T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

PROF. DR. CEMİL TAŞCIOĞLU ŞEHİR HASTANESİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

DENEYSEL SUPERİOR MEZENTERİK ARTER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA ROSMARİNUS OFFİCİNALİS VE DEKSAMETAZONUN BÖLGESEL VE UZAK ORGAN HASARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Zeynep Bilge YAVUZ

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

PROF. DR. CEMİL TAŞCIOĞLU ŞEHİR HASTANESİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

DENEYSEL SUPERİOR MEZENTERİK ARTER İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA ROSMARİNUS OFFİCİNALİS VE DEKSAMETAZONUN BÖLGESEL VE UZAK ORGAN HASARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Zeynep Bilge YAVUZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Uğur KESİCİ

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

Geçirdiğim beş yıllık uzmanlık eğitimi süresince gerek tıbbi bilgileri gerekse hekimlik sanatıyla meslek hayatıma yön veren, destek ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocalarım, Sayın Prof. Dr. Hakan GÜVEN'e, Sayın Prof. Dr. Orhan YALÇIN'a ve Sayın Op Dr. Ayhan ÖZSOY'a;

Tez çalışmamda ve cerrahi eğitimim süresince değerli fikirleriyle bana yol gösteren, bu süre zarfında sabır ve hoşgörü ile bana destek veren tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Uğur KESİCİ'ye;

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum, mesleki bilgi ve tecrübelerini her zaman benimle paylaşan, cerrahi gelişimimde beni destekleyen ve üzerimde büyük emekleri olan Op. Dr. Fazıl SAĞLAM'a ve Doç. Dr. Ali ALEMDAR'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmaktan keyif aldığım, mesleki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak eğitimime katkı sağlayan Gastrointestinal Cerrahi, Hepatopankreatobiliyer Cerrahi, Meme ve Endokrin Hastalıkları Cerrahisi ve Acil Cerrahi Servisi tüm Doçent ve uzmanları, çok değerli ağabey ve ablalarıma teşekkürlerimi sunarım.

İhtisas eğitimim boyunca tüm zorluklara birlikte göğüslediğimiz, birbirimiz ile samimi bir kardeşlik ilişkisi yaşadığımız asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım her anında desteklerini hissettiğim ve beni bugüne ulaştıran kıymetli annem Asuman YAVUZ'a, babam Cevdet YAVUZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Zeynep Bilge YAVUZ
İstanbul, 2025

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **i**

İÇİNDEKİLER ..... **ii**

KISALTMALAR ..... **iv**

TABLO LİSTESİ ..... **vii**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**

ÖZET ..... **ix**

ABSTRACT ..... **xii**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. GENEL BİLGİLER **5**

2.1. İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ 5

2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Hücresel Moleküler Hasarlar 6

2.1.1.1. Oksidatif Stres Parametreleri 7

2.2. SİSTEMİK İNFLAMASYON VE OKSİDATİF STRESİN UZAK ORGANLARA ETKİSİ 8

2.3. ROSMARINUS OFFICINALIS'İN ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ MEKANİZMALARI 9

2.4. DEKSAMETAZONUN İMMÜNOMODÜLATÖR VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİLERİ 11

2.5. ROSMARINUS OFFICINALIS VE DEKSAMETAZON İLE YAPILMIŞ DENEYSEL/KLİNİK ÇALIŞMALAR 13

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER **16**

4. BULGULAR **23**

5. TARTIŞMA **31**

6. SONUÇLAR..... 37

7. KAYNAKLAR..... 38

KISALTMALAR

ABSU : Absorbans Birimi

ACB : Albumin Cobalt Binding (Testi)

ALI : Akut Akciğer Hasarı

ALT : Alanin Aminotransferaz

ANOVA : Analysis of Variance (Varyans Analizi)

ARDS : Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

ARE : Antioxidant Response Element

AST : Aspartat Aminotransferaz

ATP : Adenozin Trifosfat

AU : Arbitrary Unit (Keyfi Birim)

BUN : Blood Urea Nitrogen (Kan Üre Azotu)

CI : Confidence Interval (Güven Aralığı)

COX : Siklooksijenaz

DIS : Disülfid

DNA : Deoksiribonükleik Asit

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ERK : Ekstrasellüler Sinyal Düzenleyici Kinaz

ETZ : Elektron Transport Zinciri

FRAP : Ferrik Redüktif Antioksidan Güç

HK : Human Kidney (İnsan Böbrek Tübüler Hücresi)

HRP : Horseradish Peroxidase

ICAM : Intercellular Adhesion Molecule

IHS : İntestinal Histopatoloji Skoru

IL : İnterlökin

IMA : İskemi Modifiye Albümin

IV : İntravenöz

LHS : Karaciğer Histopatoloji Skoru

LPS : Lipopolisakkarit

MAPK : Mitogen Aktive Edici Protein Kinaz

MDA : Malondialdehit

MPO : Miyeloperoksidaz

NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NF : Nükleer Faktör

NO : Nitrik Oksit

NSAID : Non-steroidal Anti-Inflammatory Drug

NT : Natif Tiyol

OH : Hidroksil Radikali

OSI : Oksidatif Stres İndeksi

PAS : Periodic Acid-Schiff

RHS : Renal Histopatoloji Skoru

RO : Rosmarinus officinalis

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

SD : Standart Sapma

SMA : Superior Mezenterik Arter

SOD : Süperoksit Dismutaz

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences

TAS : Total Antioksidan Seviye

TNF : Tümör Nekroz Faktörü

TOS **:** Total Oksidan Seviye

TT **:** Total Tiyol

UV **:** Ultraviyole

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gruplardaki sıçanların ortalama ağırlıkları. 23

Tablo 2. Gruplardaki sıçanların ortalama oksidatif stres parametreleri. 23

Tablo 3. Gruplardaki sıçanların ortalama iskemi belirteçleri. 25

Tablo 4. Gruplardaki sıçanların oksidatif stres parametreleri arasındaki alt grup analizleri. 27

Tablo 5. Gruplardaki sıçanların iskemi belirteçleri arasındaki alt grup analizleri. ... 29

Tablo 6. Gruplardaki sıçanların histopatoloji skorları. 30

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Laparotomi yapılmış sıçan görüntüsü. 17

Şekil 2. Superior mezenterik arter diseksiyon görüntüsü. 18

Şekil 3. Histapatolojik dokular ve kan örnekleri. 19

Şekil 4. Gruplardaki sıçanların OSI ortalama, %95 güven aralığı düzeyleri. 24

Şekil 5. Gruplardaki sıçanların IMA ortalama, %95 güven aralığı düzeyleri 26

Şekil 6. Gruplardaki sıçanların MDA ortalama, %95 güven aralığı düzeyleri. 26

ÖZET

Amaç: İskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı yaşamı tehdit eden vasküler bir kriz olup, genellikle akut mezenterik iskemi, şok, laparoskopik cerrahi ve majör operasyonlardan sonra ortaya çıkmaktadır. Günümüzde laparoskopik cerrahi uygulamaların konvansiyonel cerrahiye göre daha sıklıkla tercih edilmesi dikkate alındığında I/R hasarını önleme veya azaltma stratejilerinin geliştirilmesinin önemi giderek artmaktadır. I/R'de ortaya çıkan hasardan başlıca sorumlu olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu genel olarak; ksantin oksidaz aracılı, mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), nitrik oksit sentaz ve fagositik hücre aracılı olmak üzere birbiri ile ilişkili dört ana biyokimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır. Literatürdeki çeşitli çalışmalarda I/R hasarını önlemede değişik moleküllerin etkili olduğu bildirilmekle birlikte günümüzde en etkili tedavisi hala bilinmemektedir. Bu nedenle I/R hasarını önlemeye yönelik çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Bu çalışmada anti-inflamatuvar ve antioksidan etkisi nedeniyle RO ile anti-inflamatuvar ve hücresel immün-supresyon etkisi nedeniyle de deksametazonun I/R hasarını önlemede etkili olup olmadığının araştırılması planlandı. Literatürdeki çalışmalarda glukokotikoidlerin ciddi yan etki potansiyelleri olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada RO'nun protektif etkinliğinin ortaya konulması durumunda glukokortikoidlere bağlı yan etkilerin azaltılabileceği öngörülmektedir.

Bu çalışmanın ana hipotezi; RO'nun deksametazon ile birlikte daha etkili protektif etki sağlanabileceğidir. Bu çalışmanın primer sonlanım noktası OSI, sekonder sonlanım noktaları ise iskemi belirteçleri ve histopatoloji skorları olarak belirlendi. Bu çalışma ile I/R sonucu oluşabilecek bölgesel ve uzak organ hasarının non-steroidal ve steroidal anti-inflamatuvar ajanlar ile azaltılıp azaltılamayacağının ortaya konulması planlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma, ortalama ağırlığı 300±20 gram, 20-24 haftalık toplam 40 adet Sprague cinsi erkek sıçan üzerinde yapıldı. Çalışma sırasında tüm sıçanlar 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals' göre insani muameleye tabi tutuldu. Sıçanlar üzerinde yapılan tüm cerrahi girişimler anestezi altında uygulandı. Sıçanlar her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 5 eşit gruba ayrıldı. Gruplar;

Grup S (Sham) (n=8): Laparatomi + 2 mL intraperitoneal izotonik solüsyon

Grup C (Kontrol) (n=8): Laparatomi + 2 mL intraperitoneal izotonik solüsyon + I/R

Grup R (Rosmarinus) (n=8): Laparatomi + intraperitoneal 320 mg/kg/2 mL RO + I/R

Group D (Deksametazon) (n=8): Laparatomi+ intraperitoneal 4 mg/kg/2 mL Deksametazon + I/R

Grup RD (Rosmarinus+Deksametazon) (n=8): Laparatomi+ intraperitoneal 4 mg/kg/1 mL Deksametazon + 320 mg/kg/1 mL RO + I/R.

Grup R, Grup D ve Grup RD tedavi grupları olarak tanımlandı.

Grup S ve C'deki sıçanlara 2 mL ip izotonik, Group R'deki sıçanlara 320 mg/kg/2 mL RO, Grup D'deki sıçanlara 4 mg/kg/2 mL deksametazon ve Grup RD'deki sıçanlara mg/kg/1 mL Deksametazon +320 mg/kg/1 mL RO ip uygulandı. 30 dakika sonra tüm gruplardaki sıçanlara laparotomi yapıldı. Grup S dışındaki tüm sıçanların superior mezenterik arterleri vasküler klemp ile kapatılarak 1 saat süreyle iskemi oluşturuldu, ardından klempler açılarak 1 saat süreyle reperfüzyon sağlandı. Bu sürenin sonunda biyokimyasal inceleme için yaklaşık 4-6 mL kan örneği intrakardiak ponksiyon ile alındı. Histopatalojik inceleme için karaciğer, böbrek ve terminal ileum doku örnekleri alındı ve tüm sıçanlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Grup R, Grup D ve Grup RD'de ortalama TAS, TOS ve OSI değerleri, Grup C ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p = 0.001$). Aynı şekilde, bu gruplarda Malondialdehit (MDA) ve İskemi Modifiye Albümin (IMA) ortalama değerleri de Grup C'ye kıyasla istatiktiksel olarak anlamlı düzeyede farklıydı ($p < 0.001$). Öte yandan, gruplardaki sıçanların ortalama LHS, RHS ve IHS değerleri arasında istatiktiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla; $p = 0.085$, $p = 0.814$, $p = 0.124$).

Sonuç: İskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı, yüksek mortalite ile seyreden ciddi bir klinik tablodur. Bu çalışmada, hem Rosmarinus officinalis (RO) hem de deksametazonun I/R hasarını önlemede etkili olduğu; bu etkinin, oksidatif stres parametreleri ve iskemi belirteçleri aracılığıyla ortaya konulduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın en dikkat çekici bulgusu, RO ve deksametazonun birlikte kullanımının, her birinin tek başına kullanımına göre I/R hasarını önlemede daha etkili olduğunu

göstermesidir. Bu sonuç, I/R hasarında etkinliği klinik ve deneysel çalışmalarla kanıtlanmış deksametazonun; RO ile kombine edilerek dozunun azaltılabileceğini, böylece yan etki potansiyelinin düşürülerek daha güvenli bir tedavi seçeneği oluşturulabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: İskemi-reperfüzyon, superior mezenterik arter, Rosmarinus Officinalis, deksametazon, oksidatif stres indeksi.

ABSTRACT

Introduction: Ischemia/reperfusion (I/R) injury is a life-threatening vascular event that commonly occurs following acute mesenteric ischemia, shock, laparoscopic procedures, or major surgical interventions. With the growing preference for laparoscopic techniques over conventional surgery, the development of strategies to prevent or mitigate I/R injury has gained increasing importance. Reactive oxygen species (ROS) play a central role in the pathogenesis of I/R injury and are primarily generated through four interrelated biochemical mechanisms: xanthine oxidase activity, mitochondrial electron transport chain dysfunction, nitric oxide synthase imbalance, and activation of phagocytic cells. Although various agents have been reported in the literature as potentially protective against I/R injury, no definitive treatment has yet been established. Therefore, ongoing research in this field remains crucial.

This study aimed to evaluate the protective effects of Rosmarinus officinalis (RO), known for its antioxidant and anti-inflammatory properties, and dexamethasone, known for its anti-inflammatory and immunosuppressive effects, against I/R injury. Although glucocorticoids are effective in reducing inflammation, their use is often limited by notable adverse effects. Thus, demonstrating the efficacy of RO may offer a potential strategy to mitigate glucocorticoid-related toxicity.

The primary hypothesis of this study was that co-administration of RO with dexamethasone would provide a more potent protective effect compared to either agent used alone. The primary endpoint was the oxidative stress index (OSI), and secondary endpoints included ischemia markers and histopathological scores. The study also aimed to determine whether steroidal and non-steroidal anti-inflammatory agents could alleviate both regional and remote organ damage induced by I/R.

Materials and Methods: The study was conducted on 40 male Sprague-Dawley rats aged 20–24 weeks, weighing approximately 300±20 grams. All animals were handled in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, and all surgical procedures were performed under anesthesia. Rats were randomly allocated into five groups (n=8 per group):

• Group S (Sham): Laparotomy + 2 mL intraperitoneal isotonic saline.

• Group C (Control): Laparotomy + 2 mL intraperitoneal isotonic saline + I/R.

• Group R (Rosmarinus): Laparotomy + 320 mg/kg/2 mL intraperitoneal RO + I/R.

• Group D (Dexamethasone): Laparotomy + 4 mg/kg/2 mL intraperitoneal dexamethasone + I/R.

• Group RD (Rosmarinus + Dexamethasone): Laparotomy + 4 mg/kg/1 mL dexamethasone + 320 mg/kg/1 mL RO intraperitoneally + I/R.

Groups R, D, and RD were designated as treatment groups. Following drug administration, laparotomy was performed in all groups. Ischemia was induced by clamping the superior mesenteric artery for 1 hour, followed by 1 hour of reperfusion, except in the sham group. At the end of the procedure, 4–6 mL of blood was collected via intracardiac puncture for biochemical analyses. Tissue samples from the liver, kidney, and terminal ileum were obtained for histopathological evaluation, and all rats were subsequently euthanized.

Results: Statistically significant differences were observed in Groups R, D, and RD compared to Group C in mean values of total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), and OSI ($p=0.001$). Mean malondialdehyde (MDA) and ischemia-modified albumin (IMA) levels were significantly lower in Groups R, D, and RD than in Group C ($p<0.001$). However, no statistically significant differences were found among groups regarding the mean histopathological scores of hepatic (LHS), renal (RHS), and ileal (IHS) tissues ($p=0.085$, $p=0.814$, and $p=0.124$, respectively).

Conclusion: I/R injury remains a critical clinical condition with high associated mortality. In this study, both RO and dexamethasone demonstrated protective effects against I/R injury, as evidenced by improvements in oxidative stress markers and ischemia indicators. Notably, the combined use of RO and dexamethasone provided superior protection compared to either agent alone. These findings suggest that RO may enhance the therapeutic profile of dexamethasone, allowing for dose reduction and potentially minimizing glucocorticoid-related side effects. Consequently, the combined use of these agents represents a promising strategy for preventing I/R injury.

Keywords: Ischaemia-reperfusion, superior mesenteric artery, Rosmarinus Officinalis, dexamethasone, oxidative stress index.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı, yaşamı tehdit eden vasküler bir kriz olup, genellikle akut mezenterik iskemi, şok, laparoskopik cerrahi ve majör operasyonlardan sonra ortaya çıkmaktadır (1, 2). Günümüzde laparoskopik cerrahi uygulamaların, konvansiyonel cerrahiye göre daha sıklıkla tercih edilmesi dikkate alındığında, I/R hasarını önleme veya azaltmaya yönelik stratejilerinin geliştirilmesi giderek daha fazla önem kazanmaktadır (3). I/R hasarı, oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve oksijen kaynaklı serbest radikallerin etkisiyle gelişmektedir. (4). I/R'de ortaya çıkan hasardan başlıca sorumlu olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu; ksantin oksidaz aracılığıyla, mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), nitrik oksit sentaz ve fagositik hücre aracılı olmak üzere, birbiri ile ilişkili 4 ana biyokimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır. Doku hasarının şiddetinin yalnızca iskeminin süresine değil, aynı zamanda doku ve organların yapısal özellikleri ile biyokimyasal metabolizmalarındaki farklılıklara da bağlı olduğu bildirilmektedir (5-7). I/R'ye bağlı oluşan doku hasarının, iskemi meydana gelen bölge ile sınırlı kalmayıp diğer organ sistemlerinde de farklı derecelerde hasar oluşturduğu bilinmektedir. Literatürde; akciğer, böbrek, karaciğer, iskelet kasları, kalp ve gastrointestinal sistemde gelişen I/R hasarının uzak organlarda da etkili olduğu bildirilmiştir. Bu tür hasarın, dolaşımdaki aktif lökositler, inflamatuar sitokinler veya oksidan moleküllerin sistemik dolaşıma geçerek; polimorfonükleer lökositlerin uzak organlara migrasyonu ve reaktif oksijen türlerinin üretimi yoluyla oksidatif hasara neden olduğu düşünülmektedir (7-11). Bu çalışmada, bölgesel hasarın değerlendirilmesinde terminal ileum; uzak organ hasarının değerlendirilmesinde ise karaciğer ve böbrek doku örneklerinin kullanılması planlanmıştır. Literatürdeki çeşitli çalışmalarda I/R hasarını önlemede farklı moleküllerin etkili olduğu bildirilmekle birlikte, günümüzde hâlâ en etkili tedavi yöntemi net olarak ortaya konulamamıştır (4-6, 8-12). Bu nedenle, I/R hasarını önlemeye yönelik çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Bu çalışmada; anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri nedeniyle RO ile, anti-inflamatuvar ve hücresel immünsupresif etkileri nedeniyle deksametazonun, I/R hasarını önlemede etkili olup olmadığının araştırılması planlanmıştır.

Bu çalışmada, ROS oluşumunu hücresel immünsupresyon mekanizması yoluyla önlemek amacıyla deksametazon kullanılması planlanmıştır. Deksametazon, sentetik bir glukokortikoid olup; klinik uygulamalarda anti-inflamatuvar,

immünsupresif ve antirevmatik özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (13). Literatürdeki çalışmalarda, deksametazonun çeşitli mekanizmalar aracılığıyla birçok organda I/R hasarını önlediği bildirilmiştir. (13-18).

Rosmarinus officinalis (RO), tedavi edici özellikleri nedeniyle geleneksel tıpta, ilaç ve kozmetik sanayisinde yaygın olarak kullanılan bitkisel bir üründür. Literatürde; RO'nun antifungal, antiviral, antibakteriyel, anti-inflamatuvar, antitümoral, antitrombotik, antinoseptif, antidepresan, antiülserojenik ve antioksidan etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (19). Fitokimyasal çalışmalar, RO'nun biyolojik aktivitesine katkıda bulunan ve güçlü bir sinerjistik etki sağlayan karnosik asit, rosmarinik asit, karnosol, kafeik asit ve ursolik asit gibi bileşenlerin yanı sıra; esansiyel yağlar, terpenoidler, flavonoidler ve alkaloidler içerdiğini ortaya koymuştur (20). RO'nun; 5-hidroksieikosatetraenoik asit (5-HETE) ve lökotrien B4 (LTB4)'ü güçlü şekilde inhibe ettiği, serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiği ve kompleman sisteminin inhibisyonu yoluyla nonsteroidal antiinflamatuvar etki oluşturduğu belirtilmektedir (21). RO'nun, lipid peroksidasyonunu ve hidrojen peroksit aktivitesini azalttığı; ayrıca siklooksijenaz (COX) enzim ekspresyonunu baskılayarak I/R hasarını önlediği ve bu yolla nonsteroidal antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmektedir (20). R. officinalis ekstraktının inflamatuar aktivitesi; karnosol, karnosik asit, ursolik asit, oleanolik asit ve mikromerik asit gibi bileşenlerin varlığına atfedilmektedir. Bu bileşenlerden karnosik asidin, güçlü bir nitrik oksit inhibitörü olduğu ve bu özelliğiyle antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmektedir (19). Ancak, etki mekanizması net olarak ortaya konulamamıştır (22). Bu çalışmada, RO'nun antiinflamatuvar etkinliğinden karnosik asitin sorumlu olduğu bildirilmekle birlikte; etki mekanizmasının tam olarak aydınlatılmamış olması ve içerdiği tüm biyoaktif moleküllerin birlikte güçlü sinerjistik etki gösterdiği bildirildiğinden biyoaktif bileşenlerinin ayrıştırılmadan, izotonik solüsyon ile sulandırılarak intraperitoneal olarak uygulanması planlanmıştır. Literatürde, RO'nun I/R hasarı üzerindeki etkilerine ilişkin yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (20) Bilindiği üzere, MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olup, oksidatif stresin en önemli biyokimyasal belirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir (23). IMA ise, albüminin oksidatif stres ve iskemi sonrası oluşan süperoksit radikalleri ile etkileşimi sonucu oluşan modifiye formudur ve birçok iskemik hastalığın tanısında kullanılmaktadır (24). Bu nedenle, çalışmamızda iskemi belirteçleri olarak IMA ve MDA kullanılacaktır. Vücutta, normal

koşullarda serbest oksijen radikalleri, koruyucu mekanizmalar aracılığıyla denge halinde tutulur. Oksidatif stres düzeyi, oksidan moleküllerin oluşum hızları ile antioksidan sistemlerin etkinliği arasındaki dengeye bağlıdır. Oksidan ve antioksidan moleküller birbirleriyle sinerjistik etki gösterdiğinden, bunların ayrı ayrı ölçümleri toplam hücre içi oksidatif stresi değerlendirmede yetersiz kalabilir ve maliyetli olabilir. Bu nedenle, pratik ve bütüncül bir değerlendirme sağlayan TAS, TOS ve OSI (TOS/TAS oranı) parametreleri kullanılmaktadır. Özellikle OSI, vücuttaki oksidan-antioksidan dengesini belirlemek amacıyla tercih edilen güvenilir bir göstergedir (24, 25). Bu bağlamda, çalışmamızda TAS ve TOS düzeyleri ile birlikte OSI (TOS/TAS oranı) incelenmiştir.

Bu çalışmada, I/R'ye bağlı hasarın; antioksidan, anti-inflamatuvar ve hücresel mekanizmalar aracılığıyla reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun azaltılması yoluyla önlenebileceği öngörülmektedir. Non-steroidal ve steroidal anti-inflamatuvar ajanların birlikte kullanımı ile I/R hasarının önlenmesinde sinerjistik etkiler elde edilebileceği düşünülmüştür. Çalışmanın primer amacı, RO ve deksametazonun oksidatif stres indeksi (OSI) üzerindeki etkilerini değerlendirmektir. Sekonder amacı ise, karaciğer, böbrek ve ince bağırsaklar üzerindeki histopatolojik etkiler ile iskemi belirteçleri (IMA ve MDA) üzerindeki etkilerin ortaya konulmasıdır. Literatürde, non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçların (NSAID), siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonu yoluyla inflamasyonu azaltarak I/R durumlarında sentetik kortikosteroid ilaçlar benzeri protektif etkiler gösterebildiği bildirilmektedir (26). Ancak, hem sentetik glukokortikoidlerin hem de NSAID'lerin ciddi yan etki potansiyelleri bulunduğu da bilinmektedir (27, 28). Bu nedenle, RO'nun protektif etkinliğinin ortaya konulması durumunda; glukokortikoid ve NSAID kaynaklı yan etkilerin azaltılmasına katkı sağlanabileceği öngörülmektedir.

Bu çalışmanın ana hipotezi; RO'un, deksametazon ile birlikte kullanıldığında daha güçlü bir protektif etki sağlayabileceğidir. Çalışmanın primer sonlanım noktası oksidatif stres indeksi (OSI), sekonder sonlanım noktaları ise iskemi belirteçleri (IMA, MDA) ile histopatoloji skorları olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile, I/R sonucu oluşabilecek bölgesel ve uzak organ hasarının non-steroidal ve steroidal antiinflamatuvar ajanlar aracılığıyla azaltılıp azaltılamayacağının ortaya konulması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

İskemi, dokulara oksijen ve besin ulaştıran kan akımının kesilmesiyle başlar; bu dönemde hücreler anaerobik metabolizmaya geçer, ATP hızla tükenir ve hücresel fonksiyon bozulur. Hücre içi pH düşüşü, sodyum-potasyum pompalarının durması ve kalsiyumun hücre içinde birikmesi gibi olaylar iskemi sırasında meydana gelir (29). Reperfüzyon ise, tekrar kanlanmanın sağlanmasıyla dokuların oksijenle buluştuğu dönemi ifade eder. Paradoksal olarak, kan akımının geri gelmesiyle birlikte reperfüzyon hasarı gelişebilir; oksijenin aniden sunulması, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimine ve enflamatuvar yanıtın tetiklenmesine neden olur (30). Sonuçta İ/Rsüreci, vazokonstriksiyon, mikrotrombüs oluşumu, mitokondriyal disfonksiyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hücresel ölüm gibi birbiriyle ilişkili birçok mekanizmayı içerir. Özellikle bağırsak İ/R'si sırasında bağırsak mukozasında bütünlük bozulur; epitel bariyerinin hasar görmesiyle bakteriler ve toksinler sistemik dolaşıma geçebilir (bakteriyel translokasyon). Nitekim, intestinal İ/R sonrasında bağırsak fonksiyon bozukluğu ve bakteriyel translokasyon geliştiği; bunların da dolaşım yoluyla uzak doku ve organlara zarar verebileceği bilinmektedir (31). İ/R hasarının erken evresinde, iskemik dokuda endotelelyal disfonksiyon belirgin rol oynar. Hipoksiye giren endotel hücreleri, vazodilatasyon kapasitesini kaybederken, reperfüzyonla birlikte lümenal yüzeyde adezyon moleküllerini (örn. P-selektin, ICAM-1) eksprese etmeye başlar. Bu durum özellikle nötrofillerin bölgeye toplanmasını kolaylaştırır. Reperfüze dokuda nötrofiller endotele yapışır ve çevre dokuya göç eder; bu süreçte salınan proteazlar ve serbest radikaller, doku hasarını derinleştirir. Nötrofil akını, doku myeloperoksidaz aktivitesinin artışıyla da gösterilmiştir. Ayrıca, ksantin oksidaz inhibitörleri ya da süperoksit dismutaz/katalaz gibi antioksidan tedavilerinin uygulanması nötrofil birikimi ve endotel adezyonunu belirgin şekilde azaltmıştır. Bu bulgular, ROS ve inflamatuvar hücrelerin, reperfüzyon hasarındaki merkezi rolünü açık biçimde doğrulamaktadır (30). Gastrointestinal sistem, İ/R hasarına özellikle duyarlı bir organdır. Bağırsak mukozasında iskemiyle birlikte birkaç dakika içinde yapısal bozulmalar başlayabilir; reperfüzyonun ardından mukozada hemorajiler, ödem ve nekroz odakları gözlenebilir. Bağırsak bariyerinin bozulması sonucunda, lümen içeriğindeki bakteriyel endotoksinler ve

mikroorganizmalar portal dolaşıma geçerek sistemik inflamatuar yanıtı tetikler (31). Sonuç olarak, İ/R hasarı sadece lokal doku nekrozuna ile sınırlı kalmayıp, septik reaksiyonlara ve çoklu organ yetmezliğine kadar ilerleyebilen sistemik etkilerle de ilişkilidir. İ/R hasarının altında yatan mekanizmaların daha ayrıntılı anlaşılması, bu ciddi tablonun önlenmesi ya da şiddetinin azaltılması amacıyla yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik önemdedir.

2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Hücresel Moleküler Hasarlar

Reperfüzyon hasarında en kritik faktörlerden biri, ROS olarak adlandırılan moleküllerin aşırı üretimidir. ROS, oksijen molekülünün tam indirgenmemesi sonucu oluşan, son derece reaktif kimyasal yapılardır. Başlıca örnekleri; süperoksit anyonu ($O_2^{-}\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH\cdot$) şeklinde sıralanabilir. İ/R sürecinde dokularda aşırı ROS üretimi gözlenir ve bu durum, hücre hasarının temel nedenlerinden biri olarak kabul edilir. Özellikle reperfüzyonun ilk anlarında meydana gelen ani ROS salınımı "oksijen radikali fırtınası" olarak tanımlanır. Bu ROS'ların kaynakları çeşitli enzimler ve hücresel süreçlerdir: ksantin oksidaz, NADPH oksidaz enzimleri, iskemi sırasında zarar görmüş elektron taşıma zincirine sahip mitokondriler ve bağımsız (un-coupled) nitrik oksit sentaz enzimler, en önemli ROS üretim yolları arasında yer almaktadır. Nitekim, gastrointestinal sistem dokularında ksantin oksidaz enzimi yüksek düzeyde bulunduğundan, bağırsak reperfüzyonu sırasında bu enzim aracılığıyla bol miktarda süperoksit üretildiği gösterilmiştir. İskemi esnasında biriken hipoksantin substratı, reperfüzyonla birlikte oksijenin yeniden sunulmasıyla ksantin oksidaz tarafından hızla metabolize edilerek süperoksit oluşturur. Benzer şekilde, reperfüze bölgede aktive olan nötrofillerin NADPH oksidaz yoluyla ürettikleri süperoksit ve türevleri de dokuya zarar verir (30). Aşırı ROS üretimi, hücre ve dokularda çok yönlü moleküler hasara neden olur. Süperoksit anyonu, endotelde nitrik oksiti nötralize ederek vazodilatasyonu engeller ve peroksinitrit gibi toksik ürünlere dönüşür. Hidroksil radikali ise hücre içi makromoleküllere doğrudan saldırarak lipit, protein ve DNA'da geri dönüşümsüz hasarlara yol açar. Özellikle hücre zarlarını oluşturan fosfolipid tabaka, ROS saldırısı sonucu lipid peroksidasyonuna uğrar. Bu süreçte, zar lipidlerinden malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal gibi toksik aldehit ürünleri açığa çıkar. MDA ve benzeri lipid peroksidasyon ürünleri, dokuda ROS üretiminin bir çeşit "ayak izi" olarak yaygın biçimde ölçülmektedir (30). Lipid peroksidasyonu, hücre zarının bütünlüğünü bozarak iyon dengesi ve hücre içi organel

fonksiyonlarını sekteye uğratır. Ayrıca ROS, hücre içi proteinlerin işlevsel bölgelerini okside ederek enzimlerin ve yapısal proteinlerin görevini bozar; DNA'da tek ve çift zincirli kırıklar oluşturarak hücre ölüm mekanizmalarını tetikler. Bütün bu moleküler düzeydeki hasar birikimi, reperfüzyonu takiben hücrelerde nekroz ve apoptoz gelişmesine yol açabilir. Nitekim deneysel modellerde, İ/R sonrasında hücre ölümü belirteçlerinin (örneğin kaspaz enzimlerinin) aktive olduğu gösterilmiştir (31). Sonuç olarak, ROS kaynaklı oksidatif stres, İ/R hasarında anahtar rol oynamakta ve doku yıkımının önemli bir bölümünden sorumlu tutulmaktadır (30). Bu nedenle, İ/R hasarına karşı antioksidan stratejilerin geliştirilmesi, günümüzde önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir.

2.1.1.1. Oksidatif Stres Parametreleri

İ/R hasarının değerlendirilmesinde ve oksidatif stres düzeyinin nicel olarak belirlenmesinde çeşitli biyokimyasal parametreler kullanılmaktadır. Normal koşullarda hücrelerde, oksidan üretimi ile antioksidan savunma arasında bir denge mevcuttur. Antioksidan kapasitenin yetersiz kalması veya oksidan üretimin aşırı artması durumunda oksidatif stres ortaya çıkar (32). Bu dengenin değerlendirilmesi amacıyla kanda ve dokularda toplam antioksidan kapasite ile toplam oksidan yük ölçümleri yapılmaktadır. Total Antioksidan Seviyesi (TAS), vücut sıvıları veya doku örneklerinde tüm antioksidan moleküllerin (enzimatik ve enzimatik olmayan) birlikte sunduğu indirgeme gücünü ölçen bir parametredir. Total Oksidan Seviyesi (TOS) ise reaktif oksijen ve azot türevleri dahil olmak üzere tüm oksidan moleküllerinin toplam miktarını yansıtır. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ise TOS'un TAS'a oranlanmasıyla elde edilen ve organizmadaki net oksidatif stres yükünü niceliksel olarak ifade eden bir değerdir. OSİ genellikle TOS ve TAS'ın aynı birimde ifade edilmesiyle (örneğin, μmol H_2O_2 eşdeğeri / mmol Trolox eşdeğeri) hesaplanır ve oksidan/antioksidan dengesinin bozulma derecesini gösterir (33). Oksidatif stresin neden olduğu spesifik biyokimyasal hasar ürünleri de yaygın şekilde ölçüm parametreleri olarak kullanılmaktadır. MDA, poliansatüre yağ asitlerinin serbest radikaller tarafından peroksidasyonu sonucu oluşan reaktif bir aldehittir. Hücre membran lipidlerinin oksidatif hasar görmesiyle artan MDA düzeyleri, İ/R modellerinde lipid peroksidasyonunun şiddetini yansıtan önemli bir belirteçtir (30). İskemi modifiye albümin (İMA) ise iskemi ve reperfüzyon sırasında albüminin N-ucundaki metal bağlama bölgesinin yapısının bozulmasıyla oluşan bir parametredir. Oksidatif stres ve

asidoz koşullarında albüminin kobalt ve bakır gibi metal iyonlarını bağlama kapasitesi azalır. Bu değişim klinikte Albumin-Kobalt Bağlama (ACB) testiyle değerlendirilerek İMA düzeyi belirlenir. İlk olarak miyokardiyal iskemide erken dönem belirteç olarak tanımlanan İMA, daha sonra birçok farklı doku iskemisi ve oksidatif stres durumunda güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanılmıştır (34). I /R hasarı çalışmalarında artan TOS ve OSİ değerleri ile birlikte yükselen MDA ve İMA düzeyleri, oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilirken; TAS düzeyinin azalması ise antioksidan rezervlerin tükendiğine işaret eder (32). Bu parametreler, hem deneysel hem de klinik çalışmalarda hasarın ciddiyetini belirlemek ve tedavi etkinliğini objektif olarak değerlendirmek amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır.

2.2. SİSTEMİK İNFLAMASYON VE OKSİDATİF STRESİN UZAK ORGANLARA ETKİSİ

I/R hasarının önemi, yalnızca etkilenen organdaki lokal yaralanmayla sınırlı kalmamasından kaynaklanmaktadır. Şiddetli bir iskemi-reperfüzyon süreci, sistemik dolaşıma çok sayıda inflamatuvar medyatör ve serbest radikal salınımına yol açarak uzak organ hasarına neden olabilir. Bağırsak gibi geniş ve yüksek derecede vaskülarize organların İ/R'ye uğraması, sıklıkla akciğer ve karaciğer gibi organlarda ikincil hasarlarla komplike olmaktadır (35). İntestinal İ/R'nin yaygın bir komplikasyonu akut akciğer hasarı (ALI) veya daha ileri bir tablosu olan akut solunum sıkıntısı sendromudur (ARDS). Bağırsak bariyerinin bozulması sonucunda dolaşıma katılan endotoksinler ve proinflamatuvar sitokinler, akciğer kapiller endotelinde hasara yol açar; alveol-kapiller membran geçirgenliği artar ve interstisyel ödem ile birlikte akut inflamatuvar infiltrasyon gelişir. Nitekim deneysel bağırsak İ/R modellerinde, reperfüzyonu takiben dakikalar içinde akciğerlerde nötrofil birikimi ve proinflamatuvar sitokin (TNF-α, IL-1β gibi) ekspresyonunda artış gösterilmiştir. Eğer bu süreç engellenmezse, ALI hızla ARDS'ye ilerleyebilir ve solunum fonksiyonlarında ciddi bozulma ile yüksek mortalite riski ortaya çıkar. İntestinal İ/R'ye sekonder gelişen akciğer hasarının mekanizmaları arasında oksidatif stres, sitokin fırtınası, apoptoz ve ferroptozis gibi süreçlerin rol oynadığı, ancak bu patogenezin henüz tam olarak aydınlatılamadığı bildirilmektedir (31) Benzer şekilde karaciğer de, bağırsak İ/R'sine karşı hassas uzak organlardan biridir. İskemiye uğrayan bağırsaktan portal dolaşımla gelen toksik ürünler ve inflamatuvar medyatörler, karaciğerde akut hepatik hasar gelişimine neden olabilir. Klinik ve deneysel veriler,

şiddetli bağırsak İ/R geçiren olgularda serum karaciğer enzimlerinin (ALT, AST) hızla yükseldiğini; karaciğer histolojisinde mikrovasküler konjesyon, hepatosit şişmesi ve odaksal nekroz alanlarının oluştuğunu göstermektedir. Bağırsak kaynaklı yüksek mobilite grubu B1 (HMGB1) gibi alarmin moleküllerinin ve lipopolisakkarit (LPS) gibi endotoksinlerin, karaciğerde Kupffer hücrelerini aktive ederek sitokin salınımını tetiklediği düşünülmektedir. Ayrıca, bağırsak İ/R'si sonrası sistemik dolaşıma salınan serbest radikallerin de karaciğer hücrelerinde lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal hasara yol açtığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, bağırsak İ/R'si sıklıkla karaciğer başta olmak üzere distal organ hasarıyla birliktelik göstermektedir. Literatürde, intestinal İ/R'ye bağlı akut karaciğer hasarında rol oynayan sinyal yolakları (örneğin NF-κB, P66^Shc, Nrf2-ARE) ayrıntılı olarak tanımlanmış ve bu yolakların anlaşılmasının, uzak organ hasarını önlemede yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine katkı sağlayacağı vurgulanmıştır (35). Bağırsak İ/R'sinin ayrıca böbrek, kalp ve beyin fonksiyonlarını da dolaylı olarak etkileyebildiği bilinmektedir. Şiddetli sistemik inflamasyon ve hipoperfüzyon sonucunda akut böbrek hasarı veya kardiyak depresyon gelişebilir. Bu nedenle, İ/R hasarına yönelik tedavi yaklaşımları yalnızca etkilenmiş organı korumayı değil, aynı zamanda sistemik inflamasyonu kontrol altına alarak çoklu organ yetmezliği riskini azaltmayı da hedeflemelidir. Uzak organ hasarının engellenmesi, İ/R'ye yönelik koruyucu tedavilerin en önemli başarı kriterlerinden biri olarak kabul edilmektedir.

2.3. ROSMARINUS OFFICINALIS'İN ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ MEKANİZMALARI

Rosmarinus officinalis (biberiye), içerdiği güçlü antioksidan bileşikler ile tanınan tıbbi bir bitkidir. Biberiyenin yaprak ve gövde ekstraktlarında; karnosik asit, rosmarinik asit, karnosol, ursolik asit, luteolin gibi birçok fenolik ve diterpen yapıda fitokimyasal saptanmıştır. Bu moleküllerin çeşitli farmakolojik etkileri olduğu; özellikle antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin belirgin olduğu gösterilmiştir. RO'nun tedavi edici etkileri üzerine yapılan kapsamlı incelemelerde, bu bitkinin inflamatuvar hastalıkları, iskemiye bağlı doku hasarlarını ve oksidatif stres ile ilişkili durumları hafifletebildiği bildirilmiştir. Rosmarinik asidin, güçlü bir antioksidan olup

reaktif oksijen türlerini süpürdüğü ve enflamatuvar enzimleri inhibe ettiği; karnosik asit ve karnosol gibi diterpenlerin ise nöroprotektif ve anti-kanser etkilere dahi sahip olabildiği gösterilmiştir (36). Biberiyenin antioksidan etki mekanizması, içeriğindeki fenolik bileşiklerin serbest radikalleri doğrudan nötralize etmesine ve hücresel antioksidan savunma sistemlerini modüle etmesine dayanmaktadır. RO ekstraktının deneysel modellerde lipid peroksidasyonunu azaltarak MDA gibi oksidatif hasar ürünlerini düşürmüş; ayrıca hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi ROS düzeylerini de kontrol altına almıştır. Huang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, biberiye ekstraktının beyin, böbrek, kalp ve serum gibi dokularda oksidatif strese aracılık eden molekülleri azalttığı; böylece hücreleri ROS'un zararlı etkilerinden koruduğu belirtmiştir. Antioksidan etkinin yanı sıra, biberiyenin belirgin bir antiinflamatuvar etkisi de vardır. İn vitro ve in vivo çalışmalara göre R. officinalis, inflamasyonun kilit transkripsiyon faktörlerinden nükleer faktör kappa B (NF-κB) yolunu baskılayabilmektedir. Mezensefalon atardamarı oklüzyonu ile oluşturulan serebral İ/R modelinde biberiye özütü uygulanan sıçanlarda, NF-κB'nin aktif hale gelmesinin engellendiği, bunun sonucunda indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) enzim ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. NF-κB inhibisyonuna paralel olarak proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin TNF-α, IL-1β) doku düzeylerinde düşüş gözlenmiştir. Bu mekanizma, biberiyenin İ/R sırasında gelişen inflamatuvar yanıtı hafifleterek hem lokal hasarı hem de sistemik etkileri azaltabileceğini düşündürmektedir (37). Biberiyenin İ/R hasarındaki koruyucu rolü, çeşitli organ sistemlerinde incelenmiştir. Serebral İ/R modellerinde biberiye ekstraktının beyin ödemini ve infarkt hacmini azalttığı, kan-beyin bariyerini koruduğu ve nörolojik hasarı sınırladığı bildirilmiştir (37). Bu etkilerin bir kısmı, bitkinin MAPK/ERK yolaklarını modüle ederek hücre ölümünü engellemesine atfedilmiştir. Hepatik İ/R modellerinde ise biberiyenin aktif bileşenlerinden rosmarinik asidin karaciğerde inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve sitokin üretimini azalttığı, böylece reperfüzyon sonrası karaciğer hasarını hafiflettiği saptanmıştır (38). Renal İ/R çalışmaları da biberiyenin benzer şekilde faydalı olduğunu ortaya koymaktadır. Sıçanlarda, böbrek arterlerinin 30 dakikalık iskemi ve 24 saatlik reperfüzyonuyla oluşturulan akut böbrek hasarı modelinde, 7 gün boyunca oral yoldan biberiye özütü verilen grupta kreatinin ve kan üre azotu (BUN) seviyelerinin anlamlı derecede düşük seyrettiği, idrarla sodyum atılımının daha az olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada biberiye uygulanan grubun plazmasında MDA düzeylerinin belirgin biçimde azaldığı,

antioksidan kapasiteyi yansıtan ferrik indirgeme gücü (FRAP) ölçümlerinin ise yükseldiği rapor edilmiştir. Histopatolojik incelemede, biberiye tedavisi alan ratların böbrek dokusunda daha az vasküler konjesyon, tübüler nekroz ve hücre dökülmesi saptanmıştır. Bu bulgular, biberiyenin hem fonksiyonel hem de yapısal düzeyde İ/R hasarından koruma sağlayabileceğini ortaya koymaktadır (37). Sonuç olarak Rosmarinus officinalis, içerdiği doğal antioksidan ve antienflamatuvar bileşenler sayesinde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı potansiyel koruyucu etkiler göstermektedir. Hem deneysel hayvan modellerinde hem de hücresel düzeyde yapılan araştırmalar, biberiye özütü veya bileşenlerinin oksidatif stres göstergelerini azalttığını, enflamatuvar yanıtı modüle ettiğini ve doku hasarını hafiflettiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, biberiye ve aktif bileşenleri, İ/R hasarının önlenmesi veya tedavisine yönelik gelecekteki farmakolojik yaklaşımlarda önemli bir yer tutabilecek doğal ajanlar olarak değerlendirilmektedir (38).

2.4. DEKSAMETAZONUN İMMÜNOMODÜLATÖR VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİLERİ

Deksametazon, güçlü etkili bir sentetik glukokortikoiddir ve bağışıklık yanıtını baskılayıcı (immünomodülatör) ve inflamasyonu giderici etkileriyle geniş çapta klinik kullanıma sahiptir. Deksametazonun etki mekanizması, hücre içinde glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak reseptörün aktive olmasını ve nükleusa geçip gen ekspresyonunu modüle etmesini içerir. Bu sayede deksametazon, birçok proinflamatuvar sitokin ve medyatörün gen transkripsiyonunu baskılar. Örneğin, tümör nekroz faktör-α (TNF-α), interlökin-1 (IL-1) ve IL-6 gibi sitokinlerin üretimi deksametazon etkisiyle azalırken, antiinflamatuvar sitokin IL-10'un ekspresyonu artabilir. Glukokortikoidlerin bilinen bir hedefi, enflamasyonun başlatıcı faktörlerinden NF-κB yoludur; deksametazon uygulaması, hücrelerde NF-κB'nin hedef genlerinin (örneğin IL-6) transkripsiyonunu doğrudan baskılayarak güçlü antiinflamatuvar etki göstermektedir. Klasik bilgi, glukokortikoidlerin IκB sentezini artırıp NF-κB'yi sitoplazmada tuttuğu yönünde olsa da, çalışmalar deksametazonun NF-κB p65 alt biriminin transkripsiyonel aktivitesini doğrudan engelleyebildiğini de ortaya koymuştur. Sonuç olarak, deksametazon COX-2, iNOS gibi enflamatuvar enzimlerin ve çeşitli adezyon moleküllerinin (ICAM-1, E-selektin vb.) ekspresyonunu azaltarak; prostaglandin ve diğer inflamatuvar medyatörlerin sentezini de kısıtlayarak geniş kapsamlı bir antiinflamatuvar etki sağlar (39). Deksametazonun bu

immünmodülatör özellikleri, iskemi-reperfüzyon hasarının kontrol altına alınmasında da araştırılmıştır. Glukokortikoidlerin dokuları koruyabileceğine dair ilk bulgulardan biri, 1980'lerde deneysel bağırsak İ/R modeli üzerinde gözlemlenmiştir. Yeni doğan tavşanlarda, bağırsak segmentlerine uygulanan kısa süreli iskemi sonrası reperfüzyon ile nekrotizan enterokolit benzeri lezyonlar oluşturulmuştur. Bu modelde iskemi öncesi düşük doz intravenöz deksametazon (0,1 mg/kg) uygulanan hayvanlarda, reperfüzyon sonrası bağırsak doku hasarının neredeyse tamamen önlendiği rapor edilmiştir. Hem sistemik (IV) hem de lümene lokal uygulanan deksametazon, kontrol grubuna kıyasla bağırsak mukozasında nekroz ve inflamasyon bulgularını belirgin şekilde azaltmış ve hemen tüm vakalarda normal histolojinin korunduğu görülmüştür. Bu çarpıcı sonuçlar, deksametazonun hücre membran stabilizasyonu ve antioksidan etkileriyle reperfüzyonun oksidan hasarından koruyabileceğini düşündürmüştür (40). Daha sonraki çalışmalarda deksametazonun İ/R hasarını azaltmadaki etkileri ve mekanizmaları detaylandırılmıştır. Renal İ/R modellerinde, iskemi başlangıcında veya reperfüzyon anında tek doz deksametazon verilmesinin 24 saat sonra böbrek fonksiyonunda belirgin iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Deksametazon uygulanan ratlarda kan kreatinin ve BUN düzeyleri daha düşük seyretmiş; böbrek histolojisinde daha az tübüler nekroz ve inflamasyon saptanmıştır. Moleküler düzeyde incelendiğinde, deksametazonun apoptotik yolakları baskıladığı görülmüştür: Anti-apoptotik Bcl-xL proteinini yukarı regüle ederken, iskemiyle artan pro-apoptotik Bax seviyesini düşürmüş; ayrıca kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivasyonunu inhibe etmiştir. Bu sayede proksimal tübül hücrelerinde hem apoptozu hem de nekrozu azalttığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada deksametazonun reperfüze böbrekte nötrofil infiltrasyonunu ve interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonunu da belirgin biçimde azalttığı rapor edilmiştir. Nötrofil depresyonu uygulanmış hayvanlarda da deksametazonun koruyucu etkisi gözlendiğinden, glukokortikoidin yalnızca nötrofil üzerindeki etkilerle değil, doğrudan hedef hücrelerdeki (örneğin böbrek epiteli) hücre içi sinyal yolakları üzerinden de koruma sağladığı ileri sürülmüştür. Nitekim in vitro deneylerde, insan böbrek tübüler hücreleri (HK-2) serumdan mahrum bırakılarak veya hipoksiye sokularak stres altında bırakıldığında deksametazon uygulaması hücre yaşamasını artırmıştır; bu etki MEK1/2-ERK1/2 sinyalinin aktif olmasıyla ilişkili bulunmuştur. Deksametazonun glukokortikoid reseptörü aracılı fakat klasik genomik etkiden bağımsız hızlı bir mekanizma ile ERK1/2'yi aktive ettiği ve böylece hücreyi strese karşı dirençli hale getirdiği

gösterilmiştir (35). Kardiyak İ/R alanında da deksametazonun yararlı etkileri belgelenmiştir. Örneğin, deneysel miyokard İ/R modellerinde deksametazon verilmesi sol ventrikül fonksiyonlarının reperfüzyon sonrası daha iyi korunmasına ve enfarktüs alanının küçülmesine yol açmıştır. Bu koruyucu etkinin, endojen hücresel savunma yollarından Nrf2 ve prostaglandin salınımı ile ilişkili olduğu, Nrf2 geninin olmadığı durumlarda deksametazonun kardiyak koruma sağlayamadığı bildirilmiştir. Bu bulgu, deksametazonun antioksidan yanıt elementlerini (ARE) aktive eden Nrf2 yolunu da dolaylı olarak destekleyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca glukokortikoidlerin organ transplantasyonunda reperfüzyon hasarını azaltmak üzere kullanıldığı klinik uygulamalar mevcuttur; örneğin karaciğer nakillerinde donor organa reperfüzyon öncesi steroid verilmesinin graft fonksiyonunu iyileştirebildiği bilinmektedir. Deksametazonun immünosüpresif etkileri sayesinde İ/R sonrası gelişen sitokin fırtınasını dizginlediği ve doku ödemini azalttığı düşünülmektedir (41). Özetle, deksametazon güçlü antiinflamatuvar ve hücre koruyucu özellikleri sayesinde İ/R hasarının farklı organlardaki etkilerini azaltabilmektedir. İnflamatuvar hücrelerin dokuya göçünü engellemesi, adezyon molekülü ve sitokin üretimini baskılaması ile birlikte hücre içi ölüm yolaklarını düzenlemesi, hem lokal hasarı azaltmakta hem de sistemik komplikasyonların önlenmesine katkı sunmaktadır. Bu bağlamda, deksametazonun uygun doz ve zamanlamayla kullanımı, büyük cerrahi işlemler, organ nakli ve travmatik şok gibi İ/R riski yüksek durumlarda etkili bir stratejisi olarak değerlendirilmektedir (35).

2.5. ROSMARINUS OFFICINALIS VE DEKSAMETAZON İLE YAPILMIŞ DENEYSEL/KLİNİK ÇALIŞMALAR

İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarını azaltmaya yönelik olarak, antioksidan bitkisel ürünler ve farmakolojik ajanlar üzerine çok sayıda deneysel ve klinik çalışma gerçekleştirilmiştir. *Rosmarinus officinalis* (biberiye) ve deksametazon da bu kapsamda sıklıkla araştırılan moleküller arasında yer almaktadır. Yüksek etki faktörlü uluslararası dergilerde yayımlanan güncel çalışmalar, bu ajanların İ/R hasarındaki potansiyel koruyucu etkilerine dair önemli bulgular ortaya koymaktadır. Biberiyenin koruyucu etkileri, farklı organ sistemleri üzerinde test edilmiştir. Böbrek İ/R modellerinde Changizi ve arkadaşları, sıçanlara renal iskemi öncesi bir hafta boyunca oral yolla *R. officinalis* özütü uygulayarak oksidatif stres parametrelerini incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, biberiye verilen grupta reperfüzyon

sonrasında plazma kreatinin ve BUN düzeyleri anlamlı şekilde düşük bulunmuş; idrarda sodyum atılımının da daha az olduğu saptanmıştır. Bu veriler, böbrek fonksiyonlarının korunduğunu göstermektedir. Aynı çalışmada, biberiye grubunda plazma ve idrardaki MDA seviyelerinde azalma, toplam antioksidan kapasitede ise artış saptanmıştır. Histopatolojik değerlendirmede ise biberiye uygulanan grupta vasküler konjesyon ve epitel hasarının belirgin şekilde azaldığı rapor edilmiştir (37). Karaciğer İ/R üzerine gerçekleştirilen deneysel bir çalışmada, rosmarinik asidin karaciğer dokusunu reperfüzyon hasarından koruduğu, karaciğerdeki inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve tümör nekroz faktör-α (TNF-α) gibi proinflamatuvar sitokin düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (38). Serebral İ/R alanında yapılan araştırmalarda ise, *Rosmarinus officinalis* yaprağı ekstraktının beyin iskemisi oluşturulan hayvanlarda nörolojik defisitleri hafiflettiği, beyin ödemini azalttığı ve antioksidan enzim düzeylerini artırdığı bildirilmektedir (37). Miyokardiyal iskemi üzerine yapılan bir çalışmada, *Rosmarinus officinalis* ile *Crataegus oxyacantha* (alıç) özütlerinin birlikte uygulanmasının, kalpte oksidatif stresi azaltarak enfarktüs boyutunu küçülttüğü gösterilmiştir. Bu etkinin, ROS üretiminin baskılanması ve antioksidan savunma sisteminin güçlendirilmesiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Literatürde yer alan farklı çalışmaların ortak bulgusu, biberiye ve aktif bileşenlerinin İ/R sürecinde gelişen oksidatif hasarı ve inflamatuvar yanıtı baskılayarak organ fonksiyonlarını koruyabildiğini ortaya koymaktadır (42). Deksametazonun apoptotik engelleyici etkileri (Bax/kaspaz yolaklarının inhibisyonu) ve nötrofil engelleyici özellikleri başka bir çalışmada da vurgulanmıştır (35). Klinik açıdan değerlendirildiğinde, deksametazon hâlihazırda birçok inflamatuvar durumda yaygın şekilde kullanılmakta olup, İ/R ile ilişkili klinik tabloların yönetiminde de yer almaktadır. Örneğin, ciddi travma veya hemorajik şoka bağlı gelişen "ikinci darbe" (second hit) fenomeninde, steroid tedavisinin erken dönemde başlatılmasının akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ve çoklu organ yetmezliği gelişme sıklığını azalttığına dair klinik gözlemler mevcuttur (43). Sonuç olarak, literatürde yer alan yüksek nitelikli çalışmalar, *Rosmarinus officinalis* ve deksametazonun deneysel İ/R hasarındaki etkinliğini destekleyen tutarlı veriler ortaya koymuştur. Biberiye, doğal bir antioksidan ve antiinflamatuvar ajan olarak farklı organlardaki İ/R modellerinde yapısal ve fonksiyonel iyileşmeler sağlamıştır. Deksametazon ise güçlü ve hızlı immünmodülatör etkileri sayesinde İ/R'nin yol açtığı doku hasarını azaltmış; özellikle enflamatuvar

hücre aktivasyonu ile apoptozisi engellemiştir. Bu veriler ışığında, her iki molekül de, gerek ayrı ayrı gerekse kombine yaklaşımlarda İ/R hasarını önlemeye yönelik potansiyel tedavi seçenekleri olarak değerlendirilmektedir. Ancak, bu ajanların doz, uygulama zamanı ve olası yan etki profillerinin optimize edilmesi için daha fazla kontrollü çalışmaya ihtiyaç vardır. Yine de mevcut bilimsel kanıtlar, *Rosmarinus officinalis* ve deksametazonun İ/R hasarında hedefe yönelik tedavi geliştirilmesinde umut vadeden iki ajan olduğunu göstermektedir (29, 37).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı'nda, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı ile (Etik Kurul onay tarihi/no: 21.12.2023/07-5) gerçekleştirilmiştir. Araştırmada 20-24 haftalık 40 adet erkek Sprague-Dawley sıçanı kullanılmıştır.

Bu çalışma, ortalama ağırlığı 300±20 gram, 20-24 haftalık toplam 40 adet *Sprague-Dawley* cinsi erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar, çalışma süresince oda sıcaklığı (21 ± 2°C) ve nem oranı (%40 – 60) kontrol altında tutulan, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüye sahip bir ortamda, her kafeste dört sıçan olacak şekilde metal kafeslerde barındırıldı. Sıçanlar, standart sıçan yemi ile beslendi ve içme suyu olarak çeşme suyu verildi. Kafeslerin temizliği günlük olarak sağlandı ve tüm deneysel prosedürler sırasında hayvanlara *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* rehberine uygun biçimde insancıl muamele uygulandı. Tüm cerrahi işlemler anestezi altında gerçekleştirildi. Anestezi indüksiyonu için sıçanlara intraperitoneal (ip) olarak Ketamin Hidroklorür (Ketalar®, 50 mg/ml, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) 80 mg/kg ve Ksilazin hidroklorür (Rompun® , 23,32 mg/ml, Bayer. İstanbul, Türkiye) 10 mg/kg dozunda uygulnadı. Sıçanlar her grupta 8 sıçan olacak şekilde 5 eşit gruba ayrıldı.

Gruplar;

Grup S (Sham) (n=8): Laparotomi + 2 mL intraperitoneal izotonik solüsyon

Grup C (Kontrol) (n=8): Laparotomi + 2 mL intraperitoneal izotonik solüsyon + I/R

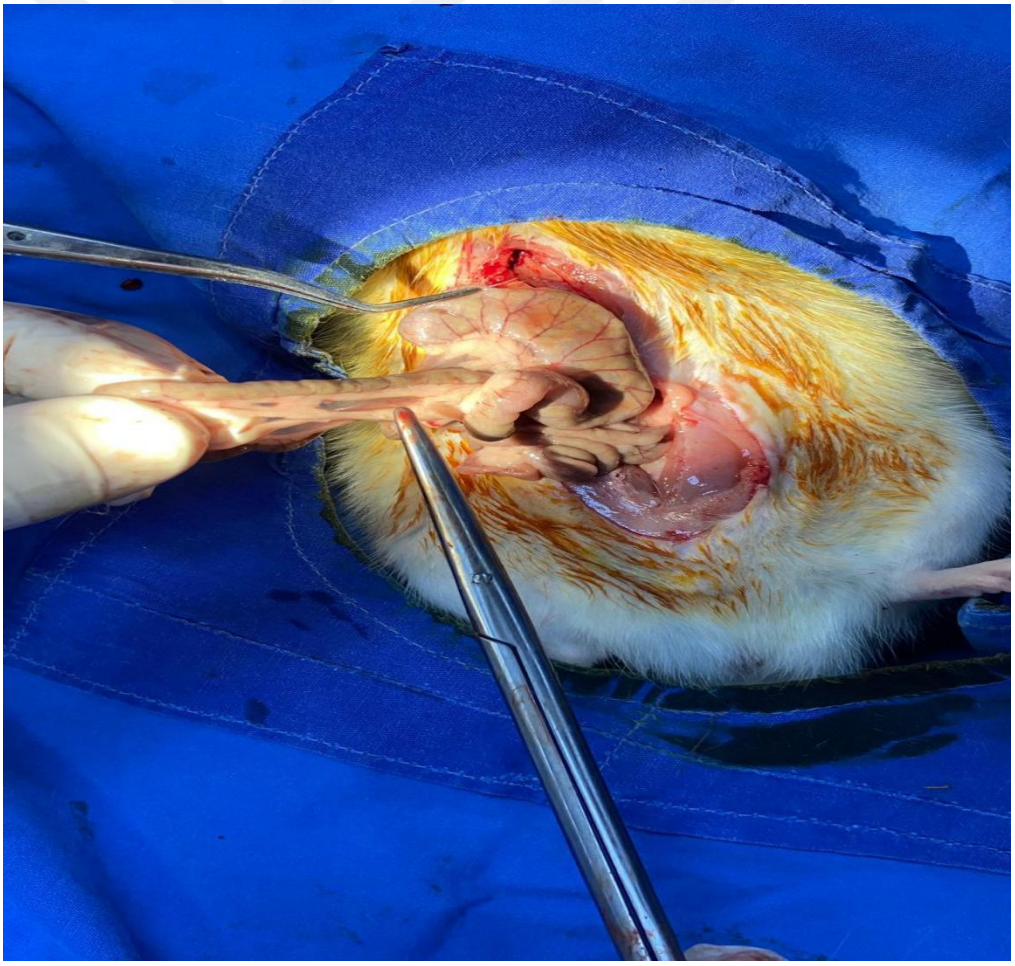
Grup R (Rosmarinus) (n=8): Laparotomi + intraperitoneal 320 mg/kg/2 mL RO + I/R

Grup D (Deksametazon) (n=8): Laparotomi + intraperitoneal 4 mg/kg/2 mL Deksametazon + I/R

Grup RD (Rosmarinus + Deksametazon) (**n=8**): Laparotomi + intraperitoneal 4 mg/kg/1 mL Deksametazon + 320 mg/kg/1 mL RO + I/R

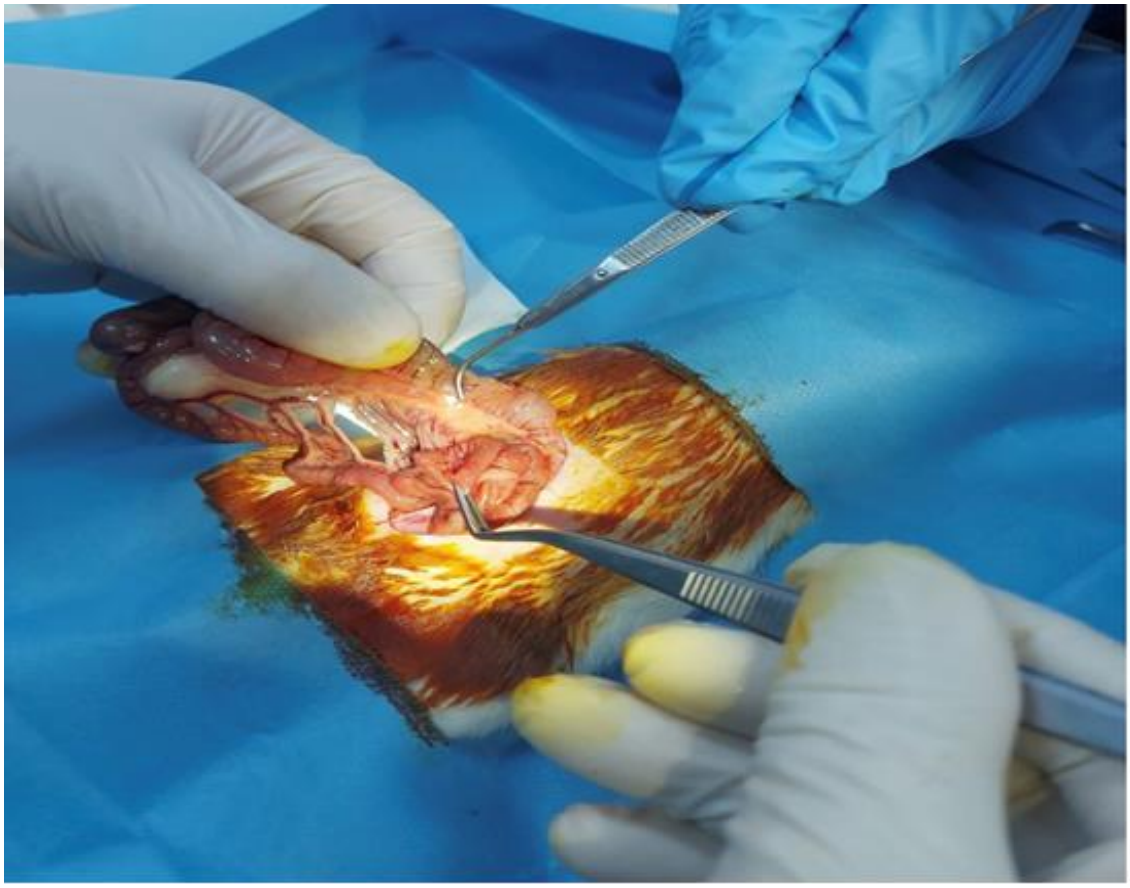
Grup R, Grup D ve Grup RD tedavi grupları olarak tanımlandı.

Sekiz saatlik açlık sonrası, tüm sıçanların ağırlıkları anestezi altında ölçülerek kaydedildi. Anestezi uygulanan tüm sıçanlara kuyruk veninden 26G angiocut ile damar yolu açıldı. Karın bölgeleri traş edilerek povidon iyot ile cerrahi saha dezenfeksiyonu yapıldı. Daha sonra Grup S ve Grup C'deki sıçanlara 2 mL intraperitoneal izotonik; Grup R'deki sıçanlara 320 mg/kg/2 mL Rosmarinus officinalis; Grup D'deki sıçanlara 4 mg/kg/2 mL deksametazon; Grup RD'deki sıçanlara ise 4 mg/kg/1 mL deksametazon ve 320 mg/kg/1 mL Rosmarinus officinalis intraperitoneal olarak uygulandı. İlaç uygulamasından 30 dakika sonra tüm sıçanlara, 3 cm uzunluğunda tam kat karın orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Laparotomi yapılmış sıçan görüntüsü Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Laparotomi yapılmış sıçan görüntüsü.

Grup S dışındaki tüm sıçanlarda, Turna ve ark. (**44**) tarafından tanımlanan çalışma modeli referans alınarak, superior mezenterik arter ortaya konulduktan sonra vasküler klemp ile kapatılarak 1 saat süreyle iskemi oluşturuldu. Superior mezenterik arter diseksiyonu yapılan sıçanın görüntüsü Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Superior mezenterik arter diseksiyon görüntüsü.

Daha sonra vasküler klempler açılarak 1 saat süreyle reperfüzyon sağlandı. Bu sürenin sonunda biyokimyasal incelemeler için yaklaşık 4-6 mL kan örneği intrakardiyak ponksiyon ile alındı. Histopatalojik incelemeler için karaciğer, böbrek ve terminal ileum doku örnekleri çıkarılarak tüm sıçanlar sakrifiye edildi. Histapatolojik doku örnekleri ve kan örnekleri Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Histapatolojik dokular ve kan örnekleri.

Biyokimyasal Yöntem (Kan):

Serum Örneklerinin Toplanması: Sprague cinsi sıçanlardan alınan kan örnekleri, jelli aktivatörlü steril biyokimya tüplerine aktarıldıktan sonra 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme sonrasında elde edilen serum örnekleri alikotlanarak analiz zamanına kadar e -80 °C'de saklanmıştır.

Oksidatif Stres Analizi: Serumdaki total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) ve iskemi modifiye albumin (İMA) düzeyleri, ticari olarak temin edilen kitler (Rel Assay Diagnostics) kullanılarak farklı fotometrik yöntemlerle ölçülmüştür. Oksidatif stres indeksi, TOS seviyelerinin TAS seviyesine oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Ayrıca Disülfit (DIS), total tiyol (TT) ve natif tiyol (NT) seviyeleri belirlenmiş; bu değerler kullanılarak DIS/NT, DIS/TT ve NT/TT oranları (%) hesaplanmıştır.

Malondialdehit (MDA) Analizi: Serum örneklerindeki malondialdehit (MDA) düzeyleri, enzime bağlı immünosorbent assay (ELISA) kiti (BT LAB-E0156Ra) kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına göre belirlendi. Mikrotitre plaka kuyularına 40 µL serum örneği ve 10 µL sıçan MDA antikoru eklendi. Ardından her bir kuyuya 50 µL streptavidin-HRP ilave edildi. Bu karışım, 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyu, yıkama solüsyonu ile beş kez yıkandı. Sonrasında her bir kuyuya sırasıyla 50 µL substrat A ve 50 µL substrat B eklendi; karışım karanlık ortamda 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda, reaksiyonu durdurmak için her kuyunun içerisine 50 µL durdurucu solüsyon (stop solüsyonu) eeklendi. Absorbans değerleri, 450 nm dalga boyunda spektrofotometre (BioTek, Synergy™ HTX Flaş Çok Modlu Okuyucu) ile ölçüldü. Örneklerdeki MDA düzeyleri, daha önce oluşturulmuş standart MDA eğrisi kullanılarak hesaplandı (45).

Histopatolojik inceleme: Histopatolojik değerlendirme, gruplar hakkında bilgisi olmayan bir patolog tarafından yapıldı. (**Karaciğer)** Reperfüzyondan 1 saat sonra, karaciğerin sağ lobundan doku örnekleri alındı. Bu örnekler %10'luk formaldehit solüsyonuna yerleştirildi, parafin bloklara gömülerek Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve 5 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Biyopsi örnekleri, hepatik hasarın şiddetini belirlemek amacıyla 200x büyütmede ve sıralı bir skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi:

Grade 0: Minimal hasar ya da hasar yok

Grade 1: Sitoplazmik vakuolizasyon ve fokal nükleer piknoz ile karakterize hafif hasar

Grade 2: Yaygın nükleer piknoz, hipereozinofili, sınır kaybı ve nötrofil infiltrasyonu içeren orta-şiddetli hasar.

Grade 3: Kord parçalanması, kanama ve ciddi PMN infiltrasyonu ile şiddetli hasar.

Her numune, 1 mm²'lik bir ızgara üzerinde yer alan ortalama 100 bitişik nokta esas alınarak derecelendirildi (46). **(İnce barsak):** Histopatolojik inceleme için hazırlanan doku örnekleri hematoksilen- eozin ile boyandı. Işık mikroskobunda 10X ve 40X büyütme ile incelenerek, Modifiye Chiu puanlama sistemine göre değerlendirildi (47). Bu sistemde derecelendirme şu şekildedir: 0: Normal, 1: Villusların üçte birinde deskuamasyon ve nekroz, 2: Villusların merkezinde progresif deskuamasyon; 3: Villusların üçte birinin altında desquamasyon ve kript hücrelerinde nekroz, 4: Kript hücrelerinin üçte birinin nekrozu, 5: Bazal kriptanın tamamen kaybı. Tüm örnekler aynı patolog tarafından incelendi. **(Böbrek):** Böbrek histopatolojik hasarlarını değerlendirmek amacıyla hazırlanan kesitler sırasıyla hematoksilen-eozin (H&E) ve Periodic Acid-Schiff (PAS) ile boyandı. Kesitlerin her biri ışık mikroskobu altında incelendi. Böbrek hasar skoru; intralüminal nekrotik hücreler, hücre şişmesi, interstisyel konjesyon, ödem ve protein döküntülerine göre değerlendirildi. Beş puanlık derecelendirme sistemi şu şekildedir: 0: normal böbrek morfolojisi; 1: böbrek dokusu hasarı ≤%10, 2: böbrek dokusu hasarı %11-25, 3: böbrek dokusunun hasarı %26-45, 4: böbrek dokusunun hasarı %46-75, 5: böbrek dokusunun hasarı ≥%76 (48).

Rosmarinus Officinalis Ekstresinin hazırlanması: RO ekstresi, Karatepe ve ark. (49) tarafından yapılan çalışmadaki yöntem temel alınarak hazırlandı. RO'nun toprak üstü kısımları Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkezi'nden temin edildi. Gölgede kurutulmuş ve toz haline getirilmiş 150 g R. officinalis'in toprak üstü kısımları, oda sıcaklığında %70'lik hidroetanol çözeltisi kullanılarak ekstrakte edildi. Çözücü-bitki oranı 1:10 lacak şekilde ayarlandıktan sonra çözelti süzüldü ve 38–40 °C'de, indirgenmiş basınç altında bir döner buharlaştırıcı kullanılarak konsantre edildi. Daha sonra elde edilen ekstrakt, tamamen kurutulmak üzere liyofilizatörden geçirildi. Elde edilen toz form, izotonik solüsyon ile sulandırılarak intraperitoneal yolla uygulandı.

Örneklem büyüklüğü: Kartal ve ark. (4) tarafından yapılan çalışmaya dayanarakbu çalışmada Tip I hata düzeyi (α) 0,05 ve çalışma gücü (1–β) %80 olarak kabul edilerek, grup başına gerekli örneklem sayısı 5 olarak hesaplanmıştır. Olası kayıplar göz önünde bulundurularak her gruba 8'er rat dahil edilmiştir. Örneklem hesabı MedCalc Statistical Software version 19.7.2 (MedCalc Software Ltd., Ostend, Belgium) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İstatiksel analiz: İstatistiksel analizler için SPSS 15.0 for Windows programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ise ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak verildi. Sayısal değişkenlerin ikiden fazla grup arasında karşılaştırılmasında, verilerin normal dağılım göstermesi durumunda One Way ANOVA testi; normal dağılım göstermemesi durumunda ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Nonparametrik testlerde alt grup analizleri Mann-Whitney U testi ile yapıldı ve Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yorumlandı. Gruplar arasındaki oranlar Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma sırasında S4 ve S5 kodlu sıçanlar laparotomiden yaklaşık 40 dakika sonra öldüğünden, kan ve doku örnekleri alınamamıştır.

Gruplardaki sıçanların ortalama ağırlıkları şu şekildeydi: Grup S: 305,9 ± 11,4; Grup R: 305,4 ± 5,9; Grup RD: 305,4 ± 12,0; Grup D: 304,9 ± 6,6; Grup C: 305,0 ± 5,2 gram. Gruplardaki sıçanların ortalama ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p = 0,999). Gruplardaki sıçanların ortalama ağırlıkları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Gruplardaki sıçanların ortalama ağırlıkları.

Grup	S	R	RD	D	C	
	Ort.±SD (Min-Maks)	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks).**	**Ort.±SD (Min-Maks).**	**p**
AĞIRLIK	305.9±11.4 (287.9-318.8)	305.4±5.9 (300-316)	305.4±12.0 (282-314.7)	304.9±6.6 (292-314)	305.0±5.2 (297.4-313.6)	0.999*

Veriler ortalama ± standart sapma (Ort ± SS), minimum (Min) ve maksimum (Maks) değerler olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırma One-Way ANOVA testi ile yapılmıştır. S: Sham (yalancı işlem), R: Rosmarinus, RD: Rosmarinus + Deksametazon, D: Deksametazon, C: Kontrol.

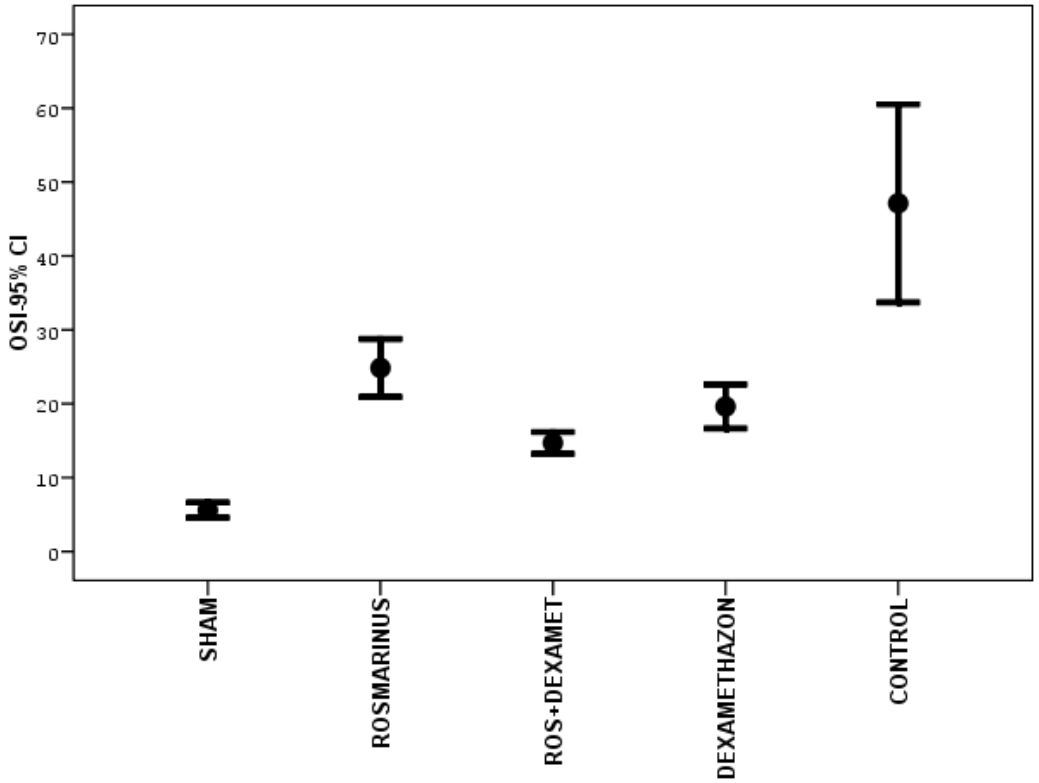
Gruplardaki sıçanların oksidatif stres parametreleri incelendiğinde; ortalama TAS değerleri Grup S: 0,60 ± 0,06; Grup R: 0,36 ± 0,06; Grup RD: 0,44 ± 0,04; Grup D: 0,36 ± 0,04 ve Grup C: 0,26 ± 0,05 mmol askorbat eşdeğeri/L idi. Gruplar arasında ortalama TAS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p<0,001). Ortalama TOS değerleri Grup S: 3,31 ± 0,42; Grup R: 8,63 ± 1,02; Grup RD: 6,38 ± 0,72; Grup D: 6,96 ± 1,25 ve Grup C: 11,41 ± 1,33 µmol H_2O_2 eşdeğeri/L olarak bulundu. TOS değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark vardı (p<0,001). Ortalama OSI değerleri ise Grup S: 5,60 ± 0,97; Grup R: 24,84 ± 4,69; Grup RD: 14,69 ± 1,76; Grup D: 19,62 ± 3,56 ve Grup C: 47,12 ± 16,05 AU idi. Gruplardaki OSI değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p<0,001). Gruplara ait ortalama oksidatif stres parametreleri Tablo 2'de, OSI ortalama ve %95 güven aralıkları ise Şekil 4'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Gruplardaki sıçanların ortalama oksidatif stres parametreleri.

Grup	S	R	RD	D	C	
	Ort.±SD (Min-Maks)	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**p**
TAS	0.60±0.06 (0.52-0.67)	0.36±0.06 (0.24-0.41)	0.44±0.04 (0.36-0.49)	0.36±0.04 (0.29-0.43)	0.26±0.05 (0.17-0.31)	**<0.001***
TOS	3.31±0.42 (2.633-3.791)	8.63±1.02 (7.34-10.14)	6.38±0.72 (5.30-7.78)	6.96±1.25 (5.55-8.82)	11.41±1.33 (9.75-13.89)	**<0.001***
OSI	5.60±0.97 (4.64-7.35)	24.84±4.69 (19.58-35.18)	14.69±1.76 (12.46-16.96)	19.62±3.56 (16.17-25.93)	47.12±16.05 (35.32-83.79)	**<0.001£**

One-Way ANOVA testi, £Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Veriler ortalama (Ort), standart sapma (SD), minimum (Min) ve maksimum (Maks) değerler ile ifade edilmiştir.

TAS: Total antioksidan seviye (mmol askorbat eşdeğeri/L), TOS: Total oksidan seviye (µmol H_2O_2 eşdeğeri/L), OSI: Oksidatif stres indeksi (AU), S: Sham, R: Rosmarinus, RD: Rosmarinus + Deksametazon, D: Deksametazon, C: Kontrol.



CI: Güven aralığı, **OSI**: Oksidatif stres indeksi

Şekil 4. Gruplardaki sıçanların OSI ortalama, %95 güven aralığı düzeyleri.

Gruplardaki sıçanların iskemi belirteçleri incelendiğinde; ortalama İMA değerleri Grup S: 0,58±0,14, Grup R: 1,152±0,102, Grup RD: 0,78±0,11, Grup D: 0,90±0,10 ve Grup C: 1,42±0,19 ABSU idi. Gruplardaki sıçanların ortalama İMA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p<0,001). Ortalama MDA değerleri Grup S: 0,78±0,16, Grup R: 1,608±0,304, Grup RD: 1,08±0,10, Grup D: 1,43±0,30 ve Grup C: 2,65±0,63 nmol/mL idi. Gruplardaki sıçanların ortalama MDA değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p<0,001). Gruplardaki sıçanların ortalama iskemi belirteçleri Tablo 3'te, İMA ortalaması ve %95 güven aralığı Şekil 5'de, MDA ortalaması ve %95 güven aralığı ise Şekil 6'da gösterilmiştir.

IMA: Grup C > Grup R > Grup D ≥ Grup RD ≥ Grup S (Grup D>Grup S

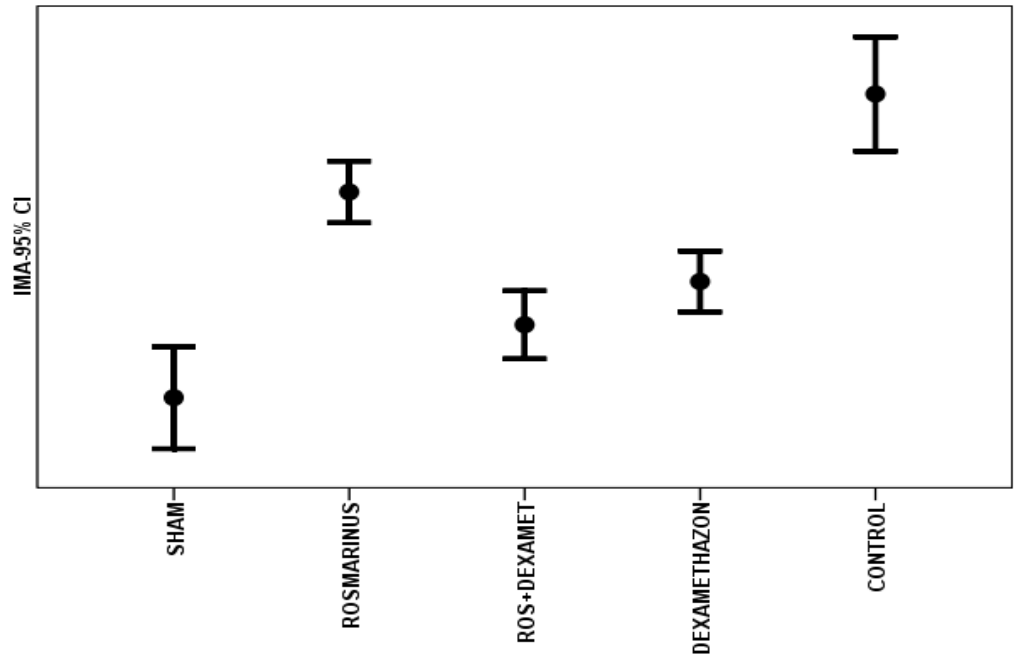
MDA: Grup C > Grup R ≥ Grup D ≥ Grup RD ≥ Grup S (Grup R>Grup S, Grup D>Grup S)

Tablo 3. Gruplardaki sıçanların ortalama iskemi belirteçleri.

Grup	**S**	**R**	**RD**	**D**	**C**	
	Ort.±SD (Min-Maks)	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**Ort.±SD (Min-Maks)**	**p**
IMA	0.58±0.14 (0.44-0.77)	1.152±0.102 (1-1.31)	0.78±0.11 (0.68-1)	0.90±0.10 (0.78-1.03)	1.42±0.19 (1.27-1.83)	**<0.001£**
MDA	0.78±0.16 (0.56-0.98)	1.608±0.304 (1.24-2.13)	1.08±0.10 (0.96-1.25)	1.43±0.30 (1.02-1.97)	2.65±0.63 (1.552-3.48)	**<0.001***

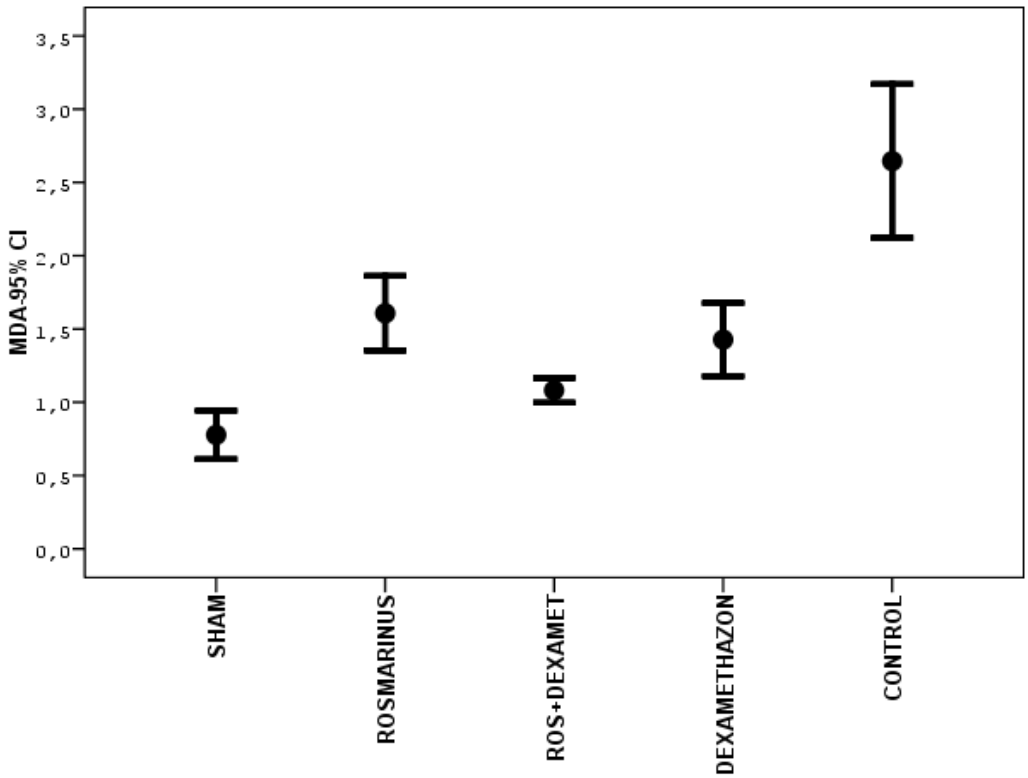
One-Way ANOVA testi, £Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Veriler ortalama (Ort), standart sapma (SD), minimum (Min) ve maksimum (Maks) değerler ile ifade edilmiştir.

TAS: Total antioksidan seviye (mmol askorbat eşdeğeri/L), TOS: Total oksidan seviye (μmol H_2O_2 eşdeğeri/L), OSI: Oksidatif stres indeksi (AU), S: Sham, R: Rosmarinus, RD: Rosmarinus + Deksametazon, D: Deksametazon, C: Kontrol.



CI: Güven aralığı, **IMA** İskemi modifiye albumin.

Şekil 5. Gruplardaki sıçanların IMA ortalama, %95 güven aralığı düzeyleri



CI: Güven aralığı, **MDA**: Malendialdehit.

Şekil 6. Gruplardaki sıçanların MDA ortalama, %95 güven aralığı düzeyleri.

Gruplardaki sıçanların oksidatif stres parametreleri arasındaki farkın incelendiği alt grup analizlerinde; Grup S'nin ortalama TAS değeri, Grup R, Grup RD, Grup D ve Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek; ortalama TOS ve OSI değerleri ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,002$).

Grup R'nin ortalama TAS değeri, Grup RD'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük, Grup D ile benzer, Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (sırasıyla; $p=0,021$, $p=1,000$, $p=0,003$). Grup R'nin ortalama TOS değeri, Grup RD ve Grup D'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek, Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; $p=0,001$, $p=0,027$, $p<0,001$). Grup R'nin ortalama OSI değeri, Grup RD'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek, Grup D'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek, Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; $p=0,001$, $p=0,036$, $p=0,001$).

Grup RD'nin ortalama TAS değeri, Grup D ve Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (sırasıyla; $p=0,027$, $p<0,001$). Grup RD'nin ortalama TOS değeri, Grup D'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha düşük, Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; $p=1,000$, $p<0,001$). Grup RD'nin ortalama OSI değeri ise Grup D ve Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; $p=0,003$, $p=0,001$).

Grup D'nin ortalama TAS değeri, Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0,002$). Grup D'nin ortalama TOS ve OSI değerleri ise Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; $p<0,001$, $p=0,001$). Gruplardaki sıçanların oksidatif stres parametrelerine ait alt grup analiz sonuçları Tablo 4'te sunulmuştur.

TAS: Grup S>Grup RD>Grup D=Grup R>Grup C

TOS: Grup C>Grup R>Grup D≥Grup RD>Grup S

OSI: Grup C>Grup R≥Grup D>Grup RD >Grup S

Tablo 4. Gruplardaki sıçanların oksidatif stres parametreleri arasındaki alt grup analizleri.

	Oksidatif Stres Parametreleri	TAS	TOS	OSI
Grup	**Grup**	p	p	p**
S	**R**	**<0.001**	**<0.001**	**0.002**
	RD	**<0.001**	**<0,001**	**0.002**
	D	**<0.001**	**<0.001**	**0.002**
	C	**<0.001**	**<0.001**	**0.002**
R	**RD**	**0.021**	**0.001**	**0.001**
	D	1.000	**0.027**	0.036
	C	**0.003**	**<0.001**	**0.001**
RD	**D**	**0.027**	1.000	**0.003**
	C	**<0.001**	**<0.001**	**0.001**
D	**C**	**0.002**	**<0.001**	**0.001**

Mann–Whitney U testi, p<0,005.
TAS: Total antioksidan seviye, TOS: Total oksidan seviye, OSI: Oksidatif stres indeksi,
S: Sham, R: Rosmarinus, RD: Rosmarinus + Deksametazon, D: Deksametazon, C: Kontrol.

Gruplardaki sıçanların iskemi belirteçleri arasındaki farkın incelendiği alt grup analizlerinde;

Grup S ortalama IMA değerleri, Grup R'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük; Grup RD'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük; Grup D ve Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla p=0,002; p=0,028; p=0,002; p=0,002).

Grup RD ortalama IMA değerleri, Grup D'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük; Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla p=0,027; p=0,001).

Grup D ortalama IMA değerleri, Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p=0,001).

Grup S ortalama MDA değerleri, Grup R'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük; Grup RD'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük; Grup D ve Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; p=0,001, p=1,000, p=0,020, p<0,001).

Grup R ortalama MDA değerleri, Grup RD ve Grup D'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek; Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; p=0,060, p=0,100, p<0,001).

Grup RD ortalama MDA değerleri, Grup D'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük; Grup C'ye göre ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (sırasıyla; p=0,619, p<0,001).

Grup D ortalama MDA değerleri, Grup C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (p<0,001). Gruplardaki sıçanların iskemi belirteçleri arasındaki alt grup analizleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Gruplardaki sıçanların iskemi belirteçleri arasındaki alt grup analizleri.

	İskemi belirteçleri	**IMA**	**MDA**
Grup	**Grup**	p**	p
S	**R**	**0.002**	**0.001**
	RD	0.028	1.000
	D	**0.002**	**0.020**
	C	**0.002**	**<0.001**
R	**RD**	**0.001**	0.060
	D	**0.001**	1.000
	C	**0.002**	**<0.001**
RD	**D**	0.027	0.619
	C	**0.001**	**<0.001**
D	**C**	**0.001**	**<0.001**

Mann-Whitney U testi, p<0,005.
IMA: İskemi modifiye albümin, MDA: Malondialdehit.
S: Sham, R: Rosmarinus, RD: Rosmarinus + Deksametazon, D: Deksametazon, C: Kontrol.

Gruplardaki sıçanların doku histopatoloji sonuçları incelendiğinde; Karaciğer histopatoloji skoru (LHS), Renal histopatoloji skoru (RHS) ve İntestinal histopatoloji

skoru (IHS) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (p=0,085 p=0,814 p=0,124). Gruplardaki sıçanların histopatoloji skorları Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. Gruplardaki sıçanların histopatoloji skorları.

	Grup	**S**	**R**	**RD**	**D**	**C**	
	Yok/Var	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	p
LHS	**Yok**	6 (100)	6 (75.0)	7 (87.5)	8 (100)	4 (50.0)	0.085
	Var	0 (0.0)	2 (25.0)	1 (12.5)	0 (0.0)	4 (50.0)	
RHS	**Yok**	4 (66.7)	5 (62.5)	5 (62.5)	3 (37.5)	5 (62.5)	0.814
	Var	2 (33.3)	3 (37.5)	3 (37.5)	5 (62.5)	3 (37.5)	
IHS	**Yok**	6 (100)	8 (100)	5 (62.5)	8 (100)	7 (87.5)	0.124
	Var	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (37.5)	0 (0.0)	1 (12.5)	

S: Sham, **R:** Rosmarinus, **RD**: Rosmarinus+Deksametazon, **D**: Deksametazon, **C**: Kontrol
LHS: Karaciğer histopatoloji skoru, **RHS**: Renal histopatoloji skoru, **IHS:** Intestinal histopatoloji skoru

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, TAS değerlerinin Grup RD'de daha belirgin olmak üzere tüm tedavi gruplarında anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. TOS değerleri ise Grup RD'de daha belirgin olmak üzere tüm tedavi gruplarında anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. OSI değerlerinin de benzer şekilde, Grup RD'de daha belirgin olmak üzere tedavi gruplarında anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir. İMA ve MDA değerleri, Grup RD'de daha belirgin olmak üzere tüm tedavi gruplarında anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır. Gruplar arasında LHS, RHS ve IHS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

İ/Rhasarı, mikrovasküler disfonksiyon sonucunda; özellikle NO ve prostasiklin gibi endotel kaynaklı vazodilatör ajanların azalmasıyla kapiller düzeyde vasküler daralma, perfüzyon azalması ve sıvı ile hücre ekstravazasyonunun artmasıyla karakterize edilen bir durumdur (50). Oksidatif stres, İ/R hasarındaki en temel mekanizma olarak kabul edilmektedir (20). Oksidatif strese bağlı gelişen lipid peroksidasyonu sonucunda ROS ortaya çıkmaktadır (44). Aşırı miktarda üretilen bu ROS, apoptozisi tetiklemekte ve mitokondriyal dinamiğin dengesini bozarak hücresel hasara yol açmaktadır (51). İ/R hasarının neden olduğu doku yıkımı, yalnızca iskemik bölgeyle sınırlı kalmamakta, iskemi derecesine bağlı olarak çeşitli uzak organlarda da hasara neden olmaktadır. İnternal İ/R, hem lokal hem de uzak organ fonksiyonlarının bozulmasında kritik ve tetikleyici bir olay olarak değerlendirilmektedir. SMA iskemisini takiben reperfüzyon, dokularda proinflamatuar sitokin salınımı, ROS üretimi ve nötrofillerin migrasyonunu içeren moleküler ve hücresel bir süreci başlatmaktadır (52). SOD enziminin, ROS kaskadında yer alan süperoksit anyon radikallerini dönüştürerek serbest oksijen radikallerini temizlediği ve böylece hücreleri hasara karşı koruduğu bildirilmektedir (52). Klinik olarak İ/R hasarı; akut mezenterik iskemi, şok ve majör cerrahi girişimler sonrası sıkça görülmekte ve genellikle yüksek mortalite ile seyretmektedir (44). Bu nedenle, hasarın tamamen önlenmesi veya azaltılması; morbidite ve mortalitenin düşürülmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Literatürde, İ/R hasarını önlemek amacıyla deksmedetomidin, glukokortikoidler, RO, erdostein, lipoik asit, omega-3 ve glutamin gibi çeşitli moleküller kullanılmış olmasına rağmen, halen etkin bir tedavi yöntemi net olarak belirlenememiştir (6, 10, 44, 52, 53). Bu nedenle, İ/R hasarını önlemeye yönelik etkili

stratejilerin veya terapötik ajanların geliştirilmesi için yeni klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, literatürde sınırlı sayıda verisi bulunan *Rosmarinus officinalis*'in (RO) deksametazon ile birlikte kullanımının, İ/R hasarını önlemede sinerjistik bir etki gösterebileceği ve glukokortikoid dozunun azaltılarak yan etki potansiyelinin düşürülebileceği öngörülmüştür. Yapılan İngilizce literatür taramasında, RO ve deksametazonun İ/R hasarında kombine kullanımına yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Rosmarinus officinalis, *Lamiaceae* ailesinin bir üyesi olup, yaygın adıyla "biberiye" olarak bilinen bir bitkidir. Yıllardır gıda katkı maddesi, kozmetik ürünlerde ve ilaç olarak kullanılmaktadır. Literatürde; anti-adheziv, antiinflamatuvar, cilt yarası iyileştirici/cilt flebi canlılığını artırıcı, antimikrobiyal, antitrombotik, antioksidan, saç büyümesini destekleyici, ultraviyole (UV) koruyucu ve melanom karşıtı etkiler gibi çeşitli özellikleri olduğu bildirilmektedir (49, 54). RO'nun İ/R hasarında protektif etkisi olduğunu gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (37, 52). RO'nun, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) enzim inhibisyonu ile NO üretimini baskıladığı, lipid peroksidasyonu ve ROS üretimini azaltarak inflamasyonu suprese ettiği ve böylece İ/R hasarını önlediği bildirilmektedir. Ayrıca, karnosolün, İ/R hasarında lokal ve sistemik inflamasyon yanıtında majör rol oynayan nükleer faktör-κB (NF-κB)'yi inhibe ederek NO üretimini baskıladığı belirtilmektedir. Karnosolün, süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesini artırarak İ/R hasarına karşı koruyucu etki sağladığı da bildirilmiştir (37,52). Tian ve ark. (52) tarafından yapılan deneysel çalışmada, bir saatlik SMA iskemisini takiben 2., 4. ve 6. saatlerde reperfüzyon uygulanmış; RO'nun NF-κB ve IL-6 düzeylerinde azalma, SOD düzeylerinde ise artış sağlayarak İ/R hasarını önlediği ve akciğer histopatoloji skorlarında anlamlı iyileşme sağladığı bildirilmiştir. Çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak yalnızca RO içeriğinde bulunan karnosol bileşiği değil, bitkinin içeriğinde bulunan tüm biyoaktif maddelerin birlikte sinerjistik etki oluşturduğu dikkate alınarak RO ekstresi, bileşenlerine ayrıştırılmadan intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Çalışmamızda Tian ve ark. (52) tarafından yapılan çalışmadan farklı olarak biyokimyasal olarak oksidatif stres parametreleri ve iskemi belirteçleri kullanılmıştır. Çalışmamızda RO'in OSI, TOS, IMA ve MDA değerlerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltarak ve TAS değerlerini ise artırarak Tian ve ark. (52) tarafından yapılan çalışma sonuçları ile uyumlu olarak I/R hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu tespit

edildi. Ancak çalışmamızda RO ekstresi etken maddelerine ayrıştırılmadan kullanıldığından etki mekanizmasına yönelik bir sonuç ortaya konulamamıştır. Bu durum çalışmamızın sınırlılıkları arasında belirtilmiştir. Tian ve ark. (52) tarafından yapılan çalışmada ise karnasolün NF-κB inhibisyon mekanizması ile I/R hasarını önlediği rapor edilmiştir. Tian ve ark (52) tarafından yapılan çalışmada akciğer histopatoloji skorlarında anlamlı düzeyde iyileşme rapor edilmesine rağmen çalışmamızda karaciğer, böbrek ve terminal ileum histopatoloji skorları açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir. Çünkü çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak reperfüzyon süresi daha kısa olup histopatolojik olarak kontrol grubunda da doku düzeyinde hasar ortaya konulamamıştır.

Changizi ve ark. (37) tarafından yapılan deneysel çalışmada ise 30 dakikalık renal iskemi sonrası 24 saatlik reperfüzyon uygulanmıştır. Bu çalışmada oral RO uygulamasının kan BUN, kreatinin ve MDA düzeylerini azalttığı, total antioksidan kapasitenin göstergesi olan ferrik azaltıcı antioksidan güç (FRAP) değerlerinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar oral RO ekstresinin renal I/R hasarını önlemede etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda da bu çalışma sonuçları ile uyumlu ile uyumlu olarak intraperitoneal RO uygulamasının MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalttığı, TAS düzeylerini ise anlamlı düzeyde arttırarak I/R hasarını önlediği tespit edildi. Changizi ve ark. (37) tarafından yapılan çalışmada RO'in histopatolojik olarak renal hasarı önlediği rapor edilmekle birlikte çalışmamızda renal histopatolojik olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir. Bu farklılığın iskemi modelindeki ve reperfüzyon süresindeki farklılığa bağlı olabileceği düşünülmüştür. Seyedemadi ve ark. (20) tarafından yapılan deneysel çalışmada da serebral I/R hasarında RO'in koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada biyokimyasal olarak antioksidan kapasite ölçümü yapılmamış olup, histopatolojik değerlendirme ile protektif etkisinin olduğu ortaya konulmuştur. Literatürde RO'in I/R hasarı üzerine etkileri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olmakla birlikte I/R hasarını önlemede etkili olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda da literatürdeki çalışmalar ile uyumlu olarak intraperitoneal RO uygulamasının SMA I/R modelinde belirgin protektif etkisinin olduğu oksidatif stres parametreleri ve iskemi belirteçleri ile ortaya konulmuştur.

Metilprednizolon, hidrokortizon ve deksametazon gibi glukokortikoidler inflamatuvar sitokinlerin düzeylerini modüle ederek I/R hasarındaki stresi azaltmada

etkili olan ilaçlardır (53). Deksametazon alerjik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır ve I/R hasarında kalp, beyin ve böbrek üzerinde koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Etki mekanizması net olmamakla birlikte deksametazonun mast hücre ilişkili inflamasyonu baskılayarak I/R hasarını önlediği bildirilmektedir (16). Literatürde deksametazonun I/R hasarı üzerine etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (16, 53, 55, 56). Bu çalışmalarda genel olarak deksametazonun I/R hasarını önlemede etkili olduğu bildirilmektedir. Ancak preoperatif kortikosteroid uygulamasının karaciğer rejenerasyonunun inhibisyonu, gastrointestinal kanama ve enfeksiyon gibi bazı yan etkileri olduğu da bilinmektedir (53). Bu nedenle glukokortikoidlerin I/R hasarındaki protektif etkilerinden faydalanırken yan etkilerini azaltmak için birlikte kullanıldığında doz azaltılmasına katkı sağlayabilecek sinerjistik etki potansiyeli olan moleküllerin kullanılmasının klinik pratiğe katkı sağlayabileceği öngörülebilir. Bu çalışmamızda yan etki potansiyeli düşük sinerjistik etki gösterebilecek RO ekstresinin, deksametazon ile kombine kullanılması durumunda etkilerinin ortaya konulması planlanmıştır.

Zhang ve ark. (16) tarafından yapılan deneysel çalışmada 30 dakikalık SMA I/R modelinde deksametazon uygulamasının mast hücre triptaz 7 (MCP7) ve PAR2 ekspresyonunu, TNF alfa ve MPO düzeylerini azalttığı ve intestinal histopatoloji skorlarında iyileşme sağlayarak I/R hasarını önlediği rapor edilmiştir. Çalışmamızda da bu çalışma sonuçları ile uyumlu olarak sadece deksametazon uygulanan grupta kontrol grubuna göre hem iskemi belirteç değerlerinde anlamlı düzeyde azalma hem de oksidatif stres parametrelerinde anlamlı düzeyde iyileşme tespit edilerek I/R hasarında deksametazonun protektif etkisinin olduğu tespit edildi.

Huang ve ark. (53) tarafından yapılan prospektik randomize kontrollü çalışmada laparoskopik hepatektomi yapılan hastalarda 25 dakikalık iskemik interval uygulanmış ve deksametazon uygulanan hastalarda IL-6 düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma sonuçlarının deksametazon uygulamasının hepatik I/R hasarını azaltmada klinik olarak önemli olabileceği belirtilmiştir. Vieira ve ark. (55) tarafından yapılan deneysel çalışmada da SMA I/R hasarında deksametazon uygulamasının TNF-α ve kortikosteron düzeylerini azaltarak, IL-10 düzeyini arttırarak ince barsak ve akciğer I/R hasarını azalttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda da bu çalışmaların sonuçları ile uyumlu olarak tek başına deksametazon uygulamasının SMA I/R hasarını kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalttığı tespit edildi.

Kim ve ark. (56) tarafından yapılan deneysel çalışmada 60 dakikalık SMA iskemi sonrası 4 saatlik reperfüzyon uygulanmış IL-6, MDA ve iNOS düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu ve akciğer I/R hasarında protektif etkisi olduğu histopatolojik olarak da rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmada IL-10 düzeylerinde de azalma olduğu bildirilmiştir. Genel olarak glukokortikoidlerin IL-10'un güçlü bir stimülatörü olduğu belirtilmekle birlikte bu çalışmada tersine IL-10 düzeylerinde azalma olduğu rapor edilmiştir (55, 56). Bu durumun glukortikoidlerin IL-10 üzerindeki etkisinin belirsiz olmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir.

Tu ve ark. (57) tarafından yapılan deneysel çalışmada da 3 saatlik ekstremite I/R hasarı uygulanan sıçanlarda deksametazon uygulamasının proinflamatuvar sitokinlerden IL-1β ve TNF-α düzeylerinde anlamlı bir azalmaya yol açarak I/R hasarını önlediği bildirilmiştir. Bu çalışma sonuçları da çalışma sonuçlarımızı ile uyumlu olarak deksametazon uygulamasının I/R hasarını önlemede etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Literatürde RO ekstresinin I/R hasarı üzerine etkileri ile ilgili sınırlı çalışma olmasına rağmen deksametazonun etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır (16, 20, 37, 52, 53, 55, 56). Hem RO hem de deksametazonun etkilerini inceleyen çalışmalarda I/R hasarını önlemede çeşitli mekanizmalara bağlı olduğu bildirilmektedir (16, 37, 52, 53, 55). Çalışmamızda RO ve deksametazonun I/R hasarını önleme mekanizmalarına yönelik bir değerlendirme yapılmamıştır. Bu çalışmamızın sınırlılıklarından biri olmakla birlikte, bu çalışmayla I/R hasarının önlenmesine yönelik klinik pratikte kullanılabilecek etkin tedavi yöntemlerine katkı sağlanması amaçlanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda hem RO'nun hem de deksametazonun I/R hasarını önlemede etkili olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda da literatürdeki çalışmalar ile uyumlu olarak hem tek başına RO hem de tek başına deksametazon uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre oksidatif stres parametreleri ve iskemi belirteçlerinde anlamlı düzeyde iyileşme olduğu ve I/R hasarını önlediği ortaya konulmuştur. İngilizce literatür incelememizde RO ile deksametazonun birlikte kullanımının I/R hasarı üzerine etkileri ile ilgili çalışmaya rastlanılmadığından kombine kullanılan gruptaki sonuçlarımız ile ilgili karşılaştırma yapılamamıştır. Bu nedenle bu çalışmamızın literatürdeki ilk çalışma olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız da RO ile deksametazonun kombine kullanılması ile RO ve deksametazonun tek başına kullanılmasına göre hem oksidatif stres parametrelerinde

hem de iskemi belirteçlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde iyileşme sağlamasıdır. Bu sonuç I/R hasarının önlenmesinde RO + deksametazon birlikte kullanılmasının daha etkili olacağını göstermektedir. Ayrıca deksametazonun potansiyel ciddi yan etkileri dikkate alındığında deksametazon dozunun düşürülmesi ile yan etki riski azaltılarak daha etkin bir tedavi seçeneği oluşturabilir. Ayrıca ingilizce literatür incelememizde RO ile deksametazonun I/R hasarı üzerine etkilerini karşılaştıran bir çalışmaya da rastlanılmadı. Bu açıdan da karşılaştırma yapılması çalışmamızın özgün değerine katkı sağlamaktadır. Çalışmamızda RO ve deksametazon uygulanan gruplar karşılaştırıldığında deksametazon grubunda TOS ve IMA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla iyileşme sağladığı tespit edildi. Ancak OSI, TAS ve MDA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Çalışmamızın birincil sonlanım noktası OSI olduğundan, RO ve deksametazon grupları arasında OSI değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bu nedenle tek başına RO veya deksametazon uygulamasının I/R hasarını önlemedeki tedavi etkinliklerinin benzer olduğu ortaya konuldu.

Çalışmanın Sınırlılıkları:

1. Deneysel olması
2. Sıçan sayısının az olması
3. I/R süresinin kısa olması
4. Etki mekanizmalarının ortaya konulamaması.

6. SONUÇLAR

İskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı, yüksek mortaliteyle seyreden ciddi bir klinik tablodur. Bu hasarın önlenmesi ve tedavisinde çeşitli moleküller denenmiş olsa da, halen etkin ve standart bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Çalışmamızda, I/R hasarında etkinliği daha önceki çalışmalarla gösterilmiş olan deksametazon ile RO'nun ayrı ayrı ve kombine kullanımının etkileri araştırılmıştır. Bulgularımız, hem RO'nun hem de deksametazonun I/R hasarını önlemede etkili olduğunu; ancak bu etkinin kombine kullanımda daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Literatürdeki çalışmalarda deksametazonun I/R hasarını önlemede etkili olduğu birçok klinik ve deneysel çalışma ile ortaya konulmuştur. Ancak deksametazonun ciddi yan etki potansiyeli olduğu da bilinmektedir. Bu yan etki riskleri kullanımı ile ilgili sınırlamalara yol açabilir. Bu sonuç I/R hasarında etkili olduğu klinik ve deneysel çalışmalar ile ortaya konulan deksametazonun RO ile birlikte kullanılarak doz azaltılmasına katkı sağlayıp I/R hasarını önlemede kullanılabileceği ve yan etki potansiyelinin azaltılamasına katkı sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Zhang YN, Chang ZN, Liu ZM, Wen SH, Zhan YQ, Lai HJ, Zhang HF, Guo Y, Zhang XY. Dexmedetomidine Alleviates Gut-Vascular Barrier Damage and Distant Hepatic Injury Following Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. Anesth Analg. 2022 Feb 1;134(2):419-431. doi: 10.1213/ANE.0000000000005810. PMID: 34889823.

2. Bickel A, Khatib S, Kakiashvilli E, Palzur E. Reappraisal of ischemia-reperfusion injury in a short duration laparoscopic surgery, a pilot study. BMC Surg. 2021 Sep 20;21(1):346. doi: 10.1186/s12893-021-01339-4. PMID: 34544418; PMCID: PMC8451121.

3. Aydin, H., Kesici, S., Kesici, U. et al. Effects of different intra-abdominal pressure values on different organs: what should be the ideal pressure? Eur Surg 46, 203–208 (2014). https://doi.org/10.1007/s10353-014-0271-y.

4. Kartal S, Şen A, Tümkaya L, Erdivanlı B, Mercantepe T, Yılmaz A. The effect of dexmedetomidine on liver injury secondary to lower extremity ischemia-reperfusion in a diabetic rat model. Clin Exp Hypertens. 2021 Oct 3;43(7):677-682. doi: 10.1080/10641963.2021.1937204. Epub 2021 Jun 10. PMID: 34109906.

5. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. Asian Pac J Cancer Prev 2014; 15:4405-9.

6. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, Kurt RK, Ozcan O, Ozturk S, Tas ZA, Karateke F, Duru M. Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2014 Dec; 183:23-7. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.10.018. Epub 2014 Oct 24. PMID: 25461347.

7. Ozcan O, Erdal H, Yonden Z. İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stress ilişkisine biyokimyasal bakış. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi. 2015; 6(23): 27-33. Doi:10.17944/mkutfd.54113.

8. Hirsch J, Niemann CU, Hansen KC, Choi SJN, Su X, Frank JA, et al. Alterations in the proteome of pulmonary alveolar type II cells in the rat after hepatic ishchemia-reperfusion. Crit Care Med 2008; 36:1846–54.

9. Vega VL, Mardones L, Maldonado M, Nicovani S, Manriquez V, Roa J, et al. Xanthine oxidase released from reperfused hindlimbs mediate kupffer cell activation, neutrophil sequestration, and hepatic oxidative stress in rats subjected to tourniquet shock. Shock 2000; 14:565–71.

10. He GZ, Dong LG, Chen XF, Zhou KG, Shu H. Lymphduct ligation during ischemia/reperfusion prevents pulmonary dysfunction in a rat model with omega-3 polyunsaturated fatty acid and glutamine. Nutrition 2011; 27:604–14.

11. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. J Pathol 2000; 190:255–66.

12. Kip G, Çelik A, Bilge M, Alkan M, Ali Kiraz H, Özer A, Şıvgın V, Erdem Ö, Arslan M, Kavutçu M. Dexmedetomidine protects from post-myocardial ischaemia reperfusion lung damage in diabetic rats. Libyan J Med. 2015 Jan;10(1):27828. doi: 10.3402/ljm. v10.27828. PMID: 28349789.

13. Sun X, Kuang B, Dai Y, Xiong C, Li M, Luo Z. Quantitative evaluation of dexamethasone treatment effects in renal ischemia-reperfusion injury using contrast enhanced ultrasonography in rats. Clin Hemorheol Microcirc. 2020;76(1):99-110. doi: 10.3233/CH-200842. PMID: 32651308.

14. Xu B, Strom J, Chen QM. Dexamethasone induces transcriptional activation of Bcl-xL gene and inhibits cardiac injury by myocardial ischemia. Eur J Pharmacol. 2011;668(1-2):194-200. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.06.019.

15. Feng Y, Rhodes PG, Bhatt AJ. Dexamethasone pre-treatment protects brain against hypoxic-ischemic injury partially through up-regulation of vascular endothelial growth factor A in neonatal rats. Neuroscience. 2011; 179:223-32. doi: 10.1016/j.neuroscience. 2011.01.050.

16. Zhang W, Xing J, Liu D, Gan X, Gao W, Hei Z. Dexamethasone pretreatment alleviates intestinal ischemia–reperfusion injury. J Surg Res. 2013;185(2):851-60. doi: 10.1016/j.jss. 2013.07.049.

17. Zhou L, Yao X, Chen Y. Dexamethasone pretreatment attenuates lung and kidney injury in cholestatic rats induced by hepatic ischemia/reperfusion. Inflammation. 2012;35(1):289-96. doi:10.1007/s10753-011-9318-4.

18. Corrick RM, Tu H, Zhang D, Barksdale AN, Muelleman RL, Wadman MC, et al. Dexamethasone protects against tourniquet-induced acute ischemia-reperfusion injury in mouse hindlimb. Front Physiol. 2018;9: 244.doi:10.3389/fphys.2018.00244.

19. de Macedo LM, Santos ÉMD, Militão L, Tundisi LL, Ataide JA, Souto EB, Mazzola PG. Rosemary (Rosmarinus officinalis L., syn Salvia rosmarinus Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. Plants (Basel). 2020 May 21;9(5):651. doi: 10.3390/plants9050651. PMID: 32455585; PMCID: PMC7284349.

20. Seyedemadi P, Rahnema M, Bigdeli MR, Oryan S, Rafati H. The Neuroprotective Effect of Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Hydro-alcoholic Extract on Cerebral Ischemic Tolerance in Experimental Stroke. Iran J Pharm Res. 2016 Fall;15(4):875-883. PMID: 28243285; PMCID: PMC5316267.

21. al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (Rosmarinus officinalis Linn.) and its therapeutic potentials. Indian J Exp Biol. 1999 Feb;37(2):124-30. PMID: 10641130.

22. Mohamed ME, Younis NS, El-Beltagi HS, Mohafez OM. The Synergistic Hepatoprotective Activity of Rosemary Essential Oil and Curcumin: The Role of the MEK/ERK Pathway. Molecules. 2022 Dec 15;27(24):8910. doi: 10.3390/molecules27248910. PMID: 36558044; PMCID: PMC9781795.

23. Ergene S, Hemsinli D, Karakisi SO, Tumkaya L, Mercantepe T, Yılmaz A. Dexmedetomidine alleviates vacuolization and necrosis in tubular epithelial cells induced by aortic cross-clamping. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2023 Apr;27(8):3396-3405. doi: 10.26355/eurrev_202304_32110. PMID: 37140289.

24. Acar M, Sayhan Kaplan H, Erdem AF, Tomak Y, Turan G, Özdin M. Effects of dexmedetomidine on new oxidative stress markers on renal ischaemia-reperfusion injury in rats: thiol/disulphide homeostasis and the ischaemia-modified albumin. Arch Physiol Biochem. 2022 Aug;128(4):1115-1120. doi: 10.1080/13813455.2020.1754431. Epub 2020 May 13. PMID: 32401057.

25. Fraga CG, Oteiza PI, Galleano M. In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. Biochim Biophys Acta. 2014 Feb;1840(2):931-4. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.06.030. Epub 2013 Jul 2. PMID: 23830861.

26. Ugidos IF, González-Rodríguez P, Santos-Galdiano M, Font-Belmonte E, Anuncibay-Soto B, Pérez-Rodríguez D, Gonzalo-Orden JM, Fernández-López A. Neuroprotective effects of meloxicam on transient brain ischemia in rats: the two faces of anti-inflammatory treatments. Neural Regen Res. 2023 Sep;18(9):1961-1967. doi: 10.4103/1673-5374.367846. PMID: 36926720; PMCID: PMC10233777.

27. Pofi R, Caratti G, Ray DW, Tomlinson JW. Treating the Side Effects of Exogenous Glucocorticoids; Can We Separate the Good From the Bad? Endocr Rev. 2023 Nov 9;44(6):975-1011. doi: 10.1210/endrev/bnad016. PMID: 37253115.

28. Alam A, Ali M, Zainab, Latif A, Ur Rehman N, Jabbar Shah A, Amir Khan I, Ayaz M, Ur Rahman S, Al-Harrasi A, Ahmad M. Discovery of (S)-flurbiprofen-based novel azine derivatives as prostaglandin endoperoxide synthase-II inhibitors: Synthesis, in-vivo analgesic, anti-inflammatory activities, and their molecular docking. Bioorg Chem. 2023 Dec; 141:106847. doi: 10.1016/j.bioorg.2023.106847. Epub 2023 Sep 12. PMID: 37722268.

29. Jin B, Li G, Zhou L, Fan Z. Mechanism Involved in Acute Liver Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion. Front Pharmacol. 2022 May 23; 13:924695. doi: 10.3389/fphar.2022.924695. PMID: 35694264; PMCID: PMC9185410.

30. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept. Circ Res. 2015 Oct;116(9):1225–1235. PMID: 19797168.

31. Jin B, Li G, Zhou L, Fan Z. Mechanism Involved in Acute Liver Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion. Front Pharmacol. 2022 May 23;13:924695. doi: 10.3389/fphar.2022.924695. PMID: 35694264; PMCID: PMC9185410.

32. Motor S, Ozturk S, Ozcan O, Gurpinar AB, Can Y, Yuksel R, Yenin JZ, Seraslan G, Ozturk OH. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. Int J Clin Exp Med. 2014 Apr 15;7(4):1089-93. PMID: 24955187; PMCID: PMC4057866.

33. Klisic A, Kavaric N, Vujcic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Kotur-Stevuljevic J, Ninic A. Total oxidant status and oxidative stress index as indicators of increased Reynolds risk score in postmenopausal women. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020 Oct;24(19):10126-10133. doi: 10.26355/eurrev_202010_23232. PMID: 33090420.

34. Shevtsova A, Gordiienko I, Tkachenko V, Ushakova G. Ischemia-Modified Albumin: Origins and Clinical Implications. Dis Markers. 2021 Jul 19; 2021:9945424. doi: 10.1155/2021/9945424. PMID: 34336009; PMCID: PMC8315882.

35. Kumar S, Allen DA, Kieswich JE, Patel NS, Harwood S, Mazzon E, Cuzzocrea S, Raftery MJ, Thiemermann C, Yaqoob MM. Dexamethasone ameliorates renal ischemia-reperfusion injury. J Am Soc Nephrol. 2009 Nov;20(11):2412-25. doi: 10.1681/ASN.2008080868. Epub 2009 Sep 24. PMID: 19797168; PMCID: PMC2799171.

36. de Oliveira JR, Camargo SEA, de Oliveira LD. Rosmarinus officinalis L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. J Biomed Sci. 2019 Jan 9;26(1):5. doi: 10.1186/s12929-019-0499-8. PMID: 30621719; PMCID: PMC6325740.

37. Changizi Ashtiyani S, Zohrabi M, Hassanpoor A, Hosseini N, Hajihashemi S. Oral administration of the aqueous extract of Rosmarinus officinalis in rats before renal reperfusion injury. Iran J Kidney Dis. 2013 Sep;7(5):367-75. PMID: 24072149.

38. Rocha J, Eduardo-Figueira M, Barateiro A, Fernandes A, Brites D, Bronze R, Duarte CM, Serra AT, Pinto R, Freitas M, Fernandes E, Silva-Lima B, Mota-Filipe H, Sepodes B. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of Rosmarinus officinalis in rat models of local and systemic inflammation. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2015 May;116(5):398-413. doi: 10.1111/bcpt.12335. Epub 2014 Nov 6. PMID: 25287116.

39. De Bosscher K, Schmitz ML, Vanden Berghe W, Plaisance S, Fiers W, Haegeman G. Glucocorticoid-mediated repression of nuclear factor-kappaB-dependent transcription involves direct interference with transactivation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Dec 9;94(25):13504-9. doi: 10.1073/pnas.94.25.13504. PMID: 9391055; PMCID: PMC28335.

40. Velang, V. M., Beneck, D. M., Shrlvastava, B. D., Clark, D. A., & Dweck, H. S. (1987). Protection against intestinal reperfusion injury by dexamethasone (DM). Pediatric Research, 21(Suppl 4), 279. https://doi.org/10.1203/00006450-198704010-00671.

41. Filep JG. Glucocorticoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury: central role for the PGD2-Nrf2 pathway. Hypertension. 2014 Jan;63(1):22-3. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01832. Epub 2013 Oct 7. PMID: 24101660.

42. Cuevas-Durán RE, Medrano-Rodríguez JC, Sánchez-Aguilar M, Soria-Castro E, Rubio-Ruíz ME, Del Valle-Mondragón L, Sánchez-Mendoza A, Torres-Narvaéz JC, Pastelín-Hernández G, Ibarra-Lara L. Extracts of Crataegus oxyacantha and Rosmarinus officinalis Attenuate Ischemic Myocardial Damage by Decreasing Oxidative Stress and Regulating the Production of Cardiac Vasoactive Agents. Int J Mol Sci. 2017 Nov 14;18(11):2412. doi: 10.3390/ijms18112412. PMID: 29135932; PMCID: PMC5713380.

43. Lv S, Zhao X, Ma C, Zhao D, Sun T, Fu W, Wei Y, Li W. Advancements in the study of acute lung injury resulting from intestinal ischemia/reperfusion. Front Med (Lausanne). 2024 Jun 12;11:1399744. doi: 10.3389/fmed.2024.1399744. PMID: 38933104; PMCID: PMC11199783.

44. Ibrahim TH, Sevgi K, Sibel O, Surhan CA, Kaan K, Kubra B, Gulcin K, Metin GE, Betul SDN, Ugur K. The Effect of Dexmedetomidine and Levobupivacaine in an Experimental Ischemia Reperfusion Model. In Vivo. 2024 Nov-Dec;38(6):2696-2704. doi: 10.21873/invivo.13747. PMID: 39477431; PMCID: PMC11535938.

45. Cakir A, Bozali K, Celikten M, Guler EM, Sahan E, Durdu B, Sumbul B, Kocyigit A. Examination of antimicrobial effect of fluoxetine in experimental sepsis model: An in vivo study. J Biochem Mol Toxicol. 2023 Jan;37(1):e23240. doi: 10.1002/jbt.23240. Epub 2022 Oct 10. PMID: 36214215.

46. Eckhoff DE, Bilbao G, Frenette L, Thompson JA, Contreras JL. 17-Beta-estradiol protects the liver against warm ischemia/reperfusion injury and is associated with increased serum nitric oxide and decreased tumor necrosis factor-alpha. Surgery. 2002 Aug;132(2):302-9. doi: 10.1067/msy.2002.125718. PMID: 12219027.

47. Kesici U, Kesici S, Polat E, Agca B, Turkmen UA, Ozcan D, Sari MK. Effects of intra-abdominal pressure increase on intestinal ischemia and bacterial translocation in experimental sepsis model. Saudi Med J. 2011 Aug;32(8):813-7. PMID: 21858390.

48. Tan X, Yu L, Yang R, Tao Q, Xiang L, Xiao J, Zhang JS. Fibroblast Growth Factor 10 Attenuates Renal Damage by Regulating Endoplasmic Reticulum Stress After Ischemia-Reperfusion Injury. Front Pharmacol. 2020 Feb 7; 11:39. doi: 10.3389/fphar.2020.00039. PMID: 32116715; PMCID: PMC7019113.

49. Karatepe YK, Kesici U, Duman MG, Genç MS, Bozali K, Guler EM, Sade AG, Oba S. Effects of Rosmarinus officinalis extract on wound healing, colon anastomosis, and postoperative adhesion in colon anastomosis rats. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2025 Jan;31(1):1-8. English. doi: 10.14744/tjtes.2024.44676. PMID: 39775509.

50. Çakırköse Ö, Kesici U, Kesici S, Sipahi M, Tokgöz VY, Güvendi GF, Avcı E, Şen TM, Kara H, Tosun A, Küçükarslan MN. The utilization of c-type natriuretic peptide levels on experimental muscle and kidney ischemia/reperfusion model. Malawi Med J. 2024 Oct 16;36(3):220-226. doi: 10.4314/mmj. v36i3.8. PMID: 40018399; PMCID: PMC11862850.

51. Li L, Jin L, Tian Y, Wang J. Semaglutide enhances PINK1/Parkin-dependent mitophagy in hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury. Mol Med Rep. 2025 May;31(5):111. doi: 10.3892/mmr.2025.13476. Epub 2025 Feb 28. PMID: 40017118; PMCID: PMC11884227.

52. Tian XF, Yao JH, Zhang XS, Zheng SS, Guo XH, Wang LM, Wang ZZ, Liu KX. Protective effect of carnosol on lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion. Surg Today. 2010 Sep;40(9):858-65. doi: 10.1007/s00595-009-4170-y. Epub 2010 Aug 26. PMID: 20740350.

53. Huang Y, Xu L, Wang N, Pu X, Wang W, Wen T, Xu M, Jiang L. Preoperative dexamethasone administration in hepatectomy of 25-min intermittent Pringle's maneuver for hepatocellular carcinoma: protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2023 Nov 30;24(1):774. doi: 10.1186/s13063-023-07820-0. PMID: 38037035; PMCID: PMC10691107.

54. Kesıcı, U., Demirci, M., Duman, M. G., Karatepe, Y. K., et al. (2023). Antimicrobial effects of Rosmarinus Officinalis; in-vitro study. Journal of Cukurova Anesthesia and Surgical Sciences, 6(3), 463-466. https://doi.org/10.36516/jocass.1356913.

55. Vieira AT, Pinho V, Lepsch LB, Scavone C, Ribeiro IM, Tomassini T, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MB, Teixeira MM, Souza DG. Mechanisms of the anti-inflammatory effects of the natural secosteroids physalins in a model of intestinal ischaemia and reperfusion injury. Br J Pharmacol. 2005 Sep;146(2):244-51. doi: 10.1038/sj.bjp.0706321. PMID: 16025143; PMCID: PMC1576270.

56. Kim K, Jo YH, Rhee JE, Kim TY, Lee JH, Lee JH, Kwon WY, Suh GJ, Lee CC, Singer AJ. Effect of speed of rewarming and administration of anti-inflammatory or anti-oxidant agents on acute lung injury in an intestinal ischemia model treated with therapeutic hypothermia. Resuscitation. 2010 Jan;81(1):100-5. doi: 10.1016/j.resuscitation.2009.09.020. Epub 2009 Nov 13. PMID: 19913985.

57. Tu H, Zhang D, Wadman MC, Li YL. Dexamethasone ameliorates recovery process of neuromuscular junctions after tourniquet-induced ischemia-reperfusion injuries in mouse hindlimb. Eur J Pharmacol. 2020 Sep 15; 883:173364. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173364. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32717191.