



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İZOLE EDİLMİŞ SIÇAN KALBİNDE MİYOKARDİYAL İSKEMİ –
REPERFÜZYON HASARINA KARŞI OZON KULLANIMININ
KARDİYOPROTEKTİF ETKİLERİ**

**CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF OZONE AGAINST
MYOCARDIAL ISCHEMIA – REPERFUSION INJURY IN ISOLATED
RAT HEART**

Hazırlayan

Ali Alper KAHRAMAN

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

PERFÜZYONİST PROGRAMI

ÇANAKKALE-2018



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İZOLE EDİLMİŞ SIÇAN KALBİNDE MİYOKARDİYAL İSKEMİ
– REPERFÜZYON HASARINA KARŞI OZON KULLANIMININ
KARDİYOPROTEKTİF ETKİLERİ**

**CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF OZONE AGAINST
MYOCARDIAL ISCHEMIA – REPERFUSION INJURY IN
ISOLATED RAT HEART**

Hazırlayan

Ali Alper KAHRAMAN

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

PERFÜZYONİST PROGRAMI

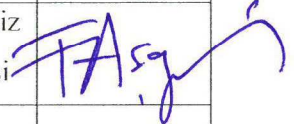
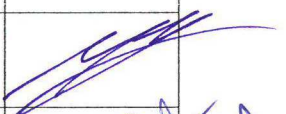
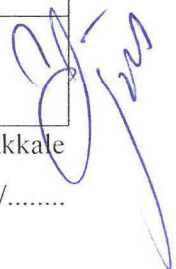
ÇANAKKALE-2018

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Perfüzyonist
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
Tez Sahibi Adı ve Soyadı : Ali Alper KAHRAMAN
Tez Başlığı : İzole Edilmiş Sıçan Kalbinde Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon
Hasarına Karşı Ozon Kullanımının Kardiyoprotektif Etkileri.
Sınav Yeri : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Uygulama ve
Araştırma Merkezi
Sınav Tarihi : 27.08.2018

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi

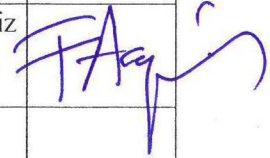
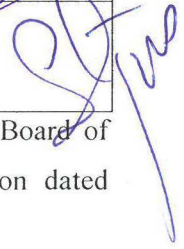
Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Doç. Dr. H. Fatih AŞGÜN	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof Dr. Mustafa TOK	Uludağ Üniversitesi	
Dr. Öğr. Üyesi Sonay OĞUZ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Çanakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences
Programme Name : Perfusionist
Programme Level : Master of Science (X) Doctor of Philosophy ()
Department : Cardiovascular Surgery Department
Student Name and Surname: Ali Alper KAHRAMAN
Title of the Thesis : Cardioprotective Effects Of Ozone Against Myocardial Ischemia
– Reperfusion Injury In Isolated Rat Heart
Examination Place : Çanakkale Onsekiz Mart University Experimental Research
Center
Examination Date : 27.08.2018

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Doç. Dr. H. Fatih AŞGÜN	Çanakkale Onsekiz Mart University	
Members of Examination Jury (Titles and Names)		
Prof Dr. Mustafa TOK	Uludağ University	
Dr. Öğr. Üyesi Sonay OĞUZ	Çanakkale Onsekiz Mart University	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Çanakkale Onsekiz Mart University, with decision dated/...../..... and numbered

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8’de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 27.08.2018

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Ali Alper KAHRAMAN

İmza:



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında bana zaman ayıran, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bana bilimsel çalışmanın disiplini öğretene, tüm yönleriyle kendime örnek aldığım Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve tez danışmanım saygıdeğer Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN'e,

Yüksek lisans eğitim hayatım boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, teorik ve pratik eğitimime katkıda bulunan başta Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Tolga KURT ve bölümümdeki diğer hocalarıma,

Tezimin biyokimyasal değerlendirilmelerinde yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Dilek ÜLKER ÇAKIR'a

Hayatımın her aşamasında bana destek olan, varlıklarından güç aldığım annem, babam, kardeşim ve Buşra ŞİRİN'e,

Tez Çalışmamın deneysel sürecinde yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Ufuk DEMİR, Elif Ayşe SANCAK, Fikriye BARIŞ ve Leyla KAYA ablama,

Bu süreçte benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Gökhan YILMAZ'a, Sude SELVİTOP'a, Kerem KARASÜLEYMANOĞLU'na, Mehmetcan TOPAL'a ve isimlerini sayamadığım emeği geçen arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ali Alper KAHRAMAN

ÇANAKKALE 2018

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018-1393

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	ii
THESIS APPROVAL FORM.....	iii
BEYAN FORMU	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
RESİM, ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ	xi
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	4
4.1. Kardiyopulmoner Baypas	4
4.1.1. İşleyiş.....	4
4.1.2. Kardiyoplejik Arrest	4
4.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	5
4.2.1. Oksidanlar.....	5
4.2.2. Antioksidanlar	6
4.3. Ozon ve Etkinliği.....	7
4.4. Çalışmada Kullanılan Değerlendirme Yöntemleri	8
4.4.1. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri.....	8
4.4.1.1. Kreatin Kinaz ve Kreatin Kinaz- MB.....	8
4.4.1.2. Laktat Dehidrogenaz	9
4.4.1.3. Troponin I.....	9
4.4.1.4. Total Oksidan Durumu	10

4.4.1.5. Total Antioksidan Durumu.....	10
4.4.1.6. Oksidatif Stres İndeksi.	10
4.4.2. Hemodinamik Değerlendirme Yöntemleri	11
4.4.2.1. Aort Basıncı.....	11
4.4.2.2. Sol Ventrikül Basıncı (Sistolik ve End-Diastolik).	11
4.4.2.3. Kalp Hızı.	12
4.4.2.4. Sol Ventrikül Basıncının Maksimum Yükseliş ve İniş Hızı. ..	12
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER	13
5.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı	13
5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	13
5.3. Kalp Eksizyonunun Gerçekleştirilmesi	14
5.4. Kalbin Langendorff Düzenine Yerleştirilmesi	16
5.5. Langendorff Düzeninde İşlemlerin Başlatılması ve Yürütülmesi	18
5.6. Kardiyoplejik Arrest Sağlanması	18
5.7. Biyokimyasal Ölçümler için Numunelerin Alınması ve Ölçümleri	19
5.8. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi.....	20
5.9. İstatistiksel Yöntem	20
6. BULGULAR	21
6.1. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları.....	21
6.1.1 Kreatin Kinaz ve Kreatin Kinaz – MB Sonuçları.....	21
6.1.2. Laktat Dehidrogenaz Sonuçları	22
6.1.3. Troponin I Sonuçları.....	23
6.1.4. Total Antioksidan Durumu Sonuçları	24
6.1.5. Total Oksidan Durumu Sonuçları.....	25
6.1.6. Oksidatif Stres İndeksi Sonuçları	26
6.2. Hemodinamik Değerlendirme Sonuçları	27

6.2.1. Aort Basıncı Sonuçları	27
6.2.2. Sol Ventrikül Basıncı (Sistolik ve End-Diastolik) Sonuçları.	28
6.2.3. Kalp Hızı Sonuçları.	30
6.2.4. Sol Ventrikül Basıncının Maksimum Yükseliş ve İniş Hızı Sonuçları.	31
7. TARTIŞMA	33
8. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
9. KAYNAKLAR	40
10. EKLER	43
Ek 1: Etik Kurul Onay Formu	43
Ek 2: Özgeçmiş.....	45
Ek 3: Spiralli Tez Kontrol Formu.....	47
Ek 4: Spiralli/Ciltli Tez Yazım Kontrol Listesi.....	48

KISALTMALAR DİZİNİ

KPB	: Kardiyopulmoner Baypas
I-R	: İskemi-Reperfüzyon
KP	: Kardiyopleji
SF	: Serum Fizyolojik
CK	: Kreatin Kinaz
CK-MB	: Kreatin Kinaz – MB
CK-MM	: Kreatin Kinaz – MM
CK-BB	: Kreatin Kinaz – BB
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
TNI	: Troponin I
TAS	: Total Antioksidan Durumu
TOS	: Total Oksidan Durumu
OSI	: Oksidatif Stress İndeksi
IP	: İntraperitonel
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
GPO	: Glutasyon Peroksidaz
CAT	: Katalaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
K-H	: Krebs Henselit
AB	: Aort Basıncı

SVB : Sol Ventrikül Basıncı

dp/dt max : Sol Ventrikül Basıncının Maksimum Çıkış Hızı

dp/dt min : Sol Ventrikül Basıncının Maksimum İniş Hızı



RESİM, ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ

Resim 1. Tespit edilmiş denek ve karın bölgesinden kesinin atılması.....	15
Resim 2. Eksizyon için göğüs boşluğu tamamen açılmış denek.....	16
Resim 3. Langendorff düzeneğine yerleştirilmiş kalp	17
Resim 4. Düzeneğe yerleştirilmiş ve stabilizasyon süresi başlatılmış kalp	17
Resim 5. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi	20
Şekil 1. OSI hesaplama formülü.	10
Şekil 2. Gruplardaki CK test sonuçları.	21
Şekil 3. Gruplardaki LDH test sonuçları.....	22
Şekil 4. Gruplardaki Troponin I test sonuçları.....	23
Şekil 5. Gruplardaki TAS test sonuçları	24
Şekil 6. Gruplardaki TOS test sonuçları	25
Şekil 7. Gruplardaki OSI sonuçları	26
Şekil 8. Gruplardaki AB ölçüm sonuçları	27
Şekil 9. Gruplardaki SVB Sistolik ölçüm sonuçları	28
Şekil 10. Gruplardaki SVB End-Diastolik ölçüm sonuçları	29
Şekil 11. Gruplardaki Kalp Hızı ölçüm sonuçları.....	30
Şekil 12. Gruplardaki dp/dt max ölçüm sonuçları	31
Şekil 13. Gruplardaki dp/dt min ölçüm sonuçları	32

1. ÖZET

Kalp hastalıkları tüm dünyada hala mortalitenin başlıca nedenleri arasındadır. Bu hastalıkların cerrahi tedavisinde genellikle kardiyopulmoner baypas (KPB) uygulanması yapılmaktadır. KPB işlemi, kalbin cerrahi işlem tamamlana kadar durdurulması ve bu durdurma sırasında, kalbin belli aralıklarla iskemik bırakılarak tekrar perfüzyonunun sağlanmasıdır. Bu iskemi-reperfüzyon (I-R) uygulaması kalpte histolojik ve fizyolojik hasarlara neden olmaktadır.

Ozonun, miyokard içerisindeki oksidatif, inflamatuvar, immün ve apoptotik yanıtı değiştirerek, I-R hasarına karşı miyokardı koruyucu etkide bulunduğu bildirilmiştir. Amacımız, Ozon kullanımının KPB uygulanan açık kalp cerrahileri sonrasında oluşan I-R hasarını azaltmak ve uygulandığı döneme göre koruma etkinliğini belirlemektir.

Çalışmamızda 230-360 g ağırlığında 48 adet dişi Wistar albino cinsi rat kullanılmıştır. Her birinde 8'er hayvan bulunan 6 grup oluşturulmuştur. Gruplar; 1) KP Ozon Grubu, 2) IP Ozon Grubu, 3) KP + IP Ozon Grubu, 4) Kontrol Grubu, 5) İskemi Grubu ve 6) Sham Grubu şeklinde ayrılmıştır. Çalışma düzeninde ozon gaz halinde elde edildi ve uygulanacağı miktara göre 1 birim Kardiyopleji Solüsyonu (KP) veya Serum Fizyolojik (SF) 4 birim (50µg/ml) ozon karıştırılarak, ozonlanmış sıvı uygulandı.

Çalışma sonucunda toplanan numunelerden Kreatin Kinaz (CK), Laktat Dehidrogenaz (LDH), Kreatin Kinaz-MB (CK-MB), Troponin I (TNI), Total Antioksidan Durumu (TAS) ve Total Oksidan Durumu (TOS) ölçümleri yapıldı. TAS ve TOS ölçümlerinden Oksidatif Stress İndeksi (OSI) hesaplandı. Ayrıca hemodinamik ölçümler de kaydedildi. Bu sonuçlar doğrultusunda ozon uygulamasının kardiyoprotektif etkinliği tam olarak belirlenememiştir. Yapılacak daha fazla çalışmalarla bu etkinliğin belirleneceği öngörülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Kardiyopulmoner baypas, langendorff, iskemi-reperfüzyon hasarı, ozon, kardiyoprotektif etki.

2. ABSTRACT

Cardioprotective Effects of Ozone Against Myocardial Ischemia - Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart

Heart diseases are still among the leading causes of mortality worldwide. Cardiopulmonary bypass (CPB) is usually applied in the surgical treatment of these diseases. CPB operation is to stop until the end of the surgical operation of the heart, and during this stop, the heart is ischemically released at regular intervals to provide reperfusion. This ischemia-reperfusion (I-R) application causes histological and physiological damage to the heart. The ozone has been reported to have a protective effect on myocardial defense against I-R injury by altering the oxidative, inflammatory, immunological and apoptotic responses in the myocardium. Our aim is to reduce the I-R injury after ophthalmic surgeries with applied CPB and to determine the effectiveness of the ozone protection against the turnover.

In our study, 48 female Wistar albino rat weighing 230-360 g were used. Six groups of 8 animals each were formed. Groups; 1) KP Ozone Group, 2) IP Ozone Group, 3) KP + IP Ozone Group, 4) Control Group, 5) Ischemia Group and 6) Sham Group. Ozone was obtained in gaseous form on the study apparatus and ozonated fluid was applied by mixing 1 unit of Cardioplegia Solution or 4 units of Serum Physiological (50 μ g / ml) ozone according to the amount to be applied.

The results of the study were the creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase-MB (CK-MB), troponin I (TNI), total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) measurements. Oxidative Stress Index (OSI) was calculated from TAS and TOS measurements. Hemodynamic measurements were recorded. The cardioprotective efficacy of ozone administration in the direction of these results has not been fully determined. It is foreseen that this activity will be determined by more studies to be done.

Key Words: Cardiopulmonary bypass, langendorff, ischemia-reperfusion injury, ozone, cardioprotective effect.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp hastalıkları tüm dünyada hala mortalitenin başlıca nedenlerindendir ve kalp korunmasında son yıllardaki en önemli ölçütlerden biridir (Fallahi A. ve ark., 2015). KPB, kalp cerrahisi sırasında kalbin ve akciğerlerin işlevini üstlenerek, kan dolaşımını ve vücudun oksijen ihtiyacını karşılayan bir sistemdir ve açık kalp cerrahileri KPB uygulaması gerektirmektedir (Lee Y.S. ve ark., 2017). KPB uygulaması ve seçilmiş bir kardiyak arrest yöntemi ile durağan ve kansız bir ortamda, süre kısıtlamasının genişletilebilme olanakları ile daha rahat operasyon yapma imkânı tanımıştır (Paç M. ve ark., 2013). Akut iskemik miyokardın zamanında reperfüzyonu miyokard kurtarımı için gereklidir (Zweier J. ve ark., 2006). İskemi-Reperfüzyon hasarı, kalp transplantasyonu, koroner arter baypas cerrahisi gibi birçok klinik durumda önemli bir komplikasyondur (Ahmed L. ve ark., 2012). Reperfüzyon sonrası kalpte serbest oksijen radikallerinin oluşumu artmaktadır. Oksijen radikallerindeki bu artış post-iskemik hasarın önemli bir etkenidir. Normal metabolizma esnasında oksijen radikallerini inaktif hale getiren endojen temizleme mekanizmaları, reperfüzyon sırasında sekteye uğrar (Zweier J. ve ark., 2006). Bu sebeplerle kardiyak cerrahiler sonrası meydana gelen iskemi-reperfüzyon hasarından kaynaklanan olumsuz etkileri azaltmak, hayatta kalım oranını olumlu yönde etkileyecektir.

Ozon kullanımının, endojen temizleme mekanizmalarını arttırdığı (Ahmed L. ve ark., 2012) ve reaktif oksijen türlerinin iyileştirilmesine neden olduğu gözlemlenmiştir (Di Filippo ve ark., 2008). İskemi-reperfüzyon hasarına karşı olumlu etkileri belirtilen ozonun, KPB sonrası oluşan hasarın da azaltılabileceğini akla getirmektedir. Bu sebeple, iki farklı dönemde (preoperatif ve intraoperatif) ozon kullanılarak KPB sonrası oluşan iskemi-reperfüzyon hasarını nasıl etkilediğini araştırdık. Bu amaçla bazı gruplarda preoperatif, bazı gruplarda intraoperatif ozon uyguladık. Yapılan ozon uygulamalarının kardiyak hasar ve oksidan-antioksidan seviyeleri üzerine etkilerini inceledik.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kardiyopulmoner Baypas

Kalp hastalıklarının cerrahi tedavisinde, “durağan ve kansız” bir cerrahi alan optimum koşullar olarak değerlendirilmektedir. Bu koşullar ise KPB uygulaması ile sağlanmaktadır. KPB, kalp ve akciğerin fonksiyonel görevleri olan pompalama ve gaz değişimini geçici olarak üstlenerek durağan cerrahi ortam koşulunu sağlar. KPB uygulaması ile kalp içerisindeki kanın yerçekimi etkisiyle kalpten uzaklaştırılmasıyla da kansız cerrahi ortam koşulunu sağlamaktadır.

4.1.1. İşleyiş

KPB uygulamasının temel komponentleri arasında; Bir veya birden fazla venöz kanül, venöz rezervuar, pompa, ısı değiştirici, oksijenatör, arteriyel hat filtresi ve arteriyel kanül bulunmaktadır (Demirkılıç U. ve ark., 2008). Bu sistemde venöz kan, sağ atriyum veya büyük venlere yerleştirilen kanül ile yerçekiminin etkisiyle rezervuara gelir. Rezervuardan çıkan venöz kan pompanın etkisiyle önce ısı dönüştürücüye, oradan da gaz değişiminin gerçekleştiği oksijenatöre gelir. Oksijenatörden çıkan arteriyel kan arteriyel filtreden geçerek arteriyel kanül yardımıyla hastanın arteriyel sistemine geri döner. Bu döngü sırasında değişik bölgelerden alınan basınç, ısı, oksijen saturasyonu, kan gazı gibi takiplerle KPB’nin güvenle sürdürülmesi sağlanmaktadır (Demirkılıç U. ve ark., 2008).

4.1.2. Kardiyoplejik Arrest

Cerrahi tedaviler için optimum koşul olan durağanlığın sağlanması için kalbin geçici olarak durdurulması gerekmektedir. Kardiyopleji ise temel olarak; kalbin diastolik arrestinin hızlı bir şekilde oluşturulması, enerji üretiminin sürekliliğinin sağlanması ve iskeminin kalp üzerindeki etkilerini azaltmada kullanılan bir solüsyondur (Paç M. ve ark., 2013).

Bu solüsyonun içerisinde; kalbin diastolik arrestini hızlı şekilde sağlamak için potasyum, reperfüzyon hasarının azaltılması için kalsiyumun hücre içerisine geçişini yavaşlattığı ve ATP üretimi ile hücresel enzim sistemlerinin ko-faktörü olduğu için

magnezyum, aerobik ve anaerobik enerji üretiminin devamlılığı için glukoz ve oksijen, hafif alkolitik pH için ise bikarbonat bulunmaktadır (Paç M. ve ark., 2013).

Yüksek potasyum miktarı, hücre zarının depolarizasyonunu sağlamasına, sodyum – kalsiyum değişim kanallarının çalışma düzenini değişmesine ve hücre zarındaki repolarizasyonun gerçekleşmesini engelleyerek arresti sağlamaktadır (Ghosh S. Ve ark., 2009).

4.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarı

İ-R hasarı, kalp nakilleri, koroner arter baypas ameliyatı gibi kardiyak arrest sağlanan birçok klinik durumda önemli komplikasyonların başında gelmektedir. Her ne kadar reperfüzyon iskemik dokunun hayatta kalması için gerekli olsa da, reperfüzyon hücre hasarına neden olmaktadır. Meydana gelen bu hasarın temel sebebi serbest oksijen radikallerinin aşırı üretimidir (Ahmed L. ve ark., 2012). Reperfüzyon sonrasında iki temel miyokard hasarı görülmektedir. Bunlar; kontraktilitedeki geri dönüşümlü işlem bozuklukları ve dönüşümsüz hücre ölümü olarak ortaya çıkmaktadır. Bunlara ek olarak reperfüzyon, başlatıldığı ilk anlarda potansiyel olarak öldürücü aritmiler ile de ilişkilidir. Reperfüzyon hasarı; kontraktilite fonksiyonlarında bozulma, koroner akımda azalma, hücre şişmesi, hücre içi aşırı kalsiyum artışı, oksidatif stres artışı ve mitokondriyal membranın parçalanması gibi şekillerde etkilerde göstermektedir (Zweier J. ve ark., 2006).

4.2.1. Oksidanlar

Normal metabolizma sırasında oksijen radikallerinin üretimi düşük seviyelerde gerçekleşmektedir. Süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), peroksi ($\text{ROO}\cdot$), hidroksi ($\cdot\text{OH}$) ve alkoksi ($\text{RO}\cdot$), oksijen radikallerinin en önemlilerindendir (Kaur C. ve ark., 2001). Bu serbest oksijen radikallerinin sayısındaki artış; antioksidanların savunma kapasitesini aştığında oksidatif stres artar ve doku ve organın fonksiyonel ve yapısal bütünlüğü üzerine zararlı etki gösterir (Tsutsui H. ve ark., 2011). Oksidanlardaki bu artış, sarkoplazmik retikulum kalsiyum ATPaz ı inhibe ederek hücresel kalsiyum yüklenmesine ve sodyum potasyum ATPaz'ın inhibe edilmesiyle sodyum aracılı kalsiyum artışına neden olduğu bildirilmiştir. Bu kalsiyum birikmesi elektriksel iletinin hücre içerisine girmesini engelleyerek kontraktilite

fonksiyonlarında bozulmalara ve aritmilere neden olmaktadır. Ayrıca bu radikaller lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre zarının hasar görmesine, membran bütünlüğünün kaybolmasına neden olmaktadır. Diğer yandan oksijen radikallerinin nötrofillerin kemotaksisine neden olduğu ve bu kemotaksinin kapiller düzeyde tıkanmalara neden olduğu söylenmektedir. Kapiller düzeydeki bu tıkanmalar mikrovasküler kompresyona neden olmaktadır. Aktive hale gelen lökositler ve meydana gelen bu kemotaksi serbest radikallerin artışına da neden olduğu söylenmektedir (Zweier J. Ve ark., 2006).

4.2.2. Antioksidanlar

Oksijen radikallerinin normal metabolizmada inaktif hale gelmelerinde (oksidatif strese karşı korunmada) endojen temizleme mekanizmaları (antioksidanlar) görev almaktadır (Zweier J. Ve ark., 2006). Antioksidanların, okside olabilen substratların oksidasyonunu önlediği, oksidasyon derecelerini azalttığı ve normal hücreleri uzun veya kısa dönemde oksijen radikallerine bağlı hasarlanmadan korudukları ileri sürülmektedir (Borek ve ark., 1986). Oksijen radikallerini toksik olmayan moleküllere yıkmak ve bozmak için çeşitli antioksidan savunma sistemleri vardır (Tsutsui H. ve ark., 2011). Bu antioksidanları; 1) Enzimatik Antioksidanlar: Glutatyon-S-transferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPO), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve 2) Enzimatik Olmayan (Non-enzimatik) Antioksidanlar: C vitamini, A vitamini, E vitamini, melatonin, albumin, sistein, ferritin, bilirubin, seruloplazmin, laktoferrin şeklinde ayırabiliriz. Genel olarak enzimatik olmayan antioksidanlar hücre dışında, enzimatik antioksidanlar ise hücre içinde daha aktif olarak gözlemlenir (Halliwell B. ve ark., 2000) .

İskemi sonrası reperfüzyon sağlandığında bu antioksidan sistemler hasar görür (Zweier J. Ve ark., 2006). Oksidanların sayılarındaki artışa ek olarak antioksidan sistemlerin hasar görmesi ile oksidatif stres daha da yükselmektedir. Artan bu oksidatif stres hücre zarı patlamalarına neden olan hücre zarı şişmelerine, nötrofil kemotaksisi ile kapiller sistemde lökosit tıkanmasına ve mikrovasküler kompresyona, enzim ve iyon kanallarını içeren proteinlerin denatürasyonuna ve DNA iplikçiklerinin kırılmalarına, nekroza ve hücre ölümlerine neden olmaktadır. Ayrıca bu serbest oksijen radikalleri toksik etki de göstermektedir (Zweier J. Ve ark., 2006).

Oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması ile ortaya çıkan oksidatif stresin (Surekha R. H. ve ark., 2007) sebep olduğu bu hasarı azaltmak için artmış olan oksidanları inaktif hale getirmek için antioksidanların miktarının arttırılması gerekmektedir. Antioksidanların sayısındaki artış ile İ-R kaynaklı hasarlara karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (Hamilton K. L., ve ark, 2003).

4.3. Ozon ve Etkinliği

Ozon gazı, birinci dünya savaşı sırasında tıbbi prosedürlerde enfeksiyonları önlemek veya kontrol altına almak için, en güçlü oksidanlardan biri olarak kabul edildiğinden dezenfektan olarak kullanılmıştır. Ozon ayrıca iskemi, inflamasyon ve enfeksiyonlarla ilişkili durumların yanı sıra diyabetikler ve diyabetik olmayan hastalardaki periferik damar bozukluklarında, basınç yaralarında ve inme gibi durumların yönetiminde de kullanılmıştır. Ozonun diğer bir etkisi ise, oksidan olan ozonun nitrik oksit salınımını arttırdığı, artan bu nitrik oksidin salınımının vazodilatasyona neden olarak hipoksiyi azalttığı yönündedir (Merin O. ve ark., 2007). Ozonun doymamış yağ asitleri ile girdiği etkileşim sonucunda da meydana gelen oksidasyon ürünlerinin oksidatif strese neden olduğu söylenmektedir (Meng W. Ve ark., 2017).

Önkoşullandırma temel olarak; vücudun bir işlem sırasında maruz kalacağı etken ile işlem öncesinde düşük seviyelerde karşılaştırılarak, vücudun bu etkene karşı savunma mekanizmaları tetiklenerek meydana gelecek etkiyi azaltma amaçlı uygulanmaktadır. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda ozonun, oksidatif önkoşullandırma ile, lipit peroksidasyonundaki azalmalara ve normal kalsiyum düzeylerine ve hücrel redoks durumunu korumak amaçlı antioksidan endojen sistemlerini arttırdığı (Leon O.S. ve ark.,1998), oksijen radikallerinin üretimi için ksantin/ksantine oksidaz yolağının bloke edilmesiyle oksidanların üretimini azalttığı ve bu etki ile oksidanların neden olduğu hasardan organları koruduğu (Ahmed L. ve ark., 2012), miyokard içerisindeki oksidatif, inflamatuvar, immün ve apoptotik yanıtı etkileyerek İ-R kaynaklı hasarlara karşı koruyucu etkide bulunduğu (Di Filippo ve ark., 2008), apoptoz aktivasyonunu inhibe ederek miyokard hasarını hafiflettiği bildirilmiştir (Meng W. Ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalarda ozonun uygulandığı zamanlar değişiklik göstermektedir. Bazı çalışmalarda İ-R öncesi dönemde oksidatif önkoşullandırma amaçlı, bazı çalışmalarda ise İ-R sonrası etkinliğinin belirlenmesi amaçlı uygulanmıştır. Ancak iki farklı dönemde ozon uygulamanın ozonun İ-R hasarına etkisi bilinmemektedir.

4.4. Çalışmada Kullanılan Değerlendirme Yöntemleri

4.4.1. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri

4.4.1.1. Kreatin Kinaz ve Kreatin Kinaz – MB

CK; miyokard, iskelet kası, beyin, bağırsaklar gibi çeşitli doku ve organlarda bulunan bir enzimdir. Başlarda klinikte kardiyak biyobelirteç olarak CK seviyeleri kullanılırdı. Miyokard hasarını takiben CK seviyesi 4 ila 6 saat arasında artmaya başlar ve 1 gün içerisinde ise zirveye ulaşır. Zirveye ulaşmasını takibinde 48 ila 72 saat içerisinde de normal seviyelere döner. CK'nın en önemli dezavantajı ise, enzim miktarında meydana gelen artışın miyokarda özgü olmayışdır (Lewandrowski K.B., 2014).

CK'nın üç izoenzimi bulunmaktadır. Bu izoenzimler CK-BB, CK-MB ve CK-MM dir. CK-MM kalpte bulunan CK'nın %80 ini oluşturmaktadır. Diğer %20 lik kısım CK-MB'den oluşmaktadır. Ancak CK-MM diğer doku ve organlarda da yüksek oranlarda bulunur. CK-MB ise diğer doku ve organlarda bulunmasına rağmen miktarları düşüktür. Bu sebeple kan içeriğindeki CK-MB seviyelerinin fazlalığı temel olarak kalp hasarı ile ilişkilendirilmiştir. İskelet kası hasarlarında da miktarında artış gözlenen CK-MB kardiyak hasarın tek başına tanısının konmasında yetersizdir. Ancak Troponin I gibi daha duyarlı testlerle birlikte tanının netleştirilmesinde önemli bir parametredir (Lewandrowski K.B., 2014).

CK enzimi fizyolojik olarak; yüksek enerjili fosfat gruplarının geçici depo şekli olan fosfokreatinden, fosfat grubunun ADP ye verilerek ATP oluşumunu sağlamak ve kreatinin ATP tarafından tekrar fosfokreatine dönüşmesini katalizlemektir (Çelik İ. ve ark., 1998).

4.4.1.2. Laktat Dehidrogenaz

LDH; glikoliz sonucu oluşan pirüvatı geri dönüşümlü laktata çeviren, birçok doku ve organda bulunan bir enzimdir. Miyokard, iskelet kası, karaciğer, böbrek ve eritrositleri içeren dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Farklı bölgelerde bulunması ve salınması sebebiyle meydana gelen artış spesifik bir bölgeye ait sonuçları belirtmemektedir.

LDH'nin 5 izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar 1-5 olarak adlandırılmaktadır. LDH-1 izoenzimi miyokard, böbrek ve eritrositlerde bulunur. Normal plazma içerisinde ise LDH-2 izoenzimi daha fazla bulunmaktadır. LDH izoenzimleri miyokardiyal hasar durumlarında biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. Ancak bu izoenzimler ile CK izoenzimleri miyokard hasarı için benzer duyarlılıktadır. Bu sebeple daha duyarlı testlerle birlikte değerlendirilmektedir (Lewandrowski K.B., 2014).

4.4.1.3. Troponin I

Troponin kompleksi kasılma mekanizması içerisinde görev alan protein yapılı bir bileşiktir. Bu kompleks üzerinde 3 protein bulundurmaktadır. Bunlardan birincisi Troponin C'dir. Troponin C hücreye gelen uyarının etkisiyle hücre içerisinde artan kalsiyumu bağlayarak Troponin kompleksinin şeklini değiştirerek miyozinlerin Aktinlere bağlanmasını sağlar. Bu proteinlerden bir diğeri Troponin T'dir. Troponin T ise Troponin kompleksinin tropomiyozine bağlanmasını sağlar. Sonucu protein ise Troponin I'dır. Troponin I ise aktin ve miyozin etkileşimini inhibe eder ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olarak aktin ve Troponin C arasındaki bağlantıyı yönetir (Parmacek M. ve ark., 2004).

Troponin I iskelet kası formlarında bulunmayan 31 ek kalıntıya sahiptir. Böylece miyokarda özgü spesifik antikorların elde edilmesine kolaylık sağlar. Bu sebeple Troponin I kardiyak hasarın tespitinde daha etkin bir analiz yöntemidir (Sadony V. ve ark., 1997).

4.4.1.4. Total Oksidan Durumu

Serbest radikaller temel olarak bağımsız bir ve birden fazla eşleşmemiş elektronu olan atom veya molekülleri tanımlamak için kullanılır. Normal metabolik faaliyetler sırasında, hücresel seviyede enerji üretimi için kullanılan oksidatif fosforilasyonda, oksijenin tamamlanamamış indirgenmesi oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır (Zweier J. Ve ark., 2006). Bu serbest radikaller oksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Bu test, oksidasyon reaksiyonları sonucu oksitlenmiş atom ve moleküller ile iyon kıskançlarının birleştirilerek ölçümüne dayanan analiz yöntemlerinden biridir. Bu yöntem ile oksidanların miktarları ve oksidatif stres boyutu belirlenecektir.

4.4.1.5. Total Antioksidan Durumu

Antioksidanlar temel olarak oksidanların oluşumunu azaltan veya meydana gelen hasarı önlediği belirtilen mekanizmalardır. Hücresel redoks durumunu korumak için oksidanların miktarına göre üretimleri artar. Bu test hücresel redoks durumu gereği oluşan antioksidanların, yoğun oksidan bulunan ortamda oksidanlarla etkileşimi sağlanarak miktarlarının belirlenmesi için yapılan analiz yöntemlerinden biridir. Bu sayede antioksidan miktarları ve oksidatif stresin boyutu belirlenecektir.

4.4.1.6. Oksidatif Stres İndeksi

Normal hücre metabolizması sürecinde veya patolojik birtakım durumlara bağlı olarak aşırı oksidan üretildiğinde ya da antioksidan savunmalarda belirgin bir azalma meydana geldiğinde oksidatif stres oluşur. İ-R kaynaklı hasarların temelinde bulunan oksidatif stresi belirlemede kullanılan bir yöntemdir. OSI'yi belirlemede TAS ve TOS testlerinin sonuçları etkin olmaktadır.

$$OSI = \frac{TOS}{TAS * 1000} * 100$$

Şekil 1. OSI hesaplama formülü.

4.4.2. Hemodinamik Değerlendirme Yöntemleri

Langendorff düzeneği temel olarak farmakolojik ve fizyolojik çalışmalarda, kalbin izole edilerek dış ortamda perfüzyonunun sağlanmasıdır (İgic R., 1996). Sağlanan bu perfüzyon ile kalp canlı tutularak, çalışmaya yönelik uygulamaların etkinliğini belirlemede kullanılan önemli bir sistemdir. Bu sistem, kalbin vücuttan uzaklaştırılarak oksijenlendirilmiş bir perfüzyat yardımıyla kalbin canlılığın devam ettirilmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu işlem süresi boyunca hem kalbin perfüzyon etkinliğini düzenlemek hem yapılan çalışmaya uygun işlemleri belirlemek hem de uygulama sonunda kalpte meydana gelen etkileri belirleyebilmek adına hemodinamik ölçümler kaydedilmektedir. Bunların başında Aort basıncı, sol ventrikülün sistolik ve end-diastolik basıncı, kalp hızı, sol ventrikül basıncının iniş ve çıkış hızları ölçümleri gelmektedir.

4.4.2.1. Aort Basıncı

Aort basıncı (AB) langendorff düzeneğinde koroner dolaşımın gerçekleştiğini belirlemede ve yetersiz perfüzyon gibi dış faktörlerin etkisini ortadan kaldırarak oluşabilecek İ-R kaynaklı hasarı belirlemede kullanılmaktadır.

4.4.2.2. Sol Ventrikül Basıncı (Sistolik ve End-Diastolik)

Kalp iskemiye karşı oldukça hassastır. Üstlendiği görev bakımından sol ventrikül kalbin merkezi konumundadır. Sol ventrikülde meydana gelebilecek bir fonksiyon bozukluğu başta beyin olmak üzere tüm doku ve organları etkilemektedir. Kalbe gelen oksijen miktarının %85 kadarı kalbin fonksiyonunu yerine getirmesi için kullanılmaktadır. İskemi periyot başladığında hücre içerisindeki kalsiyum hücre dışına aktarılamaz ve bu sebeple kalbin kontraktilesi için gerekli olan elektriksel iletinin hücreye girişi gerçekleşemez bu sebeple kalp kontraktile fonksiyonunu kaybetmeye başlar. İskemi süresi arttıkça da bu fonksiyon kaybı hücresel düzeyde nekroza kadar sebep olabilmektedir (Aşgün H.F., 2016).

Sol ventrikül basıncı (SVB) kalbin fonksiyonunu belirleyen faktörlerden biridir. Sol ventrikülün sistolik basıncı temel olarak kalbin kasılabilme gücünü belirlemektedir. Kasılma gücü ise kalbin atım hacmini etkilemektedir. Sol

ventrikülün sistolik basıncındaki düşüklük kasılma gücündeki kayıp olduğunu göstermektedir. Sol ventrikülün end-diastolik (diastol sonu) basıncı ise ventrikülün gevşeyebilirliğini belirlemektedir. Bu gevşeme kalbe dolan volümü etkilemektedir. Sol ventrikülün end-diastolik basıncında yükseklik ise kalbin tam gevşeyemediğini göstermektedir. Bu iki durumda da kalbin atım hacmini belirlemektedir. Atım hacminde meydana gelebilecek bir bozukluk doku ve organların perfüzyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca atım hacminde meydana gelen değişikliklerde kalbin fonksiyonunu doğru orantılı olarak etkilemektedir. Sol ventrikülün sistolik ve end-diastolik basınçları kalpte meydana gelebilecek hasarın sol ventrikül üzerine etkisini belirlemede kullanılmaktadır.

4.4.2.3. Kalp Hızı

Kalp hızı da kalp debisini belirleyen faktörlerden biridir. Buna karşın kalp hızının kalp debisine etkisi sınırlıdır. Yüksek seviyelerdeki kalp hızları kalbin dolum süresini etkileyerek kalp içerisindeki volümü azaltmaktadır. Kalp hızı bu sebeple, kalbin çalışma düzeninde İ-R hasarı etkisiyle oluşabilecek değişiklikleri belirlemede kullanılmaktadır.

4.4.2.4. Sol Ventrikül Basıncının Maksimum Yükseliş ve İniş Hızı

Dp/dt , basıncın zamana bağlı değişimi olarak ifade edilmekte ve bu değişim kontraktilitenin etkinliğini belirlemektedir. Sabit volüm bulunan ventrikülde, dp/dt max yani maksimum yükselme hızı ventrikülün sistolik fonksiyonu ile ilgilidir ve miktarındaki artış kontraktilitenin arttığını gösterirken miktarındaki azalış atım volümünün azalmasına sebep olacaktır. Dp/dt min yani maksimum iniş hızı ise ventrikülün diastolik fonksiyonu ile ilgilidir ve miktarındaki artış sol ventrikül volümünü etkilemektedir. Beklenen durum dışındaki azalmalarda aktin ve miyozin arasındaki mesafeyi arttırarak kontraktilitenin gücünü azaltacaktır. Dp/dt max ve dp/dt min deki değişiklikler kalbin atım volümünü etkileyerek yeterli perfüzyonun sağlanamamasına neden olacaktır. Bu sebeple dp/dt max ve dp/dt min ventriküler hasarın belirlenmesinde kullanılmaktadır.

5. GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Bu proje Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelendi ve etik kurul yönergelerine uygun bulunarak onaylandı (Etik Kurul Karar No: 2017/08-04).

Çalışmamızda 48 adet, 230-260 g ağırlığında Wistar albino soyundan dişi sıçan kullandı. Deney süresince denekler 20 ± 2 °C sabit oda sıcaklığında, nem oranı %50 ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsüne sahip laboratuvarında takip edildi. Deneklerin beslenmesi için standart yem ve musluk suyu kullanıldı.

5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Denekler rastlantısal olarak seçilerek, her grupta 8 denek bulunacak şekilde 6 gruba ayrıldı.

- 1) KP Ozon Grubu: Bu grupta deneklere 24 saat önceden Preoperatif İntraperitoneal (IP) SF uygulandı. Kalp langendorff düzeneğine yerleştirildikten ve stabilizasyon süresini tamamladıktan sonra ozonlandırılmış kristalloid KP ile arrest sağlandı. İskemi periyodu sonunda reperfüzyon başlatılarak işlem sonuna kadar takip edildi.
- 2) IP Ozon Grubu: Bu grupta deneklere 24 saat önceden preoperatif IP ozonlandırılmış SF uygulandı. Kalp langendorff düzeneğine yerleştirildikten ve stabilizasyon süresi tamamlandıktan sonra kristalloid KP ile arrest sağlandı. İskemi periyodu sonunda reperfüzyon başlatılarak işlem sonuna kadar takip edildi.
- 3) KP + IP Ozon Grubu: Bu grupta deneklere 24 saat önceden preoperatif IP ozonlandırılmış SF uygulandı. Kalp langendorff düzeneğine yerleştirildikten ve stabilizasyon süresi tamamlandıktan sonra ozonlandırılmış kristalloid KP ile arrest sağlandı. İskemi periyodu sonunda reperfüzyon başlatılarak işlem sonuna kadar takip edildi.

- 4) Kontrol Grubu: Bu grupta deneklere 24 saat önceden preoperatif IP SF uygulandı. Kalp langendorff düzeneğine yerleştirildikten ve stabilizasyon süresi tamamlandıktan sonra kristalloid KP ile arrest sağlandı. İskemi periyodu sonunda reperfüzyon başlatılarak işlem sonuna kadar takip edildi.
- 5) İskemi Grubu: Bu grupta deneklere 24 saat önceden preoperatif IP SF uygulandı. Kalp langendorff düzeneğine yerleştirildikten ve stabilizasyon süresi tamamlandıktan sonra perfüzyon durdurularak iskemik bırakıldı. İskemi periyodu tamamlandıktan sonra reperfüzyon başlatılarak işlem sonuna kadar takip edildi.
- 6) Sham Grubu: Bu grupta deneklere 24 saat önceden preoperatif IP SF uygulandı. Kalp langendorff düzeneğine yerleştirildikten sonra stabilizasyon, iskemik ve reperfüzyon dönemlerinin toplam süresi boyunca stabil olarak perfüze edilerek takip edildi.

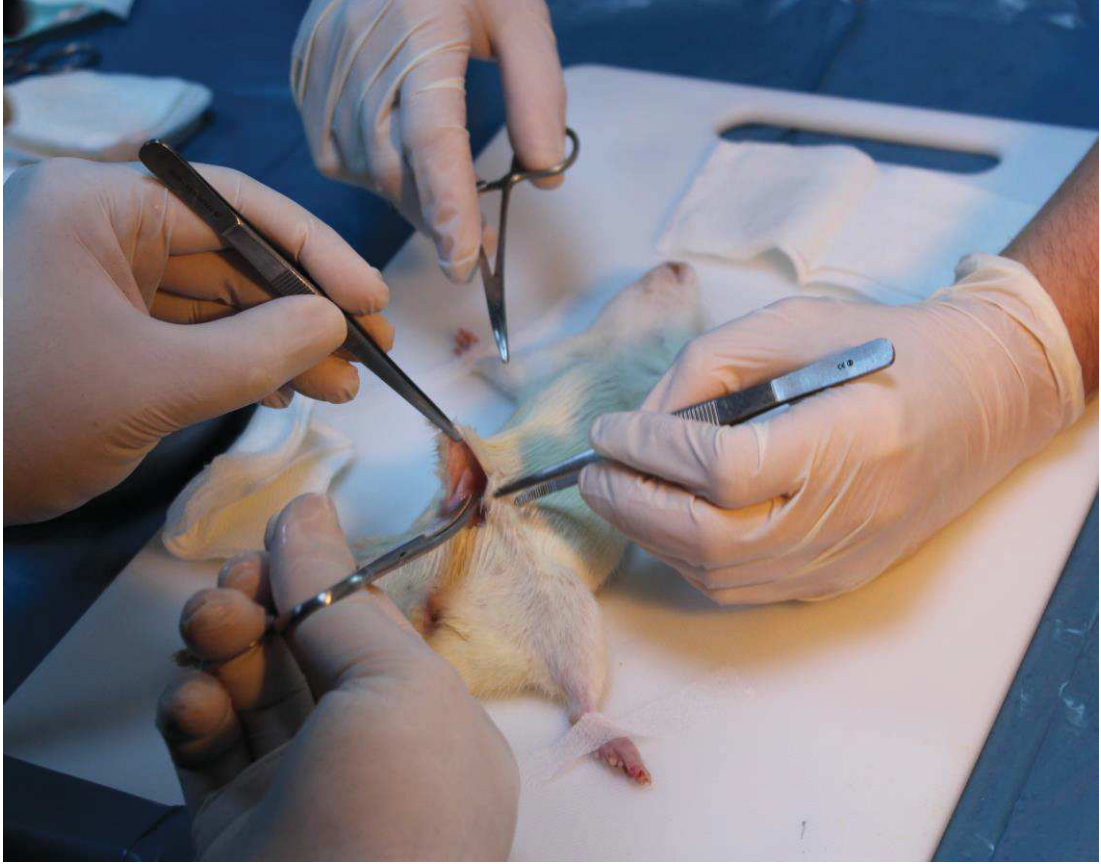
5.3. Kalp Eksizyonunun Gerçekleştirilmesi

Çalışmada denekler 24 saat önceden preoperatif IP uygulamalarına tabi tutuldu. IP Ozon ve KP + IP Ozon gruplarında deneklere 0,25 ml SF ve 1 ml (50µg/ml) ozon hızlı bir şekilde 1 dakika boyunca karıştırılıp havası alınarak 0,25 ml ozonlandırılmış SF uygulandı. Diğer gruplarda ise 0,25 ml SF IP olarak uygulandı. Ozon gaz olarak medikal ozon jeneratöründen (Turkozone Blue S, Ozon Sağlık Hizmetleri Ltd. Şti., Türkiye) elde edildi.

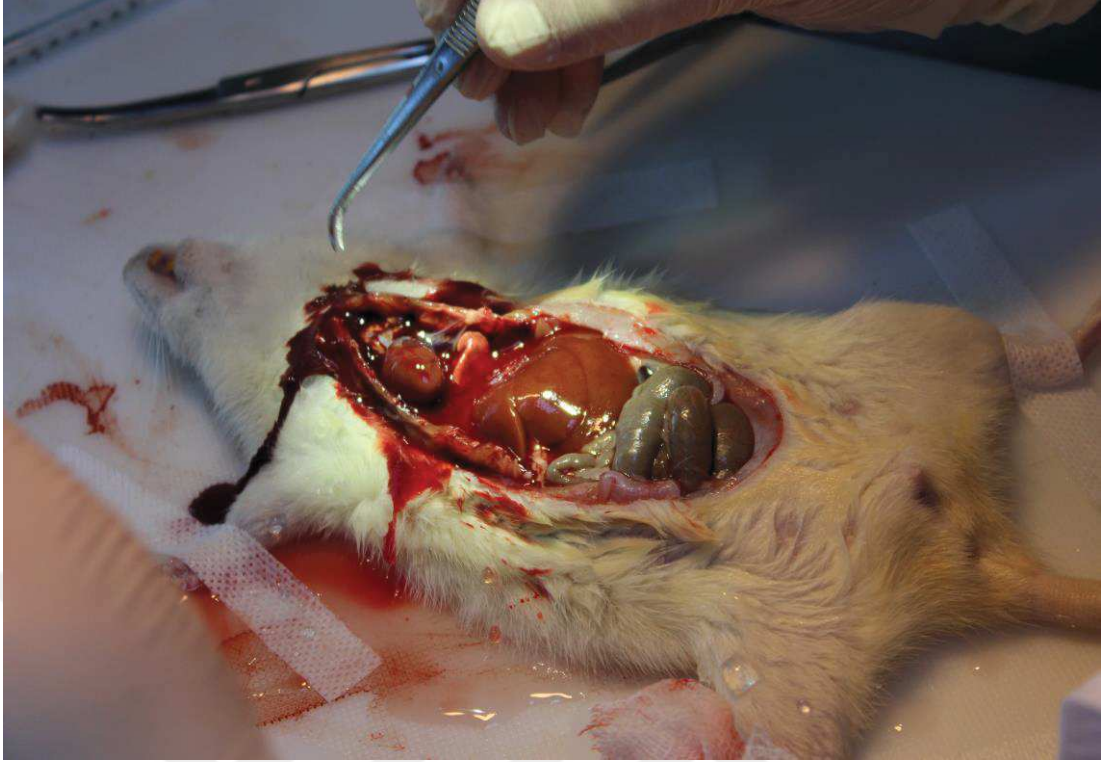
Çalışmada kullanılan denekler preoperatif IP uygulamalarının 24 saatlik süresi tamamlandıktan sonra, 0.4 ml/kg Xylazine (%2 Xylazinbio®) ve 1,6 ml/kg Ketamine (%10 Ketazol®) karışımının intramüsküler enjeksiyonuyla uyutuldu.

Anestezi altındaki denekler, deney masasına sırt üstü yatırılarak ön ve arka ayaklarından tespit edildi (Resim 1). Karın bölgesinden kesi başlatılarak göğüs bölgesi dahil olacak şekilde açıldı. Diyafram kesilerek göğüs boşluğu görüldü ve inferior vena cava (IVC)'dan 100 g ağırlığa 500 ünite (u) (Merin O. ve ark., 2007) ve ortalama denek ağırlığı 250 g baz alınarak 0,25 ml olacak şekilde heparin (5ml/25000u Poliparin®) verildi. Denekler heparinize edildikten sonra kaburgalar

kesilerek göğüs boşluğu tamamen açıldı (Resim 2). Perikard açılarak kalp ve çevresi miyokardiyal koruma için soğuk su ile dolduruldu. Hassas penset yardımıyla asendan aorta tutularak kalp hızla eksize edildi. Eksize edilen kalp soğuk içerisine alınarak langendorff düzeneğine (May LS 09, Commat Ltd., Türkiye) yerleştirilmek üzere hazır hale getirildi.



Resim 1. Tespit edilmiş denek ve karın bölgesinden kesinin atılması.



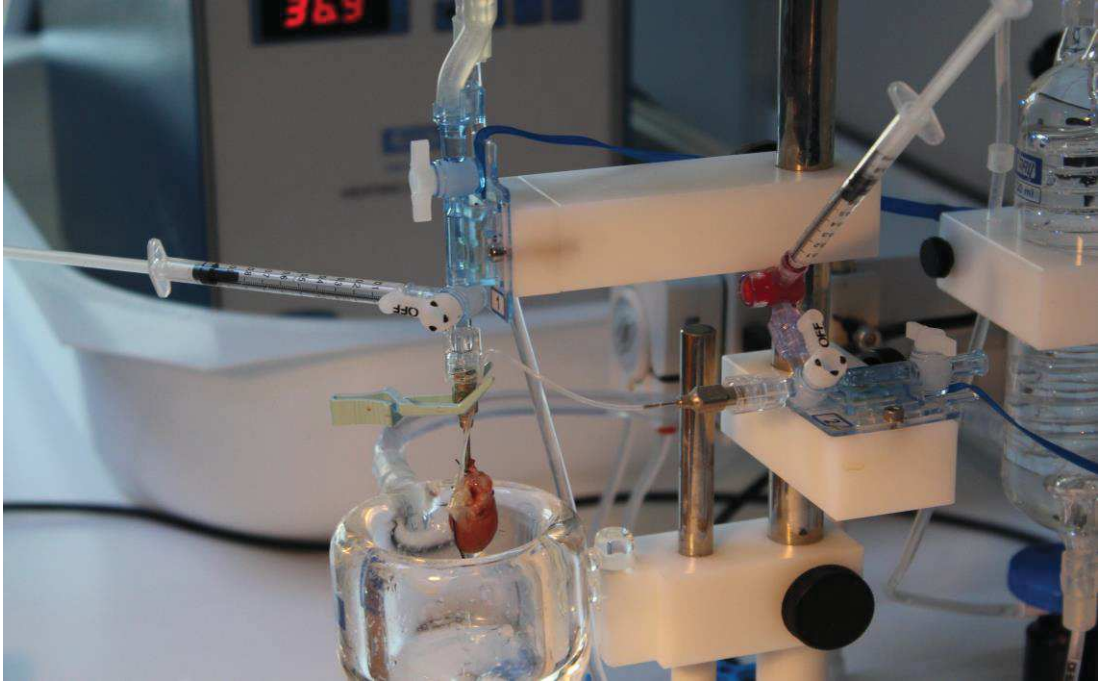
Resim 2. Eksizyon için göğüs boşluğu tamamen açılmış denek.

5.4. Kalbin Langendorff Düzenegine Yerleştirilmesi

Kalbin eksizyonu sonrasında, kalp yaklaşık 1 dakika içerisinde asendan aortadan aort kökü perfüze edilecek şekilde cihaza asıldı ve Krebs-Henselit (K-H) Solüsyonu ile perfüzyonu başlatıldı. Kalp eksizyondan düzeneğe yerleştirilene kadar geçen sürede soğuk içerisinde bekletildi. Perfüzyon başlatıldıktan sonra kalp asendan aortanın orta kısmından düzeneğe 2-0 ipek bağlama ile tespit edildi (Resim 3). Kalp tespit edildikten sonra Aort Basıncı (AB) ortalama değeri 60 ± 10 mmHg basınç olacak şekilde ayarlandı. Sol ventrikül basıncının (SVB) ölçülmesi için, kalbin perfüzyonu devam ederken sol atriyumun apendikulası kesi atılarak açıldı. Ölçüm için kullanılacak olan kateter, bu kesiden içeri girilip mitral kapaktan geçirilerek sol ventrikül içerisine yerleştirildi. Yerleştirilen kateterin ucundaki balon, end-diastolik basınç 10 ± 2 mmHg olacak şekilde şişirildi ve kateter apendikula çevresine 5-0 prolene sütür kullanılarak tespit edildi. Stabilizasyon süresi sol ventrikül basınç kateteri yerleştirildikten sonra başlatıldı (Resim 4).



Resim 3. Langendorff düzeneğine yerleştirilmiş kalp.



Resim 4. Düzeneğe yerleştirilmiş ve stabilizasyon süresi başlatılmış kalp.

5.5. Langendorff Düzeneğinde İşlemlerin Başlatılması ve Yürütülmesi

Çalışmada May LS 09 model langendorff düzeneği kullanılmıştır. Langendorff düzeneğinde kullanılmak üzere günlük K-H solüsyonu hazırlanarak kullanıldı. K-H solüsyonu; ultra saf su (Direct-Q® 3UV, Merck, Almanya) içerisine 6,9 mg/lt NaCl, 0,34 mg/lt KCl, 0,19 mg/lt KH₂PO₄, 0,30 mg/lt MgSO₄, 2,10 mg/lt NaHCO₃, 2,18 mg/lt Glukoz ve 0,21 mg/lt CaCl₂ tuzları (Sigma Aldrich®, ABD) eklenerek 37 °C de 7.4 pH oluşturulacak şekilde günlük hazırlandı. Solüsyonun pH 7.4 ayarlanmasında asidik durumlarda NaHCO₃, bazik durumlarda HCl eklenerek dengelendi. Düzeneğe K-H solüsyonu eklendikten sonra sistemdeki hava prime yapılarak çıkartıldı. Sistem düzenli olarak ısı değiştirici ile 37 °C de tutuldu.

Hazır halde bulunan cihaza kalp yerleştirildikten sonra AB ortalama basıncı 60±10 mmHg olacak şekilde perfüzyon başlatıldı. Perfüzyon devam ederken SVB basınç kateteri sol ventriküle yerleştirildikten sonra end-diastolik basınç 10±2 mmHg olacak şekilde şişirildi ve 30 dakikalık stabilizasyon süresi başlatıldı.

30 dakikalık stabilizasyon süresi tamamlandıktan sonra KP Ozon – IP Ozon – KP + IP Ozon – Kontrol gruplarında kardiyoplejik arrest sağlanarak 30 dakikalık iskemi süresi başlatıldı. İskemi grubunda bu sürede kardiyoplejik arrest sağlanmaksızın kalp 30 dakika iskemik bırakıldı. Sham grubunda ise kalp 30 dakikalık iskemi süresi boyunca da aralıksız perfüze edildi.

30 dakikalık iskemi süresi tamamlandıktan sonra KP Ozon – IP Ozon – KP + IP Ozon – Kontrol – İskemi gruplarında 30 dakikalık reperfüzyon başlatıldı. Sham grubunda ise bu süre dahilinde de perfüzyon devam ettirildi. 30 dakikalık reperfüzyon süresi tamamlandıktan sonra tüm gruplarda işlem sonlandırıldı. Her grup toplam 90 dakikalık işleme tabi tutulmuş oldu.

5.6. Kardiyoplejik Arrest Sağlanması

Kardiyopleji solüsyonu olarak Hazır St. Thomas No2 (Plegisol, Pfizer®, ABD) kullanıldı. Solüsyonun kullanımı gereği 7.8 pH elde etmek için %8,4 lük 10 ml Sodyum Bikarbonat eklenmesi gerekmektedir. Bu prosedür her denek için, kullanımdan 10 dk önce 10 ml plegisol için 0,1 ml bikarbonat eklenerek hazırlandı

ve uygulaması gerçekleştirildi. Tüm gruplarda, kardiyoplejik arrest sağlanacağı durumlarda 5 ml kardiyopleji uygulanarak kardiyak arrest sağlandı.

KP Ozon ve KP + IP Ozon gruplarında 10 ml bikarbonatla hazırlanmış plegisol ve 40 ml (50µg/ml) ozon hızlı bir şekilde 1 dakika boyunca karıştırılarak ozonlandırılmış kardiyoplejik solüsyon hazırlandı ve uygulamaya alındı. Diğer kardiyoplejik arrest uygulanan gruplarda plegisol bikarbonatla hazırlandıktan sonra uygulaması gerçekleştirildi.

5.7. Biyokimyasal Ölçümler için Numunelerin Alınması ve Ölçülmesi

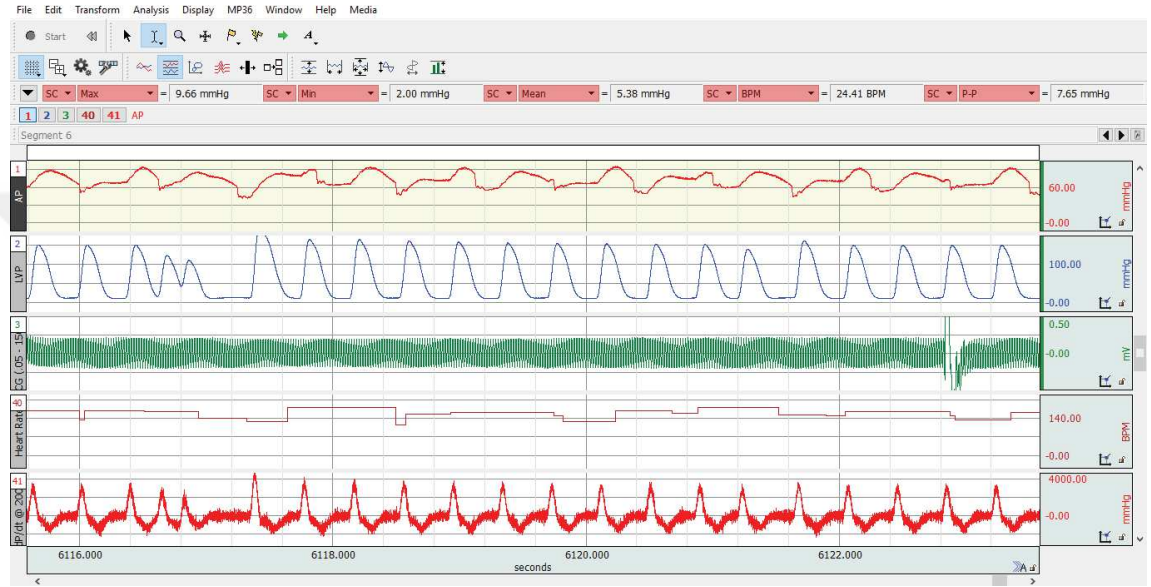
Tüm gruplarda numuneler kalbin perfüzyonunu sağlayan K-H solüsyonunun atık sularından toplandı. İlk numuneler stabilizasyon süresinin son 5 dakikasında biriktirilen atık sularından, ikinci numuneler ise reperfüzyon süresinin son 5 dakikasında biriktirilen atık sularından alındı.

Alınan numunelerden CK, CK-MB, LDH ve Troponin I testlerinin ölçümleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında (Cobas® 6000 c501-e601, Roche®, İsviçre) cihazında gerçekleştirildi. CK, CK-MB ve LDH testleri u/l biriminde, Troponin I testi ng/ml biriminde sonuçlar elde edildi.

TAS ve TOS testlerinin ölçümleri Baran Medikal San. Tic. Ltd. Şti. tarafından gerçekleştirildi. TAS ve TOS ölçümleri Relassay (Relassay®, Türkiye) kiti ile Relassay Selectra E (Relassay®, Türkiye) cihazında tam otomatik olarak çalışıldı. TAS testinin çalışma protokolü; Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl alındı, numuneden 18 µl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 660nm yapıldı ardından reaktif 2'den 45 µl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660nm yapıldı. TOS testinin çalışma protokolü ise; Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl alındı, numuneden 45 µl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 530nm yapıldı ardından reaktif 2'den 15 µl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 530nm yapıldı. TAS testi mmol/l biriminde, TOS testi µmol/l biriminde sonuçlar elde edildi. OSI testi ise $TOS/TAS \times 1000 \times 100$ formülü ile elde edildi.

5.8. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi

Hemodinamik ölçümler Biopac MP36 (Biopac®, ABD) sistemi ile elde edildi. AB, SVB sistolik ve end-diastolik, Kalp hızı, Sol Ventrikül Basıncının Maksimum Yükseliş Hızı (dp/dt max) ve Sol Ventrikül Basıncının Maksimum İniş Hızı (dp/dt min) değerlerinin ölçümü gerçekleştirildi. Ölçümler kalbin düzeneğe yerleştirilmesi ile başlatılarak reperfüzyon süresi tamamlanana kadar kaydedildi (Resim 5).



Resim 5. Hemodinamik Ölçümlerin Kaydedilmesi.

Ölçümlerin değerlendirilmesinde ise biyokimyasal ölçümlerle uyumluluk açısından stabilizasyon süresinin son beş dakikasındaki ve reperfüzyon süresinin son beş dakikasındaki 750-780 ölçümün ortalamaları baz alındı.

5.9. İstatistiksel Yöntem

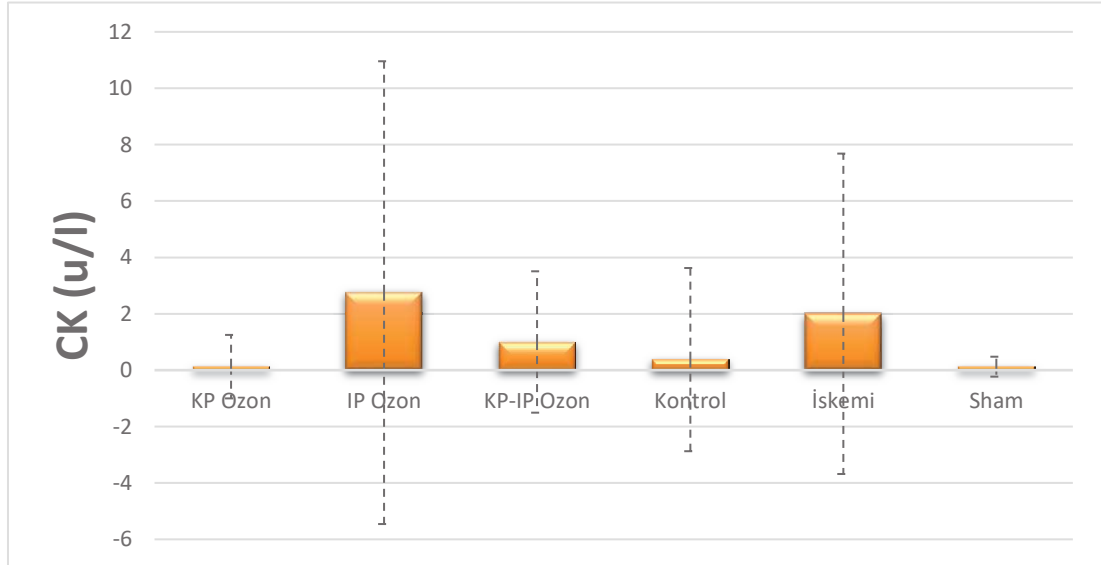
Elde edilen sonuçların istatistiksel anlamlılık düzeyleri SPSS® Statistic Version 24 (IBM®, ABD) ile belirlendi. Elde edilen veriler reperfüzyon süresi sonucundaki değerler ile stabilizasyon süresi sonucundaki değerlerin farklarının ortalamaları alınarak belirlendi. Çoklu grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ile değerlendirme yapıldı. Sonuçların yorumlanmasında $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları

6.1.1. Kreatin Kinaz ve Kreatin Kinaz – MB Sonuçları

Deneklerin langendorff düzeneğinde stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonunda K-H solüsyonu atık sularından alınan numunelerin CK testi için ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $0,75 \pm 1,388$ u/l ve $0,875 \pm 0,834$ u/l, IP Ozon grubunda $0,25 \pm 0,462$ u/l ve $3 \pm 8,088$ u/l, KP + IP Ozon grubunda $0,25 \pm 0,462$ u/l ve $1,25 \pm 2,434$ u/l, Kontrol grubunda $0,75 \pm 0,886$ u/l ve $1,125 \pm 2,799$ u/l, İskemi grubunda $0,375 \pm 0,744$ u/l ve $2,375 \pm 5,553$ u/l, Sham grubunda ise 0 ± 0 u/l ve $0,125 \pm 0,353$ u/l olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $0,125 \pm 1,125$, IP Ozon grubunda $2,75 \pm 8,207$, KP + IP Ozon grubunda $1 \pm 2,507$, Kontrol grubunda $0,375 \pm 3,248$, İskemi grubunda $2 \pm 5,682$ ve Sham grubunda $0,125 \pm 0,353$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).

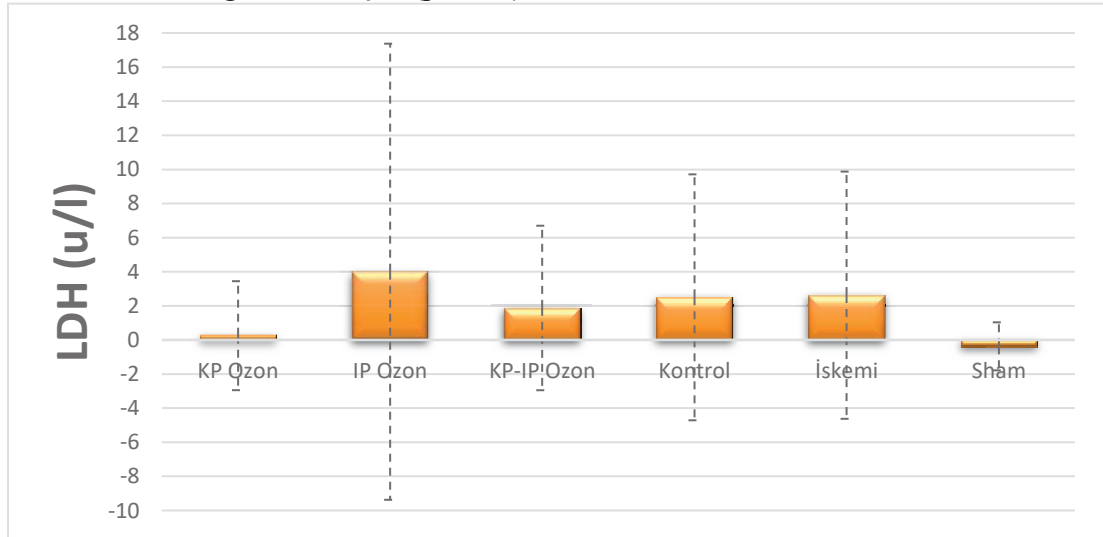


Şekil 2. Gruplardaki CK test sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

CK – MB testi için yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçların çoğunluğu (yaklaşık %97) u/l biriminde <0 sonucunu verdiği için sonuçlar anlamsız kabul edilip değerlendirilmeye alınmamıştır.

6.1.2. Laktat Dehidrogenaz Sonuçları

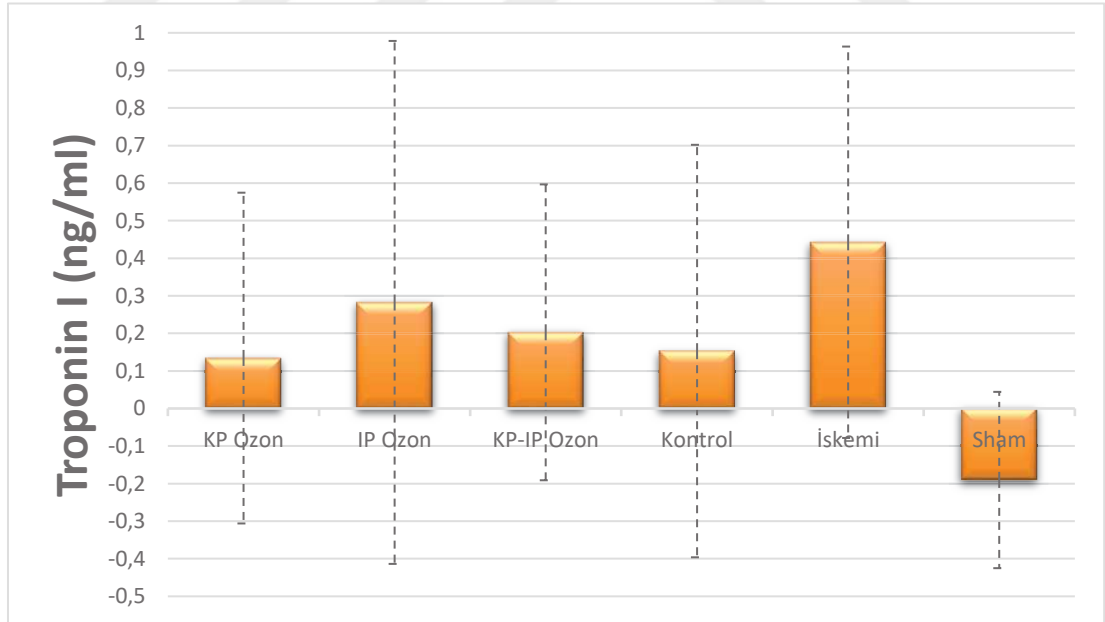
Deneklerin langendorff düzeneğinde stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonunda K-H solüsyonu atık sularından alınan numunelerin LDH testi için ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $1,625 \pm 1,302$ u/l ve $1,875 \pm 3,440$ u/l, IP Ozon grubunda $1,375 \pm 1,060$ u/l ve $5,375 \pm 13,999$, KP + IP Ozon grubunda $1,5 \pm 1,195$ u/l ve $3,375 \pm 5,370$ u/l, Kontrol grubunda $0,5 \pm 1,069$ u/l ve $3 \pm 6,907$ u/l, İskemi grubunda $0,875 \pm 1,125$ u/l ve $3,5 \pm 6,886$ u/l ve Sham grubunda ise $0,875 \pm 0,353$ u/l ve $0,5 \pm 1,414$ u/l olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $0,25 \pm 3,195$, IP Ozon grubunda $4 \pm 13,373$, KP + IP Ozon grubunda $1,875 \pm 4,823$, Kontrol grubunda $2,5 \pm 7,211$, İskemi grubunda $2,625 \pm 7,249$ ve Sham grubunda $-0,375 \pm 1,407$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 3. Gruplardaki LDH test sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

6.1.3. Troponin I Sonuçları

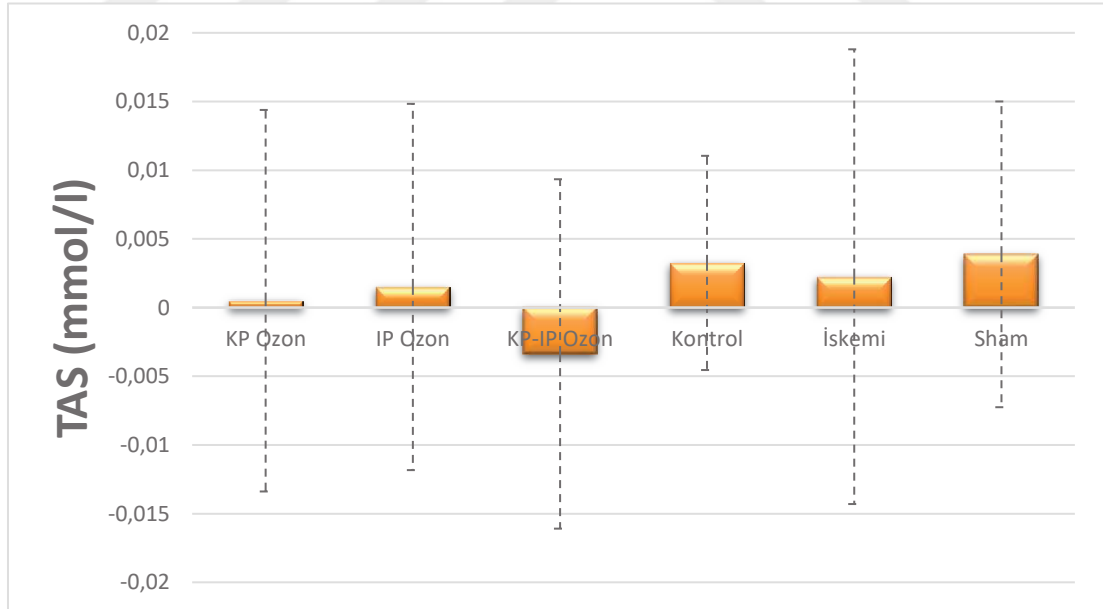
Deneklerin langendorff düzeneğinde stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonunda K-H solüsyonu atık sularından alınan numunelerin Troponin I testi için ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $0,491 \pm 0,278$ ng/ml ve $0,626 \pm 0,495$ ng/ml, IP Ozon grubunda $0,569 \pm 0,852$ ng/ml ve $0,852 \pm 0,919$ ng/ml, KP + IP Ozon grubunda $0,283 \pm 0,142$ ng/ml ve $0,486 \pm 0,442$ ng/ml, Kontrol grubunda $0,412 \pm 0,256$ ng/ml ve $0,565 \pm 0,469$ ng/ml, İskemi grubunda $0,375 \pm 0,218$ ng/ml ve $0,817 \pm 0,553$ ng/ml, Sham grubunda ise $0,494 \pm 0,296$ ng/ml ve $0,303 \pm 0,130$ ng/ml olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $0,134 \pm 0,440$, IP Ozon grubunda $0,282 \pm 0,696$, KP + IP Ozon grubunda $0,202 \pm 0,393$, Kontrol grubunda $0,152 \pm 0,549$, İskemi grubunda $0,442 \pm 0,520$ ve Sham grubunda $-0,190 \pm 0,234$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4. Gruplardaki Troponin I test sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

6.1.4. Total Antioksidan Durumu Sonuçları

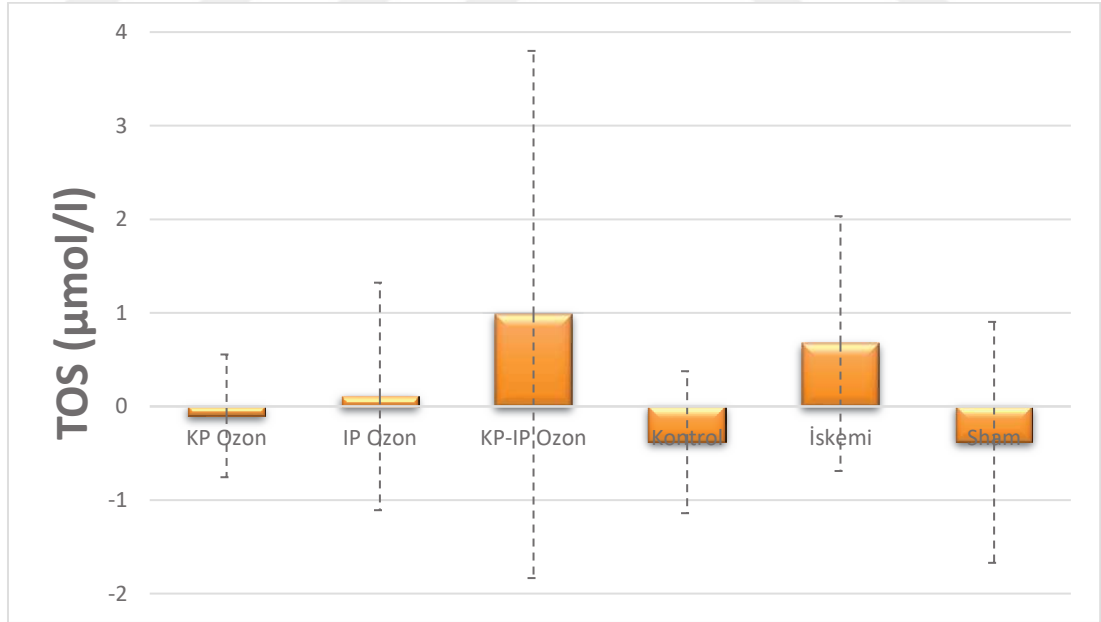
Deneklerin langendorff düzeneğinde stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonunda K-H solüsyonu atık sularından alınan numunelerin TAS testi için ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $0,090 \pm 0,051$ mmol/l ve $0,091 \pm 0,048$ mmol/l, IP Ozon grubunda $0,079 \pm 0,046$ mmol/l ve $0,080 \pm 0,046$ mmol/l, KP + IP Ozon grubunda $0,084 \pm 0,043$ mmol/l ve $0,080 \pm 0,041$ mmol/l, Kontrol grubunda $0,098 \pm 0,044$ mmol/l ve $0,101 \pm 0,043$ mmol/l, İskemi grubunda $0,090 \pm 0,045$ mmol/l ve $0,092 \pm 0,043$ mmol/l, Sham grubunda ise $0,105 \pm 0,052$ mmol/l ve $0,109 \pm 0,047$ mmol/l olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $0,0005 \pm 0,013$, IP Ozon grubunda $0,0015 \pm 0,013$, KP + IP Ozon grubunda $-0,0033 \pm 0,012$, Kontrol grubunda $0,0032 \pm 0,007$, İskemi grubunda $0,0022 \pm 0,016$ ve Sham grubunda $0,0038 \pm 0,011$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 5. Gruplardaki TAS test sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

6.1.5. Total Oksidan Durumu Sonuçları

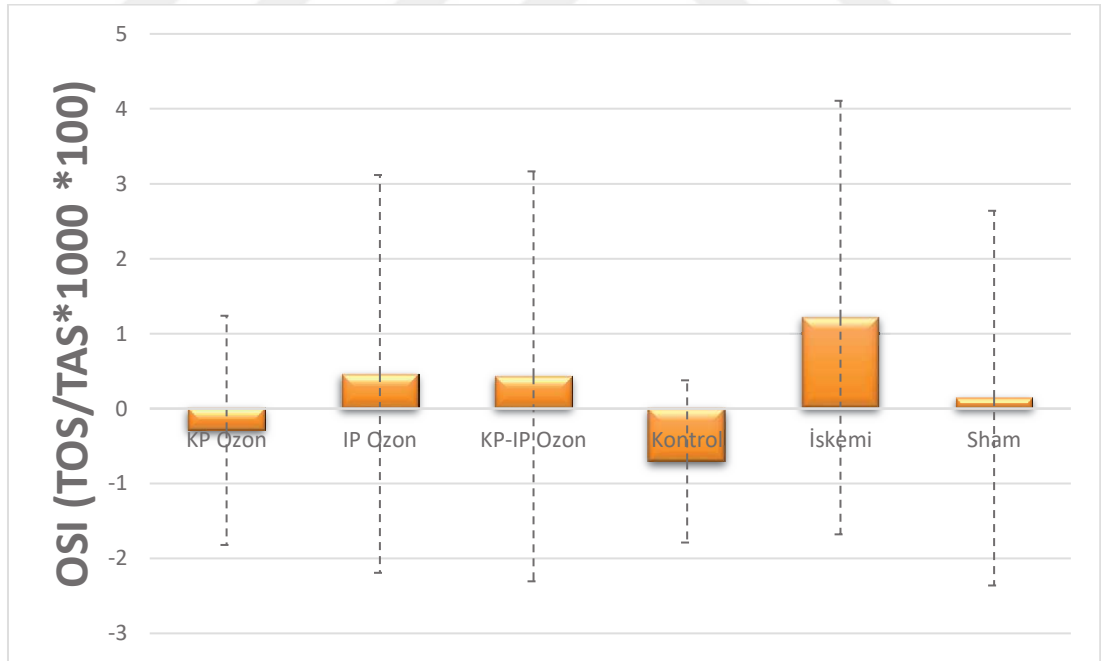
Deneklerin langendorff düzeneğinde stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonunda K-H solüsyonu atık sularından alınan numunelerin TOS testi için ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $1,229 \pm 1,014 \mu\text{mol/l}$ ve $1,128 \pm 0,784 \mu\text{mol/l}$, IP Ozon grubunda $1,145 \pm 1,221 \mu\text{mol/l}$ ve $1,252 \pm 0,905 \mu\text{mol/l}$, KP + IP Ozon grubunda $0,962 \pm 0,995 \mu\text{mol/l}$ ve $1,944 \pm 2,815 \mu\text{mol/l}$, Kontrol grubunda $1,162 \pm 0,974 \mu\text{mol/l}$ ve $0,780 \pm 0,330 \mu\text{mol/l}$, İskemi grubunda $0,908 \pm 0,585 \mu\text{mol/l}$ ve $1,580 \pm 1,088 \mu\text{mol/l}$, Sham grubunda ise $1,679 \pm 1,167 \mu\text{mol/l}$ ve $1,295 \pm 0,783 \mu\text{mol/l}$ olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $-0,100 \pm 0,655$, IP Ozon grubunda $0,106 \pm 1,215$ KP + IP Ozon grubunda $0,982 \pm 2,816$, Kontrol grubunda $-0,382 \pm 0,758$, İskemi grubunda $0,671 \pm 1,361$ ve Sham grubunda $-0,383 \pm 1,287$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 6. Gruplardaki TOS test sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

6.1.6. Oksidatif Stres İndeksi Sonuçları

Deneklerin langendorff düzeneğinde stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonunda K-H solüsyonu atık sularından alınan numunelerin OSI için ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $1,726 \pm 2,014$ ve $1,436 \pm 1,092$, IP Ozon grubunda $1,953 \pm 1,563$ ve $2,415 \pm 2,817$, KP + IP Ozon grubunda $1,906 \pm 2,7$ ve $2,336 \pm 2,529$, Kontrol grubunda $1,677 \pm 1,583$ ve $0,972 \pm 0,693$, İskemi grubunda $1,285 \pm 1,338$ ve $2,5 \pm 2,823$, Sham grubunda ise $1,784 \pm 1,054$ ve $1,923 \pm 2,501$ olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları; KP Ozon grubunda $-0,290 \pm 1,529$, IP Ozon grubunda $0,462 \pm 2,654$, KP + IP Ozon grubunda $0,430 \pm 2,735$, Kontrol grubunda $-0,705 \pm 1,082$, İskemi grubunda $1,214 \pm 2,892$ ve Sham grubunda $0,139 \pm 2,499$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).

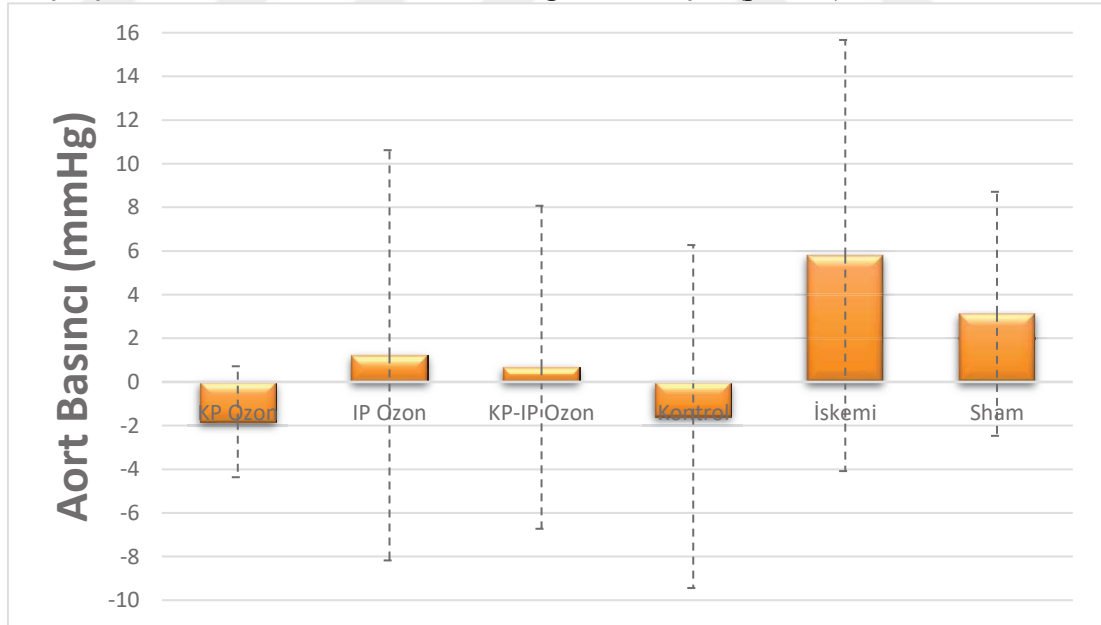


Şekil 7. Gruplardaki OSI sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

6.2. Hemodinamik Değerlendirme Sonuçları

6.2.1. Aort Basıncı Sonuçları

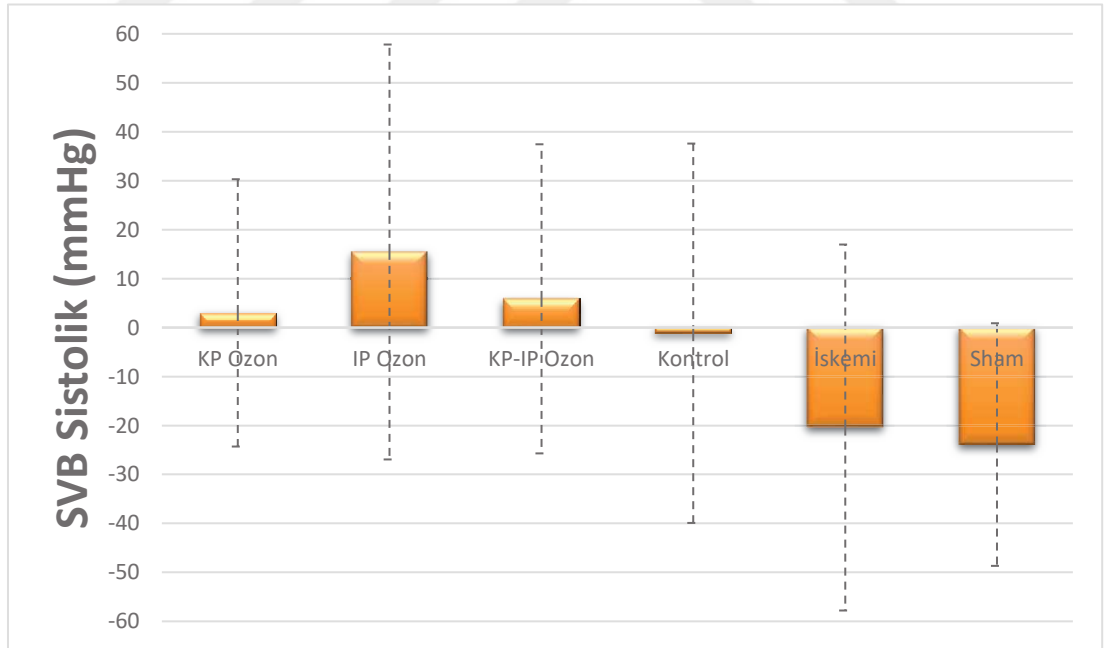
Kaydedilen hemodinamik ölçümlerin stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonundaki AB için ortalama ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $68,471 \pm 2,512$ mmHg ve $66,647 \pm 1,476$ mmHg, IP Ozon grubunda $64,335 \pm 4,471$ mmHg ve $65,555 \pm 9,554$ mmHg, KP + IP Ozon grubunda $65,633 \pm 4,117$ mmHg ve $66,306 \pm 5,828$ mmHg, Kontrol grubunda $69,096 \pm 7,243$ mmHg ve $67,511 \pm 2,364$ mmHg, İskemi grubunda $66,347 \pm 5,990$ mmHg ve $72,138 \pm 15,237$ mmHg, Sham grubunda ise $65,121 \pm 4,495$ mmHg ve $68,241 \pm 3,440$ mmHg olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $-1,823 \pm 2,541$, IP Ozon grubunda $1,22 \pm 9,398$, KP + IP Ozon grubunda $0,672 \pm 7,399$, Kontrol grubunda $-1,585 \pm 7,856$, İskemi grubunda $5,791 \pm 9,876$ ve Sham grubunda $3,12 \pm 5,589$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 8. Gruplardaki AB ölçüm sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

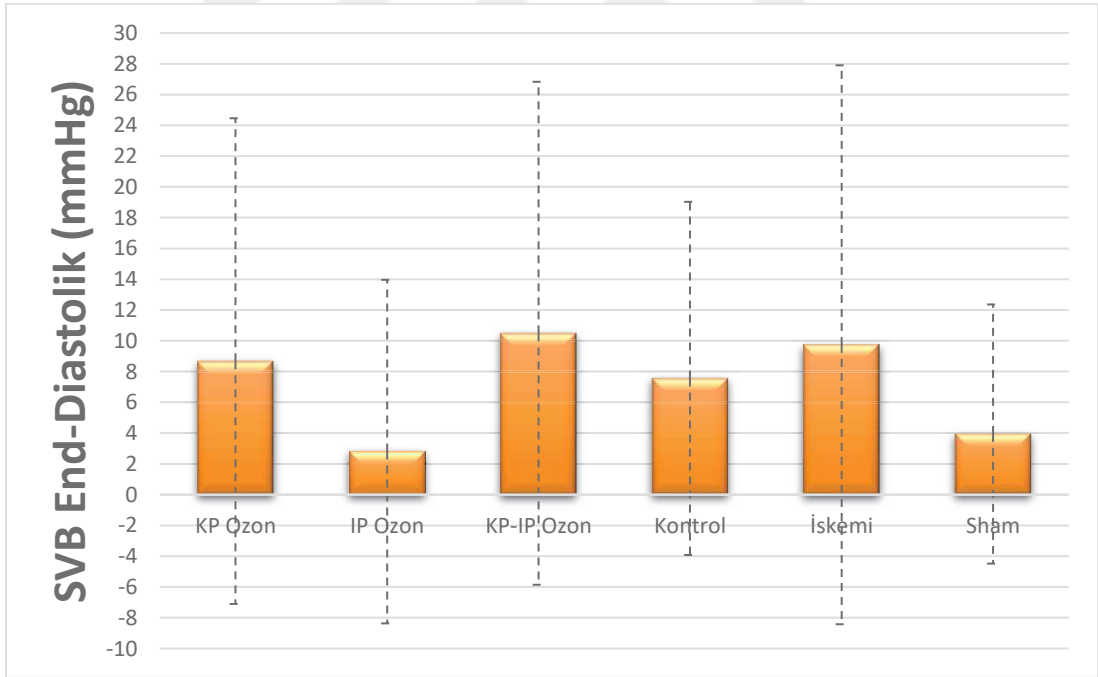
6.2.2. Sol Ventrikül Basıncı (Sistolik ve End-Diastolik) Sonuçları

Kaydedilen hemodinamik ölçümlerin stabilizasyon süresi sonu ve reperfüzyon süresi sonundaki SVB Sistolik için ortalama ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $171,875 \pm 34,089$ mmHg ve $174,875 \pm 28,691$ mmHg, IP Ozon grubunda $162,076 \pm 51,165$ mmHg ve $177,516 \pm 36,980$ mmHg, KP + IP Ozon grubunda $161,647 \pm 3,148$ mmHg ve $167,517 \pm 41,917$ mmHg, Kontrol grubunda $176,920 \pm 53,582$ mmHg ve $175,762 \pm 38,762$ mmHg, İskemi grubunda $153,040 \pm 63,005$ mmHg ve $132,627 \pm 74,694$ mmHg, Sham grubunda ise $167,612 \pm 60,185$ mmHg ve $143,718 \pm 52,049$ mmHg olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $3 \pm 27,298$, IP Ozon grubunda $15,44 \pm 42,374$, KP + IP Ozon grubunda $5,87 \pm 31,566$, Kontrol grubunda $-1,157 \pm 38,745$, İskemi grubunda $-20,412 \pm 37,373$ ve Sham grubunda $-23,893 \pm 24,780$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 9. Gruplardaki SVB Sistolik ölçüm sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

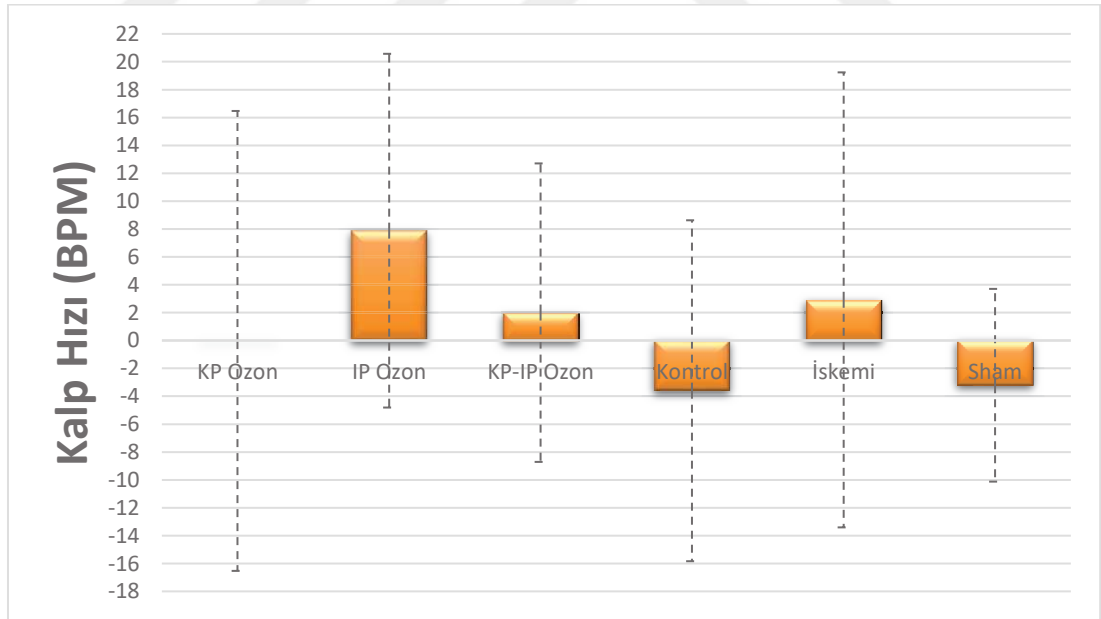
Hemodinamik ölçümlerin stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonundaki SVB End-Diastolik için ortalama ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $9,595 \pm 1,730$ mmHg ve $18,273 \pm 17,199$ mmHg, IP Ozon grubunda $9,590 \pm 1,606$ mmHg ve $12,387 \pm 12,271$ mmHg, KP + IP Ozon grubunda $9,383 \pm 3,179$ mmHg ve $19,868 \pm 18,408$ mmHg, Kontrol grubunda $9,908 \pm 4,128$ mmHg ve $17,462 \pm 15,147$, İskemi grubunda $11,048 \pm 4,801$ mmHg ve $20,787 \pm 22,225$ mmHg, Sham grubunda ise $10,435 \pm 4,524$ mmHg ve $14,373 \pm 12,807$ mmHg olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $8,678 \pm 15,782$, IP Ozon grubunda $2,797 \pm 11,163$, KP + IP Ozon grubunda $10,785 \pm 16,343$, Kontrol grubunda $7,553 \pm 11,474$, İskemi grubunda $9,738 \pm 18,160$ ve Sham grubunda $3,938 \pm 8,420$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 10. Gruplardaki SVB End-Diastolik ölçüm sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

6.2.3. Kalp Hızı Sonuçları

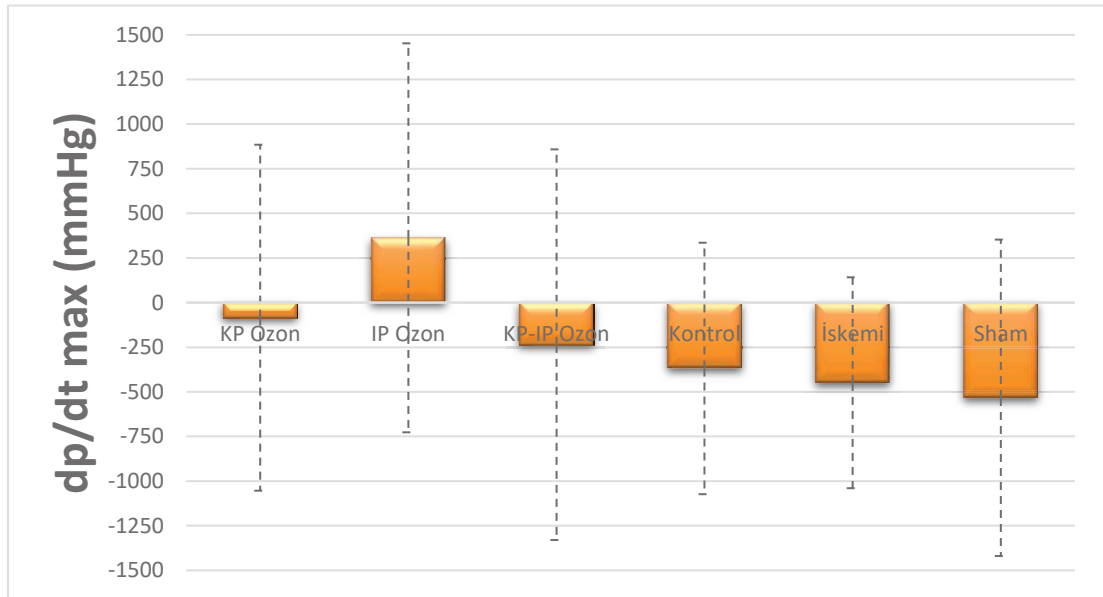
Kaydedilen hemodinamik ölçümlerin stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonundaki Kalp Hızı için ortalama ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $158,171 \pm 10,135$ bpm ve $158,141 \pm 11,387$ bpm, IP Ozon grubunda $145,735 \pm 25,301$ bpm ve $153,616 \pm 17,252$ bpm, KP + IP Ozon grubunda $153,713 \pm 10,122$ bpm ve $155,712 \pm 8,537$ bpm, Kontrol grubunda $164,467 \pm 11,627$ bpm ve $106,863 \pm 19,105$ bpm, İskemi grubunda $163,366 \pm 15,540$ bpm ve $166,281 \pm 20,997$ bpm, Sham grubunda ise $159,848 \pm 6,091$ bpm ve $156,638 \pm 7,484$ bpm olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $-0,03 \pm 16,499$, IP Ozon grubunda $7,881 \pm 12,690$, KP + IP Ozon grubunda $1,998 \pm 10,708$, Kontrol grubunda $-3,603 \pm 12,230$, İskemi grubunda $2,915 \pm 16,323$ ve Sham grubunda $-3,21 \pm 6,913$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 11. Gruplardaki Kalp Hızı ölçüm sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

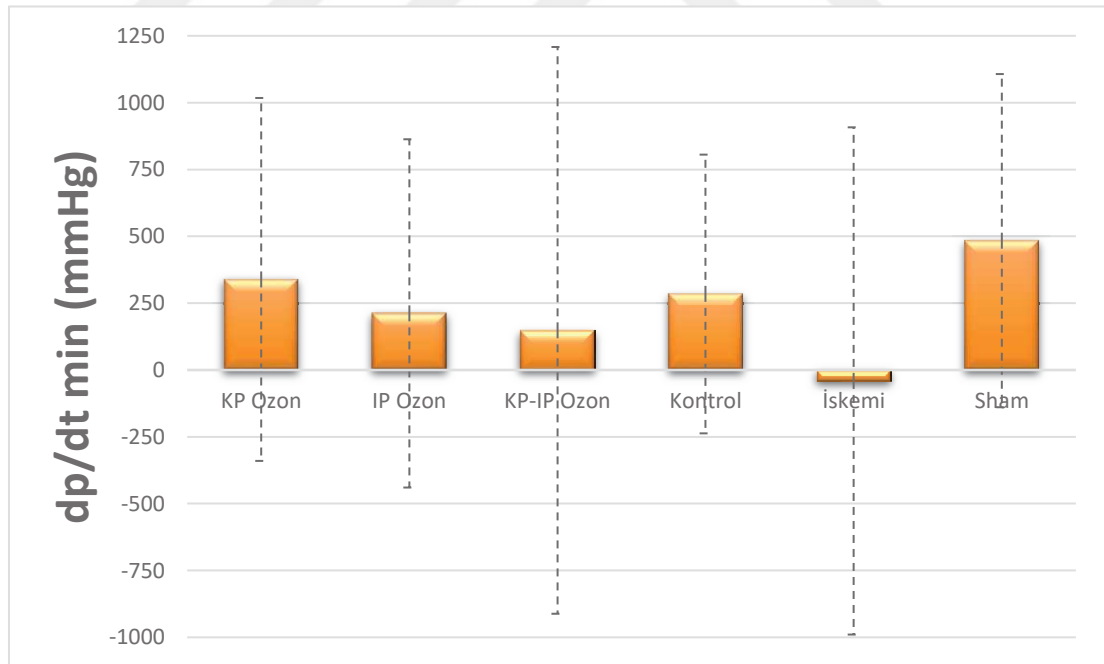
6.2.4. Sol Ventrikül Basıncının Maksimum Yükseliş ve İniş Hızı Sonuçları

Kaydedilen hemodinamik ölçümlerin stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonundaki SVB Maksimum Yükseliş Hızı (dp/dt max) için ortalama ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $4415,318 \pm 772,031$ mmHg ve $4330,640 \pm 693,523$ mmHg, IP Ozon grubunda $4276,207 \pm 1221,424$ mmHg ve $4639,111 \pm 1038,252$ mmHg, KP + IP Ozon grubunda $4282,255 \pm 1037,142$ mmHg ve $4046,367 \pm 1038,251$ mmHg, Kontrol grubunda $4808,463 \pm 1277,570$ mmHg ve $4439,511 \pm 1043,332$ mmHg, İskemi grubunda $4080,298 \pm 1490,136$ mmHg ve $3631,216 \pm 1416,589$ mmHg, Sham grubunda ise $4543,461 \pm 1415,787$ mmHg ve $4010,078 \pm 1259,840$ mmHg olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $-84,678 \pm 969,124$, IP Ozon grubunda $362,903 \pm 1089,594$, KP + IP Ozon grubunda $-235,888 \pm 1094,243$, Kontrol grubunda $-368,953 \pm 704,378$, İskemi grubunda $-449,083 \pm 590,772$ ve Sham grubunda $-533,383 \pm 886,460$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 12. Gruplardaki dp/dt max ölçüm sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

Hemodinamik ölçümlerin stabilizasyon süresi sonunda ve reperfüzyon süresi sonundaki SVB Maksimum İniş Hızı (dp/dt min) için ortalama ve standart sapmaları sırasıyla; KP Ozon grubunda $-3371,971 \pm 913,142$ mmHg ve $-3033,261 \pm 1275,027$ mmHg, IP Ozon grubunda $-2942,535 \pm 898,463$ mmHg ve $-2730,842 \pm 511,333$ mmHg, KP + IP Ozon grubunda $-2936,487 \pm 572,662$ mmHg ve $-2788,302 \pm 1105,649$ mmHg, Kontrol grubunda $-3036,285 \pm 627,569$ mmHg ve $-2752,012 \pm 537,224$ mmHg, İskemi grubunda $-2548,577 \pm 854,698$ mmHg ve $-2589,463 \pm 1036,492$ mmHg, Sham grubunda ise $-2891,125 \pm 897,729$ mmHg ve $-2407,250 \pm 783,961$ mmHg olarak belirlenmiştir. Reperfüzyon sonundaki sonuçlar ile stabilizasyon süresi sonundaki farklar ve standart sapmaları ise; KP Ozon grubunda $338,71 \pm 678,774$, IP Ozon grubunda $211,692 \pm 651,333$, KP + IP Ozon grubunda $148,185 \pm 1059,984$, Kontrol grubunda $284,272 \pm 521,266$, İskemi grubunda $-40,886 \pm 948,687$ ve Sham grubunda $483,875 \pm 623,156$ olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılıkları için, her grubun ön ve son numune sonuçlarının farklarının ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 13. Gruplardaki dp/dt min ölçüm sonuçları. (Sütunlar ortalama ve standart sapmayı göstermektedir.)

7. TARTIŞMA

KPB uygulaması daha rahat operasyon imkânı tanınmasının yanında vücut için olumsuz etkileri de mevcuttur. Bu olumsuz etkilerin başında KPB nin önemli bir bileşeni olan kardiyoplejik arrest gelmektedir. Kardiyoplejik arrest miyokardda ki İ-R hasarı ile doğrudan bir ilişki içerisinde (De Lange F. Ve ark., 2008). İskemik dokunun hayatta kalması için reperfüzyon şart olsada, reperfüzyon da hücre yaralanmalarına neden olmaktadır (Ahmed L. ve ark., 2012).

Diğer bir yandan İ-R kaynaklı hasarın temelinde bulunan oksijen radikallerinin oluşumundaki artış miyokard üzerinde hem doğrudan hem de dolaylı zararlı etkileri belirgindir (Di Napoli P. ve ark., 2002). İ-R kaynaklı bu hasarın azaltılması ise önemli bir hedef olarak belirlenmiştir (Ahmed L. ve ark., 2012). Bu hasarın azaltılması amacı ile birçok çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmaların başında iskemik ön koşullanma gelmektedir. Hausenloy ve ark. (2008) iskemik ön koşullanmanın kalp cerrahilerindeki sonuçlarını araştırmışlardır. İskemik ön koşullanmanın uzak organda ya da dokuda, kısa veya ölümcül etkisi olmayan İ-R uygulamasının ölümcül ve akut gelişen İ-R hasarına karşı koruyucu etkide bulunduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Hausenloy ve ark. (2011) sağlanan bu geçici iskeminin sonraki uzun süreli iskemik olaylara karşı direnç sağladığını bildirmişlerdir.

Di Napoli ve ark. (2002) iskemi reperfüzyon hasarının patolojisini inceledikleri bir çalışmalarında, antioksidan sistemlerin miyokard korumasındaki etkileri belirtmiştir. Antioksidan sistemlerinin İ-R kaynaklı miyokardiyal hasar sırasında meydana gelen aktivitelerin azaltılmasında ve zararlı kardiyak değişikliklerin inhibe edilmesindeki önemi bildirilmiştir.

Piper ve ark. (2003) iskemi reperfüzyon hasarının hücrel mekanizmalarını araştırdıkları bir çalışmada uzun süreli iskemi ve yetersiz kardiyoplejik koruma durumunda kalbin sertleşerek end-diastolik ventriküler basıncı arttırdığını, ventriküler uyumun azaldığını bildirmişler ve erken reperfüzyon uygulamanın önemini vurgulamışlardır. Ventriküler bu sorunların oluşması şu şekilde açıklanmaktadır. Hızla tükenen ATP karşısında kaslar kasılı halde kalır. Bu

kasılmalar hücre içi kalsiyum birikmesi ile alakalıdır. Bu kasılma kısa sürede büyük bir yapısal hasara neden olmasa da bozulmalara neden olabilir. Bu bozulmalar miyositleri daha kırılğan hale getirir ve dolayısıyla mekanik bir hasara duyarlı hale gelirler. Uzamış iskemi süresi bu durumu arttırarak kusurlara yol açtığı söylenmektedir.

Leon ve ark. (1998) İ-R hasarının azaltılması amacıyla sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada, oksidan olan ozonla oksidatif önkoşullandırma sağlayarak, oksidanların hücresel hasara karşı korumalarını araştırmışlardır. Uzun süreli ozon ön koşullanmanın oksidatif strese karşı adaptasyon sağlayıp antioksidan seviyelerinde artış sağlanarak hücresel redoks durumunu koruduğu ve böylece oksidatif hasarı azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca uzun süreli ozon uygulamasının düşük lipit peroksidasyonuna, normal kalsiyum seviyelerine neden olduğu da belirtilmiştir.

Ahmed ve ark. (2012) ise sıçanlarda yaptıkları çalışmada ozonla oksidatif ön koşullandırmanın iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada da ozon uygulanan gruplarda reperfüzyon sonunda oksidan üretiminin azaldığı, arttırılan antioksidan seviyeleriyle oksidatif stresin azaltıldığı bildirilmiştir. İki farklı doz ozonu iki hafta boyunca uygulamışlar; yüksek doz ozon uygulamasının İ-R hasarına karşı düşük doza göre daha önemli seviyede kardiyoproteksiyon sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca ozon uygulanmayan gruplarda miyokardiyal ATP seviyelerinin belirgin seviyede az olduğu belirtilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ise, Di Filippo ve ark. (2008) akut oksijen ve ozon uygulamasının kalbin İ-R hasarına karşı etkilerini araştırmışlardır. Ozonun İ-R hasarına karşı kalbi lokal hasardan koruduğu inflamatuvar süreçlerin ve apoptotik yanıtın azaltıldığını bildirmişlerdir. Di Filippo ve ark. (2009) nın yaptığı başka bir çalışmada akut oksijen ve ozon uygulamalarının antiaritmik etkilerini araştırmışlardır. Bu uygulamanın ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyonun görülme zamanını önemli ölçüde uzattığı ve sıçanların hayatta kalma oranlarını artırdığı bildirilmiştir.

Merin ve ark. (2007) ise ozonu reperfüzyon süresinde uygulayarak İ-R hasarının post iskemik dönemdeki etkisini araştırmışlardır. Reperfüzyon süresinde uygulanan

ozonun, kalpteki gelişmiş oksijenizasyonla ve ozonun nitrik oksit salınımını arttırmasıyla meydana getirdiği vazodilatasyonun hipoksiyi azaltarak hasarın derecesini azalttığı bildirilmiştir. Ozonun hemodinami üzerine etkileri incelenen çalışmada ozon uygulanan kalplerde, miyokardın daha iyi iyileşme sağladığı belirtilmiştir.

Meng ve ark. (2017) sıçan kalbindeki İ-R hasarına ozon ön koşullandırmanın mitokondriyal etkisini araştırmışlardır. İ-R hasarının tetiklediği miyokardiyal apoptoz ve nekrozu ozon ön koşullandırma ile azalttığı belirtilmiştir. Programlanmış hücre ölümünde rol alan kaspaz 3'ün ozon uygulanan gruplarda daha az bulunmuştur. Ayrıca oksijen radikallerinin pro-apoptotik faktörlerin salınmasına ve kaspaz kaskatının tetiklenmesine yol açtığı da belirtilmektedir. Diğer yandan mitokondriyal bozulmanın reperfüzyon süresinde güçlendiği de belirtilmektedir. Bu bozulma hücrel organellerinde sindirimle hücrenin ölümüne neden olduğu da bildirilmiştir. Ozonun İ-R kaynaklı bu hasarı antioksidan kapasiteyi arttırarak önlediği bildirilmiştir. Oksidatif ön koşullandırmanın apoptotik hücre ölümüne karşı koruma sağlamazken, otofajik hücre ölümüne karşı koruma sağladığı belirtilmiştir.

Fallahi ve ark. (2015) nitrik oksit metabolitlerinin kardiyoprotektif etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada nitrik oksit yoğunluğunun artması ile sistolik ve end-diastolik kan basıncındaki azalmaların belirgin bir ilişkide olduğu, ön koşullandırma tarzı uygulamaların İ-R sonrası nitrik oksit metabolitlerinde görülen artışın miyokard hasarını azaltan mekanizmalardan biri olduğu bildirilmiştir. Nitrik oksit miktarının indüklendiği durumlarda vazokonstriksiyon, kan basıncında artma, türbülant akım ve lökosit tıkanmalarının görüldüğü belirtilmektedir. Ayrıca azalan nitrik oksit miktarına karşı oluşturulan nitrik oksit metabolitleri dokuların oksijen ihtiyaçlarını azaltarak hücrel ölüm ve dejenerasyonların azaldığı belirtilmiştir.

Yapılan benzer bir çalışmada da Andelova ve ark. (2005) nitrik oksitin İ-R hasarındaki rolünü araştırmışlardır. Nitrik oksit sentez inhibitörü uygulanan kalplerin uzun süreli iskemi ile birlikte ön koşullandırma uygulanan durumlarda sistolik ve diastolik kardiyak fonksiyon üzerine olumsuz etkilerde bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca iskemik ön koşullandırma uygulamasının nitrik oksit üretiminin bozulduğu

durumlarda nitrik oksit üretimini içeren bir mekanizma geliştirdiği bildirilmiştir. Nitrik oksit üretiminin engellenmesi koroner akımı da önemli ölçüde azaltmıştır.

Ancak Cadenas S. (2018) nin oksijen radikallerinin ve redoks sinyallerinin İ-R hasarına karşı etkilerini incelediği çalışmasında düşük düzeydeki oksidanların ön koşullandırma uygulamalarında kardiyoprotektif olurken yüksek oksidan miktarının zararlı kabul edildiği ve hücre ölümüne neden olduğu söylenmektedir. Ayrıca mitokondriyal hasar kaynaklı üretilen oksidanların neden olduğu hasarları antioksidanların düzenleyemediği de bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışmalar ışığında kendi çalışmamızda, ozonla oksidatif ön koşullandırmanın ve hemen iskemi öncesi verilen ozonun ayrı ayrı ve birlikte nasıl etki edeceğini belirlemeye çalıştık.

Kalbin miyokard hasarı incelendiğinde; miyokard hasarını takiben 4-6 saat sonrasında artışı gözlenen CK için (Lewandrowski K.B., 2014), iskemi sonrası 25. dakikada alınan örneklerde artışın az gözlenmiş olması miyokard hasarının belirlenmesinde yetersiz kalmıştır. LDH ve TNI içinde bu durum benzerdir. Bu testlere bakıldığında, en çok artış IP ozon ve iskemi gruplarında olduğu gözlenmiştir. Bu durum iskemi grubunda, miyokardiyal koruma yöntemlerinin uygulanmadan iskemiye maruz bırakılması sonucu miyokard hasarının oluşmasını tetiklemiş olması ile açıklanmaktadır. IP ozon grubunda ise kısa süreli (kronikleşmemiş) IP ozon uygulamaları oksidatif ön koşullanma sağlamamış aksine oksidan seviyelerinde artışa neden olmuştur. Oksidanlardaki bu artış ise İ-R hasarının artışına neden olmuştur. Kontrol grubunda sonuçların KP + IP ozon grubundan düşük ancak KP ozon grubundan yüksek olması standart kardiyoplejik korumaya kıyasla ozonlandırılmış kardiyopleji uygulamasının daha iyi bir koruma sağladığı ancak diğer yandan IP ozon uygulamasının kısa dönemde uygulaması kardiyopleji içerisindeki ozonun etkisini engellediği hatta miyokardiyal hasarın artmasına neden olduğu söylenebilir. Kaldı ki kardiyoplejik koruma sağlanan gruplarda en kötü sonuçların IP ozon uygulanan grupta olması, CK ve LDH sonuçlarının iskemi grubundan bile fazla artış göstermiş olması ön koşullandırma amaçlı verilmiş ozonun bu etkiyi sağlayamadığı ve daha çok oksidatif stresi arttırarak daha fazla miyokardiyal hasara neden olabileceği görülmüştür. Sham grubunda ise miyokard

hasarının azalmış olması iskemik periyodun görülmemiş olması sebebiyle beklenen bir durumdur.

Kalbin fonksiyonel durumu incelendiğinde ise; en büyük değişiklikler iskemi grubunda görülmüştür. Bu değişikliklerin en büyük nedeni miyokard koruması sağlanmaksızın iskemik periyodun uygulanması olmuştur. SVB sistolik ve dp/dt max gibi kalbin sistolik fonksiyonunda ozon uygulanan gruplardaki artışlar dikkat çekmektedir. Bu artış uygulanan ozonun nitrik oksit salınımını arttırması (Merin O. ve ark., 2007) ve nitrik oksit salınımının sistolik kardiyak fonksiyon üzerine olumlu etkilerde bulunduğu ile (Andelova E. ve ark., 2005) açıklanmaktadır. SVB end-diastolik ve dp/dt min gibi kalbin end-diastolik fonksiyonu üzerine olumsuz etkiler iskemi grubundan sonra en çok ozon uygulanan gruplarda görülmektedir. İskemi grubundaki end-diastolik fonksiyondaki bu düşüş kardiyoplejik koruma sağlanmaması ve bu sebeple kalpte meydana gelen sertleşme ile açıklanmaktadır. Ozon uygulanan grupların end-diastolik fonksiyon üzerine etkileri ise oksidan miktarlarında yüksekliğin doku ve organların fonksiyonel ve yapısal bütünlüğü üzerine zararlı etkileri (Tsutsui H. ve ark., 2011) ile açıklanmaktadır. Kontrol grubundaki sonuçların diğer gruplara göre nispeten daha olumlu olması, oksidanların neden olduğu olumsuz etkileri desteklemektedir. Sham grubunda ise miyokard hasarında olduğu gibi kalbin fonksiyonu üzerine de benzer sonuçlar görülmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarda IP olarak uygulanan ozonun akut dönemde oksidatif ön koşullandırma sağlamadığı görülmektedir. Leon ve ark. (1998) çalışmasında olduğu gibi oksidatif ön koşullanmanın sağlanamamış olması artan oksidan miktarının hücrel redoks durumunun dengelenememesine ve bu sebeple oksidatif stres artarak miyokard hasarının artışına neden olmuştur. Ahmed ve ark. (2012) nın çalışmasında olduğu gibi uygulanan ozon miktarının nispeten düşük doz olarak kabul görmesi miyokard hasarına karşı yeterli kalp koruması sağlamamıştır. İskemi öncesi kardiyopleji içerisinde verilen ozonun ise kısa dönemde ki oksidatif ön koşullandırmaya göre daha iyi miyokard koruması sağladığı da belirgindir.

Ön koşullandırma amaçlı verilen ozon oksidan miktarını arttırarak miyokard hasarına sebep olduğu gibi miyokardın end-diastolik fonksiyonları üzerine de olumsuz etkileri mevcuttur. Bunun başlıca nedeni Piper ve ark. (2003) çalışmasında

olduğu gibi hücrel kalsiyum birikmesinin etkisi ile kalbin kasılı halde kalması olabilir. Diğer bir yandan Leon ve ark. (1998) nın yaptığı çalışmada oksidatif ön koşullandırmanın normal kalsiyum düzeylerine neden olduğu belirtilmiştir. Miyokardın end-diastolik fonksiyonu üzerine etkilerin daha net anlaşılabilmesi için hücrel kalsiyum miktarlarının ve histopatolojik değerlendirmeler gerekmektedir.

Ozon kullanımı Fallahi ve ark. (2015) ve Andelova ve ark. (2005) nın yaptığı çalışmalarda olduğu gibi nitrik oksit salınımı arttırarak kalbin sistolik fonksiyonu üzerine olumlu etkiler sağlamıştır. Sistolik fonksiyonlar ve miyokard korumada sağladığı olumlu etkinin tam olarak belirlenebilmesi için de nitrik oksit miktarlarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca Piper ve ark. (2003) yaptığı çalışmada olduğu gibi miyokard koruma yöntemlerinin hücrel enerji ihtiyacının bir miktarının karşılanarak miyokard hasarının ve fonksiyonel kayıpların geç başlamasına neden olduğu da açıktır.

Bu durumlar göz önüne alındığında yaptığımız çalışmada kısa dönemdeki uygulanan IP ozonun oksidatif ön koşullandırma sağlamayarak miyokardiyal hasarı arttırdığı, Kardiyopleji içerisinde verilen ozonun miyokardiyal hasarı azaltabileceği olasılığı görülmektedir. Kardiyopleji içerisine eklenen ozonun olumlu etkileri ve etki mekanizmaları araştırılmalıdır.

Çalışmamızda ön koşullandırma amaçlı IP olarak uygulanan ozonun kısa dönem uygulanması oksidatif ön koşullandırma sağlayamamıştır. Bu sebeple oksidatif ön koşullandırma ile kardiyopleji içerisinde verilen ozonun hangisinin daha etkin olduğu belirlenememiştir. Diğer yandan reperfüzyon süresinin kısa tutulması miyokardiyal hasarın derecesinin belirlenmesinde yetersiz kalmıştır. Nitrik oksit ve kalsiyum seviyelerinin belirlenememiş olması da çalışmadaki önemli eksiklerdendir. Denek sayıları arttırılarak, etkin bir oksidatif ön koşullandırma ve reperfüzyon süresinin uzatılması ile oksidatif ön koşullandırma ile kardiyopleji içerisinde uygulanan ozonun etkileri daha iyi anlaşılacaktır.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

IP ozon ile oksidatif ön koşullandırmanın kısa dönem uygulanmış olması oksidatif hasarı azaltmamış ve beklenenin aksine miyokard koruması üzerine etkide bulunmamıştır. Miyokard hasarına ozonun etkilerinin daha net açıklanabilmesi için reperfüzyon süresinin uzatılarak daha ileri bir zamanda örneklerin alınmasının yanı sıra nitrik oksit ve kalsiyum miktarlarındaki değişimlere ek olarak histopatolojik değerlendirilmelerde gerekmektedir.

Miyokard hasarının azaltılmasında antioksidanların rolünün son derece önemli olduğunu söylemek mümkündür. Antioksidan kapasitesinin arttırılabileceği, daha uzun dönemli ozon ön koşullanma uygulanan çalışmalara kısa dönem ozon uygulamalarının eklenerek yapılacak ek çalışmalar ile miyokard hasarının azaltılabilmesinde rol oynayabilir.

9. KAYNAKLAR

- Ahmed, L. A., Salem, H. A., Mawsouf, M. N., Attia, A. S., & Agha, A. M. (2012). Cardioprotective effects of ozone oxidative preconditioning in an in vivo model of ischemia/reperfusion injury in rats. *Scand J Clin Lab Invest*, 72(5), 345–354.
- Andelová, E., Barteková, M., Pancza, D., Styk, J., & Ravingerová, T. (2005). The role of NO in ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart. *General Physiology and Biophysics*, 24(4), 411–426.
- Aşgün H.F. (2016). Solunum ve Dolaşım Fizyolojisi Ders Notları. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Borek C., Ong A., Mason H., Donahue L., Biaglow J.E. (1986). Selenium and Vitamin E Inhibit Radiogenic and Chemically Induced Transformation in vitro via Different Mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 83:1490-1494.
- Burtis. C. A., Ashwood, E. R. (1994). *Teitz textbook of cilinical chemistry*. WB Saunders, 79-812.
- Cadenas, S. (2018). ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radical Biology and Medicine*, 117(November 2017), 76–89.
- Chosh S., Falter F., Perrino Jr. A.C. (2009). *Cardiopulmonary Bypass*. Cambride University Press, Part 1.
- De Lange, F., Yoshitani, K., Podgoreanu, M. V, Grocott, H. P., & Mackensen, G. B. (2008). A novel survival model of cardioplegic arrest and cardiopulmonary bypass in rats: a methodology paper. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 3, 51.
- Demirkılıç U. (2008). Ekstrakorporal Dolaşım. *Efil Yayınevi*, 183 – 194
- Di Filippo, C., Cervone, C., Rossi, C., di Ronza, C., Marfella, R., Capodanno, P., ... D'Amico, M. (2010). Antiarrhythmic effect of acute oxygen-ozone administration to rats. *European Journal of Pharmacology*, 629(1–3), 89–95.
- Di Filippo, C., Marfella, R., Capodanno, P., Ferraraccio, F., Coppola, L., Luongo, M., D'Amico, M. (2008). Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. *Inflammation Research*, 57(10), 445–449.

- Fallahi, A., Gaeini, A., Shekarfroush, S., & Khoshbaten, A. (2015). Cardioprotective effect of high intensity interval training and nitric oxide metabolites (NO_2^- , NO_3^-). *Iranian Journal of Public Health*, 44(9), 1270–1276.
- Griffiths, H. R., Dias, I. H. K., Willetts, R. S., Devitt, A., Steinbacher, P., Eckl, P., ... Appenzeller-Herzog, C. (2015). Oxidative stress and microRNAs in vascular diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 2(1), 17319–17346.
- Halliwell B, Gutteridge J.M.C. (2000). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York, USA. 107-208.
- Hamilton, K. L., Staib, J. L., Phillips, T., Hess, A., Lennon, S. L., & Powers, S. K. (2003). Exercise, antioxidants, and HSP72: Protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(7), 800–809.
- Hausenloy, D. J., & Yellon, D. M. (2008). Remote ischaemic preconditioning: Underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovascular Research*, 79(3), 377–386.
- Hausenloy, D. J., & Yellon, D. M. (2011). The therapeutic potential of ischemic conditioning: An update. *Nature Reviews Cardiology*, 8(11), 619–629.
- Igic R. (1996). The Isolated Perfused “Working” Rat Heart: A New Method. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 35, 63-67.
- Kaur C., Kapoor H.C., 2001. Antioxidants in Fruits and Vegetables-the Millennium’s Health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703-725.
- Lee Y.S., Kim W.Y., Yoo J.W., Jung H.D., Min T.J. (2018). Correlation between regional tissue perfusion saturation and lactate level during cardiopulmonary bypass. *Korean Journal of Anesthesiology*, 71(2):1-7
- Leon O.S., Menendez S., Merino N., Castillo R., Sam S., Perez L., Cruz E., Bocci V. (1998). Ozone Oxidative Preconditioning: A Protection Against Cellular Damage by Free Radicals. *Mediators of Inflammation*, 7, 289-294.
- Lewandrowski, K. B. (2014). Cardiac markers of myocardial necrosis. A history and discussion of milestones and emerging new trends. *Clinics in Laboratory Medicine*, 34(1), 31–41.

- Meng W., Xu Y., Li D., Zhu E., Deng L., Liu Z., Zhang G., Liu H. (2017). Ozone protects rat heart against ischemia-reperfusion injury: A role for oxidative preconditioning in attenuating mitochondrial injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 1090-1097.
- Merin, O., Attias, E., Elstein, D., Schwalb, H., Bitran, D., Zimran, A., & Silberman, S. (2007). Ozone administration reduces reperfusion injury in an isolated rat heart model. *Journal of Cardiac Surgery*, 22(4), 339–342.
- Napoli, P. Di, Taccardi, A. A., Caterina, R. De, & Barsotti, A. (2002). Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury: experimental data, *Italian Heart Journal* 3(Suppl 4), 24–28.
- Paç M., Akçevin A., Aykut Aka S., Büket S., Sarioğlu T. (2013). *Kalp ve Damar Cerrahisi. Akademisyen Kitapevi*, Part 6.
- Parmacek, M. S., & Solaro, R. J. (2004). Biology of the troponin complex in cardiac myocytes. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 47(3), 159–176.
- Piper, H. M., Meuter, K., & Schafer, C. (2003). Cellular Mechanisms of Ischemia-Reperfusion Injury. *Annals of Thoracic Surgery*, 75, S644–S648.
- Sadony, V., Körber, M., Albes, G., Podtschaske, V., Etgen, T., Trösken, T., Scheulen, M. E. (1998). Cardiac troponin I plasma levels for diagnosis and quantitation of perioperative myocardial damage in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 13(1), 57–65.
- Surekha, R. H., Srikanth, B. B. M. V, Jharna, P., Ramachandra, R. V, & Dayasagar, R. V. (2007). Oxidative stress and total anti oxidant status in myocardial infarction. *Singapore Med J*, 48(2), 137–142.
- Tsutsui H., Kinugawa S., and Matsushima S. (2011). Oxidative stress and heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 301: 181-190.
- Zweier, J. L., & Talukder, M. A. H. (2006). The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovascular Research*, 70(2), 181–190.

Ek 1. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	:25.08.2017
TOPLANTI SAYISI	:2017/08
DOSYA KAYIT NUMARASI	:2017/28406
KARAR NUMARASI	:2017/08-04
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:Ali Alper KAHRAMAN
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	:Wistar cinsi sıçan 48 ±2

Doç. Dr. H. Fatih AŞGÜN, tarafından Etik Kurulumuza sunulan “İzole Edilmiş Sıçan Kalbinde Miyokardiyal İskemi - Reperfüzyon Hasarına Karşı Ozon Kullanımının Kardiyoprotektif Etkileri” başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin mevzuatın emirleri doğrultusunda incelenerek, ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ali İŞMEN
Üye
(İzinli)

Prof. Dr. Yonca YÜCEER
Üye

Prof. Dr. Murat TOSUNOĞLU
Üye
(Başkan V.)

Yrd. Doç. Dr. Cemil TOLU
Üye

Yrd. Doç. Dr. Başak BÜYÜK
Üye

Yrd. Doç. Dr. Canan AKMAN
Üye

Vet. Hek. Sait ELMAS
Üye

Tayfun TAŞBİLEK
Sivil Üye
(Katılmadı)

Erdoğan GÜRSEL
Sivil Üye



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 38285931-604.02.04-E.1800056103
Konu : Dilekçeniz Hk.

16/04/2018

Sayın Doç. Dr. Halil Fatih AŞGÜN

HADYEK-2017-28406 nolu “İzole Edilmiş Sıçan Kalbinde Miyokardiyal İskemi - Reperfüzyon Hasarına Karşı Ozon Kullanımının Kardiyoprotektif Etkileri” başlıklı çalışmanız ile ilgili Etik Kurula sunmuş olduğunuz 05.04.2018 tarihli dilekçeniz incelenmiş olup; 4 adet Wistar cinsi sıçan talebiniz, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun görülmüştür.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Ali İŞMEN
Kurul Başkanı

Belge Doğrulamak İçin: <https://ubys.comu.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index> adresinden F3CFE1F kodu girerek belgeyi doğrulayabilirsiniz.

Adres : Onsekiz Mart Üniversitesi Terzioğlu Yerleşkesi
Çanakkale
Bilgi İçin İrtibat : Faize Oturan - Sekreter
Telefon :
Belgegeçer No :
İnternet Adresi :

e-posta :



1800056103 numaralı belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince Ali İsmen tarafından 16.04.2018 tarihinde güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek 2. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ali Alper	Soyadı	Kahraman
Doğum Yeri	Keçiören	Doğum Tarihi	05.08.1990
Uyruğu	TC	TC Kimlik No	14269855516
E-mail	aalperkahraman@gmail.com	Tel	05422831169

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü – Perfüzyonist Y.L.	2016 -
Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi – Biyoloji	2009 - 2014
Önlisans	Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi – Sağlık Kurumları İşl.	2012 -

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
1.	Biyolog	Marmaris Yücelen Hastanesi - Genel Laboratuvar	08/2014 – 02/2016
2.	Kısmi Zamanlı Öğrenci	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi – Klinik Biyokimya Lab.	10/2011 – 10/2013

Sertifikalar

"Laboratuvar Hayvanları Kullanım Kursu" ÇOMÜDAM **Sertifika No: 2016/06**

"C2 Seviye İngilizce Sertifikası" **Portfolio Code: TR-ACA-CNK-0516-ENG-725862**

"ISO 9001:2000 Kalite Yönetim Sistemi İç Denetçi Belgesi" KGS Danışmanlık

"ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi Başarı Belgesi" KGS Danışmanlık

"ISO 17025 Laboratuvar Teknik Yeterlilik Sistemi Başarı Belgesi" KGS Danış.

"HACCP Gıda Güvenliği Kriterleri Başarı Belgesi" WFSO-Turkey

"Cobas 6000 c501_e601" Roche Diagnostik

"Cobas Integra 800" Roche Diagnostik

"Radiometer ABL 800" Avrasya Sağlık Hizmetleri

"Beckman Coulter LH-780" Med-Kim

"Iricell 2000" Bio DPC

"Adams A1c HA-8160" Bio DPC

"Across Gel ve Across System İmmünohematoloji Kart ve Ekipmanları" Across

"Berkhun SDM-60 Tam Otomatik Sedim Cihazı" Mediko Dardanel

"Mission Xpert and Insight Xpert Urine Analyzer" Remus Tıbbi Cihazlar

"Coadata 4004" Öner Kimya

"Abbott Architect c8000" ÖZEM Tıbbi Cihazlar

"Abbott CD3700" ÖZEM Tıbbi Cihazlar

"Abbott Architect i1000" ÖZEM Tıbbi Cihazlar

Ek 3. SİRALLI TEZ KONTROL FORMU

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	✓	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	✓	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	✓	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	✓	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	✓	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	✓	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	✓	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	✓	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	✓	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	✓	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin en sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	✓	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	✓	

Tarih: 03/08/2018 Öğrenci Ali Alper KAHRAMAN İmza	Tarih: 03/08/2018 Danışmanın Doç. Dr. H. Fatih AŞGÜN İmza
--	--

Ek 4. ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SPİRALLI/CİLTİ TEZ YAZIM KONTROL LİSTESİ

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	✓UYGUN	✓UYGUN
Kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Onay sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Teşekkür sayfası	✓UYGUN	✓UYGUN
Türkçe özet	✓UYGUN	✓UYGUN
İngilizce özet	✓UYGUN	✓UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekiller dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tablolar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	✓UYGUN	✓UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	✓UYGUN	✓UYGUN
Yöntem ve Gereç	✓UYGUN	✓UYGUN
Bulgular	✓UYGUN	✓UYGUN
Tartışma	✓UYGUN	✓UYGUN
Sonuç ve Öneriler	✓UYGUN	✓UYGUN
Kaynaklar	✓UYGUN	✓UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	✓UYGUN	✓UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	✓UYGUN	✓UYGUN
Tez planı	✓UYGUN	✓UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	✓UYGUN	✓UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	✓UYGUN	✓UYGUN
Tarih: 27/08/2018 Öğrenci Ali ALPEN NAHRAMAN İmza		Tarih: 27/08/2018 Danışmanın Doç. Dr. M. Fatih AŞGÜN İmza