

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

DENEYSEL KARBON MONOKSİT ZEHİRLENMESİNDE
İDEBENON'UN İSKEMİK DOKU HASARI, APOPTOZ,
İNFLAMASYON VE OKSİDATİF HASARI İYİLEŞTİRİCİ
NÖROPROTEKTİF ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hülya KARAKUŞ

TRABZON-2024

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

DENEYSEL KARBON MONOKSİT ZEHİRLENMESİNDE
İDEBENON’UN İSKEMİK DOKU HASARI, APOPTOZ,
İNFLAMASYON VE OKSİDATİF HASARI İYİLEŞTİRİCİ
NÖROPROTEKTİF ETKİSİ

ii:

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hülya KARAKUŞ

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Vildan ÖZER

TRABZON-2024

ÖNSÖZ

Acil Tıp Uzmanlık eğitimim boyunca, her konuda desteklerini gördüğüm, tez konumun ve çalışmamın belirlenmesinde, çalışmamın planlama ve yürütmesinde büyük katkılar sağlayan tez hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Vildan ÖZER'e,

Yine Acil Tıp eğitim süresi boyunca hep yanımda olup beni destekleyen, çalışmamın yapımında her türlü desteği gösteren hocalarım Doç. Dr. Yunus KARACA'ya, Doç. Dr. Özgür TATLI'ya, Doç. Dr. Aynur ŞAHİN'e, Dr. Öğr. Ü. Sinan PASLI'ya, Dr. Öğr. Ü. Melih İMAMOĞLU'na saygılarımı ve teşekkürümü bir borç bilirim.

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.

ii:

Dr. Hülya KARAKUŞ

ÖZET

Deneyisel karbonmonoksit zehirlenmesinde İdebenon'un iskemik doku hasarı, apoptoz, inflamasyon ve oksidatif hasarı iyileştirici nöroprotektif etkisi

Amaç: Bu çalışma, çeşitli mekanizmalarla oksidasyonu önleyici etkisi olan, hücre ve sinir hasarını azaltarak bilişsel fonksiyonları iyileştirici özelliği bilinen ve literatürde yayınlarla desteklenen İdebenon'un karbonmonoksit (CO) zehirlenmesinde; iskemi, inflamasyon, oksidasyon ve hücre hasarına bağlı olarak beyinde meydana gelen sekonder hasarları azaltabileceği ya da önleyebileceği hipotezi ile planlandı.

Yöntem: Bu çalışmada, deneyisel olarak CO zehirlenme protokolü oluşturularak, 40 adet olgun dişi Wistar Albino 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 5 gruba ayrıldı. Grup 1 (Sham), grup 2 (CO + 2mL SF), grup 3 (CO + İdebenon 100mg/kg), grup 4 (CO + İdebenon 200 mg/kg), grup 5 (CO + İdebenon 300mg/kg) olarak belirlendi. Belirlenen protokole göre ratlara belirlenen dozlarda İdebenon 5 gün boyunca 24 saat arayla oral olarak uygulandı. Deney protokolünün başlangıcından 120 saat sonra ratlara anestezi uygulandıktan sonra ratlardan alınan kan ile oksidatif hasar belirteç seviyeleri değerlendirildi ve beyin dokusu kraniotomi ile çıkarılarak hipokampus için histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler incelendi.

Bulgular: Hipokampus dokularının apoptoz indeksi ve dejenerasyon grade değerlendirmesi yapıldı. Apoptoz indeksi ve histopatolojik dejenerasyon grade açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p=0.001$). İdebenon verilmeyen Grup 2 en yüksek apoptoz indeksine sahipken, İdebenon verilen gruplar arasında apoptoz indeksi en düşük olan Grup 5 olarak saptandı. Doku ve serumlardan biyokimyasal protein seviyelerinin değerlendirilmesi yapıldı ve NSE, TOS, TAS, OSI ve MDA parametrelerinde İdebenon verilen ve verilmeyen gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptandı ($p=0.001$).

Sonuç: Ratlarda oluşturulan deneysel CO zehirlenmesi modelinde İdebenon uygulamasının; CO intoksikasyonu nedeniyle meydana gelen beyin hasarına bağlı dejenerasyonu azalttığı, ayrıca oksidatif strese karşı koruyucu nöroprotektif etkisi olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: CO zehirlenmesi, İdebenon, N roproteksiyon



SUMMARY

Experimental carbon monoxide poisoning and the neuroprotective effect of Idebenone in reducing ischemic tissue damage, apoptosis, inflammation, and oxidative stress

Objective: This study was designed to investigate the hypothesis that Idebenone, known for its antioxidative properties through various mechanisms and its ability to reduce cellular and neural damage while improving cognitive functions, supported by literature, could reduce or prevent the effects occurring in the brain secondary to ischemia, inflammation, oxidation, and cell damage in carbon monoxide (CO) poisoning.

Method: In this study, an experimental CO poisoning protocol was established, and 40 mature female Wistar Albino rats were used. Until the day of the study, the rats were kept in standard cages at 22 °C room temperature, provided with water and standard rat feed. In the experimental procedure, rats placed in the chamber were exposed to CO and air. Rats were divided into 5 groups: Group 1 (Sham), Group 2 (CO + 2mL saline solution), Group 3 (CO + Idebenone 100mg/kg), Group 4 (CO + Idebenone 200 mg/kg), and Group 5 (CO + Idebenone 300mg/kg). According to the specified protocol, Idebenone was orally administered to the rats at specified doses every 24 hours for 5 days. 120 hours after the start of the experiment, anesthesia was applied to the rats, blood was collected, and the levels of oxidative damage markers were evaluated. Their brains were then removed by craniotomy, and histopathological and biochemical changes in the hippocampus were examined.

Results: Apoptosis index and degeneration grade assessment of hippocampal tissues were performed. Significant differences were found among groups in terms of apoptosis index and histopathological degeneration grade ($p=0.001$). Group 2, without Idebenone, had the highest apoptosis index, while among the groups receiving Idebenone, Group 5 had the lowest apoptosis index. Biochemical protein levels from tissues and serums were evaluated and significant differences were detected in NSE, TOS, TAS, OSI and MDA parameters between the groups given and not given Idebenone ($p=0.001$).

Conclusion: Idebenone application in the experimental CO poisoning model in rats was found to reduce degeneration in brain damage and to have a protective neuroprotective effect against oxidative stress.

Keywords: CO poisoning, Idebenone, Neuroprotection



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
SUMMARY	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Karbon Monoksit Zehirlenmesi	4
2.1.1. Tarihçe	4
2.1.2. Toksikokinetik	4
2.1.3. Epidemiyoloji.....	5
2.1.4. Maruziyet Kaynakları	6
2.1.5. Patofizyoloji.....	7
2.1.6. Klinik.....	15
2.1.7. Tanı	18
2.1.8. Tedavi.....	20
2.2. İdebenon	23
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1. Araştırmanın Tipi, Yeri, Zamanı ve Araştırma İzni	29
3.2. Araştırmanın Evreni	29
3.3. Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemi.....	29
3.4. Deney Protokolü	30
3.5. Dokuların Histopatolojik Analizi:	32
3.6. Dokuların Biyokimyasal Analizi.....	36
3.7. Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntem	43

4. BULGULAR	44
5.TARTIŞMA	56
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları	63
6. SONUÇ	65
7. KAYNAKÇA.....	66



KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ANOVA	: Varyans analizi
ADP	: Adenin Dinükleotit Fosfat
ATA	: Mutlak Atmosfer Basıncı
ATP	: Adenozin Trifosfat
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CO	: Karbon Monoksit
COHb	: Karboksihemoglobin
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
Dk	: Dakika
dL	: Desilitre
DNS	: Gecikmiş Nörolojik Sekel Sendromu
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
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
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Miyeloperoksidaz
NMDA	: N-metil-D-aspartat
n	: Sayı
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NBO	: Normo Barik Oksijen
NLRP3	: Nod benzeri reseptör proteini 3
NRF2	: Nükleer faktör eritroid 2
NF-κB	: Nükleer faktör-kappa B
NO	: Nitrit oksit
ONOO	: Peroksinitrit
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
TBA	: Tiyoobarbitürik asit
%	: Yüzde
μm	: Mikrometre

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Karboksihemoglobin (CO-Hb) doygunluğu (%) seviyeleri ve semptomlar	15
Tablo 2.	CO zehirlenmesinde ciddi toksisite bulguları	16
Tablo 3:	HBO tedavisinin önerildiği durumlar	22
Tablo 4.	İdebenon etki mekanizması	24
Tablo 5.	TOS deney prosedürü	41
Tablo 6.	TAS deney prosedürü	42
Tablo 7.	Grupların Dağılımı	44
Tablo 8.	Grupların COHB Yönünden Kıyaslanması.....	44
Tablo 9.	Grupların Apoptoz İndeksi Yönünden Kıyaslanması.....	45
Tablo 10.	Grupların Hipokampus Grade Yönünden Kıyaslanması	51
Tablo 11.	Grupların Doku Örneklerinin Biyokimyasal Parametreler Yönünden Kıyaslanması	53
Tablo 12.	Grupların Serum Örneklerinin Biyokimyasal Parametreler Yönünden Kıyaslanması	54

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: CO-Oksimetresi.....	19
Resim 2: Deney Fanusu	31
Resim 3-4: Beyin (ok)	32
Resim 5: Grup 1 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL).....	45
Resim 6: Grup 2 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL).....	46
Resim 7: Grup 3 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL).....	46
Resim 8: Grup 4 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL).....	47
Resim 9: Grup 5 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL).....	47
Resim 10: Grup 1 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E)	48
Resim 11: Grup 2 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E).	48
Resim 12: Grup 3 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E)	49
Resim 13: Grup 4 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E)	49
Resim 14: Grup 5 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E)	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:	CO'nun Hemoglobin (Hb) ve mitokondriyal etkileri	8
Şekil 2:	Reactive oksijen türlerinin oluşumu	12
Şekil 3:	CO zehirlenmesinin iyon kanalları üzerindeki doğrudan etkisi	14
Şekil 4:	CO zehirlenmesinin etki mekanizması	14
Şekil 5:	İdebenon Kimyasal Açılımı	23
Şekil 6:	İdebenonun çeşitli sitoprotektif mekanizmaları aynı anda nasıl etkileyebileceğine dair mevcut kanıtların şematik temsili	28
Şekil 7:	NSE Standart Grafiği	37
Şekil 8:	Serum MDA Standart Grafiği	39
Şekil 9:	Doku MDA Standart Grafiği	40

1. GİRİŞ

Karbon monoksit (CO) zehirlenmesi, modern dünyada zehirlenme morbidite ve mortalitesinin ana nedenlerinden olup akut ve kronik hipoksik merkezi sinir sistem (MSS) hasarı, kardiyak hasar ve diğer organ hasarları ile kendini gösteren önemli acil durumlardan biridir (1). CO zehirlenmesi zehirlenmeye bağlı ölümler arasında önlenabilir nedenlerin başında gelmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 50.000 zehirlenme vakasının rapor edildiği ve bu vakalardan binin üzerinde kişinin hayatını kaybettiği bildirilmektedir (2). Mortalite ve morbidite oranı fazla olan CO zehirlenmesinde vakalarının %23-47'sinde gecikmiş nörolojik sekel görülmektedir (3).

CO, demirli hem içeren birçok proteine yüksek afiniteyle bağlanır. Oluşturduğu karboksihemoglobin (COHb) ile oksihemoglobin disosiyasyon eğrisini sola kaydırarak dokulara oksijen sunumunu azaltır (4). CO-Hb kompleksinin neden olduğu hipoksi, CO zehirlenmesinin temel patofizyolojik mekanizması olarak kabul edilirken, son araştırmalar CO'nun nitrik oksit salımı, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve iyon kanalları üzerindeki doğrudan etkisinin kliniğin oluşumunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir (5). CO zehirlenmesinde en çok etkilenim merkezi sinir sistemi (MSS) ve kardiyovasküler sistem üzerinde olup mortalite ve morbidite büyük ölçüde bu iki sistemin etkilenmesine bağlıdır (6,7). CO'nun MSS üzerindeki hasarı ile ilişkili mekanizmalar ve tedavi yöntemleri kesin olarak açıklanamamakla birlikte; ciddi MSS hasarını önleme konusunda reaktif oksijen salınımının anahtar rolünün önemi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (8). CO, çeşitli mekanizmalar üzerinden hidrojen peroksit üretimini ve lipid peroksidasyonunu tetikleyerek beyinde oksidatif stres oluşumuna yol açar. Bunun sonucunda oluşan serbest radikaller, santral sinir sisteminde doku hasarı meydana getirirler. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan Malondialdehit (MDH), oksidatif stres belirteçleri total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan parametrelerdendir (9).

Akut CO zehirlenmesi sonrası vakaların %15-40'ında görülebilen gecikmiş ensefalopati (DNS); demans, piramidal veya ekstrapiramidal sistemlerin işlev bozukluklarını kapsayan nörolojik ve psikiyatrik semptomlarla karakterize bir durumdur (10,11). Karbonmonoksit zehirlenmesi, hala sık görülen bir zehirlenme türü olmasına rağmen, gecikmiş ensefalopati gibi kronik sekellerinin tedavisi konusunda yeterli tedavi modellemeleri mevcut değildir. CO intoksikasyonuna sekonder gelişen nöropatolojik durumların tedavisi ve gecikmiş nörolojik sekelin önlenmesinde normobarik oksijen (NBO) tedavisi ve hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi dışında klinikte uygulanabilen kesin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Nöroprotektif etkinliği gösterilen ajanların çoğunun yüksek maliyeti, acil serviste ulaşılabilirliğinin ve uygulanılabilirliğinin zorluğu nedeniyle, tedavi etkinliği kanıtlanmış, oral biyoyararlanımı iyi olan, akut ve kronik süreçte de kullanılabilecek tedavi protokollerinin araştırılmasının önem arz ettiği düşünülmektedir.

İdebenon, bir benzokinon türevi olup ubikinonun sentetik kısa zincirli bir analogudur (12). Mitokondride elektron taşıma zinciri boyunca elektron akışını uyararak ATP üretimini artıran ve böylece oksidan birikimini engelleyerek antioksidan ve anti-inflamatuar görevi yapmaktadır (13). Etkisini bir yolak üzerinden değil birçok mekanizma aracılığı ile göstermektedir. İdebenon nöroprotektif etkilerini güçlü antioksidan, anti-iskemik, anti-inflamatuar aktiviteleri ve mitokondriyi oksidatif hasardan koruması ile göstermektedir (14). İdebenon, mitokondriyal ROS birikimini engelleyerek, solunum zinciri komplekslerinin fonksiyonlarını destekleyerek ve lipid peroksidasyonunu önleyerek nöronal sağ kalımı desteklemektedir (15,16). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar İdebenon'un iskemi nedeniyle oluşan sinir hücre hasarını azalttığını, nörotransmitter bozuklukları ve/veya serebral metabolizmayı düzelttiğini, öğrenmeyi kolaylaştırdığını, hafıza ve oryantasyon üzerine etkili olduğunu göstermektedir (15,17,18).

Yapılan bu çalışmada amacımız ratlarda CO intoksikasyon modeli oluşturularak, güçlü antioksidan, nöroprotektif, sitoprotektif etkinliği bilinen ve literatürde yayınlarla desteklenen (15,17,18) İdebenon verildikten sonra beyin dokusunda oksidatif stres parametreleri, apoptotik parametreler, nöronların

histopatolojisi ile dejenerasyonunu değerlendirmek ve nöroprotektif etkinliğini göstermektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karbon Monoksit Zehirlenmesi

2.1.1. Tarihçe

CO'nun yapısı ilk olarak 1800 yılında William Cruikshank tarafından keşfedilmiştir ancak 1857 yılında ilk defa Claude Bernard tarafından doku hipoksisinin toksik etkileri tanımlanabilmiştir. 1895 yılında Haldane, CO'nun fareler ve sıçanlar üzerindeki toksik etkilerinin, kısmi oksijen basıncının yeterince artırılmasıyla azaltılabileceğini göstermiştir. 1912 yılında Haldane ve Douglas hemoglobinin CO ile afinitesinin oksijene olan afinitesinden daha güçlü olduğunu (200-300 kat) ve bu gazın zararlı etkilerinin hemoglobin ile güçlü etkileşiminden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Pineas 1924 yılında CO zehirlenmesine bağlı globus pallidus dokusunda klasik bilateral lezyonlar saptamış ve subkortikal diffüz demiyelinizasyon tespit etmiştir. 1976 yılında Goldbaum ve arkadaşları CO'nun fizyolojik etkilerinin hemoglobin ile etkileşiminin çok ötesinde hücresel düzeyde olduğunu ortaya koymuşlardır. Douglas ve Haldane tarafından yapılan çalışmaların çoğu bugün hala geçerli olsa da geçen yüzyıldaki çeşitli ilerlemeler CO'nun hücre içi etkilerinin birçok mekanizma ile gerçekleştiğinin anlaşılmasına yardımcı olmuştur (2,8,19).

Geçtiğimiz son yirmi beş yılda, karbon monoksit etkilerine ilişkin çalışmaların sayısında ciddi bir patlama olmuştur. CO'nun neden olduğu hipoksi, zehirlenmenin mekanizmasında önemli rol olsa da ikincil etkilerin çoğu hipoksemik hipoksi ile açıklanamamıştır ve yeni araştırmalar nitrik oksit salınımı, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve iyon kanalları üzerindeki etkisinin zehirlenme mekanizmasında çok daha önemli olduğunu ileri sürmektedir (8).

2.1.2. Toksikokinetik

Karbonmonoksit, kimyasal formülü CO olan indüklenabilir bir gazdır. Havaya göre bağlı gaz yoğunluğu 0.968'dir ve hemen hemen hava (hava=1,0) ile

aynıdır (20,21). Karbonmonoksit endojen ve eksojen kaynaklı olup endojen CO üretimi, COHb'ye katkısı yalnızca %2 olup bu oran fizyolojik aralıktadır (22). Endojen CO, nitrik oksit ile platelet agregasyonu ve düz kas gevşemesinin düzenlenmesinden sorumludur. Eksojen yolla alınan CO ise hücre modülasyonunu bozarak patolojik sonuçlara neden olur. İn hale edildikten sonra kısa sürede absorbe edilen CO, kanda hemoglobine (Hb) bağlı olarak taşınır (22). CO, demirli hem içeren birçok proteine yüksek afiniteyle bağlanır. Hb'nin CO'ya afinitesi oksijene göre 250 kat daha fazladır (23). CO, Hb'ye bağlanmak için oksijenle rekabet eder ve oksijenin yerini alarak oksijen taşıma kapasitesini azaltır. Hb tetrameri içindeki diğer bölgelerin oksijene olan afinitesini artırır ve oksijen salınımını ve dağıtımını bloke eder (24).

CO, kanda bulunan hemoglobinin yanı sıra kalp ve iskelet kasında bulunan miyoglobin, mitokondriyal sitokrom c oksidaz dahil olmak üzere hem içeren diğer proteinlere de bağlanır(25,26). CO'nun vücuttan eliminasyonu oksijen basıncına bağımlı olup COHb'nin yarı ömrü oda havasında 320 dakika, %100 normobarik oksijen ile 74 dakika ve %100 hiperbarik oksijen ile 20 dakikadır (26,27).

2.1.3. Epidemiyoloji

Dünya genelinde karbon monoksit (CO) zehirlenmesi, yaygın bir ölüm nedeni olarak önemli bir halk sağlığı sorunu teşkil etmektedir. CO zehirlenmesinin dünya genelinde kümülatif insidansı milyonda 137 vaka iken mortalitesinin milyonda 4,6 ölüm olduğu tahmin edilmektedir (28). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ise her yıl yaklaşık 50.000 vaka görüldüğü ve bunların çoğunun duman inhalasyonuna bağlı olduğu belirtilmektedir (26). Ülkemizde 2008-2017 yılları arasında CO zehirlenmesi vakalarından 2974'ü ölümle sonuçlanmıştır (29). Dünya genelinde görülme sıklığı son yıllarda sabit kalırken, mortalite %36 oranında azalmıştır. Bunun nedenleri arasında halk eğitiminin artırılması, konutlarda CO gaz alarm etkinliğinin giderek artması ve CO zehirlenmesi ile gelen hastaların daha etkili terapötik yönetimi bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda CO zehirlenmesinin görülme sıklığı cinsiyetler arasında farklılık göstermezken, erkeklerde ölüm oranı iki kat daha fazla bulunmuştur. CO zehirlenme insidansı, 0-14 yaş ve 20-39 yaş grupları arasında iki

belirgin artış göstermektedir. Ölen hastaların yüzdesi yaşlanmaya paralel olarak artmakta ve 80 yaş ve üzeri hastalarda zirveye ulaşmaktadır (28).

CO zehirlenmesi mağdurlarının yaklaşık %30 ila %40'ı hastaneye ulaşmadan ölmektedir. Hastaneye yatırılanların yaklaşık %2'sinin öldüğü, %10'unun kısmen iyileştiği ve %23 ila %47'sinin gecikmiş nörolojik sekellere maruz kaldığı bildirilmiştir (3). Kazara CO maruziyeti sıklıkla ölümle sonuçlanmazken, kasıtlı maruziyetler daha çok ölümle sonuçlanmaktadır (30). CO zehirlenmesi, daha çok arızalı ısıtıcılardan, yangınlardan, endüstriyel kazalardan ve araba egzozlarından kaynaklanırken sıklığı kış ve sonbahar aylarında artmaktadır (28).

2.1.4. Maruziyet Kaynakları

CO gazı endojen olarak (31)

- Yaşlanan eritrositlerdeki Hem kısmının parçalanması ile
- Miyogloblin, sitokrom ve peroksidaz gibi diğer hemoproteinlerin yıkımı
- Mikrozomal lipidlerin NADPH bağımlı oksidasyonu gibi fizyolojik mekanizmalar sonucu oluşur.

Yakıtların tam yanamamasından dolayı oluşan CO gazının eksojen kaynakları şunlardır(22) :

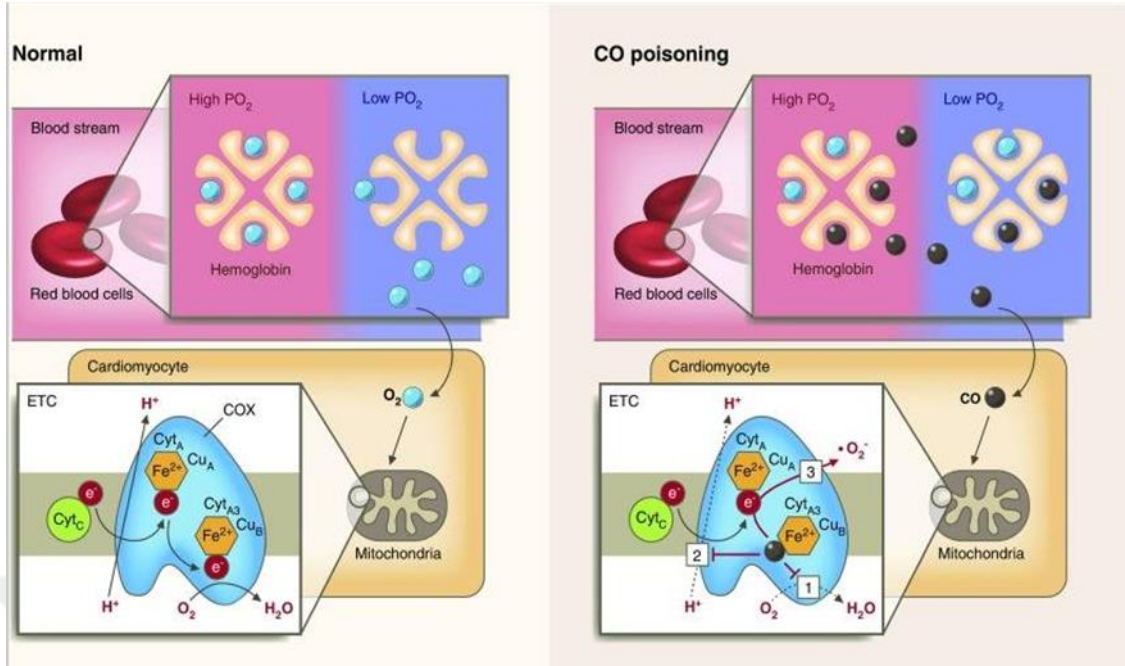
- Yangınlar
- Kamp sobaları ve fenerler
- Kömür ızgaraları
- Benzinle çalışan ekipmanlar (örn. jeneratörler, elektrikli yıkayıcılar)
- Motorlu taşıtlar (tekne, araba, kamyon)
- Metilen bromür
- Metilen klorür

- Doğal gaz yakan ısıtıcılar (su ısıtıcıları, ocaklar ve fırınlar)
- Propanla çalışan portatif ısıtıcılar
- Yeraltı maden patlamaları
- Odun pelet depolaması
- Sigara dumanı
- Nargile

2.1.5. Patofizyoloji

CO zehirlenmesinde inhale edilen CO gazının çoğu alveollerin kapiller membrandan geçerek intravasküler alanda hemoglobine bağlanırken geri kalanı plazmada çözünür ya da miyoglobin gibi intraselüler proteinlere bağlanır (32). CO'nun hemoglobine bağlanıp oksijen iletimini azaltarak hipoksi oluşturması temel patofizyolojik yolağı olsa da kliniğinin oluşumunda üç temel etki mekanizması daha mevcuttur. Bu yolları; CO gazının Nitrik oksit (NO) ile etkileşimi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu, iyon kanalları üzerindeki etkileri oluşturmaktadır (8).

Oksijen iletiminde bozulma: CO'nun klinik toksidromunu oluşturmasında birincil patofizyolojik mekanizması; hemoglobine bağlanarak onun hücrelere oksijen iletimini bozmasıdır. CO, demirli hem içeren birçok proteine yüksek afiniteyle bağlanarak karboksihemoglobin (COHb) oluşturur. Hb'nin CO'ya olan afinitesi oksijene göre 250 kat daha fazla olduğu için CO hemoglobine bağlanmak için oksijenle rekabet ederek onun yerini alır ve oksijenin hemoglobine bağlanmasını azaltarak Oksi-Hb disosiyasyon eğrisini sola kaydırır. Sonuç olarak, oksijen taşınmasının azalması ve dokulara oksijen iletiminin bozulması hipoksik hasara neden olur (8,19,25). CO ayrıca miyokard ve iskelet kasındaki miyoglobine bağlanır ve dokulara oksijen taşınmasının bozulmasına neden olarak kardiyak fonksiyon bozukluğuna neden olur (33).



Şekil 1: CO'nun Hemoglobin (Hb) ve mitokondriyal etkileri (11)

Normal	CO zehirlenmesi
Hb oksijene bağlanır ve dokulara oksijen sunumunu yapar. Mitokondride sitokrom c (Cyt_c), elektronunu (e^-) sitokrom c oksidaz (COX) alt birim 1'e transfer eder. Elektron, alt birim 2'de oksijeni (O_2) indirger, su oluşturur ve iç mitokondriyal membran boyunca bir proton (H^+) taşıyarak ATP üretimini destekler	CO, Hb'ye O_2 ile rekabetçi olarak bağlanır ve toplam oksijen taşıma kapasitesini azaltır. CO, indirgenmiş hem a3'e O_2 ile rekabetçi olarak bağlanır. Sonuç olarak: (1) O_2'nin suya indirgenmesinin inhibisyonu (elektron taşıma zincirinin son elektron alıcısı) (2) H^+'nin intramembranöz boşluğuna transferinin durması ile ATP üretiminin azalması (3) Kompleks I ve III aracılığıyla elektron taşıma zincirine giren elektronların birikimi ile süperoksit üretiminin artması

Karbon monoksit toksisitesinin kliniği yalnızca COHb aracılı hipoksi ile açıklanamaz. Ne klinik etkiler ne de gecikmiş nörolojik hasar, hemoglobin ve CO arasındaki bağlanmanın derecesi ile tam olarak öngörülemez. Bu patofizyolojik yolak, düşük COHb seviyelerinin (%4-%5) bile bazen bilişsel bozulmayla sonuçlandığını açıklamakta başarısız olmaktadır(22).

Karbonmonoksit NO etkileşimi: CO zehirlenmesinin en temel patofizyoloji basamaklarından birini, hücresel ve sistemik geniş etkileri ile bir gaz iletici olan NO ile CO'nun etkileşimi oluşturmaktadır (34).

CO plateletlerden ve diğer bağlı olduğu hemoproteinlerden NO salınımına neden olarak hücre içi ve hücre dışı NO seviyelerinde hızlı bir artışa neden olur. CO sadece NO salınımını değil, nitrik oksit sentezinin belirli proformlarını aktive ederek NO oluşumunu artırır (34–36). NO fizyolojik konsantrasyonlarda toksik olmamasına rağmen patolojik durumlarda fizyolojik konsantrasyonunun yüz katına kadar çıkıp belirgin bir toksisite göstererek iskemik hücre hasarına neden olur (37). NO düz kas hücrelerinde guanilat siklazı modüle ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) salgılanmasını artırır ve vazodilatasyona sebep olurken, endojen CO, NO gibi davranarak guanilat siklaza bağlanıp cGMP konsantrasyonlarını artırabilir. Düşük endojen konsantrasyonlar fizyolojik olmasına rağmen, ekzojen nedenli CO konsantrasyonunda aşırı artış, cGMP artışı ile dirençli vazodilatasyon gelişimine perfüzyonun bozulmasına neden olur(22).

Artan CO seviyeleri NO'nun platelet yüzey hemoproteinlerinden ayrılarak trombositleri aktive etmesini sağlar. NO oluşumu trombosit-nötrofil agregatlarını ve miyelin peroksidaz (MPO) aktivasyonunu teşvik ederek beyin mikro damar sistemine nötrofil agregasyonuna yol açar. MPO daha fazla nötrofil aktivasyonunu, yapışmasını ve degranülasyonunu tetikleyerek inflamatuvar etkileri artırır. Nötrofillerden gelen proteazların, endotel hücre ksantin dehidrogenazını, ksantin oksidaza oksitleyerek reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği düşünülmektedir. NO salınımının tetiklediği MPO ve ROS, miyelin temel protein ile etkileşerek lipid peroksidasyonunu katalize ederek nörolojik hasara neden olmaktadır(38,39).

Serbest radikal olan NO, mitokondri üzerindeki CO'nun etkilerinden salınan süperoksit radikali ile bir reaksiyona girerek potent bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO-) oluşturur. ONOO-, mitokondriyal işlevi bozması, lipid peroksidasyonunu başlatması, sülfidril gruplarını okside etmesi, transport proteinleri ile enzimlerini inaktive etmesi ve DNA hasarı oluşturması ile oldukça sitotoksik bir oksidandır(34,38). CO, sitokrom C (CytC) ve nitrik oksit türevi peroksinitrite bağlanarak oksidanların oluşumunu artırır ve bu durum endotelial hasara yol açar. (40). Sonuç olarak CO ve NO etkileşimi ile endotel hasarı, lipid peroksidasyonu, nöronal hücre ölümü, apoptozis, lökositlerin sekestrasyonu ile sonuçlanan bir dizi inflamatuvar cevap oluşumu başlatılmış olur (8).

Reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species) (ROS) oluşumu: Canlı hücrelerde bulunan proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve DNA gibi okside olabilen maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelere antioksidanlar denir. Bu sürece antioksidan savunma adı verilir. Vücuttaki doğal antioksidan moleküller, artan reaktif oksijen türlerini (ROS) belirli bir düzeyde etkisiz hale getirerek kontrol altında tutar (41). Yapılan çalışmalarda CO'nun ROS salınımını artırarak, oksidatif stresi indükleyebileceği gösterilmiştir. CO, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu mitokondri ile etkileşiminin yanı sıra doğrudan süperoksit ve hidrojen peroksit üretimini tetikleyerek de yapmaktadır. CO'ya bağlı ROS oluşumunda iki önemli mekanizma vardır (35,41);

Birincil mekanizma: Ksantin dehidrogenazın peroksit oluşumuna neden olan ksantin oksidaza dönüşmesidir. Artan NO konsantrasyonu ile birlikte oluşan ONOO⁻, nitrik oksidin kendisinden çok daha güçlü bir serbest radikaldir ve süperoksit dismutaz gibi enzimler tarafından parçalanmaya karşı dirençlidir.

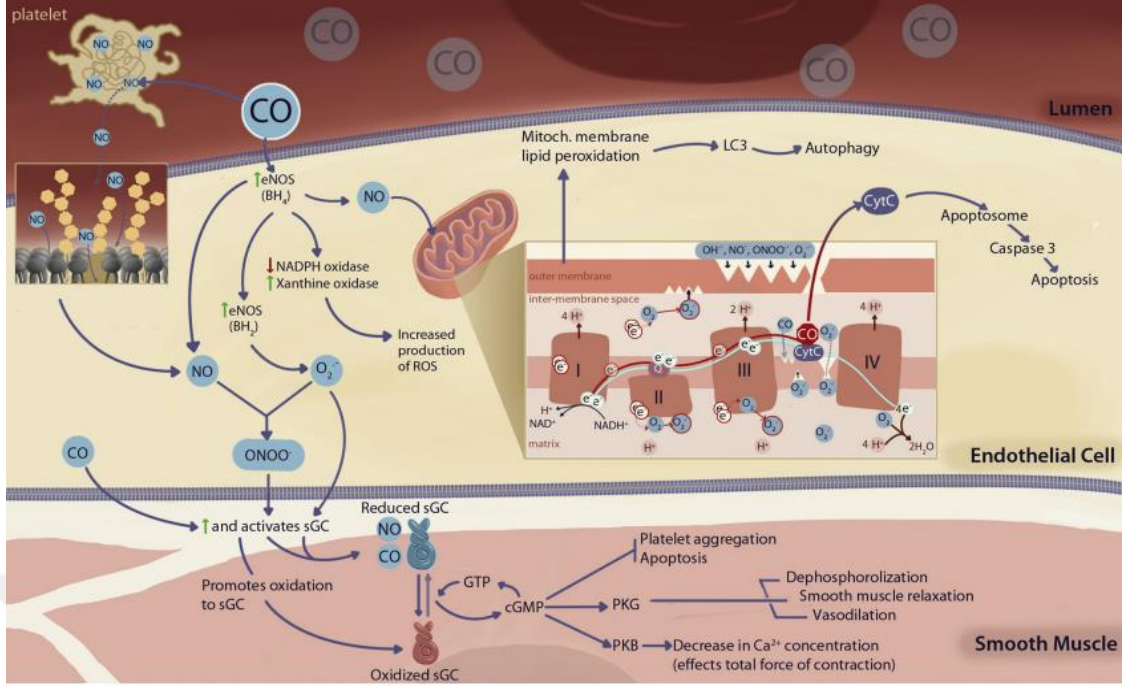
İkincil mekanizma; CO'nun mitokondriyal matris içindeki hemoprotein olan sitokrom C oksidaza bağlanarak inhibisyonu ile süperoksit birikimine neden olmasıdır.

Fakat CO'nun sitokrom C'ye bağlanması, mitokondrinin ATP üretme yeteneğini önemli ölçüde azaltmaz, elektron taşıma zincirindeki diğer kompleksler elektron taşımaya devam edip süperoksit üreterek hücre ve dokuların zarar

görmesine neden olur. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) üretimi azalırken, ksantin oksidaz ve ROS'un mitokondriyal üretimi artar (26). İn vitro sıçan modelleri, bu oksidatif stresin, özellikle hipokampus ve korpus striatumda protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ile mitokondriyal hasara neden olduğunu göstermektedir. CO zehirlenmesi olan hastalarda görülen bilişsel fonksiyon bozukluğunun sebebinin hipokampus ve korpus striatumda artan lipid peroksidasyonunun eşlik ettiği sitokrom oksidaz inhibisyonu olduğunu desteklemektedir (22,42).

Karbon monoksit, mitokondriyal sitokrom oksidaza bağlanarak oksijen taşınmasında ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda azalmaya neden olur. Böylece iskemik ve anoksik beyin hasarına yol açarak hastalarda bilişsel eksikliklere neden olur (43). İskemiye bağlı beyin hasarı; asidoz, iyonik dengesizlik, depolarizasyon, oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz gibi faktörlerden kaynaklanabilir. Artan hücre içi kalsiyum akışı, ATP ve oksidatif fosforilasyonun azalmasıyla birlikte, beyin hasarını daha da artırır. ATP seviyelerindeki düşüşler, hücre içi proteaz ve lipazların aktivasyonuna yol açarak mitokondriyal membran depolarizasyonu, hücre ölümü ve özellikle glutamat gibi nörotransmitterlerin salınımına neden olabilir. Glutamat, N-metil- D -aspartat (NMDA) reseptörlerini uyararak özellikle bazal ganglion ve hipokampus nöronlarında hücresel fonksiyon bozukluğunu ve apoptozu daha da artırır (44).

Sonuç olarak, CO zehirlenmesinden sonra meydana gelen hipoksi ve erken dönemde artan ROS seviyeleri, DNA ve RNA hasarı, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, programlanmış hücre ölümü ve immün sistemin aktivasyonu ile sonuçlanacaktır (45).



Şekil 2: Reactive oksijen türlerinin oluşumu: CO'nun Sitokrom C (CytC) ve nitrik oksit ile bağlanarak peroksitrit (ONOO-) oluşturulduğunda hücre hasarına neden olan bir dizi süreç başlatılır (8)

Karbonmonoksit İyon Kanalı Etkileşimi:

İyon kanalları, miyokardiyal hız/ritim, böbrek fonksiyonu, kas kasılması ve gevşemesi ile sinir aksiyon potansiyelleri gibi birçok sistemde bulunan önemli mekanizmaların temel düzenleyicileridir (8,46).

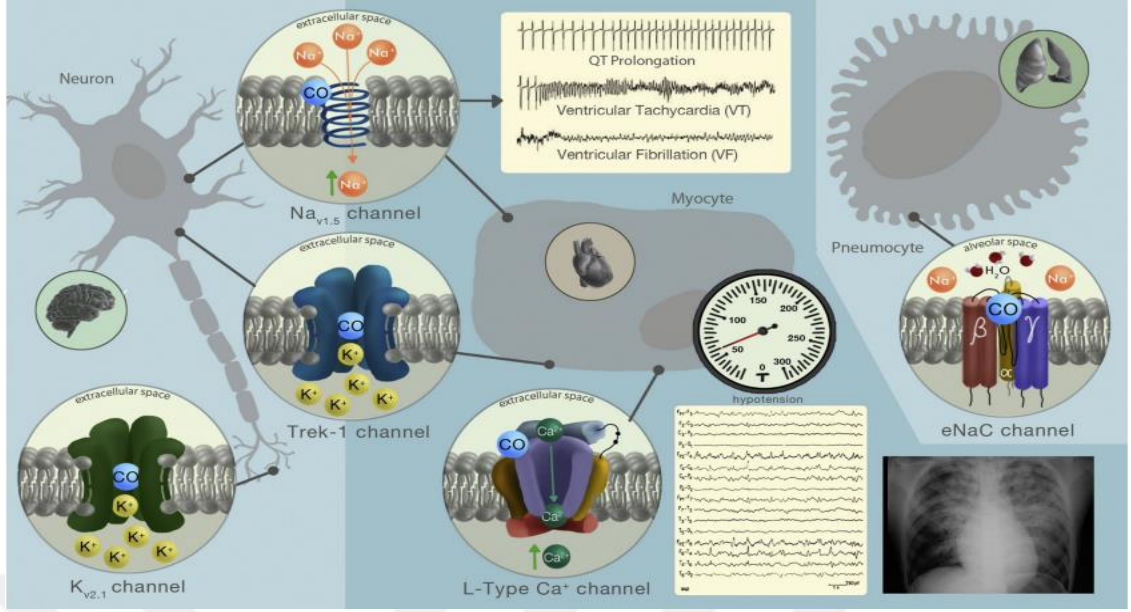
Nöronal İyon Kanalları: Nöronlarda, şu ana kadar CO zehirlenmesinde büyük rol oynayan üç iyon kanalı belirlenmiştir:

CO, beyinde hafıza oluşumu ve organizasyonu için hayati önem taşıyan bir yapı olan hipokampüste yüksek oranda bulunan gecikmiş doğrultucu K akımı oluşturan Kv2.1 ve tandem P alanı K⁺ kanalı (K2p2.1) (Trek-1) adlı iki K⁺ kanalını bloke ederken hem miyokardiyal hem de nöronal dokularda bulunan voltaj kapılı sodyum kanalını (Nav 1.5) aktive eder. Bu kanalın aktivasyonu, hücre içi sodyum konsantrasyonunda artış ile hücrenin depolarizasyon eşiğine doğru daha fazla hareket etmesine yol açar (47,48). CO'in bu kanallar üzerindeki etkinliği düşük HbCO konsantrasyonlarında bile görülebilen gecikmiş nörolojik sekele (DNS) ve otonomik eksiklikleri açıklamaya fayda sağlayabilir (49).

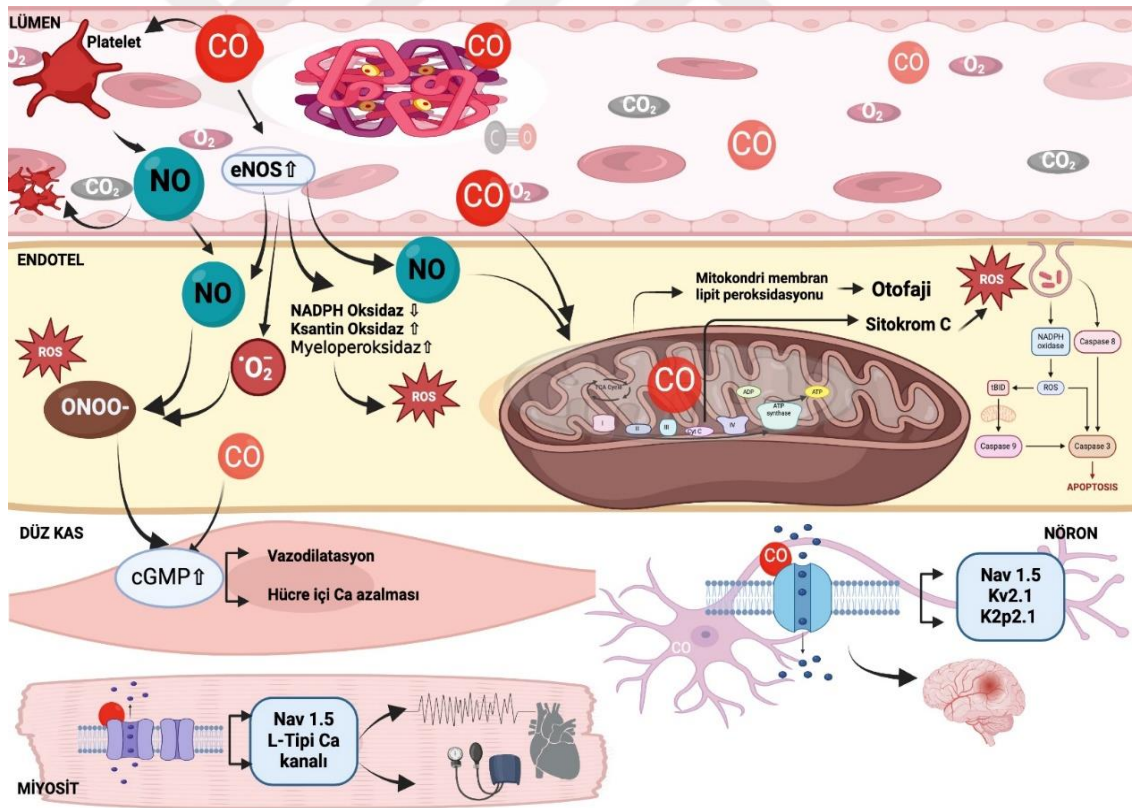
Kardiyak iyon kanalları: Yapılan çalışmalarda CO gazının nabız, ritim ve vasküler tonusun birincil düzenleyicileri olan birçok farklı tipte iyon kanalını etkilediği düşünülmektedir. Özellikle L tipi Ca^{+2} kanalları ve miyokardiyal voltaj kapılı sodyum kanalları ($Na_v 1.5$), CO zehirlenmesi bağlamında önemli etkileri oluşturan iki kanaldır. L tipi Ca^{+2} kanalları öncelikle kalpte (SA ve AV düğümleri), kan damarlarında (karotis gövdesi) ve pankreasta bulunur (50). CO, L tipi Ca^{+2} kanallarını inhibe ederek hücreye Ca^{+2} akışını azaltır ve AV iletimin bozulmasına, nabızın yavaşlamasına, miyosit kontraktilitesinin azalmasına, vazodilatasyon ve insülin sekresyonunun azalmasına neden olur (50,51).

CO gazının, miyokardın voltaj kapılı sodyum kanallarına ($Na_v 1.5$) etkisi ile de QT uzamasına neden olduğu düşünülmektedir. QT uzaması ise kalbi polimorfik ventriküler taşikardi (VT) ve sonuçta ventriküler fibrilasyon (VF) ve ölüm dahil olmak üzere tehlikeli aritmilerin gelişmesine yatkın hale getirir (48). CO gazının iyon kanalları üzerindeki bu doğrudan etkisi, CO'nun düşük konsantrasyonlarda bile görülebilen miyokardiyal etkileri için mantıklı bir açıklama sağlamaktadır (8,27).

Diğer iyon kanalları: CO'nun etkilediği ve potansiyel olarak klinik açıdan anlamlı etkileri olan başka iyon kanalları da vardır. CO, pulmoner tip II alveolar hücrelerde ve böbrekte bulunan epitelyal sodyum kanalını (ENaC) inhibe ederek CO zehirlenmesi olan birçok hastada karşılaşılan akciğer ödemeine sebep olabilir. Ayrıca CO, karotis ve diğer damarlardaki Ca kanallarına etkisi ile vazodilatasyona sebep olmaktadır (35).



Şekil 3: CO zehirlenmesinin iyon kanalları üzerindeki doğrudan etkisi: CO'nun akciğer, beyin ve kalpte iyon kanalları üzerinde doğrudan etkileri vardır (8)



Şekil 4: CO zehirlenmesinin etki mekanizması

2.1.6. Klinik

Akut CO zehirlenmesinde erken semptomlar nonspesifik semptomlar olup sıklıkla diğer hastalıklarla karışabilmektedir. Tipik başvuru şikayetleri arasında baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, bulantı olup kış aylarında görülme sıklığının artması nedeniyle viral enfeksiyonlarla karışarak tanının geç konmasına ya da atlanmasına neden olabilmektedir (22,33,52). Semptomların belirsiz olması yaklaşık %30 vaka da yanlış teşhise neden olmaktadır (53). CO zehirlenmesinin semptomları, zehirlenmenin ciddiyetine ve hastalığın evresine bağlı olarak hafif semptomlardan ciddi semptomlara kadar geniş spektrumlu olabilmektedir. (tablo 1)

Tablo 1. Karboksihemoglobin (CO-Hb) doygunluğu (%) seviyeleri ve semptomlar (25,54)

CO-Hb (%)	klinik semptom
< 1	normal aralık (endojen üretim nedeniyle)
< 10	sigara içen kişinin kanı (belirti yok)
10–20	baş ağrısı, yorgunluk, kulak çınlaması
20–30	baş ağrısı, halsizlik, mide bulantısı, kusma
30–40	baş ağrısı, baş dönmesi, mide bulantısı, kusma
40–50	senkop, konfüzyon, solunum ve kalp atış hızının artması
50–60	koma, konvülsiyonlar, depresif solunum
60–70	koma, konvülsiyonlar, kardiyopulmoner depresyon, sıklıkla ölümcül
70 <	Solunum yetmezliği, ölüm

Baş ağrısı, halsizlik, baş dönmesi, mide bulantısı, kusma, göğüs ağrısı, çarpıntı ve nefes darlığı erken dönem semptomları oluştururken, rabdomiyoliz, çoklu organ yetmezliği, yaygın damar içi pıhtılaşma, kardiyovasküler komplikasyonlar ve nöropsikiyatrik bulgular ise geç dönem semptomlar arasında yer almaktadır (53,55). CO zehirlenmesinde akut mortalite sıklıkla QT uzaması ile gelişen ventriküler disritmilere bağlı olmaktadır. Yüksek COHb seviyeleri ve uzun süreli CO maruziyeti ile kardiyak global hipokinezi, kardiyomiyopati, miyokardiyal iskemi ve aritmiler

gelişebilmektedir. Bu semptomlarla ilişkili olarak troponin, laktat ve β -tipi natriüretik peptid seviyelerinde artış görülmektedir (9).

Santral sinir sistemi, CO zehirlenmesine en duyarlı sistemdir. %15-20 COHb düzeylerinde baş ağrısı, baş dönmesi ve ataksi ortaya çıkabilirken; daha yüksek düzey ve daha uzun süreli maruziyetler senkop, nöbet veya komaya neden olur (22). Santral sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem CO zehirlenmesine en duyarlı sistemler olsa da diğer organ ve sistemlerde CO zehirlenmesinin etkilerini gösterir. Ciddi semptomları olan hastaların beşte biri ila üçte birinde CO kaynaklı kardiyak etkilenim ve duman inhalasyonu ilişkili ARDS nedenli akciğer ödemi gelişmektedir (22,32).

Muayene bulguları:

CO zehirlenmesinde fizik muayene bulguları taşikardi, takipne, hipertansiyon, hipertermi, bilinç değişikliği, normal oksijenasyon düzeyleri ve nörolojik defisitleri içerir. CO zehirlenmesinin klasik patognomonik bulgusu CO kaynaklı vazodilatasyon ve doku iskemisinin sonucu olan deri ve mukozalarda kiraz kırmızısı renk görülmesidir. Sıklıkla ölümden sonra otopside görüldüğü için tanıya yardımcı olmamakta ve görülmemesi tanıyı dışlamamaktadır (52,56,57). Nadir görülen bir diğer bulgu ise ciddi maruziyetlerden sonra kutanöz büllerin gelişmesidir (22).

Tablo 2. CO zehirlenmesinde ciddi toksisite bulguları (57)

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

Gecikmiş nörolojik sekel (Delayed Neurological Sequelae) (DNS)

Gecikmiş nörolojik sekel (ensefalopati) akut CO zehirlenmesiyle ilişkili en ciddi komplikasyonlardan biridir. DNS, belirgin CO maruziyeti olan hastaların yüzde 15 ila 40'ında görülmektedir (26). Gecikmiş nörolojik encefalopati gelişen vakaların %25'inde ise kronik nörolojik sekel kalır (58). 30 yaşın üzerindeki vakalar ve ilk

maruziyet sonrası bilinç kaybı gelişen vakalar DNS gelişimi için yüksek risk taşımaktadırlar (22) .

Klinik bulguları demans, piramidal veya ekstrapiramidal sistemlerin işlev bozukluklarını içeren bir dizi nörolojik ve psikiyatrik semptomla karakterizedir (10). CO maruziyetinden 4 gün ila 5 hafta sonraya kadar ortaya çıkabilen DNS tablosunun yaygın olarak belirlenmiş bir tanı kriteri yoktur. Klinik prezantasyonlarını kişilik değişiklikleri veya hafif bilişsel eksiklik gibi ince anormalliklerden şiddetli bunama, amnestik sendromlar, psikoz, parkinsonizm, felç, kore, kortikal körlük, afazi, apraksi, agnozi ve periferik nöropati oluşturur(22,45,59,60).

Kesin nöropatoloji tam bilinmemekle beraber CO-Hb kompleksine bağlı gelişen hipoksi DNS kliniğinin oluşumunu açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Düşük CO-Hb konsantrasyonlarında bile gelişebilen DNS tablosu altta yatan başka patofizyolojik yolların olduğunu düşündürmektedir. Yapılan çalışmalar ile desteklenen DNS mekanizmaları arasında öncelikli olarak ikincil hasarlar olan apoptoz, lipid peroksidasyonu, oksidatif hasar, immün aracılı hasar ve gecikmiş nöroinflamasyon yer almaktadır (26,55,60). DNS gelişiminin, COHb seviyeleri ile korelasyonu zayıf olup beraberinde vazodilatasyona sekonder hipotansif atağın da olması gerektiği düşünülmektedir. CO zehirlenmesinde hasar gören beyin bölgelerinin damar desteğinin zayıf olduğu alanlar olması da bulguları desteklemektedir (22).

Yapılan birçok çalışma gecikmiş ensefalopatideki nöronal nekroz ve apoptozun yapılan nörogörüntülemelerde globus pallidustaki bilateral, simetrik lezyonları, beyindeki yaygın demiyelinizasyon gibi patolojik bulguları oluşturduğunu göstermiştir (10). Maruziyetten haftalar sonra yapılan otopsilerde beyaz madde, globus pallidus, beyincik ve hipokampüste nekroz görülmesi bu bölgelerin hasarlanması ile DNS gelişimi arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır (22).

CO zehirlenmesi sonrası gecikmiş ensefalopati için spesifik bir tedavi veya profilaksi bulunmamaktadır (61). Klinik uygulamada kullanılan HBO tedavisinin faydası olsa da etkinliği zayıftır ve mortalite ve sakatlık oranları yüksek kalmaktadır

(1). Mevcut alışmalar ikincil hasar mekanizmaları üzerinden etki edebilecek yeni tedavi yöntemlerini araştırmaya yönelmiş durumdadır.

2.1.7. Tanı

CO zehirlenmesi tanısı; CO zehirlenmesi ile uyumlu semptomlar, CO gazına maruziyet öyküsü ve CO-Hb konsantrasyonunun yüksekliği üçlüsü ile konulur (27). COHb'nin normal seviyeleri %0 ila %5 arasındadır. CO, protoporfirinin bilirubine dönüşmesinin doğal bir yan ürünü olduğundan, yenidoğanlarda ve hemolitik anemisi olan hastalarda %8'e varan yüksek COHb seviyeleri oluşabilir. Sigara içenlerde karboksihemoglobin seviyeleri %10'a kadar çıkabilir (21,27,62).

CO zehirlenmesini tespit etmenin en hızlı ve kolay yolu invaziv bir işlem olan kan gazı analizi ile COHb konsantrasyonunun ölçülmesi şeklinde gerçekleştirilebilirken invaziv olmayan nabız CO-oksimetresi yoluyla da hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir (56,63). CO-Hb düzeyleri zehirlenme tanısı koydursa da CO-Hb düzeyleri ile semptomların şiddeti veya mortalite ve morbidite riski arasında doğrudan bir korelasyon yoktur (24,30). Nabız CO-oksimetresi noninvaziv olduğundan, spesifik olmayan semptomlarla başvuran acil servis hastalarının ilk taramasında ve özellikle kitlesel zehirlenme durumunda saha taraması için faydalıdır. Ancak COHb ve OksiHb arasında ayırım yapamaması nedeniyle, standart bir kan COHb ölçümünün yerine geçemeyeceği için bağımsız olarak kullanılmaması önerilmektedir (22).



Resim 1: CO-Oksimetresi

COHb ölçümünün yanı sıra kardiyak iskemik parametreler, tam kan sayımı (CBC), serum karaciğer enzimleri, kreatinin, üre ve glikoz seviyeleri, kan laktat seviyesi gibi laboratuvar belirteçleri ve göğüs röntgenindeki akciğer infiltrasyonları da zehirlenmenin ciddiyeti hakkında fikir verebilir (56). Kardiyovasküler mortalite potansiyeli nedeniyle, EKG değişikliği veya kardiyak belirteçleri artmış olan hastalar daha ileri kardiyak testlerden, stres testlerinden, EKO veya anjiyografiden fayda görür (64).

COHb düzeylerinin mortalite ve morbiditeyi göstermedeki zayıflığı nedeniyle başka biyobelirteç kullanabilmek için birçok araştırma yapılmaktadır. CO oksidatif stresinin potansiyel belirteci olan ve eritrositlerden salınarak beyin hasarına yol açabilen glutatyon, hipoksik stres sonrasında salınan astrogliadaki yapısal bir protein olan serum S100B, nöronal yıkımın bir yan ürünü olan serum nörona özgü enolaz (NSE), bu belirteçlerden bazılarıdır. Serebral hasar için kullanılan bu belirteçler, CO zehirlenmesinden sonra yükselerek nörolojik hasarı, mortalite ve morbiditeyi değerlendirse de tedavi ihtiyacını tahmin edecek kadar güvenilir olduğu henüz gösterilememiştir (22,30,65,66).

CO zehirlenmesinin en yaygın semptomlarından biri bilinç değişikliği olduğu için hastalara bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans görüntüleme

(MRI) yapılabilir (67). CO gazına maruz kaldıktan sonra nörobilişsel hasar gelişen hastalarda 12 saat içinde BT taramalarında akut değişiklikler meydana gelmektedir. Yapılan görüntülemelerde çoğunlukla globus pallidus, putamen ve kaudat nukleus bölgelerinde simetrik düşük yoğunluklu alanlar görülmektedir. Manyetik rezonans görüntüleme, CO zehirlenmesinden sonra gelişen serebral beyaz madde bazal ganglion lezyonlarının saptanmasında BT'den üstündür (22,67,68). Gecikmiş nörobilişsel ensefalopatinin nedenlerinden birinin beyaz madde demiyelinizasyonu olduğu düşünülmektedir ve MR görüntülemesinde yaygın görülen bulgusu periventriküler beyaz madde ve sentrum semiovalede T1 ağırlıklı görüntülerde sinyal azalması iken, T2 ağırlıklı görüntülerde sinyal artmış olmasıdır. Şiddetli zehirlenmelerde bu değişiklikler subkortikal beyaz madde, korpus kallozum ve kapsulada da meydana gelebilir (68,69). BT ve MR görüntülemelerde geç dönem görüntüleme bulgusu, nöronal nekroz ve apoptoz nedeniyle sulkus genişlemesi veya ventriküler genişleme ile kendini gösteren yaygın beyin atrofisidir (70).

CO zehirlenmesinde nörogörüntülemelerde en umut verici yöntemlerinden biri de bölgesel serebral perfüzyonun değerlendirilmesidir. Yapılan çalışmalarda tek foton emisyonlu BT (SPECT), bir iyot veya teknesyum izleyici kullanarak bölgesel kan akışını invazif olmayan bir şekilde ölçerek hipoperfüzyon görülen vakalarda gecikmiş nörolojik sekel (DNS) insidansının yüksek olduğunu göstermiştir. Fakat prosedürün yetersiz olması ve kapsamlı çalışmaların bulunmaması nedeniyle, SPECT taraması şu anda prognozu veya hiperbarik oksijen (HBO) ihtiyacını belirlemede kesin bir yöntem değildir (22,71).

2.1.8. Tedavi

Genel İlkeler

Hastane dışında hasta yönetiminin ilk adımı kontamine ortamdan uzaklaştırma oluştururken hastane içi yönetimde ayrıntılı öykü ve fizik muayene ile erken tanı koymak, hava yolu kontrolü, intravenöz erişim ve kardiyak monitörizasyon oluşturur (25). COHb yarı ömrü, normal atmosferik basınçta oda havasını (%21 oksijen) solurken ortalama 5 saatten (aralık, 2-7 saat) %100 oksijen solduğunda yaklaşık 1 saate (aralık, 36-137 dakika) düşerken, 1,5 atm basınçlı

%100 oksijenli ortamda ise 21 dakikaya düşer (72,73). Bu nedenle CO'nun kandan uzaklaştırılması için ilk tedavi olarak yüz maskesi veya endikasyon dahilinde endotrakeal tüp yoluyla %100 normobarik oksijen (NBO₂) verilmesi gerekir. CO'nun Hb'den ayrılmasını hızlandırmak ve CO zehirlenmesinin neden olduğu inflamasyon ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkileri tersine çevirmek için ise mümkün olan en kısa sürede hiperbarik oksijen (HBO₂) tedavisi düşünülmelidir(25,26).

Potansiyel yan etkiler açısından kan basıncı, kalp hızı ve elektrokardiyografi gibi hayati parametreler sürekli izlenmeli ve kandaki kardiyak iskemik parametreler, kan gazı analizi ve laktat düzeyi sık aralıklarla kontrol edilmelidir (56). Hipotansiyon, kalıcı miyokard depresyonu yapabileceği için erken aşamada IV sıvılar ve inotropolarla tedavi edilmelidir. CO intoksikasyonu sonrası troponin düzeyleri yüksek olan hastalarının neredeyse dörtte üçünde kardiyak fonksiyon bozukluğu veya Takotsubo benzeri değişikliklerle birlikte kardiyomiyopati görüldüğü gözlenmiştir (71). Nörolojik durum takibi için Glasgow Koma Skalası (GKS) sık aralıklarla değerlendirilmeli ve ayrıca geç dönem nörolojik sekeller için bilişsel işlevler özellikle dört ila altı hafta sonra düzenli olarak kontrol edilmelidir (74). Tedavinin süresi belirsiz olup amaç asemptomatik seyir ile birlikte COHb düzeyini %5'in altına düşürmektir (22).

Hiperbarik oksijen tedavisi

Hiperbarik oksijen tedavisi (HBO), belirli bir hiperbarik oksijen odasında 2-3 atm ortam basıncı altında %100 oksijen solunması işlemidir. 2 atm mutlak (ATA) basınçta oksijen plazmada çözünerek arteriyel pO₂'yi 1400 mmHg'ye yükseltirken, 3 atm mutlak basınç arteriyel pO₂'yi yaklaşık 2000 mmHg'ye yükseltir (72,75).

HBO tedavisinin moleküler düzeydeki etki mekanizması tam anlaşılamamış olsa da hipoksik dokuda vazodilatasyona, perfüzyon artışına, pro-inflamatuar sitokinlerin azalmasına ve anti-inflamatuar sitokinlerin artmasına sebep olur (76). CO'nun hemoglobinden eliminasyonunu sağlarken aynı zamanda oksijen transferinin inhibisyonunu, O₂'nin intramitokondriyal inhibisyonunu tersine çevirerek hücre içi hipoksi, oksidatif stres ve doku inflamasyonunu azaltır (56). Ayrıca HBO beyin

hasarı için önemli bir sebep olan lipid peroksidasyonunu ve beyin mikrovasküler endoteline β -integrin aracılı nötrofil yapışmasını da önleyerek nöroprotektif etkilere neden olmaktadır (76,77). Normobarik oksijen uygulaması ile kıyaslandığında, HBO semptomların iyileşme süresini kısaltmakta, mortalite ve geç nöropsikiyatrik bulguların gelişme insidansını azaltmaktadır (78).

Tablo 3: HBO tedavisinin önerildiği durumlar (22,56,72)

HBO endikasyonları
COHb seviyesi > % 25;semptomlardan bağımsız
Gebelikte COHb düzeyi $\geq$ % 15
Hamilelikte fetal sıkıntı
Şiddetli metabolik asidoz (pH <7.25)
End organ hasarı (myokard iskemisi, mental durum değişikliği) (senkop, nöbet, koma, GKS<15, anormal serebellar fonksiyon, nörolojik defisit)

COHb seviyesi yüzde 25'in üzerinde olan hastalarda rutin olarak HBO tedavisini önerilmesine rağmen, literatürde net COHb seviyelerine göre belirlenmiş bir HBO tedavi önerisi bulunmamaktadır. Hangi hastaların HBO tedavisinden yarar göreceği, tedavi süresi ve kullanılacak basınç düzeyleri konusu hala tartışmalıdır (79). HBO tedavisinin bir diğer kısıtlılığı ise tedaviye ulaşılabilirliğin zorluğudur. HBO tedavisi yalnızca belirli merkezlerde verilmekle birlikte sıklıkla bu merkezleri üçüncü basamak hastaneler oluşturmaktadır. Fakat HBO tedavisinin kullanımı ve yüksek riskli hastaların HBO olan merkeze nakledilmesiyle ilgili gereksinimler konusunda halen net bir fikir birliği bulunmamaktadır (8).

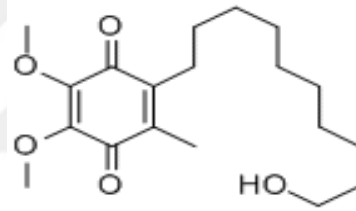
Ciddi CO zehirlenmesinde HBO tedavisinin optimal zamanlaması ve sayısı belirsizdir. Maruz kaldıktan 6 saat sonra tedavi edilen hastalar, gecikmiş sekel ve mortalite açısından daha kötü sonuçlara sahip olma eğilimindedir (72,73,77). Genellikle, HBO tedavisinin ilk 24 saat içinde başlanması önerilmektedir. Yapılan bir çalışmada, ilk 24 saat içinde başlatılan hiperbarik oksijen tedavisinin nörobilişsel sekellerin gelişimini azalttığı gösterilmiştir.(8). HBO tedavisinin ilk seansından sonra

klirik iyileşme görülmemesi halinde, tedaviye tekrar eden seanslarla devam edilmelidir. (72,80).

CO intoksikasyonunda HBO tedavisinin faydasına ilişkin çok sayıda çalışma olsa da HBO'nun kesin faydası henüz tam olarak kanıtlanamamıştır (8). CO intoksikasyonu her zaman akılda tutulmalı ve acil standartlara göre tedavi edilmesi gereken bir tanıdır. 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 almalıdır. Geç sekeller oluşabileceğinden taburculuk sonrası uzun dönem nörolojik açıdan takip önerilmektedir (56).

2.2. İdebenon

İdebenon (C₁₉H₃₀O₅), mitokondriyal elektron taşıma zincirinde bir elektron donörü olan koenzim Q10'un (CoQ10) sentetik bir analogudur (81) (Şekil5).



Şekil 5: İdebenon Kimyasal Açılımı

CoQ10 nöroprotektif bir ajan olmasına rağmen suda az çözünmesi ve büyük molekül kütlesi nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür. Bu sorunların giderilmesi için CoQ10'un hidrofilik analogu olan İdebenon keşfedilmiştir (8).

Tablo 4. İdebenon etki mekanizması

Reaktif oksijen temizleyicisi (82)
ROS-NLRP3 inflammatuar sinyal yolunun inhibisyonu (15,81)
NF-κB sinyal yolunu inhibe ederek lipopolisakkaritlerin neden olduğu inflamasyonu azaltır (16)
Membran lipid peroksidasyonunun inhibisyonu (18)
NRF2'nin nükleer aktivasyonunu uyarır ve Bcl-2/Bax oranını düzenler (16)
Sitokrom C aracılı kaspaz-3 aktivasyonunu engeller (14)
Voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının inhibisyonu yoluyla anti-iskemik etki (83)
Sinir büyüme faktörü sentezini uyarır (83)
Eritrosit hücresi zarı stabilizasyonu (83)
Glutamatın neden olduğu nörotoksiteyi azaltır (83)
Hafıza ve öğrenme fonksiyonunu geliştirir: (83) 1. sinaptik uzun vadeli güçlenme yoluyla; 2. kolinerjik ve serotonerjik fonksiyon bozukluğunun tersine çevrilmesi yoluyla; 3. iskemi kaynaklı bozulmanın tersine çevrilmesi yoluyla;
İskemi kaynaklı artan laktik asit ve azalan ATP seviyelerinin tersi yönde düzeltilmesi (83) -Serebral glukoz kullanımında iyileşme -ATP sentezinin uyarılması
Trombosit agregasyonunun inhibisyonu (84)

Reaktif oksijen temizleyicisi

Serbest radikaller, normal metabolik süreçler sırasında endojen olarak üretilir ve hücre çoğalması, iyileşme ve apoptoz gibi işlevlerde haberci olarak görev yaparlar. Reaktif yapıları nedeniyle, serbest radikaller lipidler, nükleik asitler ve proteinler başta olmak üzere tüm hücre bileşenleriyle etkileşime girerek zarar verme potansiyeline sahiptirler. Serbest radikal oluşumundaki artışa veya antioksidan

savunma sistemindeki yetersizliğe bağlı olarak organizmada oksidatif stres oluşur. Bu durum inflamasyon gibi zararlı süreçleri tetikler (85). Oksidatif strese bağlı olarak pro-apoptotik proteinlerin sitoplazmik salınımı ile mitokondriyal membran potansiyelinin stabilizasyonu bozulur. Apoptozun "içsel mitokondriyal" yolu aktive olur (16).

İdebenon anti-inflamatuar etkilerini birden çok etki mekanizmasıyla oluşturmaktadır. Bu mekanizmalarından biri oksidatif stresi azaltmak için antioksidan etkiler göstermesidir (86,87). İdebenon oksidatif strese bağlı bozulan mitokondriyal membran potansiyelini arttırarak fizyolojik koşulları eski haline getirir. İdebenon'un antioksidan etkinliğini sadece membran potansiyelini stabilize etmesi ile değil aynı zamanda aşırı ROS üretimi baskılaması ve mitokondriyal solunum zinciri komplekslerinin (kompleks I ve III) fonksiyonlarını desteklemesi ile de gösterir (14).

İdebenon'un bir diğer etki yolağı ise NAD(P)H dehidrojenaz [kinon]-1 tarafından indirgenip, böylece elektronlarını mitokondriyal solunum zincirine aktararak ATP üretiminin artmasına ve sonuç olarak hücresel oksidatif stresin azalmasına yol açmasıdır (88,89). İdebenon, reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleme ve oksidatif stresi azaltma yeteneği sayesinde, Nükleer Faktör Kappa Beta (NF-κB) sinyal yolunun aktivasyonunu baskılar ve böylece proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu önler (82,90).

NF-κB sinyal yolunu inhibe ederek lipopolisakkaritlerin neden olduğu inflamasyonu azaltır

NF-κB, LPS'ye yanıt olarak çeşitli sitokin reseptörlerin, proinflamatuvar moleküllerin gen ekspresyonunu düzenleyerek hücre apoptozunu, bağıışıklığı, hücre artışını ve yaşlanmayı kontrol eden önemli bir transkripsiyon faktörüdür (91). NF-κB protein kompleksi genellikle sitoplazmada IκB inhibitör proteinine (IκBa) bağlı halde transkripsiyonel olarak inaktif halde kalır. Böylece çekirdeğe translokasyonu ve DNA'ya bağlanması engellenmiş olur. Fosforilasyon ile IκB'ler bozunmaya uğrar ve NF-κB aktivasyonuna neden olur. Kontrollü aktivasyon hücrelerin hayatta kalması için önemli iken kontrolsüz aktivasyon birçok otoimmün, inflamatuvar hastalık ve

kanser gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (90). Yapılan çalışmalarda idebenonun LPS ile uyarılan makrofajlarda I κ Ba fosforilasyonunu ve bozulmasını önemli ölçüde inhibe ederek NF- κ B sinyal yolunu modüle ettiği ve inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (82).

ROS-NLRP3 inflammatuar sinyal yolunun inhibisyonu

Beyinde nöronal aktiviteyi senkronize ederek nöronal homeostazisini düzenleyen iki tip nöroglial hücre vardır; mikroglia ve astrositler. Lipopolisakkarit (LPS) uyarımı veya anormal amiloid plak (A β) birikimi gibi nöropatolojik durumlarda, bu nöroglial hücreler, inflammatuar mikroglia ve reaktif astrositler haline gelerek, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini ve NLRP3 aktivasyonunu tetikler. Sonuç olarak kaspaz-1 aktivasyonu ile proinflammatuar sitokinler IL-1 β ve IL-18 salınır ve nöroinflamasyon başlar. İdebenon, BV2 mikroglial hücrelerinde ve astrositlerde LPS kaynaklı hücre içi ROS üretimini, mitokondriyal membran potansiyeli bozulmasını ve NLRP3 ile ilişkili nöroinflamasyonu inhibe eder. A β ilişkili astroglioz ve nöroinflamasyonu baskılar (15,81).

Membran lipid peroksidasyonunun inhibisyonu

Lipid peroksidasyonu, artan oksidatif stresin önemli bir sonucu olup nöron sağlığı ve nöronun hayatta kalması için zararlı bir durumdur (92). Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünü olup merkezi sinir sisteminde lipid peroksidasyonunun bir belirticidir (18,82).

İdebenon, artan lipid peroksidasyonuna karşı güvenilir bir ajandır ve lipid peroksitlere karşı koruyucu etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (89,93,94). İdebenon oksidatif stresi azaltması, antioksidan enzimleri artırması ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisiyle MDA seviyesinde düşüşe neden olur (95). Bu etkilerini esas olarak lipid peroksidasyonu ve ferroptoz ile bilinen glutatyon peroksidaz-4'ün (GPx-4) ekspresyonunu ve glutatyon düzeylerini artırarak sağlar. Demir ilişkili lipid peroksit birikiminin nöron sağlığına zararlı olduğu ferroptozu neden olacağı bilinmektedir. GPx-4, ferroptozun aracılık ettiği hücre ölümünü önler. İdebenon hücrel glutatyon seviyelerini ve GPx-4 ekspresyonunu arttırarak nöronal

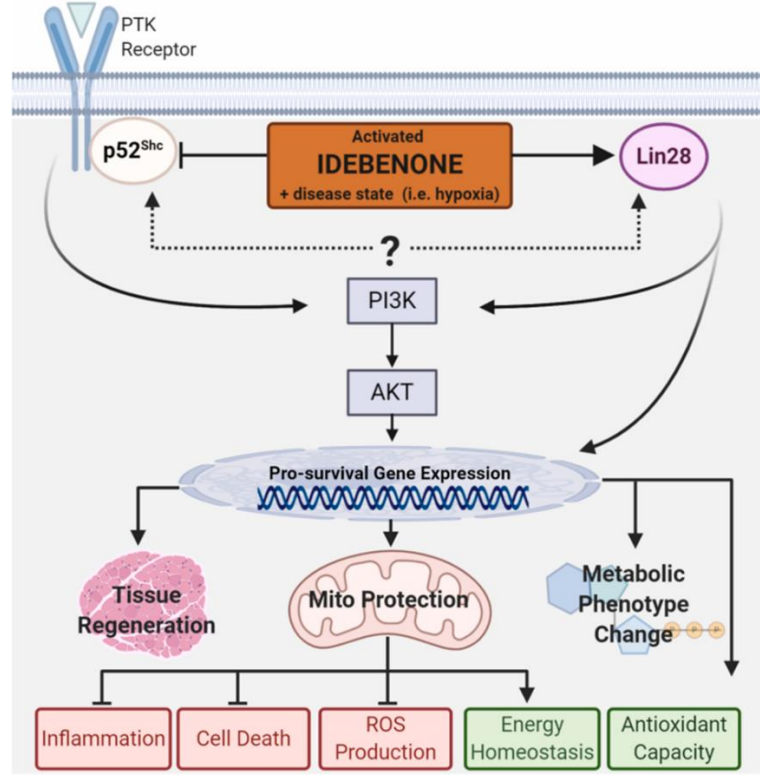
sağ kalımı destekler (18). Sonuç olarak idebenon, antioksidan enzim aktivitesini modüle ederek ROS oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe eder ve (GPx-4) ekspresyonunu artırarak nöroprotektif etkinlik gösterir (17,96,100).

Trombosit agregasyonunun inhibisyonu

İdebenon trombositlerde araşidonat ve ADP tarafından indüklenen agregasyonu inhibe eder. Ayrıca trombositlerde cAMP artışı yaparken prostoglandin ve tromboksan B2 üretimini azaltır. İnsan trombositlerinde yapılan bir araştırmada İdebenonun aspirinden 8 kat daha etkili olarak trombosit agregasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır (84).

p52Shc'nin inhibisyonu ve Lin28A'nın ekspresyonu

Son çalışmalar da İdebenon'un çeşitli moleküler kompleksler için gerekli bir adaptör protein olarak görev yapan p52Shc'nin fonksiyonunu rekabetçi bir şekilde inhibe ettiği rapor edilmiştir (96). IP3-kinaz yolu yoluyla Akt kinazı aşırı aktive ettiği gösterilmiştir. Akt, iyi tanımlanmış bir "hayatta kalma kinazıdır" ve insülin duyarlılığını artırırken, strese, hipoksiye ve ilaca maruz kalmaya karşı genel direnci artıran bir dizi sinyal yolunu kontrol eder. Bu durum hücrel metabolizmanın değiştirilmesi, inflamasyonun azaltılması, lipid metabolizmasının arttırılması ve mitokondriyal fonksiyonun değiştirilmesi gibi idebenon ile gözlemlenen koruyucu etkilerin bir kısmını açıklayabilir (97–99). İdebenon, nöroproteksiyondan sorumlu olduğu gösterilen RNA bağlayıcı protein Lin28A'nın ekspresyonuna yol açmıştır. Lin28A, metabolizmayı, yaşlanmayı, stres tepkisini, hücre hayatta kalmasını temel olarak etkileyen ve aynı zamanda doku onarımını artıran birçok hücrel RNA'nın yüksek oranda korunmuş bir düzenleyicisidir (97,100) .



Şekil 6: İdebenonun çeşitli sitoprotektif mekanizmaları aynı anda nasıl etkileyebileceğine dair mevcut kanıtların şematik temsili (97)

Yapılan bu çalışmada amacımız ratlarda CO intoksikasyon modeli oluşturularak, güçlü antioksidan, nöroprotektif, sitoprotektif etkinliği bilinen ve literatürde yayınlarla desteklenen (15,17,18). İdebenon verildikten sonra beyin dokusunda oksidatif stres parametreleri, apoptotik parametreler, nöronların histopatolojisi ile dejenerasyonunu değerlendirmek ve nöroprotektif etkinliğini göstermektir.

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. 2023/27 protokol numarası ile 02.08.2023 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 araştırmalar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Biyokimyasal değerlendirmeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Araştırmanın Evreni

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

3.3. Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemi

Bu çalışmada, 40 adet olgun 250 ± 25 gr Wistar Albino cinsi dişi ratlar kullanıldı. Grup başına düşen rat sayıları hesaplanırken, istatistiksel güç analizleri yanısıra mortalite oranları da dikkate alındı. Çalışmanın etki büyüklüğünü 2, p değeri %5, çalışmanın gücünü %80 ve her gruba eşit sayıda rat dağılacağı varsayılarak grup başına g-power üzerinden en az 6 rat gerektiği hesaplandı. Karbon monoksit zehirlenmesi için mortalite oranı %20 hesaplanarak çalışmada grup başına dahil edilecek rat sayısı 8 olarak belirlendi. Çalışma gününe kadar 1 hafta boyunca ratlar, $22 \pm 1^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında, 12:12 aydınlık- karanlık döngüsü altında, su ve standart rat yemi verilerek standart kafeslerde tutuldu. Deneyden 1 saat önce ratların kuyruk veninden kan alımını kolaylaştırması amacı ile oda sıcaklığı $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ye getirildi.

Hayvanlar rastgele 5 gruba ayrılarak ve kontrol grubu hariç diğer gruplara 5000 ppm CO, ratlarda bilinç değişikliği olana kadar deney fanusu içerisinde inhale

ettirildi. (Resim 2) Bilinç değişikliği görülünceye kadar ratlara CO verilmeye devam edildi. Bilinç değişikliği sonrası hayvanlardan oda havasında kuyruk venlerinden alınan 0,5 ml kandan kan gazı analiz cihazı ile COHb konsantrasyonu çalışıldı. Bilinci yerinde olmayan ve COHb konsantrasyonu %20 üzerinde olan ratlar, başarılı bir akut CO zehirlenmesi modeli olarak kabul edildi. 3,4 ve 5. gruplara belirlenen dozlarda İdebenon tedavisi ilk doz CO zehirlenmesinden 3 saat sonra başlanarak 5 gün 24 saat ara ile oral olarak 2 ml SF ile verildi.

3.4. Deney Protokolü

Çalışma için 5 grup planlanmıştır:

1)Grup I (Sham grubu-SF, n=8); Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar 15 dakika boyunca oda havasında solutuldu ve fanustan çıkardıktan sonra 2 ml serum fizyolojik (SF) oral olarak 24 saat arayla toplam 5 gün boyunca uygulandı.

2) Grup II (CO grubu+SF, n=8); Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç değişikliği oluncaya kadar (yaklaşık 15 dk) 5000 ppm CO gaz karışımı ile 5lt/dk dan solutuldu. Fanustan çıkarıldıktan sonra CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 0,5 ml kandan ölçüldü ve 2 ml SF oral olarak 24 saat arayla toplam 5 gün boyunca uygulandı. İlk doz CO gazı zehirlenmesinden 3 saat sonra verilerek 5 gün boyunca 24 saat aralıkla tekrarlandı.

3) Grup III (CO + İdebenon 100mg/kg grubu, n=8); Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç değişikliği oluncaya kadar (yaklaşık 15 dk) 5000 ppm CO gaz karışımı ile 5lt/dk dan solutuldu. Fanustan çıkarıldıktan sonra CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 0,5 ml kandan ölçüldü ve idebenon 100 mg/kg dozunda oral olarak 24 saat ara ile günde 1 defa 2 ml SF içinde, 5 gün boyunca uygulandı. İlk doz CO gazı zehirlenmesinden 3 saat sonra verilerek 5 gün boyunca 24 saat aralıkla tekrarlandı.

4) Grup IV (CO + İdebenon 200mg/kg grubu, n=8); Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç değişikliği oluncaya kadar (yaklaşık 15 dk) 5000 ppm CO gaz karışımı ile 5lt/dk dan solutuldu. Fanustan çıkarıldıktan sonra CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 0,5 ml kandan ölçüldü ve idebenon 200 mg/kg

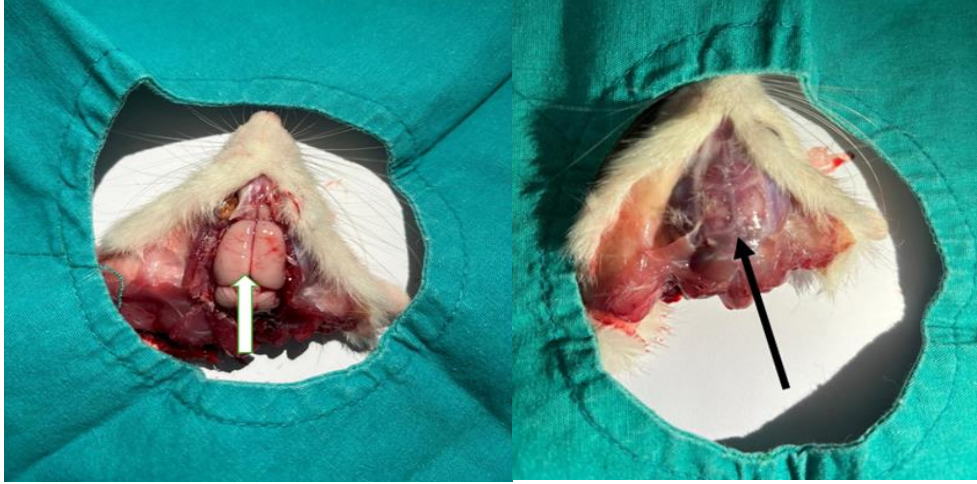
dozunda oral olarak 24 saat ara ile günde 1 defa 2 ml SF içinde, 5 gün boyunca uygulandı. İlk doz CO gazı zehirlenmesinden 3 saat sonra verilerek 5 gün boyunca 24 saat aralıkla tekrarlandı.

5) Grup V (CO + İdebenon 300mg/kg grubu, n=8); Deney fanusu içerisine yerleştirilen ratlar bilinç değişikliği oluncaya kadar (yaklaşık 15 dk) 5000 ppm CO gaz karışımı ile 5lt/dk dan solutuldu. Fanustan çıkarıldıktan sonra CO düzeyleri kuyruk veninden alınan 0,5 ml kandan ölçüldü ve idebenon 300 mg/kg dozunda oral olarak 24 saat ara ile günde 1 defa 2 ml SF içinde, 5 gün boyunca uygulandı. İlk doz CO gazı zehirlenmesinden 3 saat sonra verilerek 5 gün boyunca 24 saat aralıkla tekrarlandı.

Deney protokolünün başlangıcından 120 saat sonra ratlara anestezi (Xylazine 5mg/kg, ketamin 50 mg/kg) uygulandıktan sonra dekapitasyon yöntemi ile ötenazi uygulanarak ratlardan serum oksidatif hasar ve antioksidan aktivite düzeylerini değerlendirmek üzere kan alındı ve beyin dokusu kraniotomi yapılarak çıkarıldı. (Resim 3,4). Hipokampus için histopatolojik ve biyokimyasal inceleme yapıldı.



Resim 2: Deney Fanusu



Resim 3-4: Beyin (ok)

3.5. Dokuların Histopatolojik Analizi:

Beyin Hipokampus Histopatolojik Analizi:

Parafine gömülü beyin dokuları histopatolojik değerlendirme için döner kollu mikrotomla (Leica RM2255, Nussloch, Germany) 5 µm lik kesitler alınarak H&E boyası ile boyandı. Değerlendirme, KTÜ Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda DP 71 (Olympus, Tokyo, Japan) kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskobunda (Olympus, BX51, Japan) yapıldı. Elde edilen kesitlerden fotoğrafların çekilmesi için aynı düzenek kullanıldı. Fotoğraflar dijital ortama aktarıldı. Hazırlanan preparatlar, 60 °C'lik etüvde 1 saat bekletildikten sonra aşağıdaki protokol uygulandı.

Hematoksilen eozin boyama protokolü.

İşlem sırası	Kimyasal / solüsyon / boya / işlem	Bekleme Süresi
1-	Ksilen.....	2 x 5 dk
2-	% 100'lük alkol.....	5 dk
3-	% 96'lık alkol.....	5 dk
4-	% 70'lik alkol.....	5 dk
5-	Distile su.....	2-3 dk
6-	Hematoksilen.....	2.30 dk
7-	Musluk suyu.....	5 dk
8-	Asit alkol	1 kez batırılıp çıkarılır
9-	Distile su.....	1 dk
10-	Amonyaklı su.....	10 sn
11-	Distile su.....	1 dk
12-	Eozin	1.45 dk
13-	Distile su.....	1 dk
14-	% 70'lik alkol.....	5 dk
15-	% 96'lık alkol.....	5 dk
16-	% 100'lük alkol.....	5dk
17-	Ksilen	2 x 5 dk
18-	Entellan ile kapatıldı	

Histopatolojik Değerlendirme

Alınan doku parçaları %'10 'luk nötral formalin ile 48 saat tespit edilerek histopatolojik inceleme için dereceleri gittikçe artan alkol serilerinde dehidrate edildi ve Xylen'de şeffaflaştırılarak parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler alınarak detaylı değerlendirilme için Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Ölçümler ve diğer incelemeler KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Stereoloji Laboratuvarında bulunan dijital fotoğraf makinesi (Olympus, DP71, Japan) ataçmanlı ışık mikroskopunda (Olympus BX 51, Japan), DP Controller (Olympus Micro DP71/DP70/DP30BW Ver. 03.03) programı kullanılarak yapıldı ve çekilen fotoğraflar dijital ortama aktarıldı.

Beyin hipokampus dokusunun değerlendirmesinde nöronal değişiklikler histolojik olarak skorlandı (101). Buna göre;

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

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

Beyin Hipokampus Apoptotik Analizi:

Apoptozis değ erlendirmesi deoksiribonükleik asit (DNA) fragmantasyonu göz önüne alınarak gerçekleştirildi. Bu bağlamda, nükleusu kahve rengi boyanan hücreler TUNEL pozitif (+) olarak kabul edildi (102) Apoptotik indeks (AI) için her deney hayvanından elde edilen kesitlerde 5 ayrı bölgede apoptotik ve normal hücreler sayılarak AI hesaplandı (103)

$$\text{AI} = \text{TUNEL (+) hücre sayısı} / \text{toplam hücre sayısı} \times 100$$

34

TUNEL boyama protokolü

	Kimyasal / solüsyon / boya / işlem	Bekleme süresi
1-	Ksilen.....	3×5 dk
2-	%100 etanol.....	5 dk
3-	%95 etanol.....	5 dk
4-	%70 etanol.....	5 dk
5-	Distile su ile yıkanır	
6-	%3'lük H ₂ O ₂ 'de bekletilir.....	15 dk
7-	Distile su ile yıkanır	
8-	PBS (fosfat tampon solüsyonu)'de yıkanır.....	2×15dk
9-	Oda ısısında Large Volume UV (Ultra -V) blok solüsyonda 75 µg Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) ve 50	10 dk
10-	µl TdT/dUTP karışımı ile dokuların üzeri kaplanır ve 37°C'lik etüvde 1,5 saat nemli ortamda tutulur.	
11-	PBS'de yıkanır.....	2×5 dk
12-	100 µ Converter peroksidaz dokuyu kapatacak şekilde damlatılır ve 37°C'lik etüvde bekletilir.	30 dk
13-	PBS'de yıkanır.....	2×5 dk
14-	100µl DAB ile karanlıkta oda ısısında bekletilir.....	3-5 dk
15-	Distile su ile yıkanır	
16-	HE ile 15 sn boyanır ve çeşme suyu ile yıkanır	
17-	% 70'lik etanol.....	2×5 dk
18-	% 95'lik etanol.....	2×5 dk
19-	% 100'lük etanol.....	2×5 dk
20-	Ksilen.....	2×5 dk
21-	Kurutulup üzerine Entellan damlatılarak lamelle kapatılır	

3.6. Dokuların Biyokimyasal Analizi

Rat Serum ve Beyin Hipokampus Dokusu Biyokimyasal Analizi:

Rat Nöron Spesifik Enolaz (NSE) Düzeylerinin Belirlenmesi

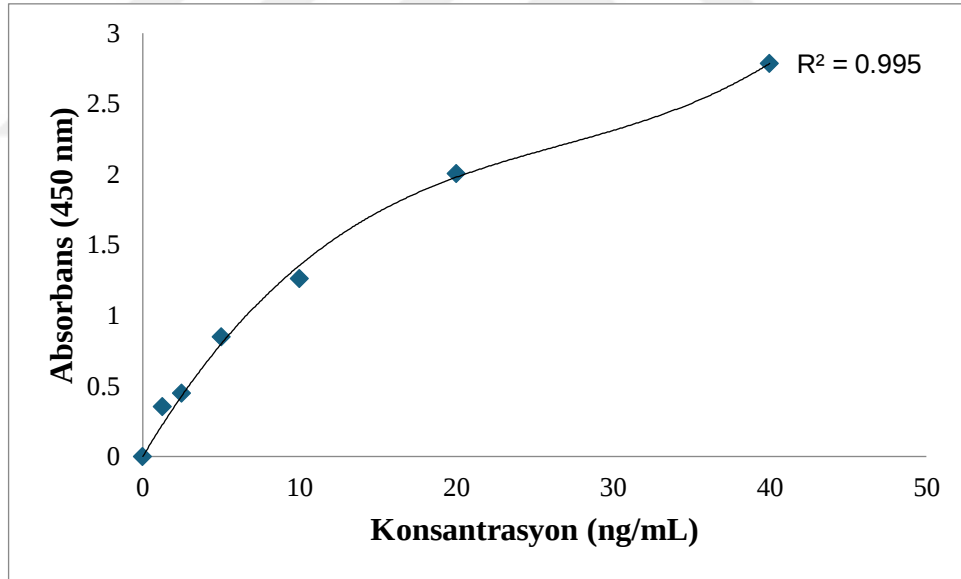
Rat serum ve doku örneklerinde NSE seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kiti (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E0541Ra, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi.

Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- -80 °C'deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- Dokular tartılarak pH:7.4 fosfat tampon salin (PBS) çözeltisi ile homojenize edildi.
- Homojenizasyon için 9500 rpm (4x10s, 4°C)' de Ultra-Turrax homejenizatör (model T25, Jane and Kunkel, Germany) kullanıldı.
- NSE standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 40 µL serum ve doku örnekleri ilave edildi ve sadece numune kuyucuklarına 10 µL anti-NSE antikor eklendi.
- Daha sonra kör (blank) kuyucuğu hariç her bir kuyucuğua 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, önce içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı.

Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Renklendirme için her bir kuyucuğa önce 50 µL Substrat çözeltisi A eklendi. Ardından bütün kuyucuklara 50 µL Substrat çözeltisi B ilave edildi. 37°C’de karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları BIO-RAD (iMark, Japan) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- Serum örneklerinin sonuçları ng/mL ve doku örneklerinin sonuçları ng NSE/mg protein olarak verildi.
- Bu çalışmanın % CV değeri %4.93 olarak bulundu.



Şekil 7. NSE Standart Grafiği

Serum Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

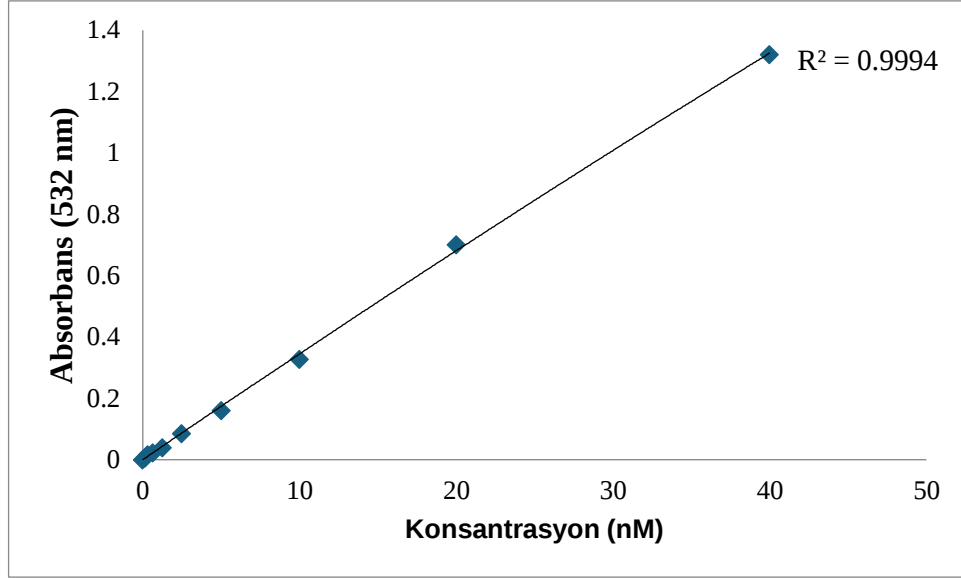
Serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 C°’ de saklandı. Serum örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi (1984) tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) methodu kullanılarak tayin edildi (104). Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki

reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle fosfotungistik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

Deneyin yapılışı :

1. Bir deney tüpüne 150 µL serum, 1.2 mL H₂SO₄ ve 150 mL fosfotungistik asit eklendi, iyice karıştırıldı.
2. Karışım 1800 g' de 10 dk. santrifüj edildi ve üst faz atıldı.
3. Geriye kalan çökelek üzerine 2 mL saf su eklendi ve yeniden çözününceye kadar karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı.
4. 1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropen 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden çalışma standartları hazırlandı.
5. Standartlar da dahil her bir tüpe 500 µL TBA eklendi ve 1 saat 100 °C' de inkübe edildi.
6. İnkübasyonun ardından tüpler 1800 g' de 10 dk. santrifüjlendi.
7. Üstteki berrak kısım alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

Standart konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbans değerleri kullanılarak standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak serum MDA miktarı nM olarak belirlendi.



Şekil 8. Serum MDA Standart Grafiği

Ratlarda doku Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

Rat dokularında MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama tarafından geliştirilen metod ile tayin edildi (105)

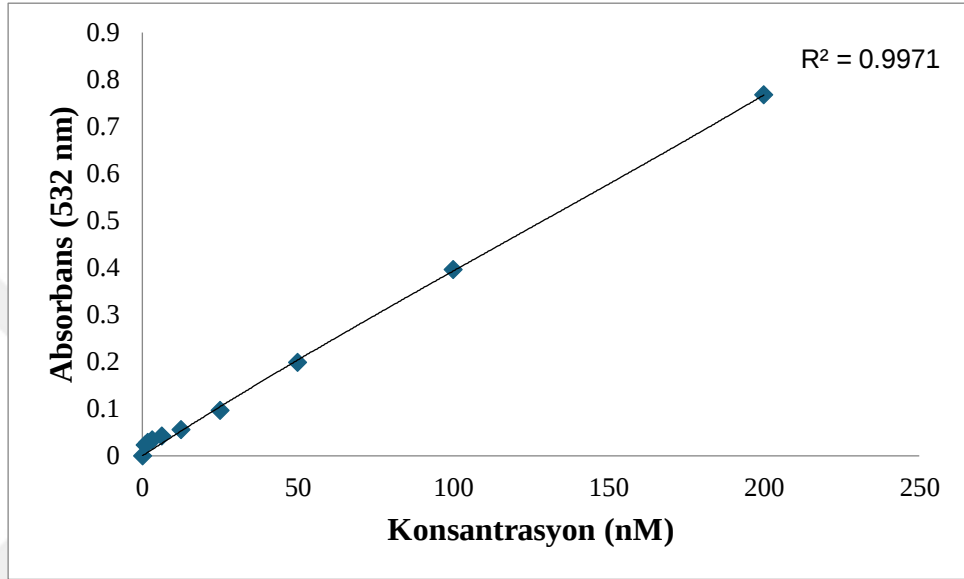
Örneklerin Hazırlanışı :

Dokular tartılarak 0,5mL/L triton-X 100 içeren %1,15 KCl çözeltisi ile homojenize edildi (% 10 ağırlık/hacim). Homojenizasyon için 9500 rpm (4x10s, 4°C)' de Ultra-Turrax homejenizatör (model T25, Jane and Kunkel, Germany) kullanıldı.

Deneyin Yapılışı :

1. 500 µL homojenata 3 mL % 1' lik H₃PO₄ eklenerek karıştırıldı.
2. Karışıma 1 mL % 0,672 lik tiyobarbitürik asit (TBA) eklendikten sonra 45 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.
3. Oda sıcaklığında 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.
4. Organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C’ de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 50, 25,10, 5, 2.5,1,25, 0.625, 0.312, 0156 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak doku MDA miktarı nmol MDA/mL olarak hesaplandı. Sonuçlar, nmol MDA /g ıslak doku olarak verildi.



Şekil 9. Doku MDA Standart Grafiği

Toplam Oksidan Seviye Tayini (TOS)

Serum ve doku örneklerinde TOS düzeyleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü (Rel Assay, Cat No:RL0024, Gaziantep Türkiye). Kolorimetrik ölçüm prensibine dayalı bu yöntemde; örnekteki oksidanlar Fe^{2+} iyon-o-dianisidin kompleksini Fe^{3+} iyonuna kümülatif olarak oksitler. Fe^{3+} iyonları da asidik ortamda “Ksilenol Turuncusu” ile renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülür ve örnekte bulunan oksidan miktarıyla orantılı olarak artar. Standart konsantrasyonu 10 μ mol H_2O_2 eşdeğeri/L’dir.

Deneyin yapılışı:

TOS ölçümleri Tablo 5’e uygun olarak gerçekleştirildi.

Tablo 5. TOS deney prosedürü

Reaktifler	Örnek (µL)	Standart (µL)
Standart	-	45
Numune	45	-
Reaktif I (Tampon Çözeltisi, 25 mM, pH 1.75 H ₂ SO ₄)	300	300
30 s sonra 530 nm’de ilk absorbans (A1) okuma		
Reaktif II (Substrat Çözeltisi, 25 mM, pH 1.75 H ₂ SO ₄ , 5 mM Fe ²⁺ iyonu, 10 mM o-dianizidin)	15	15
Oda sıcaklığında 10 dk bekleme ve 530 nm’de ikinci absorbans (A2) okuma		

Hesaplama:

Her bir örnek ve standart için elde edilen A2 absorbansından A1 absorbansı çıkarılarak absorbans değişimi hesaplandı ($\Delta A = A2 - A1$).

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta A \text{ Örnek})}{(\Delta A \text{ Standart})} \times \text{Standart Konsantrasyonu } (\mu\text{mol/L})$$

Serum örneklerinin sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eşdeğeri /L ve doku örneklerinin sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eşdeğeri /g protein olarak verildi.

Toplam Antioksidan Seviyenin Tayini (TAS)

Serum ve doku örneklerinde TAS tayini kolorimetrik ticari kitler kullanılarak yapıldı (Rel Assay, Cat No: RL0017, Gaziantep Türkiye). Bu ölçüm metodunun prensibi, örnekteki antioksidanların koyu mavi yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna dönüştürmesi esasına dayanır. Örneğin total antioksidan seviyesi, 660 nm’deki ölçülen renk şiddeti ile ters orantılıdır. Bu metodun standart çözeltisi troloks eşdeğeri (Vitamin E analog) ile hazırlanır. Standart konsantrasyonu 1.0 mmol eşdeğeri/L’dir.

Deneyin yapılışı:

TAS ölçümleri Tablo 6’da verilen deney prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Tablo 6. TAS deney prosedürü

Reaktifler	Örnek (µL)	Standart (µL)	H ₂ O (µL)
Deiyonize su	-	-	15
Standart	-	15	-
Numune	15	-	-
Reaktif I (Tampon Çözeltisi, 0.4 mol/L pH 5.8 Asetat Tamponu)	300	300	300
30 s sonra 660 nm’de ilk absorbands (A1) okuma			
Reaktif II (Prokromojen Çözeltisi, 0.4 mol/L pH 3.6 Asetat Tamponu, 30 mmol/L ABTS)	45	45	45
Oda sıcaklığında 10 dk bekleme ve 660 nm’de ikinci absorbands (A2) okuma			

Hesaplama:

Her bir örnekte, standart ve su için tespit edilen absorbandsların (A2 ve A1) farkı alınarak absorbands değişimi hesaplandı ($\Delta A = A2 - A1$).

$$TAS = \frac{(\Delta A_{H_2O}) - (\Delta A_{Örnek})}{(\Delta A_{H_2O}) - (\Delta A_{Standart})}$$

Serum örneklerinin sonuçları mmol troloks eşdeğeri/L ve doku örneklerinin sonuçları mmol troloks eşdeğeri /g protein olarak verildi.

Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Hesaplanması

TOS/TAS oranı alınarak OSI değeri hesaplandı. Hesaplama sırasında, TAS değerlerinin birimi, mmol Troloks eşdeğeri /L cinsinden µmol Troloks eşdeğeri/L cinsine dönüştürüldü ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{OSI} = [(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}) / (\text{TAS}, \mu\text{mol troloks eşdeğeri /L}) \times 100]$$

Beyin Dokusunda Protein Tayini

Beyin dokusu homojenatlarında NSE, MDA, TAS ve TOS seviyelerini standardize etmek için bulunan değerler doku protein seviyelerine bölünerek değerlendirildi. Protein tayini Bradford metoduna (106) göre yapıldı. Bu metodun prensibi, organik bir boya olan Coomassie Brilliant Blue G250'nin fosforik asitli ortamda proteinlere bağlanması ve oluşan mavi renkli kompleksin 600 nm'de maksimum absorbanı göstermesi esasına dayanmaktadır (106) Protein konsantrasyonları mg/mL olarak hesaplandı.

3.7. Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS for mac versiyon 26 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (*histogram ve olasılık grafikleri*) ve analitik yöntemlerle (*Kolmogorov- Smirnov/ Shapiro-Wilk testleri*) incelenmiştir. Tanımlayıcı analizler normal dağılan değişkenler için ortalama ve standart sapmalar kullanılarak verilmiştir. Normal dağılım gösteren numerik veriler bağımsız gruplar *Anova (post hoc bonferoni)*, Normal dağılım göstermeyen veriler için *Kruskall Wallis Testi (post hoc Mann Whitney U Testi)* yapılmıştır. Çalışmadaki istatistiksel analizlerde $p < 0.05$ 'in altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

CO intoksikasyon deney modeli oluşturularak yapılan deney sonucunda tüm gruplara ait ratların beyin hipokampus dokuları histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelendi. Ratlardan alınan kan ve hipokampus dokusunda TAS, TOS, MDA, NSE seviyeleri için inceleme yapıldı.

Çalışmada toplamda 40 rat kullanıldı fakat her gruptan birer ratın COHb düzeyi yetersiz numune olması nedeniyle çalışılmadığı için COHb düzeyi saptanamayan ratlar deneyden çıkarıldı. Her grup 7 rat olacak şekilde deneye devam edildi. Grupların detaylı özellikleri Tablo 7’de sunuldu.

Tablo 7. Grupların Dağılımı

Grup No	Özellik	n	%
Grup 1	Kontrol	7	20
Grup 2	CO Zehirlenmesi + SF	7	20
Grup 3	CO Zehirlenmesi + 100mg/kg idebenon	7	20
Grup 4	CO Zehirlenmesi + 200mg/kg idebenon	7	20
Grup 5	CO Zehirlenmesi + 300mg/kg idebenon	7	20
Total		35	100

Gruplara ait COHb düzeylerinin değerlendirmesinde; Ratların COHb düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 8’de sunuldu.

Tablo 8. Grupların COHb Yönünden Kıyaslanması

		N	Ort	SS	Medyan	p
COHB %	Grup 2	7	42,09	7,82	37,20	0,211
	Grup 3	7	43,87	6,77	41,70	
	Grup 4	7	47,24	5,58	45,70	
	Grup 5	7	47,04	6,03	44,80	

Kruskall Wallis Testi

Buna göre CO gazına maruz bırakılan grupların COHb düzeyleri kendi aralarında benzerdi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,211).

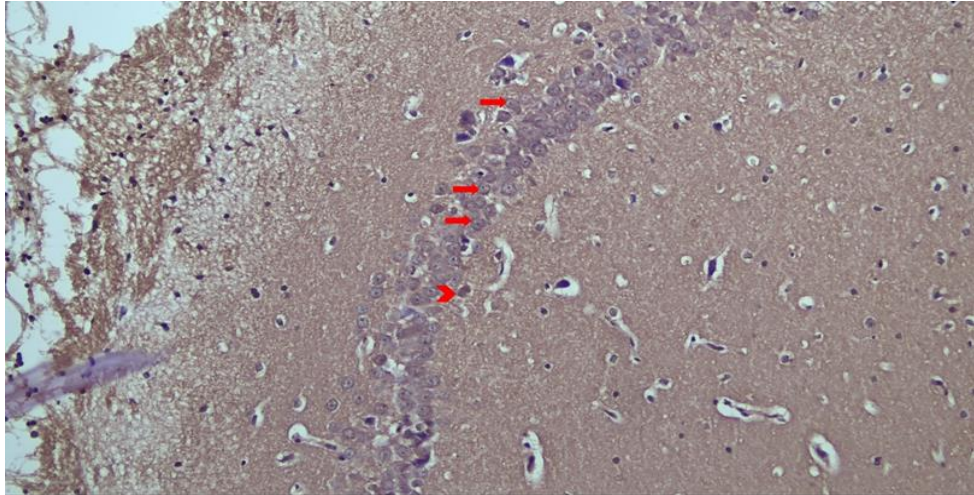
Gruplara ait hipokampus dokularının apoptoz indeks değerlendirmesinde;

Grupların hipokampus apoptoz indeksi yönünden kıyaslanması Tablo 9’da sunuldu. Apoptoz indeksi yönünden gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analizi; İdebenon verilmeyen Grup 2’nin en yüksek apoptoz indeksi konsantrasyona sahip olduğunu, ardından Grup 3’ün geldiğini ve Grup 1’in en düşük seviyede olduğunu göstermektedir. İdebenon verilen gruplar arasında Grup 5’in apoptoz indeks yönünden en düşük seviyede olduğu saptandı. Gruplar arasında anlamlı ilişki Tablo 9’da detaylı şekilde sunuldu. Her parametre için 'Post hoc' sütunu, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları özetler ve hangi grupların diğerlerinden önemli ölçüde farklı olduğunu göstermektedir.

Tablo 9. Grupların Apoptoz İndeksi Yönünden Kıyaslanması

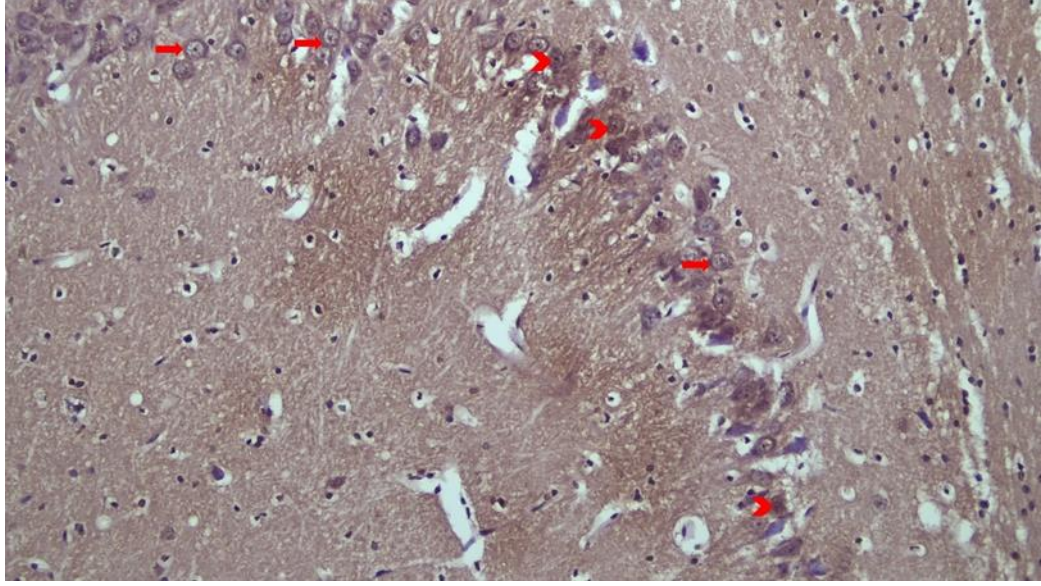
		N	Ort	SS	Medyan	p	Post hoc
Apop %	Grup 1	7	0,11	0,02	0,11	0,001	G2>G3>G4>G5>G1
	Grup 2	7	0,38	0,09	0,34		
	Grup 3	7	0,30	0,05	0,30		
	Grup 4	7	0,25	0,02	0,25		
	Grup 5	7	0,20	0,03	0,20		

Kruskall Wallis Test



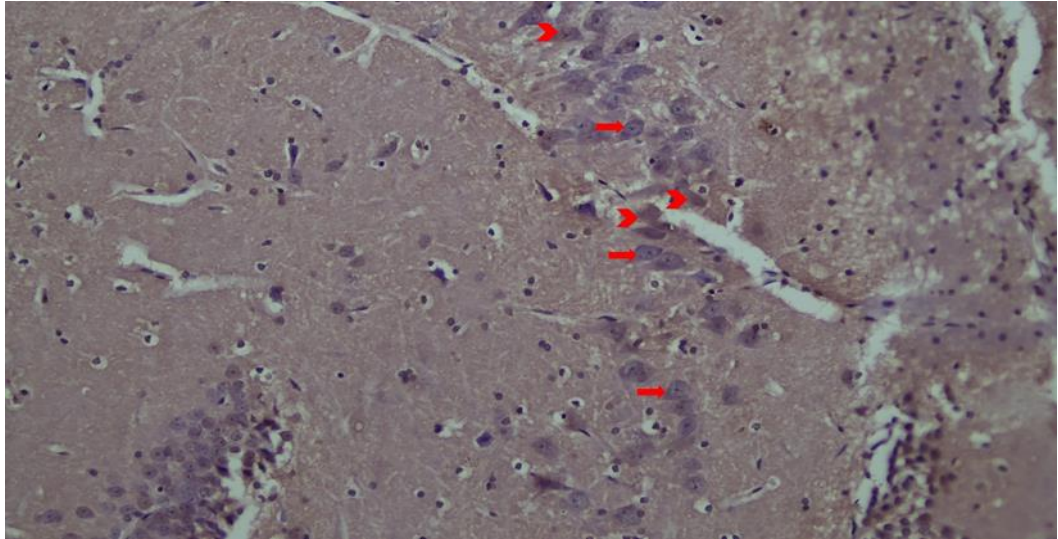
Resim 5: Grup 1 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), apoptotik piramidal nöron(Ok başı)

Grup 1'de çoğunlukla normal bir beyin hipokampus ve piramidal nöron histolojik yapısı gözlemlendi (Resim 5).



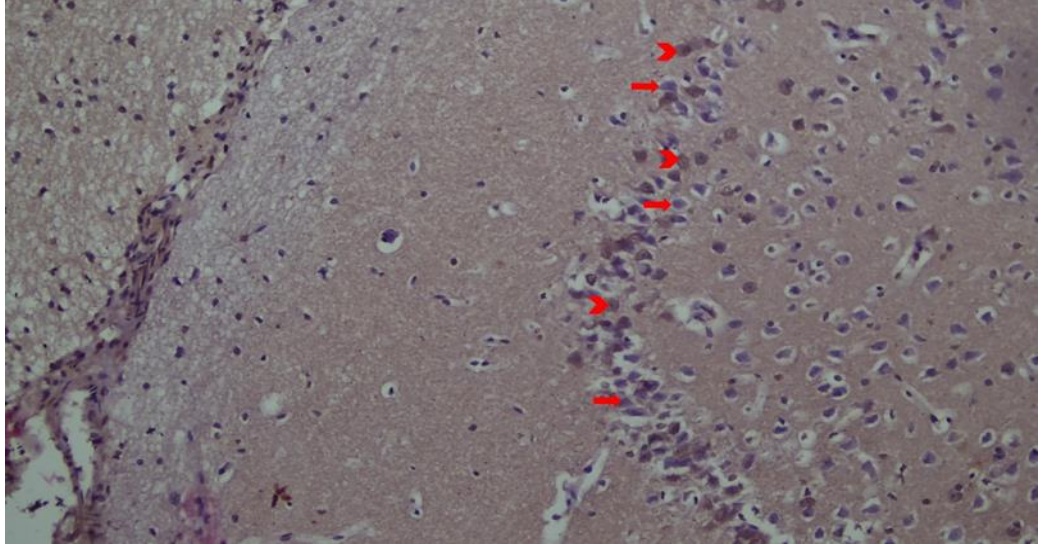
Resim 6: Grup 2 beyin hipokampusüne ait fotomikrograf. (TUNEL) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), apoptotik piramidal nöron (Ok başı)

Grup 2'de çoğunlukla kromatini yoğunlaşmış piknotik çekirdekli dejeneratif apoptotik piramidal nöronlar izlendi (Resim 6).

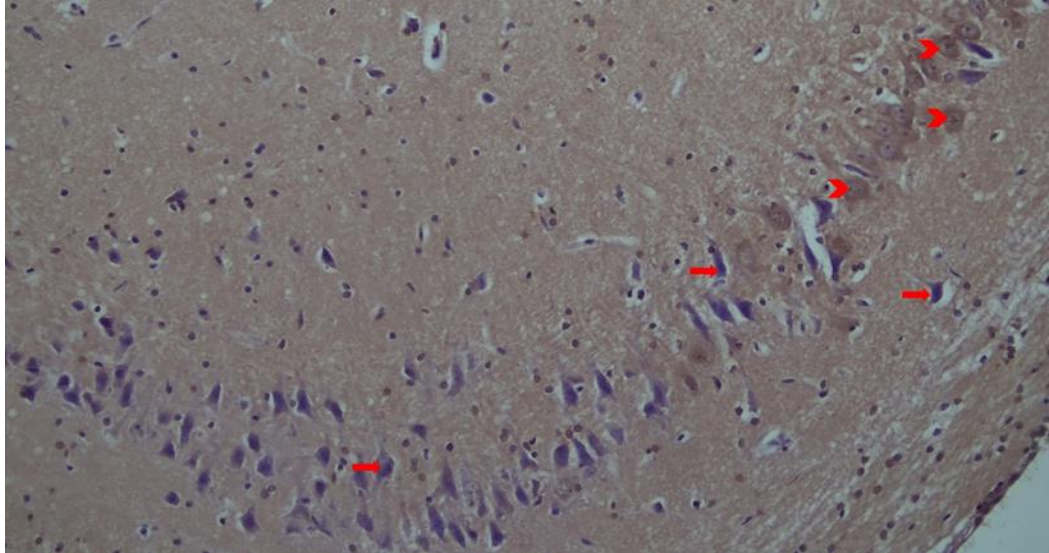


Resim 7: Grup 3 beyin hipokampusüne ait fotomikrograf. (TUNEL) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), apoptotik piramidal nöron (Ok başı)

Grup 3'te apoptotik nöronlar grup 2'e göre daha az miktarda izlendi (Resim 7)



Resim 8: Grup 4 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), apoptotik piramidal nöron (Ok başı)



Resim 9: Grup 5 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (TUNEL) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), apoptotik piramidal nöron (Ok başı)

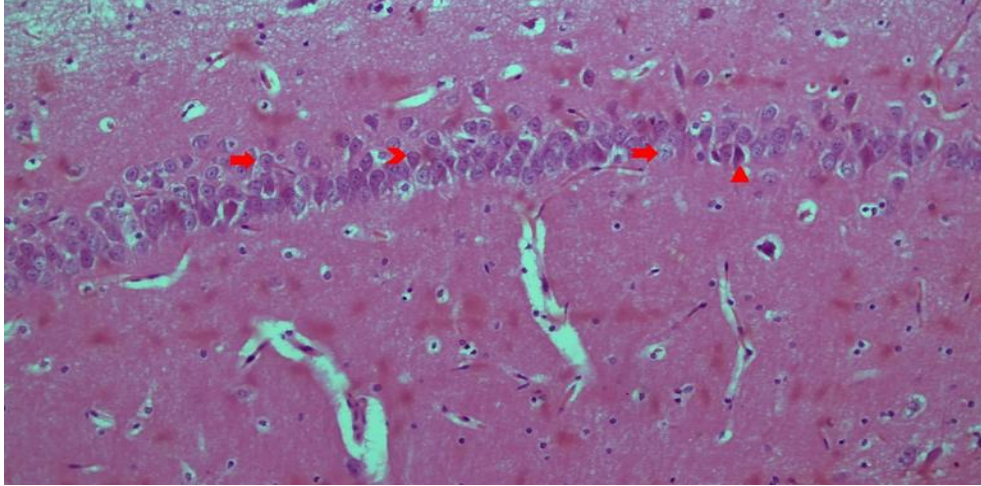
Grup 5'te normal piramidal nöron histolojik yapısı yanında dejeneratif apoptotik nöron sayısı azalmış olarak izlendi (Resim 9).

Gruplara ait beyin hipokampus dokularının ışıklı mikroskopik değerlendirmesinde;

Beyin dokusunun H/E ile yapılan boyamasında, hücre gövdesinde büzüşme, sitoplazmada nissl kaybı ve eozinofili, koyu renkli, küçülmüş nükleuslu hücreler dejeneratif nöronlar olarak değerlendirildi. Resim 10-11-12-13-14'te normal ve

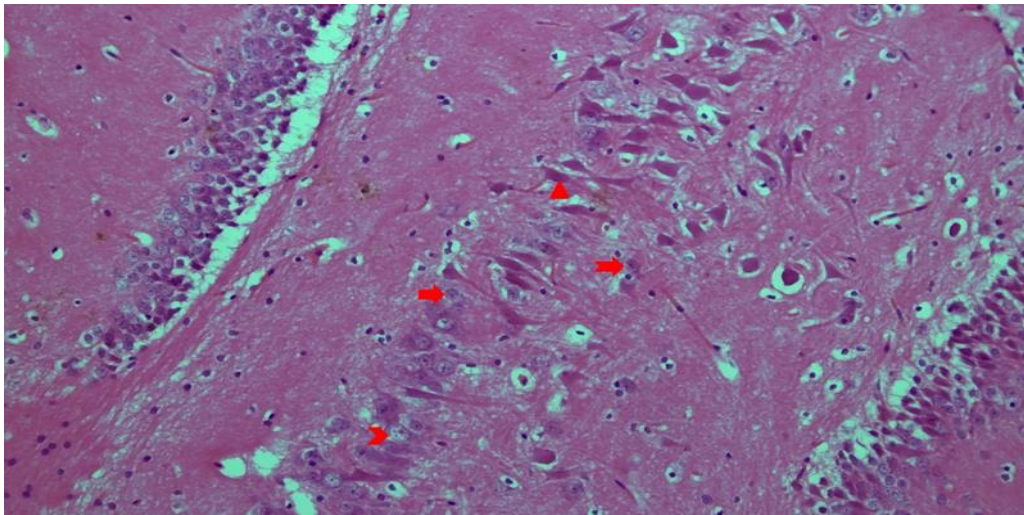
dejeneratif nöronlar histopatolojik olarak gösterilmektedir. Buna göre beyin dokusunun hipokampusünün değerlendirmesinde;

Grup 1'de çoğunlukla normal bir beyin hipokampus ve piramidal nöron histolojik yapısı gözlemlendi (Resim 10).



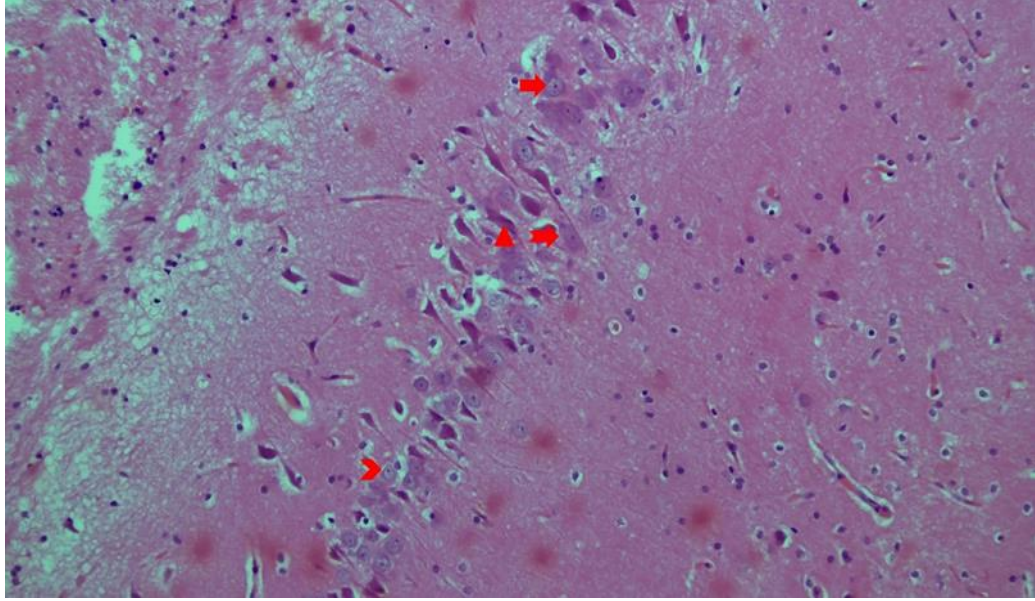
Resim 10: Grup 1 beyin hipokampusüne ait fotomikrograf. (H/E) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), grade 1 piramidal nöron (Çentikli Ok), Grade 2 piramidal nöron (Ok başı), grade 3 nöron (Üçgen)

Grup 2'te normal piramidal nöronların yanında yaygın olarak tüm katmanlarda eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik çekirdekli dejeneratif piramidal nöronlar izlendi (Resim 11).

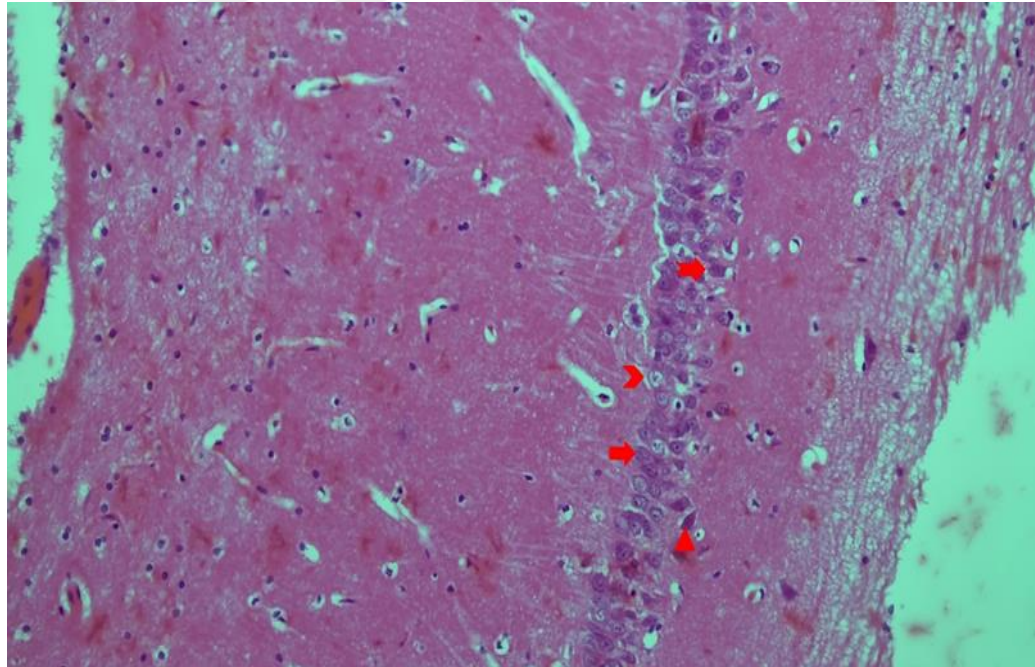


Resim 11: Grup 2 beyin hipokampusüne ait fotomikrograf. (H/E) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), grade 1 piramidal nöron (Çentikli Ok), Grade 2 piramidal nöron (Ok başı), grade 3 nöron (Üçgen)

Grup 3'te dejeneratif nöronlar grup 2'ye göre daha az miktarda izlendi (Resim 12).

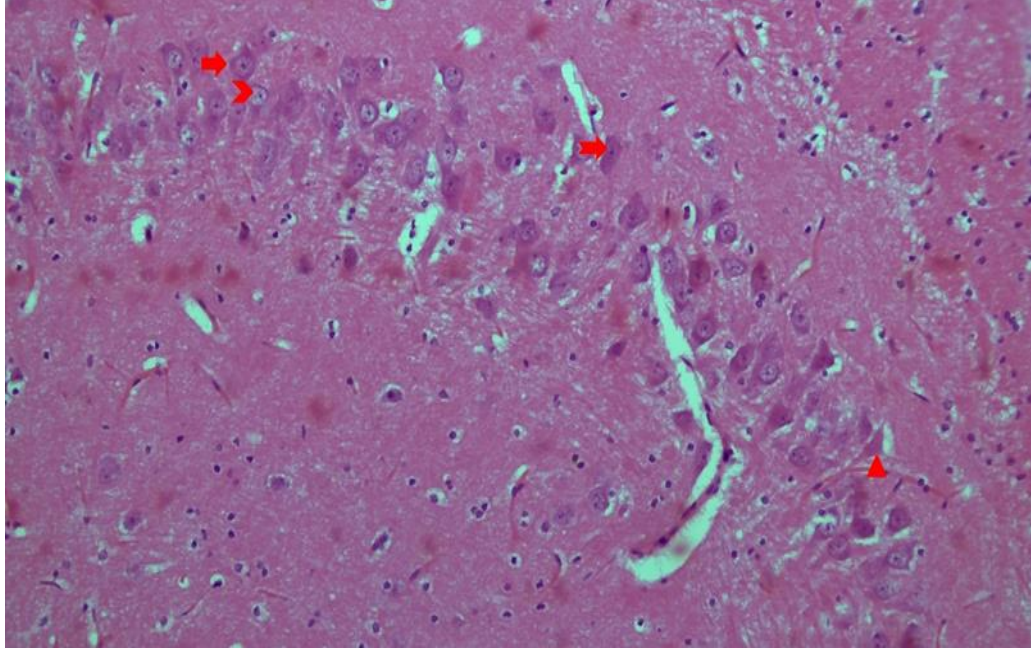


Resim 12: Grup 3 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), grade 1 piramidal nöron (Çentikli Ok), Grade 2 piramidal nöron (Ok başı), grade 3 nöron (Üçgen)



Resim 13: Grup 4 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), grade 1 piramidal nöron (Çentikli Ok), Grade 2 piramidal nöron (Ok başı), grade 3 nöron (Üçgen)

Grup 5'te normal piramidal nöron histolojik yapısı yanında eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik çekirdekli dejeneratif piramidal nöron sayısı azalmış olarak izlendi (Resim 14).



Resim 14: Grup 5 beyin hipokampüse ait fotomikrograf. (H/E) Normal yapıda piramidal nöron (Ok), grade 1 piramidal nöron (Çentikli Ok), Grade 2 piramidal nöron (Ok başı), grade 3 nöron (Üçgen)

Gruplara ait beyin hipokampus dokularının dejenerasyon grade yönünden değerlendirmesinde;

Grupların Hipokampus grade yönünden kıyaslanması Tablo 10'da sunuldu. Her parametre için 'Post hoc' sütunu, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları özetler ve hangi grupların diğerlerinden önemli ölçüde farklı olduğunu göstermektedir.

Tablo 10. Grupların Hipokampus Grade Yönünden Kıyaslanması

		N	Ort	SS	Medyan	p	Post hoc
Normal	Grup 1	7	77,71	2,22	78,00	0,001	G1>G4>G3>G2
	Grup 2	7	43,14	4,38	45,00		G5>G3>G2
	Grup 3	7	55,00	4,80	57,00		
	Grup 4	7	63,43	1,90	63,00		
	Grup 5	7	67,00	2,16	67,00		
Grade 1	Grup 1	7	13,29	1,80	14,00	0,001	G2-G3>G1
	Grup 2	7	21,14	3,72	21,00		G2-G3>G4-G5
	Grup 3	7	21,00	2,89	22,00		
	Grup 4	7	14,43	0,98	14,00		
	Grup 5	7	13,86	1,68	14,00		
Grade 2	Grup 1	7	5,29	1,11	5,00	0,001	G2>G5>G1
	Grup 2	7	14,86	2,12	15,00		G2>G3
	Grup 3	7	10,57	2,51	11,00		G3>G1
	Grup 4	7	12,00	1,29	12,00		G4>G1
	Grup 5	7	11,14	1,07	11,00		
Grade 3	Grup 1	7	3,71	0,95	4,00	0,001	G2>G3>G5>G1
	Grup 2	7	20,86	3,02	22,00		G2>G4>G1
	Grup 3	7	13,43	2,82	13,00		
	Grup 4	7	10,14	1,95	10,00		
	Grup 5	7	8,00	0,82	8,00		

One Way Anova Testi

Normal Grade derecelendirmesi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,001$). Yapılan post hoc analizde Grup 1'in en yüksek ve Grup 2'nin en düşük değerlere sahip olduğu tespit edildi. Grup 1 ile Grup 5 arasında normal hücre yönünden anlamlı farklılık saptanmadı ancak diğer gruplar arasında anlamlı ilişki Tablo 10'da detaylı şekilde sunuldu.

Grade 1 derecelendirmesi yönünden yapılan post hoc analizde Grup 3'in en yüksek değerlere sahip olduğu tespit edildi. Grup 2 ile Grup 3 arasında ve Grup 4 ile Grup 5 arasında anlamlı ilişki saptanmadı ancak diğer gruplar arasında anlamlı ilişki Tablo 10'da detaylı şekilde sunuldu.

Grade 2 ve Grade 3 derecelendirmesi yönünden İdebenon verilen ve verilmeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,001$).

Yapılan post hoc analizde Grup 2'in en yüksek ve Grup 1'nin en düşük değerlere sahip olduğu tespit edildi. Grade 3 hücre sayısı Grup 2'de en yüksek olup İdebenon verilen gruplar arasında Grup 5'te Grup 3'ten anlamlı olarak düşük saptandı. Gruplar arasında anlamlı ilişki Tablo 10'da detaylı şekilde sunuldu.

Gruplara ait hipokampus dokularından biyokimyasal doku protein değerlendirilmesinde;

Grupların doku örneklerinin biyokimyasal parametreler yönünden kıyaslanması Tablo 11'de sunuldu. Her parametre için 'Post hoc' sütunu, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları özetler ve hangi grupların diğerlerinden önemli ölçüde farklı olduğunu göstermektedir.

NSE (mg protein) yönünden İdebenon verilen ve verilmeyen gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 2'nin en yüksek konsantrasyona sahip olduğunu, ardından Grup 3'ün geldiğini, Grup 4 ve Grup 5'in benzer düzeyde olduğunu ve Grup 1'in en düşük seviyede olduğunu göstermektedir.

TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq./g protein}$) yönünden İdebenon verilen ve verilmeyen gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 2'nin en yüksek seviyede olduğunu, ardından Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in geldiğini ve Grup 1'in en düşük seviyede olduğunu göstermektedir.

TAS (mmol trolox eqL/g protein) yönünden İdebenon verilen ve verilmeyen gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 1'in en yüksek seviyesine sahip olduğunu Grup 5 ile anlamlı fark olmadığını, diğer grupların ise daha düşük seviyelerde olduğunu göstermektedir. Yüksek doz İdebenon verilen Grup 5'in Grup 2 ve Grup 3'ten daha yüksek olduğu saptandı.

OSI yönünden gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 2'nin en yüksek değere sahip olduğu, ardından Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in geldiği ve Grup 1'in en düşük değere sahip olduğu gözlemlendi.

MDA (nmol /gram ıslak doku) yönünden gruplar arasında anlamlı fark saptandı (p = 0.001). Yapılan post hoc analiz Grup 2'nin en yüksek, Grup 3'ün orta, Grup 4 ve Grup 5'in benzer ve Grup 1'in en düşük seviyede olduğu belirtildi.

Tablo 11. Grupların Doku Örneklerinin Biyokimyasal Parametreler Yönünden Kıyaslanması

		N	Ort	SS	Medyan	p	Post hoc
NSE (mg protein)	Grup 1	7	0,49	0,11	0,53	0,001*	G2>G3>G4-G5>G1
	Grup 2	7	6,03	1,10	6,02		
	Grup 3	7	2,47	0,61	2,41		
	Grup 4	7	1,46	0,46	1,72		
	Grup 5	7	1,54	0,42	1,42		
TOS μ mol H2O2 Eq./g protein	Grup 1	7	0,32	0,08	0,30	0,001*	G2>G3-G4-G5>G1
	Grup 2	7	1,83	0,39	1,84		
	Grup 3	7	0,76	0,29	0,72		
	Grup 4	7	0,69	0,28	0,59		
	Grup 5	7	0,57	0,17	0,59		
TAS μ mol trolox eqL/g protein	Grup 1	7	0,26	0,06	0,25	0,001*	G1-G5>G2-G3
	Grup 2	7	0,12	0,02	0,12		
	Grup 3	7	0,15	0,06	0,15		
	Grup 4	7	0,20	0,05	0,20		
	Grup 5	7	0,24	0,04	0,25		
D-OSI	Grup 1	7	0,12	0,02	0,12	0,001*	G2>G3>G4-G5>G1
	Grup 2	7	1,48	0,30	1,50		
	Grup 3	7	0,50	0,05	0,51		
	Grup 4	7	0,35	0,11	0,40		
	Grup 5	7	0,27	0,03	0,27		
D-MDA nmol /gram ıslak doku	Grup 1	7	385	51,45	400	0,001*	G2>G3>G4-G5>G1
	Grup 2	7	1402	219	1402		
	Grup 3	7	817	124	838		
	Grup 4	7	621	156	641		
	Grup 5	7	600	119	592		

*Kruskall Wallis Testi, ** One Way Anova Testi

Gruplara ait kan serumlarından biyokimyasal protein seviyelerinin değerlendirilmesinde;

Grupların serum örneklerinde biyokimyasal parametreler yönünden kıyaslanması Tablo 12’de sunuldu.

Tablo 12. Grupların Serum Örneklerinin Biyokimyasal Parametreler Yönünden Kıyaslanması

		N	Ort	SS	Medyan	p	Post hoc
NSE (mg protein)	Grup 1	7	7,19	1,25	6,72		G2>G3>G1 0,001
	Grup 2	7	28,75	8,65	28,08		
	Grup 3	7	9,76	1,85	9,38		
	Grup 4	7	10,02	3,57	8,41		
	Grup 5	7	7,95	1,53	7,80		
TOS μ mol H2O2 Eq/L	Grup 1	7	2,85	0,56	2,97		G2>G3>G4-G5>G1 0,001
	Grup 2	7	9,57	0,66	9,82		
	Grup 3	7	6,13	0,34	6,15		
	Grup 4	7	5,05	0,37	4,89		
	Grup 5	7	4,55	0,35	4,50		
TASmmol trolox/eqL	Grup 1	7	3,76	0,20	3,66		G1>G5>G3-G4>G2 0,001
	Grup 2	7	1,21	0,30	1,22		
	Grup 3	7	2,72	0,18	2,74		
	Grup 4	7	2,72	0,27	2,67		
	Grup 5	7	3,18	0,18	3,19		
OSI	Grup 1	7	0,08	0,02	0,08		G2>G3>G4>G5>G1 0,001
	Grup 2	7	0,83	0,20	0,81		
	Grup 3	7	0,23	0,02	0,22		
	Grup 4	7	0,19	0,02	0,19		
	Grup 5	7	0,14	0,01	0,14		
MDA nM	Grup 1	7	5,44	0,79	5,23		G2>G3-G4>G5-G1 0,001
	Grup 2	7	13,84	1,93	14,42		
	Grup 3	7	7,90	0,97	7,88		
	Grup 4	7	7,35	0,71	7,40		
	Grup 5	7	6,08	0,18	6,18		

*Kruskall Wallis Testi,

NSE (mg protein) yönünden yapılan post hoc analizde Grup 2'nin en yüksek konsantrasyona sahip olduğunu, ardından Grup 3'ün geldiğini ve Grup 1'in en düşük seviyede olduğunu göstermektedir. Grup 4 ve Grup 5'in arasında anlamlı fark olmadığı, Grup 5 ve Grup 1 arasında da anlamlı fark olmadığı saptandı.

TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq./g protein}$) yönünden İdebenon alan ve almayan gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 2'nin en yüksek seviyede olduğunu, ardından Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in geldiğini ve Grup 1'in en düşük seviyede olduğunu göstermektedir.

TAS ($\text{mmol trolox eqL/g protein}$) yönünden İdebenon alan ve almayan gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 1'in en yüksek seviyesine sahip olduğunu, diğer grupların ise daha düşük seviyelerde olduğunu göstermektedir. Grup 5'in İdebenon verilmeyen Grup 2 ve düşük doz İdebenon verilen Grup 3'ten daha yüksek olduğu belirtildi.

OSI yönünden tüm gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz Grup 2'nin en yüksek değere sahip olduğu, ardından Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in geldiği ve Grup 1'in en düşük değere sahip olduğu gözlemlendi.

MDA ($\text{nmol /gram ıslak doku}$) yönünden İdebenon alan ve almayan gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0.001$). Yapılan post hoc analiz sadece CO maruziyeti olan Grup 2'nin en yüksek, İdebenon verilen Grup 3 ve Grup 4'ün orta ve Grup 1'in en düşük seviyede olduğu belirtildi. Yüksek doz İdebenon verilen Grup 5 ve Grup 1 ile arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

5.TARTIŞMA

CO zehirlenmesinde en çok etkilenim, yüksek metabolik hızlarından ötürü merkezi sinir sistemi (MSS) ve kardiyovasküler sistem üzerinde olup bu iki sistemin etkilenimi mortalitenin ana nedenlerindendir (1). Hastaların %23 ila %47'sinde maruziyetten haftalar sonra gecikmiş nörolojik sekel, zayıf konsantrasyon, bilişsel bozulma, hafıza kaybı gibi nörolojik hasar bulguları gelişebilmektedir (3). Ne klinik etkiler ne de gecikmiş nörolojik hasar, hemoglobin ve CO arasındaki bağlanma oranı ile tam olarak öngörülememektedir. Bu durum CO toksisitesine bağlı DNS ve diğer birçok klinik durumun patolojisini açıklamakta yetersiz kalmaktadır (1). CO maruziyeti sonrası en önemli sekellerden olan gecikmiş nörolojik sendromun (DNS) önlenmesinde günümüzde normobarik oksijen tedavisi (NBO) veya hiperbarik oksijen tedavisinin (HBO) faydasına ilişkin çok sayıda çalışma olsa da (16,107), HBO'nun ciddi zehirlenmelerle ilişkili akut ve gecikmiş komplikasyonları önlemedeki etkinliği tartışmalıdır (108–110). Bu durum, temel mekanizmanın sadece doku hipoksisine bağlı komplikasyonlarla sınırlı olmadığı gerçeğinden kaynaklanır. CO-Hb kompleksinin neden olduğu hipoksinin karbonmonoksit intoksikasyonunun patofizyolojisindeki rolü tartışmasız olsa da yeni araştırmalar CO'nun nitrik oksit salınımı, reaktif oksijen türleri oluşumu ve iyon kanalları üzerindeki doğrudan etkisinin kliniğin oluşumunda çok önemli olduğunu göstermektedir (8). Bu çalışmada amacımız çeşitli mekanizmalarla oksidasyonu önleyici etkisi olan, hücre ve sinir hasarını azaltarak bilişsel fonksiyonları iyileştirici özelliği bilinen ve literatürde yayınlarla desteklenen İdebenon'un (14,15,18,82,111) karbonmonoksit (CO) zehirlenmesinde, beyinde iskemiye, oksidasyona, apoptoza sekonder meydana gelen değişikliklere etkisini değerlendirmektir. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, bir rat modelinde İdebenon'un akut CO zehirlenmesinin neden olduğu nörolojik hasarı önemli ölçüde zayıflattığını bildiren ilk çalışmadır.

Deneyssel karbonmonoksit intoksikasyon modeli sonrası 15 dk 5000 ppm CO gazı maruziyetinin 47 ± 7 ppm COHb seviyelerine yol açtığı ve gruplar arasında COHb düzeyleri açısından sonuçları etkileyebilecek istatistiksel anlamlı farklılık

saptanmadığı görülmüştür ($p=0,211$). Sonuçlarımız CO zehirlenmesinin apoptoz, lipid peroksidasyonu ve oksidasyona neden olduğunu gösterdi. Bu durumun doku dejenerasyon ve apoptozunu artırdığı, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA proteininin ekspresyonunda önemli artışa neden olduğu gösterilmiştir. TOS düzeyinin TAS düzeyine oranı olarak ifade edilen oksidatif stres indeksi (OSİ)'nin arttığı, buna karşılık antioksidan durum (TAS) değerlerinin belirgin bir şekilde yükseldiği gözlemlenmiştir. Çalışmamız İdebenon'un CO zehirlenmesinin neden olduğu serebral hücre apoptozunu ve nöron dejenerasyonunu azaltabildiğini göstermiştir. Beyin hipokampus dokusundan ve kan serumlarından yapılan biyokimyasal protein seviyelerinin değerlendirilmesinde NSE, TOS, TAS, OSI ve MDA parametrelerinde İdebenon verilmeyen gruba göre verilen gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p=0.001$). İdebenon uygulanması ile total oksidatif durum (TOS) ve oksidatif stres indeksinin (OSİ) azaldığı, antioksidan durum (TAS) değerlerinin ise anlamlı derecede yükseldiği görülmüştür. Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA proteininin ekspresyonunda anlamlı azalma saptanmıştır.

CO zehirlenmesinin, doku hipoksisinin yanı sıra doğrudan hücresel değişiklikler ile apoptoza ve nöron dejenerasyonuna neden olduğu bilinmektedir (27). CO hipoksisi sonucu oluşan serbest radikaller ve oksidatif stres nöronal nekrozu ve apoptoz sürecini tetikleyerek nörolojik hasara neden olmaktadır (109). Nekroz, ATP'den bağımsız hücre ve organel şişmesi, plazma zarı bütünlüğünün kaybı ve hücre lizisi ile karakterize edilirken, apoptoz, hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması ve spesifik proteazların aktivasyonu ile gelişen ATP bağımlı bir süreçtir. R. Tofighi ve arkadaşları CO'ya maruz kalan sinir hücrelerinde in vitro deney modeli ile hipoksiden bağımsız apoptozun nöronal hasar yaptığını kanıtladı (112). Bu durum CO zehirlenmesinde sadece hipoksi odaklı tedavilerin değil antiapoptotik tedavilerin önemini ve sayısını giderek artırmaktadır. Fan ve ark. intraperitoneal metan enjeksiyonu ile sıçanlarda uzun süreli CO'ya maruz kalma sonrasında metan açısından zengin salin solüsyonunun nöroprotektif, antiapoptotik etkisinin hipotezini ortaya koymuştur. Bilişsel değerlendirme, histolojik analiz ve inflamatuvar faktörleri değerlendirdikleri çalışma sonucunda Metan'ın hipokampus ve serebral korteks nöron hasarını azaltarak bilişsel fonksiyonları iyileştirdiğini saptamışlardır. Aynı grup, metan açısından zengin salinin de histolojik seviyelerde

nöronal korumayı sağladığını doğrulamıştır (113,114). Başka bir çalışmada CO'ya maruz bırakılan fareler üzerinde artan COHb ve MDA konsantrasyonunun Hemin uygulaması sonrası azaldığı saptanmıştır. Histolojik olarak tedavi uygulanmayan grupta hemin uygulanan gruba göre, hipokampüsün CA1 bölgesindeki hücrelerde dejenerasyon olduğu ve normal piramidal hücre sayısının daha az olduğu belirtilmiştir (81). Ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada hidrojen zengin salin solüsyonlarının antioksidan ve antiapoptotik etkiye sahip olduğu, nekrozu ve nöronal apoptozu azalttığı ve CO zehirlenmesi sonrası davranış bozukluklarını iyileştirdiği görülmüştür (115). Wz wang ve arkadaşları CO zehirlenmesinin tedavisinde Ginaton'un nitrik oksid sentezi üzerinden, serebral hasar ve apoptoz üzerine iyileştirici etkisi olduğunu otaya koymuşlardır (116). Li ve ark. CO'ya maruz bırakılan ratlar üzerinde N -butilftalidin (NBP) ile nöroproteksiyonun araştırılmasını amaçlayan bir çalışma gerçekleştirdiler. NBP uygulanmasından sonra apoptotik hücre sayısında NBP almayan grup ile arasında anlamlı bir fark gözlemlendiğini ve NBP'nin antiapoptotik etkinlik gösterdiğini saptamışlardır (108). Ratlarda yapılan başka bir çalışma, CO'ya maruz kalmanın ardından bilişsel işlev bozukluğunun altında yatan mekanizmaları ve NBP tedavisinin hipokampüsün hasarı üzerinde nöroprotektif etkinliğini inceledi. Histolojik çalışmalar, NBP ile tedavinin hipokampüsteki hasarı önemli ölçüde hafifletebileceğini gösterdi (117). Gorbani.M. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratlar üzerinde oluşturulan CO intoksikasyon modeli sonrası GCS-F'nin apoptozu azaltarak beyin hasarını iyileştirici etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Tünel boyama ile CO ile zehirlenen grupta apoptotik hücre sayısında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış olduğunu göstermişlerdir ($P < 0.05$) (118). Bizim çalışmamızdan farklı olarak beyin ödemi ve MBP, STAT3 ve pSTAT3 ile HO-1 proteinlerinin seviyesini Western blotlama ile değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise apoptoz ve dejenerasyon değerlendirmesi; H/E boyama ile apoptotik hücreler morfolojiye göre gradeleme yapılarak ve TUNEL boyama ile TUNEL+ hücrelerin saptanması ile apoptoz indeksi hesaplanarak yapılmıştır. Apoptoz indeksi değerlendirmesinde kontrol grubu ve idebenon verilen gruplara göre CO grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Ayrıca idebenon verilen gruplar arasında da artan dozda idebenon uygulamasının apoptozu istatistiksel olarak anlamlı azalttığı saptanmıştır. Nöronal

dejenerasyonun histopatolojik incelemesinde; kontrol grubu ve idebenon verilen gruplara göre CO grubunda grade 3 hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Bu veriler İdebenon'un antiapoptotik ve CO zehirlenmesinin neden olduğu hipokampal CA1 bölgesindeki nöronal hücre ölümünü hafifletme yeteneğini açıkça göstermektedir. CO zehirlenmesinde nöron dejenerasyon ve apoptozunu değerlendirirken birçok çalışmada da incelendiği gibi (109,113,114,119) bizde çalışmamızda hipokampus nöronlarını histopatolojik değerlendirdik. Hipokampal HT22 nöronları ve glial D384 hücrelerinin CO gazının hedef aldığı hücre tiplerinden olduğu ve DNS gelişen vakalarda bu hücrelerde etkilenim olduğu bilinmektedir (120). Nabeshima ve ark. CO'ya maruz kalmanın neden olduğu gecikmiş amnezinin, hipokampal CA1 alt alanındaki gecikmiş nöron ölümünden kaynaklanabileceğini bildirdi (121). Hipokampal CA1 alt alanında gecikmiş nöron ölümünün patogeneğinde etkili olan mekanizmaların ise; inflamasyon, mitokondriyal oksidatif stres, mitokondriyal fonksiyonun inhibisyonu, lipid peroksidasyonu ve apoptotik tepkiler olduğu gösterilmiştir (55). Bu nedenle çalışmamızda hipokampus nöronlarını histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeyi amaçladık.

Karbonmonoksit, mitokondriyal sitokrom oksidaza bağlanarak oksijen taşınmasında ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda azalmaya neden olur. CO maruziyeti sonrası serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleriyle etkileşmesi sonucu oluşan lipid peroksidasyonu, kliniğin oluşumunda önemli patofizyolojik bir süreçtir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü ve yaygın kullanılan belirteçlerindendir (9). MDA, beyindeki önemli bir protein olan MBP yapısını ve fonksiyonunu etkileyerek demiyelinizasyon oluşumuna neden olur (118). Kaveh Tebrizvan ve meslektaşları, CO ile zehirlenmiş sıçanlara resveratrol uygulaması sonucunda MDA seviyelerinin azaldığını açıklamıştır (122). Meryem Gorbani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CO ile zehirlenmiş sıçanlarda beyin dokusu MDA ekspresyonunun arttığını, GCS-F uygulamasının MDA seviyelerini azalttığını belirtmiştir (118). Zeynep kekeç ve arkadaşlarının CO ile zehirlenmiş sıçanlarda antioksidan olan NAC uygulaması sonrası oksidatif stres belirteçlerinden olan MDA ekspresyonunda azalma saptandığını belirtmişlerdir (123). Pin Wang ve meslektaşları, CO ile zehirlenmiş sıçanların serumunda, serebral korteksinde ve hipokampusünde bir lipit peroksidasyon belirteci olarak plazma MDA seviyelerinin

arttığını tespit etmişlerdir (124) . Yapılan birçok çalışma benzer şekilde CO maruziyetinin MDA düzeyini artırdığını göstermiştir (122,125,126). Bizim çalışmamızda; plazma ve doku MDA düzeyleri bakılmış olup, kontrol grubu ve İdebenon verilen gruplara göre CO grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Fakat plazma MDA düzeyinde İdebenon 100mg/kg ve 200mg/kg verilen gruplarda anlamlı farklılık yoktu. 300 mg/kg verilen grupta ise kontrol grubuna benzer seviyelerde saptandı. İdebenon gruplarında MDA düzeyinin CO grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşük olması, İdebenon'un beyin dokusunda CO'ye bağlı oksidatif hasara karşı koruyucu bir etki sağladığını ve lipid peroksidasyonunu engelleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. İdebenon, artan lipid peroksidasyonuna karşı güvenilir bir ajandır ve lipid peroksitlere karşı koruyucu etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (89,93,94). İdebenon oksidatif stresi azaltması, antioksidan enzimleri artırması ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisiyle MDA seviyesinde düşüşe neden olur (95). Aynı zamanda demir ilişkili lipid peroksit birikiminin non-apoptotik programlı hücre ölümü olan ferroptozise neden olacağı bilinmektedir. GPx-4, ferroptozun aracılık ettiği hücre ölümünü önler. İdebenon hücrel antioksidan olan glutatyon seviyelerini ve GPx-4 ekspresyonunu arttırarak lipid peroksidasyonunu önleyici etkisi ile nöronal sağ kalımı desteklemektedir (18).

CO zehirlenmesinin patofizyolojisinde anahtar rol alan yolak ROS oluşumudur. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu mitokondride sitokrom c inhibisyonunun yanı sıra doğrudan süperoksit ve hidrojen peroksit üretimini tetikleyerek de yapmaktadır (9). Zhang ve Piantadosi sıçanlarda CO maruziyeti sonrası serebral oksidatif hasarın oluşumunda hipoksinin doğrudan etkisi olmadığını ancak mitokondri tarafından üretilen ROS'un ana patolojik yolak olduğunu göstermiştir (127). Doku hipoksisine bağlı olarak zehirlenmede reaktif oksijen ürünlerinin sentezi artar (41). CO zehirlenmesi olan hastaların tedavi planlamasında mevcut seçeneklerin sınırlı olması nedeniyle antioksidan tedavilerin, özellikle oksijen radikallerinin oksidasyonu sonucu inflamasyona ikincil olarak meydana gelen hasarı önleme açısından önemi hızla artmaktadır. CO zehirlenmesinde antioksidanların etkinliğini gösteren literatürde yayınlanmış birçok çalışma bulunmaktadır (9). CO zehirlenmesinin tedavisinde oksidatif strese ilişkin çok sayıda

strateji denenmekte olup bunlar arasında serbest radikal temizleyiciler, monoamin oksidaz inhibitörleri, N -metil -d -aspartat blokerleri ve HBO tedavisi en bilinen güncel tedavilerdir. Wang.P ve arkadaşları sıçanlar üzerinde CO intoksikasyon modeli ile MDA ve antioksidan enzim düzeylerini zamana bağlı değerlendirmiş olup korteks ve hipokampüste nöron hasarında ROS ve lipit peroksidasyonunun önemini belirtmiştir (124). Yong Peng Yu ve arkadaşlarının H₂S'in, ROS'u ve reaktif nitrojen türlerini temizleyerek nöronları oksidatif strese karşı koruyan antioksidan ve anti-apoptotik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. H₂S'nin, antioksidan özellikleri yoluyla akut CO zehirlenmesini tedavi etmek için bir seçenek olduğunu belirtmişlerdir (128). Fakat Hidrojen sülfid (H₂S) zehirli bir gaz ve çevre kirletici olarak bilinmesi nedeniyle nadiren tedavi edici bir gaz olarak kabul edilmektedir. Havva şahin kavaklı (129) ve arkadaşlarının acil servise başvuran karbonmonoksit maruz kalmış insanlar üzerinde yaptığı çalışmada TOS arttığını, tedavi sonrası kontrol grubuna göre TOS, OSİ düzeylerinde anlamlı düşüşü saptarken TAS düzeyinde anlamlı istatistiksel bir değişiklik tedavi ile de saptamamıştır. Bu durum mevcut hipoksiyi gideren tedavilerin antioksidan düzeylerini yeterince etkilemediğini düşündürmektedir. Şahin A. ve ark. yaptığı deneysel rat modelinde, bizim çalışmamızca benzer şekilde, Resveratrolün, CO'nun neden olduğu beyin iskemik hasarını histopatolojik olarak anlamlı düzeyde iyileştirdiğini göstermişlerdir. Daha sonra, oksidatif stresin endeksleri olan malondialdehit, glutatyon, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz seviyeleri ile inflamatuvar belirteçler olan tümör nekroz faktörü- α , interlökin-6 ve interlökin-1 β seviyelerini değerlendirmiş ve Resveratrolün CO zehirlenmesine bağlı oksidatif stresi, inflamasyonu, iskemik hasarı azaltabileceğini göstermişlerdir (130). Bizim çalışmamızda ratlar üzerinde beyin dokusunda ve kanda CO zehirlenmesi sonucu ROS'a bağlı oluşan hücre hasarını (9) önlemede İdebenon'u artan dozlarda uygulayarak değerlendirdik. Elde ettiğimiz sonuçlar; İdebenon'un Total oksidatif durum (TOS) ve TOS düzeyinin TAS düzeyine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilen oksidatif stres indeksini (OSİ) artırdığını, total antioksidan durum (TAS) değerlerinin ise istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseldiğini göstermiştir (p=0,001). Bütün oksidan parametreleri aynı anda ölçmek ve değerlendirmek zor olacağından sadece birkaç parametrenin genel oksidasyonu göstermede yetersiz kalacağı için çalışmamızda total oksidatif ve

antioksidatif durum analizi yapılmıştır. Çalışmamız İdebenon'un CO zehirlenmesine bağlı oksidatif stresi azaltarak klinik sonuçları iyileştirebileceğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada İdebenon ön tedavisinin (24 saat), H2O2'ye bağlı mitokondriyal ROS birikimini bloke ettiği ve solunum zincirindeki kompleks I ve III'ün aktivitesi üzerindeki H2O2'nin neden olduğu baskılayıcı etkileri önemli ölçüde düzenleyerek mitokondriyal solunum fonksiyonlarını eski haline getirdiği gösterilmiştir (101). Bu durum İdebenon'un antioksidan etkilerini; CO'in solunum zincirindeki kompleks I ve III'ün üzerindeki etkilerini düzenlemesi, mitokondri membran potansiyelini stabilize ederek aşırı ROS üretimini baskılaması ile gerçekleştirdiğini desteklemektedir (88,89,100).

İdebenon elektron taşıma zinciri boyunca elektron taşıyıcı görev yapan böylece ATP üretimini artıran, süperoksit radikallerinin doğrudan uzaklaşmasını sağlayan, lipid peroksidasyonunu engelleyen ve nöronal ölümü azaltan bir antioksidan ve anti-apoptotik görevi yapmaktadır Friedreich ataksisi, demans tedavisinde kullanılmakta olup birçok nöromusküler ve mitokondriyal hastalıklar için klinik araştırmalar yürütülmektedir (131). Çeşitli çalışmalar Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, amiotrofik lateral skleroz, Friedreich ataksisi, optik nöropati ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ilişkili birçok hastalıkta İdebenon'un nöroprotektif etkilerini göstermiştir (86,111,132). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar İdebenon'un iskemi nedeniyle oluşan sinir hücre hasarını azalttığını, nörotransmitter bozuklukları ve/veya serebral metabolizmayı düzelttiğini, öğrenmeyi kolaylaştırdığını, hafıza ve oryantasyon üzerine etkili olduğunu göstermektedir (15,17,18). Bizim çalışmamızda da dokuda bakılan OSİ ve MDA gibi oksidatif stres belirteçlerinin İdebenon verilen grupta verilmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı gelmesi İdebenon'un antioksidatif etkinliğini desteklemektedir. Fakat idebenon verilen gruplar arasında düşük doz idebenon tedavisi alan Grup 3 ile anlamlı fark varken Grup 4 ve Grup5 arasında istatistiksel anlamlı fark olmaması hangi doz etkinliği konusunda net bir fikir oluşturmamaktadır.

Y Nagai ve ark. ratlar üzerinde İdebenon'un beyindeki etki bölgeleri ve dağılımı ile ilgili yaptıkları çalışmada temporal korteks, talamus dorsomedial çekirdeği, subtalamik çekirdek, hipokampus, kaudat-putamenin olası etki bölgeleri

olduğunu saptamışlardır. 10mg/ kg intravenöz, 100 mg/ kg oral ve 30 mg/kg intraperitoneal uygulanan İdebenon'un serebral metabolizma aktivitelerinin benzer ve serebral etkinlikte olduğunu saptamışlardır (42). Birçok deneyde, İdebenon'un antioksidan etkilerini 2 mikromolar konsantrasyonda gösterdiği belirtilmiştir ve bu doz, ilacın oral olarak alınan dozlarının hastalarda olası plazma seviyeleri aralığının içinde yer almaktadır.(97). İdebenon'un mitokondri üzerinde aktivite göstermek için mikromolar dozlar gerekliken (93) MSS üzerindeki etkinliğini nano-molar konsantrasyonlarda gösterdiği belirtilmiştir (42). Bu nokta da olan tutarsızlık İdebenon'un farklı hücresel bölümlere (yani sitoplazma, membranlar ve mitokondri) ne ölçüde ayrıldığı ve bu dağılımın dokuya özgü olup olmadığı ve *in vitro* ve *in vivo* farklılık gösterip gösteremeyeceği konusunda yalnızca çok sınırlı bilgi mevcut ve hala tartışılmaktadır (87,97). Klinik çalışmalarda İdebenon'un 2250 mg/gün'e kadar olan dozlarda güvenli olduğu ve oral iyi tolere edildiği görülmüştür. Bizde çalışmamızda oral biyoyararlanımının iyi olması, hızlı emilmesi ve serebral etkin doz aralığında olması nedeniyle daha önceki ratlar üzerindeki çalışmalarda denendiği gibi 100mg/kg, 200 mg/kg ve 300 mg/kg dozlarında idebenon uyguladık (42,131). Çalışmamızda 200mg/kg ve 300 mg/kg idebenon verilen gruplarda apoptotik anlamlı farklılık olması fakat TAS, TOS, NSE, MDA konsantrasyonları açısından benzerlik saptanması yüksek dozlarda antioksidan etkinliğini sorgulatmaktadır.

Bu çalışma, İdebenon'un CO zehirlenmesine karşı potansiyel koruyucu etkilerini değerlendiren ilk çalışmadır. Ancak, bu sonuçların insanlarda doğrulanması gerekmektedir. İnsanlarda CO zehirlenmesine karşı idebenon etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmek için daha fazla araştırma gerekmektedir. Bu sonuçlar, CO zehirlenmesi sonrası erken dönemde İdebenon tedavisinin oksidatif stres ve apoptozu azaltabileceğini, doku koruyucu etkileri olabileceğini ve sonuç olarak klinik sonuçları iyileştirebileceğini göstermektedir.

5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamız, etik kurul koşulları gereği sınırlı sayıda rat kullanılarak gerçekleştirildiğinden, tedavi ve kontrol grupları arasındaki farklılıkları karşılaştırmak için yeterli sayıda örneğe sahip 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 dozuna bağı histopatolojik hasarı ve antioksidanların bu hasara karşı terapötik etkisini inceledi. Daha yüksek doz zehirlenme konsantrasyonları araştırılmamıştır. İdebenon dozu olarak 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 300 mg/kg doz uygulaması araştırılmış, daha yüksek dozlar kullanılmamıştır. Ayrıca İdebenon tedavisi sonrası ratlarda DNS gelişimi açısından takip yapılamamıştır.



6. SONUÇ

Bu çalışma da ratlarda deneysel ortamda oluşturulan CO zehirlenmesi modelinde idebenon uygulamasının beyin nörodejenerasyonu üzerinde iyileşme sağladığı görülmüştür. Ayrıca giderek artan dozlarda verilen İdebenon doz uygulamasının beyin dejenerasyonu ve oksidatif stres belirteçleri olan TAS, TOS, MDA, NSE düzeylerini azalttığı görülmüştür.

Çalışmamızın sonucuna göre CO zehirlenmesinin kronik dönem etkilerini ortadan kaldırmak için İdebenon doğru bir seçenek olabilir ancak CO zehirlenmesine karşı idebenon etkinliğini, güvenilirliğini ve etkin dozu değerlendirmek için daha fazla insan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

1. Huang YQ, Peng ZR, Huang FL, Yang AL. Mechanism of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning. *Neural Regen Res*. 2020;15(12):2286.
2. Doherty S. History, pathophysiology, clinical presentation and role of hyperbaric oxygen in acute carbon monoxide poisoning. *Emerg Med (N Y)*. 2000 Mar 6;12(1):55–61.
3. Reumuth G, Alharbi Z, Houschyar KS, Kim BS, Siemers F, Fuchs PC, et al. Carbon monoxide intoxication: What we know. *Burns*. 2019 May;45(3):526–30.
4. Bojakowski K, Gaciong Z, Grochowicki T, Szmidt J. Carbon Monoxide May Reduce Ischemia Reperfusion Injury: A Case Report of Complicated Kidney Transplantation From a Carbon Monoxide Poisoned Donor. *Transplant Proc*. 2007 Nov;39(9):2928–9.
5. Applegate LA, Luscher P, Tyrrell RM. Induction of heme oxygenase: a general response to oxidant stress in cultured mammalian cells. *Cancer Res*. 1991 Feb 1;51(3):974–8.
6. Gorman D, Drewry A, Huang YL, Sames C. The clinical toxicology of carbon monoxide. *Toxicology*. 2003 May 1;187(1):25–38.
7. Kao LW, Nañagas KA. Carbon monoxide poisoning. *Emerg Med Clin North Am*. 2004 Nov;22(4):985–1018.
8. Roderique JD, Josef CS, Feldman MJ, Spiess BD. A modern literature review of carbon monoxide poisoning theories, therapies, and potential targets for therapy advancement. *Toxicology*. 2015 Aug;334:45–58.
9. Akyol S, Erdogan S, Idiz N, Celik S, Kaya M, Ucar F, et al. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in carbon monoxide toxicity: An in-depth analysis. *Redox Report*. 2014 Sep 28;19(5):180–9.
10. Beppu T. The Role of MR Imaging in Assessment of Brain Damage from Carbon Monoxide Poisoning: A Review of the Literature. *American Journal of Neuroradiology*. 2014 Apr 1;35(4):625–31.
11. Rose JJ, Wang L, Xu Q, McTiernan CF, Shiva S, Tejero J, et al. Carbon Monoxide Poisoning: Pathogenesis, Management, and Future Directions of Therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017 Mar 1;195(5):596–606.

12. Nagaoka A, Kakihana M, Fujiwara K. Effects of idebenone on neurological deficits following cerebrovascular lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Arch Gerontol Geriatr*. 1989 May;8(3):203–12.
13. Giorgio V, Petronilli V, Ghelli A, Carelli V, Rugolo M, Lenaz G, et al. The effects of idebenone on mitochondrial bioenergetics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2012 Feb;1817(2):363–9.
14. Lee H ju, Park JH, Hoe HS. Idebenone Regulates A β and LPS-Induced Neurogliosis and Cognitive Function Through Inhibition of NLRP3 Inflammasome/IL-1 β Axis Activation. *Front Immunol*. 2022 Feb 10;13.
15. Peng J, Wang H, Gong Z, Li X, He L, Shen Q, et al. Idebenone attenuates cerebral inflammatory injury in ischemia and reperfusion via dampening NLRP3 inflammasome activity. *Mol Immunol*. 2020 Jul;123:74–87.
16. Clementi ME, Pizzoferrato M, Bianchetti G, Brancato A, Sampaiolese B, Maulucci G, et al. Cytoprotective Effect of Idebenone through Modulation of the Intrinsic Mitochondrial Pathway of Apoptosis in Human Retinal Pigment Epithelial Cells Exposed to Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide. *Biomedicines*. 2022 Feb 21;10(2):503.
17. Voronkova K V., Meleshkov MN. Use of Noben (idebenone) in the Treatment of Dementia and Memory Impairments without Dementia. *Neurosci Behav Physiol*. 2009 Jun 12;39(5):501–6.
18. Avcı B, Günaydın C, Güvenç T, Yavuz CK, Kuruca N, Bilge SS. Idebenone Ameliorates Rotenone-Induced Parkinson's Disease in Rats Through Decreasing Lipid Peroxidation. *Neurochem Res*. 2021 Mar 28;46(3):513–22.
19. PdfViewer [Internet]. [cited 2024 May 10]. Available from: <https://pdf.trdizin.gov.tr/pdf/dlhUTit0R0FBRGhyN2NLMWZaYnlSWXNHRmlXbm14aWpnVjlYTfDdCetVTFIvbEVwbEVEZWhoR3JncUpDcHB4cEVQQXILMitnbXFOUDNLbTZ5bVVwZnhNNGNvK2ZoaVdHakc4bWZkLzBwRDFpMmpUREpmVlNybXJmYmIyMXFZa0E1TmdsVCsvQzBTZ2pSQmVaV2JVemxGSHRaK0JnRWZieExXTlV3anQxcEZFRGdxeTR5MmdXMkp5eGFvZHRycG9SUHJjY09JYnNVYytqTGVMMXo2akxyTUNUVzF5K0RaNWxDeURob1FVdUxyNnZpbUkzdVVIT1BNNzQxRDZYN1NGWjNDQVVVeVhRc3dQRG9BPT0>
20. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man-Twelfth Edition.
21. United Nations Environment Programme., World Health Organization. Carbon monoxide. 1979;125.
22. Hoffman RS, Nelson LS,. Carbonmonoxide. In: Gold Frank's Toxicologic Emergencies. 11th ed. Mc Graw Hill; 2019. p. 1663–83.

23. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book: Guyton and Hall ... - John E. Hall, Michael E. Hall - Google Kitaplar [Internet]. [cited 2024 May 10]. Available from: https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=H1rrDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=tKYzwZHu1o&sig=v9LaSg7AiRxs0Om0_5K8SwnLs8k&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
24. Hampson NB, Hauff NM. Risk factors for short-term mortality from carbon monoxide poisoning treated with hyperbaric oxygen*. Crit Care Med. 2008 Sep;36(9):2523–7.
25. Kinoshita H, Türkan H, Vucinic S, Naqvi S, Bedair R, Rezaee R, et al. Carbon monoxide poisoning. Toxicol Rep. 2020;7:169–73.
26. Rose JJ, Wang L, Xu Q, McTiernan CF, Shiva S, Tejero J, et al. Carbon Monoxide Poisoning: Pathogenesis, Management, and Future Directions of Therapy. Am J Respir Crit Care Med. 2017 Mar 1;195(5):596–606.
27. Hampson NB, Piantadosi CA, Thom SR, Weaver LK. Practice Recommendations in the Diagnosis, Management, and Prevention of Carbon Monoxide Poisoning. Am J Respir Crit Care Med. 2012 Dec 1;186(11):1095–101.
28. Mattiuzzi C, Lippi G. Worldwide epidemiology of carbon monoxide poisoning. Hum Exp Toxicol. 2020 Apr 1;39(4):387–92.
29. Can G, Sayılı U, Aksu Sayman Ö, Kuyumcu ÖF, Yılmaz D, Esen E, et al. Mapping of carbon monoxide related death risk in Turkey: a ten-year analysis based on news agency records. BMC Public Health. 2019 Dec 3;19(1):9.
30. Hampson NB. Carbon monoxide poisoning mortality in the United States from 2015–2021. Clin Toxicol. 2023 Jul 3;61(7):483–91.
31. Piantadosi CA. Carbon monoxide poisoning. Undersea Hyperb Med. 2004;31(1):167–77.
32. Kandiş H, Katırcı Y, Karapolat BS. Karbonmonoksit Zehirlenmesi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi [Internet]. 2009 Dec 1 [cited 2024 May 10];11(3):54–60. Available from: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/dtfd/issue/48268/611051>
33. Tomaszewski C. To cite this article: Christian Tomaszewski (1999) Carbon monoxide poisoning. Postgrad Med [Internet]. 2015 [cited 2024 May 10];105(1):39–50. Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ipgm20>
34. Coburn RF. Carbon Monoxide (CO), Nitric Oxide, and Hydrogen Sulfide Signaling During Acute CO Poisoning. Front Pharmacol. 2022 Mar 18;12.

35. Roderique JD, Josef CS, Feldman MJ, Spiess BD. A modern literature review of carbon monoxide poisoning theories, therapies, and potential targets for therapy advancement. *Toxicology*. 2015 Aug;334:45–58.
36. Kietzmann T, Görlach A. Reactive oxygen species in the control of hypoxia-inducible factor-mediated gene expression. *Semin Cell Dev Biol*. 2005 Aug;16(4–5):474–86.
37. Almeida AS, Figueiredo-Pereira C, Vieira HLA. Carbon monoxide and mitochondria modulation of cell metabolism, redox response and cell death. *Front Physiol*. 2015 Feb 9;6.
38. Physiology and Medicine of Hyperbaric Oxygen Therapy - Tom S. Neuman, Stephen R. Thom - Google Kitaplar [Internet]. [cited 2024 May 10]. Available from:
https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=ZSujEFOGij4C&oi=fnd&pg=PP1&ots=cT-u0pAWU1&sig=ln4E-ZjmRjGxB6gcFE10a4IpLSI&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
39. Siperstein GN, Bak JJ. Social relationships of adolescents with moderate mental retardation. *Ment Retard*. 1989 Feb;27(1):5–10.
40. Thom SR, Ohnishi ST, Fisher D, Xu YA, Ischiropoulos H. Pulmonary Vascular Stress from Carbon Monoxide. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1999 Jan;154(1):12–9.
41. Piantadosi CA. Carbon monoxide, reactive oxygen signaling, and oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2008 Sep 1;45(5):562–9.
42. Nagai Y, Yoshida K, Narumi S, Tanayama S, Nagaoka A. Brain distribution of idebenone and its effect on local cerebral glucose utilization in rats. *Arch Gerontol Geriatr*. 1989 May;8(3):257–72.
43. Geocadin RG, Koenig MA, Jia X, Stevens RD, Peberdy MA. Management of Brain Injury After Resuscitation From Cardiac Arrest. *Neurol Clin*. 2008 May;26(2):487–506.
44. Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology*. 2008 Sep;55(3):310–8.
45. Han ST, Bhopale VM, Thom SR. Xanthine oxidoreductase and neurological sequelae of carbon monoxide poisoning. *Toxicol Lett*. 2007 Apr;170(2):111–5.
46. Gandini C, Castoldi AF, Candura SM, Locatelli C, Butera R, Priori S, et al. Carbon Monoxide Cardiotoxicity. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2001 Jan 28;39(1):35–44.

47. Misonou H, Mohapatra DP, Trimmer JS. Kv2.1: A Voltage-Gated K⁺ Channel Critical to Dynamic Control of Neuronal Excitability. *Neurotoxicology*. 2005 Oct;26(5):743–52.
48. Dallas ML, Boyle JP, Milligan CJ, Sayer R, Kerrigan TL, McKinstry C, et al. Carbon monoxide protects against oxidant-induced apoptosis *via* inhibition of K_v 2.1. *The FASEB Journal*. 2011 May 19;25(5):1519–30.
49. Hou S, Heinemann SH, Hoshi T. Modulation of BK_{Ca} Channel Gating by Endogenous Signaling Molecules. *Physiology*. 2009 Feb;24(1):26–35.
50. DeWitt CR, Waksman JC. Pharmacology, Pathophysiology and Management of Calcium Channel Blocker and β -Blocker Toxicity. *Toxicol Rev*. 2004;23(4):223–38.
51. Shepherd G. Treatment of poisoning caused by β -adrenergic and calcium-channel blockers. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2006 Oct 1;63(19):1828–35.
52. Elenhorn: Medical Toxicology Diagnosis and Treatment... - Google Akademik [Internet]. [cited 2024 May 11]. Available from: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Medical%20Toxicology%20Diagnosis%20and%20Treatment%20of%20Human%20Poisoning&publication_year=1997&author=M.J.%20Elenhorn
53. Overfelt C. Carbon monoxide poisoning. *JAAPA*. 2023 Oct;36(10):1–3.
54. Shimazu T. [Pathophysiology, myths and mysteries of acute carbon monoxide poisoning]. *Chudoku Kenkyu*. 2006 Jan;19(1):23–33.
55. Zhao N, Liang P, Zhuo X, Su C, Zong X, Guo B, et al. After Treatment with Methylene Blue is Effective against Delayed Encephalopathy after Acute Carbon Monoxide Poisoning. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2018 May 26;122(5):470–80.
56. Freytag DL, Schiefer JL, Beier JP, Grieb G. Hyperbaric oxygen treatment in carbon monoxide poisoning – Does it really matter? *Burns*. 2023 Dec;49(8):1783–7.
57. Turner M, Hamilton-Farrell MR, Clark RJ. Carbon monoxide poisoning: an update. *J Accid Emerg Med*. 1999 Mar;16(2):92–6.
58. Zhao N, Liang P, Zhuo X, Su C, Zong X, Guo B, et al. After Treatment with Methylene Blue is Effective against Delayed Encephalopathy after Acute Carbon Monoxide Poisoning. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2018 May 26;122(5):470–80.
59. Gao H, Xu L, Zhou B, Li L, Sun H, Guo X, et al. Analysis of risk factors of delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning. *Journal of Neurorestoratology*. 2021 Dec;9(4):245–54.

60. Xu L, Liu X, Guo C, Wang C, Zhao J, Zhang X, et al. Inhibition of ROCK2 kinase activity improved behavioral deficits and reduced neuron damage in a DEACMP rat model. *Brain Res Bull.* 2022 Mar;180:24–30.
61. Choi IS. Carbon monoxide poisoning: systemic manifestations and complications. *J Korean Med Sci.* 2001 Jun;16(3):253–61.
62. Raub JA, Mathieu-Nolf M, Hampson NB, Thom SR. Carbon monoxide poisoning — a public health perspective. *Toxicology.* 2000 Apr;145(1):1–14.
63. Piatkowski A, Ulrich D, Grieb G, Pallua N. A new tool for the early diagnosis of carbon monoxide intoxication. *Inhal Toxicol.* 2009 Nov 23;21(13):1144–7.
64. Wolf SJ, Maloney GE, Shih RD, Shy BD, Brown MD, Brown MD, 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 Jan;69(1):98-107.e6.
65. Cha YS, Chang JS, Kim H, Park KS. Application of Mitochondrial and Oxidative Stress Biomarkers in the Evaluation of Neurocognitive Prognosis Following Acute Carbon Monoxide Poisoning. *Metabolites.* 2022 Feb 24;12(3):201.
66. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1–32.
67. Parkinson RB, Hopkins RO, Cleavinger HB, Weaver LK, Victoroff J, Foley JF, et al. White matter hyperintensities and neuropsychological outcome following carbon monoxide poisoning. *Neurology.* 2002 May 28;58(10):1525–32.
68. O'DONNELL P, BUXTON PJ, PITKIN A, JARVIS LJ. The Magnetic Resonance Imaging Appearances of the Brain in Acute Carbon Monoxide Poisoning. *Clin Radiol.* 2000 Apr;55(4):273–80.
69. Durak AC, Coskun A, Yikilmaz A, Erdogan F, Mavili E, Guven M. Magnetic resonance imaging findings in chronic carbon monoxide intoxication. *Acta radiol.* 2005 May 30;46(3):322–7.
70. Lim P, Shikhare S, Peh W. Clinics in diagnostic imaging (154). Singapore Med J. 2014 Aug;55(8):405–10.
71. Lippi G, Rastelli G, Meschi T, Borghi L, Cervellin G. Pathophysiology, clinics, diagnosis and treatment of heart involvement in carbon monoxide poisoning. *Clin Biochem.* 2012 Nov;45(16–17):1278–85.
72. Boerema I. The use of hyperbaric oxygen. *Am Heart J.* 1965 Mar;69(3):289–92.

73. Raphael JC, Elkharrat D, Jars-Guincestre MC, Chastang C, Vercken JB, Chasles V, et al. TRIAL OF NORMOBARIC AND HYPERBARIC OXYGEN FOR ACUTE CARBON MONOXIDE INTOXICATION. *The Lancet*. 1989 Aug;334(8660):414–9.
74. Mintegi S, Clerigue N, Tipo V, Ponticiello E, Lonati D, Burillo-Putze G, et al. Pediatric Cyanide Poisoning by Fire Smoke Inhalation. *Pediatr Emerg Care*. 2013 Nov;29(11):1234–40.
75. Meijne NG. Hyperbaric oxygen, increased pressure and the activities in this field in Boerema's department in the period 1956-1972. *Arch Chir Neerl*. 1973;25(2):195–213.
76. Thom SR. Hyperbaric Oxygen: Its Mechanisms and Efficacy. *Plast Reconstr Surg*. 2011 Jan;127:131S-141S.
77. Gottfried I, Schottlender N, Ashery U. Hyperbaric Oxygen Treatment—From Mechanisms to Cognitive Improvement. *Biomolecules*. 2021 Oct 15;11(10):1520.
78. Choi S. Delayed Neurologic Sequelae in Carbon Monoxide Intoxication. *Arch Neurol*. 1983 Jul 1;40(7):433–5.
79. Weaver LK. CARBON MONOXIDE POISONING. *Crit Care Clin*. 1999 Apr;15(2):297–317.
80. Handa PK, Tai DYH. Carbon monoxide poisoning: a five year review at Tan Tock Seng Hospital, Singapore. *Ann Acad Med Singap*. 2005 Nov;34(10):611–4.
81. Lee H ju, Park JH, Hoe HS. Idebenone Regulates A β and LPS-Induced Neurogliosis and Cognitive Function Through Inhibition of NLRP3 Inflammasome/IL-1 β Axis Activation. *Front Immunol*. 2022 Feb 10;13.
82. Choi Y, Cho YL, Park S, Park M, Hong KS, Park YJ, et al. Anti-Inflammatory Effects of Idebenone Attenuate LPS-Induced Systemic Inflammatory Diseases by Suppressing NF- κ B Activation. *Antioxidants*. 2024 Jan 25;13(2):151.
83. Gillis JC, Benfield P, McTavish D. Idebenone. *Drugs Aging*. 1994 Aug;5(2):133–52.
84. Suno M, Terashita Z, Nagaoka A. Inhibition of platelet aggregation by idebenone and the mechanism of the inhibition. *Arch Gerontol Geriatr*. 1989 May;8(3):313–21.
85. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010;4(8):118.
86. Jaber S, Polster BM. Idebenone and neuroprotection: antioxidant, pro-oxidant, or electron carrier? *J Bioenerg Biomembr*. 2015 Apr 28;47(1–2):111–8.

87. Gueven N, Woolley K, Smith J. Border between natural product and drug: Comparison of the related benzoquinones idebenone and coenzyme Q10. *Redox Biol.* 2015 Apr;4:289–95.
88. King MS, Sharpley MS, Hirst J. Reduction of Hydrophilic Ubiquinones by the Flavins in Mitochondrial NADH:Ubiquinone Oxidoreductase (Complex I) and Production of Reactive Oxygen Species. *Biochemistry.* 2009 Mar 10;48(9):2053–62.
89. Erb M, Hoffmann-Enger B, Deppe H, Soeberdt M, Haefeli RH, Rummey C, et al. Features of Idebenone and Related Short-Chain Quinones that Rescue ATP Levels under Conditions of Impaired Mitochondrial Complex I. *PLoS One.* 2012 Apr 27;7(4):e36153.
90. Morgan MJ, Liu Z gang. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res.* 2011 Jan 28;21(1):103–15.
91. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol.* 2017 Jul 24;17(7):407–20.
92. Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid F, Agid Y, Lees A, et al. Basal Lipid Peroxidation in Substantia Nigra Is Increased in Parkinson's Disease. *J Neurochem.* 1989 Feb 5;52(2):381–9.
93. Suno M, Nagaoka A. Inhibition of lipid peroxidation by idebenone in brain mitochondria in the presence of succinate. *Arch Gerontol Geriatr.* 1989 May;8(3):291–7.
94. SUGIYAMA Y, FUJITA T, MATSUMOTO M, OKAMOTO K, IMADA I. Effects of idebenone (CV-2619) and its metabolites on respiratory activity and lipid peroxidation in brain mitochondria from rats and dogs. *J Pharmacobiodyn.* 1985;8(12):1006–17.
95. Bradley-Whitman MA, Lovell MA. Biomarkers of lipid peroxidation in Alzheimer disease (AD): an update. *Arch Toxicol.* 2015 Jul 18;89(7):1035–44.
96. Tomilov A, Allen S, Hui CK, Bettaieb A, Cortopassi G. Idebenone is a cytoprotective insulin sensitizer whose mechanism is Shc inhibition. *Pharmacol Res.* 2018 Nov;137:89–103.
97. Gueven N, Ravishankar P, Eri R, Rybalka E. Idebenone: When an antioxidant is not an antioxidant. *Redox Biol.* 2021 Jan;38:101812.
98. Zhang N, Liu X, Zhuang L, Liu X, Zhao H, Shan Y, et al. Berberine decreases insulin resistance in a PCOS rats by improving GLUT4: Dual regulation of the PI3K/AKT and MAPK pathways. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 2020 Feb;110:104544.

99. Ersahin T, Tuncbag N, Cetin-Atalay R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway. *Mol Biosyst.* 2015;11(7):1946–54.
100. Lei D, Shao Z, Zhou X, Yuan H. Synergistic neuroprotective effect of rasagiline and idebenone against retinal ischemia-reperfusion injury via the Lin28-let-7-Dicer pathway. *Oncotarget.* 2018 Feb 23;9(15):12137–53.
101. Garman RH. Histology of the Central Nervous System. *Toxicol Pathol.* 2011 Jan 30;39(1):22–35.
102. Suvarna SK, Layton C (Histologist), Bancroft JD. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 536 p.
103. Odacı E, Özyılmaz C. Exposure to a 900 MHz electromagnetic field for 1 hour a day over 30 days does change the histopathology and biochemistry of the rat testis. *Int J Radiat Biol.* 2015 Jul 3;91(7):547–54.
104. Yagi K. [39] Assay for blood plasma or serum. In 1984. p. 328–31.
105. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978 May;86(1):271–8.
106. Bradford M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7;72(1–2):248–54.
107. Servais L, Straathof CSM, Schara U, Klein A, Leinonen M, Hasham S, et al. Long-term data with idebenone on respiratory function outcomes in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders.* 2020 Jan;30(1):5–16.
108. del Moral-Barbudo B, Blancas R, Ballesteros-Ortega D, Quintana-Díaz M, Martínez-González Ó. Current and research therapies for the prevention and treatment of delayed neurological syndrome associated with carbon monoxide poisoning: A narrative review. *Hum Exp Toxicol.* 2020 Jun 22;39(6):765–72.
109. Dong G, Ren M, Wang X, Jiang H, Yin X, Wang S, et al. Allopurinol reduces severity of delayed neurologic sequelae in experimental carbon monoxide toxicity in rats. *Neurotoxicology.* 2015 May 1;48:171–9.
110. Weaver LK, Hopkins RO, Chan KJ, Churchill S, Elliott CG, Clemmer TP, et al. Hyperbaric Oxygen for Acute Carbon Monoxide Poisoning. *New England Journal of Medicine.* 2002 Oct 3;347(14):1057–67.
111. Yan A, Liu Z, Song L, Wang X, Zhang Y, Wu N, et al. Idebenone Alleviates Neuroinflammation and Modulates Microglial Polarization in LPS-Stimulated BV2 Cells and MPTP-Induced Parkinson's Disease Mice. *Front Cell Neurosci.* 2019 Jan 9;12.

112. Tofighi R, Tillmark N, Daré E, Åberg AM, Larsson JE, Ceccatelli S. Hypoxia-independent apoptosis in neural cells exposed to carbon monoxide in vitro. *Brain Res.* 2006 Jul 7;1098(1):1–8.
113. Shen M, Fan D, Zang Y, Chen Y, Zhu K, Cai Z, et al. Neuroprotective effects of methane-rich saline on experimental acute carbon monoxide toxicity. *J Neurol Sci.* 2016 Oct;369:361–7.
114. Fan DF, Hu HJ, Sun Q, Lv Y, Ye ZH, Sun XJ, et al. Neuroprotective effects of exogenous methane in a rat model of acute carbon monoxide poisoning. *Brain Res.* 2016 Feb 15;1633:62–72.
115. Wang W, Li Y, Ren J, Xia F, Li J, Zhang Z. Hydrogen rich saline reduces immune-mediated brain injury in rats with acute carbon monoxide poisoning. *Neurol Res.* 2012 Dec 12;34(10):1007–15.
116. Wang WZ, Qi HN, Xiao QM, Gao X, Zhu BY, Li J, et al. [Effects of Ginaton on nitric oxide and nitric oxide synthase in patients with delayed encephalopathy after carbon monoxide poisoning]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2017 Jan 20;35(1):30–3.
117. Bi MJ, Sun XN, Zou Y, Ding XY, Liu B, Zhang YH, et al. N-Butylphthalide Improves Cognitive Function in Rats after Carbon Monoxide Poisoning. *Front Pharmacol.* 2017 Feb 9;8.
118. Ghorbani M, Mohammadpour AH, Abnous K, Movassaghi AR, Sarshoori JR, Shahsavand S, et al. <sc>G-CSF</sc> administration attenuates brain injury in rats following carbon monoxide poisoning via different mechanisms. *Environ Toxicol.* 2017 Jan 27;32(1):37–47.
119. Li H, Shi Y, Wen D, Luo H, Lin X, Xiao F. A novel effective chemical hemin for the treatment of acute carbon monoxide poisoning in mice. *Exp Ther Med.* 2017 Sep 21;
120. Piantadosi CA, Zhang J, Levin ED, Folz RJ, Schmechel DE. Apoptosis and Delayed Neuronal Damage after Carbon Monoxide Poisoning in the Rat. *Exp Neurol.* 1997 Sep;147(1):103–14.
121. Nabeshima T, Katoh A, Ishimaru H, Yoneda Y, Ogita K, Murase K, et al. Carbon monoxide-induced delayed amnesia, delayed neuronal death and change in acetylcholine concentration in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 1991 Jan;256(1):378–84.
122. Tabrizian K, Shahraki J, Bazzi M, Rezaee R, Jahantigh H, Hashemzaei M. Neuro-Protective Effects of Resveratrol on Carbon Monoxide-Induced Toxicity in Male Rats. *Phytotherapy Research.* 2017 Sep 21;31(9):1310–5.
123. 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(4):189–93.

124. Wang P, Zeng T, Zhang CL, Gao XC, Liu Z, Xie KQ, et al. Lipid Peroxidation was Involved in the Memory Impairment of Carbon Monoxide-induced Delayed Neuron Damage. *Neurochem Res*. 2009 Jul 6;34(7):1293–8.
125. Bagheri G, Rezaee R, Tsarouhas K, Docea A, Shahraki J, Shahriari M, et al. Magnesium sulfate ameliorates carbon monoxide-induced cerebral injury in male rats. *Mol Med Rep*. 2018 Dec 17;
126. Moallem SA, Mohamadpour AH, Abnous K, Sankian M, Sadeghnia HR, Tsatsakis A, et al. Erythropoietin in the treatment of carbon monoxide neurotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*. 2015 Dec 1;86:56–64.
127. Zhang J, Piantadosi CA. Mitochondrial oxidative stress after carbon monoxide hypoxia in the rat brain. *Journal of Clinical Investigation*. 1992 Oct 1;90(4):1193–9.
128. Yu YP, Li ZG, Wang DZ, Zhan X, Shao JH. Hydrogen sulfide as an effective and specific novel therapy for acute carbon monoxide poisoning. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Jan 7;404(1):6–9.
129. Kavakli HS, Erel O, Delice O, Gormez G, Isikoglu S, Tanriverdi F. Oxidative stress increases in carbon monoxide poisoning patients. *Hum Exp Toxicol*. 2011 Feb 1;30(2):160–4.
130. Sahin A, Pasli S, Cicek M, Karahan SC, Mentese A, Yulug E, et al. The Healing Effect of Resveratrol on Ischemic Tissue Injury in an Experimental Carbon Monoxide Poisoning Model. *The Journal of Basic and Clinical Health Sciences*. 2020;
131. Becker C, Bray-French K, Drewe J. Pharmacokinetic evaluation of idebenone. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2010 Nov 19;6(11):1437–44.
132. Gerhardt E, Gräber S, Szegő ÉM, Moiso N, Martins LM, Outeiro TF, et al. Idebenone and Resveratrol Extend Lifespan and Improve Motor Function of HtrA2 Knockout Mice. *PLoS One*. 2011 Dec 19;6(12):e28855.