

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

HİDROJENDEN ZENGİN SALİN SOLÜSYONUNUN
DENEYSEL OLARAK MYOKARDİYAL İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI OLUŞTURULAN RATLARDA
KORUYUCU ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. ZEYNEP KÖKSAL

TEZ DANIŞMANI:
PROF. DR. ÖMER KURTİPEK

ANKARA
ARALIK 2021

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

HİDROJENDEN ZENGİN SALİN SOLÜSYONUNUN
DENEYSEL OLARAK MYOKARDİYAL İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI OLUŞTURULAN RATLARDA
KORUYUCU ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. ZEYNEP KÖKSAL

TEZ DANIŞMANI:
PROF. DR. ÖMER KURTİPEK

ANKARA
ARALIK 2021

TEŞEKKÜR

Anesteziyoloji ve reanimasyon ihtisas sürecim boyunca eğitimime katkıda bulunan ve tezimde destekleri çok olan kıymetli hocalarım; Prof. Dr. Ömer Kurtipek, Prof. Dr. Mustafa Arslan'a; her soruma sabırla cevap veren teorik ve teknik anlamda her zaman akıl danıştığım; Prof. Dr. Yusuf Ünal, Prof. Dr. Berrin Işık hocama, kendilerinden çok şey öğrendiğim Doç. Dr. İrfan Güngör'e ve tüm anesteziyoloji ve reanimasyon hocalarına; her an her konuda yardımcı olan dr. Öğretim üyesi ağabey ve ablalarım çok teşekkür ederim.

Zorlu asistanlık süreci boyunca bilgilerini bize aktaran ve bugünlere geleme sağlayan tüm anesteziyoloji ve reanimasyon ABD hocalarına teşekkür ederim.

Hiçbir zaman yardımını esirgemeyen Kalp ve Damar cerrahisi ABD Öğretim üyesi Doç. Dr. Abdullah Özer ağabeyime teşekkür ederim.

Büyük bir aile olan Gazi Anestezi ailesindeki asistan arkadaşlarıma, anestezi teknisyenlerine ve anesteziyoloji ve reanimasyon yoğun bakım hemşirelerine teşekkür ederim.

Kendisine iyi bir evlat olamaya çalıştığım, her zaman hekim olarak örnek aldığım, hep yanımda hissettiğim babama ve her koşulda bana destek olan anneme çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve bana yardımcı olan biricik eşim Onur Köksal'a ve tez sürecimde yanımda olup beni hiç üzmeyen oğlum Uğur Köksal'a TEŞEKKÜR EDERİM.

Zeynep KÖKSAL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar	iv
ŞEKİLLER	v
KISALTMALAR	vi
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İskemik faz	4
2.2. Reperfüzyon fazı.....	7
2.3 Serbest Oksijen Radikalleri	8
2.4. Polimorf Nüveli Lökositler.....	10
2.5. Kompleman Sistemi.....	12
2.6. Endotel Hücreleri	12
3. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN KORUNMA YÖNTEMLERİ	13
3.1. Kademeli reperfüzyon	14
3.2. İskemik önkoşullama (preconditioning).....	14
3.3. Nötrofillerin temizlenmesi.....	14
3.4 Hipoksik reperfüzyon.....	15

3.5 Antioksidanlar	15
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
5. BULGULAR.....	42
6. TARTIŞMA	55
7. Kaynakça	64
8. Özgeçmiş	71



TABLÖLAR

Tablo 1: Myokardiyal stunning ve myokardiyal hibernasyon farkları.....	29
Tablo 2: Ratların Genel Fizyolojik Bilgileri.....	33
Tablo 3: Rat miyokard dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]	53
Tablo 4: Rat miyokard dokusu oksidan durum parametreleri [Ort $\pm$ SH].....	54



ŞEKİLLER

Şekil 1: İskemi- Reperfüzyon hasarı	6
Şekil 2: İskemi/ reperfüzyon hasarı.....	8
Şekil 3: Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu	10
Şekil 4: Lökositlerin damar endoteli ile etkileşim mekanizması	11
Şekil 5: Antioksidanlar	17
Şekil 6: Miyokardiyal stunning- miyokardiyal hibernasyon	28
Şekil 7: H& E boyalı kardiyak doku kesitleri	43
Şekil 8: İR grubuna ait kardiyak doku kesitleri	44
Şekil 9: İR HRSS grubuna ait kardiyak doku kesitleri.....	46
Şekil 10: <i>İ/R grubundan sıçan kalbine ait mikrograflar görülmektedir.....</i>	48
Şekil 11: <i>İ/R-HRSS grubundan sıçan kalbine ait mikrograflar görülmektedir.....</i>	49
Şekil 12: Kontrol (A), HRSS (B), İ/R (C) ve İ/R-HRSS (D) grubundan sıçan kalplerine ait mikrograflar görülmektedir.	51
Şekil 13: Kontrol (A), HRSS (B), İ/R (C) ve İ/R-HRSS (D) grubundan sıçan kalplerine ait mikrograflar görülmektedir.	52

KISALTMALAR

ΔAbs	:Absorbans değışimi
ACE	:Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ARES	:Ariesteraz
ATP	:Adenozin trifosfat
CAT	:Katalaz
ER	:Endoplazmik retikulum
ET	:Endotelin
GR	:Glutasyon redüktaz
Gr Mİ/R	:Miyokard iskemi/ reperfüzyon grubu
Gr Mİ/R-HRSS	:Miyokard iskemi/ reperfüzyon hidrojen zengin salin, grubu
GSHPx	:Glutasyon peroksidaz
GST	:Glutasyon s-transferaz
GÜDAM	:Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
H&E	:Hemotoksilen eosin
H₂	:Hidrojen
H₂O₂	:Hidrojen peroksit,
HRSS	:Hidrojen zengin salin solüsyonu
ICAM	:Hücre içi adezyon molekülü
IL-1β	:İnterlökin 1-beta
IL-8	:İnterlökin 8
IRH	:İskemi-reperfüzyon hasarı
İÖK	:İskemik ön koşullama
İR	:İskemi reperfüzyon
K	:Kontrol
MCP	:Monosit kemoatraktan protein
MI	:Miyokard enfarktüsü
MIP-2	:Makrofaj inflamatuvar protein,

MIRH	:Myokard iskemi reperfüzyon hasarı
MP	:Mitokondriyal geçirgenlik geçişı
Na – K ATP’az	:Sodyum potasyum adenozin trifosfataz
O₂⁻	:Süperoksit anyonu
OH[°]	:Hidroksil radikali,
ONOO⁻	:Peroksinitrit anyonu
PAF-AH	:Trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz
PECAM-1	:Trombosit-endotel hücre adezyon molekülü 1
PMNL	:Polimorf nüveli lökositler
PON1	:Paraoksonaz-1
PSGL-1	:P-selektin glikoprotein 1
ROM	:Reaktif oksijen metabolitleri
ROS	:Reaktif oksijen türleri
SOA	:Serum oksidasyon aktivitesi
SOD	:Süperoksit dismutaz,
SOR	:Serbest oksijen radikalleri
TAK	:Total antioksidan kapasite
TAS	:Total antioksidan status
TNF-α	:Tümör nekrozis faktör alfa
TOS	:Total oksidan status
TP	:Toplam peroksit
UIÖK	:Uzak iskemik ön koşullama

Özet

Giriş / Amaç

İskemik kalp hastalığı, en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olarak güncelliğini korumaktadır. İskemik dokuya hücre rejenerasyonu, toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Reperfüzyon sonrası kan akımı yeniden sağlanırsa metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler sistemik dolaşımla vücuda yayılır. Çalışmamızın amacı sol ön inen koroner arter(LAD) iskemisi öncesi intraperitoneal olarak hidrojen zengin salin solüsyonu(HRSS) verilmesinin, miyokard iskemisi reperfüzyon (İR) hasarına karşı koruyup korumadığının gösterilmesidir.

Gereç ve Yöntem

Etik kurul onayı alındıktan sonra 24 Wistar Albino rat her grupta 6 rat olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deneysel İR için LAD ligasyonu yapılarak miyokarda iskemisi gerçekleştirildi. Sham grubunda iskemisi gerçekleştirilmeksizin sol torakotomi yapıldı(Grup K). HRSS verilen grupta ratlara miyokard iskemisi yapılmaksızın sol torakotomi yapıp, işlem boyunca HRSS 10 ml/kg olacak şekilde intraperitoneal(ip) verildi(Grup HRSS).MİR ve MİR-HRSS gruplarında 30 dakikalık iskemi takiben LAD ligasyonu kaldırılarak 120 dakikalık reperfüzyon uygulandı (GrupMİR). MİR-HRSS grubunda reperfüzyondan 5 dakika önce tek doz ip olarak 10 ml/kgHRSS uygulandıReperfüzyon dönemi bitiminde alınan miyokard doku örneklerinde histopatolojik ve biyokimyasal parametreler karşılaştırıldı.

Bulgular

İnterstisyel ödem-şiddet,yayılımı; kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem, vakuolizasyon)-şiddet,yayılımı; subendokardiyal hemoraji-şiddet, yayılımı; hiperkontraksiyon band oluşumu-şiddet; yayılımı histopatolojik olarak değerlendirildi.MİR grubunda K grubuna göre bütün morfolojik değişiklikler anlamlı bulundu. MİR-HRSS grubunda ise MİR grubuna göre histopatolojik değişiklikler anlamlı düşük bulundu. HRSS grubunda kardiyomyosit dejenerasyonu şiddet ve yayılımı diğer histopatolojik bulgularla beraber diğer gruplardan az bulundu.

Çalışmamızda biyokimyasal parametrelerden TAS, TOS, PON, arilesteraz değerlendirildi. Antioksidan-oksidan durumla ilgili parametrelerin verdiği sonuca göre HRSS'nin reperfüzyondan önce verilmesinin İR hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir.

Tartışma / Sonuç

Miyokardiyal reperfüzyonun ilk dakikalarında, bir oksidatif stres patlaması üretilir. Bu oksidatif stres, bir dizi mekanizmayla miyokardiyal hasar ve kardiyomiyosit ölümüne aracılık eder. Antioksidan tedavinin bu yaralanmaları önlemek için uygun olduğu düşünülmüştür. Çalışmalarda beyin, böbrek, akciğer, bağırsak ve myokard gibi birçok dokuya İR hasarına karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir. Çalışmamız HRSS'nin miyokard İR hasarı modelindeki miyokard üzerine olası yararlı etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada, HRSS'nin reperfüzyondan 5 dakika önce uygulanmasının interstisyel ödem şiddetini, subendokardiyal hemorajiyi azalttığı ve oksidan durum parametrelerini azaltırken, antioksidan durum parametrelerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamız HRSS'nin miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Başka çalışmalarla desteklendiğinde HRSS'nin İR hasarındaki protektif etkilerinin ayrıntılı olarak gösterileceği, endikasyonlarının genişleyeceği kanaatindeyiz.

Abstract

Introduction / Objective

Ischemic heart disease remains current as one of the most important causes of morbidity and mortality. Re-blood flow is required for cell regeneration and clearance of toxic metabolites into ischemic tissue. If blood flow is restored after reperfusion, substances formed as a result of oxidation of metabolites spread throughout the body through the systemic circulation. The aim of our study is to show whether intraperitoneal administration of hydrogen-rich saline solution (HRSS) before left anterior descending coronary artery (LAD) ischemia protects the myocardium against ischemia-reperfusion (IR) injury.

Materials and Methods

Materials and methods

After ethics committee approval, 24 Wistar Albino rats were divided into 4 groups, 6 rats in each group. For experimental IR, myocardial ischemia was performed by LAD ligation. Left thoracotomy was performed without ischemia in the Sham group (Group K). Left thoracotomy was performed without myocardial ischemia and HRSS was given intraperitoneally (IP) at 10 ml/kg throughout the procedure (Group HRSS). In the MIR-HRSS group, a single dose of 10 ml/kg HRSS was administered 5 minutes before reperfusion. Histopathological and biochemical parameters were compared in myocardial tissue samples taken at the end of the reperfusion period.

Results

Interstitial edema-severity, spread; cardiomyocyte degeneration (edema, vacuolization)-severity, extension; subendocardial hemorrhage-severity, extension; hypercontraction band formation-intensity; Its extension was evaluated histopathologically. All morphological changes were significant in the MIR group compared to the K group. Histopathological changes were significantly lower in the MIR-HRSS group compared to the MIR group. In the HRSS group, the severity and extent of cardiomyocyte degeneration were found less than the other groups, together with other histopathological findings. In our study, biochemical parameters TAS, TOS, PON, and arylesterase were evaluated. According to the results of the antioxidant-oxidant status parameters, it has been shown that the administration of HRSS before reperfusion is protective against IR injury.

Discussion / Conclusion

During the first minutes of myocardial reperfusion, a burst of oxidative stress is produced. This oxidative stress mediates myocardial damage and cardiomyocyte death by a number of mechanisms. Antioxidant therapy was considered appropriate to prevent these injuries. In studies, it has been shown that it has a protective effect against IR damage to many tissues such as brain,

kidney, lung, intestine and myocardium. Our study was conducted to investigate the possible beneficial effects of HRSS on myocardium in myocardial IR injury model. In this study, it was observed that the application of HRSS 5 minutes before reperfusion decreased the severity of interstitial edema, subendocardial hemorrhage and decreased oxidant status parameters, while increasing antioxidant status parameters. In conclusion, our study shows that HRSS is protective against myocardial ischemia-reperfusion injury. We believe that when supported by other studies, the protective effects of HRSS on IR injury will be shown in detail and its indications will be expanded.

1.GİRİŞ

İskemik kalp hastalığı, en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olarak güncelliğini korumaktadır. Gelişmiş ülkelerde her yıl meydana gelen ölümlerin yaklaşık yarısı kalp-damar sistemi ile ilgili sorunlardan kaynaklanmaktadır. En sık görülen şekli “koroner aterosklerotik kalp hastalığı” denilen ve aterosklerotik plaklara ve vazospazma bağlı olarak miyokardı besleyen koroner kan akımının klinik ve patolojik belirti verecek kadar azalmış olduğu durumdur¹.

Miyokardiyal iskemik hasar, koroner kan akışının ciddi şekilde bozulmasından kaynaklanır ve bir dizi klinik sendrom üretir. On yıllardır süren yoğun araştırmaların bir sonucu olarak, miyokardiyumun iskemik duruma verdiği yanıtın karmaşıklığı hakkında ayrıntılı bir anlayış artık mevcuttur. Miyokardiyal iskemi, geri dönüşü olmayan hasara yol açan karakteristik bir metabolik ve

yapısal değişiklik paterni ile sonuçlanır².Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşun hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar³.



İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenzin 5"-trifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir. Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar.⁴İskemi sonrası reperfüzyon, inflamatuvar yanıt ile ilişkili intrasellüler adezyon molekülü (ICAM), interlökin 1-beta (IL-1 β), IL-8, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi birçok transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Reperfüzyon sonrası kan akımı yeniden sağlanır ise metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler sistemik dolaşım ile tüm vücuda yayılır. İskemik alana oksijenin sunumu sonucu oluşan toksik maddelerden en önemlileri serbest oksijen radikalleri (SOR)"dir. Olağan koşullarda, antioksidan mekanizmalar oluşan SOR"u ortamdan uzaklaştırır ve bu organizmada denge halindedir. Antioksidan savunma sistemleri yetersiz olursa SOR miktarı artar ve şiddetli reperfüzyon hasarı oluşur.⁵

Ayrıca aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik inflamatuvar yanıtı başlatabilir. Bu yanıtlar iskemi reperfüzyon (İR) hasarıolarak tanımlanır.⁶İR hasarından korunmak için değişik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan biri, ilk kez 1986 yılında Murry ve ark.⁷ tarafından kalpte tarif edilen iskemik ön koşullamadır (İÖK). İÖK, kısa iskemik epizodları izleyen reperfüzyon

periyodları ile dokunun sonradan gelecek uzun süreli iskemiyeye dayanıklılığını artıran süreç olarak tanımlanmıştır. Bir diğer yöntem uzak iskemik ön koşullamadır (UIÖK). Bir organa uygulanan İR epizodlarının başka bir organda iskemiyeye karşı dayanıklılığı artırmasına UIÖK denilmektedir.⁸

Ohsawa ve ark.⁹ yaptıkları çalışmada hidrojen (H₂)'nin reaktif oksijen türleri (ROS)'nin en sitotoksik olanı hidroksil radikalini seçici olarak indirgediği ve hücreleri efektif bir şekilde koruduğunu; fizyolojik öneme sahip diğer ROS'lar ile etkileşime girmediğini göstermiş. Ayrıca, H₂ gazının solunmasının, miyokardiyal İR hasarının rat modelinde enfarktüs boyutunu azalttığını gösterilmiştir.¹⁰

Bu çalışmanın amacı sol ana koroner arter iskemisi öncesi intra peritoneal olarak hidrojenden zengin salin solüsyonu (HRSS) verilmesinin, miyokardı İR hasarına karşı koruyup korumadığının gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Açık kalp cerrahisinin başladığı ilk yıllardanberi, morbidite ve mortalitenin büyük oranda postoperatif kardiyak pompa yetersizliği ile ilgili olduğu dikkati çekmiştir. Özellikle 1970'li yıllardan itibaren yaygınlaşan koroner arter cerrahisi döneminde, postoperatif kardiyak pompa yetersizliğinin en önemli nedeninin iskemik kardiyak arrest ve reperfüzyon sırasında oluşan miyokardiyal injuri olduğu iyice anlaşılmıştır¹¹.

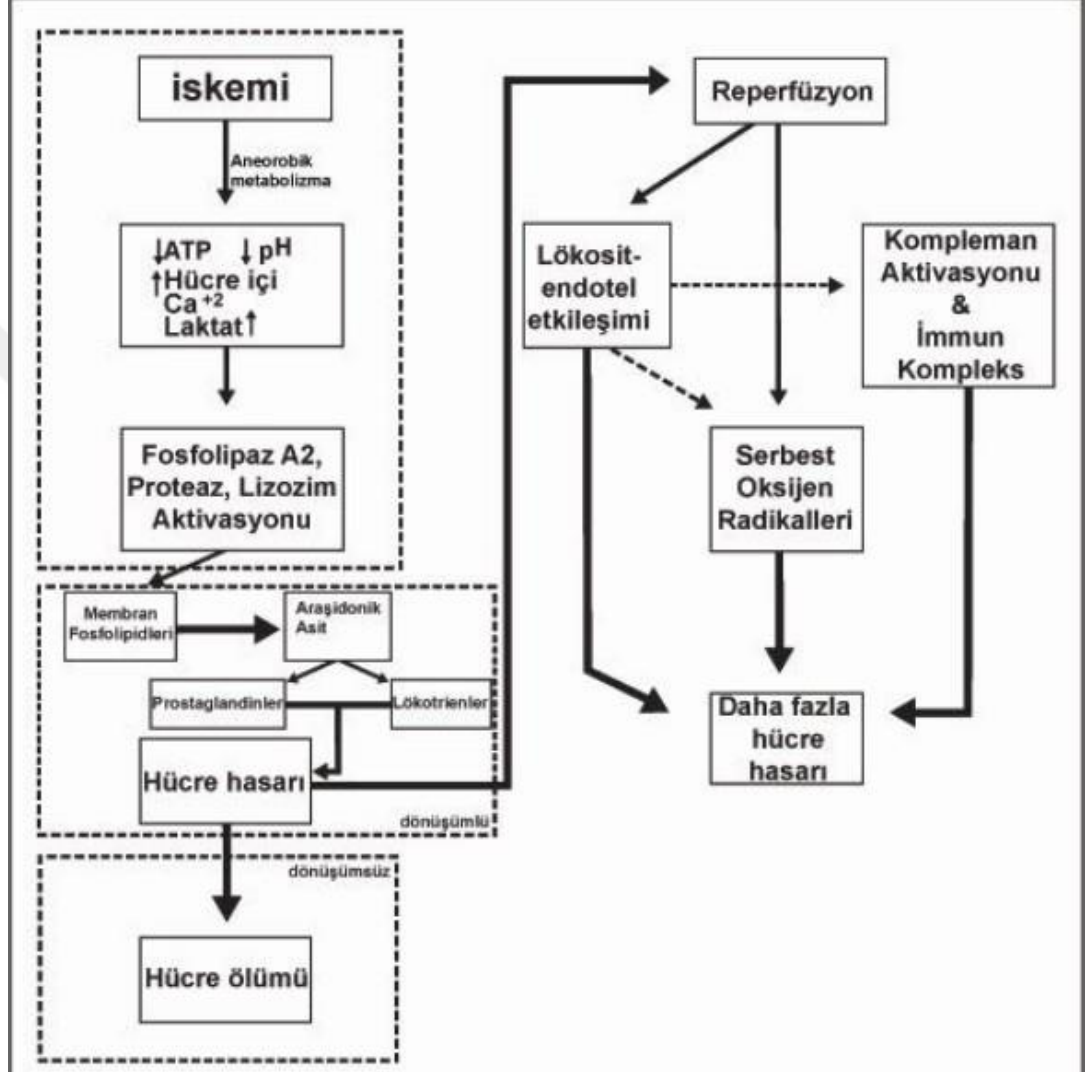
2.1. İskemik faz

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosin 5'-trifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir. Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar.⁴

İskemi sırasında, hücre pH'ında bir düşüşe neden olan anaerobik metabolizma hakimdir. Bu hidrojen iyonu birikimini tamponlamak için, Na^+/H^+ değiştiricisi fazla hidrojen iyonu salgılar ve bu da büyük miktarda sodyum iyonu

akışı oluşturur. İskemi ayrıca ATPazları (örneğin, Na⁺/K⁺ATPaz) inaktive eden, aktif Ca²⁺ akışını azaltan ve endoplazmik retikulum (ER) tarafından kalsiyumun yeniden alımını sınırlayan hücrel ATP'yi tüketir ve böylece hücrede aşırı kalsiyum yükü oluşturur. Bu değışikliklere, mitokondriyal membran potansiyelini dağıtan ve ATP üretimini daha da bozan mitokondriyal geçirgenlik geçişi (*MPT*) gözeneğinin açılması eşlik eder. Kalpte, bu hücrel değışikliklere, miyofibrillere zarar veren ve hiper kontraktür ve kontraktür bandı nekrozu üreten hücre içi proteazların (örneğin kalpainler) aktivasyonu eşlik eder.¹²

İskemi sırasında iskemik hasara katkıda bulunmayan diğeri biyokimyasal olaylar meydana gelir, ancak oksijen ve kan temini yeniden sağlandığında kanda oluşan elementlerin iletilmesiyle beslendiğinde, doku hasarını şiddetlendiren olaylar dizisini tetikler. İskemi reperfüzyon hasar oluşumu Şekil 1’de anlatılmıştır.



Şekil 1: İskemi- Reperfüzyon hasarı ¹³

2.2. Reperfüzyon fazı

Kan akışını yeniden kurmanın iki yararlı sonucu vardır: iskemik dokuya oksijen ve enerji geri yüklenir ve toksik metabolitler uzaklaştırılır.¹⁴

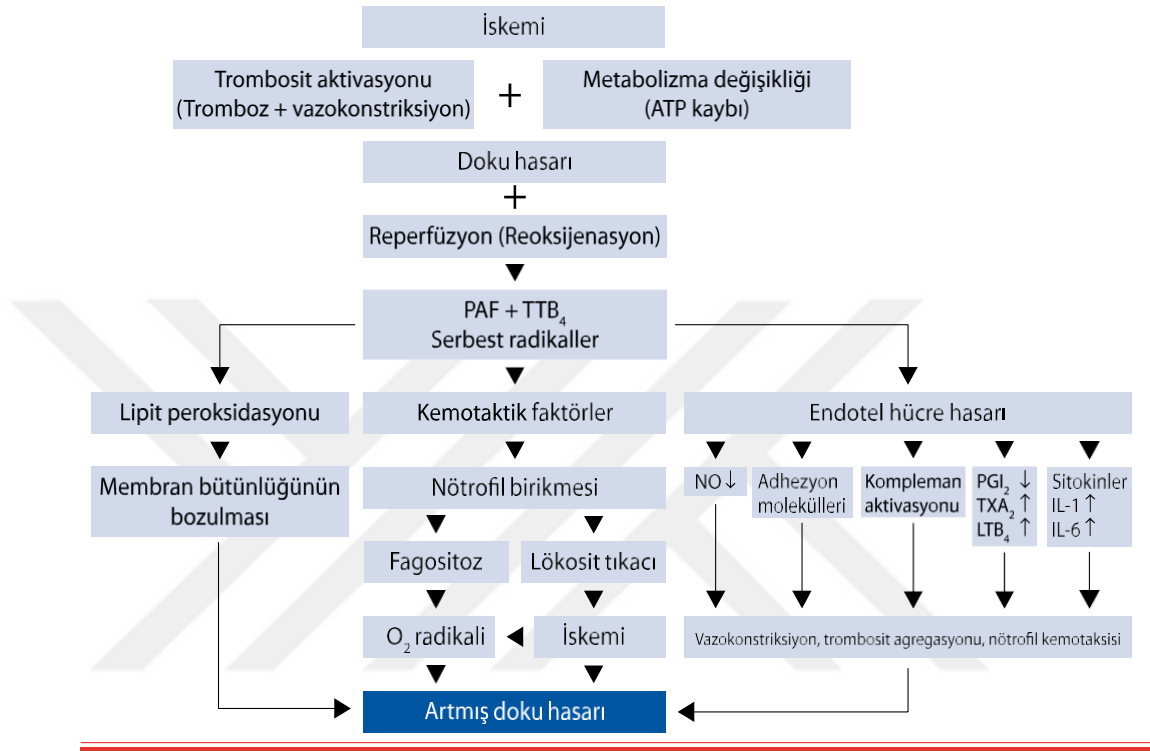
Bu reperfüzyon hasarı, inflamatuvar bir kaskadın aktivasyonunu içerir ve kritik olarak yaralanan bazı miyositlerde fonksiyonel bozukluk, aritmi ve hücre ölümünün hızlandırılmış ilerlemesi olarak kendini gösterir. Reperfüzyon hasarının başlıca araçları oksijen radikalleri, kalsiyum yüklemesi ve nötrofillerdir.²

Miyokardın reperfüzyon hasarı karmaşıktır ve birkaç bağımsız etiyolojiden oluşan birfenomendir. Reperfüzyonun en erken aşamasında (yani dakikalar), kardiyomiyositlerde kontraktür gelişimi görülür, nekroz kardiyomiyosit hasarının birincil nedenidir. Bundan sonra (yani dakikalar ile saatler arası), çeşitli ek nedenler hücre ölümünün daha da artmasına neden olabilir nekroz veya apoptoz ile veya vasküler yetmezlik ile kardiyomiyosit hasarı şiddetlenebilir.¹⁵

İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkilerikarmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisidir.⁴ (Şekil 2)

Özellikle;

1. Serbest oksijen radikalleri
2. Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
3. Kompleman sistemi
4. Endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır.



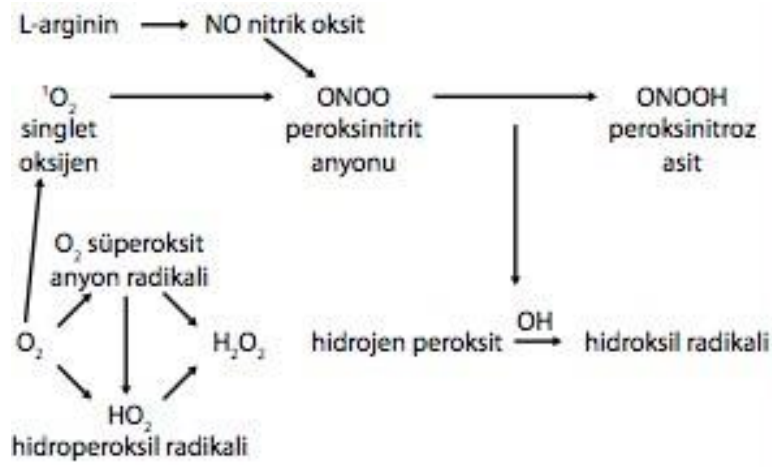
Şekil 2: İskemi reperfüzyon hasarı¹⁶

2.3 Serbest Oksijen Radikalleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), İR sırasında miyokardda hızlı bir şekilde oluşmaktadır ve İR hasarının en önemli nedeni olarak kabul edilmektedir.¹⁷ Reperfüzyonun başında mitokondriyal solunum hızı ve serbest radikal üretimi belirgin derecede artar. Bu radikaller hücre intrinsik serbest radikal yakalayıcı sistemlerin kapasitesini aşabilir ve hücresel fonksiyon kaybına yol açabilirler. Dokuların tükettiği oksijenin büyük bir kısmı (%95) aerobik metabolizma için kullanılırken, %5'inin ROS'a çevrildiği tahmin edilmektedir.

Oksijenden üretilen en önemli reaktif türler arasında süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\bullet$), peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$) vardır. Bu radikaller membran hasarı, deoksiribonükleik asit (DNA) yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedirler.¹ (Şekil 3)

ROS'un in vivo ve in vitro olarak miyokardiyal fonksiyon üzerinde doğrudan inhibe edici bir etki uyguladığı gösterilmiştir. Gerçekte, normal miyokardiyumun ROS üreten sistemlere veya H_2O_2 ,e maruz kalması, sürekli hücrel potasyum kaybı, yüksek enerjili fosfatların tükenmesi, yüksek hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, sistolik fonksiyon kaybı, diyastolik gerginlikte progresif bir artış, depresif metabolik fonksiyon ve aritmiler dahil olmak üzere reperfüzyon hasarını taklit edecek şekilde miyokardiyal fonksiyonu değiştirir.¹⁸ Depresif miyokardiyal kasılmanın altında yatan mekanizma, tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, mitokondri, sarkoplazmik retikulum ve sarkolemanın membranöz bileşenleri, ROS aracılı miyokardiyal disfonksiyonun en kritik hedeflerini temsil edebilir. ROS'un izole edilmiş mitokondrinin işlevini bozduğu ve daha sonra adenosin (ATP) tükenmesine yol açtığı gösterilmiştir.¹⁷



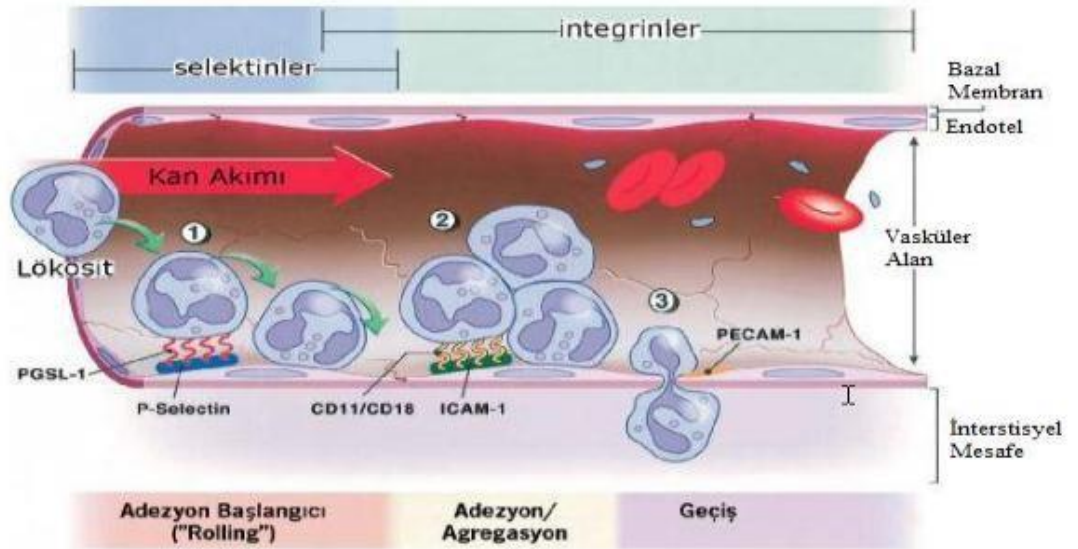
Şekil 3: Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu⁴

2.4. Polimorf Nüveli Lökositler

İskemi reperfüzyon hasarı, lökosit aktivasyonu, kemotaksi, lökosit-endotel hücre adezyonu ve transmigrasyon ile karakterizedir. Lökositler, endotel üzerinde lökosit 'yuvarlanması', lökositlerin endotele sıkı yapışması ve endotelial transmigrasyon ile karakterize edilen bir dizi farklı adım yoluyla vasküler endotel ile etkileşime girer (Şekil 4). Bu çok adımlı paradigmaya göre, ilk adım şu şekilde başlatılır: Lökosit karşı reseptörü P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) ile etkileşime giren endotelial P-selektin (CD62P) yüzey ekspresyonunda İR'nin neden olduğu artışlar. Bu ilk düşük afiniteli etkileşim, aralıklı lökosit-endotelial bağlanma veya "lökosit yuvarlanması" ile sonuçlanır. Sert lökosit yapışması, lökosit b2 integrinleri CD11a / CD18 ve CD11b / CD18'in endotelial hücre içi adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ile müteakip etkileşiminden kaynaklanır. İnterstisyel bölmeye lökosit transmigrasyonu, endotel hücre bağlantıları boyunca yapısal olarak eksprese edilen trombosit-endotel hücre adezyon molekülü 1 (PECAM-1) tarafından kolaylaştırılır. Ekstravasküler bölmeye ulaşıldığında,

aktive edilmiş lökositler toksik ROS, proteazlar ve elastazlar salgılar ve bu da mikrovasküler geçirgenlikte artış, ödem, tromboz ve parankimal hücre ölümüne neden olur. Ekstravasküler bölmede PMNL birikimi, hipoksik dokulardan salınan interlökin 8 (IL-8) tarafından da kolaylaştırılır ve bu da nötrofilleri intravasküler boşluktan hipoksik interstisyuma yönlendiren bir kemotaktik gradyan ile sonuçlanır.¹⁹

Oksijen radikalleri, iskemik bölgedeki yaralı miyositler ve endotel hücrelerinin yanı sıra iskemik bölgeye giren ve reperfüzyonda aktive olan nötrofiller tarafından üretilir. Bu oksijen radikalleri, kalsiyum yüklenmesine yol açan membran hasarını şiddetlendirir. Nötrofiller mikro sirkülasyonda birikir, inflamatuvar araçları serbest bırakır ve mikrovasküler obstrüksiyona ve reperfüze miyokardda no reflow fenomenine katkıda bulunur.²



Şekil 4: Lökositlerin damar endoteli ile etkileşim mekanizması ^{4, 19}

2.5. Kompleman Sistemi

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyarak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder.⁴

Yapılan çalışmalarda, akut iskemiden sonra, komplemanın majör patojenik etkisinin birkaç saat sonra meydana geldiğini ve bu nedenle, kompleman aktivasyonunun inhibisyonunun, morbidite ve mortalitede karşılık gelen azalma ile enfarktüs boyutunu hala azaltabildiği bir terapötik fırsat penceresi olduğunu göstermektedir. Henüz klinik olarak kullanılan hiçbir anti-kompleman ilaç olmamasına rağmen, sonuçlar bunların geliştirilmesini ve test edilmesini desteklemektedir.²⁰

2.6. Endotel Hücreleri

İskemi reperfüzyon hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve nitrik oksit (NO)'i üretir. NO arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. ET'nin İR gibi patolojik durumlarda rol oynayabileceğine dair kanıtlar vardır. Miyokardiyal

iskemi, ET salımını, bu peptidin plazma seviyelerini ve gen ekspresyonunu artırır; bu peptid miyokardiyal enfarktüs veya vazospastik anjina pektorisli hastalarda yükselir. Ayrıca, ET reseptörlerinin antagonistleri, enfarktüs boyutunu azaltabilir ve sonrasında miyokardiyal performansın iyileşmesini sağlayabilir. Endotelinin bu zararlı etkisinin mekanizmaları, koroner vazokonstriksiyon ve koroner kan akışının azalması ve / veya NO antagonizmasını içerebilir.²¹

3.İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN KORUNMA YÖNTEMLERİ

1. Kademeli reperfüzyon
2. İskemik Önkoşullama (*preconditioning*)
3. Nötrofillerin temizlenmesi
4. Hipoksik reperfüzyon
5. Antioksidanlar
 - Süperoksit dismutaz
 - E vitamini
 - Tiyoller
 - Katalaz
6. İlaçlar ve diğer terapötik girişimler
 - Kalsiyum antagonistleri
 - Anjiotensin dönüştürücü enzim
 - Allopürinol
 - Demir şelasyon

3.1. Kademeli reperfüzyon

Sato ve ark. anestezi uygulanmış 16 köpekte sol ön inen arteri 60 dakika bağladıkları çalışmada. Bir grupta, reperfüzyona aniden başlandı (ani, n=8), kademeli reperfüzyon grubunda (rampa, n=8), reperfüzyonun ilk 30 dakikasında akış yavaşça başlatıldı. Sonuç olarak; İskemik bir bölgenin kademeli reperfüzyonun enfarktüs boyutunu küçülttüğü ve endotel fonksiyonunu koruduğunu ancak paradoksal olarak nötrofil birikiminin arttığını bildirmişlerdir.²²

3.2. İskemik önkoşullama (preconditioning)

Kısa bir iskemi epizodunun sonraki iskemik epizodlar sırasında ATP tükenmesi oranını yavaşlattığı gösterilmiştir. Ek olarak, aralıklı reperfüzyon, iskemi sırasında biriken katabolitleri yıkayarak miyokardiyuma faydalı olabilir. Bu nedenle, çok sayıda kısa iskemik atağın, kalbi daha sonraki sürekli iskemiden gerçekten koruyabileceği önerilmektedir.⁷

3.3. Nötrofillerin temizlenmesi

Oksijen radikalleri, iskemik bölgedeki yaralı miyositler ve endotel hücrelerinin yanı sıra iskemik bölgeye giren ve reperfüzyonda aktive olan nötrofiller tarafından üretilir. Bu oksijen radikalleri, kalsiyum yüklenmesine yol açan membran hasarını şiddetlendirir. Nötrofiller mikro sirkülasyonda birikir, inflamatuvar araçları serbest bırakır ve mikrovasküler obstrüksiyona ve reperfüze miyokardda no reflow fenomenine katkıda bulunur². Nötrofillerin dokudan temizlenmesi İR hasarını azaltacaktır.

3.4 Hipoksik reperfüzyon

Son zamanlarda yapılan birkaç çalışmanın sonuçları, reaktif oksijen metabolitlerinin iskelet kasında İR hasarının büyük bir kısmından sorumlu olduğunu göstermiştir. Muhtemelen sitotoksik oksidanlar, reperfüzyon sırasında moleküler oksijen (reaktif oksijen metabolitlerinin kaynağı) dokulara yeniden verildiğinde üretilir.²³

3.5 Antioksidanlar

Antioksidan terimi yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak nadiren tanımlanmaktadır. Önerilen bir tanım, bir antioksidanın "oksitlenebilir bir substratın oksidasyonu ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğunda, o substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya önleyen bir madde" olduğudur. Birçok maddenin in vivo antioksidan görevi görüğüne sürülmüş, ancak çok azının bunu yaptığı kanıtlanmıştır.²⁴ Endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olan antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin ortaya konmasında İR hasarı modelleri önemli katkı sağlamıştır. Antioksidan özelliği öne sürülmüş pek çok madde çeşitli İR modellerinde test edilerek değerlendirilmiştir.⁴ (Şekil 5)

A. Endojen antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

1. Enzim olan endojen antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSHPx), Glutasyon S-Transferaz (GST), Katalaz (CAT), Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz.

2. Enzim olmayan endojen antioksidanlar: Melatonin, seruloplazmin, transferin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, albümin.

B. Eksojen antioksidanlar

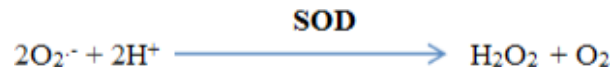
1. Vitamin eksojen antioksidanlar: α -tokoferol(vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat).

2. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten) nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar) rekombinant SOD, troloks-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein) nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin) nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar, demir şelatörleri.⁴

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GSHPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
VİTAMİN ANTİOKSİDANLAR	EKSOJEN İLAÇ OLARAK KULLANILAN ANTİOKSİDANLAR	EKSOJEN
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9, folat)	Troloks-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSHPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

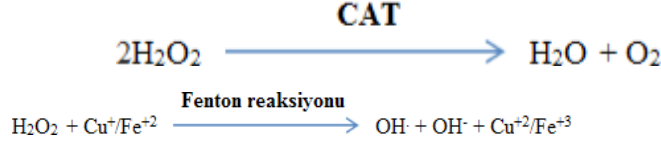
Şekil 5: Antioksidanlar²⁵

Süperoksit Dismutaz



Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalının ($\text{O}_2^{\cdot-}$) H_2O_2 ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Ekstrasellüler düzeyde enzimatik olarak $\text{O}_2^{\cdot-}$ leri etkisizleştirebilen tek antioksidandır

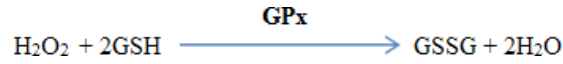
Katalaz



Hidrojen peroksit düşük miktarlarda hücre proliferasyonunda sinyal iletimi, hücre ölümü, karbonhidrat metabolizması, mitokondriyal fonksiyon ve trombosit aktivasyonu ve normal tiyol redoks dengesinin korunması gibi bazı fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar. Ancak yüksek konsantrasyonlarda hücre için çok zararlı olduğu ifade edilmektedir.

Katalaz, her bir polipeptit alt birimi yapısında tek bir ferriprotoporfirin içeren bir hemoproteindir. H_2O_2 moleküllerini sürekli olarak izler ve yoğunlukları artar. CAT bir saniyede milyonlarca H_2O_2 molekülünü parçalayabilir. Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali($\text{OH}^\cdot$) oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır²⁶.

Glutasyon Peroksidaz



Hücre içi glutasyon membrana bağlı transpeptidaza aktarılarak taşınır. GSH'nın membrana bağlı olan γ -glutamil transpeptidaza taşınması, γ -glutamil aminoasitlerin oluşumuna yol açmaktadır. γ -glutamil sistein taşımımı hücresel sisteinin korunmasında oldukça önemlidir. Hücresel glutasyon tanımı, tiyol gruplarını ve α -tokoferol gibi diğer membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidan hasara karşı korunmasını sağlamakta, bunun yanı sıra,

serbest radikallerle direkt reaksiyonu ile, Glutasyon peroksidazlara ve Glutasyon Stransferazlara substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır.²⁷

GSH-Px“ın fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal etkisi ile fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır.²⁸

Glutasyon redüktaz



Glutasyon redüktaz (Glutasyon: NADP+ oksidoredüktaz, EC 1.8.1.7; GR) düşük (GSH) veya yüksek molekül ağırlıklı (GSSG) disülfid substratları ile indirgenmiş piridin nükleotidleri (NADPH) arasında elektron transferini katalizler.²⁹

E vitamini

Vitamin E, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonu, vitamin E“nin zincir kırıcı etkisiyle sonlandırılabilir.⁴

Kalsiyum Antagonistleri

Kalsiyum kanal blokerlerinin, İR'dan sonra miyokardiyal iyileşmeyi iyileştirdiği bildirilmiştir, ancak bunların koroner kan akışı düzenlemesi üzerindeki etkileri tanımlanmayı beklemektedir.³⁰

Anjiyotensin dönüştürücü enzim

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonunun, insanlarda ve hayvanlarda miyokard enfarktüsünden sonra mortalitede iyileşme, İR hasarından sonra enfarkt boyutunda azalma ve miyokard enfarktüsünden sonra kardiyak yeniden şekillenmenin önlenmesi gibi kardiyoprotektif etkileri vardır. ACE, anjiyotensin II sentez enzimi, bir kinin parçalayıcı enzim olan kininaz II ile aynı enzimdir. ACE inhibitörlerinin kardiyovasküler sistemle ilgili çoklu eylemler kısmen bradikinin ile ilgilidir. Örneğin Kitakaze ve ark. ACE inhibitörlerinin, öncelikle bradikinin birikiminin bir sonucu olarak koroner kan akışını artırdığını ve miyokardiyal iskemiye iyileştirdiğini bildirmiş ve Martorana ve ark. ACE inhibisyonu ile enfarktüs boyutunda bir azalmanın bir bradikinin reseptör antagonisti tarafından ortadan kaldırıldığını bildirmiştir.^{31,32}

Total antioksidan status (TAS)

Total antioksidan kapasite (TAK)'yi gösterir. Normal koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma

sistemine sahiptir. TAK“ye en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85“inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, flavinoidler, indirgenmiş glutatyon (GSH) alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidan durumun komponentlerine nazaran albümin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Antioksidanlar plazmada etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferölü yeniden aktifleştirmesini sağlaması verilebilir.

Reaktif oksijen türleri metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmalarda onları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif mekanizmalarla uzaklaştıran zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir. Bazı koşullar altında, oksidanlarda artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez ve oksidatif/antioksidatif denge, oksidatif duruma doğru kayar. Sonuç olarak, 100'den fazla bozuklukta rol oynayan oksidatif stres gelişir.^{33,34}

Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır.^{34,35}

Total oksidan status (TOS)

Farklı oksidanların serum (veya plazma)

konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir, ancak ölçümler zaman alıcı, yoğun emek gerektirir ve maliyetlidir ve karmaşık teknikler gerektirir.³⁶ Farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığından bir numunenin toplam oksidan durumu (TOS) ölçülür ve buna toplam peroksit (TP) adı verilir, serum oksidasyon aktivitesi (SOA), reaktif oksijen metabolitleri (ROM) veya diğer bazı eş anlamlılar. TOS'u ölçmek için birkaç farklı kolorimetrik yöntem geliştirilmiş olsa da, hiçbiri ideal değildir ve büyük analitik problemleri ve teknik kısıtlamaları vardır. Toplam oksidan durumunu (TOS) ölçmek kolay, güvenilir, hassas ve ucuzdur.³⁴

Paraoksanaz (PON) / Arilesteraz (ARES)

Paraoksonaz-1 (PON1), 354 aminoasitli glikoprotein yapısında ve üç aktiviteli bir enzimdir. Bunlar paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonazdır.³⁷ İnsan serum PON1 enzimi yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili, antioksidan fonksiyona sahip olduğu kabul edilen bir enzimdir. Deneysel çalışmalarda PON1 enziminin HDL-kolesterolün apo-A1 ve apo-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir³⁸. PON1'i kodlayan gen, 7. kromozomun q 21-22 bölgesine yerleşmiştir. Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. Paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılanırsa da, yapılan çalışmalar ve araştırmalar göstermiştir ki insan serumunda tek gen ürünü olan paraoksonaz enzimi hem arilesteraz, hem de paraoksonaz aktivitesine sahiptir. Ayrıca PON1'in, düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol

(LDL-K)“ü bakır (Cu) iyonu ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan koruyarak antioksidan fonksiyonunu yerine getirdiği düşünülmektedir . En belirgin etkisini, ileri düzeyde değişikliğe uğramış LDL-K“deki kolesterol linoleat hidroperoksitleri hidroliz ederek gösterir. Ateroskleroz gelişiminde, oksidatif stres altında oluşan hidrojen peroksiti %25 oranında hidroliz eder. Bu özellik PON1“in peroksidaz aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. PON1 enzim aktivitesinin miyokard enfarktüsü, diyabet ve kronik renal bozukluk ailesel hiperkolesterolemi de azaldığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir.³⁹ İnsan serum PON1 enzimi; karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan, Ca bağımlı ve 43-45 kDa molekül ağırlıklı bir ester hidrolazdır. Ca, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir ve katalitik mekanizmada da rol oynamaktadır. PON1 enzimi, karaciğer, ince bağırsak, böbrek başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunur.⁴⁰ Serum PON1 aktivitesi, beslenme, akut faz proteinleri, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı, simvastatin tedavisi ve apo A1 metabolizmasını etkileyen durumlardan etkilenmektedir.⁴¹ HDL, LDL“yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimlerin (PON1, Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz [PAF-AH]) oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır.⁴² HDL kolesterol yapısında bulunan PON1 enzimi, minimal modifiye LDL“deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir.⁴³ PON1, okside LDL“deki kolesterol linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri hidroliz eder. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipid

peroksidasyonuna uğramaktadır. PON1 lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir.⁴⁴ PON1, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL kolesterol'ün ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır.^{33, 45}

PON enzimi, LDL'yi oksidasyondan koruyarak ve hidrojen peroksit dahil serbest radikalleri nötralize ederek antioksidan aktivite gösterir ^{46,47,48} . Bu denge bozulduğunda oksidatif hasar meydana gelir.

Artmış lipid peroksidasyonu aynı zamanda artmış oksidatif stresin sonuçlarından biridir⁴⁹. İn vivo ve in vitro çalışmalarda artmış lipid peroksidasyonunda eritrosit fonksiyonlarının ve membran bütünlüğünün bazı parametrelerinin bozulduğu bildirilmiştir. Artmış oksidatif stres ile ilişkili lipid peroksidasyonu nedeniyle ortaya çıkan ürünler, membran geçirgenliğini ve mikro viskoziteyi önemli ölçüde etkiler. Böylece eritrositlerin deforme olma kapasitesinin azaldığı ve hayatta kaldıkları gözlenir⁵⁰. Cízová ve ark., rat cinsinin iskemisinin (iskemi süresine bağlı olarak) doğal antioksidan aktivitesini arttırdığı hipoteziyle açıklanabilir.. Bununla birlikte, bu verileri açıklamak içindaha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.⁵¹

Myokardiyal İskemi- Reperfüzyon

Miyokardiyal iskemik hasar, koroner kan akışının ciddi şekilde bozulmasından kaynaklanır ve bir dizi klinik sendromüretir. On yıllardır süren yoğun araştırmaların bir sonucu olarak, miyokardiyumun iskemik duruma verdiği yanıtın karmaşıklığı hakkında ayrıntılı bir anlayış artık mevcuttur. Miyokardiyal iskemi, geri dönüşü olmayan hasara yol açan karakteristik bir metabolik ve yapısal değişiklik paterni ile sonuçlanır.²Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar.³

Morfolojik modeller, tıkalı olmayan koroner arterin dağılımında riskli aniskemik miyokardiyal yatakta nekrozun bir dalga olarak miyokardiyal enfarkta evrimine karşılık gelir. Riskli yatağın lateral sınırlarında iskemik ve iskemik olmayan miyokardiyum arasında oldukça keskin bir sınır vardır. Geri döndürülemez yaralanmanın başlangıcı, bir miktar kollateral kan akışı alan subepikardiyuma kıyasla perfüzyon eksikliğinin en şiddetli olduğu iskemik subendokardiyumda yaklaşık 20 ila 30 dakika sonra başlar. Geri dönüşümsüz miyokardiyal yaralanma daha sonra alt-endokardiyumdan subepikardiyuma bir dalga hareketiyle ilerler. Çoğu miyokard enfarktüsü genellikle şiddetli iskeminin başlangıcından 3 ila 4 saat sonra tamamlanır.²

Reperfüzyon, iskemik epizot sırasında zaten geri döndürülemez şekilde yaralanan miyokardın çekirdeğindeki miyokardiyal hasar modelini değiştirir (Şekil 2). Reperfüzyon, geri dönüşü olmayan miyositlerde kasılma bantlarına ve kalsiyum yüklenmesine, hasarlı kan damarlarından kan sızmasına bağlı olarak bölgede kanamaya ve laboratuvar testlerinde miyokard enfarktüsünü saptamak için kullanılan işaret proteinlerinin hızlandırılmış salınmasına neden olur. Tüm bu değişiklikler, zaten geri döndürülemez şekilde yaralanan miyokardda meydana gelir. Bununla birlikte, reperfüzyonun, önceki iskemi periyodu sırasında ciddi şekilde bozulmuş olan bir miyosit popülasyonunun geri döndürülebilirten geri döndürülemez hasarına dönüşmesine yol açabileceğine dair kanıtlar vardır. Geri döndürülemez hasarın mekanizması hasarlı sarkomalı metabolik olarak bozulmuş miyositlerin aşırı kalsiyum yüklenmesidir. Bununla birlikte, reperfüzyon iskemi başlangıcından 2 ila 3 saat sonra başlatılırsa, kurtarma miktarı, geri döndürülemez reperfüzyon hasarına uğrayan miyokardın miktarını büyük ölçüde aşar.^{52,53}

Miyokardiyal stunning

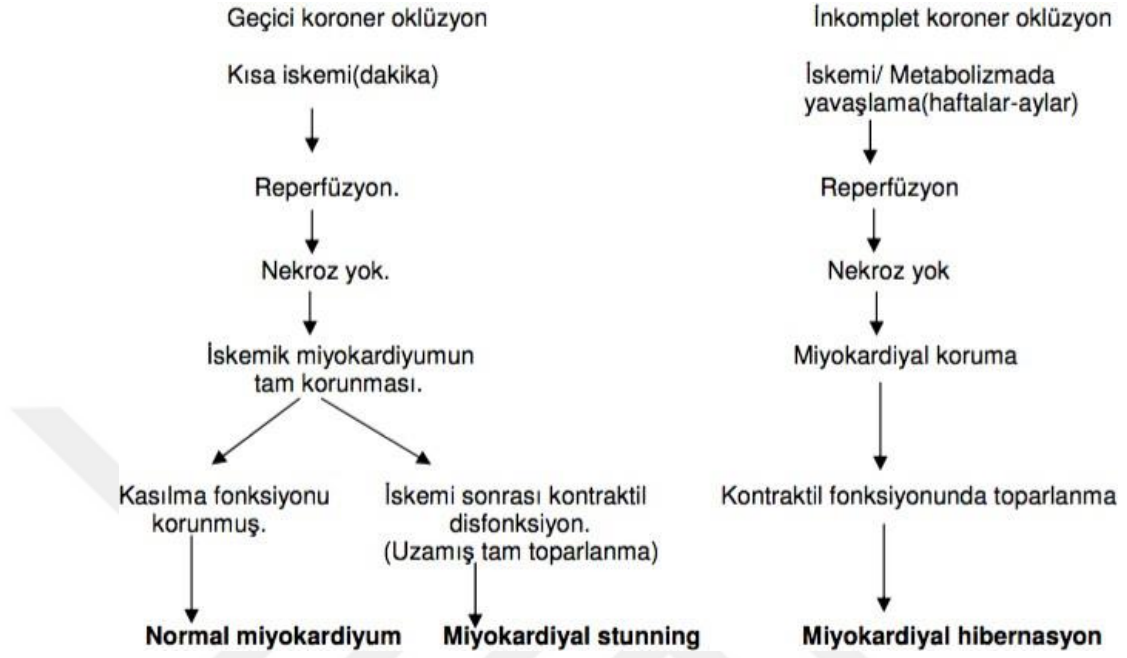
Postiskemik disfonksiyon veya miyokardiyal stunning, geri dönüşü olmayan hasar olmamasına rağmen reperfüzyondan sonra devam eden mekanik disfonksiyondur. Bu tanımın esas noktası, postiskemik disfonksiyonun, ne kadar şiddetli veya uzun süreli olursa olsun, tamamen geri döndürülebilir bir anormallik olduğudur. Miyokardiyal stunning tanısı, söz konusu dokunun hala tamamen yaşayabilir olduğuna dair makul bir güvence sağlanmadıkça yapılmamalıdır.

Miyokardiyal stunning için önerilen çok sayıda mekanizma arasından üçü daha makul görünmektedir: 1) oksijen radikallerinin oluşumu, 2) aşırı kalsiyum yüklenmesi ve 3) uyarma-kasılma ayrılması⁵⁴ (Şekil 6), (Tablo 1)

Miyokardiyal hibernasyon

Miyokardiyal hibernasyonun patofizyolojisi, koroner stenozun çıkarılmasından sonra düzelen bir koroner arter stenozunun distalinde azalmış bölgesel kontraktıl fonksiyon durumu olarak karakterize edilir. Bölgesel enerji ve substrat metabolizmasını normalleştiren ancak 12-24 saatten fazla sürmeyen, azalmış bölgesel miyokardiyal kan akışına yanıt olarak kontraktıl fonksiyonun subakut bir “aşağıregülasyonu” mevcuttur.

1980'lerin başlarında, Rahimtoola⁵⁵, koroner baypas ameliyatı denemelerinin sonuçlarını sistematik olarak gözden geçirdi ve koroner arter hastalığı ve revaskülarizasyonda düzelen kronik sol ventrikül disfonksiyonu olan hastaları belirledi. Bu bulgulara dayanarak, Rahimtoola ilk olarak miyokardiyal kasılmanın ve metabolizmanın ve ventriküler fonksiyonun azalmış kan kaynağına uyacak şekilde azaldığı "uzamış subakut veya kronik miyokardiyal iskemi durumunu" karakterize etmek için miyokardiyal hibernasyonun patofizyolojik konseptini tanımlamıştır. "miyokardiyal nekrozun önlendiği yeni bir denge durumudur ve miyokardiyum yeterli kan kaynağının restorasyonu üzerine normale veya normale yakın fonksiyonuna dönebilir".⁵⁶ (Şekil 6), (Tablo 1)



Şekil 6:Miyokardiyal stunning- miyokardiyal hibernasyon ⁵⁷

Tablo 1:Myokardiyal stunning ve myokardiyal hibernasyon farkları⁵⁸

Tedavisi	a) Oksijen radikal temizleyiciler (scavenger) b) Ca kanal blokerleri c) Adenozin agonistleri d) K kanal açıcıları Volatil anestetikler (izofluran)	a) Hastanın semptomatik durumu önemlidir b) Koroner anatomisinin angioplasti veya cerrahiye uygunluğu önemlidir c) Canlı miyokard dokusunun varlığının gösterilmesi önemlidir d) Revaskülarizasyonsuz medikal tedavi hibernasyonda yetersiz kalmak tadır e)Gen tedavisi f)İskemik kalp hastalığına bağlı sol ventrikül fonksiyonlarındaki bozulma koroner arter bypass greftleme (KABG) ile düzeltilmektedir
	Miyokardiyal stunning	Miyokardiyal hibernasyon
Özellikleri	a)Şiddetli iskemiye izleyen saatler, günler veya haftalar içinde oluşan geçici kontraktıl disfonksiyondur b) Koroner kan akımı normal olsa bile kontraktılfonksiyonlar depresedir	a)Kronik bir olaydır b)Koroner kan akımı azalmıştır c)Reversibl miyokard vardır d)Kan akımı normale döndürüldüğünde anormallik geriye döner
Mekanizması	a)Oksijen kaynaklı serbest radikalle b)Kalsiyum homeostazisinde bozulma	a)Koroner kan akımındaki şiddetli azalma b)Miyokardda tekrarlayan reperfüzyon olayları

Hidrojen zengin salin solüsyonu (HRSS)

İskemi-reperfüzyon veya inflamasyonun neden olduğu akut oksidatif stres, dokularda ciddi hasara neden olur ve kalıcı oksidatif stres, kanser dahil birçok yaygın hastalığın nedenlerinden biri olarak kabul edilir.⁹

Hemen hemen her kimyasal maddede ve doğanın her yerinde bulunan H₂, yeni bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır. H₂'nin ilk olarak OH ve ONOO⁻ dahil en güçlü oksidanları seçici olarak azalttığı bildirilmiş ve daha sonra bazı patofizyolojik koşullarda süperoksidan anyon seviyesini zayıflattığı belirtilmiştir.⁵⁹

H₂ hızlı gaz difüzyonu ile etkili bir antioksidan görevi gördüğü bildirilmiştir. Bir sıçanın midesine hidrojene doymuş su (hidrojen suyu) yerleştirildiğinde, kanda birkaçµM seviyesinde hidrojen tespit edilmiş. Hidrojen gazı sürekli tüketim için uygun olmadığından, fareler kullanarak hidrojen gazı solumak yerine istenildiği kadar hidrojen suyu içip içmediğini, oksidatif stresi azaltarak bilişsel bozukluğu önleyip önlemediği araştırılmış. Hidrojenli suyun, kognitif veya diğer nöronal bozukluklarda önleyici kullanım için uygulanabileceği bildirilmiştir.⁶⁰

Hidrojen farklı çalışmalarda, farklı yollarla deneysel olarak kullanılmış. Hidrojenli suyun peroral kullanımının yanı sıra, intra venöz (iv) ve intraperitoneal olarak da kullanılmıştır. Hidrojenle zenginleştirilmiş salinin iv kullanımının da böbrek dokusu üzerinde İR hasarını azalttığı görülmüştür.⁶¹

Yapılan pek çok çalışmada hidrojen açısından zengin salinin renal^{62,61}, karaciğer⁶³ ve intestinal⁶⁴ İR hasarına karşı antioksidatif ve antiinflamatuvar etkinliği olduğu bildirilmiştir.

Bir çalışmada rabdomyolize bağlı gelişen böbrek hasarında HRSS dozları mukayese edilmiş. Düşük dozlarda (5 ml/kg) da hidrojenden zengin salin solüsyonunun histolojik hasarı azalttığı bulunmuş; fakat yüksek dozlarda (10 ml/kg) daha iyi sonuç alındığı izlenmiştir.⁶⁵

Hidrojen zengin salinin kardiyoprotektif etkisine farklı dozlarda bakılan bir çalışmada ⁶⁶ 5; 7,5; 10 ml/ kg HRSS uygulanmış tüm dozlarda kardiyoprotektif etki izlenmiş. Doz artışı ile etkinin arttığı gözlemlenmiştir.

İzole edilmiş rat kalbinde hidrojen zengin salin uygulanarak anti apoptotik mekanizma incelenen bir çalışmada; HRSS'nin myokard iskemi reperfüzyonunu azalttığı gözlemlenmiştir.⁶⁷

Hidrojen açısından zengin salinle tavşanlarda akciğer İR hasarı incelendiğinde oksidatif hasarın zayıfladığı ve dokulardaki endojen antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı, HRSS tedavisinin koruyucu etkisine atfedilebileceğini düşünülmüştür.⁶⁸

Ohsawa ve ark.⁹ yaptıkları çalışmada H₂'nin reaktif oksijen türlerinin en sitotoksik olanı hidroksil radikalini seçici olarak indirgediği ve hücreleri efektif bir şekilde koruduğunu; fizyolojik öneme sahip diğer ROS'lar ile etkileşime

girmediğini göstermiş. Ayrıca, H₂ gazının solunmasının, miyokardiyal İRhasarının sıçan modelinde enfarktüs boyutunu azalttığı gösterilmiştir.¹⁰

Hidrojen açısından zengin salinin ROS ve TNF- α / nükleer faktör kappa B (NF-Kb) yolunu baskılayarak karotis balon hasarından sonra neointima oluşumu üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, yeni bir antioksidan olarak ortaya çıkan moleküler hidrojen, anjiyoplasti sonrası neointimal hiperplazi ve restenozun önlenmesinde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir⁵⁹. Neointimal aşırı büyümeyi inhibe etmesi, en azından kısmen ROS'u nötralize etme ve ardından TNF- α /NF- κ B yolunu baskılama kabiliyetine bağlanmıştır. Neointima oluşumunun hidrojen tarafından engellenmesine yönelik kesin mekanizmanın, daha fazla araştırılması gerekmektedir.

Hayashida ve ark.⁶⁹, H₂ gazının solunmasının miyokardiyal İR sırasında kardioprotektif etki gösterip göstermediğini araştırmıştır. Solunan H₂ gazının hızla taşındığını ve tıkalı enfarktüsle ilişkili arterin koroner kan akışı yeniden sağlanmadan önce "riskli" iskemik miyokardiyuma bile ulaşabileceğini göstermişler. İskemi ve reperfüzyon sırasında H₂ gazının solunması, hemodinamik parametreleri değiştirmeden enfarktüs boyutunu önemli ölçüde azalttığını, böylece zararlı sol ventrikül (LV) yeniden şekillenmesini önlediğini göstermişlerdir.

H₂ gazı, klinik pratikte uygulanabilseydi, diğer antioksidatif ilaçlardan çok daha ucuza gelirdi. Bununla birlikte, H₂ gazı inhalasyonunun klinik uygulaması kolay değildir ve yanıcı ve patlayıcı olduğu için tehlikeli olabilir. Hidrojenden zengin salin olarak adlandırılan H₂ gazına doymuş fizyolojik salin ise

uygulanması kolay ve güvenlidir. Bu nedenle, HRSS uygulamasının miyokard İR hasarı modelinde koruyucu bir etki gösterip göstermediğini araştırdık⁷⁰. Sıçanlarda miyokard İR hasarında HRSS tedavisinden sonra oksidatif stres ve histopatolojik yanıtını inceledik.

Hayvan deneylerinde ratların kullanımı:

Laboratuvarlarda kolay üretilibilmeleri, sakin olmaları, kardiyak kollateral dolaşımlarının az olması ve daha önceki miyokardiyal İR modellerinde kullanılmaları nedeniyle deney hayvanı olarak rat seçtik.

Tablo 2:Ratların Genel Fizyolojik Bilgileri⁷¹

Parametre	Ortalama değer
Yaşam süresi (yıl)	2,5 - 3,5
Rektal vücut ısı (°C)	35,9 - 37,5
Vücut ağırlığı (gr)	250-520
Kalp atım hızı (atım/dk)	250-450
Sistolik arter basıncı (mmHg)	88-184 (116)
Ortalama arter basıncı (mmHg)	78-171 (99)
Diastolik arter basıncı (mmHg)	58-145 (90)
Solunum sayısı	100-150/dk

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından, G.Ü.ET-20-057 kod numara ve 20.10.2020 tarihli etik kurul izni alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)“inde Ocak-2021 tarihinde gerçekleştirildi.

Denekler ve çalışma grupları

Araştırma amacı ile 24 adet erişkin erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Ratlar 20-21°C ısıda, 12 saat gece 12 saat gündüz peryodları sağlanarak ve anestezi uygulamasından 2 saat öncesine kadar yemelerine izin verilecek şekilde bakıldı. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Yapılacak tüm cerrahi işlemler ketamin ve ksilazin anestezisi altında steril koşullarda gerçekleştirildi.

Sham grubu (Gr K, n=6): Bu gruptaki ratlara miyokart iskemisi yapılmaksızın sadece sol torakotomi yapıp kapatılıp, işlemden 150 dakika sonra anestezi altında ratların miyokart dokusu çıkartılarak ve bu dokularda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

Hidrojen zengin salin solüsyon grubu (Gr H, n=6): Bu gruptaki ratlara miyokart iskemisi yapılmaksızın sadece sol torakotomi yapıp kapatıldı, işlem boyunca hidrojenden zengin salin solüsyonu 10 ml/kg olacak şekilde intraperitoneal verildi. İşlemden 150 dakika sonra anestezi altında ratların miyokart dokusu çıkartılarak ve bu dokularda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

Miyokard iskemi/ reperfüzyon grubu (Gr Mİ/R, n=6): Bu gruptaki ratlarda sol torakotomi yapıldı. 30 dakika süre ile sol ana koroner (LAD) ligasyonu yapılarak miyokard kasında iskemi gerçekleştirildi. 30 dakikalık iskemiye takiben LAD ligasyonu kaldırılarak reperfüzyon başlatıldı. 120 dakikalık reperfüzyon sonrasında anestezi altında ratların miyokart dokusu çıkartılarak ve bu dokularda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

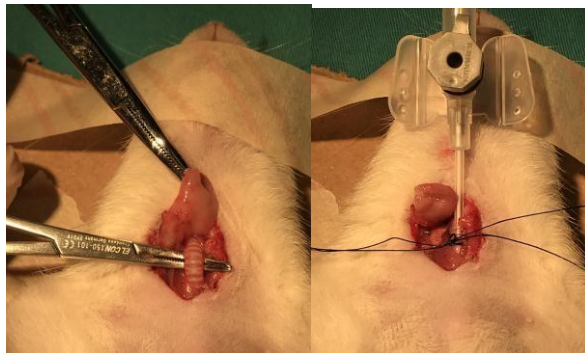
Myokard İskemi/ reperfüzyon Hidrojen Zengin Salin grubu (Gr Mİ/R-HRSS, n=6): Bu gruptaki ratlarda reperfüzyondan 5 dakika öncesi tek doz intraperitoneal olacak şekilde 10 ml/kg HRSS uygulandı. Ratlarda sol torakotomi sonrasında 30 dakika süre ile LAD ligasyonu ile miyokardiyal iskemi gerçekleştirildi. 30 dakikalık iskemiye takiben ligasyon kaldırıldı ve reperfüzyon başlatıldı. 120 dakikalık reperfüzyon sonrasında anestezi altında ratların miyokart dokusu çıkartılarak ve bu dokularda histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

Hidrojenle Zenginleştirilmiş Salin Üretimi

Hidrojen, yüksek bir basınç (0.4 MPa) altında, süper doymuş bir seviyeye kadar 6 saat süreyle % 0.9 salin içinde çözündürüldü. H₂ tuzlu su, atmosferik basınç altında 4 °C'de ölü hacmi olmayan bir alüminyum torba içinde saklandı, gama radyasyonu ile sterilize edildi ve konsantrasyonun 0.6 mmol / L'de muhafaza edilmesini sağlamak için haftada bir kez taze olarak hazırlandı. Ohsawa ve arkadaşları tarafından açıklanan yöntemle salin içindeki hidrojen içeriğini doğrulamak için gaz kromatografisi gerçekleştirildi.⁹

Cerrahi yöntem

Deney başlangıcında; intramüsküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamin hidroklorid (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg'dan ksilazin hidroklorid (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. İşlem, bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi. Supin pozisyonda yatırılıp cerrahi sahaları tıraş edildikten sonra boyun orta hatta yaklaşık 1cm'lik vertikal insizyon yapıldıktan sonra künt diseksiyonlarla trakeaya ulaşıldı (Resim 1a) ve 16 Gintraket (Medipro Nova Cath İstanbul, Türkiye) ile trakeostomi açıldı (Resim 1b). Mekanik ventilatöre (Harvard Apparatus Rodent Model Ventilator, Inspiraasv, Hollstone, ABD) bağlanan ratlara işlem süresince %100 oksijen ile tidal volüm 10-15ml/kg ve solunum frekansı 65-80/dk olacak şekilde ventilasyon desteği sağlandı. (Resim 2a ve 2b). Sol 4. İnterkostal aralıktan yapılan insizyonla torakotomi yapıldı (Resim 3a). Perikart zarı soyuldu LAD sahasından 8/0 prolenele geçilerek iskemi yapıldı (Resim 3b, 3c).



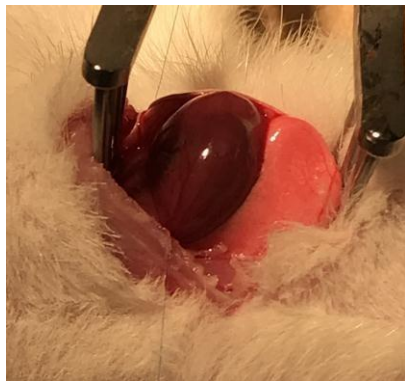
Resim 1: a ve Resim 1b



Resim 2: a ve 2b



Resim 3: 3a, 3b



Resim 3c

Ötenazi sonrasında miyokard dokuları bütünlük bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alındı. Histopatolojik inceleme için %10'lık formol içine konuldu, sıvı azot içinde dondurularak biyokimyasal inceleme için -80°C de saklandı.

Histopatolojik değerlendirme

Sıçan kalp dokuları histopatolojik değişikliklerin analizi için rutin doku takibi sonrası parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica SM 2000, Germany) ile kalbin bazisine paralel, 5µm kalınlığında transvers kesitler alınarak H&E ile boyandı. Hazırlanan doku örnekleri Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskopunda görüntülenerek Leica LAS V4.9 programında değerlendirildi. İskemi reperfüzyon hasarını değerlendirmek için kalp dokusu kesitlerinde interstisyel ödem, kardiyomiyosit dejenerasyonu (kardiyomiyositlerde ödem, vakuolizasyon), subendokardiyal hemoraji ve kontraksiyon band oluşumu incelendi ⁷²⁷³. Bunun için her bir hayvandan alınan 5µm kalınlığındaki kesitlerde lezyonların şiddeti (0=hasar yok, 1=hafif hasar, 2=orta derecede hasar ve 3=belirgin hasar) ve lezyonların yayılımı (0=hasar yok, 1=fokal hasar, 2=multifokal hasar ve 3=yaygın hasar) skorlandı. Böylece her kalp dokusu için her bir değişkene ait ortalama bir şiddet skoru ve ortalama bir yayılım skoru belirlendi ve daha sonra ortalama bir grup skoru hesaplandı ⁷²⁷³Tüm bu veriler gruplar arası karşılaştırıldı.

Biyokimyasal değerlendirme

Dokuların Homojenizasyonu

–80° dondurucuda tutulan dokular sıvı azot dolu taşıyıcı kaba alındıktan sonra kullanılacak olan örnek eppendorf tüpünden çıkarıldı. Çözünmesine izin verilmeden dokular hızla hassas terazide tartılıp 22 numaralı bistüri ucu (PLUSMED®) kullanılarak 80-100 mg olarak ayrıldı. Alınan doku parçaları porselen havanda sıvı azot varlığında ezildi. Toz halindeki dokular homojenizasyon tüpüne aktarılıp üzerlerine; her bir gram doku için, dilüsyon 1/10 olacak şekilde 140 mM KCl solüsyonu eklendi. Homojenizasyonda ısı artışı olmaması için homojenizasyon tüpü kar dolu cam beher içinde tutularak, iki dakika süre ile 50 dönüş/dakika (rpm) hızda homojenizatör (Glas_Col K5424®) ile homojenizasyon işlemi tamamlandı. Homojenizat eppendorf tüpüne alındı. Eppendorf tüpleri parafilm ile kaplandıktan sonra 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj (Hettich Mikro 200R®) edildi. Santrifüj sonrası süpernatant başka bir eppendorf tüpüne alınarak Total Oksidatif Durum (TOS) ve Total Antioksidan Durum (TAS), PON ve Arilesteraz ölçümleri yapıldı.

Total Antioksidan Durum (TAS) Ölçümü

Total antioksidan seviye ölçümünde, TAS kiti (RelAssay Diagnostic®, Türkiye) kullanıldı. TAS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiğı şekilde, 500 mL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 mL örnek karıştırılıp spektrofotometre ile (NanoDrop®ND-1000), 660 nm’de absorbans ölçümü yapıldı (A1). Eppendorf tüpündeki karışıma 75 mL reaktif 2 (renkli 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-

sülfonik asit), (ABTS) solüsyonu eklendi. Tüp parafilmle kaplanarak, 37 °C deki sıcak su banyosunda (Şimşek Labortechnik®) 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 660 nm’de absorbans ölçümü yapıldı (A2). Standart ölçümü için, 1 mmol/L konsantrasyonundaki Trolox Eq çözeltisi örnek yerine kullanıldı. İlk ve ikinci ölçümler üçer defa yapılarak ortalaması alındı. İkinci absorbans değerinden (A2) ilk absorbans değeri (A1) çıkarılarak absorbans değişimi (Δ Abs) hesaplandı. TAS düzeyleri kitte belirtilen formülle hesaplandı ve mmol Trolox Eq/L olarak ifade edildi.

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

Total Oksidatif Durum (TOS) Ölçümü

Total oksidan seviye ölçümünde, TOS kiti (RelAssay Diagnostic®, Türkiye) kullanıldı. TOS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, 500 mL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 mL örnek karıştırılıp spektrofotometre (NanoDrop®ND-1000) ile 530 nm’de absorbans ölçümü yapıldı (A1). Karışıma 25 mL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklendi. Tüp parafilmle kaplanarak 37°C’deki sıcak su banyosunda (Şimşek Labortechnik®) 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 530 nm’de absorbans ölçümü yapıldı (A2). Standart ölçümü için kitte verilen, 10 μ mol/L hidrojen peroksit (H_2O_2) ekivalan/ litre içeren standart çözeltisi kullanıldı. İlk ve ikinci ölçümler üçer defa yapılarak ortalaması alındı. İkinci absorbans değerinden (A2) ilk absorbans değeri (A1) çıkarılarak absorbans değişimi (Δ Abs) hesaplandı. TOS düzeyleri kitte belirtilen formülle hesaplandı, mmol H_2O_2 Eq/L olarak ifade edildi.

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

Paraoksanaz (PON) Ölçümü /Ariesteraz ölçümü

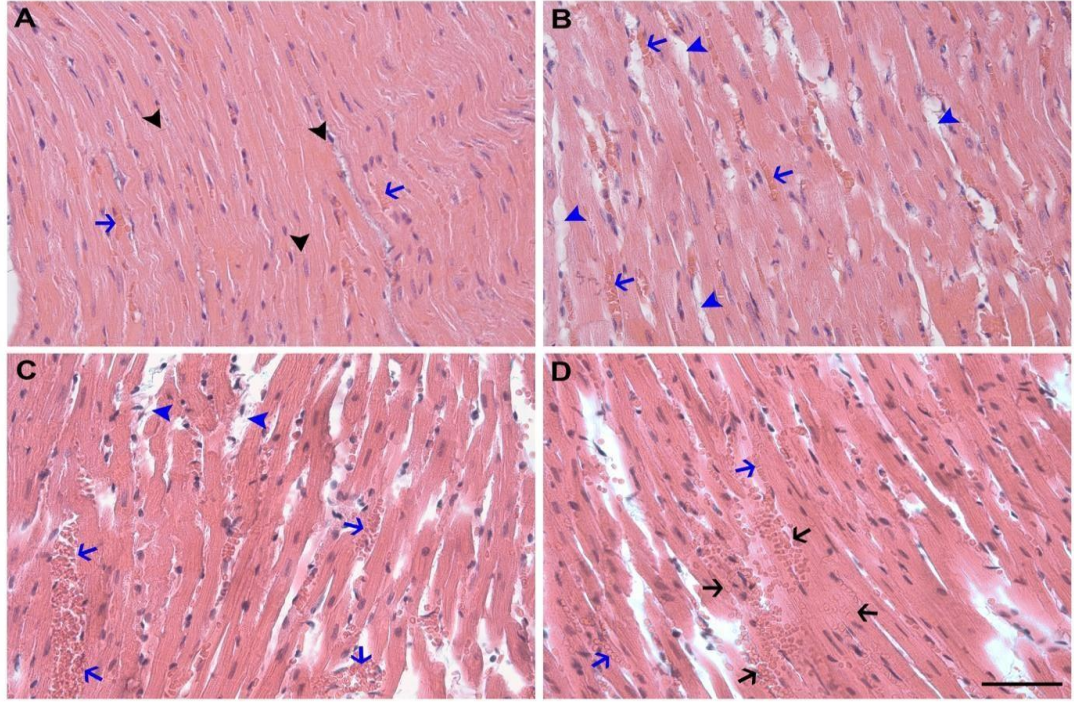
Serum PON-1 seviyeleri, modifiye Eckerson yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. İlk paraokson hidroliz oranları (0-dietil-0-p-nitro-fenilfosfat; Sigma Chemical Co., Londra, İngiltere), 37 ° C'de 405 nm'de serbest kalan p-nitrofenol ölçülerek belirlendi⁷⁴.

İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20.0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Bulgular ortalama $\pm$ standart hata (SH) olarak verildi. Veriler Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlılık tespit edilen değişkenler, Bonferroni düzeltmeli Mann-Withney U testi ile değerlendirildi.

5. BULGULAR

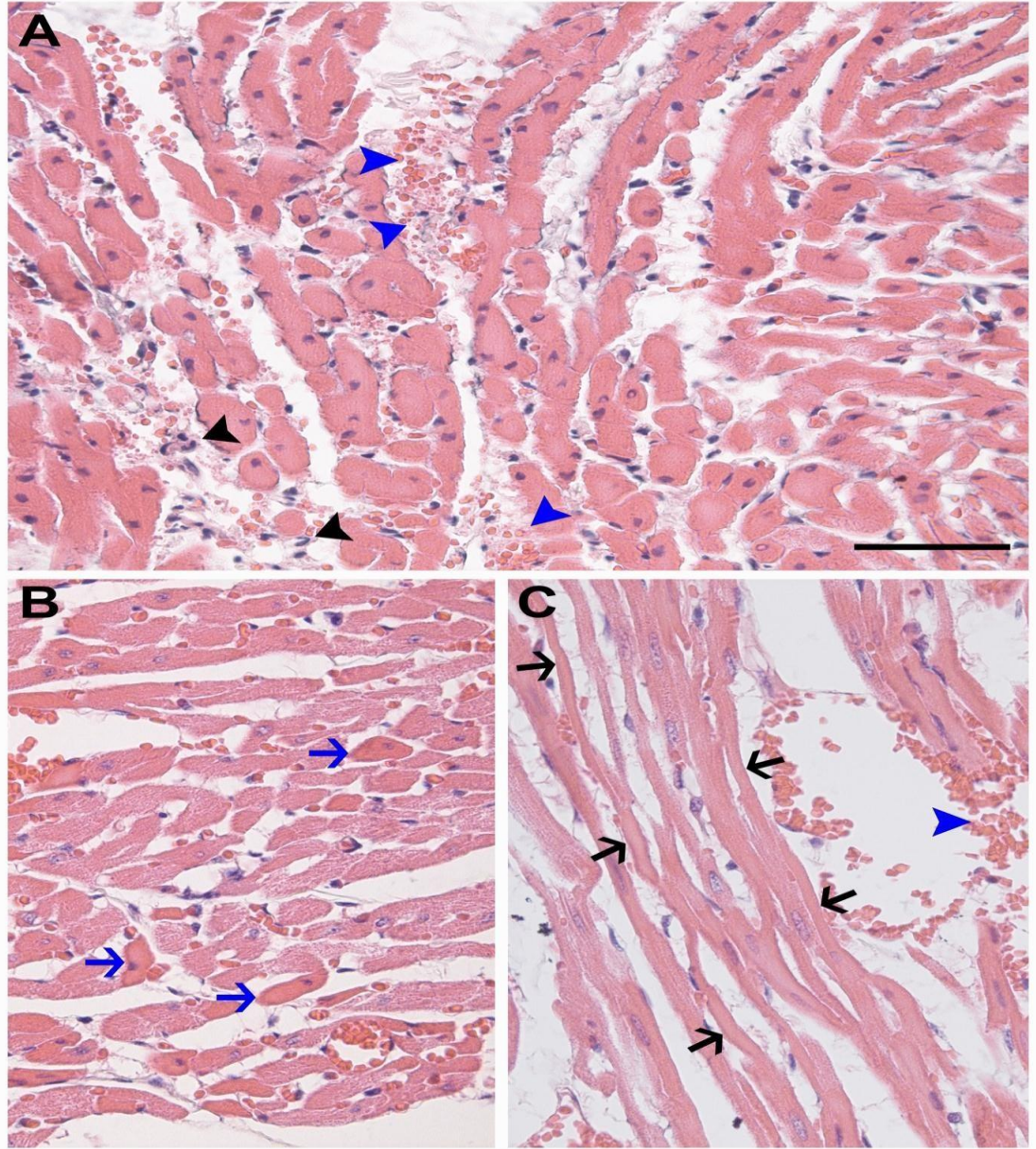
Hemotoksilen – Eozin (H&E) boyalı kesitlerin analizinde, kontrol grubundan hayvanların kardiyak dokularında, genel olarak belirgin diskus interkalarisler ve enine çizgilenmeleri ile sağlam miyokardiyal hücrelerin olduğu alanlarda hafif bir konjesyon göze çarpmıştır (**Şekil 7. A**). Kontrol ve HRSS grubundan hayvanların doku örneklerinde benzer düzeyde interstisyel ödem izlenirken, kontrol grubunda hafif konjesyon (**Şekil 7. B**), HRSS grubunda ise belirgin konjesyon (**Şekil 7. C**) yanı sıra fokal eritrosit ekstrasvazasyonu dikkati çekmiştir (**Şekil 7. D**).



Şekil 7: H& E boyalı kardiyak doku kesitleri.

Kontrol ve HRSS grubuna ait görüntüler Kontrol (A ve B) ve HRSS (C ve D) grubundan sıçan kalplerine ait mikrograflar görülmektedir. Kontrol hayvanlarına ait kesitlerde diskus interkalaris (siyah ok başları; A) ve enine çizgilenmelerin belirgin olduğu sağlam miyokardiyal hücreler ve hafif düzeyde konjesyone damarlar (mavi oklar; A ve B) izlenmektedir. Hafif interstisyel ödemin (mavi ok başları; B) izlendiği kesit alanlarında, yer yer hücrelerin ödem nedeniyle soluklaştığı görülmektedir. HRSS grubundan sıçan kalbine ait kesitlerde hafif interstisyel ödeme (mavi ok başları; C) belirgin konjesyon (mavi oklar; C ve D) ve yer yer eritrosit ekstravazasyonunun (siyah oklar; D) eşlik ettiği görülmektedir. Tüm mikrograflar için bar 50 μ m. H&E.

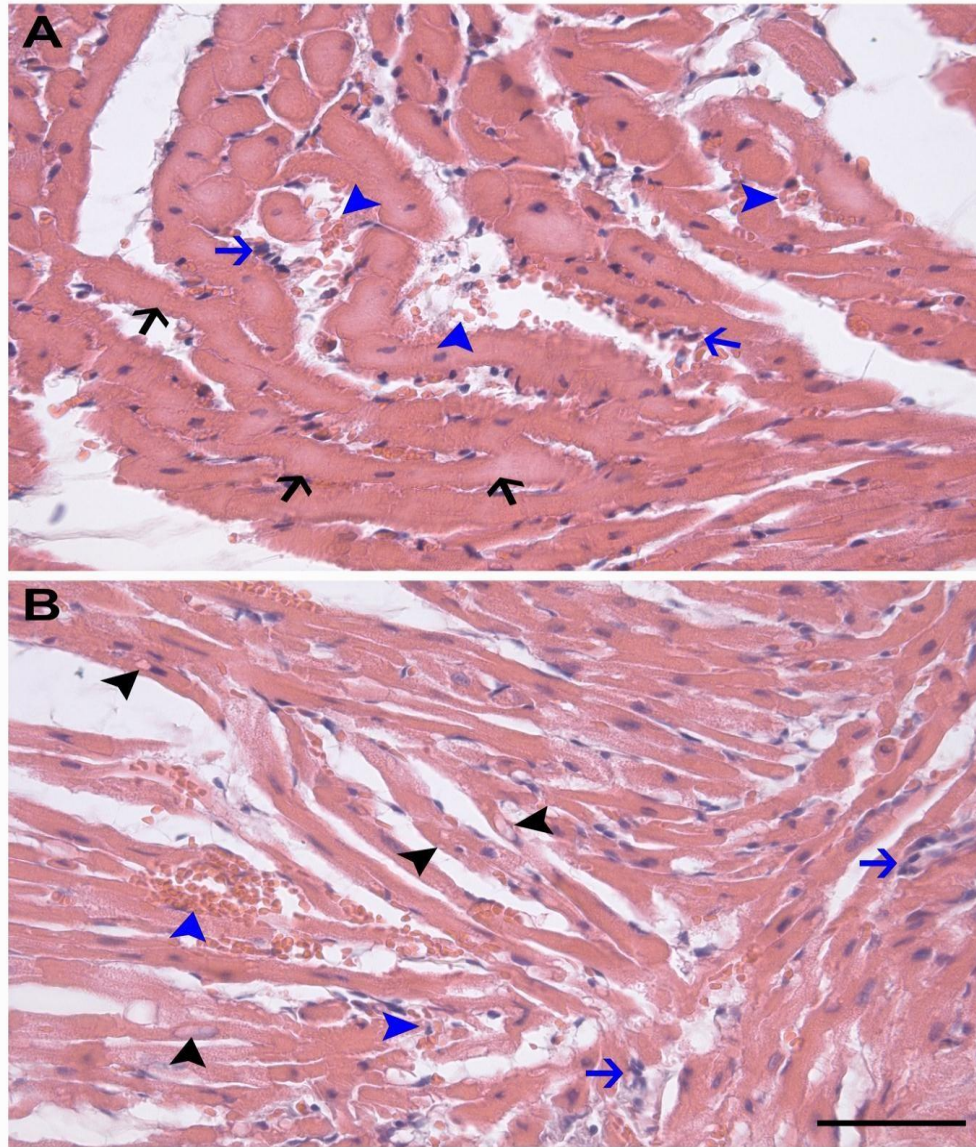
İR grubundan kardiyak dokuların mikroskopik analizinde iskemik hasara uğramış kardiyomiyositler arasında değişen derecelerdeki interstisyel ödeme eritrosit ekstravazasyonu ve hafif düzeyde lökosit infiltrasyonunun eşlik ettiği görülmüştür (Şekil 8 A). Bazı alanlarda koagülasyon nekrozunun bir göstergesi olarak kardiyomiyositlerde eozinofili artışı izlenirken (Şekil 8 B), interstisyel ödemin daha şiddetli olduğu alanlarda ise ödem nedeniyle aralarındaki mesafe genişleyen bir kısım nekrotik miyokardiyal hücrelerin incelmeye ile belirgin dalgalı lif görünümü sergilediği gözlenmiştir (Şekil 8 C).



Şekil 8: İR grubuna ait kardiyak doku kesitleri

İR grubundan sıçan kalbine ait mikrograflar görülmektedir. Kesitte interstisyel ödeme eşlik eden eritrosit ektravazasyonu (mavi ok başları; A ve C) ve hafif düzeyde lökosit infiltrasyonu (siyah ok başları; A) izlenmektedir. Yine belirgin interstisyel ödemin yanı sıra, birkaç örneği mavi oklarla gösterilen nekrotik kardiyomiyositlerdeki hipereozinofili ve karyolizis ile uyumlu nükleus değişiklikleri görülmektedir (B). Şiddetli interstisyel ödemin görüldüğü doku kısımlarında ise nükleusunu ve enine çizgilenmelerini kaybetmiş dalgalı lifler halindeki nekrotik kardiyomiyositler (siyah oklar; C) izlenmektedir. Tüm mikrograflar için bar 50 μ m. H&E.

İR-HRSS grubuna ait kesitler değerlendirildiğinde, yine hasarlı miyokardiyal alanlarda interstisyel ödem, eritrosit ektravazasyonu ve hafif bir lökosit infiltrasyonu izlenmiştir. İnterstisyel ödemin daha hafif olduğu alanlarda kardiyomiyositlerin ödem nedeniyle soluk boyandığı gözlenirken (**Şekil 9 A**), ödemin görece daha belirgin olduğu alanlarda ise kardiyomiyosit hasarının da daha belirgin olduğu ve hücrelerin sitoplazmik vakuolizasyon sergilediği görülmüştür (**Şekil 9. B**).

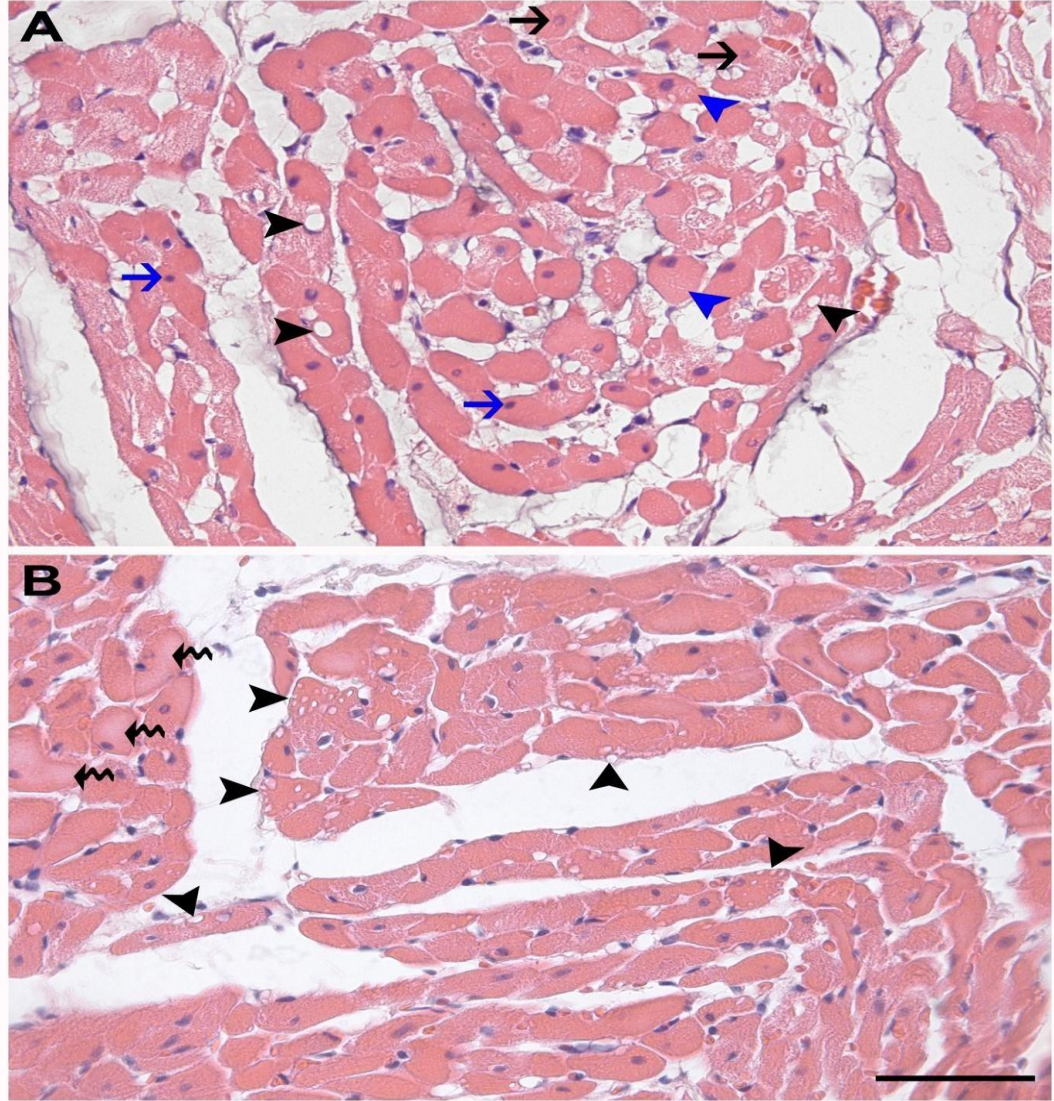


Şekil 9: İR HRSS grubuna ait kardiyak doku kesitleri

İR-HRSS grubundan sıçan kalbine ait mikrograflar görülmektedir. İnterstisyel ödemin daha fokal izlendiği kesitte (A), ödemli alanlarda eritrosit ekstravazasyonu (mavi ok başları; A) ve hafif düzeyde lökosit infiltrasyonu (mavi oklar; A) dikkati çekmektedir. Bir kısmının boyuna kesitlerinin de görüldüğü hasarlı kardiomyositlerde ise enine çizgilenme kaybı ve hücre ödeminin neden olduğu soluk boyanma gözlenmektedir (siyah oklar; A). İnterstisyel ödemin görece daha belirgin olduğu kesit alanlarında ise (B), eritrosit ekstravazasyonuna (mavi ok başları; B) ve lökosit infiltrasyonuna (mavi oklar; B), sitoplazmik vakuolizasyonun görüldüğü daha şiddetli bir hücre hasarının (siyah ok başları; B) eşlik ettiği görülmektedir. Her iki mikrograf için bar 50 µm. H&E.

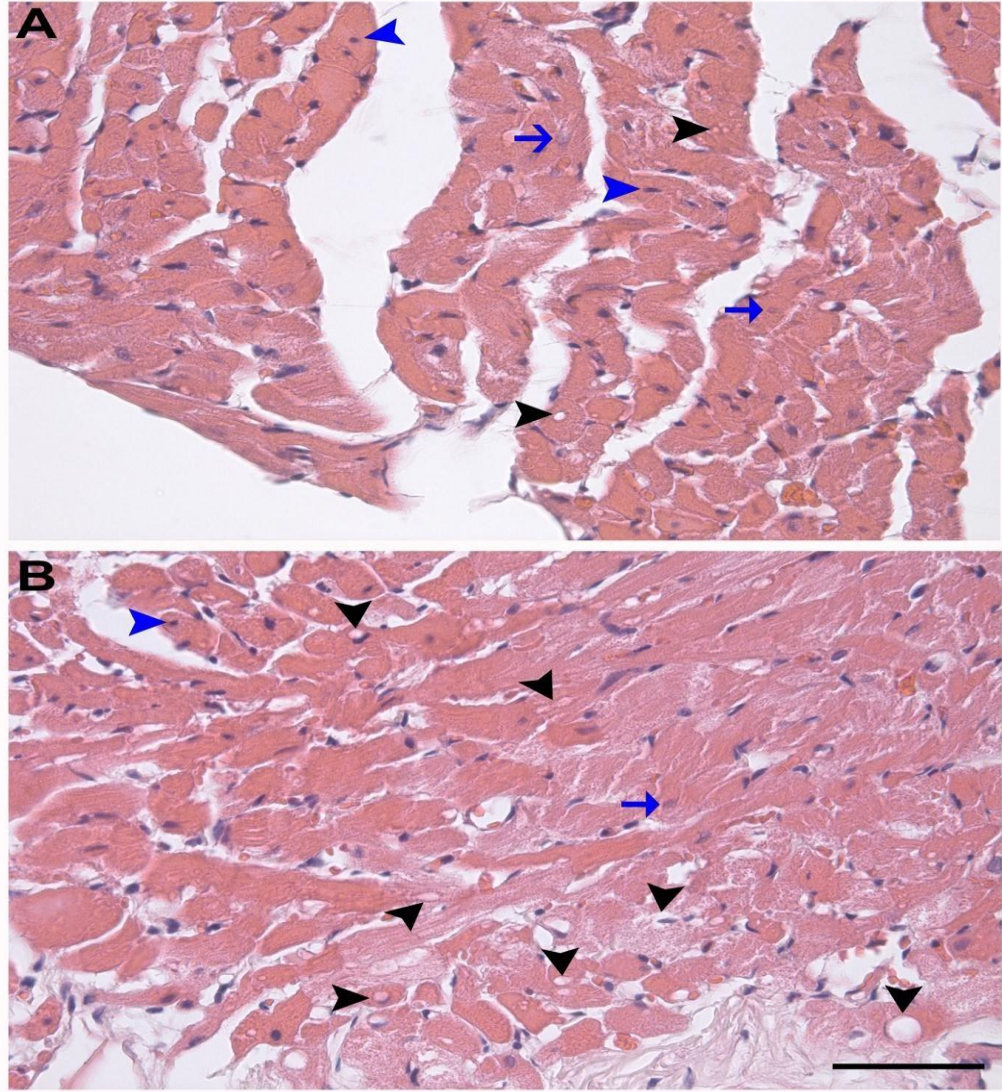
Doku hasarının belirlenmesinde değerlendirilen parametrelerden interstisyel ödem-şiddeti düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.003$). İR grubunda kontrol ve HRSS gruplarına göre interstisyel ödem-şiddeti daha fazla görülmüştür ($p=0.001$, $p=0.001$, sırasıyla). İ/R grubuyla karşılaştırıldığında, İR-HRSS grubunda interstisyel ödem şiddeti anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.007$), (**Tablo 1**). İnterstisyel ödem-yayılımı gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.046$). İ/R grubunda kontrol grubuna göre yayılım daha fazla görülmüştür ($p=0.011$). Kontrol, HRSS ve İ/R-HRSS gruplarında ise interstisyel ödem-yayılımı gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p=0.034$), (**Tablo 1**).

Kardiyomiyositlerde ışık mikroskopi düzeyinde gözlenen değişiklikler ele alındığında, HRSS grubunda daha hafif olmak üzere, kontrol ve HRSS grubundan hayvanların bir kısmının kalp dokularında az sayıda hücre gruplarında vakuolizasyon ve hücrel ödem nedeniyle soluk boyanma gözlenmiştir. İskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan gruplarda ise kardiyomiyositlerde ödem ve küçük veziküler görünümde hidropik değişikliklerden sitoplazmik vakuolizasyona, sitoplazmik hipereozinofili ve kardiyomiyositlerin dalgalı lif görünümünden piknoz ve karyolizis gibi nükleus değişikliklerine kadar farklı görünümde dejenerasyonu gösteren lezyonlar izlenmiştir (**Şekil 7 ve 8; ayrıca Şekil 9 ve 10**).



Şekil 10: İR grubundan sıçan kalbine ait mikrograflar görülmektedir.

Belirgin interstisyel ödemin de izlendiği kesit alanında (A), hasarlı kardiyomiyositlerde ödem (siyah kıvrık oklar; B) ve küçük veziküler görünümde hidropik değişiklikler (mavi ok başları; A), büyük sitoplazmik vakuoller (siyah ok başları; A ve B) yanı sıra piknoz (mavi oklar; A) ve karyolizis (siyah oklar; A) ile uyumlu nükleus değişiklikleri izlenmektedir. Her iki mikrograf için bar 50 μ m. H&E.



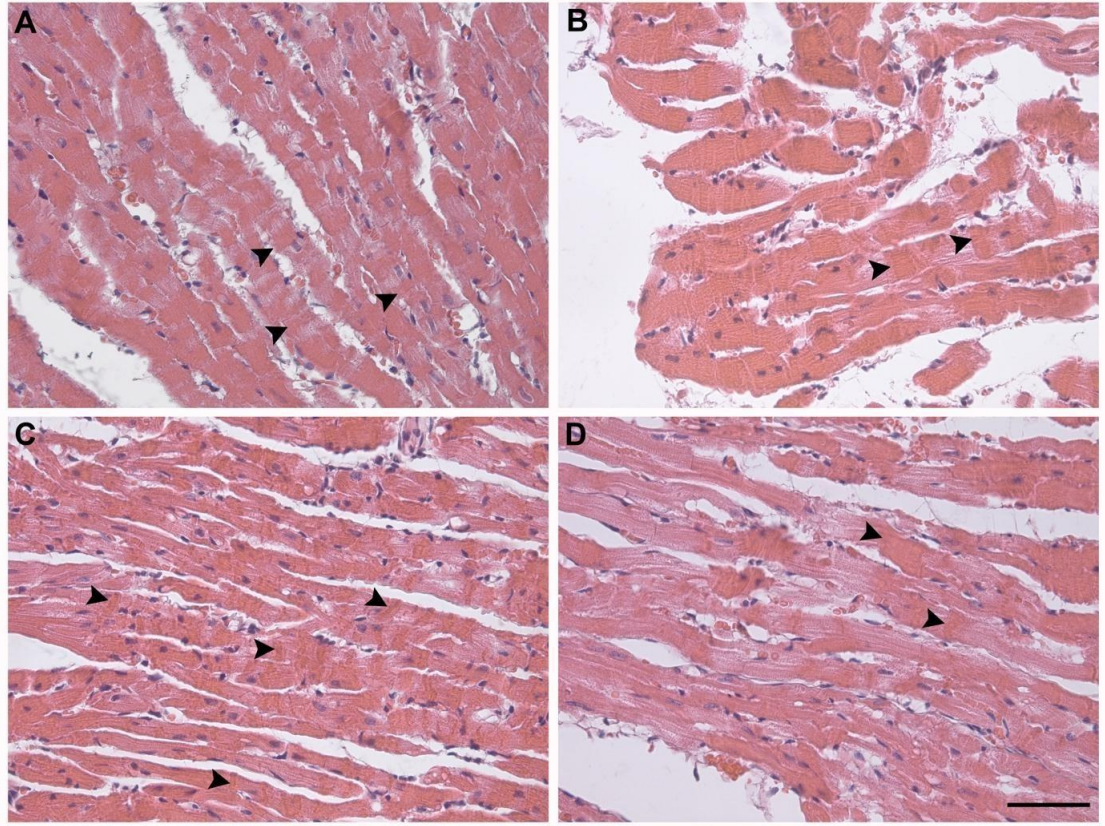
Şekil 11:İR-HRSS grubundan sıçan kalbine ait mikrograflar görülmektedir.

Kardiyomiyositlerde değişen derecelerde vakuolizasyon (siyah ok başları; A ve B), bazı hücrelerde de piknozis (mavi ok başları; A ve B) ve karyolizis (mavi oklar; A ve B) gibi nükleer değişiklikler görülmektedir. Her iki mikrograf için bar 50 µm. H&E.

Kardiyomiyositlere ait bu değişiklikler değerlendirildiğinde, kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem, vakuolizasyon)-şiddet düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.002$). İ/R grubunda kontrol ve HRSS gruplarına göre kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem, vakuolizasyon)-şiddeti daha fazla görülmüştür ($p=0.002$, $p=0.001$, sırasıyla). Ayrıca

kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem, vakuolizasyon)-şiddeti İ/R-HRSS grubunda HRSS grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.035$), (**Tablo 3**). Kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem, vakuolizasyon)-yayılım düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.017$). İ/R grubunda kontrol ve HRSS gruplarına göre kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem, vakuolizasyon)-yayılımı daha fazla görülmüştür ($p=0.006$, $p=0.006$, sırasıyla), (**Tablo 3**).

İskemi-reperfüzyon hasarının morfolojik değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerden biri olan kontraksiyon bandları HRSS grubunda en hafif, İ/R grubunda ise en belirgin biçimde gözlenmesine rağmen gruplar arası farklılıklar istatistiki olarak anlamlı olmayıp, kontraksiyon band oluşumunun şiddeti ve yayılımı gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p=0.121$, $p=0.246$, sırasıyla), (**Tablo 3; Şekil 11**).

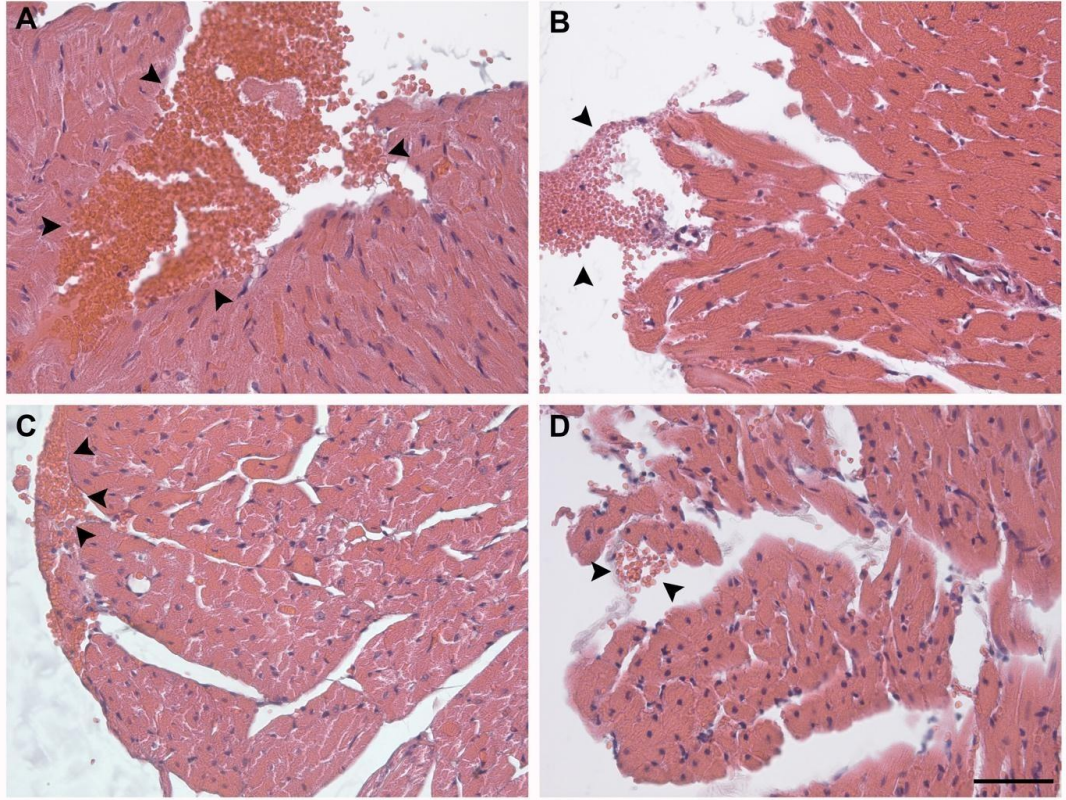


Şekil 12: Kontrol (A), HRSS (B), İR (C) ve İR-HRSS (D) grubundan sıçan kalplerine ait mikrograflar görülmektedir.

Her bir mikrografta temsili olarak birkaç kontraksiyon band oluşumları siyah ok başları ile gösterilmiştir. Tüm mikrograflar için bar 50 μ m. H&E.

Kontrol (A), HRSS (B), İR (C) ve İR-HRSS (D) grubundan sıçan kalplerine ait mikrograflar görülmektedir. Her bir mikrografta temsili olarak birkaç kontraksiyon band oluşumları siyah ok başları ile gösterilmiştir. Tüm mikrograflar için bar 50 μ m. H&E.

Değerlendirmeye katılan histomorfolojik değişikliklerden subendokardiyal hemorajinin şiddeti ve yayılımı ise gruplar arasında yine benzer bulunmuştur ($p=0.404$, $p=0.178$, sırasıyla), (Tablo 3; Şekil 12).



Şekil 13:Kontrol (A), HRSS (B), İ/R (C) ve İ/R-HRSS (D) grubundan sıçan kalplerine ait mikrograflar görülmektedir.

Gruplara ait temsili mikrograflarda subendokardiyal hemoraji alanları siyah ok başları ile gösterilmiştir. Tüm mikrograflar için bar 50 μ m. H&E.

Tablo 3: Rat miyokard dokusu histopatolojik bulguları [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup HRSS (n=6)	Grup İR (n=6)	Grup İHRSS (n=6)	p**
İnterstisyel ödem-şiddet	0.83 $\pm$ 0.17*	0.83 $\pm$ 0.17*	1.67 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.00*	0.003
İnterstisyel ödem-yayılım	0.80 $\pm$ 0.20*	1.33 $\pm$ 0.33	2.00 $\pm$ 0.37	1.66 $\pm$ 0.21	0.046
Kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem,vakuolizasyon)-şiddet	0.67 $\pm$ 0.21*	0.50 $\pm$ 0.22*	2.00 $\pm$ 0.37	1.33 $\pm$ 0.21&	0.002
Kardiyomiyosit dejenerasyonu (ödem,vakuolizasyon)-yayılım	0.60 $\pm$ 0.25*	0.67 $\pm$ 0.33*	1.83 $\pm$ 0.31	1.16 $\pm$ 0.17	0.017
Subendokardiyal hemoraji- şiddet	0.50 $\pm$ 0.22	0.50 $\pm$ 0.22	0.67 $\pm$ 0.22	0.17 $\pm$ 0.17	0.404
Subendokardiyal hemoraji- yayılım	0.50 $\pm$ 0.22	0.50 $\pm$ 0.22	1.00 $\pm$ 0.37	0.17 $\pm$ 0.17	0.178
Kontraksiyon, band oluşumu- şiddet	0.33 $\pm$ 0.21	0.17 $\pm$ 0.17	1.00 $\pm$ 0.37	0.67 $\pm$ 0.21	0.121
Kontraksiyon, band oluşumu- yayılım	0.33 $\pm$ 0.21	0.17 $\pm$ 0.17	0.83 $\pm$ 0.31	0.50 $\pm$ 0.22	0.246

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

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

& $p < 0.05$: Grup HRSS ile karşılaştırıldığında

Gruplar (miyokard dokusu) TOS enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.006$). TOS enzim aktivitesi İ/R grubunda K, HRSS ve İ/R-HRSS gruplarına göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.032$, $p=0.008$, $p=0.001$, sırasıyla), (Tablo 4).

Gruplar (miyokard dokusu) TAS enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.002$). TAS enzim aktivitesi İ/R grubunda K, HRSS ve İ/R-HRSS gruplarına göre anlamlı düşük olarak tespit edildi ($p<0.0001$, $p=0.016$ $p=0.006$, sırasıyla), (Tablo 4).

Benzer şekilde gruplar (miyokard dokusu) PON enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.036$). PON enzim aktivitesi İ/R grubunda K, HRSS ve İ/R-HRSS gruplarına göre anlamlı düşük olarak tespit edildi ($p=0.014$, $p=0.042$ $p=0.042$, sırasıyla), (Tablo 2).

Arilesteraz ise gruplar arasında benzer bulundu ($p=0.922$), (Tablo 4)

Tablo 4: Rat miyokard dokusu oksidan durum parametreleri [Ort $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup HRSS (n=6)	Grup İR (n=6)	Grup İRHRSS (n=6)	p**
TAS (nmol/mL)	1.60 $\pm$ 0.11*	1.49 $\pm$ 0.13*	1.32 $\pm$ 0.10	1.51 $\pm$ 0.10*	0.002
TOS (IU/mg.pro)	21.74 $\pm$ 1.86*	21.05 $\pm$ 1.75*	24.20 $\pm$ 2.05	19.97 $\pm$ 1.70*	0.006
ARES (IU/mg.pro)	353.17 $\pm$ 35.04*	369.67 $\pm$ 7.86	365.50 $\pm$ 2.50	364.33 $\pm$ 4.93	0.922
PON (IU/mg.pro)	13.17 $\pm$ 2.75*	15.17 $\pm$ 2.59*	23.67 $\pm$ 2.56	15.17 $\pm$ 3.13*	0.036

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

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

6. TARTIŞMA

Yapılan bir çalışmada, koroner kalp hastalığında akut miyokard enfarktüsünün neden olduğu MİRİ'nin hastaların 10'unun ölmesine neden olacağını ve kardiyak disfonksiyon insidansının% 25'i aştığını gösteriyor⁷⁵. İskemi-reperfüzyon hasarı (İRİ), başarılı reperfüzyonun neden olduğu bir dizi kapsamlı ve karmaşık inflamatuvar reaksiyonun eşlik ettiği, deneysel ve klinik ortamlarda yetersiz oksijen beslemesinin neden olduğu doku hasarını ifade eder; bu, lokal doku hasarını şiddetlendirebilir ve uzun süre fonksiyonuna zarar verebilir. Bu sonuç aynı zamanda İRİ'nin özelliğidir. İRİ'nin teorik temeli 2 hipoteze dayanmaktadır. İlk olarak, doku iskemisi sırasında çok sayıda hücre geri döndürülemez bir şekilde yok edilir ve sonunda yok olurken, diğer hücreler açıkça yaşayabilir durumda kalacaktır. İkincisi, birçok hücre ölüm riski altında olmasına rağmen, çok sayıda varsayılan hücre potansiyel olarak yaşayabilir olarak kabul edilmektedir⁷⁶.

Deneysel çalışmalar, miyokardiyal reperfüzyon hasarının zararlı etkilerine aracılık etmek için birlikte hareket eden birkaç kritik faktör tanımlamıştır.

Oksidatif stres bunlardan biridir. Miyokardiyal reperfüzyonun ilk birkaç dakikasında, çeşitli kaynaklar tarafından bir oksidatif stres patlaması üretilir.^{77, 78} Bu zararlı oksidatif stres, bir dizi farklı mekanizma yoluyla miyokardiyal hasar ve kardiyomiyosit ölümüne aracılık eder. Bu gözlemlere dayanarak, antioksidan tedavinin doğal olarak bu tür yaralanmaları önlemek için uygun bir seçenek olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle, bu çalışma bazı dokuların İR hasarlanmasında

koruyucu etkisi gösterilmiş HRSS“nin miyokard İR hasarı modelindeki miyokard hasarı üzerine olası yararlı etkilerinin araştırılması amacıyla yapıldı.

Bununla birlikte, hem deneysel hem de klinik çalışmalar, miyokardiyal reperfüzyon başlangıcında antioksidan tedavinin uygulanmasıyla karışık sonuçlar bildirmiştir. Bunun nedeni kısmen antioksidanın hücreye girememesinden kaynaklanıyor olabilir. Bu bağlamda, mitokondriyal spesifik antioksidanların keşfi daha etkili olabilir.⁷⁹

Akut Mİ'ye eşlik eden inflamatuvar yanıtın, ölümcül miyokardiyal reperfüzyon hasarının patogeneze katkıda bulunup bulunmadığı yoksa akut miyokardiyal hasara bir reaksiyon olup olmadığı açık değildir.⁸⁰ Deneysel çalışmalar, hücre adezyon moleküllerine karşı antikorlar⁸¹ ve kompleman aktivasyonunun inhibisyonu⁸² kullanılarak miyokardiyal reperfüzyon sırasında inflamatuvar süreci inhibe etmek için tasarlanmış terapötik stratejilerle Mİ'da önemli azalma bildirmişse de, bu terapötik yaklaşımı kullanan ilgili klinik çalışmalar büyük ölçüde olumsuzdur.^{83, 79}

Akut inflamatuvar reaksiyon, lökosit aktivasyonu ve adezyon moleküllerinin ve sitokinlerin ekspresyonu yoluyla İR hasarında önemli bir rol oynar. ROS, İR hasarında lökosit aktivasyonu ile yakından ilişkilidir. ROS'u temizleme yöntemleri, iltihaplanma reaksiyonunu hafifletebilir. Hidrojen molekülü elektriksel olarak nötr olduğundan ve oksijen molekülünden çok daha küçük olduğundan, zarlara kolayca nüfuz edebilir ve çoğu antioksidanın ulaşamayacağı çekirdek ve mitokondri gibi hücrelere ve organellere girebilir.⁸⁴

İzole edilmiş rat kalbinde hidrojen zengin salin uygulanarak anti apoptotik mekanizma incelenen bir çalışmada; HRSS'nin miyokard iskemi reperfüzyonunu azalttığı gözlemlenmiştir.⁶⁷

Literatür taramasında HRSS'nin kardiyak İR hasarı üzerine olan etkisi ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. Yapılan deneysel çalışma ile bu konuya katkı sağlanmasını amaçladık. İR hasarı torakotomi açılarak LAD ligasyonu ve sonrasında ligasyon açılarak reperfüzyon başlatılması ile modelleme oluşturuldu. Bu deneyde reperfüzyon öncesinde HRSS uygulanarak bu maddenin deneklerde oluşturduğu histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklerin tespit edilmesi üzerine kurulu bir çalışma yapıldı.

İskemi/reperfüzyon hasarı prognoz, cerrahi başarı ve hastaların yaşam süresini etkileyen en önemli etkenlerden biridir. Bu hasarın olumsuz sonuçlarının azaltılması için yeni ilaçlar ve tekniklerin geliştirilmesi son derecede önemlidir. Günümüzde kalp cerrahisinde uygulanan prosedürlerde genellikle kalp/akciğer pompası kullanımı ile iatrojenik miyokardiyal iskemi ve takiben reperfüzyon oluşturulması, bu konuda yapılan çalışmaların kalp üzerine daha fazla odaklanmasına neden olmuştur. Miyokardiyal koruma alanında çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, reperfüzyon sırasında kullanılacak ideal ilaç, teknik, solüsyon veya metod henüz net olarak tanımlanmamıştır. Bu durum, İR hasarının mekanizmasının tam açıklanamaması ve fizyopatolojisindeki karmaşıklık ile açıklanmaktadır. Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda temel odaklanılan alan, hücrelerin hasarlanmasının patogenezindeki serbest oksijen radikallerinin

üretiminin inhibisyonu, antioksidan mekanizmaların rolünün belirlenmesi ve antioksidan serbest radikal yakalayıcı tedavi denemeleridir ⁸⁵.

Miyokardial iskemi reperfüzyon hasarının etyopatogenezindeki mekanizmaların kısmen açıklanmaya başlanması ile birlikte, IR hasarından korunmak için birçok ilaç gündeme gelmiştir. Bunların arasında, vitaminler, ACE inhibitörleri, NO-donörleri, adenozin, Na⁺-H⁺ değiştirici inhibitörleri, glutamat, aspartat, aprotinin, metilprednisolon, Ca⁺⁺ kanal blokerleri, ATP duyarlı K⁺ kanal açıcıları, glukoz–insülin–K⁺ solüsyonları, prostoglandinler, glutatyon, N-49 asetilsistein, pentoksifilin, C1 esteraz inhibitörü, Endotelin-1 reseptör antagonisti ve anestezi ajanları yer alır.

ROS, iskemik miyokardın reperfüzyonunda üretilir ve ölümcül reperfüzyon hasarının önemli bir nedeni olarak kabul edilir ^{78,86}. Radikal oksijen türleri O₂ ve H₂O₂, şimdiye kadar hiçbir enzimin detoksifiye edemediği OH ve ONOO'nun aksine antioksidan savunma enzimleriyle detoksifiye edilir. Son zamanlarda, hidrojen gazının bu iki zararlı ROS'u seçici olarak azalttığı gösterilmiştir ⁹. Hidrojen molekülü elektriksel olarak nötr olduğundan ve oksijen molekülünden çok daha küçük olduğundan, zarlara kolayca nüfuz eder ve çekirdek ve mitokondri gibi hücrelere ve organellere girer. Bu özellikle önemlidir, çünkü ikincisi reperfüzyondan sonra reaktif oksijen türlerinin birincil üretim alanıdır ve herkesin bildiği gibi hedeflenmesi zordur ⁸⁷. Kalp, en yüksek perfüze dokulardan biri olduğu için, intramiyokardiyal H₂ konsantrasyonunun, hidrojenden zengin salinin intraperitoneal enjeksiyonundan hemen sonra artması mümkündür.

Son zamanlarda, Ohsawa ve ark.ları ilk olarak, bir antioksidan olarak hidrojen gazının, oksidatif stresin neden olduğu birçok yaygın hastalıkta potansiyel koruyucu ve tedavi edici rolleri olduğunu bildirdi ⁹. 2010 yılında Ji ve ark. H₂ inhalasyonunun toksik oksijen radikallerini seçici olarak ortadan kaldırarak İR'nin neden olduğu beyin hasarını belirgin şekilde baskıladığını bildirmişlerdir ⁸⁸. Bunu takiben, hidrojenden zengin salinin sıçanlarda böbrek, miyokardiyal, bağırsak ve akciğer İR yaralanmaları üzerindeki olası terapötik etkilerini araştıran daha fazla çalışma yapıldı ^{69, 89, 90, 91} ve iskemi-reperfüzyon alanlarında ROS ve reaktif nitrojen türlerinin arttığını gösteren daha fazla çalışma vardı. ⁹²

Bizim çalışmamızda İR grubu ile İR HRSS karşılaştırıldığında oksidan durum parametreleri arasında anlamlı fark bulundu.

Hidrojenden zengin salinin ratlarda kardiyopulmoner bypass sırasında iv olarak uygulanmasında miyokardiyal hasarı azalttığına yönelik çalışmalar vardır. ⁹³

Derin hipotermik total sirkulatuar arrest oluşturulacak ratlarla yapılan bir çalışmada 5 ml/kg olacak şekilde reperfüzyondan 10 dakika önce uygulanan hidrojen zengin salin oksidatif stresi azalttığı ve serebral protektif etkinliği olduğu bildirilmiştir. ⁹⁴

Hidrojen zengin salinin kardiyoprotektif etkisine farklı dozlarda bakılan bir çalışmada ⁶⁶ 5; 7,5; 10 ml/ kg HRSS uygulanmış tüm dozlarda kardiyoprotektif etki izlenmiştir. Doz artışı ile etkinin arttığı gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da HRSS 10 ml/kg olacak şekilde kullanılmıştır.

Yapılan bir çalışmada pulmoner hipertansiyon oluşmuş ratlara günde bir kere 5 ml/kg intraperitoneal uygulanan hidrojen zengin salinin hemodinamiyi ve sağ ventrikül hipertrofisini iyileştirdiği de gözlemlenmiştir.⁹⁵

Bizim çalışmamızda İR grubu ile İR HRSS karşılaştırıldığında oksidan durum parametreleri arasında anlamlı fark bulundu.

Çalışmamızda TAS İR grubunda K grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Ayrıca İRHRSS grubunda TAS düzeyi İR grubuna göre anlamlı yüksek tespit edildi. Bu durum HRSS'nin reperfüzyondan önce verilmesinin İR hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda TOS İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. Ayrıca İRHRSS grubunda TOS düzeyi İR grubuna göre anlamlı düşük tespit edildi. Bu durum HRSS'nin reperfüzyondan önce verilmesinin İR hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda PON ve arilesteraz ölçülerek kalp dokusundaki İR hakkında bilgi edindik. PON enzimi, LDL'yi oksidasyondan koruyarak ve hidrojen peroksit dahil serbest radikalleri nötralize ederek antioksidan aktivite gösterir^{46,47,48}. Bu denge bozulduğunda oksidatif hasar meydana gelir. Artmış lipid peroksidasyonu aynı zamanda artmış oksidatif stresin sonuçlarından biridir⁴⁹. İn vivo ve in vitro çalışmalarda artmış lipid peroksidasyonunda eritrosit fonksiyonlarının ve membran bütünlüğünün bazı parametrelerinin bozulduğu bildirilmiştir. Artmış oksidatif stres ile ilişkili lipid peroksidasyonu nedeniyle ortaya çıkan ürünler, membran geçirgenliğini ve mikro viskoziteyi önemli ölçüde etkiler. Böylece eritrositlerin deforme olma kapasitesinin azaldığı ve hayatta kaldıkları gözlenmiş

^{50,96}. Çalışmamızda PON ve arilesteraz düzeyindeki düşüş Cízová ve ark., rat cinsinin iskeminin (iskemi süresine bağlı olarak) doğal antioksidan aktivitesini arttırdığı hipoteziyle açıklanabilir. Yazıcı ve ark., yaptığı çalışmada uzamış iskemi süresinde intestinal İR hasarı bulunan ratlarda PON düzeyinde artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, bu verileri açıklamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.^{51, 97}

Çalışmamızda arilesteraz (ARES) İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulundu, ancak İR HRSS grubunda ARES düzeyi düşük bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir.

Çalışmamızda PON İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. Ayrıca İRHRSS grubunda PON düzeyi İR grubuna göre anlamlı düşük tespit edildi. Bu durum HRSS'nin reperfüzyondan önce verilmesinin İR hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda histopatolojik olarak elde edilen verilerde interstisiyel ödem şiddeti İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuş, İR HRSS grubunda interstisiyel ödem şiddeti İR grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Bu bulgular HRSS'nin interstisiyel ödem şiddetinin gelişimi yönünden koruyucu etkisi olduğu şeklinde yorumlanabilir.

İnterstisiyel ödem yayılımı İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. İR'nun interstisiyel ödem yayılımını arttırdığı tespit edilmiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan HRSS'nin interstisiyel ödem yayılımını azalttığı görülmüştür, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Jing ve

ark.⁶⁶ yaptıkları çalışmada isoproterenol ile myokard İR hasarı oluşturulan ratlarda HRSS histopatolojik olarak ödem ve inflamasyonu azalttığı saptanmış.

Kardiyomyosit dejenerasyon şiddeti İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. İR'nun kardiyomyosit dejenerasyon şiddetini arttırdığı tespit edilmiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan HRSS'nin interstisiyel kardiyomyosit dejenerasyon şiddetini azalttığı görülmüştür, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kardiyomyosit dejenerasyon yayılımı İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. İR'nun kardiyomyosit dejenerasyon yayılımını arttırdığı tespit edilmiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan HRSS'nin interstisiyel kardiyomyosit dejenerasyon yayılımını azalttığı görülmüştür, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Subendokardiyal hemoraji şiddeti ve yayılımı İR grubunda K grubuna göre artmış bulundu, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmemiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan HRSS'nin interstisiyel subendokardiyal hemoraji şiddeti ve yayılımını azalttığı görülmüştür, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontraksiyon band oluşumu şiddeti ve yayılımı İR grubunda K grubuna göre artmış bulundu, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmemiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan HRSS'nin interstisiyel kontraksiyon band oluşumu şiddeti ve yayılımını azalttığı görülmüştür, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bu çalışmamız esas olarak H₂ salinin İR hasarı üzerindeki yararlı etkilerine odaklanmıştır. Ancak aynı önemi taşıyan kalıcı miyokard enfarktüsüne etkisi belirlenememiştir. Teorik olarak, miyokardiyal enfarktüs geliştiren ve reperfüze edilemeyen hayvanlarda tek doz H₂ salinin güçlü kardioproteksiyonu indüklemesi zor olabilir. Kalıcı miyokard enfarktüsü uzun bir seyir olduğundan ve iyileşmesi için ek süre gerektiğinden, H₂ salin ancak kanda stabil H₂ konsantrasyonu sağlandığında koruma sağlayacaktır. Bu çalışma, H₂ salin uygulamasından sonra farklı zamanlarda hayvanların sakrifiye edilmesini içermiyordu, bu da daha fazla araştırma gerektiriyor. Ek olarak, H₂ salin uygulamasının İR hasarından sonra hemodinamik etkilerinin daha iyi tanımlanması gerekir, bu bizim çalışma sınırlamamızdır.

Sonuç olarak bu çalışmada ulaştığımız bulgular, başka çalışmalarla desteklendiğinde hidrojen zengin salin solüsyonunun İR hasarındaki protektif etkilerinin ayrıntılı olarak gösterileceği ve kullanım endikasyonlarının genişleyeceği kanaatindeyiz

7. Kaynakça

1. ŞAHNA, E., DENİZ, E. & AKSULU, H. E. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. *Anadolu Kardiyol. Derg.***6**, 163–168 (2006).
2. Buja, L. M. Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc. Pathol.***14**, 170–175 (2005).
3. Zimmerman, B. J. & Granger, D. N. Reperfusion injury. *Surg. Clin. North Am.***72**, 65–83 (1992).
4. Şener, G. & Bç, Y. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klin. Gelişim Derg***22**, 5–14 (2009).
5. Özer, A. *et al.* The Effect of Dexmedetomidine on Ischemia Reperfusion Injury in Myocard of Rat. *Gazi Med. J.***29**, (2017).
6. Oral, K. Ratlarda direkt ve uzak iskemik ön koşullamanın renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkileri. (2010).
7. Murry, C. E., Jennings, R. B. & Reimer, K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation***74**, 1124–1136 (1986).
8. Takaoka, A. *et al.* Renal ischemia/reperfusion remotely improves myocardial energy metabolism during myocardial ischemia via adenosine receptors in rabbits: effects of “remote preconditioning”. *J. Am. Coll. Cardiol.***33**, 556–564 (1999).
9. Ohsawa, I. *et al.* Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat. Med.***13**, 688–694 (2007).
10. Hayashida, K. *et al.* Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***373**, 30–35 (2008).
11. Bilal, M. S. & Sarıoğlu, T. İskemik Miyokard İnjurisi ve İntraoperatif Miyokard Korunmasına Genel Bir Bakış. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Derg.***1**, 118–126 (1992).
12. Kalogeris, T., Baines, C. P., Krenz, M. & Korthuis, R. J. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.***298**, 229–317 (2012).
13. Khalil, A. A., Aziz, F. A. & Hall, J. C. Reperfusion injury. *Plast. Reconstr. Surg.***117**, 1024–1033 (2006).
14. Grace, P. A. Ischaemia- reperfusion injury. *Br. J. Surg.***81**, 637–647 (1994).
15. Piper, H. M., Meuter, K. & Schäfer, C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann. Thorac. Surg.***75**, S644–S648 (2003).

16. Sener, G., Sakarcan, A. & Yeğen, B. Ç. Role of garlic in the prevention of ischemia- reperfusion injury. *Mol. Nutr. Food Res.***51**, 1345–1352 (2007).
17. Lefer, D. J. & Granger, D. N. Oxidative stress and cardiac disease. *Am. J. Med.***109**, 315–323 (2000).
18. Tarr, M. & Valenzano, D. P. Reactive oxygen-induced modifications of cardiac electrophysiology: A comparison of the effects of Rose Bengal and other reactive oxygen generators. in *Oxygen Free Radicals in Tissue Damage* 267–284 (Springer, 1993).
19. Eltzschig, H. K. & Collard, C. D. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br. Med. Bull.***70**, 71–86 (2004).
20. Griselli, M. *et al.* C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J. Exp. Med.***190**, 1733–1740 (1999).
21. García-Villalón, A. L. *et al.* Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia–reperfusion. *Vascul. Pharmacol.***48**, 109–114 (2008).
22. Hiroki Sato, M. D., Jordan, J. E. & Sarvotham, S. S. Gradual reperfusion reduces infarct size and endothelial injury but augments neutrophil accumulation. *Ann. Thorac. Surg.***64**, 1099–1107 (1997).
23. Korthuis, R. J., Smith, J. K. & Carden, D. L. Hypoxic reperfusion attenuates postischemic microvascular injury. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.***256**, H315–H319 (1989).
24. Halliwell, B. The antioxidant paradox. *Lancet***355**, 1179–1180 (2000).
25. KARABULUT, H. & GÜLAY, M. Ş. Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg.***1**, 65–76 (2016).
26. ASLANKOÇ, R. *et al.* Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.***26**, 362–369 (2019).
27. Aksoy, Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin Tıp Bilim.***22**, 442–448 (2002).
28. Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C. & Giovannini, C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.***16**, 577–586 (2005).
29. KAYA, A. A., ŞENTÜRK, M. & KAYA, E. Ç. Nitro grubu İçeren Bazı Maddelerin Glutatyon Redüktaz Enzimi Üzerindeki İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilim. Derg.***8**, 438–443 (2019).
30. Dagenais, F., Cartier, R., Hollmann, C. & Buluran, J. Calcium-channel

blockers preserve coronary endothelial reactivity after ischemia-reperfusion. *Ann. Thorac. Surg.***63**, 1050–1056 (1997).

31. Kitakaze, M. *et al.* Beneficial effects of inhibition of angiotensin-converting enzyme on ischemic myocardium during coronary hypoperfusion in dogs. *Circulation***92**, 950–961 (1995).
32. Kobara, M. *et al.* Effects of ACE inhibition on myocardial apoptosis in an ischemia–reperfusion rat heart model. *J. Cardiovasc. Pharmacol.***41**, 880–889 (2003).
33. DİLMEN BAYAR, B. Investigation total oxidant and antioxidant status, erythrocyte and platelet indices in cervical disc hernia diagnosed patients/Servikal disk herni tanısı konmuş hastalarda total oksidatif stres ve antioksidan statü ile eritrosit ve trombosit indekslerin. (2013).
34. Erel, O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin. Biochem.***37**, 112–119 (2004).
35. Suchocka, Z., Swatowska, J., Pachecka, J. & Suchocki, P. RP-HPLC determination of paraoxonase 3 activity in human blood serum. *J. Pharm. Biomed. Anal.***42**, 113–119 (2006).
36. Tarpey, M. M., Wink, D. A. & Grisham, M. B. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.***286**, R431–R444 (2004).
37. Heijmans, B. T. *et al.* Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis***149**, 91–97 (2000).
38. Kelso, G. J. *et al.* Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry***33**, 832–839 (1994).
39. Sorenson, R. C. *et al.* Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein AI stabilizes activity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.***19**, 2214–2225 (1999).
40. Sönmez, H. Lipid metabolizmasının ana hatları, primer ve sekonder hiperlipidemiler. *Türkiye Klin.***13**, 1–8 (2000).
41. Biasioli, S. *et al.* Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *Asaio J.***49**, 295–299 (2003).
42. Aviram, M. *et al.* Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.***26**, 892–904 (1999).
43. Mackness, M. I., Arrol, S., Abbott, C. & Durrington, P. N. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis***104**, 129–135 (1993).

44. Rye, K.-A., Clay, M. A. & Barter, P. J. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis***145**, 227–238 (1999).
45. Steinberg, D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J. Biol. Chem.***272**, 20963–20966 (1997).
46. Celik, M., Gulcu, F., Ozan, G. & Gursu, M. F. Paraoxonase and arylesterase activity levels in workers exposed to organic solvents. *Turk J Biochem***30**, 194–199 (2005).
47. Yildirim, A. *et al.* Serum paraoxonase/arylesterase activities and malondialdehyde levels in trauma patients. *Eurasian J Med***39**, 85–88 (2007).
48. Memişoğulları, R. Paraoksonaz ve kanser. *Konuralp Tıp Derg.***2**, 22–26 (2010).
49. Thérond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Davit-Spraul, A., Conti, M. & Legrand, A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care***3**, 373–384 (2000).
50. Sivilotti, M. L. A. Oxidant stress and haemolysis of the human erythrocyte. *Toxicol. Rev.***23**, 169–188 (2004).
51. Čížová, H., Lojek, A., Kubala, L. & Číž, M. The effect of intestinal ischemia duration on changes in plasma antioxidant defense status in rats. *Physiol Res***53**, 523–531 (2004).
52. Park, J. L. & Lucchesi, B. R. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann. Thorac. Surg.***68**, 1905–1912 (1999).
53. Maxwell, S. R. J. & Lip, G. Y. H. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int. J. Cardiol.***58**, 95–117 (1997).
54. Bolli, R. Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation***82**, 723–738 (1990).
55. Rahimtoola, S. H. A perspective on the three large multicenter randomized clinical trials of coronary bypass surgery for chronic stable angina. *Circulation***72**, V123–35 (1985).
56. Heusch, G., Schulz, R. & Rahimtoola, S. H. Myocardial hibernation: a delicate balance. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.***288**, H984–H999 (2005).
57. Çomaklı, H. Sıçanlarda miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine tacrolimus (FK506)'un koruyucu etkisinin patolojik olarak araştırılması. (2006).
58. Özer, A. T.c. gazi üniversitesi tıp fakültesi kalp ve damar cerrahisi anabilim dalı. (2013).
59. Qin, Z. *et al.* Hydrogen-rich saline prevents neointima formation after

carotid balloon injury by suppressing ROS and the TNF- α /NF- κ B pathway. *Atherosclerosis***220**, 343–350 (2012).

60. Nagata, K., Nakashima-Kamimura, N., Mikami, T., Ohsawa, I. & Ohta, S. Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacology***34**, 501–508 (2009).
61. Shingu, C. *et al.* Hydrogen-rich saline solution attenuates renal ischemia–reperfusion injury. *J. Anesth.***24**, 569–574 (2010).
62. Wang, F. *et al.* Hydrogen-rich saline protects against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J. Surg. Res.***167**, e339–e344 (2011).
63. Golshahi, H. *et al.* Protective effect of intraportal infusion of hypothermic hydrogen-rich saline solution on hepatic warm ischemia/reperfusion injury in rat model. *Braz. J Vet Pathol***10**, 10–21 (2017).
64. Eryilmaz, S. *et al.* The effects of hydrogen-rich saline solution on intestinal anastomosis performed after intestinal ischemia reperfusion injury. *J. Pediatr. Surg.***55**, 1574–1578 (2020).
65. Gu, H. *et al.* Pretreatment with hydrogen-rich saline reduces the damage caused by glycerol-induced rhabdomyolysis and acute kidney injury in rats. *J. Surg. Res.***188**, 243–249 (2014).
66. Jing, L. *et al.* Cardioprotective effect of hydrogen-rich saline on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Hear. Lung Circ.***24**, 602–610 (2015).
67. Li, L. *et al.* Effects of hydrogen-rich water on the PI3K/AKT signaling pathway in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury. *Curr. Mol. Med.***20**, 396–406 (2020).
68. Li, H. *et al.* Hydrogen-rich saline attenuates lung ischemia-reperfusion injury in rabbits. *J. Surg. Res.***174**, e11–e16 (2012).
69. Hayashida, K. *et al.* Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia–reperfusion injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***373**, 30–35 (2008).
70. Zheng, X. *et al.* Hydrogen-rich saline protects against intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Free Radic. Res.***43**, 478–484 (2009).
71. Soyulu, S. M. Rat fizyolojisi. *J. Clin. Anal. Med.***23**, 2 (2010).
72. Ko, S.-H. *et al.* Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth. Analg.***85**, 719–724 (1997).
73. Hu, Z., Crump, S. M., Zhang, P. & Abbott, G. W. Kcne2 deletion attenuates acute post-ischaemia/reperfusion myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.***110**, 227–237 (2016).

74. Eckerson, H. W., Wyte, C. M. & La Du, B. N. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.***35**, 1126 (1983).
75. Yellon, D. M. & Hausenloy, D. J. Myocardial reperfusion injury. *N. Engl. J. Med.***357**, 1121–1135 (2007).
76. Li, L. *et al.* Protective Mechanism and Clinical Application of Hydrogen in Myocardial Ischemia-reperfusion Injury. *Pak. J. Biol. Sci.***23**, 103–112 (2020).
77. Hearse, D. J., Humphrey, S. M. & Chain, E. B. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. *J. Mol. Cell. Cardiol.***5**, 395–407 (1973).
78. Zweier, J. L., Flaherty, J. T. & Weisfeldt, M. L. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc. Natl. Acad. Sci.***84**, 1404–1407 (1987).
79. Hausenloy, D. J. & Yellon, D. M. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J. Clin. Invest.***123**, 92–100 (2013).
80. Vinten-Johansen, J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc. Res.***61**, 481–497 (2004).
81. Ma, X.-L., Tsao, P. S. & Lefer, A. M. Antibody to CD-18 exerts endothelial and cardiac protective effects in myocardial ischemia and reperfusion. *J. Clin. Invest.***88**, 1237–1243 (1991).
82. Vakeva, A. P. *et al.* Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy. *Circulation***97**, 2259–2267 (1998).
83. Armstrong, P. W. *et al.* Pexelizumab for acute ST-elevation myocardial infarction in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *J. Am. Med. Assoc.***297**, 43–51 (2007).
84. Zhang, Y. *et al.* Anti-inflammatory effect of hydrogen-rich saline in a rat model of regional myocardial ischemia and reperfusion. *Int. J. Cardiol.***148**, 91–95 (2011).
85. Dhalla, N. S., Elmoselhi, A. B., Hata, T. & Makino, N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc. Res.***47**, 446–456 (2000).
86. Bolli, R. Patel BS, Jeroudi MO, Lai EK, and McCay PB. *Demonstr. Free Radic. Gener. “stunned” Myocard. intact dogs with use spin trap α-phenyl N-tert-butyl nitron.* *J Clin Invest***82**, 476–485 (1988).
87. Maher, P., Salgado, K. F., Zivin, J. A. & Lapchak, P. A. A novel approach to screening for new neuroprotective compounds for the treatment of stroke. *Brain Res.***1173**, 117–125 (2007).

88. Buchholz, B. *et al.* Hydrogen inhalation ameliorates oxidative stress in transplantation induced intestinal graft injury. *Am. J. Transplant.***8**, 2015–2024 (2008).
89. Fukuda, K. *et al.* Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***361**, 670–674 (2007).
90. Cai, J. *et al.* Hydrogen therapy reduces apoptosis in neonatal hypoxia–ischemia rat model. *Neurosci. Lett.***441**, 167–172 (2008).
91. Han, C. *et al.* Hyperbaric oxygen preconditioning alleviates myocardial ischemic injury in rats. *Exp. Biol. Med.***233**, 1448–1453 (2008).
92. Sun, Q. *et al.* Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/reperfusion injury in rats. *Exp. Biol. Med.***234**, 1212–1219 (2009).
93. Song, D. *et al.* Hydrogen-rich solution against myocardial injury and aquaporin expression via the PI3K/Akt signaling pathway during cardiopulmonary bypass in rats. *Mol. Med. Rep.***18**, 1925–1938 (2018).
94. Shen, L. *et al.* Hydrogen-rich saline is cerebroprotective in a rat model of deep hypothermic circulatory arrest. *Neurochem. Res.***36**, 1501–1511 (2011).
95. Wang, Y. *et al.* Protective effects of hydrogen-rich saline on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in a rat model. *Respir. Res.***12**, 1–8 (2011).
96. Kucuk, A. *et al.* The protective effects of dexmedetomidine on hepatic ischemia reperfusion injury. *Bratisl. Lek. Listy***115**, 680–684 (2014).
97. Yazici, S. *et al.* Using oxidant and antioxidant levels to predict the duration of both acute peripheral and mesenteric ischemia. *Perfusion***29**, 450–455 (2014).

8. Özgeçmiş

Arş.Gör. Zeynep KÖKSAL

Yabancı Dil: İngilizce

İlk öğrenim: Jale Tezer Koleji

Lise: Ankara Atatürk Anadolu Lisesi (2005-2009)

Üniversite: Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi (2009- 2015)

İhtisas: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD
(2016-)

Akademik Ünvanları: Arş. Gör. Dr.

Diğer Kurumların Hakemli Dergileri

Tirotoksikozlu Hidatidiform Molar Gebeliği Olan Hastada Spinal
Anestezi Yönetimi GÜNAYDIND.B.,ozdemirh.,DİLMENZ.,BAYRAMM.
TURKISHJOURNALofCLINICSandLABORATORY,cilt.9,sa.2,ss.155-157,2018

Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

- I. Streptozosin ile Alzheimer Oluşturulan Yaşlı Ratlarda Tekrarlayan Deksmetomidinin Kognitif Fonksiyonlar ve Beyin Dokusu Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi ARSLANM.,KÜÇÜKA.,KıranM.M.,DİLMENZ.,KAVUTÇUM.,KURTIPEKÖ. VI .Abant Anestezi Sempozyumu, Bolu, Türkiye, 26 -28 Nisan 2019
- II. Mukopolisakkaridoz Tip-IV Tanılı Hastada Anestezi Yönetimi DİLMENZ., İNANG.,PAMPALH.K. TARK52.Ulusal Kongresi, 7 - 11 Ekim 2018