

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RATLARDA ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARI SONRASI OZON KULLANIMININ BÖBREK VE
AKCİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Ayşegül DEMİRTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. İrfan GÜNGÖR**

**ANKARA
KASIM-2022**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**RATLARDA ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARI SONRASI OZON KULLANIMININ BÖBREK VE
AKCİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Ayşegül DEMİRTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. İrfan GÜNGÖR**

**ANKARA
KASIM-2022**

KABUL ve ONAY

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık
Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi: .../.../2022

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ÜYE

ÜYE

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği'nde uzmanlık eğitimimde mesleki becerileri ve tecrübelerinden yararlandığım, kıymetli hocalarıma, uzman abi ve ablalarım,

İhtisasım süresince eğitimime büyük katkıları olan ve aynı zamanda tez danışmanım olan sayın Doç. Dr. İrfan Güngör'e,

İhtisasım boyunca aynı kaderi paylaştığımız tüm asistan arkadaşlarım ve eski kıdemli asistan abla-ağabeylerime,

Her zaman beni destekleyip yanımda olan, bir doktor ve ayakları yere basan bir birey olabilmemi sağlayan her ne olursa olsun arkamda duran kız kardeşime, abime, anneme ve babama,

Tanıştığımız günden itibaren her an yanımda olan, hayatımı güzelleştiren, her zaman en büyük destekçim olarak, anesteziist olabilmemde büyük paya sahip olan, fedakârlığını asla esirgemeyen sevgili eşim Oğuz Kağan Demirtaş'a

Saygı, sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunarım

Dr. Ayşegül Demirtaş

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İskemi ve tarihçesi.....	2
2.2. İskemi reperfüzyon hasarı	8
2.3. Serbest oksijen radikalleri	14
2.4. İskemi reperfüzyon hasarının böbrek ve akciğer dokusuna etkileri	17
2.5 Ozon tedavisi	19
3.GEREÇ ve YÖNTEMLER	24
3.1. Denek seçimi	24
3.2 Kullanılan yöntem	24
3.2.1. Aortik oklüzyon ve iskemi reperfüzyon modeli.....	25
3.3 Deney grupları	26
3.4. Histopatolojik inceleme.....	36

3.5. Biyokimyasal inceleme	37
3.6. İstatistiksel analiz	37
4.BULGULAR	38
5.TARTIŞMA.....	51
6.SONUÇ	59
7. KAYNAKÇA	60
8.ÖZET	67
9.SUMMARY	69
10.ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

ADP	: Adenozin Difosfat
AIDS	: Kazanılmış bağışıklık yetersizliği
ATP	: Adenozin Trifosfat
BSD	: Bowman Space Dilatasyon
BUN	: Blood Urea Nitrogen (Kan üre azotu)
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Fe	: Demir
GFR	: Glomerüler filtrasyon oranı
GSH	: Glutatyon
GV	: Glomerüler Vakualizasyon
GÜDAM	: Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
H₂O₂	: Hidrojen Peroksid
HOO•	: Hidroperoksil
HE	: Hemotoksilen eozin
HIF-1	: Hipoksi ile indüklenen transkripsiyon faktörü
ICAM1	: Hücre içi adhezyon molekülü 1
IL-1	: İnterlökin-1
İAA	: İnfrarenal abdominal aorta
İR	: İskemi Reperfüzyon
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
Lİ	: Lenfosit İnfiltrasyonu
MAPK	: Mitojen aktive protein kinaz
MCP1	: Monocyte chemoattractant protein1
MPT	: Mitokondrial permeabilite geçiş
NO	: Nitröz Oksit
NRF2	: Nuclear factor (eritroid derived-2)

ONOO•	: Peroksinitrit
O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit
O₃	: Ozon
PPM	: Milyonda bir
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Serbest oksijen radikalleri
SOD	: Süperoksid Dismutaz
TBARS	: Tiyoarbitürik asit reaktif maddeleri
TD	: Tübüler dilatasyon
THD	: Tübüler hücre dökülmesi
THDN	: Tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz
THS	: Tübüler hyalin silindirler
TİA	: Geçici iskemik atak
TNF-alfa	: Tümör nekroz faktör alfa
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VVH	: Vasküler vakualizasyon ve hipertrofi
XO	: Ksantin oksidaz
•OH	: Hidroksil

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Böbrek dokusu histopatolojik bulgular [Ortalama $\pm$ SH]	39
Tablo 2: Rat akciğer dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]	44
Tablo 3. Akciğer dokusu oksidan durum parametre [Ortalama $\pm$ SH].....	49
Tablo 4. Böbrek dokusu oksidan durum parametre [Ortalama $\pm$ SH].....	50



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İskemi ve reperfüzyon durumlarında hücre içi kalsiyum artışının gösterilmesi (27)	10
Şekil 2. Ozonun etki mekanizmaları (59).....	21



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül) (H&EX40)	40
Resim 2. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, m: makula densa, ^: Bowman aralığı, ↓: dilate tübüller) (H&EX100)	40
Resim 3. Ozon grubu böbrek dokusu (RC: renal korteks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, inf: inflamasyon) (H&EX40)	41
Resim 4. Ozon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, inf: inflamasyon, ^: Bowman aralığı, conj: kanjesyon) (H&EX100).....	41
Resim 5. İR grubu böbrek dokusu (RC: renal korteks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, inf: inflamasyon) (H&EX40)	42
Resim 6. İR grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, ^: Bowman aralığı) (H&EX100)	42
Resim 7. Ozon+ İR grubu böbrek dokusu (RC: renal korteks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, inf: inflamasyon) (H&EX40)	43
Resim 8. Ozon+İR grubu böbrek dokusu (RC: renal kortks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, ^: Bowman aralığı) (H&EX100)	43
Resim 9. Kontrol grubu normal akciğer dokusu (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, ias: interalveoler septum, ↓↓ (septum) kalınlaşması, pa: pulmoner arter dalları, e: eritrosit) (H&EX40)	45

Resim 10. Kontrol grubu normal akciğer dokusu (a: alveoller, tb:terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, ias: interalveoler septum, ↓↓ (septum) kalınlaşması, da: ductus alveolaris, rb: respiratuar bronşiol) (H&EX100).....	45
Resim 11. Ozon grubu akciğer dokusu (a: alveoller, tb:terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, rb: respiratuar bronşiol, da: ductus alveolaris, pa: pulmoner arter dalları, ↓: pulmoner damar, v: amfizematöz alveoler vakuol) (H&EX40)	46
Resim 12. Ozon grubu akciğer dokusu (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, rb: respiratuar bronşiol, pa: pulmoner arter dalları, ↓: pulmoner damar) (H&EX100)	46
Resim 13. İR grubu orta-ciddi nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, da: ductus alveolaris, ↓↓: (septum) kalınlaşması, ias: interalveoler septum, pa: pulmoner arter dalları, sa: saccus alveolaris, tb: terminal bronşiol) (H&EX40)	47
Resim 14. İR grubu orta-ciddi nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, da: ductus alveolaris, ↓↓: (septum) kalınlaşması, ias: interalveoler septum, pa: pulmoner arter dalları, sa: saccus alveolaris, tb: terminal bronşiol, conj: kapiller konjesyon, inf: İnflamasyon) (H&EX100).....	47
Resim 15. Ozon+ İR grubu hafif nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, da: ductus alveolaris, sa: saccus alveolaris) (H&EX40).....	48
Resim 16. Ozon+ İR grubu hafif nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, da: ductus alveolaris, sa: saccus alveolaris, pa: pulmoner arter dalları, ↓: pulmoner damar) (H&EX100).....	48

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi bir dokunun kanlanması azalmaya bağlı dokuda geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz olarak doku hasarının meydana geldiği klinik durumdur. Paradoksal olarak iskemi sonrası meydana gelen tekrar kanlanmaya bağlı, iskeminin olumsuz etkilerinin azalması bir yana, daha da ağırlaşmış klinik durum iskemi reperfüzyon hasarı olarak adlandırılır.

Günlük pratikte, fizyolojik ya da iyatrojenik olarak oluşan bir trombüsün ya da embolinin fibrinolizis ya da tıbbi bir müdahale ile çıkarılması sonrası dokunun yeniden kanlanmasıyla hem iskemik kalan dokuda hem de o bölgede meydana gelen inflamatuvar mediatörlerin sistemik etkileriyle tüm organ sistemlerinde hasarlanma meydana gelmektedir.

Etki mekanizması halen tam olarak bilinmeyen bu hasarlanmanın patofizyolojisi ve tedavi modaliteleri üzerinde halen çalışılmaktadır. Bu bağlamda literatürde pek çok molekül bu lokal ve sistemik hasar mekanizmasını durdurmak amacıyla denenmektedir. Çalışmamızda bu moleküllerden literatürde de popülerce kullanılmış olan ozon molekülünün iskemi reperfüzyon hasarının uzak organlar üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Özellikle abdominal aort cerrahileri sırasında uzun süre iskemik kalan alt ekstremitelerde, cerrahi sonrası tekrar kanlanması ile akciğer ve böbrek gibi organlarda sistemik inflamatuvar yanıtlar ve doku hasarı meydana gelebilmektedir. Bu hasarlara karşı ozon tedavisinin koruyucu etkisi, rat modeli üzerinden incelemek bu çalışmada amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi ve tarihçesi

İskemi, doku kanlanmasındaki azalmaya bağlı olarak, dokuların hücresel metabolizmasını sürdürmesi ve canlılığını devam ettirebilmesi için gerekli olan oksijen ihtiyacının karşılanamadığı durumdur.

Kan dolaşımı tarihte ilk kez milattan önce 6.yüzyılda Krotonlu bir filozof ve hekim olan Alcmeon tarafından tanımlanmıştır. Bu tanımdan yola çıkarak azalmış kan akımının iskemik hastalıklara, tamamen durmuş kan akımının da ölüme sebep olduğunu belirtmiştir (1,2).

Hipokrates ölü hayvan incelemelerinde arter ve venleri fleb olarak tanımlayarak sakrifiye ettiği hayvanların özellikle karaciğer ve dalaklarında venlerin kanla dolu, arterlerin ise içinin boş olması sebebiyle venlerin organlara kan taşıdığı, arterlerin ise hava taşıdığı sonucuna varmıştır. Ayrıca incelediği ölü hayvanlarda karaciğerin kalpten daha fazla kan içermesi sebebiyle karaciğeri dolaşımın ana organı olarak tanımlamıştır. Galen'in arterlerin hava değil kan taşıdığını ve dolaşımın ana organının kalp olduğunu keşfedene kadar bu yanlış devam etmiştir (3,4).

11. yüzyılda yaşayan İbni Sina da alt ekstremitte hastalıklarında arteryal sistemin zıttı olan venöz sistemde önemli yeri olan safen veni tanımlamıştır (5).

19.yüzyılın başında Renè Theophile Hyacinthe Laennec tarafından yazılan “Traité de l'auscultation mediate et des maladies des poumons et du Coeur” kitabında

vasküler patolojiler ve anevrizmalar ayrıntılı bir şekilde anlatılarak trombotik hastalıklar tanımlanmıştır (6).

1895 yılında Yvan Saneew alt ekstremitesinde şiddetli iskemik atağı olan ve amputasyon planladığı hastasında femoral arteri açarak trombüsü çıkartmış ve arkasından arteri tekrar geri onararak amputasyonu da planladığı seviyenin daha distalinden gerçekleştirerek operasyonu tamamlamıştır (7).

1960'lı yıllarda Charles Dotter tarafından radyolojinin sadece tanı koymada değil aynı zamanda tedavide de etkili olabileceği fikriyle iskemik hastalıklarda endovasküler tedavi çağı başlamıştır (8).

İskeminin moleküler düzeydeki patofizyolojisini inceleyecek olursak, hücrelere yeterli oksijen sağlanamamasına bağlı olarak pek çok metabolik yolak çalışmamakta buna bağlı olarak hücrenin ihtiyacı olan enerji üretilemediği için önce geri dönüşümlü hücre hasarı, daha sonra da nekroz yolağıyla hücre ölümü gerçekleşmektedir (9).

Hücreler protein sentezi, membran transportunun sağlanması, hücre ve hücre dışındaki iyon konsantrasyonlarının fizyolojik düzeyde tutulması, lipogenez, hücre bölünmesi gibi pek çok fizyolojik süreçlerini sürdürebilmek için ATP'ye (adenozin trifosfat) ihtiyaç duymaktadır. ATP , oksijenli solunum ile hücre mitokondrisinde ADP'nin (adenozin difosfat) fosforillenmesi sonucu oluşan yüksek enerjili bir moleküldür. Vücudumuzdaki tüm hücreler fonksiyonlarını sürdürebilmek için bir günde yaklaşık 50-75 kg ATP kullanmak zorundadır. Buna bağlı olarak iskemi sonrası dokular yeterli oksijenasyonu sağlayamadıklarında bu dokuların fonksiyonlarında bozulmalar meydana gelmesi şaşırtıcı değildir (10,11).

Hücreler oksijen yetmezliği sırasında hipoksi ile indüklenen transkripsiyon faktörü (HIF-1) üreterek yeni duruma adaptasyon sağlamaya çalışır. Bu transkripsiyon faktörleri, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi proteinler sentezleterek, bölgeye yeni damar oluşumunu indükler. Böylece bölgenin kanlanması ve dolayısıyla oksijen sunumunu arttırmaya çalışırlar. HIF-1'in sentezini uyardığı diğer bir takım proteinler ise hücrenin anaerobik glikoliz ve krebs döngüsünü daha fazla kullanmasını sağlayarak oksijensiz de hücreye enerji sunumunu sabit tutmaya çalışır. Çizgili kaslar ve karaciğer gibi hücre içinde daima glikojen deposu bulunan ve bu sayede glikolizle de enerji ihtiyacını belli bir ölçüye kadar karşılayabilen dokular iskemiye daha dayanıklı iken, beyin gibi enerji metabolizması neredeyse tamamen oksidatif fosforilasyona bağlı dokular iskemiye karşı son derece hassastır (9,12).

İskemi sonucu hücredeki enerji azlığına bağlı ilk olarak sodyum potasyum ATPaz (Na-K-ATPaz) pompası işlevini yerine getiremez. Buna bağlı olarak hücre içi sodyum konsantrasyonu artar ve osmotik basınçla hücre içine su dolar ve hücre şişmeye başlar. Ayrıca oksidatif fosforilasyon yapılamadığı için glikolitik yollar kullanıldığından oluşan laktik asit hücredeki pH seviyesini düşürmektedir. Asidik ortam sebebiyle pek çok hücre içi protein ve enzim ideal pH seviyesinden uzaklaştığı için işlevlerini yerine getirememektedir. Hücre asit-baz dengesindeki bozulma yeni protein sentezini de olumsuz etkileyerek, zamanla ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumlardan ayrılmaya başlar. Hipoksi sonrası reperfüzyon sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin de hücre ölümünü hızlandırdığı herkes tarafından kabul edilmekle birlikte, hipoksinin kendi başına

reperfüzyon olmadan da serbest oksijen radikalleri oluşturup hücre ölümünü hızlandırdığı iddiası da tartışılmaya devam etmektedir (13).

Hücrede meydana gelen tüm bu değişimler son olarak mitokondrial ve lizozomal membranlarda ayrışmaya sebep olduktan sonra hücre ölümü kaçınılmazdır. İskemi ve hipoksiye bağlı hücre ölümü ağırlıklı olarak lizozomal enzimlerin salınımı sonucu nekrotik süreçle ilerlemesine karşın mitokondriyal yolakla apoptotik süreçlerin de katkısı olduğu bilinmektedir (9).

İskemi gelişiminin sebeplerinin başında aterosklerotik hastalıklar gelmektedir. Ateroskleroz başlangıç nedeni halen tam olarak bilinmemekle birlikte çocukluk döneminde başladığı düşünülen, yüksek tansiyon, yüksek kolesterol ve trigliserit seviyeleri, inflamasyon, insülin direnci, obezite, sigara veya diğer tütün ürünlerinin kullanımı sonucu meydana gelen endotel hasarı sonucu oluşan ve arter lümenini oklüzyona uğratan bir hastalıktır. Yıllar içinde yavaş yavaş büyüyen trombüs kronik iskemiye sebep olurken, aterosklerozun trombüs içine kanama, propagasyon, embolizasyon gibi komplike olması durumunda akut iskemiye sebep olmaktadır. Emboli ise iskemiye sebep olan ikinci bir nedendir. Ayrıca ateroskleroz plağı embolize olabileceği gibi yağ, hava, amniyotik sıvı ya da yabancı materyaller de embolize olarak distaldeki bir arterin tıkanmasına ve buna bağlı iskemiye neden olabilir. Trombüs ve emboli dışında diğer bir iskemi nedeni ise damarların kendi kontraksiyonuna bağlı meydana gelen vazospazm durumudur. Raynoud fenomeni gibi soğuğa karşı verilen hiperreaktif bir arter cevabı ya da subaraknoid kanama sonrası serebral arterlerde görülen vazospazm bu duruma birer örnektir. Otoimmün hastalıklara bağlı görülen vaskülitler,

enfektif tablolar, tümör ya da anatomik varyasyonlara bağı olarak (torasik çıkış sendromu gibi) arterler üzerine mekanik bası olması da daha nadir görülen iskemi nedenleri arasındadır (14–16).

İskemi başlangıç zamanı ve şiddetine göre sınıflandırılır. 14 günden daha kısa bir süre önce başlıyorsa akut iskemi olarak isimlendirilir. Eğer iskemi 14 günden daha fazla bir süre stabil kalmışsa kronik iskemi denir. Eğer iskemi 14 günden daha kısa bir süre önce başlamış ve şikayetler giderek artıyorsa kronik üzerine akut iskemi olarak sınıflandırılır(17). Şiddetine göre sınıflandırmada ise, etkilenen ekstremitte için tehdit oluşturmuyorsa inkomplet, tehdit oluşturunca komplet, ekstremitede artık canlılık yoksa irreversibl olarak sınıflandırılır (17).

İskeminin bulguları İngilizcede her birinin baş harfi “P” olması sebebiyle 5P bulguları olarak kısaltılmaktadır. Bu beş semptom ağrı (pain), solgunluk (pallor), parestezi (paresthesia), nabızsızlık (pulseless), soğukluk (perishing cold) ve paralizidir (paralysis). Dokunun metabolik aktivitesi ne kadar yüksekse ağrının başlama süresi o kadar kısadır. Örneğin üst ekstremitede iskemi anında ağrının başlama zamanı 3-4 dakika iken, egzersiz sırasında bu süre 15-20 saniyeye kadar inebilmektedir. İskemi sonucu dokulara yeterli oksijen taşınamamasından kaynaklı anaerobik metabolizma sonucu oluşan laktik asidin dokularda birikiminin ağrı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca iskemik dokulardan salınan bradikinin ve proteolitik enzimlerin de ağrıya katkısı olduğu düşünülmektedir (17,18).

İskemi etkilemiş olduğu organa göre çeşitli semptomlarla karşımıza çıkmaktadır. Örneğin iskemi kalpte meydana geldiğinde öncelikle anjina pektoris daha sonra

iskeminin geri dönülemez evreye geçmesi ile myokardiyal enfarktüs görülür. Anjina pectoris iskeminin sebep olduğu geri dönüşümlü, aralıklı ve geçici göğüs ağrısı olarak tanımlanır. Stabil, anstabil ve varyant (prezimental) olmak üzere üç sınıfa ayrılır (19).

Beyin dokusunun iskemisi ise serebrovasküler olay olarak adlandırılır. Serebrovasküler olay geçici iskemik atak (TİA), kalıcı enfarkt veya *watersheed* enfarktle sonuçlanabilir. Geçici iskemik atak 24 saatten kısa süren beyin, beyincik, beyin sapı veya retinal dokulardaki iskemiye bağlı kalıcı enfarktın gelişmediği nöronal disfonksiyondur. İnme olarak bilinen kalıcı enfarkt ise serebral dokulardaki perfüzyon azalmasına bağlı kalıcı olarak fonksiyon kaybıdır. Bunun sonucunda etkilenen bölgenin fonksiyonuna bağlı olarak konuşma, motor fonksiyon, duyuşsal algılama, uyanıklık, okuma, anlama gibi yüksek kortikal faaliyetlerde sekel meydana gelebilir. Kelime anlamı olarak 2 farklı nehir havzasının birleşim yeri anlamına gelen *watersheed* enfarkt ise aynı anlamı gibi 2 farklı arterin periferik olarak birbirine yaklaştığı zonlarda meydana gelen enfarkt tipi olup, bu tip enfarktlar genellikle kronik ve subklinik bir seyir göstermektedir (20,21).

İskemik renal hastalık renal arterde ciddi düzeyde stenoza bağlı glomerüler filtrasyonun azalması ve renal parankim hasarıyla giden klinik durumdur. Kronik böbrek yetmezliği gelişmesinde son derece önemli bir etkisi bulunan iskemik renal hastalık ciddi oranda morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Ayrıca renal arter stenozu sonucu aşırı aktive olan renin-anjiyotensin sistemi sebebiyle hastalarda ciddi hipertansif ataklar meydana gelip bunun sonucunda

kardiyovasküler ve sinir sistemi başta olmak üzere pek çok sistemde farklı komplikasyonlar meydana gelmektedir (22,23).

Akciğer dokusunda ise iskemi; embolize olmuş trombüsün büyük çapta bir arteri tıkaması sebebiyle akut olabileceği gibi, daha küçük mikroembolilerle kronik iskemi şeklinde de olabilir. Akut pulmoner emboli hastada ani başlayan nefes darlığı, göğüs ağrısı, hızlı soluk alıp-verme gibi semptomlar gösteren, hipoksi, hipokarbi, takipne ve taşikardi saptadığımız, hemodinamiyi tehdit eden akut ve hayati bir klinik durumdur. Diğer yandan kronik pulmoner iskemi ise uzun dönemde pulmoner hipertansiyona ve ona bağlı sistolik sağ kalp yetmezliğine sebep olabilen ciddi bir klinik tablodur (24,25).

Bağırsak dokularının kanlanmasıdaki azalmaya bağlı gerçekleşen durum ise mezenter iskemisi olarak adlandırılır. Belirli bir uzunluğun üzerinde etkilenen segment olması yaşamla bağdaşmayacak mortal bir tablodur. Başlangıç süresine göre akut ve kronik mezenter iskemisi olarak ikiye ayrılmaktadır (26).

2.2. İskemi reperfüzyon hasarı

İskemi reperfüzyon (İR) hasarı, uzun süre iskemik kalan dokuya yeniden kan akımı sağlanmasının hücresel hasarı düzeltmek yerine daha da artıran paradoksal bir durumdur.

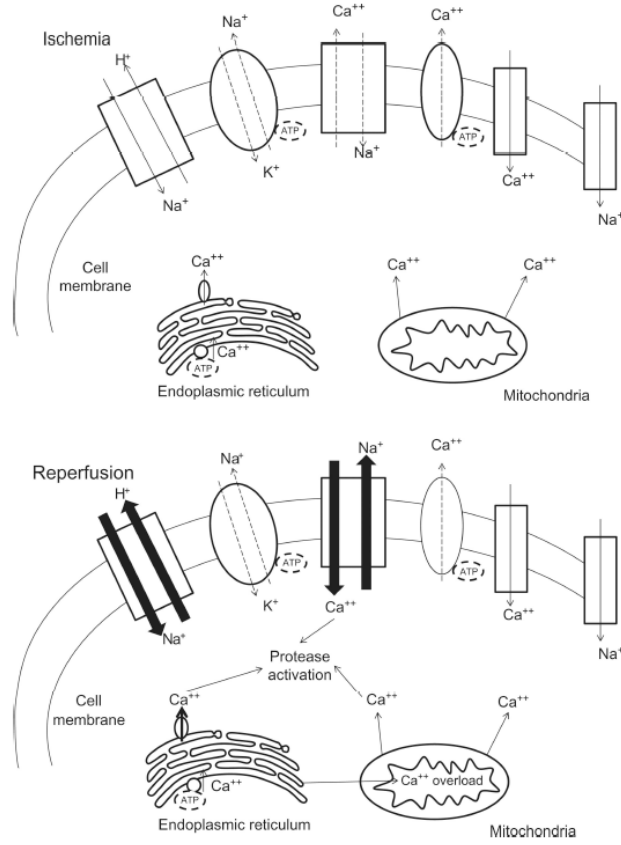
Son otuz yılda iskeminin sebep olduğu moleküler, hücresel, dokusal değişimler incelenirken, reperfüzyonun da iskemiden bağımsız olarak hücre hasarına yol açtığı keşfedilmiştir. İR sonrası meydana gelen doku hasarının daha çok iskemik

fazın etkilerinin sürmesinden mi yoksa reperfüzyon sonucu oluşan yeni mekanizmalardan mı kaynaklandığı konusu tartışmalıdır.

Patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılamayan İR hasarının muhtemel mekanizmaları; (1) hücre içi artmış kalsiyum iyonunun toksisitesi, (2) yeniden sağlanan kan akımı sonrası üretimi artan serbest oksijen radikalleri, (3) endotelial disfonksiyon, (4) protrombojenik fenotipin meydana gelmesi, (5) mitokondrial permeabilite geçiş (MPT) porlarının açılması, (6) artmış inflamatuvar yanıtıdır (27).

İR hasarında endotel disfonksiyonun büyük bir etkisi olması sebebiyle, risk faktörleri iskemik hastalıkların risk faktörleri ile paralellik göstermektedir. Hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabet, obezite, sigara ve tütün kullanımı İR hasarı için başlıca risk faktörleridir (28).

İR hasarının mekanizmalarının başında hücre içi artan kalsiyum iyon konsantrasyonu gelmektedir (29). İskemi sırasında anaerobik solunuma bağlı artan laktik asitle hücre içi pH düşmektedir. Buna bağlı hidrojen/sodyum pompası ile hücre içi pH dengelenmek için hücre dışına hidrojen atılırken, pasif difüzyonla sodyum hücre içerisine alınır. Bu kez de hücre içinde artan sodyum miktarı dengelenmek için yine ATP'den bağımsız pasif olarak çalışan sodyum/kalsiyum pompası devreye girer ve hücre içindeki sodyumu ekstrasellüler alana atarken, hücre içine kalsiyum alır. Reperfüzyon sırasında artan dolaşım ile beraber hücre dışındaki artmış hidrojen konsantrasyonu düşürülür, böylece proton gradienti artırılarak pasif diffüzyonla çalışan hidrojen/sodyum pompası ve dolayısıyla sodyum/kalsiyum pompası daha da aktif çalışmaya başlar (29,30). Sonuçta hücre içi kalsiyum konsantrasyonu iskemik fazdan daha yüksek düzeye ulaşır (Şekil 1).



Şekil 1. İskemi ve reperfüzyon durumlarında hücre içi kalsiyum artışının gösterilmesi (27)

Plazma membranındaki sodyum kalsiyum pompasından hariç ayrıca endoplazmik retikulumdan da perfüzyon döneminde kalsiyum salınımı artarak, hücre içi kalsiyum düzeyi çok yüksek düzeylere çıkar.

Artmış hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun sonucu, bir kısmının mitokondri içine geçmesiyle, MPT geçişi tetiklenmekte ve sonuçta hücre ölümü başlamaktadır. Ayrıca artan kalsiyum konsantrasyonu kalmodulin ilişkili protein kinazları aktifleyerek apoptozis yolağı ile hücre ölümünü başlatabilir. Ek olarak kalsiyum pirofosfatlar inflazom oluşumunu tetikleyerek interlökin 1 (IL-1), tümör

nekroz faktör alfa (TNF-alfa) gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımına da sebep olurlar (9).

İR hasarının diğer bir önemli mekanizması da yeniden kanlanma ve oksijenlenmeyle birlikte üretilen oksijen radikallerinin hücreye verdiği hasardır.

Hücre içinde iskemi ile up-regüle olan bax bcl gibi proteinler, reperfüzyon ile aktive olarak Bcl2 yolağı ile apoptoza sebep olurlar. Ayrıca mitokondri membran geçirgenliğinin artması ile sitoplazmaya salınan sitokrom c de hücre ölümünü başlatan güçlü bir apoptojendir. Hücrenin kendisini, kendi lizozomu ile sindirmesi anlamına gelen otofaji ise iskemi sonrası reperfüzyon döneminde hasarlanmış hücreleri ortadan kaldıran bir mekanizmadır (31,32).

Vücuttaki patojenlere karşı verilen bir yanıt olan inflamatuvar sistem, iskemi ve reperfüzyon gibi durumlarda da aktive olarak doku hasarını arttırmaktadır. Bu tip mikroorganizma içermeyen inflamasyona steril inflamasyon denilmektedir. Aynı patojenlerde olduğu gibi iskemik hücrelere karşı da reperfüzyon sonucu bölgeye ulaşan nötrofillerce bir immün yanıt oluşur. Nötrofiller hidrolitik enzimlerini salma, serbest oksijen radikalleri oluşturma gibi mekanizmalarla immün yanıt oluşturur. Sonuçta iskemik dokuda reperfüzyonla hasar daha da artmaktadır. Hasarlanan iskemik hücrelerden salınan sitokin, kemokin ve proinflamatuvar mediatörler mikrovasküler geçirgenliği arttırarak bölgeye daha fazla immün hücre gelmesini tetiklenmektedir. Salgılanan mediatörlerle endotel hücreleri, plateletler ve diğer lökositlerin aktive olarak inflamatuvar süreçlere katılması ile reperfüzyon hasarı artmaktadır (27,33,34).

İskemik reperfüzyon hasarı DNA (deoksiribo nükleik asit) metilasyonu, histon deasetilasyonu gibi doğrudan genomu değiştirmeyen fakat ekspresyonunu bozan epigenetik değişikliklere de sebep olmaktadır (35).

Beyin vücudun günlük oksijen ihtiyacının %25-30'unu tek başına harcayan, ağırlığına oranla en yüksek enerji ihtiyacı olan dokudur. Buna bağlı her ne kadar tromboembolik vakalarda 90 dakikaya kadar müdahale sonrası başarı görülse de, 20 dakikadan uzun süren iskemide muhakkak belirli ölçüde de olsa hasar görmektedir. Ayrıca beyin diğer süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz, katalaz, hem oksijenaz gibi antioksidan enzimleri çok az bulundurmakta ve diğer organlara nazaran çok az sitokrom c oksidaz içermektedir. Bu sebeple beyin oksidan strese karşı son derece savunmasızdır. Bunun sonucu olarak da dokudaki mitokondriler enerjiyi daha az ATP'ye dönüştürürken, daha çok oksijen radikali üretmektedir. Ayrıca beyin dokusunda yüksek düzeyde doymamış yağ asidinin bulunmasının da oksidan stresin daha fazla olmasında katkısı olduğu düşünülmektedir (27,36).

Kalp de İR hasarına karşı beyinle benzer olmakla beraber tolerans aralığı daha geniştir. Genellikle 12 saat süren iskemi sonrası bile perfüzyon sonrası tekrar doku canlılığı sağlanabilmektedir. Beyinden farklı olarak reperfüzyon dönemi sonrası bölgeye ciddi miktarda mast ve fibroblast hücreleri gelmektedir. Mast hücrelerinin fonksiyonu halen tartışmalı olsa da, fibroblast hücreleri ürettikleri kollojenlerle fibrozis meydana getirerek kalbin kontraktilesinin azalmasına sebep olurlar (37).

Kalp, beyin, böbrek, mezenter gibi organların aksine iskelet kası iskemiye ve İR hasarına karşı oldukça dayanıklıdır. Arteryal yaralanma gibi durumlarda turnike ile iyatrojenik olarak iskemik bırakılan doku yalnızca 2 saatte bir turnikenin gevşetilip tekrar kapatılması ile çok uzun süre canlılığını koruyabilmektedir.

Ne yazık ki İR hasarı yalnızca iskemi ve reperfüzyona maruz kalan doku ve organlarda değil, aynı zamanda uzak organlarda da hasarlanmalara yol açabilmektedir. Patofizyolojik olarak primer organdakine benzer şekilde üretimi artmış serbest oksijen radikalleri, lökositler ve salgılanan inflamatuvar mediatörler sebebiyledir. Bu mediatörler ve radikaller iskemik dokuda doğrudan üretilip dolaşım yoluyla uzak organları etkileyebildiği gibi, bölgede aktive olmuş lökosit ve diğer inflamatuvar hücreler yoluyla başka bir organda da üretilebilmektedir (38,39).

İR sonrası uzak organ hasarı en sık mezenterik İR sonrası gelişmektedir. Hasarlı bölgeden salgılanan mediatörlerle uzak organlardaki ksantin oksidaz (XO) enziminin aktive olarak serbest oksijen radikali (ROS) üretimini artırdığı gösterilmiştir (28).

İskemi ve reperfüzyona maruz kalan organdan salgılanan inflamatuvar mediatörler, komplemanlar lökositlerin yanı sıra, end-organdaki endotel hücrelerini de aktifleyerek yüzey adezyon moleküllerini eksprese etmelerine, böylece kendilerine karşı immün yanıt oluşmasına sebep olurlar.

Sistemik olarak inflamasyon ve yaygın organ hasarı sonucunda, multi organ yetmezliği görülebilir. Bu tabloda iskemi ve reperfüzyona maruz kalan dokudan salgılanan mediatörler venöz yolla sistemik dolaşıma geçerek sağ kalp yoluyla ilk

olarak pulmoner kapiller yatağa gönderilmektedir. Akciğerler, İR hasarında önemli rolü olan bu mediatör ve faktörlere ilk ve en yüksek konsantrasyonda maruz kaldığından multi organ yetmezliği genellikle akciğer bulguları ile başlamaktadır (40).

2.3. Serbest oksijen radikalleri

Serbest radikaller dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron bulunduran bu sebeple son derece anstabil, temasa girdiği diğer yapılarla hızlıca etkileşime giren yapılardır. Hücrede özellikle nükleik asit, protein ve lipidlerle etkileşime girer ve etkileşime girdiği biyomolekülün de kararlı yapısını bozup radikale çevirerek, zincirleme reaksiyon başlatır (9).

Bu radikaller hücrede ATP üretimi için oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonlarında kullanılır. Ayrıca immün hücrelerde mikroorganizmalara karşı savunma yapmak amacıyla fagozom ve fagolizozomlarda tutulur. Ayrıca hücredeki sinyal yollarında ve fizyolojik süreçlerde rol almaktadır. Fakat tüm bu fizyolojik süreçlerde serbest radikallerin zararlı etkilerinden kaçınmak için düzeyleri hücre tarafından son derece sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur (41).

Serbest radikal oluşumu yukarıdaki gibi fizyolojik durumlarda belirli bir düzeyde oluşmakla beraber, hücresel yaşlanma, radyasyon toksisitesi, kimyasal toksisite, hipoksi, doku yaralanması ve hipoksik iskemik hasara bağlı olarak da patolojik düzeylerde oluşabilmektedir (9).

İR hasarında iskemik fazda enerji açlığı yaşayan hücreler, reperfüzyonun ardından oksijen sunumu ile hızlı bir şekilde ATP üretmek amacıyla oksidatif fosforilasyon

yapmaya başlar. Bu süreçte etkileşime girdiği her biyomolekülü değiştirerek hücrel disfonksiyona neden olacak serbest oksijen radikalleri de kontrolsüz bir şekilde üretilmektedir (41). Bu durum “*oksijen paradoksu*” olarak adlandırılmaktadır.

Oksijen ürünlerinden oluşan radikaller hücrede *oksidatif stres* oluştururken, nitroz oksit (NO) ürünlerinden oluşan radikaller hücrede *nitrozatif stres* meydana getirmektedir. Oksijen ve nitrozatif radikallerin hücre üzerine etkileri üç yolla olur. Birincisi hidrojen peroksid (H_2O_2) gibi dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron bulundurmadığı için radikal olarak nitelendirilemeyen oksijen metabolitleri ile “*indirek*” etkileri olur. Bunlar hücre içindeki sinyal yollarını bozarak hücrel disfonksiyona sebep olur. İkinci yol, oksijen ve NO radikallerinin hücre içi sinyal yollarının mekanizma kontrolcüsü proteinlerine doğrudan kovalent ya da oksidatif yollarla bağlanarak, bu proteinleri fonksiyonsuz hale getirmesidir. Son yol ise bu radikaller hücre içindeki nükleik asit, protein, lipid gibi biyomoleküllere doğrudan bağlanarak hasarlaması şeklindedir (27).

Son 15 yıla kadar serbest oksijen radikalleri sonucu gelişen hasarın yalnızca makromolekülleri doğrudan hasarlaması sonucu olduğu düşünülürken, son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar bu radikallerin en az makromoleküller kadar hücre içi sinyal sistemini de etkilediğini ortaya koymuştur (11,27,28,33).

Serbest oksijen radikallerinden en önemlisi moleküler oksijenin (O_2) univalan redüksiyonu sonucu oluşan süperoksittir (O_2^-). Hücrede oksidan strese sebep olan başlıca radikal bu moleküldür. Diğer radikaller genellikle süperoksidin başka radikallerle ya da makromoleküllerle etkileşime girmesi sonucu ortaya

çıkılmaktadır. İR hasarında süperoksiti etkisizleştiren süperoksit dismutaz (SOD) veya benzeri antioksidanların kullanılması sonrası hasarın büyük ölçüde azalması bu molekülün İR patofizyolojisinde en büyük etkenlerden birisi olduğunu bize göstermektedir.

Süperoksit son derece anstabil ve aktif bir molekül olmasına rağmen genellikle in vivo olarak çok ciddi bir oksidasyona sebep olmaz. Çünkü hücrede yüksek orandan bulunan SOD enzimi tarafından hedef molekülüne çok yakın olmadığı sürece herhangi bir oksidasyona sebep olmadan H₂O₂ molekülüne çevrilir. Ancak H₂O₂ doğrudan oksidan bir radikal olmasa da özellikle hücre membranındaki sinyal yolları üzerinden ikincil mesajcı gibi davranarak hücrede disfonksiyona neden olur. Süperoksit aynı zamanda hücrede çok hızlı ve spontane olarak konjuge bir asit formu olan son derece reaktif hidroperoksil radikaline (HOO•) dönüşerek antioksidan bir enzim olan SOD'un etkisinden kurtulabilir (42). Bir diğer radikal hidrojen peroksidazın özellikle demir (Fe) gibi bazı metallerin varlığında Fenton reaksiyonu ile son derece kararsız ve hücre için toksik hidroksil molekülüne (•OH) dönüşmesidir. Son olarak süperoksit nitrik oksit ile doğrudan reaksiyona girerek yine bir başka serbest radikal olan peroksinitrit (ONOO•) oluşumuna neden olur.

İR hasarında hangi yoldan baskın olarak geldiği bilinmemekle birlikte süperoksit oluşumunu sağlayan enzimler XO, NADPH oksidaz (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz), sitokrom p450 oksidaz ve nitrik oksit oksidazdır (27).

Son derece tehlikeli olan bu serbest oksijen radikallerini hücreler bir takım antioksidan enzim ve moleküllerle dengelemeye çalışır. Bunların başında süperoksiti, hidrojen peroksite dönüştüren SOD enzimi gelir. Oluşan hidrojen peroksidi suya parçalayan ve hücre peroksizomunda yüksek konsantrasyonda bulunan katalaz enzimi diğer bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksiti zararsız forma dönüştüren diğer bir önemli enzim ise glutatyon (GSH) peroksidazdır. Özellikle GSH peroksidazın 1. formu insan vücudundaki tüm hücrelerde bulunan bir enzim olup bu enzimin okside formunun redükte formuna oranı o hücrenin ne kadar antioksidan aktivite içerisinde olduğunun sayısal bir göstergesi kabul edilir (43,44). Ayrıca vitamin A, C, E ve beta karoten gibi biyomoleküller de serbest radikal oluşumunu azaltan; oluşmuş radikalleri nötralize eden antioksidan moleküllerdir.

2.4. İskemi reperfüzyon hasarının böbrek ve akciğer dokusuna etkileri

Böbrek yetmezliği, prerenal, renal ya da postrenal kaynaklı olabilir. İskemi sebebiyle böbrekte üç tip yetmezlik de gelişebilir.. Normal böbrekte azalan kan akımına karşı böbreğin kompanseuar mekanizmaları bulunmaktadır. Eğer glomerüle gelen afferent arteriolde iskemiye bağlı kan akımı azalırsa renin-anjiotensin sistemi ile salgılanan anjiotensinojen II ile efferent arteriol vazokonstriksiyona uğratılarak glomerüldeki basınç artırılır, böylece akım azalması basınçla dengelenerek glomerüler filtrasyon hızı sabit tutulmaya çalışılmaktadır. Sistemik hipotansiyon, şok gibi durumlarda azalan basınç, afferent arteriolün vazodilatasyonu sonucu kan akımının artırılmasıyla tolere edilmektedir. Postrenal obstrüksiyonda başlangıçta refleks olarak böbrek kan akımı artmasına rağmen,

Bowman aralığı ve glomerül arasındaki basınç farkı azaldığı için filtrasyon oranı düşmekte ve buna yanıt olarak salgılanan anjiotensin II ve vazokonstriktif prostoglandinler ile böbrek kan akımı azalmaktadır. Postrenal obstrüksiyonun uzun sürmesi durumunda yaşanan iskemiye bağlı olarak böbrekler atrofiye gitmektedir. İskeminin intrarenal patofizyolojisinde birden fazla mekanizma rol oynayabilir. Birincisi iskemiye bağlı azalan renal kan akımından dolayı glomerüler filtrasyon korteksteki glomerüllerden medullaya kayar. Glomerüllerin ancak %20'si medullada olduğundan glomerüler filtrasyon çok ciddi oranda azalır. İkinci bir etken iskemiye sekonder tübüler epitel hücreleri hasarlandığında şişmeye başlar ve buna bağlı tübüller tıkanarak postglomerüler basıncı yükseltirler bu da glomerüler filtrasyon oranını (GFR) daha da düşürür. Üçüncü bir mekanizma ise tübüler hücrelerin iskemisine bağlı permeabiliteleri artar buna bağlı filtrat tübül içinden önce interstisyel alana, daha sonra da Bowman aralığına kaçarak filtrasyonu bozar. Son olarak azalan kan akımı ile glomerülün kendi bazal membran geçirgenliği bozularak geçirmemesi gereken immünglobulin albümin gibi proteinleri filtrata geçirerek hasarlanma sürecini hızlandırmaktadır (45,46).

İskemiye uğramış böbrekte kan akımının ani olarak yeniden sağlanması durumunda İR'un sebep olduğu ikincil mekanizmalar sebebiyle böbrek hasarının şiddeti artmaktadır. Renal İR hasarının mekanizması halen tam olarak bilinmemekle beraber böbrek yetmezliğinde morbiditeyi ve mortaliteyi arttıran önemli bir faktördür. İR hasarının genel mekanizmalarında olduğu gibi artan oksijen radikalleri ve pro-inflamatuar sitokinlerin etkili olduğu düşünülmektedir. İR hasarının moleküler ve hücresel düzeyde mekanizmaları aydınlatıldıkça,

bunları engellemeye yönelik ajanlar geliştirilmesi ve böbrek hasarının minimize edilmesi amaçlanmaktadır (47–49).

Akciğerlerde İR hasarı travma, ateroskleroz, emboli, kardiyak by-pass ve kalp nakli gibi cerrahi prosedürler nedeniyle iskemik kalmış dokuya daha sonra reperfüzyon periyoduyla oksijenize kanın hızlı bir şekilde sunumu sonucu meydana gelen klinik durumdur. Kan akımı ve oksijenizasyonun yeniden sağlanmasıyla meydana gelen toksik oksijen radikalleri, aşırı aktive olan koagülasyon kaskatı, immün sistem aktivitesi, endotelial disfonksiyon sonucunda hücrel disfonksiyon ve apoptozis meydana gelir. Akciğerde meydana gelen iskemi ve reperfüzyon sonucu salınan sitokin ve oksijen radikalleri ile kalp ve karaciğer gibi uzak organlarda sekonder hasarlar meydana gelebilirken; tam tersine uzak bir organda meydana gelen iskemi ve reperfüzyon süreci akciğer parankimine zarar verebilir (50,51).

Akciğer transplantasyonu sonrası primer greft disfonksiyonunun en büyük sebebi İR hasarına bağlı gelişen sekonder immün yanıttır. Buna bağlı vasküler permeabilitede azalma, alveolar disfonksiyon meydana gelir. İR hasarının moleküler mekanizmalarının anlaşılmasıyla bunu azaltmaya yönelik anti-inflamatuar, anti-oksidan tedavilerle transplantasyonun akut ve kronik dönemlerdeki başarısını arttırmak mümkün olabilecektir (52).

2.5 Ozon tedavisi

Ozon (O_3) üç oksijen atomundan oluşan, mezometrik yapısı nedeniyle son derece anstabil oksijen formudur. Oksitleyici olarak endüstride kullanılan O_3 , on

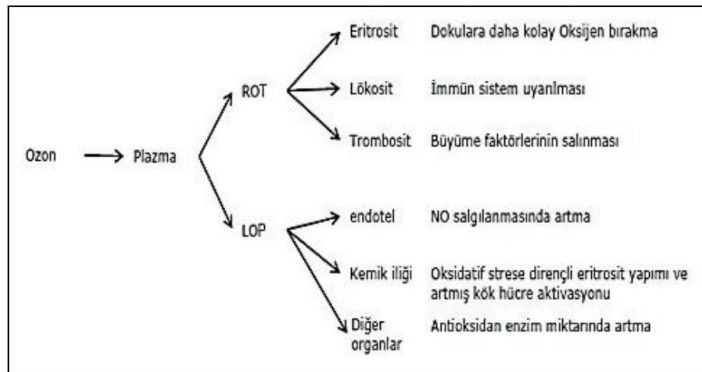
dokuzuncu yüzyıl ortasında keşfedilerek tıpta o zamandan beri kullanılmaktadır. “O₃” şeklinde gösterilir. O₃ doğal olarak güneşin yaydığı ultraviyole ışınları sonucunda oksijenin (O₂) kararsızlaşması ile oluşabildiği gibi fırtınalarda meydana gelen elektrik akımı sonucu da O₂’in kararlı yapısının bozulmasıyla oluşabilmektedir (53,54). Normal şartlarda havadaki konsantrasyonu 0.02 ppm (parts per million= milyonda bir (mikro)) olup, 100 ppm üzeri toksik doz olarak kabul edilir. Akciğer ve gözler ozonun toksik etkisine en hassas organlardır.

Christian Friedrich Schönbein 1840 yılında suyun içinden elektrik geçirmesi sonucu açığa çıkan kokuyu fark etmesiyle O₃’u keşfetmiştir. Koku anlamına gelen “odor” kelimesinden dolayı bu isimlendirmeyi yapmıştır ve O₃ terapisinin babası olarak bilinmektedir (55).

Anstabil yapısı nedeniyle tehlikeli olabileceği düşünülse de pek çok yararlı etkisinin olduğu keşfedilerek yaklaşık iki yüzyıla yakın zamandır tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Medikal O₃ minimal ve önlenabilir yan etkileri olduğundan dezenfeksiyonda ve tedavide kullanılmaktadır. O₂ bağımlı sistemleri aktive etmesi ve immün stimulan özelliği ile bakteri, virüs, fungus ve protozoalar üzerinde etkilidir. Enfekte yaraların iyileşmesi, zor iyileşen ülserlerin tedavisinde, dolaşım sistemi ile ilgili hastalıklar, geriatric hastalıklar, makuler dejenerasyon, viral hastalıklar, romatizma/artrit, cinsel fonksiyonların desteklenmesi, oto-immün hastalıklar, astım/KOAH (Kronik obstrüktif akciğer hastalığı) gibi solunum sistemi hastalıkları, oral mukoza hastalıklarında, depresyon/duygu durum değişikliği, fibromyalji, Alzheimer, parkinson, demans, kanser ve AIDS

(Acquired Immune Deficiency Syndrome= Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu) gibi çok sayıda hastalığın tedavisinde etkinliği denenmiştir (54).

O₃'ün medikal etkisi dozla ilişkili olarak immün sistemi aktive ya da inhibe etmesi, eritrosit metabolizmasını hızlandırması ve antioksidan sistemleri çalıştırarak antioksidan işlev görmesi şeklindedir (56). Kendisi oksidan bir molekül olmasına rağmen vücuttaki diğer antioksidan sistemleri indüklemesi ile vücuda verildikten sonra antioksidan etki göstermektedir. Böylece oksidatif stresin regüle edilmesine yardımcı olur (57). Özellikle O₃'a maruz kalındıktan sonra glutatyonun belirgin biçimde arttığı gösterilmiştir, ayrıca hücre içi sinyal iletimini hızlandırarak antioksidan etkiyi kuvvetlendirmektedir (58).



Şekil 2. Ozonun etki mekanizmaları (59)

Düşük dozda lökositoz ve fagositozu indükleyerek immün sistemi stimüle eder, ancak yüksek dozlarda aksine immün sistemi inhibe eder. O₃ tedavisi akciğerin kompliyansını veya elastik özelliklerini değiştirmeden hava yolu direncini önemli ölçüde artırır. Ek olarak, O₃'ün gözler ve akciğerler ile doğrudan teması, bu belirli konumlardaki düşük antioksidan kapasitesi nedeniyle kontrendikedir (54,60). O₃

tedavisi, oksijen (O₂) -O₃ karışımını çeşitli bir terapötik aralıkta (mL kan başına 10–80 µg / mL gaz) birleştirir (60–62). Klinik ve tıbbi kullanım için O₃'ün bir O₂ / O₃ karışımı olarak hazırlanması gerekir çünkü ozonun hava ile reaksiyonu toksik bir gaz olan nitrojen dioksit oluşumuna neden olabilir (61).

Ozon kullanıma hazır hale getirildikten sonra 20 dakika içerisinde kullanılmalıdır.

Uygulama yolu özellikle dental işlemlerde veya dezenfeksiyon, yara bakımı gibi alanlarda doğrudan topikal yolla uygulanırken, sistemik olarak intravenöz, intraarteriyel, subkutan, intraartiküler, intraperitoneal, intradiskal, intraforaminal uygulamaları bulunmaktadır (54). Ozon hiçbir zaman saf olarak verilmemelidir. Mutlaka oksijen ile karıştırmak gereklidir. Bu karışımda O₂ en az %95, O₃ en fazla %5 olmalıdır.

O₃ uygulaması Glikoz 6 fosfat dehidrogenaz eksikliği, hamilelik, Basedow Graves tipi kontrolsüz hipertiroidizm, masif kanamalı hastalar, ağır myastenia, malign hipertansiyon, akut alkol intoksikasyonu, ağır trombositopeni gibi durumlarda kontrendikedir (63).

Ozonun yan etkilerinden sorumlu ajanlar peroksinid ve hidroksil iyonudur. O₃'ün yan etkisinin oluşmasının sebebi iyatrojenik ve uygulanan dozun terapötik aralıktan yüksek olmasıdır. Oluşabilecek yan etkiler, mide bulantısı, dilde ve dudakta uyuşma hissi, ağızda metalik tat, deri döküntüleri, yorgunluk ve hipotansiyondur (63,64).

Tedavi sırasında normal atmosfer havasının bu karışıma girmesi engellenmelidir.

O₃'ün reaktif özelliğinden dolayı normal atmosferle teması halinde toksik bir gaz

olan nitrojen dioksit oluşabilmektedir. O₃ kullanımı sırasında teflon, nötral cam, paslanmaz çelik gibi dayanıklı malzemelerin kullanılması gerekir.



3.GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 25.03.2021 tarih ve G.Ü.ET-21.017 kod numaralı etik kurul onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi.

3.1. Denek seçimi

Bu çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 24 adet, 4 aylık wistar cinsi erkek albino rat kullanılmıştır. Ratlar 20-21°C ısıda, 12 saat gece 12 saat gündüz periyodları sağlanarak ve anestezi uygulamasından 2 saat öncesine kadar yemelerine izin verilecek şekilde bakılmıştır. Ratlar her grupta 6 tane olmak üzere, rastgele 4 gruba ayrılmıştır (Kontrol, İR, İR-Ozon, Ozon).

Deney Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinin (GÜDAM) hayvan laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2 Kullanılan yöntem

İşlem öncesi 24 adet rat rastgele olarak altışarlı 4 gruba ayrıldılar. Birinci grup *kontrol grubu* (n=6), ikinci grup *iskemi-reperfüzyon grubu* (n=6), üçüncü grup *iskemi-reperfüzyon + ozon grubu* (n=6), dördüncü grup ise *ozon grubu* (n=6) olarak belirlenmiştir.

Tablo 1: Deney Grupları

Grup 1	Kontrol	n=6
Grup 2	İR	n=6
Grup 3	İR-Ozon	n=6
Grup 4	Ozon	n=6

3.2.1. Aortik oklüzyon ve iskemi reperfüzyon modeli

Deney grupları ayrıldıktan sonra intraperitoneal olarak, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. Anestezi sonrası supin pozisyona getirilen ratlara ısıtma lambasının altında deney uygulandı (Fotograf 1). Uygun saha temizliğinin ardından ratlara orta hat laparotomi yapıldı (Fotograf 2). İnfrarenal abdominal aortayı (İAA) bulmak için bağırsaklar ekarte edildi ve gazlı beze sarıldı (Fotograf 3 ve 4). Abdominal aorta, vena kavadan ayırt edilip travmatize edilmeden mikro-klip yardımı ile klemlendi (Fotograf 5). 120 dakika boyunca iskemik fazda ratlar bekletildi. Bu süre zarfında anestezi ihtiyacı olan ratlara tekrar anestezi verildi. 120 dakikanın sonunda klemler kaldırılarak reperfüzyon aşamasına geçildi. 120 dakika boyunca da reperfüzyon safhası için beklenildi. İskemi ve reperfüzyon klempin distalindeki aortadaki pulsasyon durumuna bakılarak teyit edildi. İskemik fazda pulsasyonun olmadığı, reperfüze edildiğinde ise yeniden perfüzyon başladığı gözlemlendi. Kontrol grubunda da benzer şekilde laparotomi yapıldı, ötenazi öncesi benzer süre bekletildi (240 dakika). Böylece iskemi-reperfüzyon hasarı dışındaki diğer koşullar gruplar arasında eşitlenmiş oldu. Tüm gruplarda laparotomi sonrası ısı kaybını önlemek amacıyla bağırsaklar ıslak spançlara sarılarak korundu. 240 dakika sonunda intrakardiyak kan alınarak ratlar kurban edildi. Histolojik ve biyokimyasal analiz için her iki böbrekleri ve akciğer dokuları alındı.

3.3 Deney grupları

1. Kontrol grubu (Grup K): Bu gruptaki ratlara intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. Tüm işlemler bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi (Fotograf 1). Anestezi uygulanmasının ardından orta hat laparotomi yapıldı, aortik klempleme dışındaki tüm işlemler aynı şekilde gerçekleştirildi (Fotograf 2, 3 ve 4). 240 dakika sonunda intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) ile anestezi uygulanmasının ardından, intrakardiyak alınan kan alınmasıyla ötenazileri gerçekleştirildi. Ötenazi sonrasında her iki böbrek ve her iki akciğer dokuları bütünlükleri bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alındı. Sağ böbrek ve sağ akciğer dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formol içine konuldu. Sol böbrek ve sol akciğer dokusu ise sıvı azot içinde dondurulduktan sonra biyokimyasal inceleme için -80°C de saklandı.

2. İskemi-reperfüzyon grubu (Grup İR): Bu gruptaki ratlara intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. Tüm işlemler bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi (Fotograf 1). Ciltleri aseptik olarak hazırlanan sıçanlara orta hat laparotomi yapıldı (Fotograf 2 ve 3). Bağırsakların ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılmasının ardından İAA dikkatli bir şekilde explore

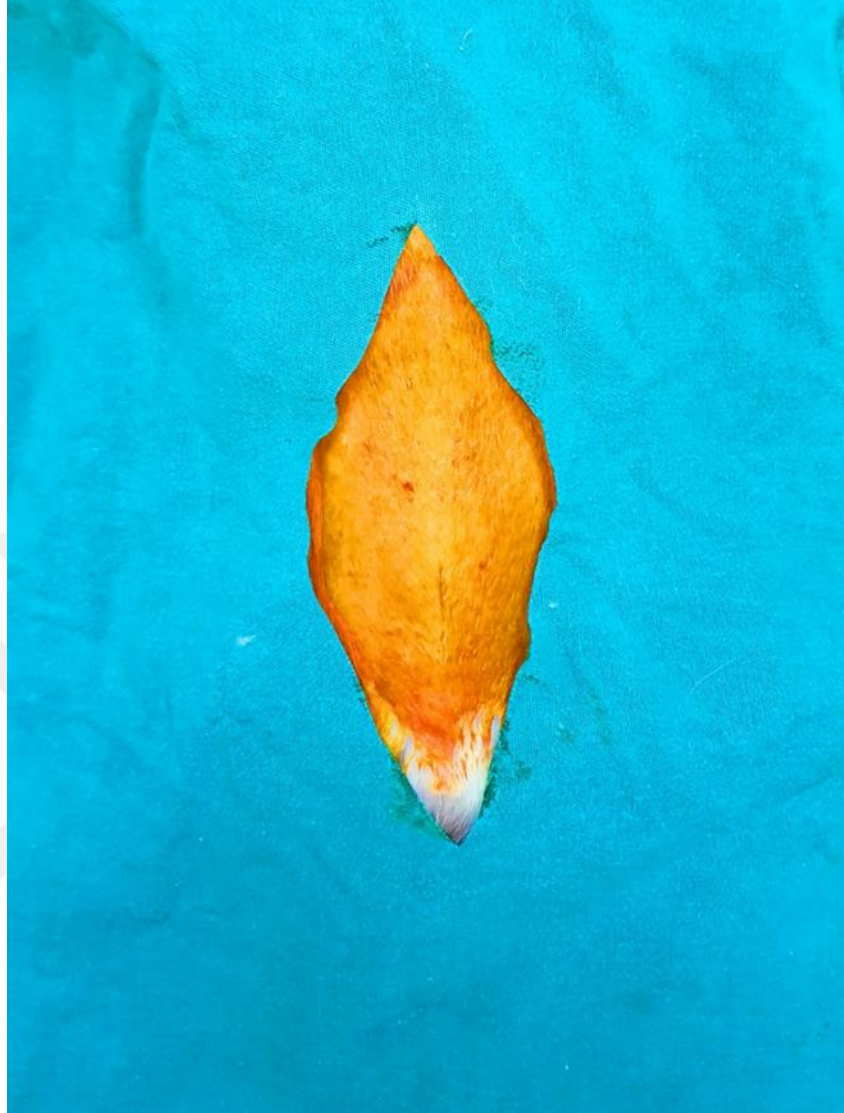
edildi (Fotograf 4) ve İAA'ya atravmatik mikrovasküler klemp konuldu (Fotograf 5). 120 dakika sonra İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırıldı ve 120 dakika süreyle reperfüzyon sağlandı. Aortik iskemi klempleme işlemi sırasında distal aortta pulsasyonun kaybolmasıyla, aortik reperfüzyon ise klempin kaldırılması sonrası distal aortta pulsasyonun geri gelmesiyle onaylandı. Böylece “no-reflow” fenomeni ekarte edildi. İskemi reperfüzyon dönemlerinde peritoneal boşluktan ısı ve sıvı kaybını en az miktara indirmek için; İAA'ya klemp konulduğu ve kaldırıldığı dönemlerde, peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulandı ve batin insizyonu geçici olarak ıslak gazlı bez ile sarılarak kapatıldı. İskemi reperfüzyon sonrası intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi uygulanmasının ardından intrakardiyak alınan kan ile ötenazileri gerçekleştirildi. Ötenazi sonrasında her iki böbrek ve her iki akciğer dokuları bütünlükleri bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alındı. Sağ böbrek ve sağ akciğer dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formol içine konuldu. Sol böbrek ve sol akciğer dokusu ise sıvı azot içinde dondurulduktan sonra biyokimyasal inceleme için -80°C de saklandı.

3. İR + Ozon (Grup İRO): Cerrahi işlemden 60 dakika önce ratlara 1 mg/ kg O₃ (50 µ / mL) (Medozon kompakt, Herrmann Apparatebau GmbH) intraperitoneal olarak verildi (Fotograf 6). Bu gruptaki ratlara intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. Tüm işlemler bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken

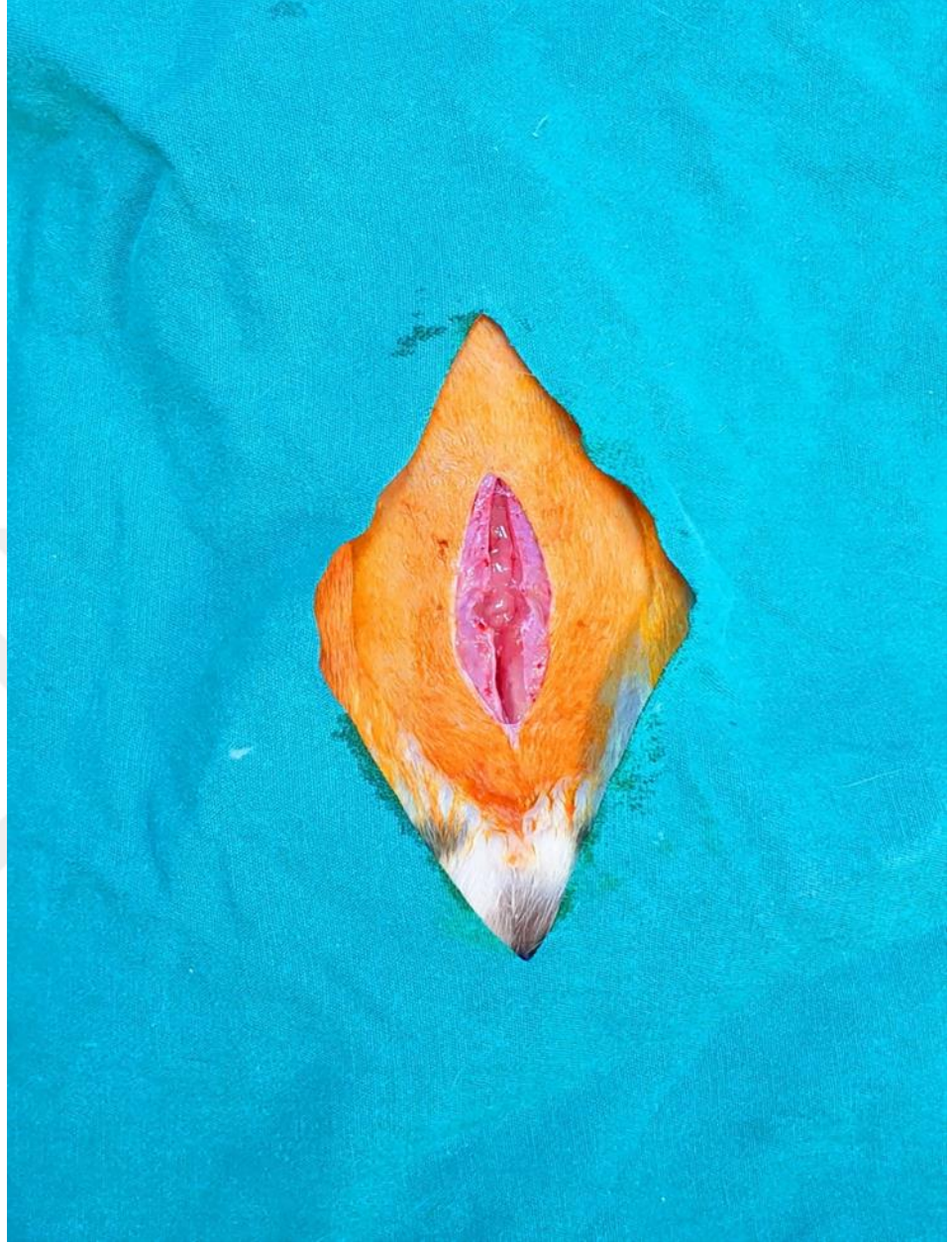
gerçekleştirildi (Fotograf 1). Ciltleri aseptik olarak hazırlanan ratlara orta hat laparotomi yapıldı (Fotograf 2 ve 3). Bağırsakların ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılmasının ardından İAA dikkatli bir şekilde explore edildi ve İAA'ya atravmatik mikrovasküler klemp konuldu (Fotograf 4 ve 5). 120 dakika sonra İAA'daki mikrovasküler klemp kaldırılarak 120 dakika süreyle reperfüzyon sağlandı. Aortik iskemi klempleme işlemi sırasında distal aortta pulsasyonun kaybolmasıyla, aortik reperfüzyon ise klempin kaldırılması sonrası distal aortta pulsasyonun geri gelmesiyle onaylandı. Böylece “no-reflow” fenomeni ekarte edilecektir. İskemi reperfüzyon dönemlerinde peritoneal boşluktan ısı ve sıvı kaybını en az miktara indirmek amacıyla İAA'ya klemp konulduğu ve kaldırıldığı dönemlerde, peritoneal boşluğa serum fizyolojik uygulandı ve batın insizyonu geçici olarak ıslak gazlı bez ile sarılarak kapatıldı. İskemi reperfüzyondan sonra intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verildi. Anestezi uygulanmasının ardından intrakardiyak alınan kan ile ötenazileri gerçekleştirildi. Ötenazi sonrasında her iki böbrek ve akciğer dokuları bütünlükleri bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alındı. Sağ böbrek ve sağ akciğer dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formol içine konuldu. Sol böbrek ve sol akciğer dokusu ise sıvı azot içinde dondurulduktan sonra biyokimyasal inceleme için -80°C de saklandı.

4. Ozon (Grup O): Bu gruptaki ratlara cerrahi işlemden 1 saat önce 1 mg/ kg O₃ (50 µmL) (Medozon kompakt, Herrmann Apparatebau GmbH) intraperitoneal olarak verildi(Fotograf 6). Daha sonra intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg

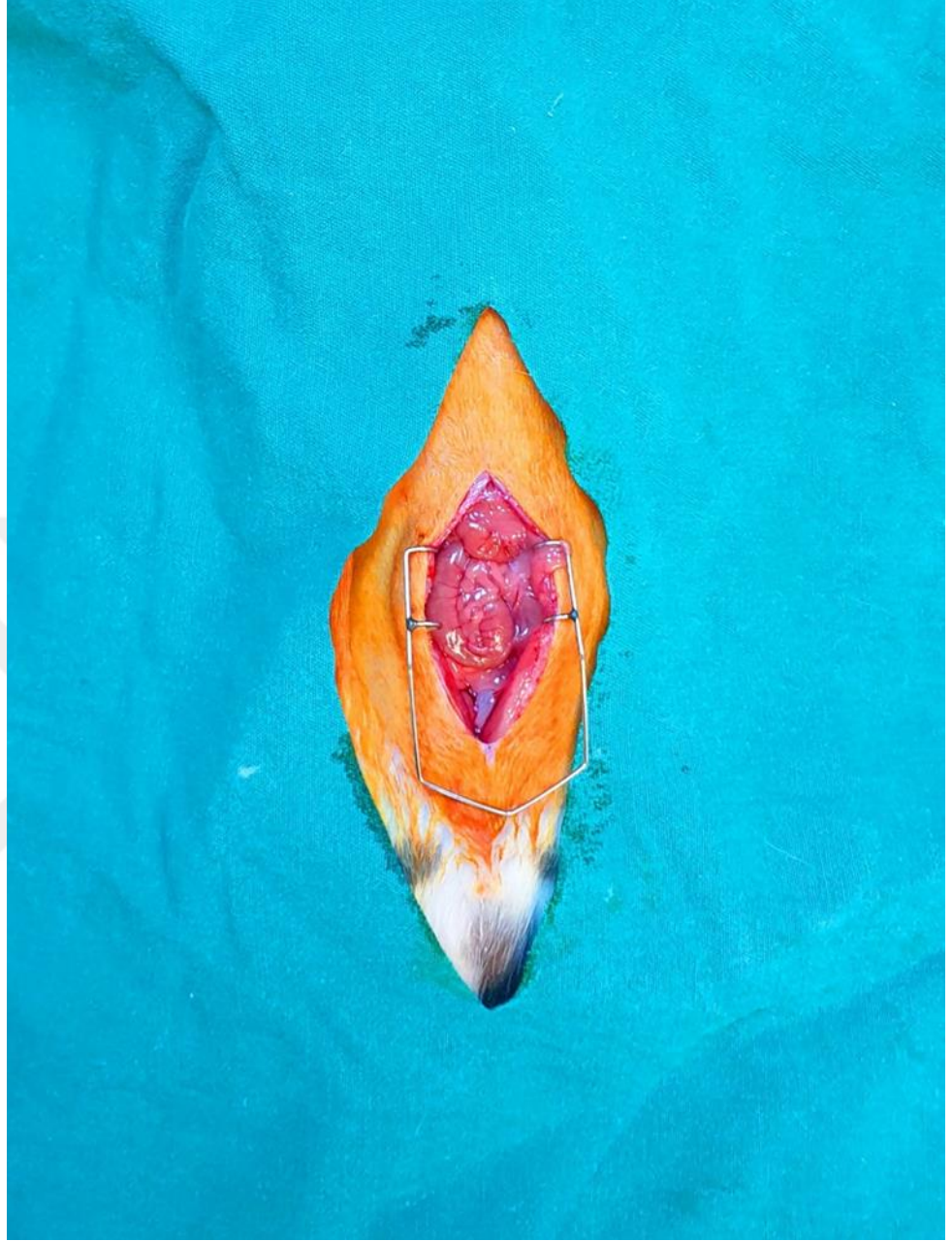
dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. Tüm işlemeler bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi(Fotograf 1). Anestezi uygulanmasının ardından orta hat laparotomi yapılarak sham operasyonu uygulandı(Fotograf 2 ve 3). Cerrahi işlemden 240 dakika sonra intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi uygulanmasının ardından intrakardiyak alınan kan ile ötenazileri gerçekleştirildi. Ötenazi sonrasında böbrek ve akciğer dokuları bütünlükleri bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alındı. Sağ böbrek ve sağ akciğer dokusu histopatolojik inceleme için %10'luk formol içine konuldu. Sol böbrek ve sol akciğer dokusu ise sıvı azot içinde dondurulduktan sonra biyokimyasal inceleme için -80°C de saklandı.



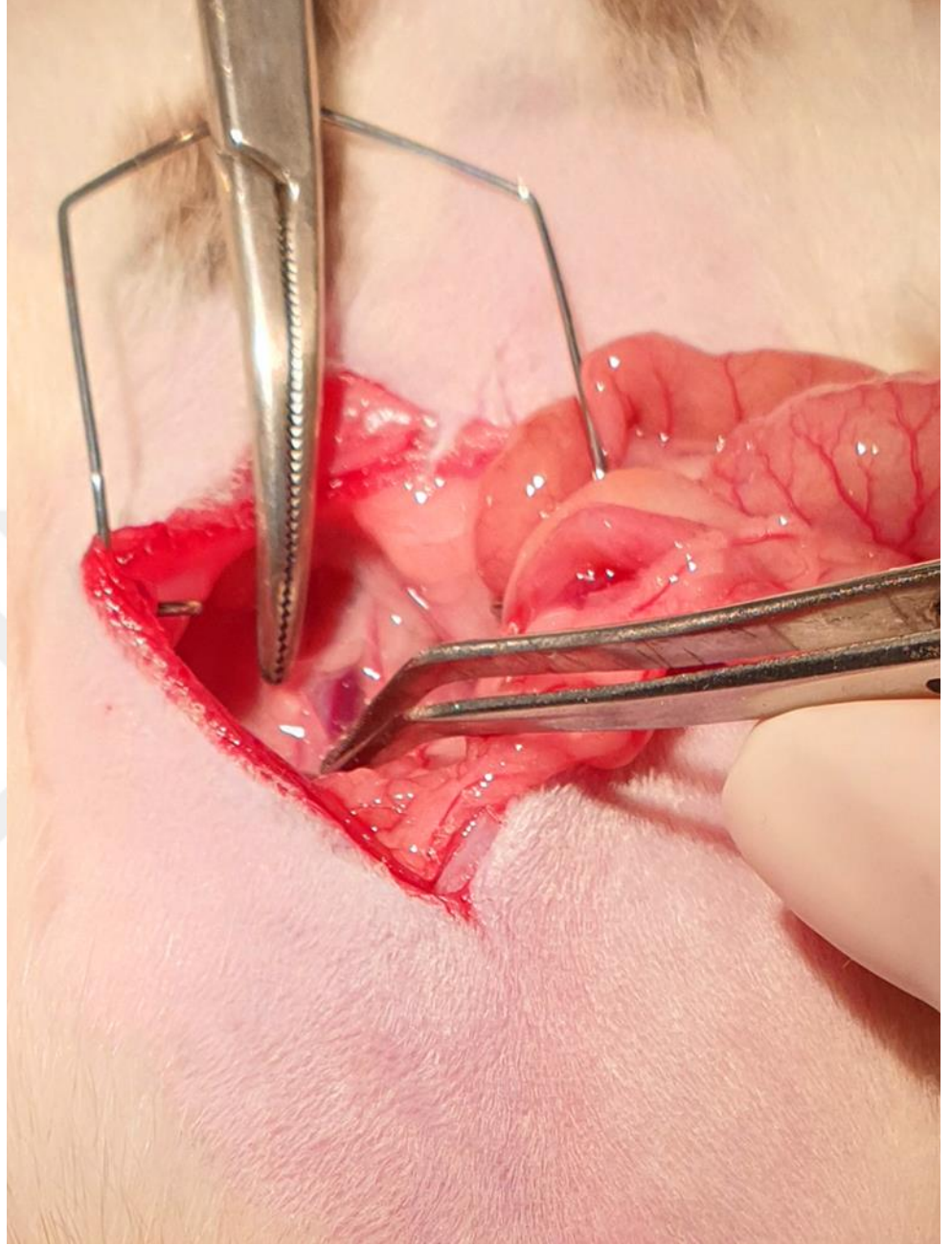
Fotograf 1. Anestezi sonrası cerrahi uygulanacak bölgenin traş edilmesi, steril edilmesi ve örtülmesi gösterilmiştir.



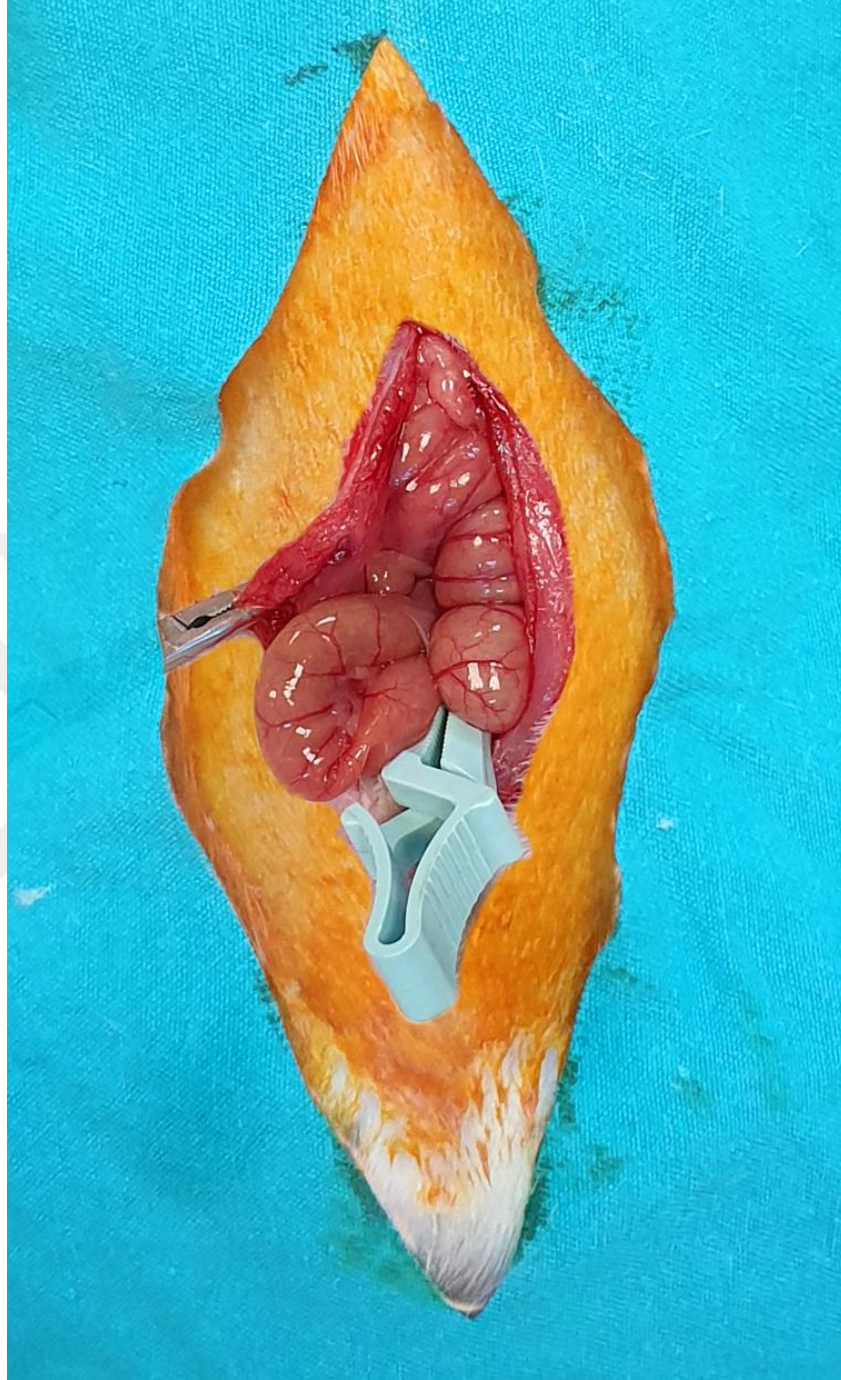
Fotograf 2. Uygun saha temizliği ve örtünmeyi takiben orta hatlı cilt insizyonu, cilt altı dokular ve kas yapılarının orta hattın kesilerek ayrılması gösterilmiştir. Laparotomi sonrası bağırsaklara ulaşılmıştır.



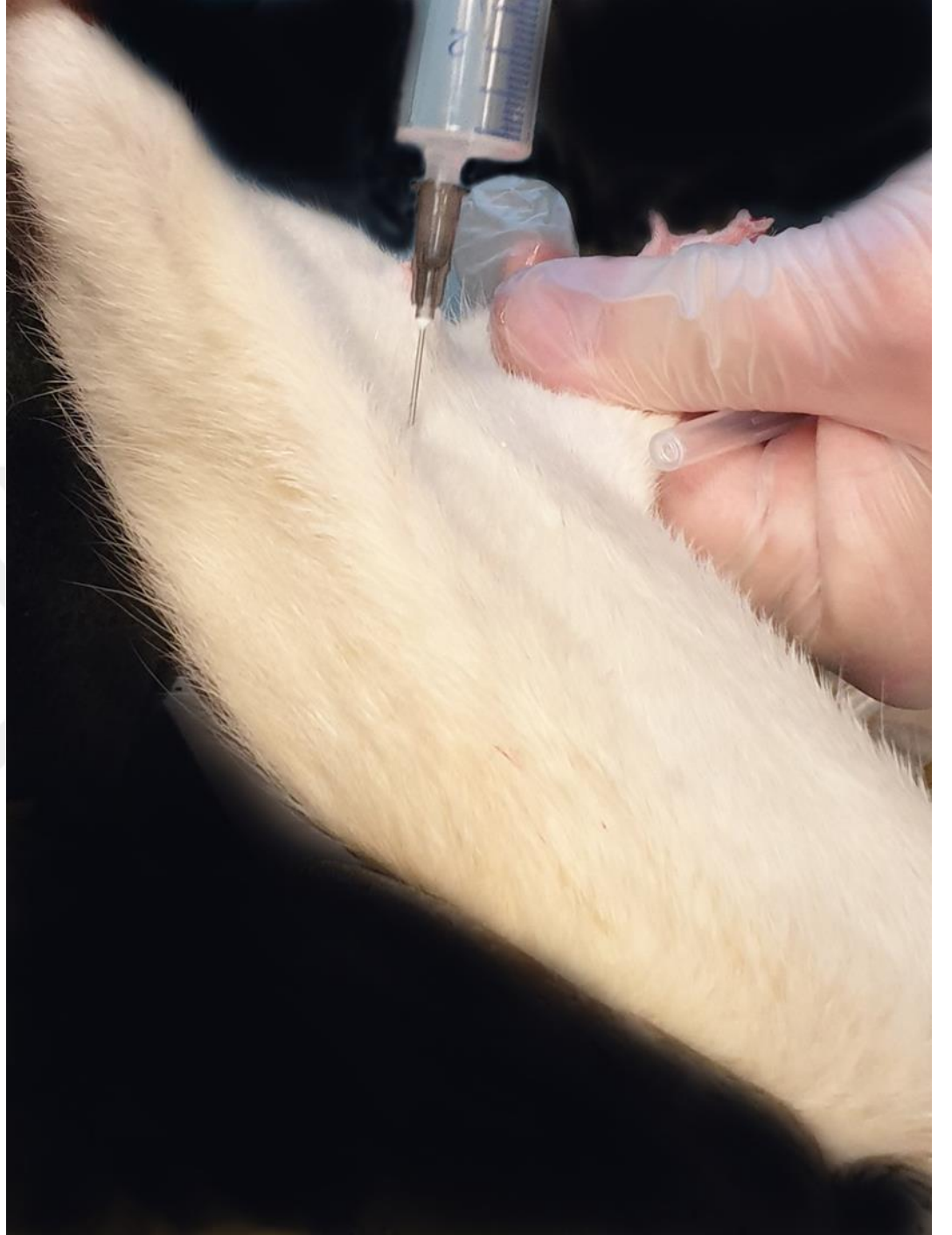
Fotograf 3. Laparotomi sonrası ekartör yerleştirilerek bağırsaklar ortaya konulmuştur.



Fotograf 4. Bağırsakların ekartasyonu sonrası Aort tespit edilmiştir. Vena kavadan ve çevresindeki bağ dokudan diseke edilerek ortaya konulmuştur.



Fotograf 5. Abdominal aorta çevre dokulardan ekarte edildikten sonra mikrovasküler klemp ile klemplenmiştir.



Fotograf 6. İR+Ozon grubunda cerrahi işlemden 60 dakika önce intraperitoneal ozon verilışı

3.4. Histopatolojik inceleme

Histopatolojik inceleme Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD'da yapıldı. Rutin tespit işlemleri yapılan böbrek ve akciğer parafin bloklara alınıp 5µ'luk kesitleri yapıldıktan sonra hematoksilin eozin ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi. Tüm örnekler deney gruplarından habersiz olan aynı histolog tarafından değerlendirildi. Böbrek hasarı; kesitlerde saptanan, glomerüler vakualizasyon (GV), tübüler dilatasyon (TD), vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi (VVH), tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz (THDN), Bowman kapsül dilatasyonu (BSD), tübüler hyalin silindirleri (THS), lenfosit infiltrasyonu (Lİ) ve tübüler hücre dökülmesine (THD) göre aşağıdaki skalaya uygun olarak semikantitatif olarak skorlandı: (–) değişiklik yok; (+) fokal, hafif değişiklikler, (++) multifokal belirgin değişiklikler ve (+++) yaygın belirgin değişiklikler açısından değerlendirildi.

Akciğerler hematoksilin ve eozin (H&E) boyanmış kesitlerde 200-400 kat büyütülmüş mikroskopi ile toplam 10 rastgele alan seçilerek değerlendirildi. Boyanan kesitler ışık mikroskobu altında incelendi. Nötrofil infiltrasyonu/agregasyonu ve alveolar duvar kalınlığı, akciğer hasarı alanının derecesini ortaya çıkarmak için her örnekte ölçüldü. Her 2 parametre (nötrofil infiltrasyonu ve alveolar duvar kalınlığı); yok (0 puan), sadece az (1 puan), orta miktarda (2 puan) veya şiddetli (3 puan) olarak puanlandı ve puanlar toplanarak, toplam akciğer hasarı belirlendi.

3.5. Biyokimyasal inceleme

Biyokimyasal inceleme Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD' de değerlendirildi. Akciğer ve dokularındaki oksidatif stresi değerlendirmek için katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri ile tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) düzeyleri ile lipid peroksidasyonu değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz SPSS 20,0 programıyla aşağıda sıralanan testler kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz verileri ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Ölçülebilen parametrelerde Kolmogorov-Smirnov testi ile dağılımın normal ya da anormal olup olmadığına bakıldı. Normal dağılım gösterenler için gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemede bağımsız gruplarda Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Farklılık olması durumunda gruplar arası Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılma yapıldı.

4.BULGULAR

Işık mikroskopisinde; GV düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.033$). İ/R grubunda kontrol ve O gruplarına göre GV daha fazla görülmüştür ($p=0.006$, $p=0.020$, sırasıyla). O₃ uygulaması İ/R grubuna göre GV anlamlı olarak azaltmıştır ($p=0.046$), (Tablo 1, Resim 1-8).

TD gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.019$). İ/R grubunda kontrol ve O gruplarına göre TD daha fazla görülmüştür ($p=0.004$, $p=0.012$, sırasıyla). O₃ uygulaması İ/R grubuna göre TD anlamlı olarak azaltmıştır ($p=0.040$), (Tablo 1, Resim 1-8).

VVH gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.043$). İ/R grubunda kontrol ve O gruplarına göre VVH daha fazla görülmüştür ($p=0.024$, $p=0.024$, sırasıyla). Ayrıca O-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.049$), (Tablo 1, Resim 1-8).

THDN gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.033$). İ/R grubunda kontrol ve O gruplarına göre THDN daha fazla görülmüştür ($p=0.006$, $p=0.020$, sırasıyla). Ayrıca O-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.046$), (Tablo 1, Resim 1-8).

THS gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.027$). İ/R grubunda kontrol ve O gruplarına göre THS daha fazla görülmüştür ($p=0.009$, $p=0.009$, sırasıyla). O₃ uygulaması İ/R grubuna göre THS'leri anlamlı olarak azaltmıştır ($p=0.032$), (Tablo 1, Resim 1-8).

Benzer şekilde THD gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p=0.049). İ/R grubunda kontrol ve O gruplarına göre THD daha fazla görülmüştür (p=0.009, p=0.032, sırasıyla), (Tablo 1, Resim 1-8).

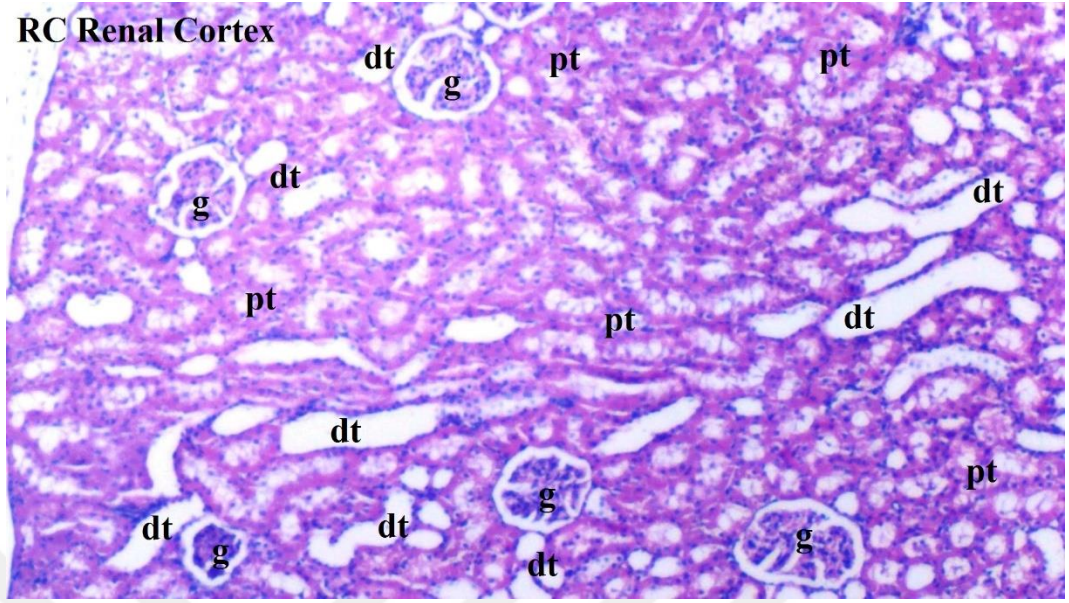
Lİ, BSD ve THS gruplar arasında benzer bulunmuştur (p=0.404, p=0.206, p=0.292, sırasıyla), (Tablo 1, Resim 1-8).

Tablo 1. Böbrek dokusu histopatolojik bulgular [Ortalama $\pm$ SH]

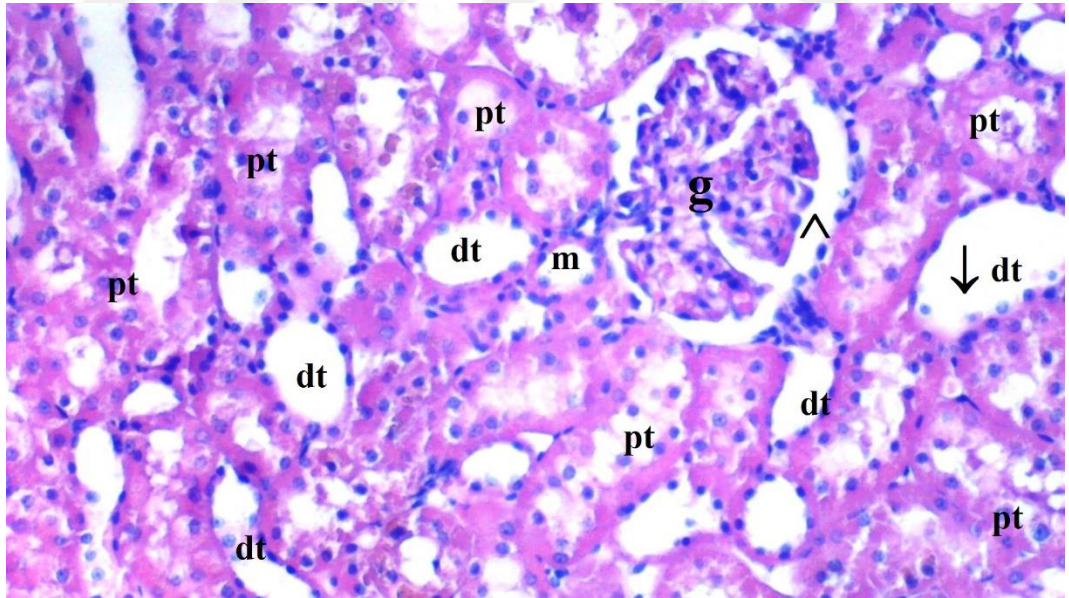
	Grup K (n=6)	Grup O (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup O-İ/R (n=6)	P**
Glomerüler vakualizasyon (GV)	0.17 $\pm$ 0.17	0.33 $\pm$ 0.21	1.17 $\pm$ 0.31*,&	0.50 $\pm$ 0.22+	0.033
Tübüler dilatasyon (TD)	0.33 $\pm$ 0.21	0.50 $\pm$ 0.22	1.33 $\pm$ 0.21*,&	0.67 $\pm$ 0.21+	0.019
Vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi (VVH)	0.33 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21	1.17 $\pm$ 0.31*,&	0.50 $\pm$ 0.22+	0.043
Tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz(THDN)	0.17 $\pm$ 0.17	0.33 $\pm$ 0.21	1.17 $\pm$ 0.31*,&	0.50 $\pm$ 0.22+	0.033
Bowman space dilatasyon (BSD)	0.33 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.37	0.33 $\pm$ 0.21	0.206
Tübüler hyalin silindirler (THS)	0.33 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21	1.17 $\pm$ 0.17*,&	0.50 $\pm$ 0.22+	0.027
Lenfosit infiltrasyonu (Lİ)	0.33 $\pm$ 0.21	0.50 $\pm$ 0.22	0.83 $\pm$ 0.17	0.50 $\pm$ 0.22	0.404
Tübüler hücre dökülmesi (THD)	0.33 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21	0.83 $\pm$ 0.17	0.50 $\pm$ 0.22	0.292

P**.: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05

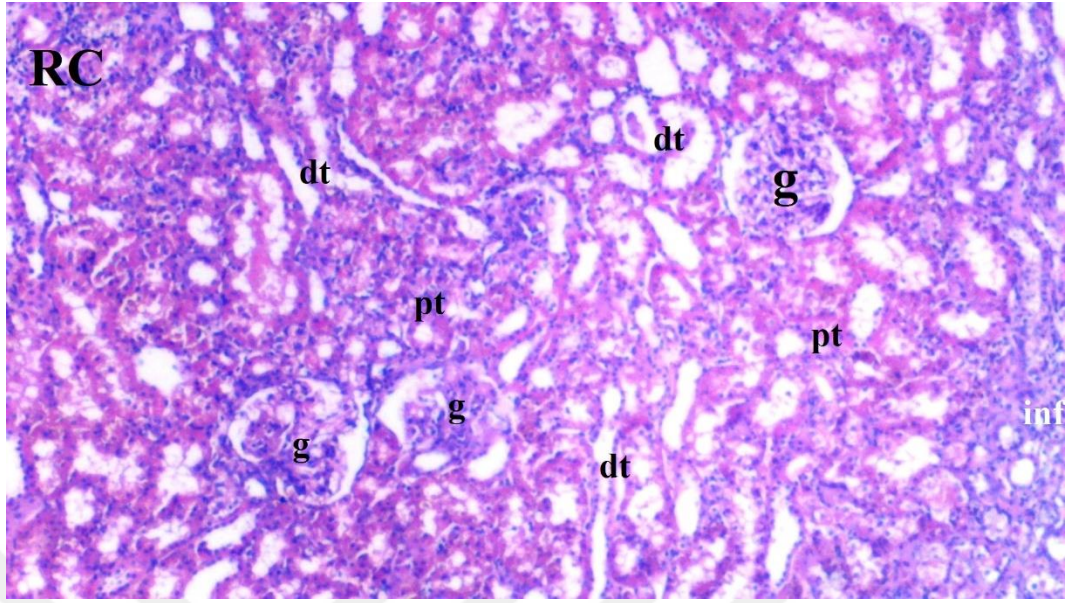
*p<0.05: Grup K ile karşılaştırıldığında; &p<0.05: Grup O ile karşılaştırıldığında; +p<0.05: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



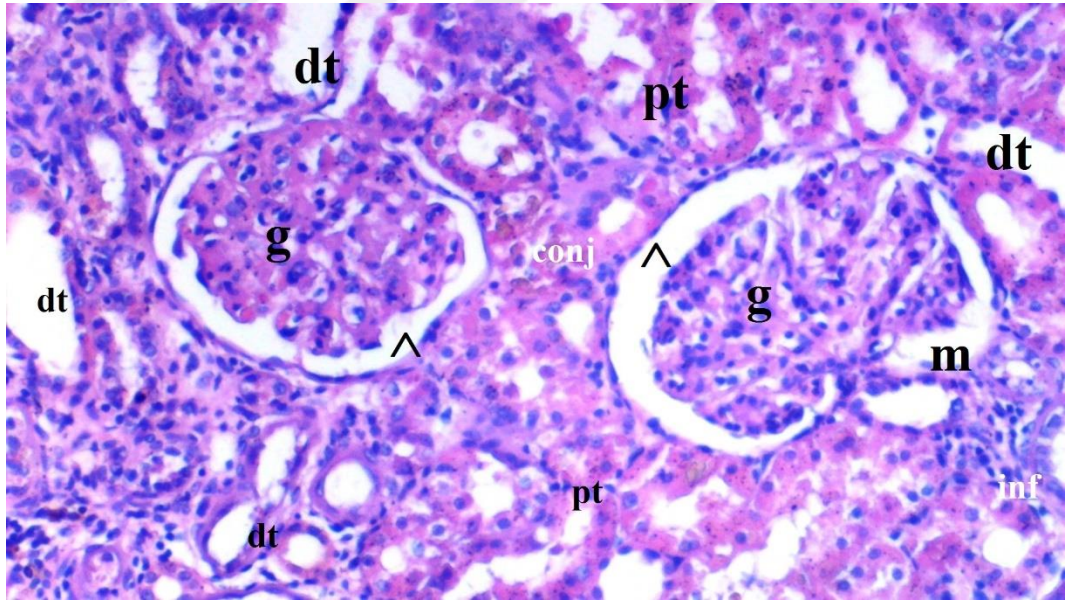
Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül) (H&EX40)



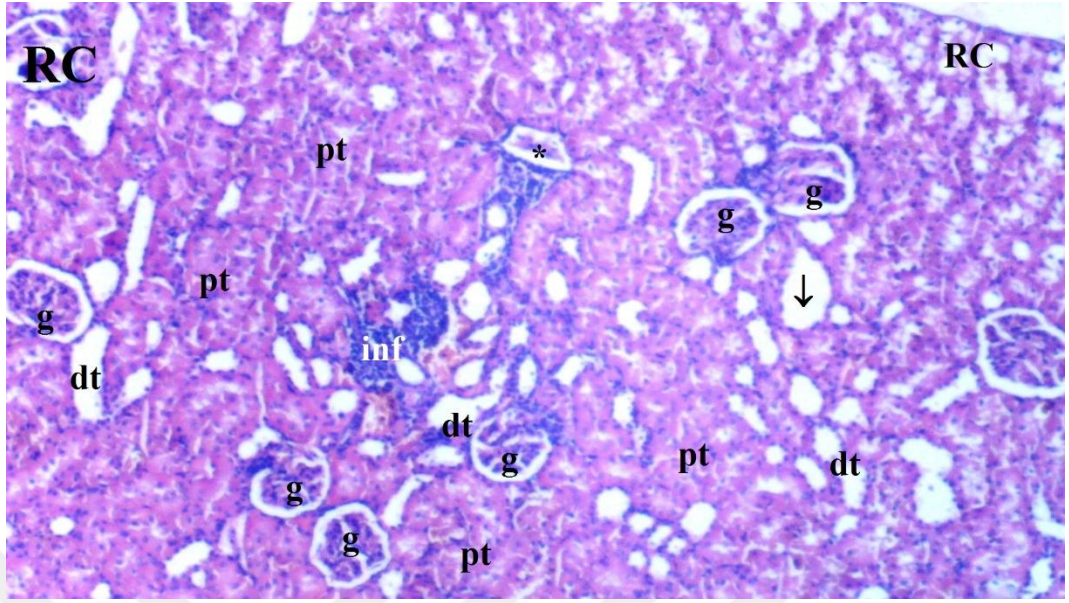
Resim 2. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, m: makula densa, ^: Bowman aralığı, ↓: dilate tübüller) (H&EX100)



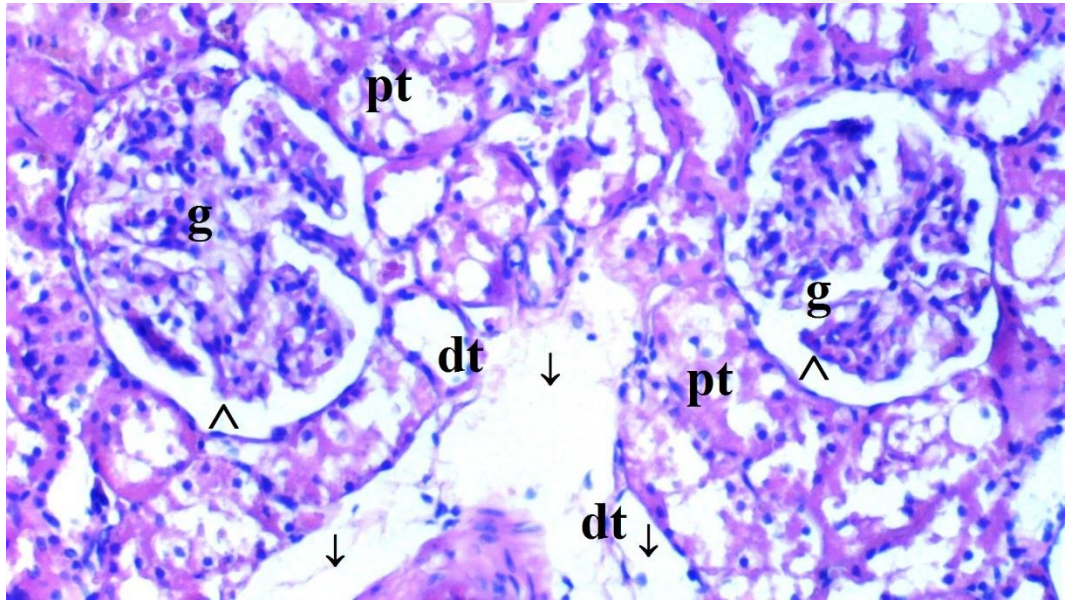
Resim 3. Ozon grubu böbrek dokusu (RC: renal korteks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, inf: inflamasyon) (H&EX40)



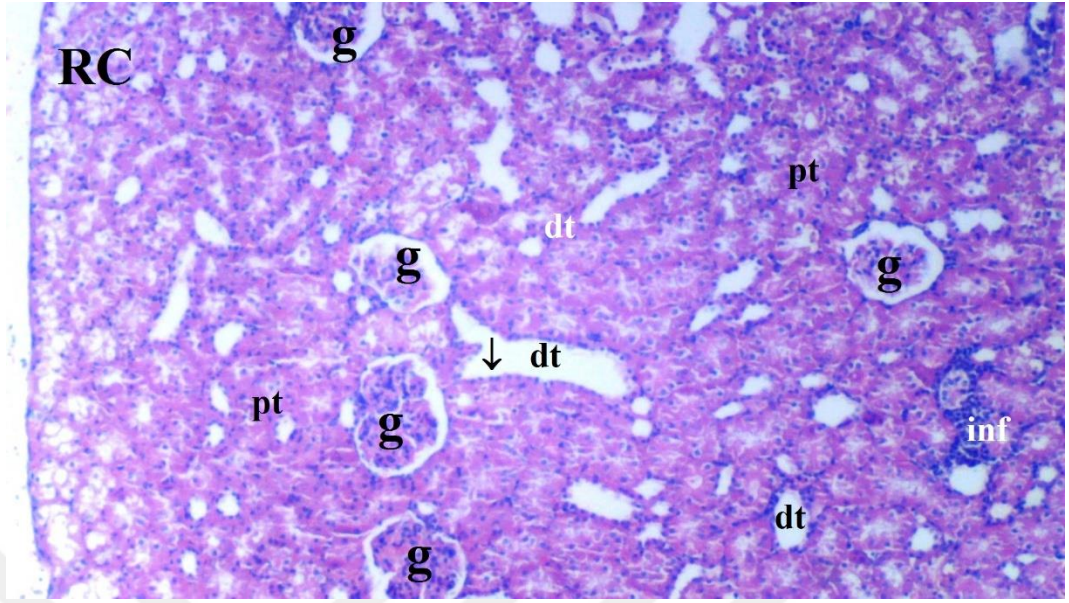
Resim 4. Ozon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, inf: inflamasyon, ^: Bowman aralığı, conj: kanjesyon) (H&EX100)



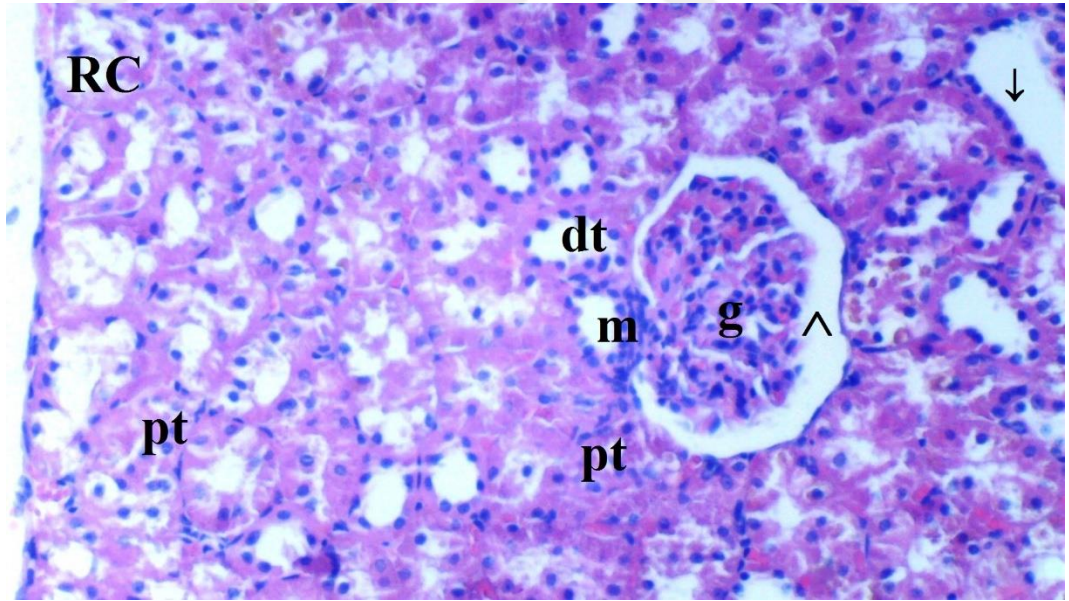
Resim 5. İR grubu böbrek dokusu (RC: renal korteks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, inf: inflamasyon) (H&EX40)



Resim 6. İR grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, ^: Bowman aralığı) (H&EX100)



Resim 7. Ozon+ İR grubu böbrek dokusu (RC: renal korteks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, inf: inflamasyon) (H&EX40)



Resim 8. Ozon+İR grubu böbrek dokusu (RC: renal kortks, pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ↓: dilate tübüller, ^: Bowman aralığı) (H&EX100)

Histopatolojik olarak incelendiğinde; nötrofil infiltrasyonu/agregasyonu İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.001$,

p=0.002, sırasıyla). Ayrıca İ/R grupta görülen nötrofil infiltrasyonu/agregasyonunda O₃ ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü (p=0.029), (Tablo 2, Resim 9-16).

Alveol duvar kalınlığı İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.001, p=0.003, sırasıyla). Ayrıca İ/R grupta görülen alveol duvar kalınlığında O₃ ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü (p=0.024), (Tablo 2, Resim 9-16).

Tablo 2: Rat akciğer dokusu histopatolojik bulguları [Ort ± SH]

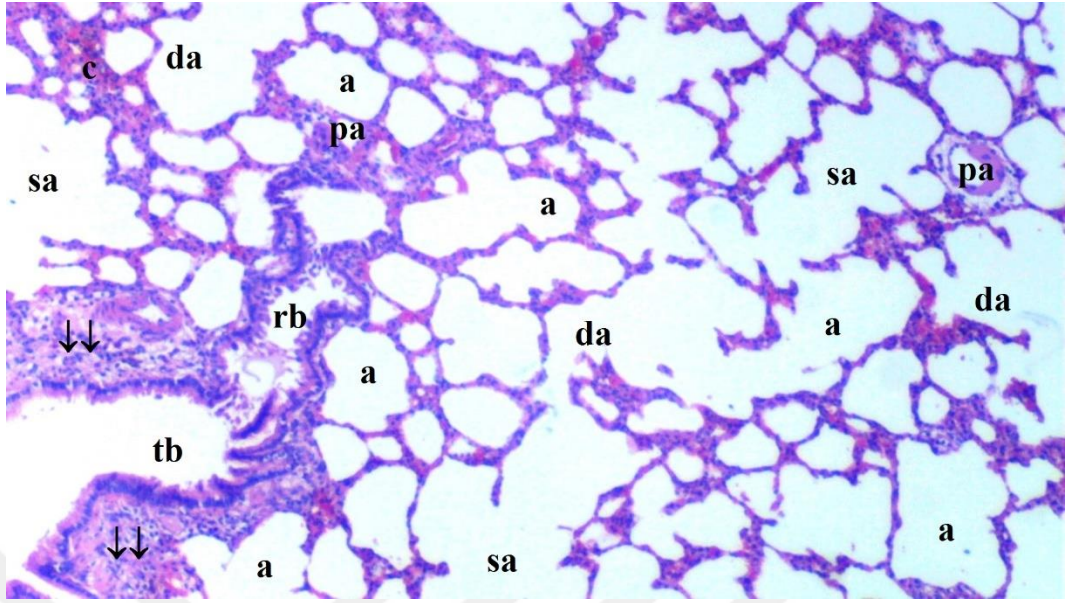
	Grup K (n=6)	Grup O (n=6)	Grup İ/R (n=8)	Grup O-İ/R (n=8)	P**
Nötrofil infiltrasyonu/agregasyonu	0.17±0.17	0.33±0.21	1.33±0.21*,&	0.67±0.21+	0.003
Alveol duvar kalınlığı	0.17±0.17	0.33±0.21	1.50±0.34*,&	0.67±0.21+	0.004
Toplam skor	0.33±0.21	0.67±0.42	2.83±0.31*,&	1.33±0.42+	<0.0001

p**: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05

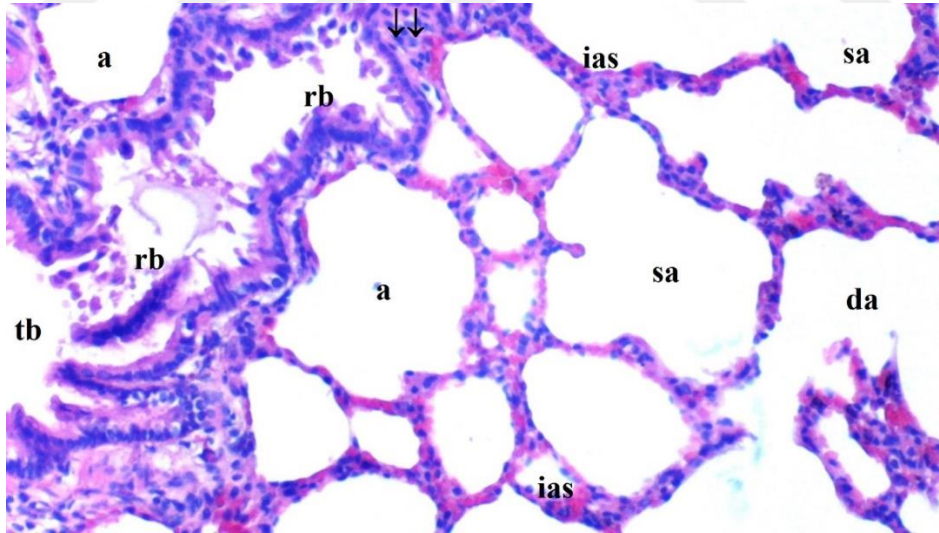
*p<0.05: Grup K ile karşılaştırıldığında; &p<0.05: Grup O ile karşılaştırıldığında;

+p<0.05: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

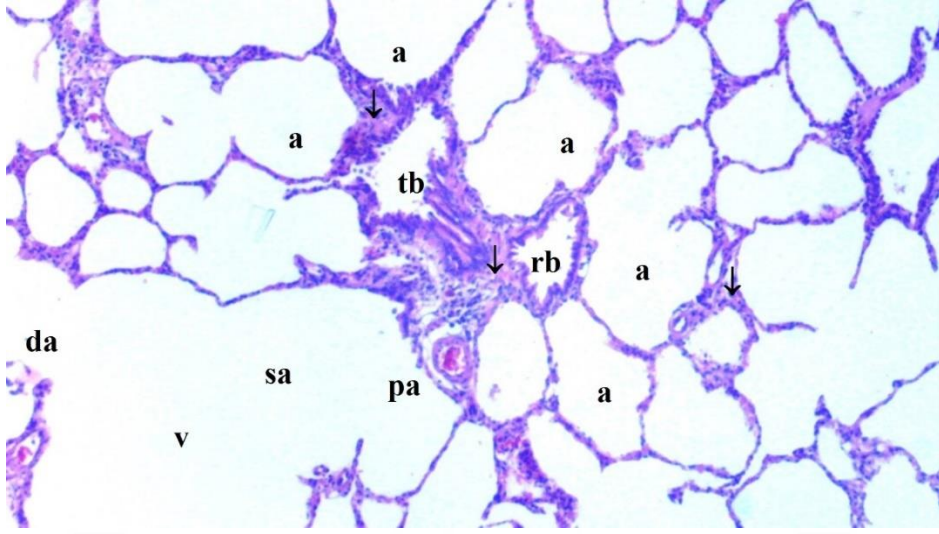
Total akciğer hasarı skoru İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.0001, p<0.0001, sırasıyla). Ayrıca İ/R grupta görülen total akciğer hasarı skorunda O₃ ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü (p=0.007), (Tablo 2, Resim 9-16).



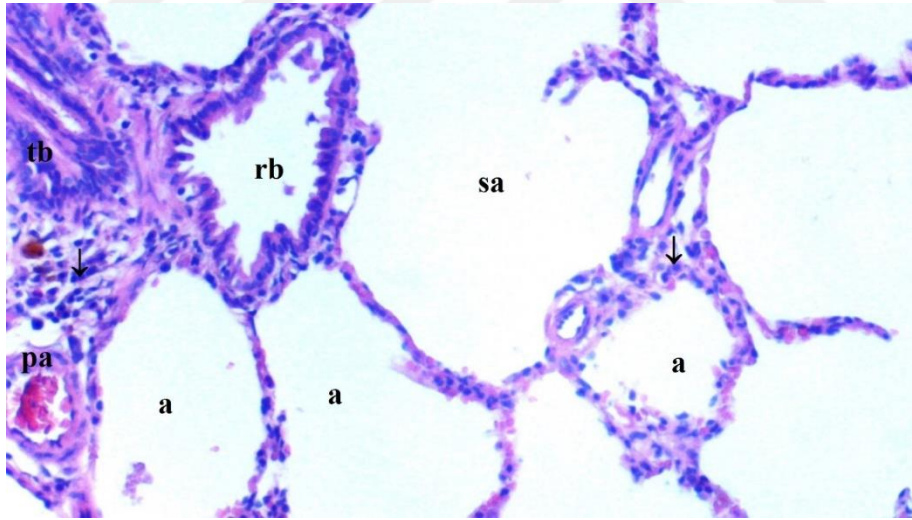
Resim 9. Kontrol grubu normal akciğer dokusu (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, ias: interalveoler septum, ↓↓ (septum) kalınlaşması, pa: pulmoner arter dalları, e: eritrosit) (H&EX40)



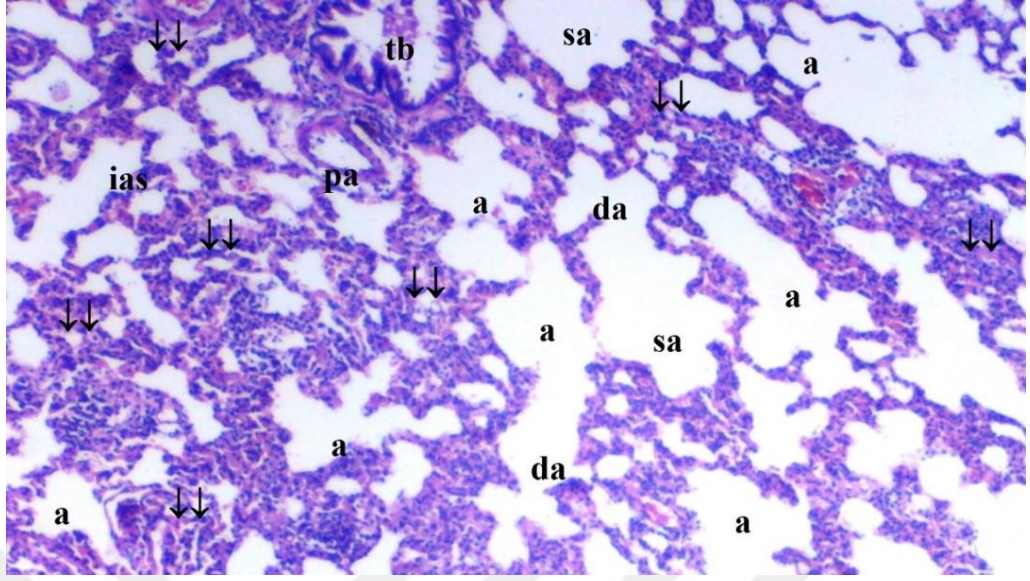
Resim 10. Kontrol grubu normal akciğer dokusu (a: alveoller, tb:terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, ias: interalveoler septum, ↓↓ (septum) kalınlaşması, da: ductus alveolaris, rb: respiratuar bronşiol) (H&EX100)



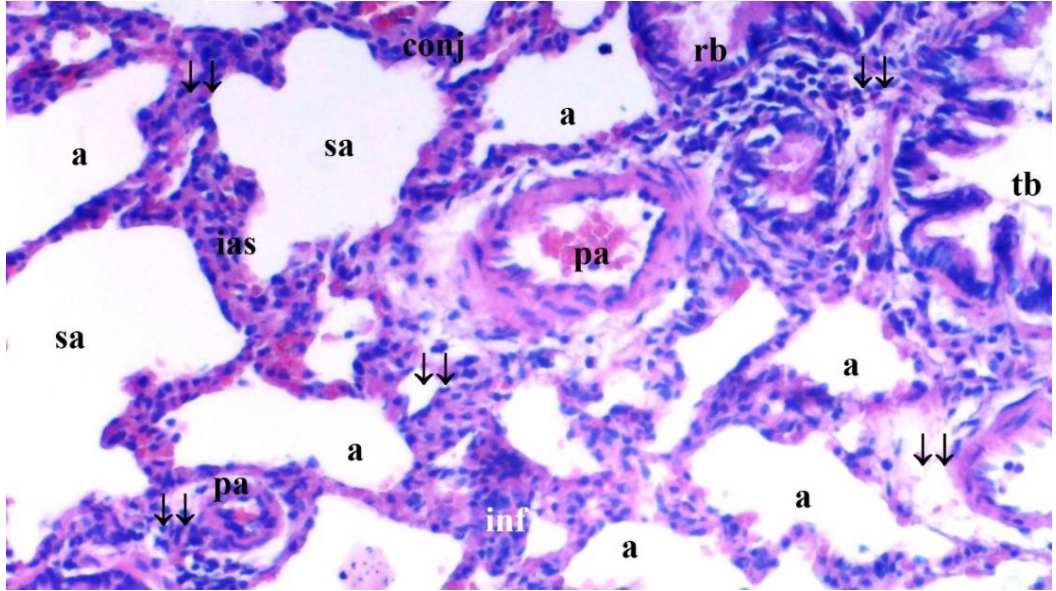
Resim 11. Ozon grubu akciğer dokusu (a: alveoller, tb:terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, rb: respiratuar bronşiol, da: ductus alveolaris, pa: pulmoner arter dalları, ↓: pulmoner damar, v: amfizematöz alveoler vakuol) (H&EX40)



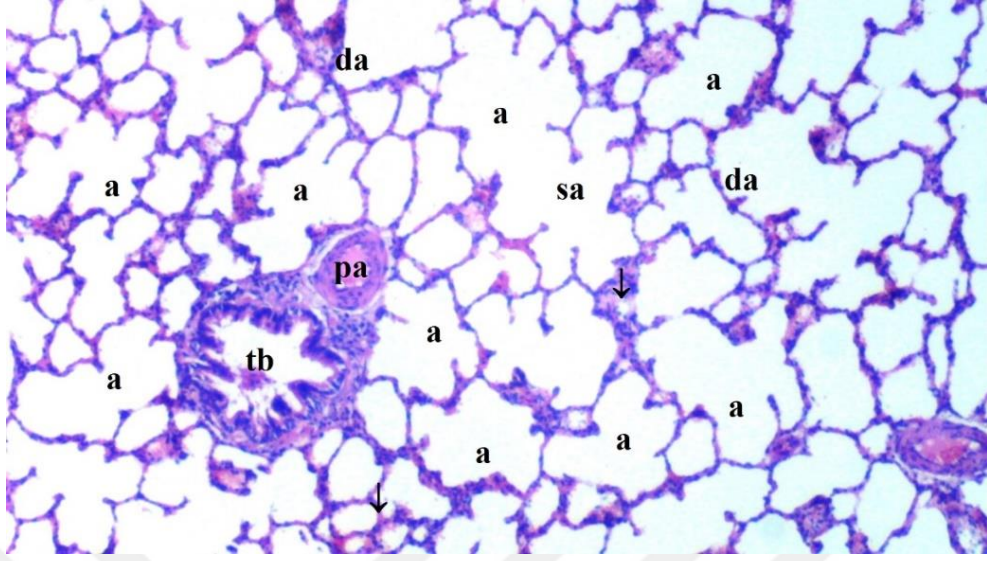
Resim 12. Ozon grubu akciğer dokusu (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, sa: saccus alveolaris, rb: respiratuar bronşiol, pa: pulmoner arter dalları, ↓: pulmoner damar) (H&EX100)



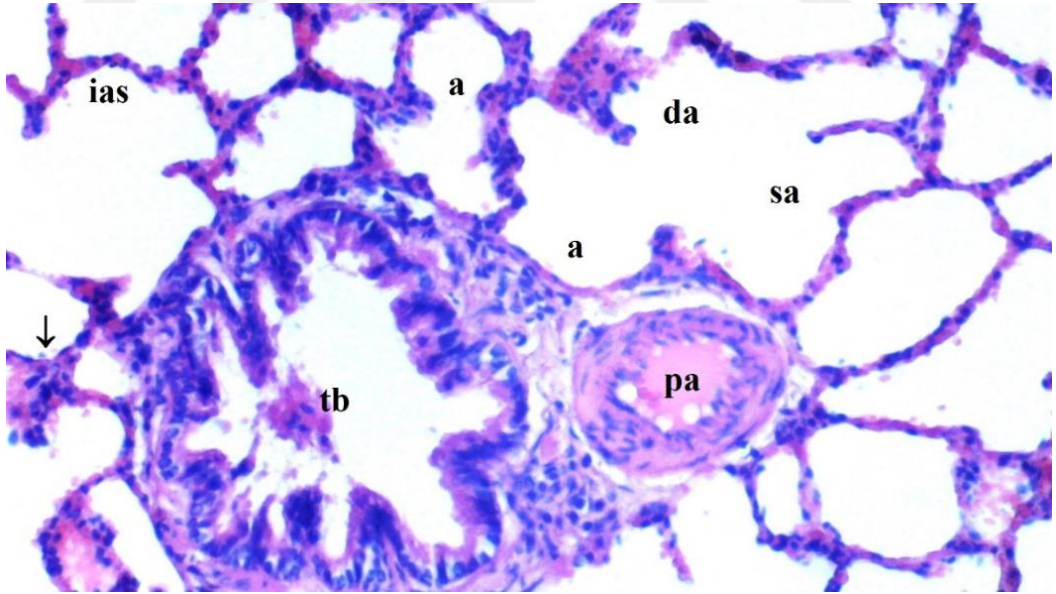
Resim 13. İR grubu orta-ciddi nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, da: ductus alveolaris, ↓↓: (septum) kalınlaşması, ias: interalveoler septum, pa: pulmoner arter dalları, sa: saccus alveolaris, tb: terminal bronşiol) (H&EX40)



Resim 14. İR grubu orta-ciddi nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, da: ductus alveolaris, ↓↓: (septum) kalınlaşması, ias: interalveoler septum, pa: pulmoner arter dalları, sa: saccus alveolaris, tb: terminal bronşiol, conj: kapiller konjesyon, inf: İnflamasyon) (H&EX100)



Resim 15. Ozon+ İR grubu hafif nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, da: ductus alveolaris, sa: sakkus alveolaris) (H&EX40)



Resim 16. Ozon+ İR grubu hafif nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında artma (a: alveoller, tb: terminal bronşiol, da: ductus alveolaris, sa: sakkus alveolaris, pa: pulmoner arter dalları, ↓: pulmoner damar) (H&EX100)

Gruplar akciğer dokusunda CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.021$). CAT enzim aktivitesi, İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.006$, $p=0.033$, sırasıyla). O-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.008$), (Tablo 3).

Gruplar akciğer dokusunda TBARS düzeyi açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.007$). TBARS düzeyi İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.001$, $p=0.007$, sırasıyla). Ayrıca, O-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.044$), (Tablo 3).

Gruplar akciğer dokusunda SOD enzim aktivitesi açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.010$). SOD enzim aktivitesi İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.003$, $p=0.004$, sırasıyla). Ayrıca, O-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.017$), (Tablo 3).

Tablo 3. Akciğer dokusu oksidan durum parametre [Ortalama $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup O (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup O-İ/R (n=6)	p**
CAT (IU/mg.protein)	35.04 $\pm$ 1.62	31.00 $\pm$ 4.40	18.88 $\pm$ 4.45*,&	34.49 $\pm$ 3.80+	0.021
TBARS (nmol/mg.protein)	1.05 $\pm$ 0.19	1.22 $\pm$ 0.24	2.11 $\pm$ 0.28*,&	1.64 $\pm$ 0.09+	0.007
SOD (U/mg.protein)	3.10 $\pm$ 0.21	3.08 $\pm$ 0.20	2.07 $\pm$ 0.17*,&	2.87 $\pm$ 0.28+	0.010

p**; Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında; & $p < 0.05$: Grup O ile karşılaştırıldığında;

+ $p < 0.05$: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

Gruplar böbrek dokusunda CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.046$). CAT enzim aktivitesi, İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.008$, $p=0.038$, sırasıyla), (Tablo 4).

Gruplar böbrek dokusunda TBARS düzeyi açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.002$). TBARS düzeyi İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.001$, $p=0.001$, sırasıyla). Ayrıca, O_3 uygulanan İ/R grubunda ise İ/R grubuna göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.023$), (Tablo 4).

Gruplar böbrek dokusunda SOD enzim aktivitesi açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.033$). SOD enzim aktivitesi İ/R grubunda K ve O gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.011$, $p=0.012$, sırasıyla), (Tablo 4).

Tablo 4. Böbrek dokusu oksidan durum parametre [Ortalama $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup O (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup O-İ/R (n=6)	P**
CAT (IU/mg.protein)	28.74 $\pm$ 6.86	23.48 $\pm$ 4.91	7.22 $\pm$ 2.40*,&	17.81 $\pm$ 5.47	0.046
TBARS (nmol/mg.protein)	0.97 $\pm$ 0.11	0.94 $\pm$ 0.13*	2.69 $\pm$ 0.48*,&	1.59 $\pm$ 0.37+	0.002
SOD (U/mg.protein)	2.86 $\pm$ 0.31	2.83 $\pm$ 0.54	1.47 $\pm$ 0.24*,&	2.16 $\pm$ 0.20	0.033

P***: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında; & $p < 0.05$: Grup O ile karşılaştırıldığında;

+ $p < 0.05$: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

5.TARTIŞMA

İskemi, özellikle arteryal sistemdeki bir patolojiye bağılı olarak organların yeterli ölçüde kanlanmasının sağlanamadığı klinik durumdur. Hipoksiye bağılı hücrelerin enerji yolaklarını yeterince çalıştıramaması ve biriken metabolitlerin uzaklaştırılamaması sebebiyle öncelikle geri dönüşlü daha sonra kalıcı doku hasarı meydana gelir.

İR hasarı ise, iskemik durum sonrası kanlanmanın yeniden sağlanmasından sonra iskeminin doku üzerindeki olumsuz etkilerin paradoksal olarak düzelmek yerine daha da arttığı klinik bir durumdur. Etki mekanizması halen net olarak bilinmemekle beraber İR hasarının re-oksijenasyona bağılı hücre içi artmış kalsiyum konsantrasyonu, artmış sistemik inflamatuvar yanıt, mitokondrial/lizozomal permeabilitesinde artış, endotelial disfonksiyon gibi sebeplerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

İR hasarı iskemik kalan dokunun, vücudun kendi fibrinolitik yolları ile yeniden kanlanmasını sağlamasıyla gerçekleşebileceğı gibi, embolektomi, aterosklerotik arterlere balon anjioplasti ya da stent gibi tedaviler sonrasında da meydana gelebilmektedir. Ayrıca vasküler cerrahiler sırasında işlem yapılan damara konulan klemp sonrası iskemik kalan dokuya, cerrahi işlemin sonunda klempin kaldırılması ile tekrar kan akımı sağlanması ile olmaktadır. Özellikle abdominal aortaya yapılan cerrahi müdahaleler sırasında aort klemplenmekte, ve alt ekstremiteler dakikalar hatta bazen saatler boyunca iskemik kalabilmektedir. Buna sekonder olarak cerrahi bitiminde klempin kaldırılması ile tekrar doku kanlanması sağlanmaktadır. İR hasarında bu yeniden kanlanma ile, hem iskemik kalan dokuda

hem de sistemik pro-inflamatuar mediatörler aracılığıyla uzak organlarda bir hasara neden olmaktadır.

Çalışmamızda İR modeli, ratların infrarenal abdominal aortası 120 dakika klemplenerek taklit edilmiştir. 120 dakikalık iskemiye takiben klemp kaldırılarak 120 dakika boyunca dokuların yeniden kanlanması sağlanmıştır. İşlem öncesi bir gruba O₃ tedavisi verilerek, O₃'ün İR hasarı üzerindeki etkisini gözlemlemek amaçlanmıştır. Bu modelde alt ekstremité iskemisi sonrası meydana gelen iskemi reperfüzyon hasarının akciğer ve böbrek gibi iki ana organ grubundaki sistemik hasarın etkisi O₃ tedavisi ile beraber incelenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen veriler istatistiksel olarak O₃'ün böbrek ve akciğer dokusundaki İR hasarı etkilerini azalttığı şeklinde sonuçlanmıştır.

O₃ tedavisi alan İR hasarı grubunda histolojik olarak glomerüler vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi, tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz, tübüler hyalin silindirleri; O₃ tedavisi verilmemiş iskemi reperfüzyon hasarı grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ancak Bowman aralığı dilatasyonu, lenfosit infiltrasyonu ve tübüler hücre dökülmesi arasında O₃ verilen ve verilmeyen İR grupları arasında farklılık gözlenmemiştir.

Çalışmamızda böbrek preparatları biyokimyasal olarak incelendiğinde O₃ verilen İR grubunda, O₃verilmeyen İR grubuna TBARS düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu da O₃ tedavisinin sistemik İR hasarının böbrek üzerindeki etkilerini azalttığını göstermektedir. Süperoksit dismutaz ve CAT enzim aktivitelerine bakıldığında İR grubunda, yalnızca O₃ verilen gruba ve kontrol

grubuna göre yüksek bulunurken, O₃ ile tedavi edilen İR grubuyla arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilememiştir.

Çalışmamızda İR hasarının sistemik etkileri akciğer açısından da değerlendirilmiş olup, O₃ verilen İR grubunda akciğerde meydana gelen nötrofil infiltrasyonu/agregasyonu, alveol duvar kalınlığı ve toplam skor olarak, O₃ tedavisi verilmeyen İR hasarı grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu da O₃'un akciğer üzerinde de sistemik İR hasarını önlediğine dair kanıt sağlamıştır.

Son olarak akciğer üzerinde yapılan biyokimyasal analizde O₃ verilen İR hasarı grubunun CAT, SOD enzim aktiviteleri ve TBARS düzeyleri bakımından O₃ verilmeyen İR grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunduğu gözlenmiştir.

Böylece hem böbrek, hem de akciğer dokusu üzerinde O₃ verilen İR hasarı grubunun O₃ verilmeyen gruba göre gerek biyokimyasal, gerekse histolojik olarak çok daha az hasar oluştuğu gözlenmiştir.

Chen ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı çalışmada İR hasarına ozonun etkisi incelenmiştir (65). Bu çalışmada renal cerrahi ve renal transplantasyon sonrası sık bir renal yetmezlik nedeni olan İR hasarına ozonun koruyucu etkisi araştırılmıştır. Renal iskemiye uğratılan ratlara ozon (1mg/kg) uygulanan ve uygulanmayan gruplar karşılaştırılmış ve ozon grubunda iskemi sonrası inflamasyon ve apoptoz oranlarının azaldığı görülmüştür. Bizim çalışmamızdan farklı olarak iskemi doğrudan renal dokuya uygulanmış ve renal arterler klemplenmiştir. Böylece ozonun İR hasarının uzak organ üzerindeki etkisine değil, doğrudan iskemik doku üzerindeki etkisi incelenmiştir (65).

Wang ve arkadaşları renal İR sonrası 8 haftalık sürede renal interstisyel fibrozis gelişimini değerlendirdikleri çalışmalarında, O₃ verilen ve verilmeyen grupta BUN (Blood Urea Nitrogen= kan üre azotu) ve kreatinin değerleri arasında kronik dönemde istatistiksel olarak farklılık bulunmamasına rağmen, immunohistokimyasal boyamada O₃ verilen grupta daha az fibrozis geliştiği gösterilmiştir (66).

Torlak ve arkadaşları alt ekstremitte iskemisi sonrası meydana gelen reperfüzyonun akciğer, kas, karaciğer, kalp, böbrek üzerindeki etkilerini O₃ tedavisi ile beraber incelenmiştir. Yapılan histolojik ve biyokimyasal testler sonucunda O₃ tedavisinin İR hasarının hem lokal hem de sistemik etkilerini azalttığı saptanmıştır (67).

Wang ve ark.ları tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise O₃'un akciğer dokusundaki İR hasarı üzerindeki etkisi incelenmiştir (68). Bu çalışmada ratlar üzerinde 1 saatlik akciğer iskemisi ve takiben 10 günlük reperfüzyon periyodu sonrası O₃ kullanımının nuklear factor (erytroid-derived 2) like 2 (Nrf2) üzerinden akciğer dokusundaki apoptozu azaltarak İR hasarını azalttığı gösterilmiştir. Böylece ozonun kardiyak by-pass, kalp transplantasyonu ve diğer kardiyak cerrahi müdahalelerde postop sistemik inflamasyonu ve uzak organ hasarını engellemeye yönelik koruyucu bir ajan olabileceğinden bahsedilmiştir.

Filippo CD ve arkadaşları tarafından ratlar üzerinde yapılan çalışmada O₃'un myokardial dokudaki İR hasarı üzerindeki etkisi incelenmiştir. İR hasarından 1 saat önce ratlara 100, 150 ve 300 mikrogram kilogram dozlarda O₂ / O₃ karşımları verildiğinde, myokardiyal dokuda İR hasarına karşı O₃'un etkili bir ajan olduğu

gösterilmiştir. Bu çalışmada kardiyak koruyucu etkinin 150 mikrogram/kilogramda başladığı ancak maksimum etkinin 300 mikrogram/kilogramda olduğu gösterilmiştir (69).

Mete ve arkadaşları tarafından testis torsiyonunda intraperitoneal veya intratestiküler yolla O₃ verildiğinde İR hasarını önlemede lokal uygulamanın daha etkili olduğunu göstermişlerdir (70).

Wang ve arkadaşları renal transplantasyon sonrası greftte oluşan inflamasyon ve oksidatif stres üzerinde O₃'ün düzenleyici etkisi araştırılmış olup transplantasyon sonrası anti-oksidatif mekanizmalarla greftteki inflamasyonu azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (71).

Sancak ve arkadaşlarının yeni zelandalı tavşanları üzerinde yaptıkları çalışmada O₃ ile zenginleştirilen majör otohemoterapinin renal İR hasarını, serbest oksijen radikal yanıtını düzenleyerek azalttığı histopatolojik olarak gösterilmiştir (72).

Kal ve arkadaşları tarafından yine ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada renal İR hasarının O₃ tedavisi ile azaltılabileceği gösterilmiştir (73). Jiang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada O₃ tedavisinin renal İR hasarının uzun dönem etkilerinde de koruyucu olduğu serum BUN, kreatin seviyeleri ve histolojik inceleme ile kanıtlanmıştır (74).

Wang ve ark.ları tarafından ratlar üzerinde O₃'ün mitokondrial MAPK (Mitogen Aktive Protein Kinaz) yolağının aktivasyonunu engelleyerek renal İR hasarını azalttığı gösterilmiştir (75).

Chen ve arkadaşları tarafından O₃'un sadece renal İR hasarını azaltmada değil, aynı zamanda iskemik hasarı azaltmada da etkili olduğu gösterilmiştir. Her iki etkisi de ağırlık olarak nitrik oksit yolları üzerinden olduğu öne sürülmüştür (76).

Leon ve arkadaşları tarafından karbon tetraklorür ile hepatosellüler hasarı oluşturulan ratlarda 50 µg/ml O₃ konsantrasyonu ile günde bir kez 4.4-5.0 ml olmak üzere 15 doz O₃'un oksidatif stresi, serbest radikaller üzerinden azalttığı gösterilmiştir (77).

Xing ve arkadaşları 45 dakikalık renal iskemi sonrası günde bir kez 1 mg/kg olacak şekilde 15 doz rektal insüstasyon ile O₃ tedavisi uygulandığında O₃ 'un TNF-alfa (Tümör nekroz faktörü), IL-1 (İnterlökin), IL-6, ICAM-1 (Hücre içi adhezyon molekülü-1) ve MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) sitokinlerinin üretimini mRNA üzerinden baskılayarak koruyucu etkisinin olduğunu gösterilmişlerdir (78).

Meng ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı çalışmada 5 gün boyunca günde bir kez 2 ml 100 µg/kg/gün verilen O₃'un mitokondrial hasarı ve apoptozu azaltarak, kardiyak İR hasarında etkili olduğunu göstererek kardiyak transplantasyon ve kardiyak by-pass cerrahisinde kardiyak hasarı önlemede etkili bir ajan olabileceği öne sürülmüştür (79). Koçyiğit ve arkadaşları Wistar ratları üzerinde yaptıkları çalışmada, infrarenal abdominal aortun 60 dakika klemplenmesi ve 60 dakika sonrasında klempin açılması ile iskemi ve reperfüzyon sağlandı. O₃ tedavisinin myokardiyal dokuda İR hasarını azalttığını; süperoksid dismutaz, katalaz,

troponin seviyesindeki azalmalar ve ayrıca histopatolojik incelemeler ile göstermişlerdir (80).

Önal ve arkadaşları tarafından intestinal mukoza üzerinde O₃'un etkisinin incelendiği çalışmada, O₃ + İR grubuna beş gün süreyle intraperitoneal olarak 1 mg/kg dozda O₃ verilip 6.gün bir saat süperior mezenterik arter oklüzyonu ve ardından iki saatlik reperfüzyon ile İR modeli oluşturulmuş. O₃ + İR grubunda bağırsak epitel bütünlüğü korunmuş ve bağırsak yaralanma skorunda azalma tespit edilmiştir. Süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz değerleri ile toplam antioksidan kapasite parametresi O₃ verilen grupta en yüksek bulunmuştur (81).

Işık ve arkadaşları tarafından ratlarda mezenter İR hasarında 1 saatlik iskemi ve reperfüzyondan 45 dakika önce intraperitoneal olarak 25 µg/ml olacak şekilde O₂/O₃ karışımından 0.5 mg/kg ve/veya 80 mg/kg naringin tek doz olarak verildiğinde O₃ ve naringinin birlikte kullanılmasının İR hasarı önlemede etkili olduğu gösterilmiştir (82).

Günel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada süperior mezenterik arter oklüzyonu ile 60 dakika süreli bağırsak iskemisi sonrası reperfüzyondan 20 dakika öncesinde %95 oksijen + %5 O₃ karışımı intraperitoneal olarak 07 mg/kg dozda verildiğinde literatürün aksine tek dozda kullanılan O₃ tedavisinin intestinal mukozada İR hasarını önlemede etkili olmadığını, yalnızca iskemik hasarı azaltmada etkili olabileceği gösterilmiştir (83).

Kaymaz ve arkadaşları tavşan modelinde alt ekstremitede femoral arter oklüzyonu uygulayarak İR hasarı oluşturdukları tavşanlardan 5 ml kan alarak 50

mikrogram/mililitre oranında O₃ ile karıştırarak venöz yoldan 5 dakikada verdiklerinde (majör otohemoterapi) O₃ tedavi edilen grupta toplam antioksidan durum düzeyleri anlamlı olarak yüksek, malondialdehit düzeyleri ise daha düşük bulunmuş. Histopatolojik değerlendirmede ise iskemi grubunda nadir nükleer santralizasyon, hafif çap farklılıkları ve fokal perivasküler nötrofil infiltrasyonu ortaya çıkarırken, O₃ grubu kontrol grubuna neredeyse benzer özellikler göstermiş (84).

Literatürde O₃ tedavisinin oksidatif stresi azaltarak İR hasarını gerek lokal gerekse sistemik olarak azalttığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Çalışmamızda yaptığımız modelle alt ekstremitte iskemisi sonrası meydana gelen reperfüzyon hasarının böbrek ve akciğer dokusundaki uzak etkilerinin O₃ tedavisi ile azaltılabileceği gösterilerek, literatürdeki pek çok çalışma ile paralel bir sonuç elde edilmiştir. Bu model özellikle abdominal aorta cerrahisi sırasında ciddi bir kas kütlesi olan alt ekstremitelerin uzun süre iskemisi sonrası cerrahi sonunda tekrar reperfüze olması ile uzak organlarda gelişebilecek hasarlanma modeli taklit edilmiş olup sonuçta bu hasarlanma üzerinde O₃'un faydalı olabileceği çalışmamızda kanıtlanmıştır.

6.SONUÇ

İR hasarı, iskemi altında kalan bir dokunun tekrar reperfüze olması sonrasında doku hasarının oksijen metabolitlerine bağlı daha da arttığı klinik bir durumdur. Bu çalışmada İR hasarının sistemik etkilerine O₃ molekülünün etkisi incelenmiştir. Abdominal aortun ratlarda klemplenmesi ve daha sonra tekrar reperfüze edilmesi ile taklit edilen alt ekstremité İR hasarının akciğer ve böbrekler üzerindeki etkisi incelenmiştir. O₃ verilen grupta bu hasarın pek çok biyokimyasal ve histolojik parametrede istatistiksel olarak daha az olduğu bu çalışmada gösterilmiştir. Bu nedenle O₃ molekülü immün sistemi inhibe eden ve oksijen radikallerinin oluşumunu azaltan özellikleri sayesinde İR hasarının sistemik etkilerinin azaltılması konusunda etkili bir moleküldür.

7. KAYNAKÇA

1. Codellas PanS. Alcmaeon of Croton: His Life, Work, and Fragments. Proceedings of the Royal Society of Medicine. 01 Mayıs 1932;25(7):1041-6.
2. Debernardi A, Sala E, D'Aliberti G, Talamonti G, Franchini AF, Collice M. Alcmaeon of Croton. Neurosurgery. 01 Şubat 2010;66(2):247-52.
3. Paul Potter. Hippocrates. C. 8. Cambridge, Massachusetts, London, England: Harvard University Press; 1995.
4. Singer, Peter N. Galen: selected works. Oxford: Oxford University Press; 1997.
5. Zargaran A, Mehdizadeh A, Zarshenas MM, Mohagheghzadeh A. Avicenna (980–1037 AD). J Neurol. 01 Şubat 2012;259(2):389-90.
6. Davies MK, Hollman A. René Théophile-Hyacinthe Laennec (1781-1826). Heart. Eylül 1996;76(3):196.
7. Sabanev J. On the question of blood vessel suture. Russk Khir Arkh. 1895;11:625-39.
8. Dotter CT, Judkins MP. TRANSLUMINAL TREATMENT OF ARTERIOSCLEROTIC OBSTRUCTION. DESCRIPTION OF A NEW TECHNIC AND A PRELIMINARY REPORT OF ITS APPLICATION. Circulation. Kasım 1964;30:654-70.
9. Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Jon C. Aster. Cell Injury, Cell Death, and Adaptions. İçinde: Robbins Basic Pathology. 10. bs 2018. s. 31-57.
10. Lenihan CR, Taylor CT. The impact of hypoxia on cell death pathways. Biochem Soc Trans. Nisan 2013;41(2):657-63.
11. Snyder CM, Chandel NS. Mitochondrial Regulation of Cell Survival and Death During Low-Oxygen Conditions. Antioxid Redox Signal. Kasım 2009;11(11):2673-83.
12. Oladipupo S, Hu S, Kovalski J, Yao J, Santeford A, Sohn RE, vd. VEGF is essential for hypoxia-inducible factor-mediated neovascularization but dispensable for endothelial sprouting. Proc Natl Acad Sci U S A. 09 Ağustos 2011;108(32):13264-9.
13. Giampietri C, Paone A, D'Alessio A. Cell Death. Int J Cell Biol [Internet]. 2014 [a.yer 19 Nisan 2021];2014. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4037620/>

14. Lyaker MR, Tulman DB, Dimitrova GT, Pin RH, Papadimos TJ. Arterial embolism. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2013;3(1):77-87.
15. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *Int J Prev Med.* Ağustos 2014;5(8):927-46.
16. Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Jon C. Aster. Blood Vessels. İçinde: Robbins Basic Pathology. 10. bs 2018. s. 361-99.
17. Callum K, Bradbury A. Acute limb ischaemia. *BMJ.* 18 Mart 2000;320(7237):764-7.
18. Arthur C. Guyton, John E. Hall. Somatic Sensations: II. Pain, Headache, and Thermal Sensations. İçinde: Textbook of Medical Physiology. 11. bs 2005. s. 599.
19. Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Jon C. Aster. Heart. İçinde: Robbins Basic Pathology. 10. bs 2018. s. 411.
20. Astrup J, Siesjö BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke.* Aralık 1981;12(6):723-5.
21. Easton JD, Saver JL, Albers GW, Alberts MJ, Chaturvedi S, Feldmann E, vd. Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. The American Academy of Neurology affirms the value of this statement as an educational tool for neurologists. *Stroke.* Haziran 2009;40(6):2276-93.
22. Preston RA, Epstein M. Ischemic renal disease: an emerging cause of chronic renal failure and end-stage renal disease. *J Hypertens.* Aralık 1997;15(12 Pt 1):1365-77.
23. Wei Q, Dong Z. Mouse model of ischemic acute kidney injury: technical notes and tricks. *Am J Physiol Renal Physiol.* 01 Aralık 2012;303(11):F1487-94.
24. Fields MJ, Bishai JM, Mitzner W, Wagner EM. Effects of pulmonary ischemia on lung morphology. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* Temmuz 2007;293(1):L254-258.
25. Kaptein FHJ, Kroft LJM, Hammerschlag G, Ninaber MK, Bauer MP, Huisman MV, vd. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism. *Thromb Res.* 01 Nisan 2021;202:162-9.

26. Bobadilla JL. Mesenteric ischemia. *Surg Clin North Am*. Ağustos 2013;93(4):925-40, ix.
27. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2012;298:229-317.
28. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*. Şubat 2000;190(3):255-66.
29. Opie LH. Role of calcium and other ions in reperfusion injury. *Cardiovasc Drug Ther*. 01 Mart 1991;5(2):237-47.
30. Bompotis GC, Deftereos S, Angelidis C, Choidis E, Panagopoulou V, Kaoukis A, vd. Altered Calcium Handling in Reperfusion Injury. *Med Chem*. 2016;12(2):114-30.
31. Ben-Ari Z, Pappo O, Cheporko Y, Yasovich N, Offen D, Shainberg A, vd. Bax ablation protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in transgenic mice. *Liver Transpl*. Ağustos 2007;13(8):1181-8.
32. Nilakantan V, Liang HL, Rajesh S, Mortensen J, Chandran K. Time-dependant protective effects of manganese(III) tetrakis (1-methyl-4-pyridyl) porphyrin on mitochondrial function following renal ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Res*. Temmuz 2010;44(7):773-82.
33. Yao W, Tai LW, Liu Y, Hei Z, Li H. Oxidative Stress and Inflammation Interaction in Ischemia Reperfusion Injury: Role of Programmed Cell Death. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 07 Nisan 2019;2019:e6780816.
34. Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion Injury and its Consequences on Immunity and Inflammation. *Curr Transplant Rep*. 01 Eylül 2014;1(3):147-54.
35. Tang J, Zhuang S. Histone acetylation and DNA methylation in ischemia/reperfusion injury. *Clin Sci (Lond)*. 28 Şubat 2019;133(4):597-609.
36. L L, X W, Z Y. Ischemia-reperfusion Injury in the Brain: Mechanisms and Potential Therapeutic Strategies. *Biochem Pharmacol (Los Angel)*. 2016;5(4).
37. Frank A, Bonney M, Bonney S, Weitzel L, Koeppen M, Eckle T. Myocardial ischemia reperfusion injury - from basic science to clinical bedside. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. Eylül 2012;16(3):123-32.
38. Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-e-Silva O. Ischemia/Reperfusion Injury Revisited: An Overview of the Latest Pharmacological Strategies. *Int J Mol Sci [Internet]*. 11 Ekim 2019 [a.yer 20 Nisan 2021];20(20). Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6834141/>

39. Abogresha NM, Greish SM, Abdelaziz EZ, Khalil WF. Remote effect of kidney ischemia-reperfusion injury on pancreas: role of oxidative stress and mitochondrial apoptosis. *Arch Med Sci.* 01 Nisan 2016;12(2):252-62.
40. Esme H, Fidan H, Koken T, Solak O. Effect of lung ischemia--reperfusion on oxidative stress parameters of remote tissues. *Eur J Cardiothorac Surg.* Mart 2006;29(3):294-8.
41. Silva JP, Coutinho OP. Free radicals in the regulation of damage and cell death - basic mechanisms and prevention. *Drug Discov Ther.* Haziran 2010;4(3):144-67.
42. Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation.* Eylül 1999;6(3):167-78.
43. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J.* 13 Ocak 2012;5(1):9-19.
44. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* Kasım 1999;32(8):595-603.
45. McDougal WS. Renal perfusion/reperfusion injuries. *J Urol.* Aralık 1988;140(6):1325-30.
46. Tighe JR. The pathology of renal ischaemia. *Journal of Clinical Pathology.* 01 Ocak 1977;s3-11(1):114-24.
47. Malek M, Nematbakhsh M. Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. *J Renal Inj Prev.* 2015;4(2):20-7.
48. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia--reperfusion injury. *Br J Surg.* Şubat 1996;83(2):162-70.
49. Kusaka J, Koga H, Hagiwara S, Hasegawa A, Kudo K, Noguchi T. Age-dependent responses to renal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* Ocak 2012;172(1):153-8.
50. OVECHKIN AV, LOMINADZE D, SEDORIS KC, ROBINSON TW, TYAGI SC, ROBERTS AM. Lung ischemia-reperfusion injury: implications of oxidative stress and platelet-arteriolar wall interactions. *Arch Physiol Biochem.* Şubat 2007;113(1):1-12.
51. Weyker PD, Webb CAJ, Kiamanesh D, Flynn BC. Lung ischemia reperfusion injury: a bench-to-bedside review. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* Mart 2013;17(1):28-43.
52. Laubach VE, Sharma AK. Mechanisms of Lung Ischemia-Reperfusion Injury. *Curr Opin Organ Transplant.* Haziran 2016;21(3):246-52.

53. Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 17 Ekim 2017;7(3):212-9.
54. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med.* Ocak 2011;2(1):66-70.
55. Martin RS, Colombi A. Christian Friedrich Schönbein (1799-1868): from the perilous explosive guncotton to the salutary dialysis membranes. *Am J Nephrol.* 1992;12(3):196-8.
56. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* Temmuz 2009;29(4):646-82.
57. Clavo B, Rodríguez-Esparragón F, Rodríguez-Abreu D, Martínez-Sánchez G, Llontop P, Aguiar-Bujanda D, vd. Modulation of Oxidative Stress by Ozone Therapy in the Prevention and Treatment of Chemotherapy-Induced Toxicity: Review and Prospects. *Antioxidants (Basel).* 26 Kasım 2019;8(12):588.
58. Kim YK, Koo SM, Kim K, Uh ST, Jang A, Park CS. Increased antioxidant activity after exposure of ozone in murine asthma model. *Asia Pac Allergy.* Temmuz 2017;7(3):163-70.
59. Ahmet Kavaklı, Feyza Aksu. Ozon Tedavisi. *Fırat Tıp Dergisi.* 2021;26(4):183-9.
60. Bocci V. Autohaemotherapy after treatment of blood with ozone. A reappraisal. *J Int Med Res.* Haziran 1994;22(3):131-44.
61. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res.* Mayıs 2006;37(4):425-35.
62. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Fanetti G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. *Mediators Inflamm.* 1998;7(5):313-7.
63. Bocci V. The Potential Toxicity of Ozone: Side Effects and Contraindications of Ozonotherapy. *OZONE.* 24 Eylül 2010;75-84.
64. Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? *Br J Biomed Sci.* 1999;56(4):270-9.
65. Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, vd. Ozone oxidative preconditioning inhibits inflammation and apoptosis in a rat model of renal ischemia/reperfusion injury. *European Journal of Pharmacology.* Mart 2008;581(3):306-14.

66. Wang L, Chen H, Liu XH, Chen ZY, Weng XD, Qiu T, vd. Ozone oxidative preconditioning inhibits renal fibrosis induced by ischemia and reperfusion injury in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*. Aralık 2014;8(6):1764-8.
67. Torlak Z, Alpagut U. Ratlarda Deneysel Alt Ekstremitte İskemik Reperfüzyon Modelinde Ozon Tedavisinin Antioksidan Etkinliğinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi; 2014.
68. Wang Z, Zhang A, Meng W, Wang T, Li D, Liu Z, vd. Ozone protects the rat lung from ischemia-reperfusion injury by attenuating NLRP3-mediated inflammation, enhancing Nrf2 antioxidant activity and inhibiting apoptosis. *European Journal of Pharmacology*. Eylül 2018;835:82-93.
69. Di Filippo C, Marfella R, Capodanno P, Ferraraccio F, Coppola L, Luongo M, vd. Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. *Inflamm res*. Ekim 2008;57(10):445-9.
70. Fatih M, Huseyin T, Orcun C, Ilker A, Kamil V, Gokhan E, vd. Comparison of intraperitoneal and intratesticular ozone therapy for the treatment of testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *Asian J Androl*. 2015;0(0):0.
71. Wang Z, Han Q, Guo Y lian, Liu X heng, Qiu T. Effect of ozone oxidative preconditioning on inflammation and oxidative stress injury in rat model of renal transplantation. *Acta Cir Bras*. Mart 2018;33(3):238-49.
72. Sancak EB, Türkön H, Çukur S, Erimsah S, Akbas A, Gulpinar MT, vd. Major Ozonated Autohemotherapy Preconditioning Ameliorates Kidney Ischemia-Reperfusion Injury. *Inflammation*. Şubat 2016;39(1):209-17.
73. Kal O, Akillioglu I, Kal A, Celik E, Yilmaz M, Onal M, vd. Prophylactic ozone administration reduces renal ischemia-reperfusion injury in the rat. :12.
74. Jiang B, Su Y, Chen Q, Dong L, Zhou W, Li H, vd. Protective Effects of Ozone Oxidative Postconditioning on Long-term Injury After Renal Ischemia/Reperfusion in Rat. *Transplantation Proceedings*. Ocak 2020;52(1):365-72.
75. Wang L, Chen Z, Liu Y, Du Y, Liu X. Ozone oxidative postconditioning inhibits oxidative stress and apoptosis in renal ischemia and reperfusion injury through inhibition of MAPK signaling pathway. *DDDT*. Mayıs 2018;Volume 12:1293-301.
76. Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, vd. Similarities Between Ozone Oxidative Preconditioning and Ischemic Preconditioning in Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *Archives of Medical Research*. Şubat 2008;39(2):169-78.

77. León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, vd. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators of Inflammation*. 1998;7(4):289-94.
78. Xing B, Chen H, Wang L, Weng X, Chen Z, Li X. Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury via modulation of the TLR4-NF- κ B pathway. *Acta Cir Bras*. Ocak 2015;30(1):60-6.
79. Meng W, Xu Y, Li D, Zhu E, Deng L, Liu Z, vd. Ozone protects rat heart against ischemia-reperfusion injury: A role for oxidative preconditioning in attenuating mitochondrial injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Nisan 2017;88:1090-7.
80. Koçyiğit A. The effect of ozone treatment on remote organ myocardial injury in an aortic ischemia-reperfusion model. *Türk Gogus Kalp Dama*. 30 Nisan 2018;26(2):207-13.
81. Onal O, Yetisir F, Sarer AES, Zeybek ND, Onal CO, Yurekli B, vd. Prophylactic Ozone Administration Reduces Intestinal Mucosa Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion in the Rat. *Mediators of Inflammation*. 2015;2015:1-8.
82. Isik A, Peker K, Gursul C, Sayar I, Firat D, Yilmaz I, vd. The effect of ozone and naringin on intestinal ischemia/reperfusion injury in an experimental model. *International Journal of Surgery*. Eylül 2015;21:38-44.
83. Dere Günel Y. The effect of ozone on the acute phase of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* [Internet]. 2020 [a.yer 10 Ekim 2022]; Erişim adresi: <http://www.tjtes.org/eng/jvi.aspx?pdirev=travma&plng=eng&un=UTD-48672>
84. Kaymaz B, Coban G, Goksel F, Toman H, Golge UH, Komurcu E. Tavşan modelinde ekstremitte iskemi-reperfüzyon hasarına ozon tedavisinin etkisi. *FAMILY PRACTICE AND PALLIATIVE CARE*. 22 Kasım 2019;79-84.

8.ÖZET

Amaç: Alt ekstremité iskemi reperfüzyon hasarının böbrek ve akciğer gibi iki uzak organ üzerindeki etkilerinin ve bu etkilere O₃ molekülünün etkisinin araştırılması bu çalışmada amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 24 adet rat, kontrol (n=6), ozon (n=6), iskemi reperfüzyon (n=6), ozon+iskemi reperfüzyon (n=6) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu yapılan batın insizyonu sonrasında 240 dakika sonra sakrifiye edilmiştir. Ozon grubuna intraperitoneal olarak ozon enjekte edildikten sonra batın insizyonu yapılarak 240 dakika sonra sakrifiye edilmiştir. İskemi reperfüzyon grubunda batın insizyonu sonrası abdominal aort klemplenmiş, 120 dakika iskemi süresinden sonra klemp kaldırılarak 120 dakika reperfüzyon süresi tanınmış, 240 dakikanın sonunda sakrifiye edilmiştir. Ozon+iskemi reperfüzyon grubunda intraperitoneal ozon uygulaması sonrası batın insizyonu yapılarak abdominal aorta 120 dakika klemplenmiş, 120 dakika iskemi süresinden sonra klemp kaldırılarak 120 dakika reperfüzyon süresi tanınmış ve 240 dakikanın sonunda ratlar sakrifiye edilmiştir. Tüm gruplarda sakrifiye edilen ratların birer böbrek ve akciğeri histolojik inceleme için formole, diğer akciğer ve böbreği biyokimyasal inceleme için -80 azot tüpüne alınmıştır.

Bulgular: Ozon tedavisi almış iskemi-reperfüzyon hasarı grubunda böbreklerin histolojik olarak değerlendirilmesinde glomerüler vakuolizasyon (GV), tübüler dilatasyon (TD), vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi (VVH), tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz (THDN), tübüler hyalin silindirleri (THS); ozon tedavisi verilmemiş iskemik reperfüzyon hasarı grubuna göre istatistiksel olarak daha

düşük olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde böbreklerin biyokimyasal incelemesinde ozon tedavisi alan iskemi reperfüzyon grubunda, ozon verilmemiş iskemi reperfüzyon grubuna göre tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri TBARS düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Akciğerlerin histolojik incelemesinde ozon verilen iskemi reperfüzyon grubunda akciğerde meydana gelen nötrofil infiltrasyonu/agregasyonu, alveol duvar kalınlığı, ozon tedavisi verilmeyen iskemi reperfüzyon hasarı grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Akciğer üzerinde yapılan biyokimyasal analizde ozon verilen iskemi reperfüzyon hasarı grubunun katalaz, süper oksit dismutaz ve tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri TBARS düzeyleri bakımından ozon verilmeyen iskemi reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Sonuç: Abdominal aorta klemplenmesine bağlı meydana gelen iskemik reperfüzyon hasarının akciğer ve böbrek gibi iki uzak organ üzerindeki etkilerinin işlem öncesinde verilecek ozon molekülü ile azaltılması mümkündür.

9.SUMMARY

Objectives: The aim of this study was to investigate the effects of lower extremity ischemia reperfusion injury on two distant organs such as kidney and lung and the effect of ozone molecule on these effects.

Material and Mehtods: 24 rats were divided into four groups as control (n=6), ozone (n=6), ischemia reperfusion (n=6), ozone+ischemic reperfusion (n=6). The control group was sacrificed 240 minutes after the abdominal incision. After intraperitoneal ozone was injected into the ozone group, an abdominal incision was made and it was sacrificed 240 minutes later. In the ischemic reperfusion group, the abdominal aorta was clamped after the abdominal incision, the clamp was removed after 120 minutes of ischemia, and a reperfusion period of 120 minutes was given, and it was sacrificed at the end of 240 minutes. In the ozone + ischemia reperfusion group, after intraperitoneal ozone application, abdominal incision was made and the abdominal aorta was clamped for 120 minutes. One kidney and lung of the rats sacrificed in all groups were placed in formole for histological examination, and the other lung and kidney were placed in -80 nitrogen tube for biochemical examination.

Results: In the histological evaluation of kidneys in the ozone-treated ischemia-reperfusion injury group, glomerular vacuolization (GV), tubular dilatation (TD), vascular vacuolization and hypertrophy (VVH), tubular cell degeneration and necrosis (THDN), tubular hyaline cylinders ; It was observed that it was statistically lower than the ischemia reperfusion injury group that did not receive ozone therapy. Likewise, in the biochemical examination of kidneys,

thiobarbituric acid reactive substances TBARS levels were found to be significantly lower in the ischemic reperfusion group that received ozone therapy, compared to the ischemia reperfusion group that did not receive ozone.

In the histological examination of the lungs, neutrophil infiltration/aggregation, alveolar wall thickness, and ischemia reperfusion injury that occurred in the lung were found to be significantly lower in the ischemia reperfusion group given ozone compared to the ischemia reperfusion injury group that did not receive ozone therapy. In the biochemical analysis performed on the lung, the ischemic reperfusion injury group given ozone was found to be significantly lower in terms of catalase, superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances TBARS levels compared to the ischemia reperfusion group not given ozone.

Conclusion: It is possible to reduce the effects of ischemia reperfusion injury caused by clamping of the abdominal aorta on two distant organs, such as the lung and kidney, by administering ozone molecule before the procedure.

10.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayşegül Demirtaş

Doğum yeri ve tarihi :

Eğitim Bilgileri

İlköğretim ve Lise

- İlköğretim Okulu (1995-2003)
- Mut Anadolu Lisesi (2003-2007)

Üniversite

- Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi (2008-2014)

Uzmanlık Eğitimi

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon (2017-2022)

Yabancı Dil

- İngilizce (B1)
- Almanca (A2)