

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

DENEYSEL KARBON MONOKSİT ZEHİRLENMESİNDE
TRİMETAZİDİNİN İSKEMİK DOKU HASARINDA
İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Emre KOÇ

TRABZON-2023

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ACİL
TIP ANABİLİM DALI

DENEYSEL KARBON MONOKSİT ZEHİRLENMESİNDE
TRİMETAZİDİNİN İSKEMİK DOKU HASARINDA
İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Emre KOÇ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Özgür TATLI

TRABZON-2023

ÖNSÖZ

Acil Tıp Uzmanlık eğitimim boyunca , her konuda desteklerini gördüğüm, çalışmalarına büyük katkılar sağlayan tez hocam Sayın Doç. Dr. Özgür TATLI'ya,

Tez konumun ve çalışmamın belirlenmesinde, çalışmanın planlama ve yürütmesinde büyük pay sahibi olan Dr. Öğr. Ü. Sinan PASLI'ya,

Yine Acil Tıp eğitim süresi boyunca hep yanımda olup beni destekleyen Prof. Dr. Abdulkadir Gündüz'e, Prof. Dr. Süleyman TÜREDİ'ye, Doç. Dr. Yunus KARACA'ya, Doç. Dr. Aynur ŞAHİN'e, Dr. Öğr. Ü. Vildan ÖZER'e, Dr. Öğr. Ü. Melih İMAMOĞLU'na saygılarımı ve teşekkürümü bir borç bilirim.

Çalışmamın planlama ve veri analizinde desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Ü. Metin YADİGAROĞLU'na, Uzmanlık eğitimim boyunca her zorluğun üstesinden beraber geldiğimiz kıymetli asistan arkadaşlarım ve diğer mesai arkadaşlarıma, beni büyütüp bu yaşlarıma gelmemi sağlayan, doktorluk mesleğini seçmemde en büyük faktör olan anneme, babama ve beni her zaman destekleyen kardeşlerime ve hayat arkadaşım, canım eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Emre KOÇ

ÖZET

Deneyisel karbon monoksit zehirlenmesinde trimetazidinin iskemik doku hasarını iyileştirici etkisi

Amaç: Bu çalışma, güçlü antioksidan ve sitoprotektif özelliği bilinen trimetazidinin'in (TMZ), deneyisel karbon monoksit (CO) zehirlenmesi ile ratların karaciğer, beyin ve kalp gibi hayati organlarında meydana gelen iskemik hasarı azaltabileceği hipotezi ile planlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, 36 adet olgun dişi Spraque Dawley rat kullanıldı. Çalışma gününe kadar ratlar 22 °C oda sıcaklığında, su ve standart rat yemi verilerek standart kafeslerde tutuldu. Deney prosedüründe, fanusa yerleştirilen ratlara CO ve hava verildi. Ratlar 6 gruba ayrıldı. Grup 1 (Sham), grup 2 (TMZ + oda havası), grup 3 (CO + 1mL SF), grup 4 (CO + TMZ 5mg/kg), grup 5 (CO + TMZ 10 mg/kg), grup 6 (CO + TMZ 15mg/kg). Belirlenen protokol 2 gün boyunca 12 saat arayla intraperitoneal olarak uygulandı. Deney protokolünün başlangıcından 48 saat sonra ratlara anestezi uygulandıktan sonra karaciğer beyin ve kalp dokuları çıkarıldı ve histopatolojik değişiklikler incelendi.

Bulgular: 15mg/kg TMZ doz uygulamasında myokard hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyonda istatistiksel olarak anlamlı bir iyileştirici etki görülmüştür ($p=0,035$). CO zehirlenmesine bağlı gelişen beyin dejenerasyonunda 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 15 mg/kg düzeylerindeki TMZ doz uygulamalarında da istatistiksel olarak anlamlı iyileştirici etki tespit edilmiştir ($p<0,001$). Karaciğerde meydana gelen hasar değerlendirildiğinde, 15 mg/kg TMZ doz uygulamasının sinüzoidal konjesyonu istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığı belirlenmiştir ($p<0,001$).

Sonuç: Ratlarda oluşturulan deneyisel CO zehirlenmesi modelinde 15 mg/kg doz TMZ uygulamasının CO zehirlenmesine bağlı meydana gelen beyin, kalp ve karaciğer hasarları üzerinde iyileştirici etkisi olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: CO zehirlenmesi, trimetazidinin, iskemi

SUMMARY

The healing effect of trimetazidine on ischemic tissue damage in experimental carbonmonoxide poisoning

Objective: This study was planned with the hypothesis that trimetazidine (TMZ), which is known to have strong antioxidant and cytoprotective properties, could reduce the ischemic damage in vital organs such as liver, brain and heart of rats due to experimental carbon monoxide (CO) poisoning.

Method: In this study, 36 mature female Spraque Dawley rats were used. Until the day of the study, the rats were kept in standard cages at 22 °C room temperature, given water and standard rat food. In the experimental procedure, CO and air were given to the rats placed in the bell jar. Rats were divided into 6 groups. Group 1 (Sham), group 2 (TMZ + room air), group 3 (CO + 1mL SF), group 4 (CO + TMZ 5mg/kg), group 5 (CO + TMZ 10 mg/kg), group 6 (CO + TMZ 15mg/kg). The determined protocol was applied intraperitoneally every 12 hours for 2 days. After the rats were anesthetized 48 hours after the beginning of the experimental protocol, liver, brain and heart tissues were removed and histopathological changes were examined.

Results: A statistically significant improvement in myocardial cell infiltration and vascular congestion was observed at 15mg/kg TMZ dose application ($p=0.035$). A statistically significant healing effect was also detected in TMZ dose applications at 5 mg/kg, 10 mg/kg and 15 mg/kg levels in brain degeneration due to CO poisoning ($p<0.001$). When the damage occurring in the liver was evaluated, it was determined that 15 mg/kg TMZ dose application reduced sinusoidal congestion statistically significantly ($p<0.001$).

Conclusion: In the experimental CO poisoning model created in rats, it was determined that TMZ administration at a dose of 15 mg/kg had a healing effect on brain, heart and liver damage caused by CO poisoning.

Keywords: CO poisoning, trimetazidin, ischemia



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.Karbon Monoksit Zehirlenmesi.....	2
2.1.1 Tarihçe	2
2.1.2. Kimya	2
2.1.3. Epidemiyoloji	2
2.1.4. Maruziyet Kaynakları	3
2.1.5. Patofizyoloji.....	3
2.1.6. Klinik.....	4
2.1.7. Tanı.....	6
2.1.8. Tedavi	7
2.2. Trimetazidinin	11
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	15
3.1. Araştırmanın Tipi, Yeri, Zamanı ve Araştırma İzni	15
3.2. Araştırmanın Evreni	15

3.3. Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemi	15
3.4. Deney Protokolü.....	15
3.5. Dokuların Histopatolojik Analizi:	18
3.6. Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntem	20
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	38
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları	41
6. SONUÇ	42
7. KAYNAKLAR	43

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ALT	:Alanin Aminotransferaz
ANOVA	:Varyans analizi
Asetil Co-A	:Asetil Coenzim-a
AST	:Aspartat Aminotransferaz
ATA	:Mutlak Atmosfer Basıncı
ATP	:Adenozin Trifosfat
BT	:Bilgisayarlı Tomografi
CO	:Karbon Monoksit
COHb	:Karboksihemoglobini
CTGF	:Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
Dk	:Dakika
dL	:Desilitre
DXM	:Deksametazon
DNS	:Gecikmiş Nörolojik Sekel Sendromu
DEACMP	:Akut Karbon Monoksit Zehirlenmesinden Sonra Gecikmiş Ensefalopati
EKG	:Elektrokardiyografi
HB	:Hemoglobin
HBO	:Hiperbarik Oksijen
H&E	:Hematoksilen-eozin
kg	:Kilogram
lt	:Litre
mg	:Miligram
MI	:Miyokard Enfarktüsü

mL	:Mililitre
MRI	:Manyetik Rezonans Görüntüleme
n	:Sayı
NAC	:N-asetilsisteinin
NADPH	:Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NBP	:N-butylphthalide
OR	:Olasılık Oranı
PET	:Pozitron Emisyon Tomografisinde
PG	:Prostaglandin
PO₂	:Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı
ppm	:Parts Per Million
SF	:Serum Fizyolojik
SpO₂	:Standart Nabız Oksimetresi
SPSS	:Statistical Package for the Social Sciences
TMZ	:Trimetazidinin
%	:Yüzde
µm	:Mikrometre

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Sık Görülen Semptomlar ve Sıklığı	5
Tablo 2.	CO zehirlenmesinde ciddi toksisite bulguları	5
Tablo 3.	HBO endikasyonları	9
Tablo 4.	Trimetazidinin etki mekanizmaları.....	11
Tablo 5.	Gruplar arasındaki CO seviyeleri	32
Tablo 6.	Histopatolojik kardiyak etkilenim sonuçları	32
Tablo 7.	Histopatolojik beyin dejenerasyon gradelerinin karşılaştırılması	34
Tablo 8.	Beyin dejenerasyonunun yüzdelerinin karşılaştırılması	35
Tablo 9.	Hepatik etkilenme düzeylerinin karşılaştırılması	36

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1:	Deney fanusu	17
Resim 2:	Kalp	17
Resim 3:	Karaciğer	18
Resim 4:	Beyin.....	18
Resim 5:	Grup 1 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	23
Resim 6:	Grup 2 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	23
Resim 7:	Grup 3 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	24
Resim 8:	Grup 3 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	24
Resim 9:	Grup 3 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	25
Resim 10:	Grup 4 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	25
Resim 11:	Grup 4 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	26
Resim 12:	Grup 5 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	26
Resim 13:	Grup 5 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	27
Resim 14:	Grup 6 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	27
Resim 15:	Grup 6 karaciğer‘ e ait fotomikrograf.	28
Resim 16:	Kalbe ait fotomikrograf.	29
Resim 17:	Beyin korteksine ait fotomikrograf.	30
Resim 18:	Beyin korteksine ait fotomikrograf.	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1	Trimetazidinin kimyasal açılımı	11
Şekil 2	Acetyl-CoA enzimatik reaksiyonu	12



1. GİRİŞ

Karbonmonoksit (CO) gazı; normalde atmosferde %0.001 oranında bulunan ve kokusuz, tatsız, renksiz, iritan olmayan bir gazdır. Sadece hemoglobin (Hb) katabolizması sırasında ortaya çıktığı için her bireyde çok düşük düzeylerde (%0-5) tespit edilebilmektedir. Yenidoğanlarda (%3-7), hemolitik anemilerde ve sigara içenlerde CO düzeyi (%5-10) normal bireylere göre artmaktadır. Yangınlar sırasında, pişirme ve ısınma için yakıt olarak kullanılan karbonlu bileşiklerin (kömür, odun) tam olarak yanmaması nedeniyle CO ortaya çıkmaktadır (1,2). CO intoksikasyonu ülkemiz için en önemli zehirlenme nedenlerinden biridir. Veriler, CO zehirlenmelerinin ülkemizde, insektisid zehirlenmelerinden sonra ikinci sırada gelen mortalite nedeni olduğunu ortaya koymaktadır (3).

TMZ (2,3,4-trimethoxybenzyl-piperazine dihydrochloride), hücresel düzeyde antiiskemik etki gösteren ve yağ asidi β -oksidasyonunda görevli son enzim olan 3-ketoasil-CoA tiyolazın (3-KAT) selektif inhibitörüdür. TMZ doğrudan hemodinamik etkisi gösterilmemiştir. Hipoksik şartlarda sellüler düzeyde koruyucu olduğu gösterilmiştir (4,5). Ayrıca antiiskemik özelliklerinin yanında serbest radikallerin çeşitli biyoelektrik aktiviteler üzerindeki zararlı etkilerini ortadan kaldırır. (4,5).

Çalışmamızın öncelikli amacı deneysel CO zehirlenmesinin, akut döneminde TMZ'nin ratların karaciğer, beyin ve kalp dokularında meydana gelen iskemik hasarları azaltma potansiyelini belirlemeye yönelik olmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Karbon Monoksit Zehirlenmesi

2.1.1 Tarihçe

1857 yılında ilk defa, Claude Bernard tarafından doku hipoksisinin toksik etkileri tanımlanabilmiştir. 1865 yılında CO'ya maruz kalan ratlardaki patolojik ve klinik bulguları tanımlanmıştır. Haldane 1895 yılında CO zehirlenmesinin mekanizmasını belirleyebilmiştir. 1924 yılında Pineas tarafından globus pallidus da klasik bilateral lezyonlar ve diffuz subkortikal demiyelinizasyon tespit edilmiş, Grinker tarafından 1925 yılında parkinsonizm ile ilişkilendirilmiş, 1976 yılında Goldbaum ve arkadaşları, köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada CO toksisitesinin hücresel düzeyde olduğunu ortaya koymuşlardır(6).

2.1.2. Kimya

CO dansitesi 0,968 olup hemen hemen hava ile aynıdır ve inhale edildikten sonra kısa sürede absorbe edilir. Kanda CO hemoglobine bağlı olarak taşınır ve hemoglobine afinitesi oksijenden (O_2) 200-250 kat fazladır. CO'in vücuttan eliminasyonu oksijen basıncına bağlıdır. Yapılan çalışmalarda, normal oda havasında CO eliminasyonu 4-5 saat, %100 O_2 basıncında yaklaşık 1-1,5 saat sürmektedir (7).

2.1.3. Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl yaklaşık 50.000 kişide CO zehirlenmesinin meydana geldiği tahmin edilmektedir ve çoğu vakadan duman inhalasyonu sorumlu olduğu düşünülmektedir (8). ABD verilerine göre, CO zehirlenmelerinde, suikid amaçlı gerçekleştirilenlerde, kaza ile zehirlenenlere göre daha yüksek ölüm oranı görülmekle birlikte, %1-3 ölüm oranı belirtilmiştir (9-12) . ABD verilerine göre, CO zehirlenmesinden yılda yaklaşık 1000 ila 1300 ölüm vardır (8,13) ve suikid amaçlı CO zehirlenmesi ölümlerin üçte ikisinden sorumludur (13,14).

Suicid amacı içermeyen CO zehirlenmeleri, hem mevsimsel hem de bölgesel farklılıklar gösterir. ABD’de soğuk iklimlerde kış aylarında, çoğunlukla fırınların hatalı yakılmasından meydana gelir (15) . Taşınabilir benzinle çalışan jeneratörlerin kullanımının artmasının hemen ardından CO zehirlenmesinde bir artışın meydana geldiği bildirilmiştir. Jeneratörün iç mekanlarda veya ev havalandırma giriş sistemlerine yakın yerlerde yanlış yerleştirilmesi, CO maruziyetine ve ölümlere neden olduğu gösterilmiş (16-18).

2.1.4. Maruziyet Kaynakları

CO, yakıtların tam yanamamasından dolayı oluşur. Potansiyel CO kaynakları şunlardır:

- Yangınlar,
- Isıtma sistemleri,
- Yakıt yakan cihazlar (örneğin, gazyağı ısıtıcıları, kömür ızgaraları, kamp sobaları (19) benzinle çalışan elektrik jeneratörleri (20)),
- Motorlu taşıtlar (21),
- Yer altından geçen elektrikli kablolar (22),
- Nargile kullanımı (23).

2.1.5. Patofizyoloji

CO zehirlenmesi, hem oksijenin hücrelere ulaştırılmasını, hemde hemoglobinden ayrılmasını zorlaştırır, ayrıca reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olur. CO, pulmoner kapiller membran boyunca hızla emilir. Eliminasyon, en sık oksijenasyon derecesine ve daha az miktarda dakika ventilasyona bağlıdır.

O₂ iletiminde bozukluk - CO, hemin (ve diğer porfirinlerin) demir kısmına, O₂’den yaklaşık 240 katı afinite ile bağlanır ve karboksihemoglobini (COHb) oluşturur. Bu durum, hemoglobindeki diğer üç O₂’nin bağlama bölgesinin, O₂’nin periferik dokulara bırakma yeteneğini etkiler. Bu durum O₂’nin Hb’den ayrışmasında

bir deformasyona, sola kaymaya neden olur. Bu durum dokuların O₂ ihtiyacını şiddetlendirir. Karboksihemoglobininin derecesi, ortamdaki CO ve O₂ miktarlarına, kişinin maruz kalma süresine ve dakikadaki ventilasyonunun miktarına bağlıdır (24).

O₂ kullanımında bozukluk- CO'nun yaklaşık yüzde 10 ila 15'i miyoglobin, sitokromlar ve NADPH redüktaz gibi moleküllere bağlanarak hücre içi oksidatif fosforilasyonu bozar(24). Bu moleküller depo görevi gördükleri için, CO'nun yarı ömrünü COHb'ninkinden çok daha fazla uzatırlar. Bu durumun etkileri en fazla kalpte gösterilmiştir. O₂ tedavisine rağmen, mitokondrideki disfonksiyon bu durumda geri çevrilemez (25).

CO zehirlenmesi, siyanür zehirlenmesi ile beraber görülebilir. Bu durum, O₂ taşınması ve kullanımı üzerindeki birleşik etki ile kliniği dahada kötüleştirebilmektedir (26).

Reaktif oksijen türleri – Yapılan çalışmalarda CO'nun reaktif O₂ türlerinin salınımını artırarak, oksidatif strese neden olabileceği düşünülmektedir. Bu mekanizmayı lipid peroksidasyonuna ve süperoksit oluşumuna neden olarak yapmaktadır (13).

2.1.6. Klinik

Yaygın semptomlar — CO zehirlenmesinin klinik bulguları oldukça değişkendir ve büyük ölçüde CO'ya özgü değildir (27,28). CO zehirlenmesinin hafif veya orta klinik durumunda semptomlar silik ve nonspesifiktir. Bu neden viral hastalıklar dahil bir çok hastalık ile karışabilir (29). Bu semptomların değerlendirilmesi, hiperbarik oksijen (HBO) ihtiyacının belirlenmesinde kritik öneme sahip olduğundan, hastadan ve/veya tanıklardan geçici bilinç kaybı kınıysen tarafından sorgulanmalıdır.

ABD zehir merkezlerine yapılan bildirimlerde, sıklıkla görülen semptomlar tablo 1'deki gibidir (8) :

Tablo 1. Sık Görülen Semptomlar ve Sıklığı

ABD Verilerine Göre Sık Görülen Semptomlar ve Sıklığı			
Baş ağrısı	%58	Nefes darlığı	%5
Mide bulantısı	%33	Senkop	%5
Baş dönmesi	%29	Boğaz ağrısı	%<5
Uyuşukluk	%14	Göz tahrişi	%<5
Kusma	%14	Göğüs ağrısı	%<5
Öksürük/boğulma	%6	Halsizlik	%<5

Muayene bulguları — CO zehirlenmesinde genel olarak mental durum değişiklikleri, taşikardi ve taşipne görülür. Mental durum değişikliği, hafif konvülziyondan komaya kadar geniş yelpazede olabilir .CO zehirlenmesinde kullanılan, CO Nöropsikolojik Tarama Yöntemi gibi spesifik bilişsel testlerin akut zamanda rolü yoktur (30,31)

Dudakların "kiraz kırmızısı" görünümünün klasik olarak tanımlanan bulgusu, ne sensitif ne de spesifik bir işarettir (27).

Aşağıdaki klinik durumlara sahip hastalar ciddi olarak kabul edilir.

Tablo 2. CO zehirlenmesinde ciddi toksisite bulguları

CO zehirlenmesinde görülebilecek ciddi toksisite semptom ve bulguları	
Nörolojik	Nöbet, Senkop, konvülziyon, Koma
Metabolik	Laktik asidoz (hücrel hipoksi)
Kardiyovasküler	Akut miyokardiyal iskemi, ventriküler aritmi, pulmoner ödem

Orta veya şiddetli CO zehirlenmesinde, son yapılan çalışmalarla öne çıkan bir bulgu olan miyokardiyal iskemi, mortalite ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. 230 hastanın dahil edildiği retrospektif çalışmada CO zehirlenmesinin şiddeti ile troponin, ekg değişiklikleri gibi miyokardiyal iskemi bulgularının korelasyon gösterdiği ortaya konulmuştur (32).

Gecikmiş nöropsikiyatrik sendrom (DNS) Kişilik değişiklikleri, mental durumda değişiklikler, hareket kusuru, fokal nörolojik kusurlar ile seyreden sendromdur. CO zehirlenmesinden etkilenen hastaların yüzde 15 ila 40'ında DNS gelişir (13). DNS'nin genellikle CO zehirlenmesinden sonra 20 gün içinde ortaya çıktığı bildirilmektedir (33).

DNS, bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve pozitron emisyon tomografisinde (PET) globus pallidus ve derin beyaz cevherdeki anormallikler ile ilişkilendirilmesine rağmen, bu bulgular akut dönemde görülmez (34). Globus pallidus'un hemorajik enfarktüsü akut zehirlenmeyi takiben nadiren bildirilmiştir (35).

DNS gelişimi, karboksihemoglobin (COHb) seviyeleri ile ilişkisi zayıftır, (10). DNS mekanizması bilinmemekle beraber ksantin oksidaz tarafından üretilen reaktif oksijen türleri tarafından lipid peroksidasyonu ile oluştuğu düşünülmektedir. Ksantin oksidaz, ksantin dehidrogenazdan üretilir (33). CO zehirlenmesinin tedavisinde, oksijene yüksek derecede maruz kalmak oksidatif hasarı artırıcı etki oluşturabilir (29).

2.1.7. Tanı

CO zehirlenmesi tanısı, CO maruziyeti şüphesi olan veya bilinen hastalarda, kan gazı numunesinde ölçülen yüksek karboksihemoglobin (COHb) seviyesi ile konur. Hemodinamik olarak stabil hastalarda, venöz kan gazı numuneleri yeterlidir, sonucu doğru olarak verir ve yaygın olarak kullanılır (36,37). Sigara içmeyenlerde başlangıçta yüzde 3'e kadar COHb olabilir; sigara içenlerin seviyeleri yüzde 10 olabilir. Bu değerlerin üzerindeki seviyeler, CO zehirlenmesi ile lehine değerlendirilir (30).

COHb seviyeleri, CO zehirlenmesini gösterir ancak ciddiyetini göstermez. COHb ölçümü hastalığı göstermek için kullanılmalıdır, ancak ölçüm düzeyleri ile CO zehirlenmesi tam olarak korele değildir. Majör semptomlarla (örn. bilinç kaybı, mental durumda değişiklik, kardiyak iskemi) ilişkili anormal derecede yüksek COHb

seviyeleri ciddi zehirlenme olarak kabul edilmelidir. Tedaviye COHb seviyesine göre değil, hasta semptom ve bulgularına göre başlanır.

Standart nabız oksimetresi kullanışlı değildir. Standart nabız oksimetresi (SpO_2), COHb'yi oksihemoglobinden ayırt edemediği için CO maruziyetini tarayamaz (38,39). COHb ve methemoglobini ölçen sekiz dalga boyunda nabız oksimetreleri mevcuttur, ancak bir tarama testi olarak rolleri olabilse de, kan kooksimetresinin yerini alacak kadar doğru kabul edilmezler (40).

Hidroksikobalamin, COHb ölçümünü etkiler. Hidroksikobalamin tedavisi, siyanür maruziyeti düşünülen durumlarda hastane öncesinde uygulanabildiği için, COHb ölçümünü etkileyerek hatalı sonuçlara yol açabildiği ve hem hatalı düşük hem de yüksek seviyeler gösterebildiği ortaya konulmuştur. Olası siyanür maruziyeti olan hastalarda, bakımı üstlenen klinisyenler hidroksikobalamin verilip verilmediğini sormalıdır. Bununla birlikte, bu tür bir tedaviden bağımsız olarak, klinisyenler maruz kalma öyküsüne dayanarak olası bir CO zehirlenmesi teşhisi koymalı ve herhangi bir şüphe varsa, oksijen ve hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi düşünülmelidir. Eğer mevcutsa, hidroksikobalamin ile tedaviden önce alınan kan örnekleri daha doğru ölçümler sağlayacaktır (41,42).

2.1.8. Tedavi

Genel İlkeler

CO ile zehirlenmiş hastanın yönetiminde kritik müdahaleler, CO kaynağından derhal uzaklaştırılması ve high-flow oksijen sağlanmasıdır. CO zehirlenmesi vakalarında, kaynak tanımlanıp düzeltilmediği takdirde, diğer kişilerin CO'ya maruz kalabileceği düşünülmelidir. Yerel itfaiye veya diğer acil durum yönetimi personeli, şüpheli ortamdaki ortam CO seviyelerinin değerlendirilmesine ve mağdurların uzaklaştırılmasına yardımcı olmalıdır (30)

1. ve 2. Basamak hastaneler, karboksihemoglobin (COHb) konsantrasyonlarını ölçme yeteneğinden yoksun olabilir (43). Oksimetresi olmayan hastanelerde tedavi gören CO zehirlenmesinden şüphelenilen hastalara, nonbreathing yüz maskesi ile yüzde 100 oksijen tedavisi başlanmalıdır. İlk

stabilizasyondan sonra , özellikle olumsuz sonuçlar açısından yüksek risk taşıyan hastalar (örn. asidemi, iskemik elektrokardiyogram [EKG] değişiklikleri, senkop, zihinsel değişiklikler) sevk edilmelidir.

High-flow oksijen : CO'ya maruz kalmış hastalarda önerilen ilk tedavi yöntemi nonbreathing yüz maskesi ile yüksek volüm (yüzde 100) normobarik O₂'dir. CO vücuttan atılmaya maruziyetten sonra başlar ve solunum yolu ile atılır. Fakat oda havasını soluyan bir hastada COHb'nin yarı ömrü yaklaşık 250 ila 320 dakikadır (44). Normobarik yüksek akışlı O₂ tedavisi, nispeten güvenli ve erişilebilirdir ve COHb'nin ortadan kaldırılmasını hızlandırır. Buna rağmen solunan oda havasıyla karşılaştırıldığında, gecikmiş nöropsikiyatrik sendromu (DNS) gerçekten sınırladığına veya önlediğine dair kanıt yoktur. CO ile zehirlenmiş hastalarda yapılan bir çalışmada, normobarik O₂ ile tedavi edilen hastalarda altı haftalık bilişsel sekel, oda havasında solutulan hastalara kıyasla daha düşüktür ancak bu bulgu istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (45).

Orta veya yüksek riskli hastalarda öncelikli olarak ABC değerlendirilir. Hava yolu, solunum ve dolaşım değerlendirilerek güvence altına alınır. Eğerki hasta komada, mental durumu ağır, yüzeyel solunumda görülürse ivedilikle entübe edilmeli ve yüzde 100 oksijen ile MV'de solutulmalıdır.

Yangın veya duman inhalasyonuna bağlı mental durum değişikliği, koma gibi durumlarda artmış laktat düzeyide mevcutsa bu hastalara multidisipliner yaklaşım gereklidir. Ayrıca bu hastalarda CO dışında siyanür maruziyeti de görülebileceği unutulmamalıdır. Siyanür maruziyeti, yangınlardan ve duman inhalasyonundan kaynaklanabileceğinden ve CO ile klinik benzerlik olduğundan, doku oksijen kullanımını daha da bozabilir ve hücresel hipoksiyi şiddetlendirebilir. Bu klinikle siyanür toksisitesini kesin olarak dışlamak zordur (24). Olası siyanür toksisitesini tedavi etmek için hidroskobalamin önerilir.

Hiperbarik oksijen tedavisi (HBO): Yüksek dereceli CO zehirlenmesi olan hastalarda önerilen tedavi yöntemidir

Tablo 3. HBO tedavisinin önerildiği durumlar

HBO endikasyonları
COHb seviyesi > % 25
Hamile hastalarda COHb düzeyi > % 15
Bilinç kaybı
Şiddetli metabolik asidoz (pH <7.25)
End organ hasarı (myokard iskemisi, mental durum değişikliği)

CO zehirlenmesinin etkilerini tedavi etmek ve doku oksijenizasyonunu hızlı bir şekilde sağlamak için 6 saat içinde HBO tedavisine başlanmalıdır(46). Daha da önemlisi, COHb yukarıda belirtilen eşik değerlerin altına düşse bile gecikmiş HBO tedavisi yine de fayda sağlayabilir; ancak, CO maruziyetinden, 24 saatten fazla bir süre geçmisse tedavinin fayda sağladığı kanıtlanmamıştır. HBO almak üzere seçilen tüm hastalar, CO zehirlenmesinin akut etkilerini tersine çevirmek için mümkün olan en kısa sürede 2,5 ila 3 mutlak atmosferde (ATA) en az bir kere tedavi almalı (30, 32, 47).

HBO, hastaları yüksek basınçla, yüzde 100 oksijen tedavisi sağlar, bu sayede COHb'nin yarı ömrünü 75 ila 90 dakikadan 30 dakikaya kadar düşürür. Kanda çözünen oksijen miktarı 20 kat yükselir, bu sayede dokulara oksijen sunumu sağlanır. HBO, DNS'yi önlediği iddia edilen mekanizma ile nötrofil oksidatif reaksiyonunu, ksantin oksidaz üretimini ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder (48).

COHb seviyesi yüzde 25'in üzerinde olan hastalarda rutin olarak HBO tedavisini önerilmesine rağmen, mevcut bazı çalışmalara bakıldığında farklı sonuçların ortaya çıktığı bilinmektedir. Bazı toplumlar COHb seviyesi olarak yüzde 40'ı eşik değer olarak kabul eder. Literatürde net COHb seviyelerine göre belirlenmiş bir HBO tedavi önerisi bulunmamaktadır. Hangi hastaların HBO tedavisinden yarar göreceği konusu net bilinmemektedir. Buna rağmen CO zehirlenmesi olan hastalarda HBO tedavisi için geniş bir endikasyon skalası mevcuttur (27,30, 49).

Etkinlik: HBO kullanımını destekleyen kanıtlar, önemli sınırlamaları olan denemelere, gözlemsel çalışmalara ve mekanik verilere dayanmaktadır.

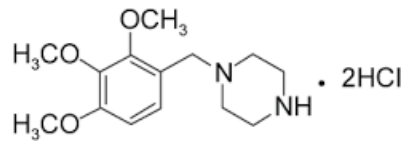
Mortalite : HBO'nun, CO zehirlenmelerine bağlı meydana gelen mortaliteleri azalttığı yapılan bazı çalışmalarla ortaya konulmuştur. CO zehirlenmesi olan 25.000'den fazla hastayı içeren retrospektif bir ulusal zehir veri tabanı çalışmasında, HBO alan hastaların, almayanlara göre tedaviden sonraki dört yıl içinde düşük ölüm oranlarına sahip oldukları bildirilmiştir (50). Yine tekrarlayan dozlarda HBO uygulanan hastaların mortalite oranlarının tek doz HBO tedavisi alanlara oranla belirgin ölçüde düşük olduğu bildirildi. Ayrıca 20 yaş altı ve solunum yetmezliği olan hastaların HBO tedavisinden belirgin fayda sağladıkları tespit edilmiştir. Ancak, bu çalışmada, zehirlenmenin ciddiyeti ve HBO'nun zamanlaması ile ilgili bilgiler mevcut değildi. Bu sınırlamalara rağmen, zihinsel durumu değişmiş veya şiddetli metabolik asidozu olan veya end organ hasarı gibi ciddi belirtileri olan hastalarda, HBO tedavisinin ciddi yarar sağladığı görülmüştür.

HBO, şiddetli CO zehirlenmesiyle ilişkili geç nörobilişsel eksikliklerin önlenmesinde faydalı olabilir. HBO'nun DNS şiddetini azaltmadaki etkinliğini değerlendirmek için tasarlanan klinik araştırmalar, büyük ölçüde yarar sağladığına dair deliller ortaya sunmuştur (9,33,51-57).

Yayınlanmış altı çalışmanın meta analizinde , HBO veya normobarik oksijen tedavisi (NBO) verilen 1335 hastada, altı hafta sonra nörolojik sekelleri değerlendirildiğinde, HBO verilen grupta daha az nörolojik sekele görüldü. (53). Hiperbarik tedavinin nörolojik performans açısından bu avantajı, ilk başvurudan altı ay ve bir yıl sonra da devam etti (51-57).

2.2. Trimetazidinin

TMZ antianginal bir ajan olarak uzun süredir kullanılmaktadır(Şekil1).



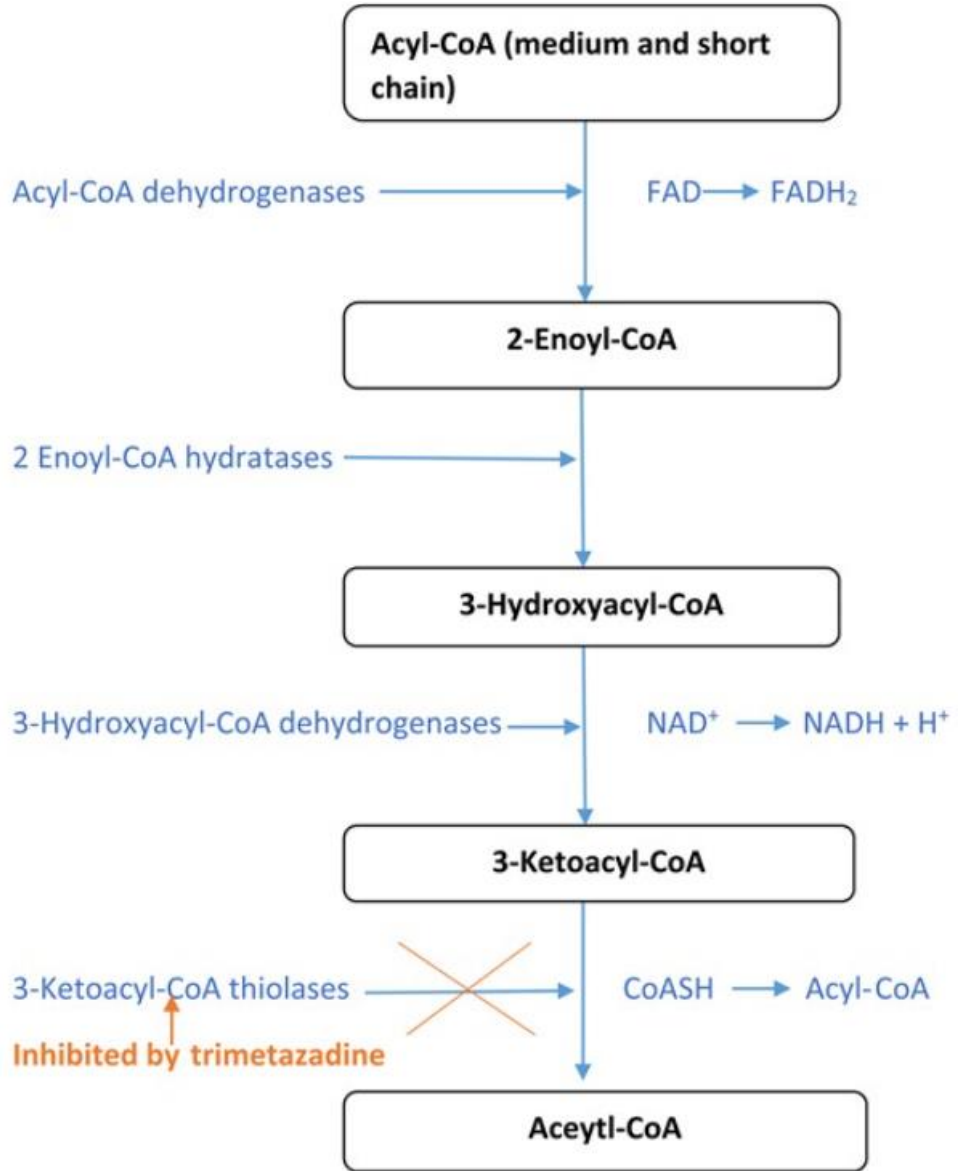
Şekil 1: Trimetazidinin kimyasal açılımı

Tablo 4. Trimetazidinin etki mekanizması

Trimetazidinin etki mekanizması
Serbest yağ asidinin β -oksidasyonunun inhibisyonu
Artan piruvat dehidrojenaz aktivitesi
Artan sarkolemma mekanik direnci
Artan miR-21 ekspresyonu ile apoptozun inhibe edilmesi
Kardiyak fibroblastlarda bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ekspresyonunu azaltarak kardiyak fibrozu azaltır

Serbest yağ asidi β -oksidasyonunun inhibisyonu

Serbest yağ asidi oksidasyonu, kardiyomiyositlerin birincil enerji kaynağıdır ve %60-90'ını oluşturur, geri kalanı glikoz metabolizmasından kaynaklanır. Aynı miktarda adenosin trifosfat (ATP) üretmesine rağmen, serbest yağ asidi oksidasyonu, iskemik koşullar altında ek %10-15 oksijen gerektirmesi önemli bir dezavantajdır. Yaygın olarak sitoprotektif bir ajan olarak kabul edilen TMZ, kısmi yağ asidi oksidasyonunun inhibisyonu yoluyla kardiyomiyositlerde daha verimli glikoz oksidasyonunu teşvik ederek bir metabolik düzenleyici görevi görür. Yağ açıl beta-oksidasyonunun son aşamasından sorumlu olan uzun zincirli 3-ketoasil CoA tiyolazın enzimatik aktivitesini inhibe eder (şekil 2). Bunu yaparken, kardiyomiyosit enerji türevinde daha verimli glikolitik biyokimyasal yollara doğru bir kaymaya neden olur ve böylece oksijeni korurken enerji üretimini sürdürür (58).



Şekil 2: Acetyl-CoA enzimatik reaksiyonu

Piruvat dehidrojenaz aktivitesinin arttırılması

TMZ, piruvat dehidrojenaz kompleksinin bir bileşeni olan piruvat dehidrojenaz aktivitesini arttırdığı bilinmektedir. Bu mekanizma sayesinde, piruvatın asetil Co-A'ya dönüşümünü kolaylaştırır, böylece glikoliz ile sitrik asit döngüsü arasında nikotinamid adenin dinükleotit(NAD) yolu ile enerji salınımı ile bağlantı kurar (58). Bazı çalışmalarda, TMZ farmakolojik etkisinin en azından bir kısmının, mitokondriyal kalsiyum metabolizmasındaki değişiklikler yoluyla, ATP sentezini artıran bir yolak olduğu öne sürülmüştür (59).

Reperfüzyon hasarının inhibisyonu

Son zamanlarda, TMZ'nin mikroRNA-21'i arttırdığı gösterilmiştir. Artan mikroRNA-21 ekspresyonu, Akt sinyalinin aktivitesini yukarı regüle ederek bax/bcl-2 oranında ve ayrıca kaspaz-3 ekspresyonunda bir azalmaya neden olur; nihai etki, hipoksi/reperfüzyon kaynaklı apoptozda bir azalmadır. Ek olarak TMZ, sarkolemmanın mekanik direncini artırarak akut miyokard enfarktüsünü (MI) takiben kardiyomiyositleri reperfüzyon hasarından koruyabilir. TMZ, sarkolemmal direncini artırarak hücreleri potansiyel apoptozdan ve ortaya çıkan ventriküler işlev bozukluğundan korur (58).

Kardiyak fibrozisin inhibisyonu

TMZ doğrudan kardiyak fibrozu inhibe ettiği düşünülmektedir. İlaç, kollajen birikimini, kardiyak fibroblastlarda bağ dokusu büyüme faktörü ekspresyonunu, NAD fosfat-oksidaz seviyelerini ve reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltır.

TMZ etkisi ve güvenilirliği sayesinde öncelikli olarak antianginal tedavide kullanılmıştır (60). Tavşan kalbi üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda iskemi reperfüzyon basamaklarında TMZ nin vasküler geçirgenlik üzerine yan etkisi olmadan nötrofil akümülyasyonunu azalttığı gösterilmiştir (61). TMZ nin myokardial hücreleri iskemi reperfüzyon hasarından koruduğu da belli çalışmalarda gösterilmiştir. Bunu da intraselüler asidozu azaltarak ve reperfüzyon sırasındaki fosforilasyon restorasyonunu artırarak yaptığı belirtilmiştir (62). Koroner arter bypass hastalarında kardiyoplejik solusyona TMZ eklenmesiyle hücre hasarı göstergelerinin ve lipid peroksidasyonunun azaldığı gösterilmiştir (63). Hayvan çalışmalarında da TMZ nin infarkt alanını azalttığı ve kalbin mekanik fonksiyonunda dramatik iyileşme sağladığı belirtilmiştir (64, 65). TMZ'nin direk sitoprotektif ajan olduğuyla ilgili hipotezler de ortaya konmuştur (66).

Bizim çalışmamız CO zehirlenmesinde trimetazidinin iskemik doku hasarında iyileştirici etkisini değerlendirmede kullanılan ilk çalışmadır. Çalışmamızda güçlü antioksidan ve sitoprotektif özelliği bilinen ve literatürde yayınlarla desteklenen TMZ'nin, CO zehirlenmesinde, karaciğer, beyin ve kalp gibi

kanlanması yüksek hayati organlarda iskemiye sekonder meydana gelen etkileri üzerinde , iyileştirici etkisinin olup olmadığı karşılaştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Araştırmanın Tipi, Yeri, Zamanı ve Araştırma İzni

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Farabi Hastanesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'nda planlandı. 2021/52 protokol numarası ile 24.09.2021 tarihinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alındıktan sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütüldü. Histopatolojik araştırmaları Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Araştırmanın Evreni

Araştırmanın evrenini, Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen Spraque Dawley cinsi dişi ratlar oluşturdu.

3.3. Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemi

Bu çalışmada, 36 adet olgun 250 ± 25 gr Spraque Dawley cinsi dişi ratlar kullanıldı. Grup başına düşen rat sayıları hesaplanırken, istatistiksel güç analizleri dikkate alındı. Çalışma gününe kadar ratlar 22 °C oda sıcaklığında, su ve standart rat yemeği verilerek çelik kafeslerde tutuldu.

3.4. Deney Protokolü

Çalışma için 6 grup planlanmıştır:

- 1) Grup I (Sham grubu-SF, n=6);** Deney fanusu (Resim 1) içerisine yerleştirilen ratlar 60 dakika boyunca oda havasında solutuldu ve fanustan çıkardıktan sonra 1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak 12 saat arayla toplam 4 kez, 48 saat boyunca uygulandı.
- 2) Grup II (Trimetazidin grubu, n=6);** Deney fanusu içerisine yerleştiriliren ratlar 60 dakika boyunca oda havasında solutuldu ve fanustan çıkardıktan sonra 5mg/kg TMZ toplam 1 ml olacak şekilde

serum fizyolojik ile tamamlanarak, intraperitoneal olarak, 12 saat arayla, toplam 4 kez, 48 saat boyunca uygulandı.

- 3) **Grup III (CO + SF grubu n=6);** Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç kaybı görülene kadar yüksek konsantrasyonda, 5000 ppm CO gaz karışımı ile 4 lt/dk solutuldu. Fanustan çıkarıldıktan sonra CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 1 ml kandan ölçüldü ve 1 ml SF intraperitoneal olarak 12 saat arayla toplam 4 kez, 48 saat boyunca uygulandı.
- 4) **Grup IV (CO + Trimetazidin 5mg/kg grubu n=6);** Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç kaybı görülene kadar yüksek konsantrasyonda, 5000 ppm CO gaz karışımı ile 4 lt/dk solutuldu. CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 1 ml kandan ölçüldü ve fanustan çıkardıktan sonra 5 mg/kg intraperitoneal TMZ toplam 1 ml olacak şekilde serum fizyolojik ile tamamlanarak, intraperitoneal olarak, 12 saat arayla, toplam 4 kez, 48 saat boyunca uygulandı.
- 5) **Grup V (CO + Trimetazidin 10 mg/kg grubu n=6);** Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç kaybı görülene kadar yüksek konsantrasyonda, 5000 ppm CO gaz karışımı ile 4 lt/dk solutuldu. CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 1 ml kandan ölçüldü ve fanustan çıkardıktan sonra 10 mg/kg intraperitoneal TMZ toplam 1 ml olacak şekilde serum fizyolojik ile tamamlanarak, intraperitoneal olarak, 12 saat arayla, toplam 4 kez, 48 saat boyunca uygulandı.
- 6) **Grup VI (CO + Trimetazidin 15 mg/kg grubu n=6);** Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç kaybı görülene kadar yüksek konsantrasyonda, 5000 ppm CO gaz karışımı ile 4 lt/dk solutuldu. CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 1 ml kandan ölçüldü ve fanustan çıkardıktan sonra 15 mg/kg intraperitoneal TMZ toplam 1 ml olacak şekilde serum fizyolojik ile tamamlanarak, intraperitoneal olarak, 12 saat arayla, toplam 4 kez, 48 saat boyunca uygulandı.

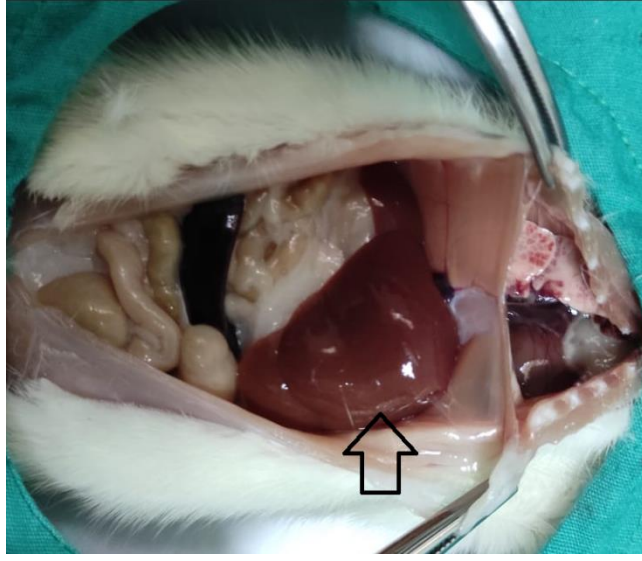
Deney protokolünün başlangıcından 48 saat sonra tüm ratlara anestezi (Xylazine 5mg/kg, ketamin 50 mg/kg) uygulandıktan sonra dekapitasyon yöntemi ile ötenazi uygulanarak karaciğer beyin ve kalp dokuları çıkarıldı (Resim 2,3,4).



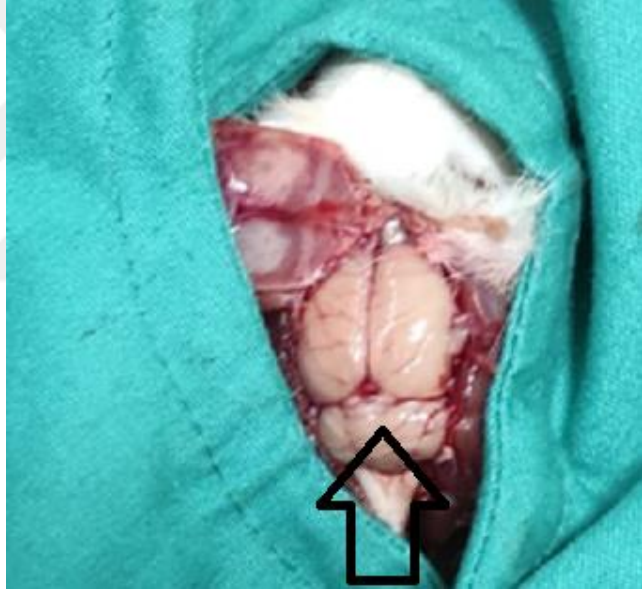
Resim 1: Deney Fanusu



Resim 2: Kalp (ok)



Resim 3: Karaciğer (ok)



Resim 4: Beyin (ok)

3.5. Dokuların Histopatolojik Analizi:

Çalışma sonunda alınan dokular histopatolojik analizleri için %10'luk formalin solüsyonu içinde 48 saat tespit edildi. Dokular rutin histopatolojik doku takip sistemi ile takip edildi (Thermo scientific- Excelsior AS, UK), ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM2255, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Seri kesitler genel histopatolojik yapının değerlendirilmesi için Hematoksilen-eozin (H&E) boyama (67) yapıp ışık

mikroskopunda değeriendirildi (Olympus BX51, Tokyo, Japan). Değeriendirme her bir kesitte farklı bölgelerden çekilen en az 10 imaj üzerinde yapıldı.

Karaciğeri Histopatolojik Analizi:

H&E ile boyama yapılan karaciğeri dokularında hepatositlerin değeriendirilmesinde aşağıdaki yarı-kantitatif skor kullanıldı.

Grade 0: Hasar hiç yok veya minimal hasar

Grade 1: Hafif hasarla birlikte sitoplazmik vakuolizasyon ve nükleer piknozis

Grade 2: İlmli hasarla birlikte genişletilmiş nükleer piknozis, sitoplazmik hipereozinofili ve hücre sınırlarının kaybedilmesi

Grade 3: Yaygın hasarla birlikte nötrofil infiltrasyonu, yaygın nekroz (68)

Hematoksilen Eozin ile boyanmış kesitler ayrıca sinüzoidal dilatasyon, sinüzoidal konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hemoraji açısından yarıkantitatif olarak ayrı ayrı değeriendirildi (69). Bu yarıkantitatif sınıflandırmada 0: Hiç yok; 1: Hafif; 2: Orta ve 3: Şiddetli olarak değeriendirildi.

Kalbin Histopatolojik Analizi:

Kalp dokusunun değeriendirilmesinde elde edilen histopatolojik bulgular dikkate alınarak yarıkantitatif değeriendirme yapıldı. Myokardial hücre dejenerasyonu açısından 0-3 arasında skora yapıldı (70) Buna göre;

0 (normal): Myositlerde dejenerasyon yok,

1 (hafif): Birkaç dejenere myosit,

2 (orta): %50 civarında myosit dejenerasyonu,

3(Şiddetli): %50'nin üzerinde myosit dejenerasyonu

Ayrıca, kalp kası liflerinde düzensizlikler, vasküler konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından da 0-3 arasında skorlama yapıldı. Skorlamada 0: Hiç yok; 1: hafif; 2: orta ve 3: şiddetli olarak yarı kantitatif değerlendirme yapıldı (71).

Beyin Histopatolojik Analizi:

Beyin yapısının daha detaylı olarak incelenebilmesi için krezil viyole boyama yöntemi ile boyandı. Preparatlar bu konuda deneyimli ve gruplardan habersiz bir histolog tarafından ışık mikroskopu ile (Olympus BX-51; Olympus Optical Co.,Tokyo, Japan) değerlendirildi.

Beyin dokusunun değerlendirmesinde kortekste nöronal değişiklikler histolojik olarak skorlandı (72).

Bu skorlamada;

Grade 1; hafif büzüşmüş nöronlar sitoplazmik vakuolizasyon olan /olmayan grup,

Grade 2; orta derecede büzüşmüş nöronlar (eozinofilik sitoplazma), ve artmış nükleer bazofili / veya vakuollü sitoplazma ve veziküler nükleus,

Grade 3; şiddetli büzüşmüş nöronlar (eozinofilik sitoplazma), piknotik nükleus olarak değerlendirildi.

Kortekste 100 piramidal hücre sayılarak dejeneratif piramidal nöron yüzdesi ışık mikroskop altında 200X büyütmede Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Münster, Germany) kullanılarak sayıldı. Hücre gövdesinde büzüşme, sitoplazmada nissl kaybı ve eozinofili, koyu renkli, küçülmüş nukleuslu hücreler dejeneratif nöronlar olarak değerlendirildi (73).

3.6. Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntem

Toplanan veriler IBM SPSS paket programı (versiyon 25) kullanılarak analiz edildi. Analizler %95 güven düzeyinde incelendi. Kullanılacak analiz yönteminin belirlenmesi amacıyla Shapiro-Wilk testi sonuçları incelenerek verilerin normal

dağılım gösterip göstermedikleri belirlendi. Tanımlayıcı istatistikler normal dağılan sayısal verilerde ortalama ve standart sapma, normal olmayan dağılımlarda ortanca (%95 güven aralığı) şeklinde, nominal veriler de sayı (n) ve yüzde (%) şeklinde ifade edildi. İkili grup karşılaştırmalarında; normal dağılıma uyan numerik verilerin karşılaştırılmasında Student-T testi, uymayan verilerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Grup sayısı 3 ve üzerinde olan normal dağılıma uyan nominal verilerin karşılaştırılmasında ANOVA testi, normal dağılıma uymayan nominal verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Post-Hoc analizler için Bonferroni düzeltmesi kullanıldı. Çalışmadaki istatistiksel analizlerde $p<0.05$ 'in altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Tablo 5. Gruplara ait CO seviyeleri

Gruplar		CO Düzeyi (birim) (ort ± ss)	p
CO verilmeyen gruplar	Grup 1- SHAM	0,9 ± 0,97	0,136
	Grup 2- Trimetazin + hava	1,96 ± 1,27	
CO verilen gruplar	Grup 3- CO + SF	30,16 ± 2,45	0,580
	Grup 4- CO + 5 mg Trimetazin	29,40 ± 3,07	
	Grup 5- CO + 10 mg Trimetazin	29,11 ± 2,20	
	Grup 6- CO + 15 mg Trimetazin	31,56 ± 4,76	

CO'ya maruz bırakılmayan (grup 1,2) ve maruz bırakılan (grup 3,4,5,6) gruplar arasında, Grup 3,4,5,6'nın CO düzeylerinin ortalaması $30,06 \pm 3,20$ idi. Grup 1 ve 2 'nin CO düzeylerinin ortalaması ise $1,43 \pm 1,21$ idi. Buna göre CO'ya maruz bırakılmayan grupların ve CO'ya maruz bırakılan grupların CO düzeyleri kendi aralarında benzerdi ($p=0,136$ ve $p=0,580$;sırasıyla).

Deney sonucunda tüm gruplara ait ratların, beyin, kalp ve karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir.

Gruplara ait karaciğer dokularının ışık mikroskopik değerlendirmesinde;

Grup 1'de normal karaciğer dokusu morfolojisi izlendi. Hepatositler ve sinüzoidal aralık normal görünümde izlendi (Resim 5).

Grup 2'de normal karaciğer dokusu morolojisi izlendi. Hepatositler normal görünümde idi. Yer yer sinüzoidal aralıkta genişlemeler ve vazokonjesyon mevcut idi (Resim 6).

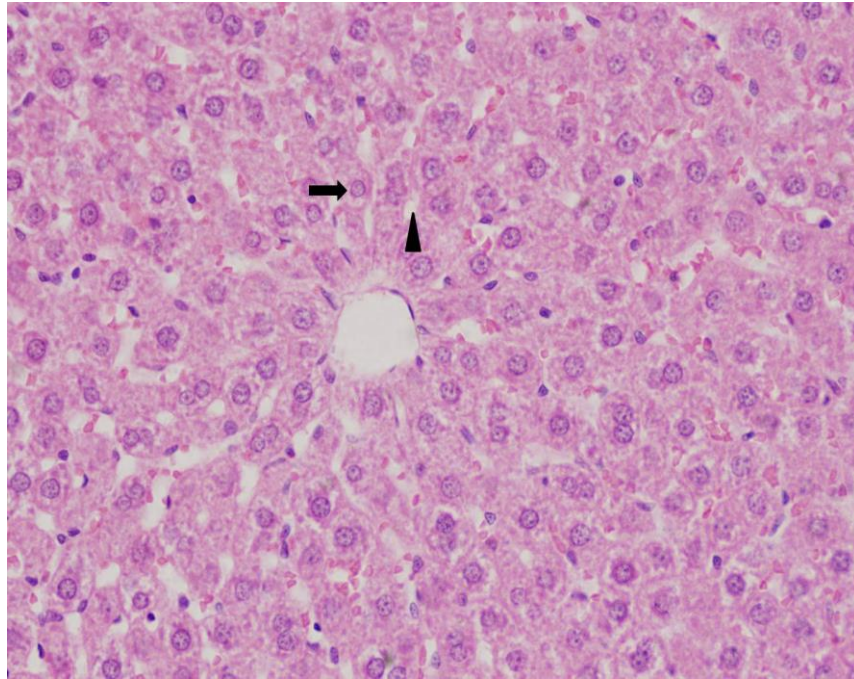
Grup 3'te özellikle vena centralis etrafında olmak üzere hepatositlerde dejeneratif değişiklikler izlendi (Resim 7). Yer yer piknotik nükleuslu hepatositler ve hipereozinofili izlendi. Sinüzoidal aralıkta belirgin genişlemeler ve vazokonjesyon

mevcut idi (Resim 8). Özellikle portal alanda olmak üzere inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 9).

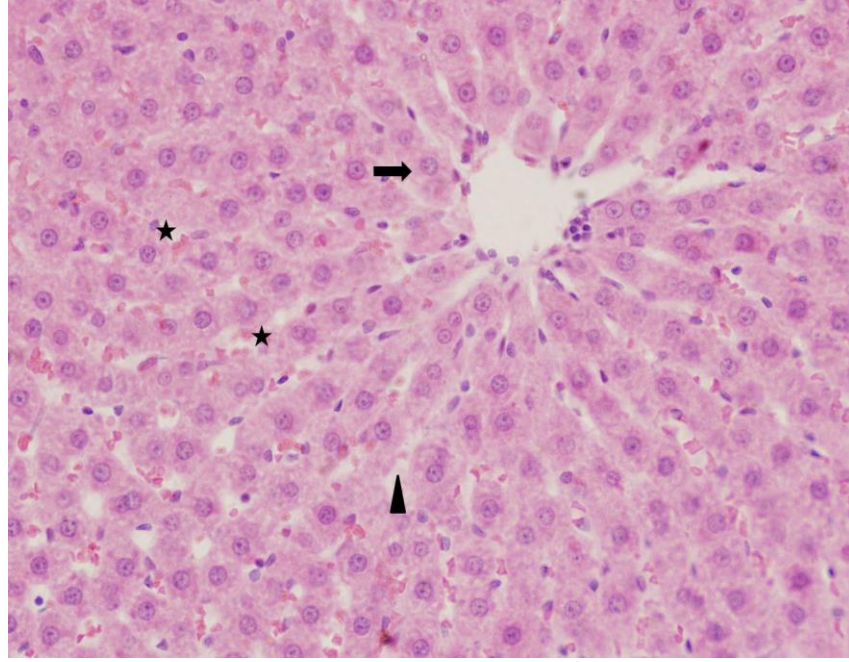
Grup 4'te vena centralis etrafında az miktarda dejeneratif hepatositler mevcut idi. Hepatositler normale yakın morfolojide izlendi. Sinüzoidal dilatasyon ve vasküler konjesyon izlendi (Resim 10). Portal alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve sinüzoidal alanda vazokonjesyon izlendi (Resim 11).

Grup 5'te hepatositler normale yakın morfolojide izlendi. Sinüzoidal aralıkta dilatasyon ve yer yer vazokonjesyon izlendi (Resim 12). Portal alan çevresinde az miktarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve sinüzoidal aralıkta genişleme izlendi (Resim 13).

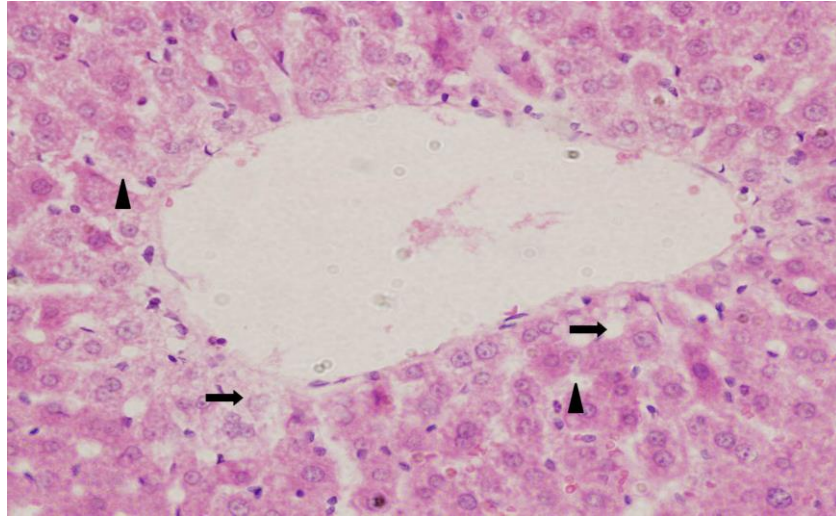
Grup 6'da hepatositler normal morfolojide izlendi. Sinüzoidal aralıkta yer yer dilatasyonlar mevcut idi (Resim 14). Portal alan çevresinde az miktarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 15).



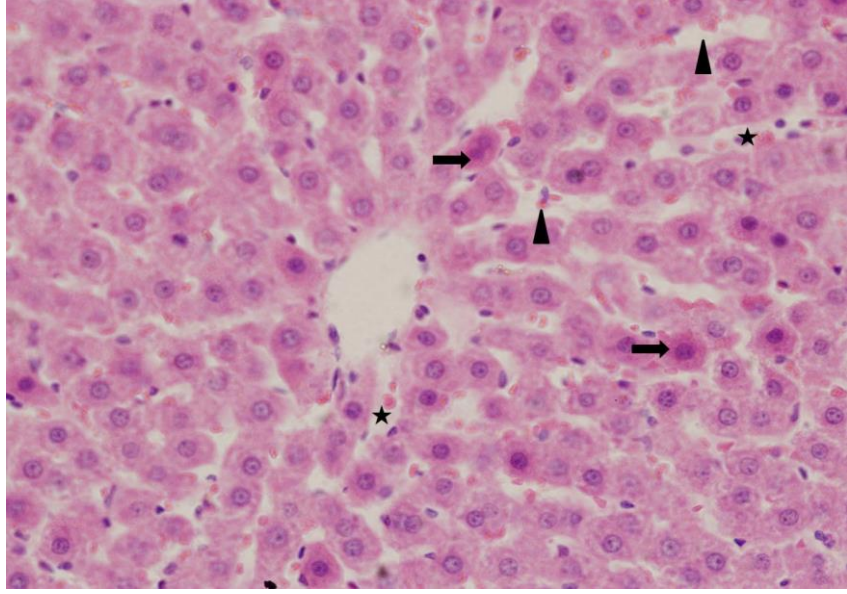
Resim 5: Grup 1 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı) (H&E X 200)



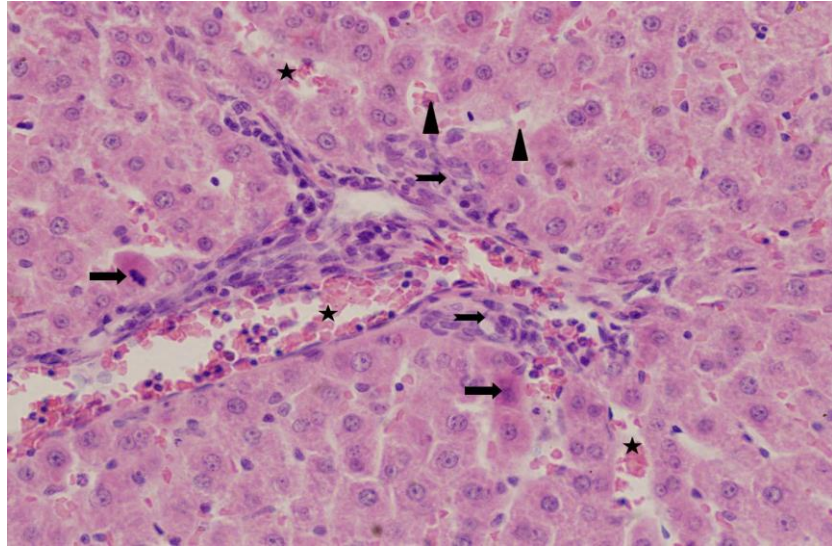
Resim 6: Grup 2 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı) , vazokonjesyon (yıldız) (H&E X 200).



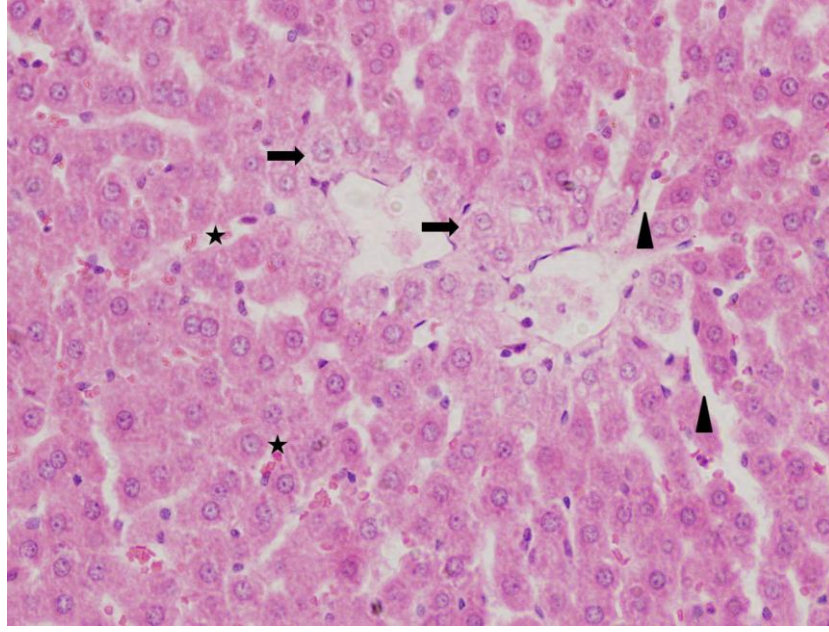
Resim 7: Grup 3 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı) , (H&E X 200).



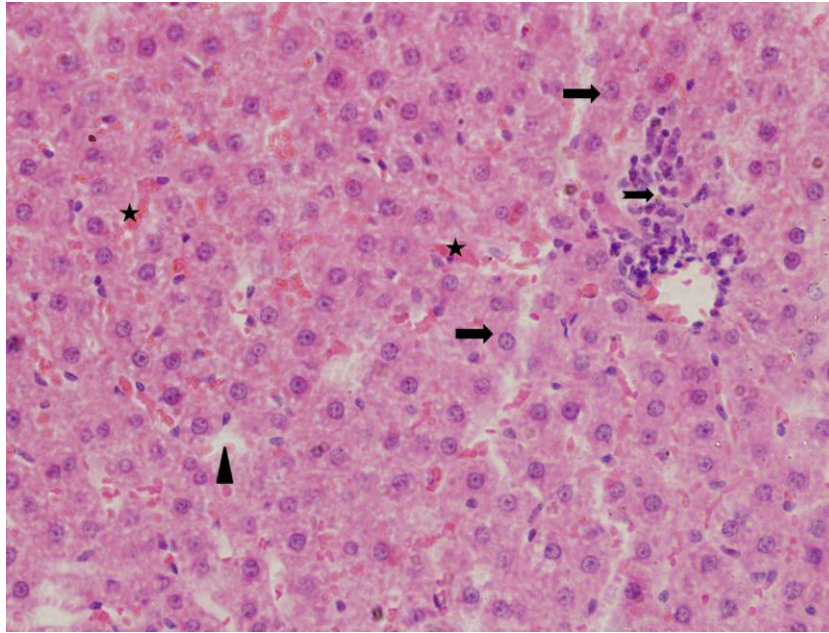
Resim 8: Grup 3 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), vazokonjesyon (yıldız) (H&E X 200).



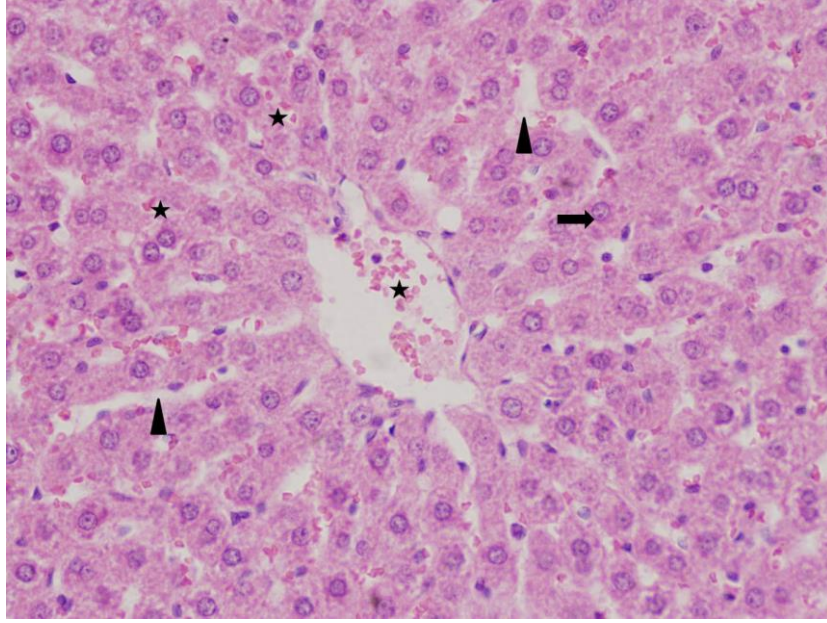
Resim 9: Grup 3 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), vazokonjesyon (yıldız), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sağa bakan çentikli ok) (H&E X 200).



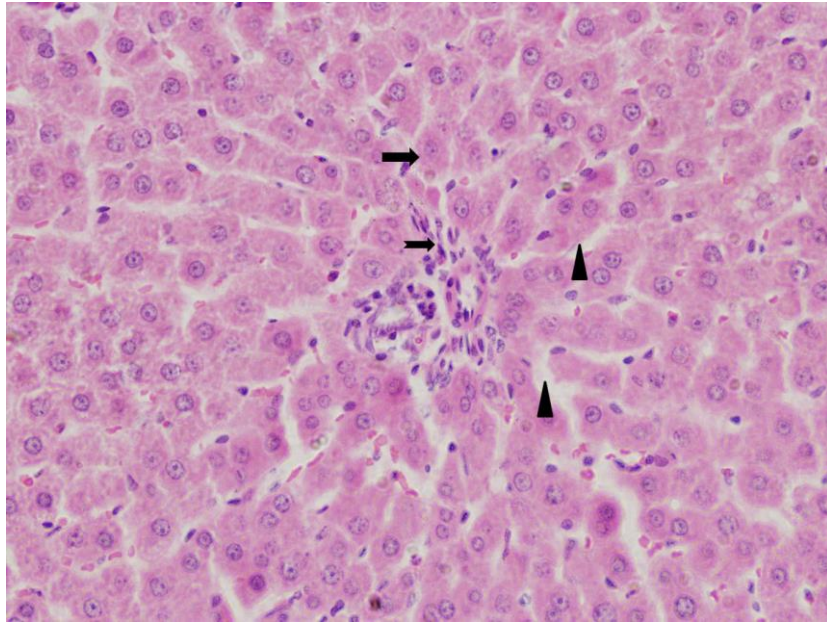
Resim 10: Grup 4 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), vazokonjesyon (yıldız) (H&E X 200).



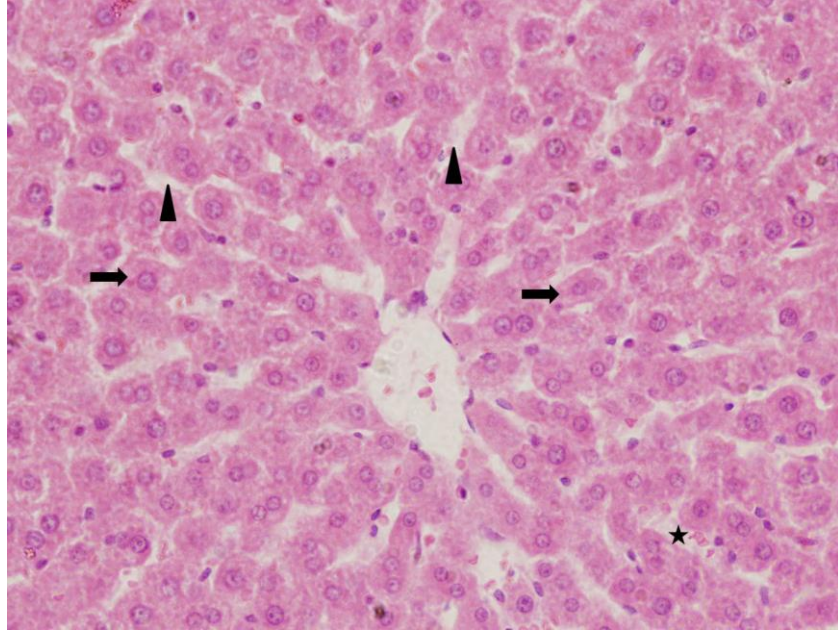
Resim 11: Grup 4 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), vazokonjesyon (yıldız), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sağa bakan çentikli ok) (H&E X 200).



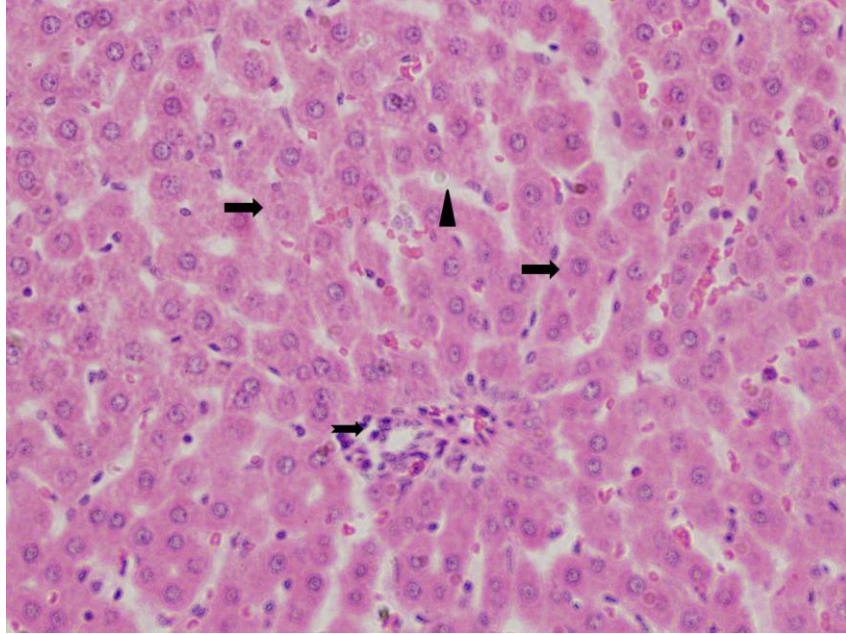
Resim 12: Grup 5 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), vazokonjesyon (yıldız) (H&E X 200).



Resim 13: Grup 5 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sağa bakan çentikli ok) (H&E X 200).



Resim 14: Grup 6 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı) (H&E X 200).



Resim 15: Grup 6 karaciğere ait fotomikrograf. Hepatositler (ok), sinüzoidal aralık (ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sağa bakan çentikli ok) (H&E X 200).

Gruplara ait kalp dokularının ışık mikroskopik değerlendirmesinde;

Grup 1’de normal histolojik yapıda kalp kası lifleri ve kas lifleri arasında kan kapillerleri izlendi (Resim 16 A).

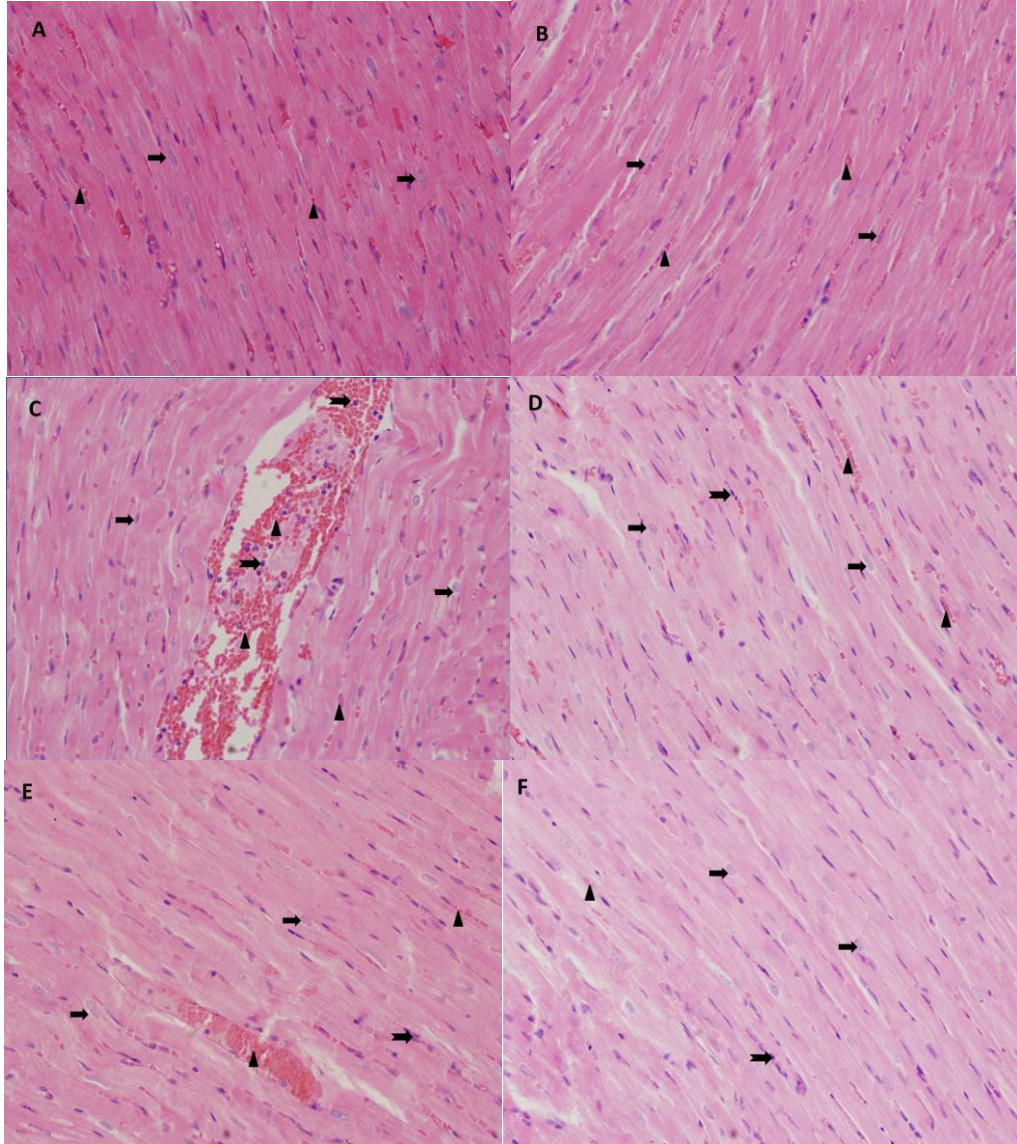
Grup 2’de kalp kası lifleri düzenli dizilimde idi. Kas lifleri arasında kan kapillerleri izlendi (Resim 16 B).

Grup 3’te kalp kası liflerinde yaygın olarak düzensizlikler ve kas lifleri arasında şiddetli derecede vasküler konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 16 C).

Grup 4’te ve Grup 5’te kalp kası liflerinde hafif şiddette düzensizlikler ve kas lifleri arasında hafif derecede vasküler konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 16 D,E).

Grup 6’da kalp yapısı normale yakın morfolojide izlendi. Kas lifleri arasında hafif açılmalar mevcut idi. Vazokonjesyon çok az izlendi (Resim 16 F).





Resim 16: Kalbe ait fotomikrograf. A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4, E: Grup 5, F: Grup 6. Myokardiyal kas lifleri (Ok), vazokonjesyon (ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sağa bakan çentikli ok) (H&E X 200).

Gruplara ait beyin dokularının ışık mikroskopik değerlendirmesinde;

Beyin dokusunun krezil viyole ile yapılan boyamasında, hücre gövdesinde büzüşme, sitoplazmada nissl kaybı ve eozinofili, koyu renkli, küçülmüş nükleuslu hücreler dejeneratif nöronlar olarak değerlendirildi. Resim 17 de normal ve dejeneratif nöronlar histopatolojik olarak gösterilmektedir. Buna göre beyin dokusunun korteksinin değerlendirmesinde;

Grup 1'de normal bir beyin korteksi ve piramidal nöron histolojik yapısı gözlendi (Resim 18 A).

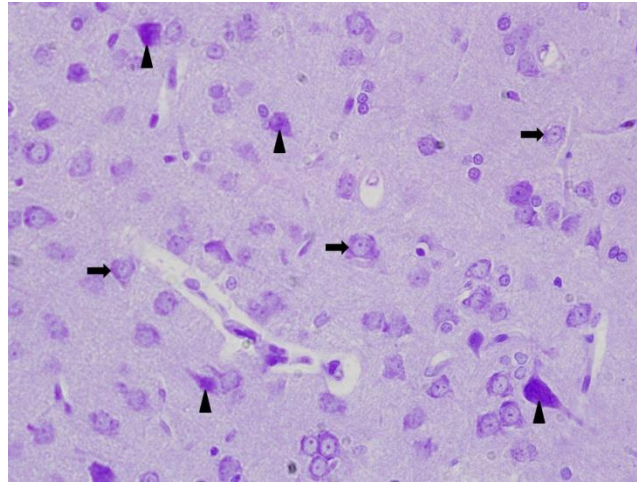
Grup 2'de normal bir beyin korteksi ve piramidal nöron histolojik yapısı gözlendi (Resim 18 B).

Grup 3'te normal piramidal nöronların yanında yaygın olarak korteksin tüm katmanlarında eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik çekirdekli dejeneratif piramidal nöronlar izlendi (Resim 18 C).

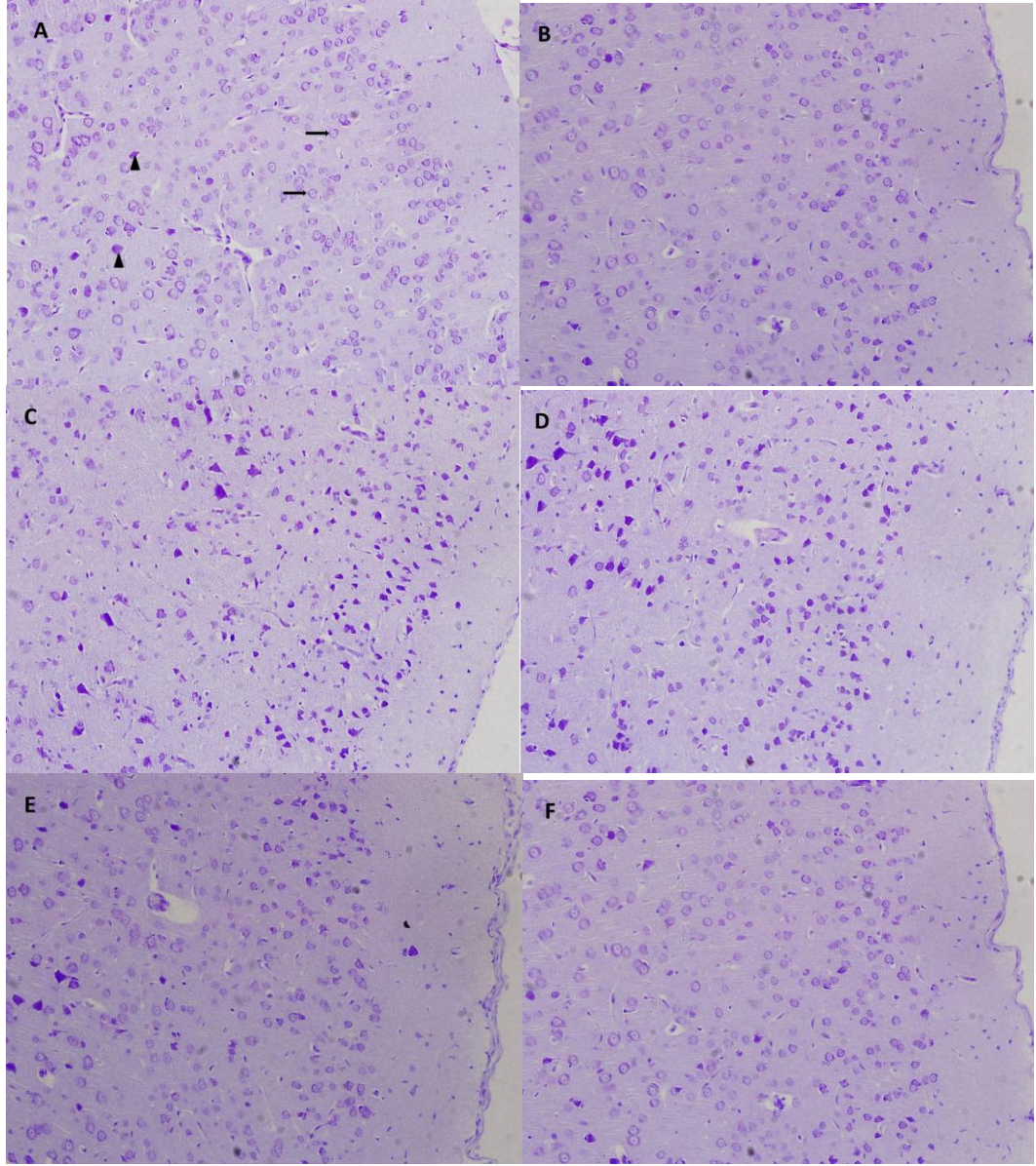
Grup 4'te dejeneratif nöronlar yine korteksin tüm katmanlarında grup 3'e göre daha az miktarda izlendi (Resim 18 D).

Grup 5'te normal bir beyin korteksi ve piramidal nöron histolojik yapısı gözlendi. Dejeneratif nöronlar oldukça azalmıştı ve daha sıklıkla korteksin beyaz cevher kenarına yakın bölümlerinde izlendi (Resim 18 E).

Grup 6'da normale yakın beyin korteksi ve piramidal nöron histolojik yapısı gözlendi. Dejeneratif nöronlar çok az izlendi (Resim 18 F) .



Resim 17: Beyin korteksine ait fotomikrograf. Normal yapıda piramidal nöron (ok), dejeneratif piramidal nöron (Ok başı) (Krezil viyole X 400).



Resim 18: Beyin korteksine ait fotomikrograf. **A:** Grup 1, **B:** Grup 2, **C:** Grup 3, **D:** Grup 4, **E:** Grup 5, **F:** Grup 6. Normal yapıda piramidal nöron (ok), dejeneratif piramidal nöron (Ok başı) (Krezil viyole X 200).

Tüm gruplara ait histopatolojik hasar sonuçları ve karşılaştırmaları tablo olarak sunuldu.

Tablo 6. Gruplar arası histopatolojik değerlendirme sonuçları (kalp dokusu)

Kardiyak etkilenme	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	p
Miyokard hücre dejenerasyonu	0 (-0,208-0,875)	0,5 (-0,074-1,074)	2 (1,124-2,208)	1,5 (0,925-2,074)	1 (0,738-1,595)	1 (0,404-1,261)	<0,001 $P^{1-3}=0,011$ $P^{1-4}=0,031$ $P^{2-3}=0,031$
Kas liflerinde düzensizlikler	0 (-0,208-0,875)	0 (-0,208-0,875)	2 (1,336-2,663)	2 (1,404-2,261)	1 (0,791-1,875)	1	<0,001 $P^{1-3}=0,006$ $P^{1-4}=0,003$ $P^{2-3}=0,006$ $P^{2-4}=0,003$ $P^{4-6}=0,027$
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	1 (0,124-1,208)	1 (0,404-1,261)	2	2 (1,124-2,208)	2 (1,124-2,208)	1 (0,738-1,595)	<0,001 $P^{1-3,4}=0,006$ $P^{2-3}=0,001$ $P^{2-4}=0,035$ $P^{3-6}=0,035$
Vasküler konjesyon	0,5 (-0,074-1,074)	1	3 (2,124-3,208)	2 (1,178-2,595)	1 (0,791-1,875)	1	<0,001 $P^{1-3,4}<0,001$ $P^{2-3,4}<0,001$ $P^{3-5,6}<0,001$ $P^{4-6}<0,001$

CO'ya maruz bırakılan ve SF verilen (grup 3) ratlar ile, CO'ya maruz bırakılmayan ratlar (grup1,2) arasında miyokard hücre dejenarasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($P^{1-3}=0,011$, $P^{2-3}=0,031$). CO'ya maruz bırakılan ve 5 mg/kg doz TMZ uygulanan ratlar (grup 4) ile CO'ya maruz bırakılmayan (grup1) ratlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($P^{1-4}=0,031$). Diğer gruplarda anlamlı fark ortaya çıkmamıştır.

Bu sonuçlara baktığımızda CO zehirlenmesinin miyokard hücre dejenerasyonu oluşturduğu ve 5 mg/kg doz TMZ uygulamasının herhangi bir iyileştirici etkisi olmadığı görülmüştür. 10 mg/kg doz ve 15 mg/kg doz TMZ uygulamasının iyileştirici etkisi olduğu ancak bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

Kas liflerindeki düzensizlik skoru grup 3'te ve grup 4'te 2 olarak saptanmış olup, grup 1 ve grup 2'ye göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P^{1-3}=0,006$, $P^{1-4}=0,003$).

$^4=0,003$, $P^{2-3}=0,006$, $P^{2-4}=0,003$). Ayrıca grup 6 ile grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmiştir ($P^{4-6}=0,027$).

Buna göre, CO zehirlenmesine bağlı olarak kalp kası liflerinde düzensizlik meydana gelmiştir ve tedavi olarak uygulanan 5 mg/kg doz TMZ uygulamasının herhangi bir iyileştirici etkisi olmamıştır. 10 mg/kg doz TMZ uygulaması ile daha iyi sonuçlar alınmakla birlikte en iyi sonuçlar 15 mg/kg doz TMZ uygulaması ile alınmıştır. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru grup 3'te 2 olarak saptanmış olup, grup 1 ve grup 2 ye göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P^{1-3}=0,006$, $P^{2-3}=0,001$). CO'ya maruz kalan ratlarda diğerlerine göre inflamatuvar hücre infiltrasyonunda artış görülmektedir.

İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skoru grup 4'te 2 olarak saptanmış olup, grup 1 ve grup 2 ye göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P^{1-4}=0,006$ $P^{2-4}=0,035$). CO 'ya maruz kalan gruplarda 5 mg/kg doz TMZ uygulaması inflamatuvar hücre infiltrasyonuna herhangi bir iyileşme sağlamamıştır. Grup 6'da skor 1 saptanmış olup, grup 3'e göre inflamatuvar hücre infiltrasyonunda anlamlı azalma görülmüştür ($P^{3-6}=0,035$). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık oluşmamıştır. Buna göre CO zehirlenmesinde 15 mg/kg doz TMZ uygulaması, anlamlı bir iyileştirici etki oluşturmuştur.

Vasküler konjesyon skoru grup 3'de 3 ve grup 2'de 2 olarak saptanmış olup, grup 1 ve grup 2 ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık ortaya çıkmıştır ($P^{1-3,4}<0,001$, $P^{2-3,4}<0,001$). CO vasküler konjesyona neden olduğu ve 5 mg/kg doz TMZ uygulamasının vasküler konjesyon üzerine iyileştirici etki yapmadığı gözlemlenmiştir. Vasküler konjesyon skoru grup 5 ve grup 6'da ortalama 1 olarak bulunmuş olup grup 3 ile kıyaslandığında ortaya istatistiksel olarak anlamlı farklılık çıkmıştır ($P^{3-5,6}<0,001$). Grup 4 ile grup 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ortaya çıkmıştır ($P^{4-6}<0,001$). CO zehirlenmesinde 5 mg/kg doz TMZ uygulamasının vasküler konjesyonu iyileştirici etki oluşturmadığı, 10 mg/kg ve 15 mg/kg doz TMZ uygulamasının ise etkin şekilde iyileştirici etki oluşturduğu görülmüştür.

Tablo 7. Histopatolojik beyin dejenerasyon gradelerin karşılaştırılması

		Beyin grade				p
		Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	
CO verilmeyen gruplar	Grup 1- SHAM	3	3	0	0	0,558
	Grup 2- Trimetazin + hava	2	4	0	0	
CO verilen gruplar	Grup 3- CO + SF	0	0	2	4	0,007
	Grup 4- CO + 5 mg Trimetazin	0	0	5	1	
	Grup 5- CO + 10 mg Trimetazin	0	3	3	0	
	Grup 6- CO + 15 mg Trimetazin	0	4	2	0	

CO'ya maruz bırakılan ve bırakılmayan gruplar arasındaki beyin dejenerasyon düzeyleri incelendiğinde (**Tablo 4**); CO'ya maruz bırakılmayan grupta grade 2 ve üzerinde dejenerasyon olmadığı, ayrıca CO'ya maruz bırakılmayan iki grubun da dejenerasyon grade'i açısından benzer olduğu tespit edildi ($p=0,558$). CO'ya maruz bırakılıp, TMZ uygulaması ile SF uygulaması yapılan gruplar için beyin dejenerasyon grade'i incelendiğinde ise herhangi bir grupta grade 0 dejenerasyon izlenmedi. Fakat CO maruziyeti sonrasında TMZ tedavisi verilmeyen grupta (Grup 3) %66,7 ($n=4$) oranında grade 3 beyin dejenerasyonu olduğu tespit edildi. Ayrıca CO maruziyeti sonrasında 10 mg/kg ve 15 mg/kg doz TMZ uygulanan gruplarda (grup 5 ve 6) ise grade 3 dejenerasyonun hiç olmadığı görüldü ($p=0,007$). Bu durumda TMZ giderek artan dozlarda verildiğinde etkin iyileştirici etkisinin görüldüğü fakat CO zehirlenmesinin oluşturduğu hasarı tamamen geri çevirmediği görülmüştür.

Tablo 8. Gruplar arası beyin dejenerasyonunun karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	p
Beyin dejenerasyonu (%)	7,33 ± 1,36	8 ± 1,41	80 ± 6,81	64,66 ± 6,37	27,33 ± 8,11	16,66 ± 3,88	<0,001 $p^{3-4}=0,003$ $p^{3-5,6}<0,001$ $p^{4-5,6}<0,001$ $p^{5-6}=0,059$

Grupların beyin dejenerasyon yüzdelerinin karşılaştırılması Tablo 8’te sunuldu. Buna göre CO maruziyeti olan gruplar içerisinde TMZ tedavisi verilen gruplardaki (grup 4,5,6) beyin dejenerasyon yüzdesi verilmeyen gruptakine (grup 3) göre anlamlı derecede düşüktü ($P^{3-4}=0,003$, $P^{3-5,6}<0,001$). CO maruziyeti sonrasındaki TMZ dozuna göre yapılan karşılaştırmada ise TMZ dozu arttıkça dejenerasyon yüzdesinin azaldığı görüldü. CO maruziyeti sonrasında 10 mg/kg ve 15 mg/kg doz TMZ uygulanan gruptakilerin dejenerasyon yüzdesi, 5 mg/kg doz TMZ uygulanan gruptakilere göre anlamlı derecede daha düşüktü ($P^{4-5,6}<0,001$). 15 mg/kg TMZ verilen gruptaki beyin dejenerasyon yüzdesi 10 mg/kg TMZ verilen gruptakine göre daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,059$).

Tablo 9. Hepatik etkilenme düzeylerinin karşılaştırılması

Hepatik etkilenme	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	p
Sinüzoidal dilatasyon	0 (-0,208-0,875)	1,5 (0,925-2,074)	2 (1,791-2,875)	2 (1,738-2,595)	1,5 (0,925-2,074)	1,5 (0,925-2,074)	<0,001 $P^{1-2,5,6}=0,007$ $P^{1-3,4}<0,001$
Sinüzoidal konjesyon	1 (0,124-1,208)	1 (0,738-1,595)	2	2 (1,404-2,261)	2 (1,404-2,261)	1 (0,404-1,261)	<0,001 $P^{1-3,4,5}<0,001$ $P^{2-3}=0,014$ $P^{3-6}<0,001$ $P^{4-6}=0,002$
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (-0,261-0,595)	0,5 (-0,074-1,074)	2 (1,738-2,595)	1,5 (0,925-2,074)	1 (0,791-1,875)	1 (0,738-1,595)	<0,001 $P^{1-3}<0,001$ $P^{1-4}=0,001$ $P^{1-5}=0,003$ $P^{1-6}=0,015$ $P^{2-3}<0,001$ $P^{2-4}=0,016$ $P^{3-6}=0,016$
Hemoraji	0,5 (-0,074-1,074)	1 (0,124-1,208)	1 (0,124-1,208)	0,5 (-0,074-1,07)	1 (0,124-1,208)	0 (-0,208-0,875)	0,845

Sinüzoidal dilatasyon skoru incelendiğinde grup 1 ortalama grade 0 saptanmış olup, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($P^{1-5,6}=0,007$, $P^{1-3,4}<0,001$). CO zehirlenmesinin sinüzoidal dilatasyona neden olduğu görülmüştür. TMZ doz uygulamasının herhangi bir iyileştirici etkisi olmadığı, aksine oda havasında solutulan ve TMZ uygulanan gruptakilerde (grup 2) grade ortalama 1,5 olup, TMZ uygulamasının sinüzoidal dilatasyona neden olduğu görülmüştür ($P^{1-2}=0,007$).

Grup 1 ve 2’de sinüzoidal konjesyon skoru ortalama 1 iken, grup 3’te 2’dir ($P^{1-3}=<0,001$, $P^{2-3}=0,014$). CO zehirlenmesi ratlarda sinüzoidal konjesyon yapmaktadır. Grup 4 ve grup 5’te sinüzoidal konjesyon ortalaması 2 dir ve grup 1 ile arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ortaya çıkmıştır ($P^{1-4,5}=<0,001$). 5 mg/kg ile 10 mg/kg doz TMZ uygulaması sinüzoidal konjesyonu iyileştirici etki oluşturmamıştır.

Grup 6 da sinüzoidal konjesyon ortalama 1; grup 3 ve grup 4’te sinüzoidal konjesyon ortalama 2 olarak değerlendirilmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşmuştur ($P^{3-6}=<0,001$, $P^{4-6}=0,002$). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir. Sinüzoidal konjesyon skorunun düşük olması daha iyi etki ettiğini göstermekte olup, 15 mg/kg doz TMZ uygulaması sinüzoidal konjesyon açısından CO zehirlenmesinde etkin iyileştirici etkisi ortaya konulmuştur.

Grup 1 ve grup 2’de inflamatuvar hücre infiltrasyonu hafif iken, grup 3 de infiltrasyon görülmektedir ($P^{1-3}=<0,001$, $P^{2-3}=<0,001$). Bu durum CO zehirlenmesinin inflamatuvar hücre infiltrasyonu oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca 5 mg/kg ve 10 mg/kg doz TMZ uygulamasının CO zehirlenmesine bağlı oluşan hücre infiltrasyonu üzerinde iyileşme sağlamadığı, 15 mg/kg dozda uygulanan TMZ’nin ise iyileştirebildiği ancak tam olarak normal haline döndüremediği görülmüştür ($P^{1-3}=<0,001$, $P^{1-4}=0,001$, $P^{1-5}=0,003$, $P^{1-6}=0,015$, $P^{2-3}=<0,001$, $P^{2-4}=0,016$, $P^{3-6}=0,016$). Hepatik hücrelerde hemoraji açısından baktığımızda CO zehirlenmesinin istatistiksel olarak anlamlı bir hasar vermediği gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak hiçbir grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.845$).

5. TARTIŞMA

CO zehirlenmesi dünya çapında sık görülen bir sağlık sorunudur. ABD'de her yıl yaklaşık 50.000 kişi CO zehirlenmesi nedeniyle acil servislere başvurmaktadır ve bu başvuruların çoğu yangın ile bağlantısı olmayan duman inhalasyonu başvurusudur (8). Dünya çapındaki tüm ölümcül zehirlenmelerin yarısından fazlasından CO sorumlu tutulmaktadır (74). En yaygın CO kaynakları motor egzozları, gazla çalışan motorlar, yangınların neden olduğu duman ve metilen klorür içeren boyalardır (19).

CO zehirlenmesinin patofizyolojisi karmaşıktır. Ana patogenezi, esas olarak CO ve hemoglobin arasındaki afinitenin, O₂ ve Hb arasındaki afiniteden 250 kat daha fazla olmasıdır. O₂'den çok daha yüksek olan bu yüksek afinite, CO akciğerler tarafından kana emildikten hemen sonra Hb ile birleşerek karboksihemoglobin oluşumuna yol açar. Bununla birlikte, üretilen karboksihemoglobinin oksijen taşıma kapasitesi yoktur, ancak O₂'li Hb'nin ayrışmasını engeller, böylece O₂'nin salınmasını ve transferini engeller ve organizmada akut hipoksik durumlara yol açar (75). Hipoksi vücutta oksijenasyon, metabolizma ve doku perfüzyonunun ciddi şekilde bozulmasına neden olarak büyük miktarlarda laktat oluşumuna neden olabilir (76). Merkezi sinir sistemi hipoksiye en duyarlı olduğu için, CO zehirlenmesinden sonra hastaların ana klinik belirtilerine merkezi sinir sistemi hasarı hakimdir. (77).

CO zehirlenmesinin yarattığı nörolojik, kardiyojenik ve hepatik hasarı geri çevirmek için yapılmış birçok araştırma ve çalışma literatürde mevcuttur . Zhang ve arkadaşları CO zehirlenmesine bağlı gelişen nörolojik etkileri geri çevirmek için hiperbarik oksijen tedavisi ile birlikte N-butylphthalide (NBP) ve deksametazonun (DXM) tedavisinin bilişsel ve motor fonksiyonları önemli ölçüde iyileştirebileceğini ortaya koydu (78). Başka bir çalışmada glukokortikoid ve hiperbarik oksijen tedavisinin de CO zehirlenmesinde nörolojik sonlanımı iyileştirdiği görülmüştür (79). Başka bir çalışmada ise Akut CO zehirlenmesinden sonra gecikmiş ensefalopati (DEACMP) tedavisinde oksiracetam enjeksiyonunun klinik iyileştirici etkisi ortaya konmuştur (80). Xiang W ve arkadaşları NBP, HBO'nun kombine uygulamasının, deksametazon tedavisinin DEACMP'li hastaların bilişsel işlev bozukluğunu önemli ölçüde iyileştirebileceğini gösterdi (81,82). Wz wang ve

arkadaşları CO zehirlenmesinin tedavisinde ginaton kullanarak nitrik oksid sentezi üzerinden, serebral hasar üzerine iyileştirici etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır (83). Wang ve arkadaşlarının deneysel çalışmalarında hidrojen açısından zengin salin solüsyonunun serebral dokuda lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermiştir (84). Başka bir çalışma, N-asetilsisteinin (NAC) ve melatoninin, CO zehirlenmesinin yarattığı beyin ve akciğer hasarını geri çevirebileceği gösterilmiştir (85). Pasli S. ve arkadaşlarının yaptığı deneysel hayvan çalışmasında, bizim çalışmamıza benzer şekilde, ratlarda Etil pirüvat (EP) ve Dimetil sülfoksitin (DMSO) kombine kullanımının, CO zehirlenmesinin yarattığı, karaciğer ve kalpteki iskemiye geri çevirdiğini ortaya koymuşlardır (86). Şahin A. ve arkadaşlarının yaptığı deneysel rat modelinde, bizim çalışmamızca benzer şekilde, resveratrolün, CO'nun neden olduğu beyin iskemik hasarını histopatolojik olarak anlamlı düzeyde iyileştirdiğini ortaya koymuşlardır (87).

TMZ, on yıllardır bir anti-anjinal ajan olarak kullanılmaktadır. TMZ önemli anti-iskemik özelliklere sahip bir metabolik ajandır. B-oksidasyon yolundaki terminal enzimini inhibe ederek, enerji substrat metabolizmasını kaydırır, glikoz metabolizmasını artırır (88). Ayrıca kardiyak fibrozisi, iskemi/reperfüzyon hasarını, kardiyomiyosit apoptozunu ve oksidatif stresi multifaktöryel yollarla inhibe edebildiği için literatürde kardiyak koruyucu ajan olarak tanımlanmaktadır. (89,90,91). Bizim çalışmamızda, CO zehirlenmesinin oluşturduğu myokard hücre dejenerasyonu ve kas liflerindeki düzensizliklerde, TMZ'nin artan dozlardaki iyileştirici etkisi gösterildi. Myokard hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyonu azaltmada yüksek doz TMZ'nin etkili olduğu görülmüştür. Jingru Li ve arkadaşlarının deneysel rat modeli çalışmasında TMZ'nin myokard hücre infiltrasyonunu azalttığı görülmüştür (92). Bu yönüyle çalışmamız Jingru Li ve arkadaşlarının yaptığı deneysel hayvan çalışması ile uyumluluk gösteriyordu, fakat bizim çalışmamızdan farklı olarak çalışma evreni daha büyüktü (grup başına 25 rat). Ayrıca bizim çalışmamızdan farklı olarak, ELISA bazlı ölçüm analizleriyle inflamasyon ve oksidatif stresle ilişkili biyobelirteçler kullanmışlardır (92). Chuanbo He ve arkadaşlarının yaptığı deneysel sıçan modelinde TMZ, sol ön koroner arteri bağlayarak oluşturdukları iskemide, miyokard hücre dejenerasyonunu azaltarak sıçan myokardını iyileştirdiğini bulmuşlardır. İskemi oluşturmuk için bizim

çalışmamızdan farklı bir yöntem kullanmakla beraber, TMZ'nin bizim çalışmamıza benzer şekilde iskemiye iyileştirebileceğini ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak, Western blot tekniği kullanarak (dokudaki spesifik bir proteini analiz etmeyi sağlayan moleküler biyoloji tekniği) TMZ'nin Bax ve bcl-2 ekspresyonunu düzenleyerek hücre apoptozunu engelleyeceğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca bizim çalışmamızdan farklı olarak kardiyak ejeksiyon fraksiyonunda ki (EF) iyileşmeye de ortaya koymuşlardır (93). Biz çalışmamızda yalnızca dokularda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri değerlendirdik.

TMZ, güçlü bir antioksidan olarak etki eder, nitrik oksit üretimini artırarak endotel fonksiyonunu iyileştirir, (94,95) iskemiden sonra nötrofilin filtrasyonunu engeller (96). Dhote ve arkadaşları deneysel rat modelinde, PG ve TMZ kombinasyon tedavisinin iskemi-reperfüzyon hasarında 1) enfarktüs hacmini, 2) oksidatif stresi ve 3) enflamasyonu azaltarak nöroproteksiyon sağladığını göstermişlerdir. Sonuçlar çoklu iskemi-reperfüzyon hasarı mekanizmalarını hedefleyen TMZ'ninde, enflamasyonu inhibe etmek ve lipid peroksidasyonunu azaltmak için potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermektedir (97). Farklı bir çalışmada Dhote ve arkadaşları, TMZ ile tedavi edilen sıçanlarda enfarktüs hacminde bir azalma olduğunu göstermişlerdir. Serebral enfarktüs, bozulmuş mitokondriyal fonksiyon ve yetersiz oksidatif solunum enzimi aktivitesinin bir sonucudur. TMZ, mitokondride meydana gelen bu değişiklikleri geri çevirebilir. TMZ kullanımı reperfüzyon hasarını takiben meydana gelen infarktüs hacminde bir azalma sağlamıştır (98). Bizim çalışmamızda da TMZ'nin benzer mekanizmalarla etki ettiği kanaatine varılmıştır fakat bizim çalışmamızdan farklı olarak, farklı doz (25 mg/kg) TMZ uygulaması yapmışlardır ve daha büyük evren (her bir grup için 24 sıçan) kullanmışlardır. Al-Shorbagy ve arkadaşlarının yaptığı deneysel sıçan modelinde, TMZ'nin nöbet tedavisinde mitokondriyal oksidatif hasarın yanı sıra glutamat birikimini azaltma kabiliyetine bağlı olarak belirgin bir fayda sağlayacağını gösterilmiştir, ayrıca ATP ye bağlı enerji bozulmasını ve astrosit aktivasyonunu azaltmayı başardığı bulunmuştur. Bunlar nöronal apoptozda azalma ve hücresel bütünlüğün korunmasına olanak sağlamıştır(99). Bizim çalışmamızda, CO maruziyeti sonrasındaki TMZ nin dozuna göre yapılan karşılaştırmada ise TMZ dozu arttığında beyin dejenerasyon yüzdesinin azaldığı ve iyileşmeye olumlu katkı

sağladığı görüldü. Fakat bizim çalışmamızda TMZ'nin etkilerinin, hangi mekanizma ile ortaya çıktığı diğer çalışmalardan farklı olarak gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda oksidatif stres parametreleri ölçülmemiştir.

Zhang y ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri fare modelinde, TMZ'nin hepatosteatozda, AMPK/AKT/FOXO sinyal yolu aracılığıyla ChREBP üzerinden koruyucu tedavi sağladığını ortaya koymuşlardır. Mevcut çalışmalar TMZ'nin karaciğer fonksiyonlarında koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir (100). Ding W. Ve arkadaşlarının yaptığı fare modelinde TMZ, karaciğer enzim (ALT ve AST) seviyelerinin ve hücre dışı matris protein (colla1 ve α -SMA) ekspresyon seviyelerinin gerilemesi dahil olmak üzere fare modelinde karaciğer fibrozunu önemli ölçüde bastırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, TMZ'nin karaciğer fibrozunda etkili TGF β /Smad sinyal ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği bulunmuş, bu neden karaciğer fibroz tedavisinde etkili bir bileşik olabileceği gösterilmiştir (101). Bizim çalışmamızda , TMZ nin sinüzoidal konjesyonu etkin bir şekilde azaltabileceği görülmüştür. Hepatik inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltabileceği görülmüş fakat eski haline tam çevirmediği görülmüştür. TMZ bizim çalışmamızda önceki çalışmalara benzer şekilde karaciğer koruyucu etki göstermiştir fakat karaciğer koruyucu etkisinin hangi mekanizma ile olduğu ortaya konulamamıştır.

Bulgularımız TMZ nin beyin, kalp ve karaciğer dokularında meydana gelen histopatolojik hasara karşı koruyucu etkisinin olabileceği göstermiştir.

5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamız etik kurul koşulları sebebiyle sınırlı sayıda rat kullanılarak yapıldığı için tedavi ve kontrol grupları arasındaki farklılıkları karşılaştırmak için sayıca yeterli olmayabilir. Bu kontrollü bir çalışma olmasına rağmen, klinik uygulamada görülen tipik CO zehirlenmesi vakalarını taklit etmemiş olabilir. Ek olarak, bu çalışma sadece bilinç düzeyi bozulana kadar uygulanan CO dozu na bağlı histopatolojik hasarı ve antioksidanların bu hasara karşı terapötik etkisini inceledi. Daha yüksek doz zehirlenme konsantrasyonları araştırılmamıştır. TMZ dozu olarak 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 15 mg/kg doz uygulaması araştırılmış, daha yüksek dozlar

kullanılmamıştır. Çalışmamızda dokularda meydana gelen iskemik hasar, herhangi bir labaratuvar paramatresi veya biyobelirteç ile desteklenmemiştir.



6. SONUÇ

Çalışmamızın sonuçlarına göre ratlarda deneysel ortamda oluşturulan CO zehirlenmesi modelinde 10 mg/kg doz TMZ uygulamasının myosit hücrelerinde vasküler konjesyon üzerine istatistiksel olarak anlamlı olabilecek iyileşme sağlamıştır. 15 mg/kg doz TMZ uygulaması myosit hücrelerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve hepatik hücrelerde sinüzoidal konjesyon üzerine istatistiksel olarak anlamlı olabilecek iyileşme sağlamıştır. Ayrıca giderek artan dozlarda verilen TMZ doz uygulamasının beyin dejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Kandiş H, Katırcı Y, Karapolat BS. Karbonmonoksit zehirlenmesi. Düzce Üniversitesi Tıp Fak Derg. 2009;11:54-60.
2. Kirel B, Akın A, Sezgin ME, Şenses E, Ünal Y. Karbon monoksit zehirlenmesi ve hiperbarik oksijen tedavisi: Üç vaka takdimi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2005; 48: 164-167.
3. Cevik AA, Unluoglu I, Yanturali S, Kalkan S, Sahin A. Interrelation between the Poisoning Severity Score, carboxyhaemoglobin levels and in-hospital clinical course of carbon monoxide poisoning. Int J Clin Pract, December 2006, 60, 12, 1558–1564
4. Harpey C, Clauser P, Labrid C, et al. Trimetazidine, A Cellular Antiischemic Agent. Cardiovasc Drug Reviews. 1989; 6 (4): 292-312. 71
5. Kober G, Buck T, Sievert H, Vallbracht C. Myocardial protection during percutaneous transluminal coronary angioplasty: effects of trimetazidine. EU Heart J. 1992; 13: 1109-15
6. Şen H, Özkan S, Karbonmonoksit Zehirlenmesi. TAF Prev Med Bull. 2009;8(4):351-356.
7. Hoffman RS, ed. Goldfrank's Manual of Toxicologic Emergencies. New York: Mc Graw Hill; 2007. Robert S. Hoffman LSN, Mary Ann Howland and Neal A. Lewin ed
8. Shin M, Bronstein AC, Glidden E, et al. Morbidity and Mortality of Unintentional Carbon Monoxide Poisoning: United States 2005 to 2018. Ann Emerg Med 2023; 81:309.
9. Tibbles PM, Perrotta PL. Treatment of carbon monoxide poisoning: a critical review of human outcome studies comparing normobaric oxygen with hyperbaric oxygen. Ann Emerg Med 1994; 24:269.
10. Hardy KR, Thom SR. Pathophysiology and treatment of carbon monoxide poisoning. J Toxicol Clin Toxicol 1994; 32:613.
11. Hampson NB, Hauff NM. Risk factors for short-term mortality from carbon monoxide poisoning treated with hyperbaric oxygen. Crit Care Med 2008; 36:2523.
12. Hampson NB. U.S. Mortality Due to Carbon Monoxide Poisoning, 1999-2014. Accidental and Intentional Deaths. Ann Am Thorac Soc 2016; 13:1768.

13. Rose JJ, Wang L, Xu Q, et al. Carbon Monoxide Poisoning: Pathogenesis, Management, and Future Directions of Therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2017; 195:596.
14. Sircar K, Clower J, Shin MK, et al. Carbon monoxide poisoning deaths in the United States, 1999 to 2012. *Am J Emerg Med* 2015; 33:1140.
15. 15) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Unintentional non-fire-related carbon monoxide exposures--United States, 2001-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 54:36.
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Carbon monoxide poisoning from hurricane-associated use of portable generators--Florida, 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 54:697.
17. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Monitoring poison control center data to detect health hazards during hurricane season--Florida, 2003-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55:426.
18. Cukor J, Restuccia M. Carbon monoxide poisoning during natural disasters: the Hurricane Rita experience. *J Emerg Med* 2007; 33:261
19. Thomassen Ø, Brattebø G, Rostrup M. Carbon monoxide poisoning while using a small cooking stove in a tent. *Am J Emerg Med* 2004; 22:204.
20. Hampson NB, Dunn SL. Carbon Monoxide Poisoning from Portable Electrical Generators. *J Emerg Med* 2015; 49:125
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Carbon monoxide poisonings resulting from open air exposures to operating motorboats--Lake Havasu City, Arizona, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53:314.
22. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Carbon monoxide releases and poisonings attributed to underground utility cable fires--New York, January 2000-June 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53:920.
23. Retzky SS. Carbon Monoxide Poisoning from Hookah Smoking: An Emerging Public Health Problem. *J Med Toxicol* 2017; 13:193.
24. Vogel SN, Sultan TR, Ten Eyck RP. Cyanide poisoning. *Clin Toxicol* 1981; 18:367
25. Tritapepe L, Macchiarelli G, Rocco M, et al. Functional and ultrastructural evidence of myocardial stunning after acute carbon monoxide poisoning. *Crit Care Med* 1998; 26:797.
26. Norris JC, Moore SJ, Hume AS. Synergistic lethality induced by the combination of carbon monoxide and cyanide. *Toxicology* 1986; 40:121.

27. Harper A, Croft-Baker J. Carbon monoxide poisoning: undetected by both patients and their doctors. *Age Ageing* 2004; 33:105.
28. Kao LW, Nañagas KA. Carbon monoxide poisoning. *Emerg Med Clin North Am* 2004; 22:985.
29. Tomaszewski C. Carbon monoxide poisoning. Early awareness and intervention can save lives. *Postgrad Med* 1999; 105:39.
30. Ernst A, Zibrak JD. Carbon monoxide poisoning. *N Engl J Med* 1998; 339:1603.
31. Thom SR. Carbon monoxide-mediated brain lipid peroxidation in the rat. *J Appl Physiol* (1985) 1990; 68:997.
32. Satran D, Henry CR, Adkinson C, et al. Cardiovascular manifestations of moderate to severe carbon monoxide poisoning. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1513.
33. Thom SR, Taber RL, Mendiguren II, et al. Delayed neuropsychologic sequelae after carbon monoxide poisoning: prevention by treatment with hyperbaric oxygen. *Ann Emerg Med* 1995; 25:474.
34. Choi IS. Delayed neurologic sequelae in carbon monoxide intoxication. *Arch Neurol* 1983; 40:433.
35. Finelli PF, DiMario FJ Jr. Hemorrhagic infarction in white matter following acute carbon monoxide poisoning. *Neurology* 2004; 63:1102.
36. Touger M, Gallagher EJ, Tyrell J. Relationship between venous and arterial carboxyhemoglobin levels in patients with suspected carbon monoxide poisoning. *Ann Emerg Med* 1995; 25:481.
37. Lopez DM, Weingarten-Arams JS, Singer LP, Conway EE Jr. Relationship between arterial, mixed venous, and internal jugular carboxyhemoglobin concentrations at low, medium, and high concentrations in a piglet model of carbon monoxide toxicity. *Crit Care Med* 2000; 28:1998.
38. Bozeman WP, Myers RA, Barish RA. Confirmation of the pulse oximetry gap in carbon monoxide poisoning. *Ann Emerg Med* 1997; 30:608.
39. Tremper KK, Barker SJ. Pulse oximetry. *Anesthesiology* 1989; 70:98.
40. Barker SJ, Curry J, Redford D, Morgan S. Measurement of carboxyhemoglobin and methemoglobin by pulse oximetry: a human volunteer study. *Anesthesiology* 2006; 105:892.
41. Livshits Z, Lugassy DM, Shawn LK, Hoffman RS. Falsely low carboxyhemoglobin level after hydroxocobalamin therapy. *N Engl J Med* 2012; 367:1270.

42. Lee J, Mukai D, Kreuter K, et al. Potential interference by hydroxocobalamin on cooximetry hemoglobin measurements during cyanide and smoke inhalation treatments. *Ann Emerg Med* 2007; 49:802.
43. Hampson NB, Scott KL, Zmaeff JL. Carboxyhemoglobin measurement by hospitals: implications for the diagnosis of carbon monoxide poisoning. *J Emerg Med* 2006; 31:13.
44. Weaver LK, Howe S, Hopkins R, Chan KJ. Carboxyhemoglobin half-life in carbon monoxide-poisoned patients treated with 100% oxygen at atmospheric pressure. *Chest* 2000; 117:801.
45. Weaver LK, Valentine KJ, Hopkins RO. Carbon monoxide poisoning: risk factors for cognitive sequelae and the role of hyperbaric oxygen. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:491.
46. Ziser A, Shupak A, Halpern P, et al. Delayed hyperbaric oxygen treatment for acute carbon monoxide poisoning. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984; 289:960.
47. Leach RM, Rees PJ, Wilmschurst P. Hyperbaric oxygen therapy. *BMJ* 1998; 317:1140.
48. Schnittger V, Rosendahl K, Lind F, Palmblad J. Effects of carbon monoxide poisoning on neutrophil responses in patients treated with hyperbaric oxygen. *J Investig Med* 2004; 52:523.
49. Weaver LK. Carbon monoxide poisoning. *Crit Care Clin* 1999; 15:297
50. Huang CC, Ho CH, Chen YC, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy Is Associated With Lower Short- and Long-Term Mortality in Patients With Carbon Monoxide Poisoning. *Chest* 2017; 152:943.
51. American College of Emergency Physicians Clinical Policies Subcommittee (Writing Committee) on Carbon Monoxide Poisoning:, Wolf SJ, Maloney GE, et al. Clinical Policy: Critical Issues in the Evaluation and Management of Adult Patients Presenting to the Emergency Department With Acute Carbon Monoxide Poisoning. *Ann Emerg Med* 2017; 69:98.
52. Ducassé JL, Celsis P, Marc-Vergnes JP. Non-comatose patients with acute carbon monoxide poisoning: hyperbaric or normobaric oxygenation? *Undersea Hyperb Med* 1995; 22:9.
53. Scheinkestel CD, Bailey M, Myles PS, et al. Hyperbaric or normobaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning: a randomised controlled clinical trial. *Med J Aust* 1999; 170:203.
54. Raphael JC, Elkharrat D, Jars-Guinestre MC, et al. Trial of normobaric and hyperbaric oxygen for acute carbon monoxide intoxication. *Lancet* 1989; 2:414.

55. Juurlink DN, Buckley NA, Stanbrook MB, et al. Hyperbaric oxygen for carbon monoxide poisoning. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; :CD002041.
56. Annane D, Chadda K, Gajdos P, et al. Hyperbaric oxygen therapy for acute domestic carbon monoxide poisoning: two randomized controlled trials. *Intensive Care Med* 2011; 37:486.
57. Buckley NA, Juurlink DN, Isbister G, et al. Hyperbaric oxygen for carbon monoxide poisoning. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; :CD002041.
58. McCarthy, C. P., Mullins, K. v., & Kerins, D. M. (2016). The role of trimetazidine in cardiovascular disease: beyond an anti-anginal agent. *European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy*, 2(4),
59. Guarnieri C , Finelli C, Zini M, Muscari C. Effects of trimetazidine on the calcium transport and oxidative phosphorylation of isolated rat heart mitochondria. *Basic Res Cardiol* 1997;92:90–95
60. Marzilli, M. "Trimetazidine: a metabolic agent for the treatment of stable angina." *European Heart Journal Supplements* 3.suppl_O (2001): O12-O15
61. Williams FM, Tanda K, Kus M, William TJ. Trimetazidine inhibits neutrophil accumulation after myocardial ischaemia and reperfusion in rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: 828–33.
62. Lavanchy N, Martin J, Rossi A. Anti-ischemic effects of Trimetazidine: 31P-NMR spectroscopy in the isolated rat heart. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1987; 286: 97–110.
63. Zhang, Nan, et al. "The effectiveness of preoperative trimetazidine on myocardial preservation in coronary artery bypass graft patients: a systematic review and meta-analysis." *Cardiology* 131.2 (2015): 86-96.
64. Noble MI, Belcher PR, Drake-Holland AJ. Limitation of infarct size by trimetazidine. *Am J Cardiol* 1995;76: 41B–4.
65. Drake-Holland AJ, Belcher PR, Hynd J, Noble IM. Infarct size in rabbits: a modified method illustrated by the effects of propranolol and trimetazidine. *Basic Res Cardiol* 1993; 88: 250–8.
66. Altug K, Basaran O, Noyan T. Epidemiologic analysis of patients with burns presenting to the burn units of a university hospital network in Turkey. *J Burn Care Research* 27: 161-169, 2006
67. Stevens A, Wilson I. 1996. The haematoxylin and eosin. In: Bancroft JD, Stevens A, Eds. *Theory and practice of histological techniques*. 4th ed. Churchill Livingstone; New York; p. 99–112.

68. Melatonin and 1400 W ameliorate both intestinal and remote organ injury following mesenteric ischemia/reperfusion. Kesik V, Guven A, Vurucu S, Tunc T, Uysal B, Gundogdu G, Oztas E, Korkmaz A. *J Surg Res.* 2009, 157(1).
69. Apitherapy products enhance the recovery of CCL4-induced hepatic damages in rats. Saral Ö, Yildiz O, Aliyazicioğlu R, Yuluğ E, Canpolat S, Öztürk F, Kolayli S. *Turk J Med Sci.* 2016, 5;46(1):194-202.
70. The potential cardioprotective effects of amifostine in irradiated rats. Tokatli F, Uzal C, Doganay L et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58: 1228–1234.
71. Antiapoptotic and antioxidant effects of GSPE in preventing cyclosporine A-induced cardiotoxicity. Ozkan G, Ulusoy S, Alkanat M, Orem A, Akcan B, Ersöz S, Yuluğ E, Kaynar K, Al S. *Ren Fail.* 2012;34(4):460-6.
72. Little JR (1978). Modification of acute ischemia by treatment with mannitol. *Stroke*: 9: 4–9.
73. Garman RH (2011) . Histology of the central nervous system. *Toxicol Pathol*; 39(1):22-35.
74. Kao LW, Nañagas KA. Carbon monoxide poisoning. *Emerg Med Clin North Am.* 2004;22:985-1018
75. Zhuo, Luo, et al. "CT measurements of optic nerve sheath diameter to evaluate the outcome of acute carbon monoxide poisoning." (2021).
76. Seheult, Jansen, Gerard Fitzpatrick and Gerard Boran. "Lactic acidosis: an update." *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 55.3 (2017): 322-333
77. Jeon, Sang-Beom et al. "Acute brain lesions and delayed neurological sequelae on magnetic resonance imaging in carbon monoxide poisoning." *JAMA neurology* 75.4 (2018): 436-443.
78. Zhang J, Guo Y, Li W, Li G, Chen Y. The efficacy of N-Butylphthalide and dexamethasone combined with hyperbaric oxygen on delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning. *Drug Des Devel Ther.* (2020) 14:1333–9. 10.2147/DDDT.S217010
79. Li N, Meng XE, Li H, Fan DF, Pan SY. Efficacy of combined glucocorticoid and hyperbaric oxygen therapy against delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning, and its effect on expression of immune-associated cytokines. *Trop J Pharm Res.* (2018) 17:1177–83
80. Sun ML, Shi DM, Yin HN, Pan XB, Liu WG. Quantitative EEG and event-related potential P300 analysis oxiracetam injection curative effect in the treatment of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* (2018) 36:158–60.

81. Xiang W, Xue H, Wang B, Li Y, Zhang J, Jiang C, et al.. Combined application of dexamethasone and hyperbaric oxygen therapy yields better efficacy for patients with delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning. *Drug Des Devel Ther.* (2017) 11:513–9
82. Xiang W, Xue H, Wang B, Li Y, Zhang J, Jiang C, et al.. Efficacy of N-butylphthalide and hyperbaric oxygen therapy on cognitive dysfunction in patients with delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning. *Med Sci Monit.* (2017) 23:1501–6
83. Wang WZ, Li J, Ma GY, Zhu BY, Xiao QM, Gao X, et al. Clinical value of Kinnado on delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning . *China J Emerg Med.* (2016) 25 :205–9. 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.02.012.
84. Wang W, Li Y, Ren J, Xia F, Li J, Zhang Z. Hydrogen rich saline reduces immunemediated brain injury in rats with acute carbon monoxide poisoning. *Neurol Res.* 2012;34: 1007-15. 30.
85. Kekec Z, Seydaoglu G, Sever H, Ozturk F. The effect of antioxidants (N-acetylcysteine and melatonin) on hypoxia due to carbonmonoxide poisoning. *Bratisl Lek Listy.* 2010;111:189-93
86. Paslı, Sinan, et al. "The Ameliorative Effects of Ethyl Pyruvate and Dimethyl Sulfoxide on Ischemic Tissue Injury in Experimental Carbon Monoxide Intoxication." *Eurasian Journal of Emergency Medicine* 19.1 (2020).
87. Sahin, A., Pasli, S., Cicek, M., Karahan, S. C., Mentese, A., Yulug, E., ... & Tatli, O. (2020). The Healing Effect of Resveratrol on Ischemic Tissue Injury in an Experimental Carbon Monoxide Poisoning Model. *Journal of Basic and Clinical Health Sciences*, 4(3), 288-296.
88. Kallistratos, M. S., Poulimenos, L. E., Giannitsi, S., Tsinivizov, P., & Manolis, A. J. (2019). Trimetazidine in the prevention of tissue ischemic conditions. *Angiology*, 70(4), 291-298.
89. Liu Z, Chen J, Huang H, Kuznicki M, Zheng S, Sun W, et al. The protective effect of trimetazidine on myocardial ischemia/reperfusion injury through activating AMPK and ERK signaling pathway. *Metabolism: Clinical and Experimental.* 2016; 65: 122–130.
90. Zhang H, Liu M, Zhang Y, Li X. Trimetazidine Attenuates Exhaustive Exercise-Induced Myocardial Injury in Rats via Regulation of the Nrf2/NF-κB Signaling Pathway. *Frontiers in Pharmacology.* 2019; 10: 175.
91. Yang Y, Li N, Chen T, Zhang C, Liu L, Qi Y, et al. Trimetazidine ameliorates sunitinib-induced cardiotoxicity in mice via the AMPK/mTOR/autophagy pathway. *Pharmaceutical Biology.* 2019; 57: 625–631.
92. Li J, Qi Y, Wang J, Dai C, Chen B, Li Y. Trimetazidine Alleviates Postresuscitation Myocardial Dysfunction and Improves 96-Hour Survival in a

- Ventricular Fibrillation Rat Model. *J Am Heart Assoc.* 2022 Mar 15;11(6):e023378. doi: 10.1161/JAHA.121.023378. Epub 2022 Mar 9. PMID: 35261264; PMCID: PMC9075307.
93. He C, Cao S, Tong Z, Wang W, Zhang Y, Guo C. Trimetazidine ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury. *Pak J Pharm Sci.* 2018 Jul;31(4(Special)):1691-1696. PMID: 30203764.
 94. trimetazidine in patients with diabetes and ischemic cardiomyopathy. *Am Heart J.* 2003;146(5):E18.
 95. Di Napoli P. Anti-ischemic cardioprotection with trimetazidine. *Heart Metab.* 2008;41:25-9
 96. Shehata M. Cardioprotective effect of trimetazidine in diabetic patients with anterior wall myocardial infarction treated with thrombolysis. *Cardiol Res.* 2014;5(2):58-67
 97. Dhote, V., Mandloi, A. S., Singour, P. K., Kawadkar, M., Ganeshpurkar, A., & Jadhav, M. P. (2022). Neuroprotective effects of combined trimetazidine and progesterone on cerebral reperfusion injury. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 3, 100108.
 98. Dhote V, Balaraman R. Anti-oxidant activity mediated neuroprotective potential of trimetazidine on focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008 May;35(5-6):630-7. doi: 10.1111/j.1440-1681.2008.04845.x. Epub 2008 Mar 3. PMID: 18318745.
 99. Al-Shorbagy, M. Y., Wadie, W., & El-Tanbouly, D. M. (2021). Trimetazidine Modulates Mitochondrial Redox Status and Disrupted Glutamate Homeostasis in a Rat Model of Epilepsy. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 735165.
 100. Zhang, Y., Li, C., Li, X., Wu, C., Zhou, H., Lu, S., & Liu, X. (2020). Trimetazidine improves hepatic lipogenesis and steatosis in non-alcoholic fatty liver disease via AMPK-ChREBP pathway. *Molecular Medicine Reports*, 22(3), 2174-2182.
 101. Ding, W., Zhou, D., Zhang, S., Qian, J., Yang, L., & Tang, L. (2022). Trimetazidine inhibits liver fibrosis and hepatic stellate cell proliferation and blocks transforming growth factor- β (TGF β)/Smad signaling in vitro and in vivo. *Bioengineered*, 13(3), 7147-7156.

