bonferroni düzeltmeli post-hoc test kullanılmıştır. Tüm testler için istatistiksel anlamlılık düzeyi %95 güven aralığında ve $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda DEHAMER’den temin edilen her grupta 7 adet Sprague Dawley soyu, 3 aylık, erkek sıçan (toplam 42 hayvan) ile çalışılması planlanmış, ancak deney sürecinde yaşanan kayıplar nedeniyle her gruptan birer deney hayvanı eksilmiş ve analizler 6’şar deney hayvanı ile (toplam 36) gerçekleştirilmiştir.

4.1. Histopatolojik Sonuçlar

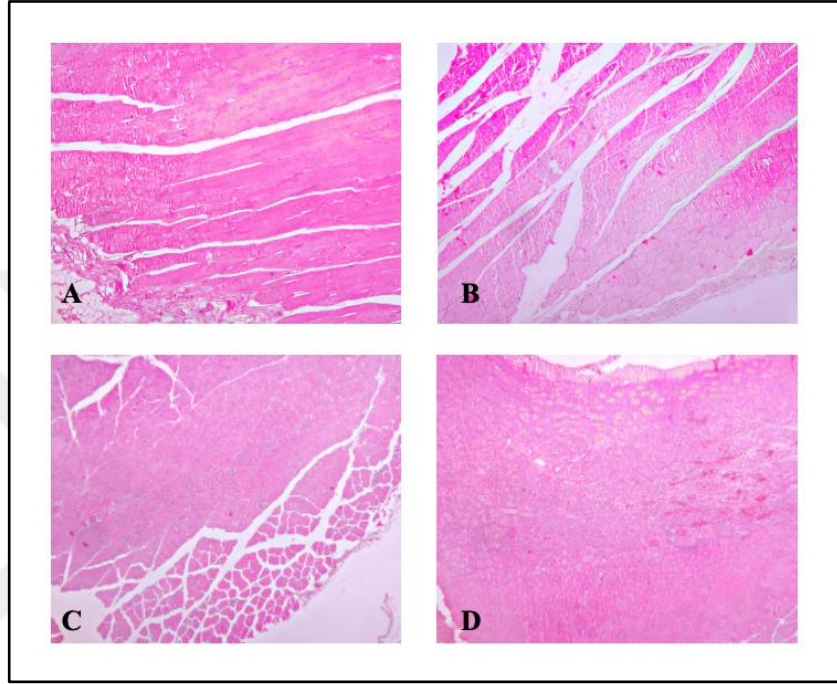
Tablo 4. Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı

		n (%)
Grup	Kompartman sendromu (tedavisiz) örnekleme 4.gün	6 (16,7)
	Kompartman sendromu (tedavisiz) örnekleme 14.gün	6 (16,7)
	Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	6 (16,7)
	Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	6 (16,7)
	Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	6 (16,7)
	Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	6 (16,7)
Fonskiyonel sonuçlar	<i>Ort±Ss</i>	63,64±6,75
	<i>Medyan (Min-Maks)</i>	62,5 (50-78)
HE skor	0	13 (36,1)
	1	7 (19,4)
	2	12 (33,3)
	3	4 (11,1)
	<i>Ort±Ss</i>	1,19±1,06
	<i>Medyan (Min-Maks)</i>	1 (0-3)
MTK skor	0	15 (41,7)
	1	18 (50)
	2	3 (8,3)
	<i>Ort±Ss</i>	0,67±0,63
	<i>Medyan (Min-Maks)</i>	1 (0-2)

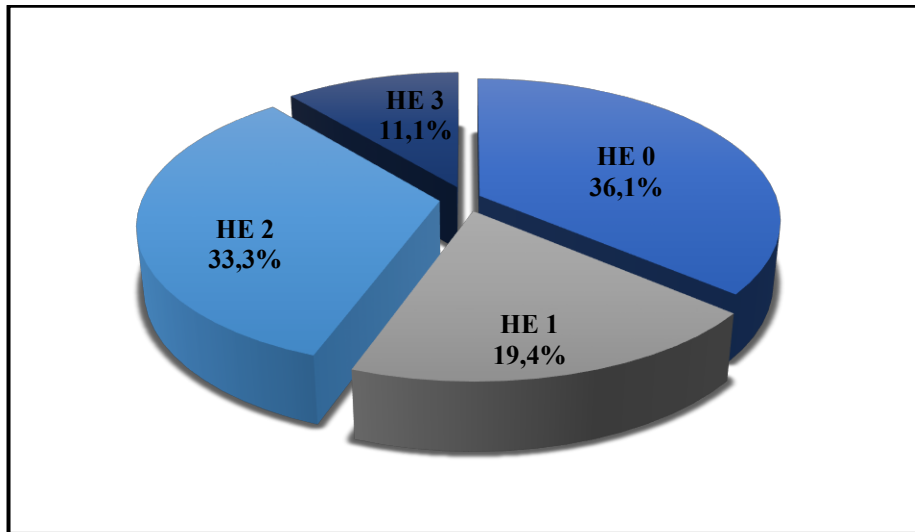
Her grupta %16,7 (n=6) sıçan olmak üzere gruplar; “*Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün*”, “*Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün*”, “*Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün*”, “*Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün*”, “*Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün*” ve “*Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün*” şeklindedir (Tablo 4).

4.1.1. HE skor sonuçları

Sıçanların %36,1'inde (n=13) HE skoru 0, %19,4'ünde (n=7) HE skoru 1, %33,3'ünde (n=12) HE skoru 2 ve %11,1'inde (n=4) HE skoru 3'tür. HE skorlarının ortalaması $1,19 \pm 1,06$ 'dır (Şekil 18, 19).



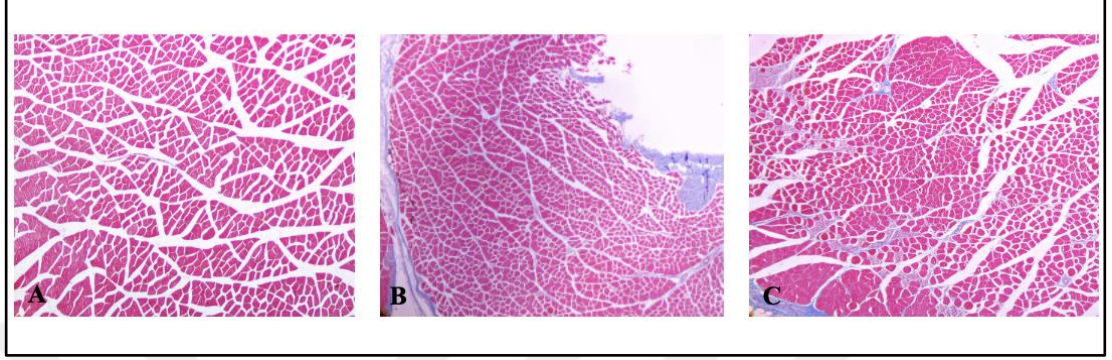
Şekil 18. Deneysel Kompartman Sendromu Modelinde Farklı Tedavi Gruplarına Ait Hematoksilen-Eozin (HE) İle Boyanmış Kas Doku Kesitleri (X100): (A) Normal kas dokusu, (B) Hafif renk değişikliği ve çekirdek artışı, (C) Belirgin çekirdek artışı ve fokal nekroz alanları, (D) Yaygın nekroz ile karakterize ileri düzeyde kas hasarı



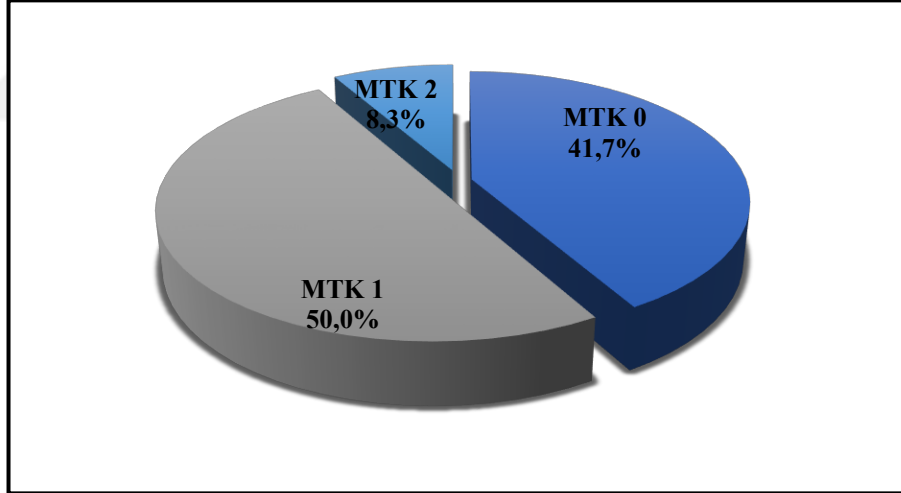
Şekil 19. HE skorlarının dağılımı

4.1.2. MTK skor sonuçları

MTK skoru %41,7'sinde (n=15) 0, %50'sinde (n=18) MTK skoru 1 ve %8,3'ünde (n=3) MTK skoru 2'dir. MTK skorlarının ortalaması $0,67 \pm 0,63$ 'tür (Şekil 20, 21).



Şekil 20. Masson Trikrom (MTK) İle Boyanmış Kas Dokusu Kesitlerinde Fibrotik Değişimlerin Karşılaştırılması (X100): (A) Fibrozis yok, (B) Kas hücreleri arasında fokal düzeyde artmış kollajen lifleri ve hafif fibrozis, (C) Kas lifleri arasında belirgin şekilde yer kaplayan düzensiz kollajen birikimi; orta düzey fibrozis bulguları



Şekil 21. MTK Skorlarının Dağılımı

Tablo 5. Gruplara Göre HE Skorlarının Karşılaştırılması

	HE Skorları		p
	Ort±Ss	Medyan (Min-Maks)	
Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün	2,17±0,75	2 (1-3)	^a 0,093
Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün	1,33±0,52	1 (1-2)	
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	1,67±0,82	2 (0-2)	^a 0,015*
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	0,17±0,41	0 (0-1)	
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	1,83±1,17	2 (0-3)	^a 0,015*
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	0,00±0,00	0 (0-0)	
			p Posthoc
^A Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün	2,17±0,75	2 (1-3)	
^C Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	1,67±0,82	2 (0-2)	^b 0,633
^E Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	1,83±1,17	2 (0-3)	
^B Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün	1,33±0,52	1 (1-2)	
^D Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	0,17±0,41	0 (0-1)	^b 0,001** B>F,D
^F Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	0,00±0,00	0 (0-0)	

^aMann Whitney U Test^bKruskal Wallis Test&Dunn Bonferroni Test

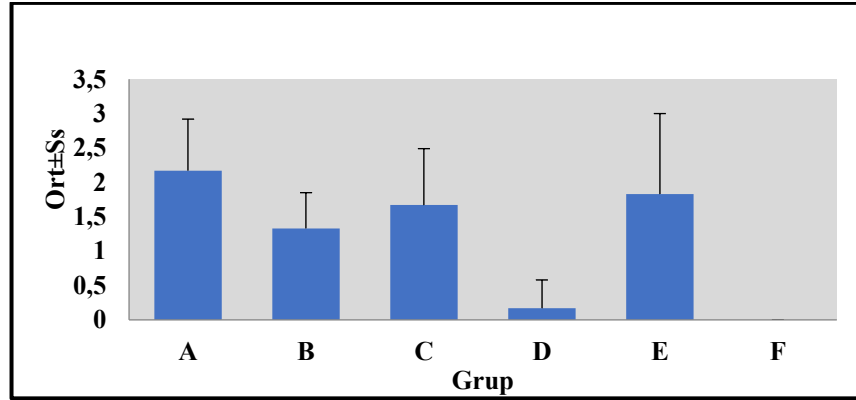
**p<0,01

*p<0,05

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün ve kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün gruplarına göre HE skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05) (Tablo 5).

Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün HE skorları, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün HE skorlarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (p=0,015; p<0,05) (Tablo 5).

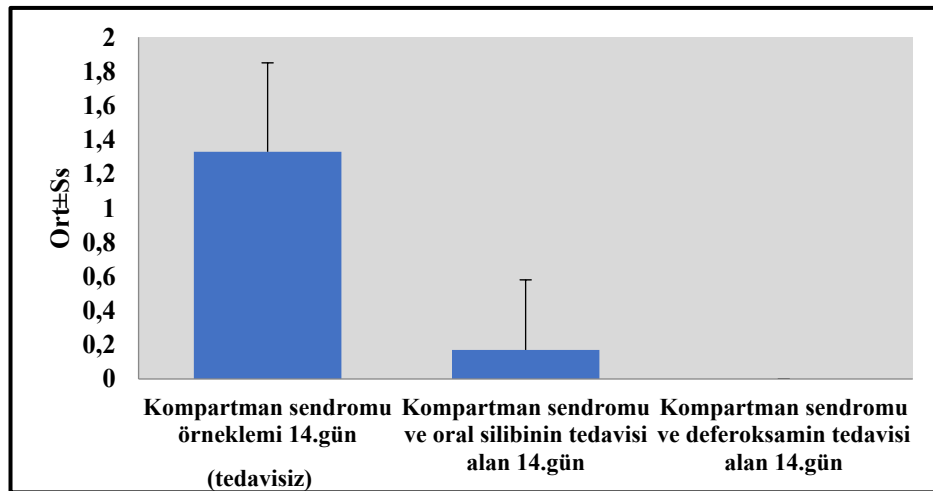
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün HE skorları, kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün HE skorlarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (p=0,015; p<0,05) (Tablo 5).



Şekil 22. Gruplara Göre HE Skorlarının Dağılımı

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün gruplarına göre HE skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 8).

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün gruplarına göre HE skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 8). Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün grubundaki sıçanların HE skorları, kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün ve kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,002$; $p=0,010$; $p<0,05$) (Şekil 23) (Tablo 8).



Şekil 23. Gruplara Göre 14.Gün HE Skorlarının Dağılımı

Tablo 6. Gruplara Göre MTK Skorlarının Karşılaştırılması

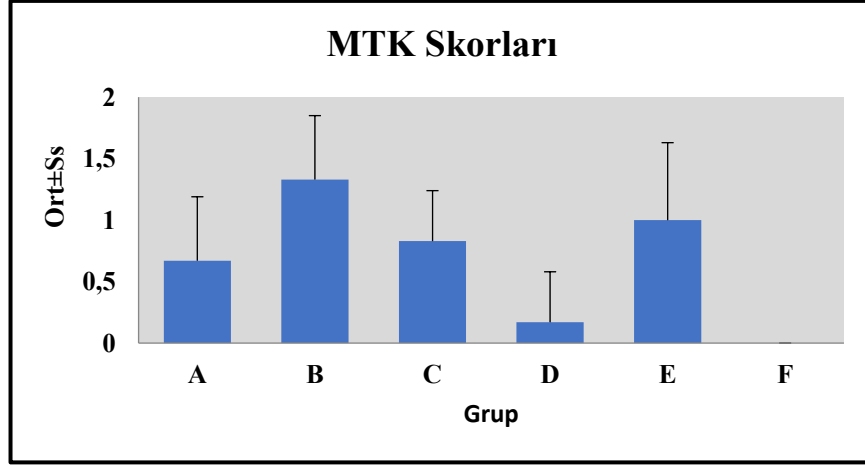
	MTK Skorları		p
	Ort±Ss	Medyan (Min-Maks)	
Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün	0,67±0,52	1 (0-1)	^a 0,132
Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün	1,33±0,52	1 (1-2)	
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	0,83±0,41	1 (0-1)	^a 0,065
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	0,17±0,41	0 (0-1)	
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	1,00±0,63	1 (0-2)	^a 0,015*
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	0,00±0,00	0 (0-0)	
			<i>p</i> <i>Posthoc</i>
^A Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün	0,67±0,52	1 (0-1)	
^C Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	0,83±0,41	1 (0-1)	^b 0,563
^E Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	1,00±0,63	1 (0-2)	
^B Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün	1,33±0,52	1 (1-2)	
^D Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	0,17±0,41	0 (0-1)	^b 0,001** <i>B>F,D</i>
^F Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	0,00±0,00	0 (0-0)	

^aMann Whitney U Test^bKruskal Wallis Test&Dunn Bonferroni Test ***p*<0,01**p*<0,05

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün ve kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün gruplarına göre MTK skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (*p*>0,05) (Tablo 6).

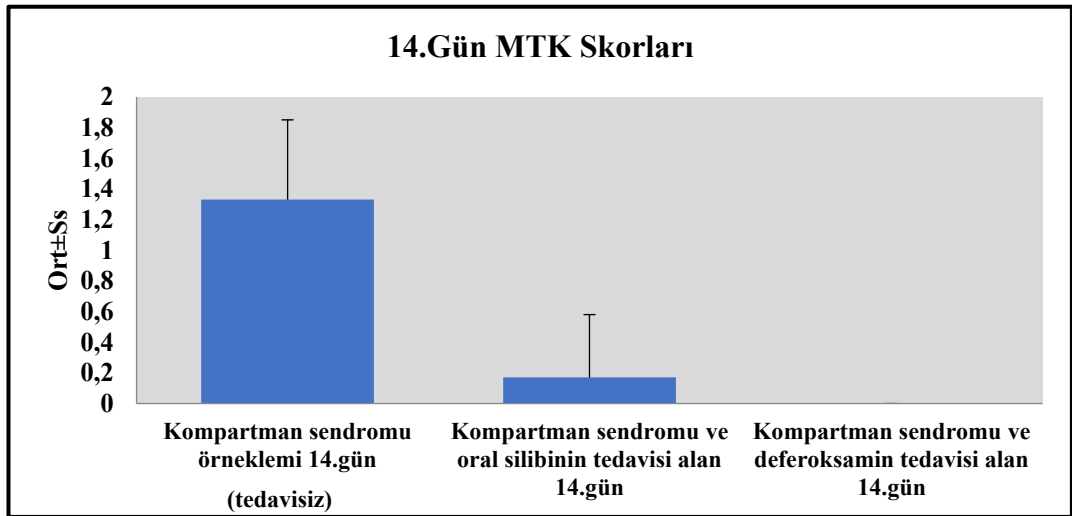
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün ve kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün gruplarına göre MTK skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (*p*>0,05) (Tablo 6).

Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün MTK skorları, Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün MTK skorlarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (*p*=0,015; *p*<0,05) (Tablo 6).



Şekil 24. Gruplara Göre MTK Skorlarının Dağılımı

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün gruplarına göre MTK skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 6). Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün gruplarına göre MTK skorları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 6). Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün grubundaki ratların MTK skorları, kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün ve kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,002$; $p=0,010$; $p<0,05$) (Tablo 6) (Şekil 25).



Şekil 25. Gruplara Göre 14.Gün MTK Skorlarının Dağılımı

4.2. Fonksiyonel Sonuçlar

Fonksiyonel skorlar, 50 ile 78 arasında değişmekte olup, ortalaması $63,64 \pm 6,75$ 'tir (Tablo 4).

Tablo 7. Gruplara Göre Fonksiyonel Sonuçların Karşılaştırılması

	Fonksiyonel Sonuçlar		p
	Ort $\pm$ Ss	Medyan (Min-Maks)	
Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün	54,17 $\pm$ 3,37	54 (50-60)	^a 0,009**
Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün	61,17 $\pm$ 1,94	60,5 (59-64)	
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	60,00 $\pm$ 1,41	60 (58-62)	^a 0,002**
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	73,33 $\pm$ 3,08	72,5 (70-78)	
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	63,67 $\pm$ 2,50	64 (60-67)	^a 0,002**
Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	69,50 $\pm$ 1,22	70 (68-71)	
			<i>p</i> <i>Posthoc</i>
^A Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün	54,17 $\pm$ 3,37	54 (50-60)	^b 0,002** <i>E>A</i> (0,001)
^C Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün	60,00 $\pm$ 1,41	60 (58-62)	
^E Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün	63,67 $\pm$ 2,50	64 (60-67)	
^B Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün	61,17 $\pm$ 1,94	60,5 (59-64)	^b 0,001** <i>D,F>B</i>
^D Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün	73,33 $\pm$ 3,08	72,5 (70-78)	
^F Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün	69,50 $\pm$ 1,22	70 (68-71)	

^aMann Whitney U Test

^bKruskal Wallis Test&Dunn Bonferroni Test

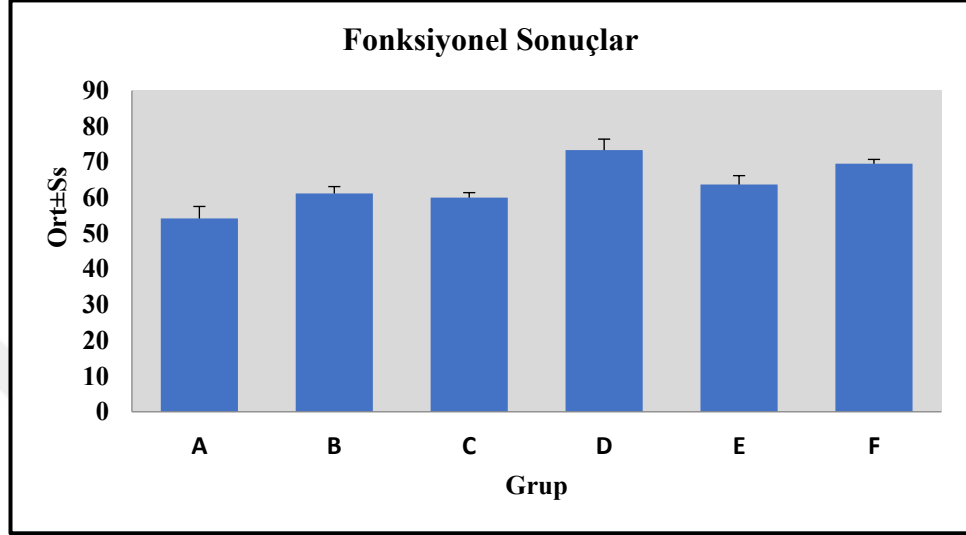
** $p < 0,01$

* $p < 0,05$

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün fonksiyonel sonuçları, kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün fonksiyonel sonuçlarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,009$; $p<0,01$) (Tablo 7).

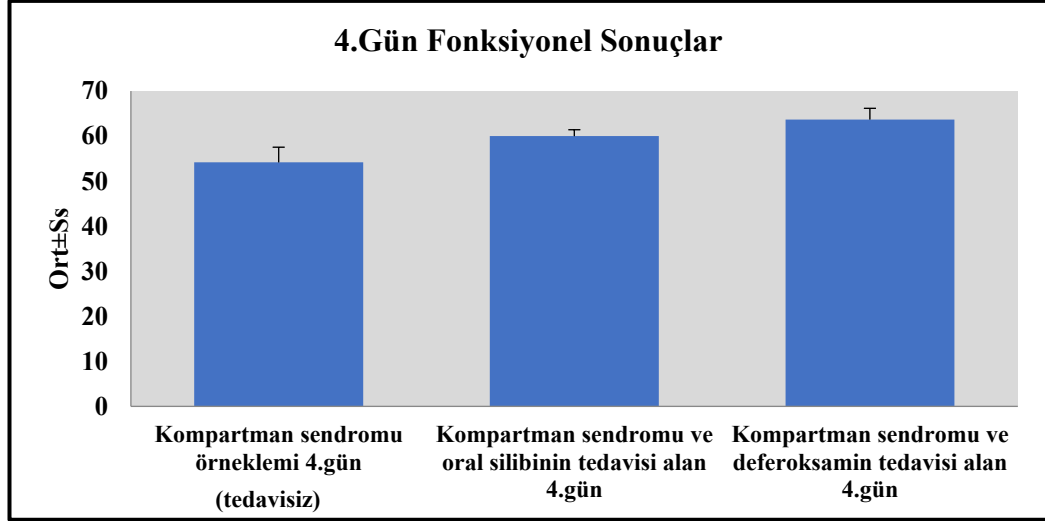
Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün fonksiyonel sonuçları, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün fonksiyonel sonuçlarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,002$; $p<0,01$) (Tablo 7).

Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün fonksiyonel sonuçları, kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün fonksiyonel sonuçlarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,002$; $p<0,01$) (Tablo 7) (Şekil 26) .



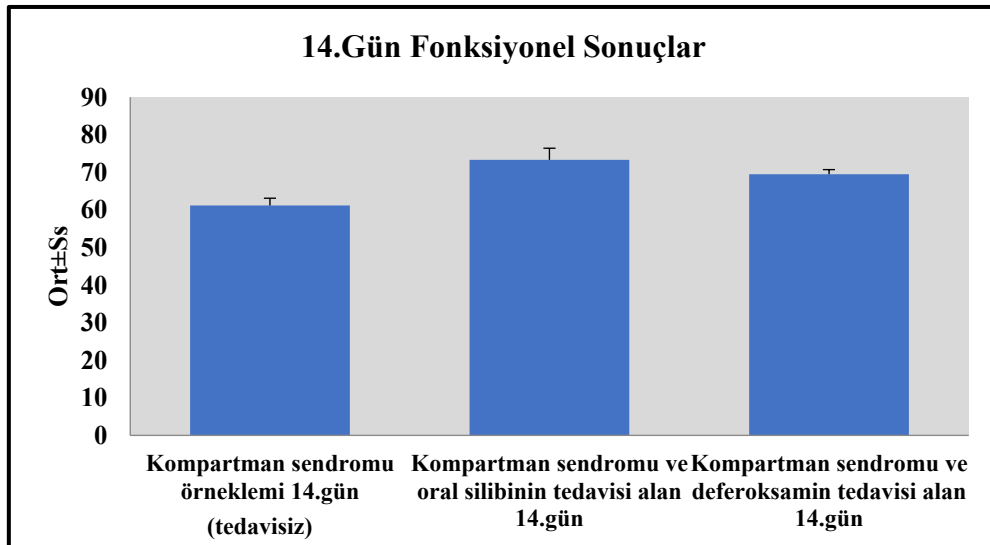
Şekil 26. Gruplara Göre Fonksiyonel Sonuçların Dağılımı

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 4.gün, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 4.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün gruplarına göre fonksiyonel sonuçlar, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p=0,002$; $p<0,01$) (Tablo 7) (Şekil27). Kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 4.gün grubundaki ratların fonksiyonel sonuçları, kompartman sendromu örnekleme 4.gün grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 7) (Şekil 27).



Şekil 27. Gruplara Göre 4.Gün Fonksiyonel Sonuçların Dağılımı

Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün, kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün gruplarına göre fonksiyonel sonuçlar, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 10) (Şekil 28). Kompartman sendromu ve oral silibinin tedavisi alan 14.gün ve kompartman sendromu ve deferoksamin tedavisi alan 14.gün gruplarındaki ratların fonksiyonel sonuçları, Kompartman sendromu örnekleme (tedavisiz) 14.gün grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,001$; $p=0,034$; $p<0,05$) (Tablo 10) (Şekil 28).



Şekil 28. Gruplara Göre 14.Gün Fonksiyonel Sonuçların Dağılımı

5. TARTIŞMA

5.1. Kompartman Sendromunda Tedavi Arayışları

Kompartman sendromu, kas dokusunda geri dönüşü olmayan hasara yol açabilen ve acil müdahale gerektiren bir klinik durumdur. Ancak son yıllarda yapılan sistematik derlemeler kompartman sendromu tedavisinde uygulanan fasyotomi protokollerinin çeşitlilik gösterdiğini, standart bir yaklaşımın henüz benimsenmediğini ortaya koymaktadır. Gerek cerrahi insizyon sayısı ve yeri, gerekse konservatif tedavi seçenekleri konusunda literatürde belirgin bir heterojenlik söz konusudur. Kanıta dayalı çalışma eksikliği nedeniyle, yalnızca mekanik dekompresyona dayalı tedavi stratejilerinin yeterliliği tartışmalı olup, bu durum kompartman sendromuna eşlik eden hücresel ve inflamatuvar hasarın ihmal edilmesine yol açmaktadır. Çalışmamız; yalnızca cerrahi uygulamaya odaklanmak yerine, ferroptozis gibi alternatif hücresel ölüm mekanizmalarını hedefleyebilecek farmakolojik ajanların (silibinin ve deferoksamin) rejeneratif süreçler üzerindeki etkilerini değerlendiren bütüncül bir yaklaşım sunmaktadır (92). Kamacı ve ark. (2025) yayımladıkları çalışmada, 2023 Türkiye-Suriye depreminin ardından ekstremitte kompartman sendromu gelişen hastalarda yapılan fasyotomi işlemleri değerlendirilmiş ve geç dönemde yapılan cerrahilerin enfeksiyon, amputasyon ve fonksiyonel kayıp gibi komplikasyonlarla yakın ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Afet koşullarında, mekanik dekompresyon zamanlaması kadar yara bakımı ve immün yanıtı dair stratejiler de önem kazanmakta, bu da kompartman sendromunun yalnızca cerrahi değil, aynı zamanda hücresel düzeyde hedeflenmesini gerekli kılmaktadır. Bu gereksinim, iskemi-reperfüzyon hasarına sekonder olarak ortaya çıkan inflamasyon, oksidatif stres ve ferroptotik süreçlerin baskılanmasıyla sağlanabilir (93). Son yıllarda yapılan çalışmalar, kompartman sendromunun yalnızca mekanik basınç artışıyla sınırlı bir tablo olmadığını, aynı zamanda inflamatuvar ve hücresel stres mekanizmalarının da patogeneizde önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Odland ve ark. tarafından geliştirilen ultrafiltrasyon temelli yaklaşım, hem kompartman içi basıncın düşürülmesinde hem de erken tanı aracı olarak potansiyel taşımaktadır (20). Lawendy

ve çalışma arkadaşları ise lokal ve sistemik inflamatuvar yanıtların bu süreçte belirleyici olduğunu göstermiştir (21). Moleküler düzeyde ise, ferroptozis adlı demir-bağımlı hücre ölüm mekanizmasının kas hasarının şiddetini belirleyebileceği, özellikle Nrf2/Hmox1 yolunun modülasyonunun terapötik fayda sağlayabileceği bildirilmektedir. Minosiklin uygulanan deneysel modellerde bu yolun aktivasyonu ile ferroptotik süreçlerin baskılandığı ve nekrozun anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir (22). Bu literatür ışığında, çalışmamızda kullanılan deferoksamin ve silibininin de benzer mekanizmaları hedefleyerek kas dokusunu koruduğu düşünülmektedir.

Di Paola ve ark. (2022), inflamasyonla ilişkili patolojik süreçlerde demir metabolizmasının rolüne odaklandıkları çalışmalarında, demir şelatörlerinin yalnızca metal homeostazını düzenlemekle kalmayıp aynı zamanda oksidatif stres, inflamatuvar yanıt ve ferroptozis gibi hücrel mekanizmalar üzerinde de belirgin etkiler gösterdiğini rapor etmişlerdir. Özellikle kas iskemisine eşlik eden hücrel disfonksiyonlarda, demir birikiminin ve lipid peroksidasyonunun kontrol altına alınmasının rejeneratif süreci destekleyebileceği vurgulanmıştır. Bu bulgular, klasik mekanik dekompresyon uygulamalarının ötesinde, farmakolojik düzeyde anti-ferroptotik müdahalelerin kompartman sendromu gibi klinik tabloların tedavisinde tamamlayıcı bir rol üstlenebileceğine işaret etmektedir (94).

Wang ve ark. sıçan modelinde gerçekleştirdikleri çalışmada, GPX4 ve SLC7A11 ekspresyonunun azalmasıyla birlikte artan demir yükü, lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal hasarın, ferroptozisin AKS patogenezinde rol oynadığını göstermiştir. Ferroptoz inhibitörlerinin doku hasarını azalttığı izlenmiştir (49). Benzer şekilde, kompartman sendrom modelinde Slc39a14, Hmox1 ve Nod2 ekspresyonunun arttığı, GPX4'ün ise baskılandığı gösterilmiş; bu durum, ferroptozisin inflamatuvar yanıtı da etkileyen merkezi bir süreç olduğunu desteklemiştir (50).

İhmal edilmiş veya geç tanı konulmuş kompartman sendromlarının, geri dönüşümsüz kas hasarı, kontraktürler ve fonksiyonel kısıtlılık gibi kalıcı sekellerle sonuçlanabileceği literatürde sıklıkla vurgulanmaktadır. Glass ve ark. (2016) tarafından yapılan ve çalışmamızla benzer kompartman sendromu modeli kullanılan çalışmada tanıda yaşanan gecikmelerin sıklıkla kas nekrozu, fibrozis ve motor disfonksiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum, yalnızca fasiyal

dekompresyonun zamanlamasını değil, aynı zamanda doku rejenerasyonunu destekleyecek adjuvan farmakolojik tedavilerin önemini de ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamızda, silibinin ve deferoksamin gibi anti-ferroptotik ajanların uygulanması sonrası histopatolojik olarak inflamasyonun ve nekrotik sürecin gerilediği, fonksiyonel olarak ise motor performansta belirgin artışın sağlandığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, akut fazda gecikmiş tedaviyle bile rejeneratif sürecin farmakolojik olarak modüle edilebileceğine işaret etmektedir (95).

Dyer ve ark. (2022), farelerde oluşturulan kompartman sendromu modeli sonrasında iskemik kasa lokal olarak uygulanan partikül oksijen jeneratörlerinin (POG) terapötik etkilerini değerlendirmiştir. Çalışmada, POG uygulamasının kas kontraktilitesini koruduğu, histolojik doku bütünlüğünü iyileştirdiği ve proinflamatuvar yanıtı (TNF- α , IL-6) baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca oksidatif stresin azaltılması yoluyla doku onarımının desteklendiği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, iskemi-reperfüzyon ilişkili kas hasarında inflamatuvar yanıtın ve oksidatif hasarın modüle edilmesinin, hücresel düzeyde koruyucu etkiler sağlayabileceğini göstermektedir (96).

Literatürde, kompartman sendromu benzeri kas hasarı modelleri kullanılarak yürütülen ve inflamasyonun baskılanmasına odaklanan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Wang ve ark., Sprague-Dawley sıçanlarda akut künt kas travması modeli oluşturarak icariin yüklü liposomların tedavi edici etkilerini değerlendirmiştir. Çalışmada, icariin liposomu uygulamasının TNF- α ve IL-6 düzeylerini anlamlı düzeyde azalttığı, desmin ekspresyonunu artırdığı ve kollajen birikimini baskıladığı gösterilmiştir. Bu bulgular, kas travmasına bağlı gelişen inflamatuvar yanıtı karşı farmakolojik ajanlarla hedefli müdahalenin mümkün olabileceğini göstermektedir (97).

Yosef ve ark. (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, ratlarda kompartman sendromu modeli kullanılarak, oksidatif stresin neden olduğu fibrotik doku yanıtı NAC tedavisi ile baskılanmış, kas fonksiyonu ve rejenerasyonu anlamlı şekilde iyileştirilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer hayvan modeli kullanılmış olup, deneysel iskemi-reperfüzyon sonrası gelişen inflamatuvar ve fibrotik süreçler hedef alınmıştır. Literatürde, kompartman sendromu gibi şiddetli kas hasarı modellerinde antioksidan ve antienflamatuvar etkiler yoluyla doku bütünlüğünü

koruyan ve fonksiyonel iyileşmeyi destekleyen ajanların (örneğin NAC, silibin, icariin gibi) etkileri giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu bağlamda, ferroptotik hücre ölümünü hedefleyen yaklaşımımız, NAC tedavisinin sunduğu antioksidan ve antifibrotik mekanizmalarla benzer biyokimyasal yolları hedef alarak yeni bir tedavi stratejisi sunmaktadır (98).

Yıldırım ve arkadaşlarının (2023) gerçekleştirdiği çalışmada, sıçan modelinde oluşturulan kompartman sendromu aracılığıyla iskemiye bağlı biyokimyasal değişiklikler incelenmiştir. Çalışma, doku perfüzyonunun bozulduğu erken evrede, özellikle total oksidan seviyelerinde (TOS) anlamlı yükselme tespit edilmesiyle dikkat çekmektedir. Bu biyobelirtecin, histopatolojik bulgular henüz gelişmeden önce yükselmesi, oksidatif stresin çok erken fazda devreye girdiğini göstermektedir. Söz konusu hayvan modeli ve erken inflamatuvar yanıtın biyokimyasal düzeyde tespiti, bizim de benzer kompartman sendromu modeli kullandığımız tez çalışmamızla örtüşmektedir. Bu bağlamda, hücresel düzeydeki oksidatif hasarın, ferroptotik hücre ölümü gibi mekanizmalarla ilişkili olabileceği ve bu sürecin antiinflamatuvar tedavilerle modüle edilebileceği düşünülmektedir (99).

Amara ve ark. (2022) tarafından yürütülen bu deneysel çalışma, iskemik kas dokusunda inflamasyon, fibrozis ve rejeneratif süreçlerin modülasyonunda PRP ve kolşisinin etkilerini ortaya koymuştur. Kas dokusunda uygulanan iskemi/reperfüzyon modeli ve bunun üzerine yapılan moleküler analizler, bizim de benzer deneysel modeli kullandığımız çalışmamızla örtüşmektedir. PRP'nin miyogenin ve CD34 düzeylerini artırarak rejenerasyon ve anjiyogenezi desteklemesi, antiinflamatuvar mekanizmaların hücre ölümü üzerindeki etkisini araştıran çalışmamıza dolaylı katkı sağlamaktadır. Özellikle kolşisinin antioksidan ve antifibrotik özelliklerinin, ferroptotik yollar ile ilişkili hücresel stresin azaltılmasına yönelik terapötik yaklaşımlar açısından dikkate değer olduğu düşünülmektedir (100).

Alçı uygulaması, kırık tedavisinde ortopedi pratiğinde sıkça başvurulmuş temel yöntemlerden biridir. Ancak, alçı sonrası gelişebilecek kompartman sendromu, bu uygulamanın en ciddi komplikasyonlarından biri olarak öne çıkmaktadır. (6,7) Çalışmamız, bu bağlamda yalnızca deneysel düzeyde tedavi alternatiflerini değil, aynı

zamanda ortopedi pratiğinde karşılaşılan bu tür komplikasyonlara yönelik farkındalık ve çözüm geliştirme açısından da katkı sağlamayı amaçlamaktadır

Tüm bu veriler, kompartman sendromunun yalnızca basınca bağlı mekanik bir patoloji olmaktan öte, inflamatuvar yanıt, oksidatif stres ve hücrel ölüm mekanizmalarının etkileşimiyle şekillenen karmaşık bir süreç olduğunu ortaya koymaktadır. Son dönem deneysel çalışmalar, bu süreçlerin farmakolojik olarak hedeflenmesinin, doku hasarını azaltmada ve rejeneratif yanıtı desteklemede etkili olabileceğini göstermektedir. Bu doğrultuda gerçekleştirdiğimiz çalışmada, silibinin ve deferoksamin uygulamasıyla yalnızca histopatolojik iyileşme değil, aynı zamanda motor performans düzeyinde de anlamlı kazanımlar elde edilmiştir. Bu bulgular, söz konusu ajanların anti-ferroptotik özellikleri aracılığıyla yapısal ve işlevsel iyileşmeye katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

5.2. Kompartman Sendromunda Deferoksamin ve Silibinin Yeri

Kompartman sendromuna bağlı gelişen iskemik kas hasarı, yalnızca mekanik basınca değil, aynı zamanda reperfüzyon sonrası açığa çıkan reaktif oksijen türleri (ROS), serbest demir birikimi ve lipid peroksidasyonuna bağlı olarak gelişen hücrel düzeydeki yıkıma da bağlıdır. Bu süreçte ferroptozis, demir bağımlı, antioksidan sistemlerin tükenmesiyle tetiklenen özgün bir hücre ölümü mekanizması olarak öne çıkmaktadır. Deferoksamin, ferrik (Fe^{3+}) iyonlarına yüksek afiniteyle bağlanabilen bir demir şelatörüdür ve bu özelliği sayesinde ferroptozisin temel tetikleyici mekanizması olan demir yükünü azaltarak hücrel hasarın önlenmesine katkı sağlayabilir. Di Paola ve ark. (2022), deferoksaminin inflamasyon ve oksidatif stresin baskılanmasında önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir (94). Çalışmamızda deferoksamin uygulanan sıçan gruplarında hem histopatolojik hem de fonksiyonel düzeyde anlamlı iyileşmeler gözlenmiştir. HE ve MTK boyamaları ile değerlendirilen kas kesitlerinde inflamasyon, nekroz ve fibrozis skorlarında belirgin azalma izlenmiş; eğimli tahta testinde ölçülen fonksiyonel performans değerleri ise kontrol gruplarına kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, deferoksaminin yalnızca sistemik demir yükünü azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda iskemiye sekonder gelişen hücrel

dejenerasyonu sınırlayarak rejeneratif süreci desteklediğini östermektedir. Çalışmamız kompartman sendromunda deferoksamin molekülün terapötik kullanımının denenmesi açısından literatürde ilk olma niteliği taşımaktadır.

Vahabi ve ark. (2024), deneysel omurilik yaralanması modelinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında, silibininin ferroptozisi baskılayarak doku hasarını azalttığını ve nörolojik iyileşmeyi anlamlı şekilde desteklediğini göstermiştir. Silibinin uygulamasıyla GPX4 gibi anti-ferroptotik belirteçlerin düzeylerinde artış, lipid peroksidasyonu ve demir birikiminde ise azalma saptanmış; buna paralel olarak inflamatuvar yanıtın hafiflediği ve motor fonksiyonların klinik olarak iyileştiği rapor edilmiştir. Bu bulgular, silibininin yalnızca oksidatif stresi değil, aynı zamanda hücrel ölüm yollarını da hedefleyerek rejeneratif süreci destekleyen çok yönlü bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmamızda elde edilen benzer sonuçlar, silibininin periferik kas dokusunda da benzer bir koruyucu mekanizma ile etki gösterdiğini düşündürmektedir. (91). Çalışmamız kompartman sendromunda silibinin molekülün terapötik kullanımının denenmesi açısından literatürde ilk olma niteliği taşımaktadır.

5.3. Çalışmanın Kısıtlılıkları

Bu deneysel çalışma, kompartman sendromuna yönelik anti-ferroptotik tedavi yaklaşımlarının etkilerini değerlendirme açısından önemli bulgular sunmakla birlikte, bazı metodolojik ve teknik sınırlılıklar içermektedir.

Literatürde, iskemi süresi, kompartman basıncı düzeyi ve uygulanan hasar mekanizması açısından farklılık gösteren çok sayıda kompartman sendromu modeli bulunmaktadır. Bu model çeşitliliği, elde edilen sonuçların genellenebilirliğini sınırlayabilir. Bu nedenle çalışmamızın bulguları, kullanılan modelin özgüllüğü çerçevesinde değerlendirilmelidir.

Çalışmamızda kullanılan modelin zamansal inflamatuvar ve rejeneratif yanıtları önceki literatürde (82) 1., 2., 4., 7., 14. ve 35. günlerde değerlendirilmiş olmasına rağmen, bizim çalışmamızda yalnızca 4. ve 14. günlerde analiz yapılmıştır. Hayvan kullanım sayısını azaltma amacıyla tercih edilen bu sınırlı zaman aralığı, süreçteki akut inflamasyonun başlaması ve geç rejenerasyon gibi bazı ara evrelerin

atlanmasına neden olmuş, böylece inflamatuvar ve rejeneratif sürecin tam zamanlı takibini kısıtlamıştır. Özellikle kas dokusunda yeniden yapılanma süreçlerinin haftalar hatta aylar sürebileceği göz önüne alındığında, ilerleyen dönemlerde yapılacak uzun süreli takiplerle hem histopatolojik hem de fonksiyonel iyileşmenin kalıcılığı ve etkinliğin devamlılığı hakkında daha kapsamlı veriler elde edilmesi gerekmektedir.

Histopatolojik değerlendirmelerde yalnızca Hematoksilen-Eozin (HE) ve Masson Trikrom (MTK) boyamaları kullanılmış olup, bu analizler kas dokusundaki yapısal bozulmaları, nekrozu ve fibrotik değişimleri genel hatlarıyla ortaya koysa da rejeneratif sürecin hücresel düzeydeki dinamiklerini ayrıntılı olarak değerlendirmede yetersiz kalmıştır. Rejenerasyon sürecine eşlik eden oksidatif stres, inflamasyon ve hücre ölümü gibi biyolojik mekanizmaların daha derinlemesine değerlendirilebilmesi için biyokimyasal belirteç düzeylerinin ve gen ekspresyon profillerinin incelenmesi önemli bir gereklilik oluşturmaktadır. Ancak bu analizler, çalışma süresi ve teknik sınırlılıklar nedeniyle gerçekleştirilememiştir.

Kas rejenerasyonunda önemli biyolojik göstergeler olan Pax7 ve Myogenin immünohistokimyasal analizleri, proje planında yer almasına ve etik kurul ile bütçe onayı alınmış olmasına rağmen, antikor temininde yaşanan lojistik gecikmeler nedeniyle tez süresi içerisinde gerçekleştirilememiştir. Ancak bu analizlerin yayın süreci içerisinde tamamlanması planlanmakta olup, elde edilecek verilerin çalışmanın bilimsel derinliğini artıracak ve literatüre hücresel düzeyde katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

Fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesinde yalnızca eğimli tahta testi kullanılmış olup, bu test motor performans hakkında genel bir fikir verse de, daha kapsamlı bir nöromotor analiz için tek başına yeterli değildir. Kas gücü, koordinasyon, denge ve yürüme paternlerini değerlendiren ilave fonksiyonel testlerle desteklenmemiş olması, fonksiyonel sonuçların yorumlanabilirliğini sınırlamaktadır. Ayrıca, çalışmada uygulanan silibinin (200 mg/kg) ve deferoksamin (100 mg/kg) dozları önceki literatürden referansla seçilmiş olsa da, bu dozların optimal tedavi düzeylerini temsil edip etmediği net olarak ortaya konmamıştır. Doz-cevap ilişkisini inceleyen karşılaştırmalı bir analiz yapılmaması, elde edilen etkinlik bulgularının farmakodinamik çerçevede daha ayrıntılı yorumlanmasını güçleştirmektedir. Bu

sınırlılıklar göz önüne alındığında, gelecekte daha geniş örneklemliler, uzun dönemli, çok zaman noktalı ve moleküler düzeyde desteklenmiş çalışmalar ile mevcut bulguların doğrulanması ve tedavi stratejilerinin daha net bir şekilde optimize edilmesi gerekmektedir.



6. SONUÇLAR

- Bu deneysel modelde, kompartman sendromu sonrası uygulanan silibinin ve deferoksamin tedavileri, kas dokusunda meydana gelen hasarı anlamlı şekilde azaltmıştır.
- Histopatolojik değerlendirmelerde, 14. gün tedavi gruplarında inflamasyon, fibrozis ve nekroz skoru belirgin şekilde düşük bulunmuştur (HE ve MTK skorları).
- Fonksiyonel değerlendirmede, her iki ajanla tedavi edilen gruplarda eğimli tahta testinde anlamlı performans artışı gözlenmiştir.
- Silibinin ve deferoksaminin etkileri, yalnızca semptomatik iyileşmeye değil, aynı zamanda rejeneratif sürecin desteklenmesine katkı sağlamıştır.
- Elde edilen veriler, ferroptosis gibi demir bağımlı hücre ölüm yollarının kas hasarında rol oynadığını ve bu sürecin farmakolojik olarak hedeflenebileceğini desteklemektedir.
- Çalışma, silibinin ve deferoksaminin anti-inflamatuvar, anti-fibrotik ve potansiyel rejeneratif etkilerini göstermesi bakımından literatüre katkı sunmaktadır.
- Bu bulgular, klasik dekompresyon tedavilerine farmakolojik destek stratejileri eklenmesinin potansiyel faydalarını ortaya koymakta ve translasyonel araştırmalar için zemin hazırlamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Schmidt, A. H. (2016). Acute compartment syndrome. *Orthopedic Clinics of North America*, 47, 517–525.
2. DePasse, J. M., Sargent, R., Fantry, A. J., Bokshan, S. L., Palumbo, M. A., & Daniels, A. H. (2017). Assessment of malpractice claims associated with acute compartment syndrome. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 25(6), e109–e113.
3. Blu, Q., Ling, H., Lao, Y., Liu, J., Su, W., & Huang, Z. (2025). Immune-mediated mechanisms in acute osteofascial compartment syndrome: Insights from multi-omics analysis. *European Journal of Medical Research*, 30(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s40001-025-02285-0>
4. Donaldson, J., Haddad, B., & Khan, W. (2014). Pathophysiology, diagnosis and current management of acute compartment syndrome. *Open Orthopaedics Journal*, 8.
5. McQueen, M. M. (2014). Acute compartment syndrome. In P. Tornetta III, C. Court-Brown, J. D. Heckman, M. McKee, M. M. McQueen, & W. Ricci (Eds.), *Rockwood & Green's Fractures in Adults* (8th ed., pp. 895–914). Lippincott, Williams and Wilkins.
6. Hope, M. J., & McQueen, M. M. (2004). Acute compartment syndrome in the absence of fracture. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 18, 220–224.
7. McQueen, M. M., Gaston, P., & Court-Brown, C. M. (2000). Acute compartment syndrome. Who is at risk? *Journal of Bone and Joint Surgery - British Volume*, 82, 200–203.
8. Walls, M. H. (2017). Compartment syndrome: An orthopedic emergency. *Journal of Emergency Nursing*, 43(4), 303–307. <https://doi.org/10.1016/j.jen.2016.11.004>
9. Rasul, A. T. (2016). Acute compartment syndrome. Retrieved from <http://emedicine.medscape.com/article/307668-overview>
10. von Keudell, A. G., Weaver, M. J., Appleton, P. T., Bae, D. S., Dyer, G. S. M., Heng, M., Jupiter, J. B., & Vrahas, M. S. (2015). Diagnosis and treatment of acute extremity compartment syndrome. *The Lancet*, 386(10000), 1299–1310.

11. Taylor, R. M., Sullivan, M. P., & Mehta, S. (2012). Acute compartment syndrome: Obtaining diagnosis, providing treatment and minimizing medicolegal risk. *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine*, 5(3), 206–213.
12. Percival, T. J., White, J. M., & Ricci, M. A. (2011). Compartment in the setting of vascular injury. *Perspectives in Vascular Surgery and Endovascular Therapy*, 23(2), 119–124.
13. Halanski, M. A., Morris, M. R., Lee Harper, B., & Doro, C. (2015). Intracompartmental pressure monitoring using a handheld pressure monitoring system. *JBJS Essential Surgical Techniques*, 5(1), e6. <https://doi.org/10.2106/JBJS.ST.N.00020>
14. Prasarn, M. L., Ouellette, E. A., Livingstone, A., & Giuffrida, A. Y. (2009). Acute pediatric upper extremity compartment syndrome in the absence of fracture. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, 29, 263–268.
15. Rorabeck, C. H. (1984). The treatment of compartment syndromes of the leg. *Journal of Bone and Joint Surgery - British Volume*, 66B, 93–97.
16. Hope, M. J., & McQueen, M. M. (2004). Acute compartment syndrome in the absence of fracture. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 18, 220–224.
17. Barkay, G., Zabatani, A., Menachem, S., Yaffe, B., & Arami, A. (2021). Acute compartment syndrome of the upper extremity: Clinical outcomes following surgical treatment. A retrospective cohort study. *Israel Medical Association Journal*, 23(8), 516–520.
18. Kashuk, J. L., Moore, E. E., Pinski, S., Johnson, J. L., Moore, J. B., Morgan, S., et al. (2009). Lower extremity compartment syndrome in the acute care surgery paradigm: Safety lessons learned. *Patient Safety in Surgery*, 3, 11–16.
19. Crespo, A. M., Manoli III, A., Konda, S. R., & Egol, K. A. (2015). Development of compartment syndrome negatively impacts length of stay and cost after tibia fracture. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 29, 312–315.
20. Odland, R. M., & Schmidt, A. H. (2011). Compartment syndrome ultrafiltration catheters: Report of a clinical pilot study of a novel method for managing patients at risk of compartment syndrome. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 25, 358–365.
21. Lawendy, A.-R., Bihari, A., Sanders, D. W., McGarr, G., Badhwar, A., & Cepinskas, G. (2015). Contribution of inflammation to cellular injury in

- compartment syndrome in an experimental rodent model. *Bone & Joint Journal*, 97-B, 539–543.
22. Liao, X., Huang, Z., Ling, H., Li, W., Liu, J., Lao, Y., & Su, W. (2024). Mechanism of minocycline activating Nrf2/Hmox1 pathway to prevent ferroptosis and alleviate acute compartment syndrome. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 19(1), 686. <https://doi.org/10.1186/s13018-024-05183-z>
 23. Conrad, M., Angeli, J. P. F., Vandenabeele, P., & Stockwell, B. R. (2016). Regulated necrosis: Disease relevance and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(5), 348–366.
 24. Carvalhal Marques, F., Volovik, Y., & Cohen, E. (2015). The roles of cellular and organismal aging in the development of late-onset maladies. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 10, 1–23.
 25. Krag, A. E., Hvas, C. L., Kiil, B. J., Eschen, G. T., Damsgaard, T. E., & Hvas, A. M. (2018). Local and systemic coagulation marker response to musculocutaneous flap ischemia-reperfusion injury and remote ischemic conditioning: An experimental study in a porcine model. *Microsurgery*, 38(6), 690–697.
 26. Oakes, S. A., & Papa, F. R. (2015). The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 10, 173–194.
 27. Morrill, S., & He, D. Z. Z. (2017). Apoptosis in inner ear sensory hair cells. *Journal of Otology*, 12(4), 151–164.
 28. Hugle, M., & Fulda, S. (2015). Dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235 synergizes with chloroquine to induce apoptosis in embryonal rhabdomyosarcoma. *Cancer Letters*, 360(1), 1–9.
 29. Mishra, S., & Vinayak, M. (2015). Role of ellagic acid in regulation of apoptosis by modulating novel and atypical PKC in lymphoma bearing mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 281.
 30. Vannella, K. M., & Wynn, T. A. (2017). Mechanisms of organ injury and repair by macrophages. *Annual Review of Physiology*, 79, 593–617.
 31. Wang, X., Guo, Z., Ding, Z., & Mehta, J. L. (2018). Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction. *Journal of the American Heart Association*, 7(9). <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008024>

32. Zhou, T., Prather, E. R., Garrison, D. E., & Zuo, L. (2018). Interplay between ROS and antioxidants during ischemia-reperfusion injuries in cardiac and skeletal muscle. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 417. <https://doi.org/10.3390/ijms19020417>
33. Xie, Y., Hou, W., Song, X., Yu, Y., Huang, J., Sun, X., et al. (2016). Ferroptosis: Process and function. *Cell Death & Differentiation*, 23, 369–379. <https://www.nature.com/articles/cdd2015119>
34. Miao, Y. D., Quan, W., Dong, X., Gan, J., Ji, C. F., Wang, J. T., et al. (2023). A bibliometric analysis of ferroptosis, necroptosis, pyroptosis, and cuproptosis in cancer from 2012 to 2022. *Cell Death Discovery*, 9, 1–20.
35. Tang, L., Liu, S., Li, S., Chen, Y., Xie, B., & Zhou, J. (2023). Induction mechanism of ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis: A novel therapeutic target in nervous system diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 10127. <https://doi.org/10.3390/ijms241210127>
36. Li, J., Cao, F., Yin, H. L., Huang, Z. J., Lin, Z. T., Mao, N., et al. (2020). Ferroptosis: Past, present and future. *Cell Death & Disease*, 11, 88. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2298-2>
37. Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., et al. (2012). Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149(5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
38. Tang, D., Chen, X., Kang, R., & Kroemer, G. (2021). Ferroptosis: Molecular mechanisms and health implications. *Cell Research*, 31(2), 107–125. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00441-1>
39. Chen, Y., Liu, S., Li, J., Li, Z., Quan, J., Liu, X., et al. (2020). The latest view on the mechanism of ferroptosis and its research progress in spinal cord injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 8811461. <https://doi.org/10.1155/2020/8811461>
40. Pandrangi, S. L., Chittineedi, P., Chalumuri, S. S., Meena, A. S., Neira Mosquera, J. A., Sánchez Llaguno, S. N., et al. (2022). Role of intracellular iron in switching apoptosis to ferroptosis to target therapy-resistant cancer stem cells. *Molecules*, 27(9), 2895. <https://doi.org/10.3390/molecules27092895>

41. Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., et al. (2018). Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*, 25, 486–541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
42. Katikaneni, A., Tidball, A. M., Shah, H., Song, Y., Holsopple, M., & Holguin, M. H. (2020). Lipid peroxidation regulates long-range wound detection through 5-lipoxygenase in zebrafish. *Nature Cell Biology*, 22, 1049–1055. <https://doi.org/10.1038/s41556-020-0551-7>
43. Li, C., Zhang, Y., Liu, J., Kang, R., & Tang, D. (2020). Mitochondrial DNA stress triggers autophagy-dependent ferroptotic death. *Autophagy*, 16(3), 584–599. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1739447>
44. Wenzel, S. E., Tyurina, Y. Y., Zhao, J., St Croix, C. M., Dar, H. H., Mao, G., et al. (2017). PEBP1 wardens ferroptosis by enabling lipoxygenase generation of lipid death signals. *Cell*, 171(3), 628–641.e26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.044>
45. Doll, S., Proneth, B., Tyurina, Y. Y., Panzilius, E., Kobayashi, S., Ingold, I., et al. (2017). ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nature Chemical Biology*, 13, 91–98. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2239>
46. Vanden Berghe, T., Linkermann, A., Jouan-Lanhouet, S., Walczak, H., & Vandenabeele, P. (2014). Regulated necrosis: The expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(2), 135–147. <https://doi.org/10.1038/nrm3737>
47. Magtanong, L., & Dixon, S. J. (2019). Ferroptosis and brain injury. In S. S. Wray & J. K. Hall (Eds.), *Developmental Neuroscience* (pp. 382–395). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000502379>
48. Doll, S., Freitas, F. P., Shah, R., Aldrovandi, M., da Silva, M. C., Ingold, I., et al. (2019). FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*, 575, 693–698. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1707-0>
49. Liao, X., Huang, Z., Ling, H., Li, W., Liu, J., Lao, Y., & Su, W. (2024). Mechanism of minocycline activating Nrf2/Hmox1 pathway to prevent

- ferroptosis and alleviate acute compartment syndrome. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 19(1), 686. <https://doi.org/10.1186/s13018-024-05183-z>
50. Blu, Q., Ling, H., Lao, Y., Liu, J., Su, W., & Huang, Z. (2025). Immune-mediated mechanisms in acute osteofascial compartment syndrome: Insights from multi-omics analysis. *European Journal of Medical Research*, 30(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s40001-025-02285-0>
 51. Barona-Gómez, F., Wong, U., Giannakopoulos, A. E., Derrick, P. J., & Challis, G. L. (2004). Identification of a cluster of genes that directs desferrioxamine biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* M145. *Journal of the American Chemical Society*, 126(50), 16282–16283. <https://doi.org/10.1021/ja044349g>
 52. Origa, R., Galanello, R., Ganz, T., Giagu, N., Maccioni, L., Faa, G., et al. (2007). Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica*, 92(5), 583–588.
 53. Imoto, S., Kono, M., Suzuki, T., Shibuya, Y., Sawamura, T., & Mizokoshi, Y., et al. (2018). Haemin-induced cell death in human monocytic cells is consistent with ferroptosis. *Transfusion and Apheresis Science*, 57(4), 524–531.
 54. Do Van, B., Gouel, F., Jonneaux, A., Timmerman, K., Gelé, P., Pétrault, M., et al. (2016). Ferroptosis, a newly characterized form of cell death in Parkinson's disease that is regulated by PKC. *Neurobiology of Disease*, 94, 169–178.
 55. Velasquez, J., & Wray, A. A. (2023). Deferoxamine. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551707/>
 56. Costa, I., Barbosa, D. J., Benfeito, S., Silva, V., Chavarria, D., Borges, F., Remião, F., & Silva, R. (2023). Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, 244, 108373. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108373>
 57. Pradhan, S. C., & Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian Journal of Medical Research*, 124, 491–504.
 58. Barceloux, D. G. (2008). *Medical toxicology of natural substances*. Wiley.
 59. Hackett, E. S., Twedt, D. C., & Gustafson, D. L. (2013). Milk thistle and its derivative compounds: A review of opportunities for treatment of liver disease.

- Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(1), 10–16.
<https://doi.org/10.1111/jvim.12027>
60. Neha, A. S. J., & Singh, N. (2016). Silymarin and its role in chronic diseases. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 929, pp. 25–44).
https://doi.org/10.1007/978-3-319-41334-1_2
 61. Wadhwa, K., Pahwa, R., Kumar, M., Kumar, S., Sharma, P. C., Singh, G., et al. (2022). Mechanistic insights into the pharmacological significance of silymarin. *Molecules*, 27, 5327. <https://doi.org/10.3390/molecules27175327>
 62. Reddy, K. R. (2007). Silymarin for the treatment of chronic liver disease. *Gastroenterology & Hepatology*, 3(12), 825–826.
 63. Home-Nano. (2022). *Nano Silymarin OIC NEW*. <https://nanosilymarin.vn/en/>
 64. Duan, S., Guan, X., Lin, R., Liu, X., Yan, Y., Lin, R., et al. (2015). Silibinin inhibits acetylcholinesterase activity and amyloid β peptide aggregation: A dual-target drug for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 36(5), 1792–1807.
 65. Song, X. Y., Liu, P. C., Liu, W. W., Zhou, J., Hayashi, T., Mizuno, K., et al. (2022). Silibinin inhibits ethanol- or acetaldehyde-induced ferroptosis in liver cell lines. *Toxicology In Vitro*, 82, 105379. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2022.105379>
 66. Yan, W., Wang, D., Wan, N., Wang, S., Shao, C., Zhang, H., et al. (2022). Living cell-target responsive accessibility profiling reveals silibinin targeting ACSL4 for combating ferroptosis. *Analytical Chemistry*, 94(43), 14820–14826.
 67. Hofmann, J., Spatz, P., Walther, R., Gutmann, M., Maurice, T., & Decker, M. (2022). Synthesis and biological evaluation of flavonoid-cinnamic acid amide hybrids with distinct activity against neurodegeneration in vitro and in vivo. *Chemistry – A European Journal*, 28(39).
<https://doi.org/10.1002/chem.202201994>
 68. Du, Q., Wu, X., Ma, K., Liu, W., Liu, P., Hayashi, T., et al. (2023). Silibinin alleviates ferroptosis of rat islet β cell INS-1 induced by the treatment with palmitic acid and high glucose through enhancing PINK1/parkin-mediated mitophagy. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 743, 109644.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2023.109644>

69. Elfaky, M. A., Sirwi, A., Ismail, S. H., Awad, H. H., & Gad, S. S. (2022). Hepatoprotective effect of silver nanoparticles at two different particle sizes: Comparative study with and without silymarin. *Current Issues in Molecular Biology*, 44, 2923–2938.
70. Abdullah, A. S., El Sayed, I. E. T., El-Torgoman, A. M. A., Kalam, A., Wageh, S., Kamel, M. A., et al. (2022). Green synthesis of silymarin–chitosan nanoparticles as a new nano formulation with enhanced anti-fibrotic effects against liver fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 5420.
71. Patel, P., Raval, M., Manvar, A., Airao, V., Bhatt, V., & Shah, P. (2022). Lung cancer targeting efficiency of silibinin loaded poly caprolactone/Pluronic F68 inhalable nanoparticles: In vitro and in vivo study. *PLoS ONE*, 17, e0267257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267257>
72. Iqbal, J., Andleeb, A., Ashraf, H., Meer, B., Mehmood, A., Jan, H., et al. (2022). Potential antimicrobial, antidiabetic, catalytic, antioxidant and ROS/RNS inhibitory activities of *Silybum marianum* mediated biosynthesized copper oxide nanoparticles. *RSC Advances*, 12, 14069–14083. <https://doi.org/10.1039/D2RA01087F>
73. Staroverov, S. A., Kozlov, S. V., Fomin, A. S., Gabalov, K. P., Khanadeev, V. A., Soldatov, D. A., et al. (2021). Synthesis of silymarin–selenium nanoparticle conjugate and examination of its biological activity in vitro. *ADMET & DMPK*, 9, 255–266. <https://doi.org/10.5599/admet.1003>
74. Tomsuk, Ö., & Kaçar, S. (2025). Mechanistic insights into silymarin-induced apoptosis and growth inhibition in SPC212 human mesothelioma cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 83(2), 2405–2414. <https://doi.org/10.1007/s12013-024-01650-w>
75. Lima, R. L. S., Menegatto, M. B. D. S., Almeida, L. T., Magalhães, J. C., Ferraz, A. C., & Magalhães, C. L. B. (2025). Silymarin exerts antioxidant and antiviral effects on Zika virus infection. *Journal of Virological Methods*, 335, 115133. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2025.115133>
76. Almutary, A. G., Begum, M. Y., Siddiqua, A., Gupta, S., Chauhan, P., Wadhwa, K., et al. (2025). Unlocking the neuroprotective potential of silymarin: A promising ally in safeguarding the brain from Alzheimer’s disease and other

- neurological disorders. *Molecular Neurobiology*, 62(6), 7975–7997. <https://doi.org/10.1007/s12035-024-04654-y>
77. Miao, R., Zhang, B., Zhou, D., Kang, M., Tian, J., Zhao, L., & Tong, X. (2025). Clinical efficacy of curcumin, resveratrol, silymarin, and berberine on cardio-metabolic risk factors among patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and Bayesian network meta-analysis. *Phytotherapy Research*. <https://doi.org/10.1002/ptr.8431>
 78. Charan, J., & Kantharia, N. D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303–306. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>
 79. Kadam, P., & Bhalerao, S. (2010). Sample size calculation. *International Journal of Ayurveda Research*, 1(1), 55–57. <https://doi.org/10.4103/0974-7788.59946>
 80. Corona, B. T., Rouviere, C., Hamilton, S. L., & Ingalls, C. P. (2008). FKBP12 deficiency reduces strength deficits after eccentric contraction-induced muscle injury. *Journal of Applied Physiology*, 105(2), 527–537. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90491.2008>
 81. Chargé, S. B., & Rudnicki, M. A. (2004). Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiological Reviews*, 84(1), 209–238. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2003>
 82. Criswell, T. L., Corona, B. T., Ward, C. L., Miller, M., Patel, M., Wang, Z., Christ, G. J., & Soker, S. (2012). Compression-induced muscle injury in rats that mimics compartment syndrome in humans. *American Journal of Pathology*, 180(2), 787–797. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.10.012>
 83. Tang, G., Chen, Y., Chen, J., Chen, Z., & Jiang, W. (2020). Deferoxamine ameliorates compressed spinal cord injury by promoting neovascularization in rats. *Journal of Molecular Neuroscience*, 70(9), 1437–1444. <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01562-4>
 84. Zhang, T., Kawaguchi, N., Yoshihara, K., Hayama, E., Furutani, Y., Kawaguchi, K., Tanaka, T., & Nakanishi, T. (2019). Silibinin efficacy in a rat model of pulmonary arterial hypertension using monocrotaline and chronic hypoxia. *Respiratory Research*, 20, 79. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1041-y>

85. Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: Routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3189662/>
86. Liu, Z., Cai, H., Wang, T., Aleem, H. B., Liu, R., & Chen, H. (2025). Gallic acid protects against spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats via activation of Nrf2/HO-1 signaling. *Regenerative Therapy*, 29, 419–426. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2025.03.021>
87. Shadfar, S., Ardestani, M. S., Salehi, M., & Nematollahi, M. A. (2020). A reproducible non-invasive rat model of acute compartment syndrome. *Journal of Surgical Research*, 253, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.03.043>
88. Chen, C., Liu, Y., Liu, R., Ikenaka, K., & Xie, J. (2012). An experimental rat model of skeletal muscle injury for the evaluation of tissue regeneration. *Medical Molecular Morphology*, 45(4), 213–219. <https://doi.org/10.1007/s00795-012-0008-5>
89. Alcaraz-Contreras, Y., Mendoza-Lozano, R. P., Martínez-Alcaraz, E. R., Martínez-Alfaro, M., Gallegos-Corona, M. A., Ramírez-Morales, M. A., & Vázquez-Guevara, M. A. (2016). Silymarin and dimercaptosuccinic acid ameliorate lead-induced nephrotoxicity and genotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 35(4), 398–403. <https://doi.org/10.1177/0960327115591373>
90. European Medicines Agency. (2018). *European Union herbal monograph on Silybum marianum (L.) Gaertn., fructus*. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). EMA/HMPC/294187/2013.
91. Vahabi, A., Öztürk, A. M., Kılıçlı, B., Birim, D., Kaftan Öcal, G., Dağcı, T., & Armağan, G. (2024). Silibinin promotes healing in spinal cord injury through anti-ferroptotic mechanisms. *JOR Spine*, 7(3), e1344. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1344>
92. Tapia-Nañez, M., de Leon-Gutierrez, H., Alvarez-Villalobos, N. A., Gutierrez-de-la-O, J., Vilchez-Cavazos, J. F., Teran-Garza, R., Espinosa-Urbe, A. G., Guzman-Lopez, S., Quiroga-Garza, A., & Elizondo-Omaña, R. E. (2025). Foot

- compartment syndrome treatment: A systematic review. *International Orthopaedics*. <https://doi.org/10.1007/s00264-025-06566-5>
93. Kamaci, S., Yilmaz, E. T., Tuncay, O., Kolac, U. C., Huri, G., Caglar, O., & Tokgozoglu, A. M. (2025). Infection rates and complications following fasciotomy in mass casualty events: Lessons learned from the 2023 Turkey–Syria earthquake. *Injury*, 56(6), 112338. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2025.112338>
 94. Di Paola, A., Tortora, C., Argenziano, M., Marrapodi, M. M., & Rossi, F. (2022). Emerging roles of the iron chelators in inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7977. <https://doi.org/10.3390/ijms23147977>
 95. Glass, G. E., Staruch, R. M., Simmons, J., Lawton, G., Nanchahal, J., Jain, A., & Hettiaratchy, S. P. (2016). Managing missed lower extremity compartment syndrome in the physiologically stable patient: A systematic review and lessons from a Level I trauma center. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 81(2), 380–387. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001107>
 96. Dyer, S. E., Remer, J. D., Hannifin, K. E., Hombal, A., Wenke, J. C., Walters, T. J., & Christ, G. J. (2022). Administration of particulate oxygen generators improves skeletal muscle contractile function after ischemia-reperfusion injury in the rat hindlimb. *Journal of Applied Physiology*, 132(2), 541–552. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00259.2021>
 97. Wang, J., Zhu, G., Wang, X., Cai, J., Xie, L., Zheng, W., Feng, Y., Guo, Q., Chen, H., & Cai, L. (2020). An injectable liposome for sustained release of icariin to the treatment of acute blunt muscle injury. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(9), 1152–1164. <https://doi.org/10.1111/jphp.13314>
 98. Yosef, B., Zhou, Y., Mouschouris, K., Poteracki, J., & Soker, S., Criswell, T. (2020). N-acetyl-L-cysteine reduces fibrosis and improves muscle function after acute compartment syndrome injury. *Military Medicine*, 185(Suppl 1), 25–34. <https://doi.org/10.1093/milmed/usz232>
 99. Yıldırım, A., Önal, İ. Ö., Çelik, Z. E., Vatansev, H., & Hataysal, E. P. (2023). Early assessment of extremity compartment syndrome by biochemical markers in a rat model. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 53(1), Article 2. <https://doi.org/10.55730/1300-0144.5552>

100. Amara, A. B. M., Mahdy, A. A. E.-K., El-Bermawy, M. I., & Sattar, A. M. A. (2022). The potential role of platelet-rich plasma and colchicine in experimentally induced muscle ischemia/reperfusion injury of adult male albino rats: A histological and immunohistochemical study. *Tanta Medical Journal*, 50(2), 73–85. https://doi.org/10.4103/tmj.tmj_123_21

