

Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Hasarında Krosinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Investigation of Protective Effects of Crocin in Experimentally Generated Lower Extremity Ischemia–Reperfusion Injury in Rats

Semin GEDİKLİ 
Ali Can ÖZCAN 

Atatürk Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye



ÖZ

Yapmış olduğumuz çalışmada iskemi reperfüzyon ile indüklenen iskelet kası hasarı üzerine krosinin olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada kullanılan 250–300 g ağırlığında, 24 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat Kontrol, İskemi-reperfüzyon, Krosin ve Krosin+İskemi-reperfüzyon grubu olarak 4'e ayrıldı. Kontrol grubundaki ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı. İskemi-reperfüzyon grubundaki ratların sol alt ekstremitelerine anestezi altında 2 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon uygulaması gerçekleştirildi. Krosin grubundaki ratlara 60 mg/kg dozunda krosin serum fizyolojik içerisinde çözülerek gavaj yoluyla verildi. Krosin+İskemi-reperfüzyon grubundaki sıçanlara iskemi reperfüzyondan yarım saat önce 60 mg/kg dozunda krosin verilerek, yarım saat sonra anestezi altında sol alt ekstremitelerine iskemi reperfüzyon işlemi uygulandı. Deney sonunda anestezi altında sakrifiye edilen ratlardan alt ekstremitte kası (m. gastrocnemius) alınarak %10'luk formaldehitte tespit edildi, ardından rutin histolojik işlemlerden geçirilerek elde edilen kesitler Crosman Modifiye üçlü boya metodu ile boyanarak incelendi. Yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda iskemi reperfüzyon grubuna ait kaslarda yoğun dejenerasyon ve ödem olduğu tespit edildi. Krosin+İskemi-reperfüzyon grubuna ait kasların histopatolojik incelemesinde ise kaslarda ciddi oranda iyileşme olduğu belirlendi. Tüm bu bulgular ışığında krosin uygulamasının, iskemi reperfüzyon kaynaklı kas hasarında faydalı etkiler gösterdiği belirlenmiş oldu.

Anahtar Kelimeler: Krosin, iskemi, reperfüzyon, iskelet kası.

ABSTRACT

In our study, we aimed to investigate the possible protective effects of crocin on ischemia-reperfusion-induced skeletal muscle damage. Twenty-four male Sprague Dawley rats weighing 250–300 g used in the study were divided into four groups as follows: control, ischemia-reperfusion, crocin, and crocin+ischemia-reperfusion groups. No procedure was administered to the rats in the control group. Under anesthesia, 2 hours of ischemia and 2 hours of reperfusion were applied to the left lower extremities of the rats in the ischemia-reperfusion group. The rats in the crocin group were administered 60 mg/kg of crocin. The rats in the crocin+ischemia-reperfusion group were given 60 mg/kg crocin half an hour before ischemia-reperfusion and half an hour later; ischemia-reperfusion was administered to their left-lower extremities under anesthesia. After the experimental applications, the rats were sacrificed under anesthesia after which the left-lower extremity muscles were extracted. At the end of the experiment, the lower extremity muscle (m. gastrocnemius) was taken from the rats sacrificed under anesthesia and fixed in 10% formaldehyde, and then the sections obtained after routine histological procedures were stained with the Crosman modified triple stain method. As a consequence of the histopathological examinations, severe degeneration and edema were observed in the muscles of the ischemia-reperfusion group. In the histopathological examination of the muscles belonging to the crocin+ischemia-reperfusion group, it was observed that there was a significant improvement in the muscles. In the light of all these findings, it was determined that crocin administration had beneficial effects on ischemia-reperfusion-induced muscle damage.

Keywords: Crocin, ischemia, reperfusion, skeletal muscle

Geliş Tarihi/Received: 12.08.2022

Kabul Tarihi/Accepted: 03.01.2023

Yayın Tarihi/Publication Date: 24.02.2023

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

Semin GEDİKLİ

E-mail: semin.gedikli@atauni.edu.tr

Cite this article as: Gedikli, S., Özcan, A.C. (2023). Investigation of protective effects of crocin in experimentally generated lower extremity Ischemia–Reperfusion injury in rats. *Journal of Laboratory Animal Science and Practices*, 3(1), 12–16.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

Giriş

İskemi hücre hasarına hatta ileri düzey maruziyet sonucu hücre ölümüne neden olan, vasküler sistemin disfonksiyonu sonucu dokuların oksijen ve diğer monomentler yönünden yetersiz beslenmesi durumudur. Reperfüzyon ise iskemiyi sonucunda hasar görmüş olan hücre veya dokuların, kendilerini tekrar normal fizyolojiye döndürebilmesi için oksijen ve diğer moleküllerin hücre içinde yeterli düzeylere ulaşmasını ve dolayısıyla vasküler sistemin de regülasyonunu amaçlayan bir dizi olaylar bütünüdür. İskemi reperfüzyon hasarı ise tüm bu tekrar oksijenlenme ve reperfüzyonun yeniden sağlanmaya çalışılması süreci boyunca önemli düzeyde oksidatif strese, morbiditeye ve mortaliteye sebep olabilen ve bunun sonucunda ciddi organ hasarları ile karşılaşılabilen bir tablodur (Akkoç, 2008; Özkan ve ark., 2010).

Hücrede meydana gelen fonksiyon bozukluğu, hücre hasarı ve hücrenin iskemiyi sonucu ölümü sadece iskeminin şiddetine bağlı değildir. Bununla beraber iskeminin süreci gibi faktörlere de bağlıdır. Dolayısıyla fizyolojinin eski haline getirilmesi için dolaşımın düzeltilmesi mümkün olan en kısa sürede sağlanmalıdır. İskemi sonucu her organ aynı düzeyde hasar almayıp farklı düzeylerde duyarlılık gösterebilmektedir (Kalogeris ve ark., 2012). İskeminin çok az düzeyde geliştiği durumlarda bile reperfüzyon süresince hücre stresinin yine de oluşacağı bildirilmektedir. İskemi reperfüzyon hasarı hem lokal hem de sistemik etkilere sahip olup çeşitli mekanizmalar ile bu etkilerini göstermektedir. Etkisini esas olarak hücre enerjisinin tükenmesi ile gerçekleştiren bu hasarın reperfüzyon süresince apoptoz, inflamasyon gibi hücrenel stres sonucu meydana gelen çeşitli senaryolar ile sonuçlandığı bilinmektedir (Soares ve ark., 2019).

Hücrenel olarak iskemiyi incelendiğinde adenosin 5'-trifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi hücrenin temel enerji kaynaklarının iskemiyi süresince sentezlenemediği bildirilmiştir. Dolayısıyla hücre membranında var olan ATP'ye bağımlı çeşitli iyonik pompaların disfonksiyonu gelişmekte ve hücre içi iyon dengesi bozulmaktadır. Kalsiyum ve sodyumun yanında suyun hücre içine girişi daha kontrolsüz gerçekleşmektedir. Tüm bunlara ek olarak adenin nükleotidlerinin katabolizması sonucu hipoksantin hücre içinde yoğunluğu artmakta ve iskemiyi sonrasında tekrar oksijenlenmesi sağlanan hücrede moleküler düzeyde bulunan oksijen, reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüştürülmektedir (Collard & Gelman, 2001).

Günlük konuşma dilinde safran olarak adlandırılan, üretiminin ve tüketiminin en fazla İran olduğu bilinen *Crocus Sativus* (safran), beşeri hekimlikte de önemli yer edinmiş bir bitkidir (Lari ve ark., 2015). Dünyadaki en pahalı şifalı bitkilerden olan safran kırmızı altın olarak da bilinmektedir (Cardone ve ark., 2020). Kendine has bir renge ve kokuya sahip olan safran, sağlık alanı dışında gıda ve kozmetik alanında renklendirici ve aroma verici olarak kullanılmaktadır (Xing ve ark., 2021). Safran, beşeri hekimlikte ağrı kesici, antidepresan, sedatif, solunum dekonjestanı, antikatarral, balgam söktürücü, antispazmodik, gaz giderici, terletici, gingival sedatif, afrodisyak ve emmenagog özellikleriyle kullanılmaktadır (Hossein-zadeh ve ark., 2008). Tüm bu özelliklere ek olarak safran ekstraktlarının tümör oluşumunun başlangıç evresinde kanseri önleyici bir özelliğinin olduğu da bilinmektedir (Lambrianidou ve ark., 2020). Krosin ise safranın krosetinin glikozil esterlerinden elde edilen bir karotenoididir. Özellikle nöronlar üzerindeki koruyucu etkileri incelenmekle birlikte krosinin anti-tümör, anti-oksidan,

anti-aterojenik, anti-diyabetik ve anti-trombosit etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Tüm bu etkilerine ilaveten anti-inflamatuar ve anti-nosiseptif etkileri sayesinde fare ve sıçanlarda kronik ve akut ağrıyı hafiflettiği de tespit edilmiştir (Karami ve ark., 2013). Ayrıca krosinin hafızayı geliştirici, hipolipemik, hepatoprotektif ve anti-apoptotik etkilerinin de olduğu belirtilmiştir (Lari ve ark., 2015). Bu çalışmada, sıçanların alt ekstremitelerinde oluşturulan iskemiyi-reperfüzyon sonrası meydana gelen kas hasarını önlemede krosinin koruyucu etkinliğinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Yöntem

Kullanılan Deney Hayvanları ve Deney Prosedürü

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ortalama ağırlıkları 250–300 g olan, 24 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar çalışma boyunca metal kafeslerde, 22–24°C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık bir ortamda su ve yemleri ad libitum verilerek beslendi. Çalışmamız, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın 29.07.2022/153 sayılı karar ile onaylandı. Çalışmada kullanılan ratlar, her birinde 6'şar hayvan olacak şekilde rastgele olarak Kontrol, İskemi-reperfüzyon, Krosin ve Krosin+iskemi-reperfüzyon grubu olarak 4 gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki ratlarda anestezi işlemi, intraperitoneal olarak 60 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 8 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) uygulaması ile gerçekleştirildi, gerektiğinde dozlar tekrarlandı. Kontrol grubundaki ratlara anestezi uygulamasının dışında herhangi bir işlem uygulanmadı. İskemi-reperfüzyon grubundaki ratların sol alt ekstremitelerine anestezi altında turnike uygulanıp 2 saat iskemiyi, 2 saat reperfüzyon uygulaması gerçekleştirildi (Apaydin & Batil, 2019). Krosin grubundaki ratlara 60 mg/kg dozunda krosin serum fizyolojik içerisinde çözülerek gavaj yoluyla verildi, ardından ratlar anesteziye alındı (Khorasani ve ark., 2021). Krosin+iskemi-reperfüzyon grubundaki sıçanlara iskemiyi reperfüzyondan yarım saat önce 60 mg/kg dozunda krosin serum fizyolojik içerisinde çözülerek gavaj yoluyla verildi. Yarım saat sonra anestezi altında sol alt ekstremitelerine turnike uygulanıp 2 saat iskemiyi, 2 saat reperfüzyon işlemi uygulandı. Deneysel uygulamaların sonunda ratlar anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Ardından tüm sıçanların alt ekstremitelerine kasları histopatolojik incelemeler için hemen %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde alındı.

Histopatolojik Analizler

Alınan iskelet kası dokuları histopatolojik değerlendirmeler için 48 saatlik süreyle %10'luk formaldehit çözeltisi içinde tespit işlemine tabi tutuldu. Ardından akan su altında yıkamaya alınan dokular, dereceli alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan, Leica RM2125RT mikrotomu (Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Histopatolojik incelemeler için hazırlanan preparatlar üçlü boyama (Crosman'ın Modifiye Ettiği Mallory'nin Üçlü Boyaması) yöntemi ile boyanıp kamera ataçmanlı ışık mikroskobu ile incelendi (Nikon Eclipse i50, Tokyo, Japonya) ve fotoğrafları çekildi.

Çizgili kas dokusunun değerlendirilmesinde, kas liflerinde disorganizasyon, dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve ödem varsa yarı kantitatif olarak 0–3 arasında

skorlama yapıldı. Sonuçlar 0: Normal, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli olarak değerlendirildi (Erkanlı ve ark., 2005).

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS versiyon 20.0 (IBM Statistical Package for Social Sciences Corp., Armonk, NY, ABD) programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılım (parametrik) gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile analiz edildi. Patolojik skorlamalar normal dağılım göstermediği için Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. " $p < ,05$ " olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi.

Bulgular

Kontrol grubuna ait iskelet kası kesitlerinin histopatolojik incelemesinde kas liflerinin birbirine paralel düzenli bir dizilime sahip olduğu, periferde yerleşmiş nükleuslarında yapısal herhangi bir değişikliğin olmadığı normal bir iskelet kası görüntüsü gözlemlendi (Şekil 1A). İskemi-reperfüzyon grubuna ait kas dokularının histopatolojik incelemesinde kontrol grubuna kıyasla kas liflerinin yapısında oldukça yoğun disorganizasyon ve dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve ödem varlığı göze çarpmaktaydı ($p < ,05$) (Şekil 1B). Krosin grubuna ait kesitlerde kontrol grubuna benzer bir histolojik yapı olduğu görüldü (Şekil 1C). Krosin+İskemi-reperfüzyon grubuna ait kesitlerde ise kas dokusunda daha az dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon olduğu ve ödemli alanlarda belirgin bir azalmanın olduğu tespit edildi (Şekil 1D). Tüm gruplara ait histopatolojik skorlama sonuçları ayrıca Tablo 1'de verilmiştir.

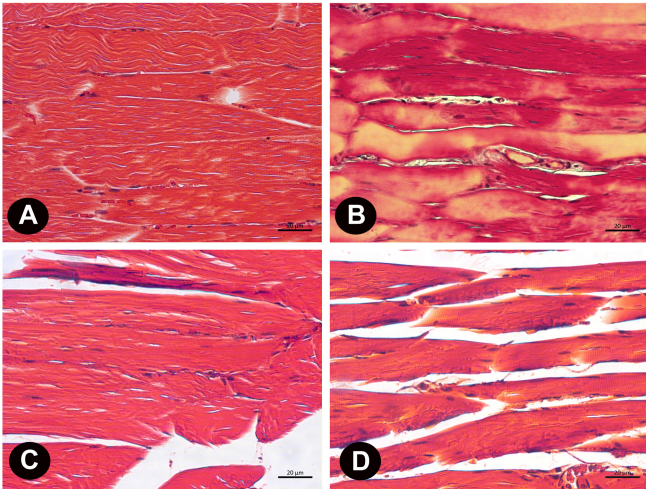
Tartışma

İskelet kaslarında iskelem reperfüzyon hasarı insanlarda sıklıkla görülen bir durumdur (Barnig ve ark., 2022). Yüksek düzeyde metabolik aktiviteye sahip olan iskelet kasları, iskelem reperfüzyon hasarına karşı oldukça hassastır (Kuroda ve ark., 2020). İskemi reperfüzyon hasarının kas yıkımına ek olarak, enflamasyon ve oksidatif strese bağlı sistemik etkileri de tetiklediği bilinmektedir. Lokal olarak etkisini gösterse dahi bu sistemik etkisinden dolayı

iskelem reperfüzyon hasarının, çoklu organ yetmezliğine neden olduğu hatta ciddi vakalarda ölüme bile sonuçlandığı bilinmektedir (Barnig ve ark., 2022). İskemiye maruz kalan organlar iskelem sonrası kendini iyileştirme sürecine almaktadır. Bu reperfüzyon durumu her ne kadar dokunun iyileşme sürecinin esası olarak gözükse de enflamasyonu şiddetlendiren ve doku hasarının başlıca sebebi olan bir durum haline de gelmektedir (Kuroda ve ark., 2020). Kas hücreleri mitokondriyal elektron taşıma zinciri ve sarkolemmal Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) oksidaz kompleksi gibi reaktif oksijen türlerini oluşturan çeşitli durumlarda enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları kullanarak reaktif oksijen miktarını devamlı olarak düzenlemektedirler (Nassar ve ark., 2020). İskemi reperfüzyon durumunda anormal düzeyde artan reaktif oksijen üretimi, kalsiyumun önemli düzeyde artmasına, ani pH değişikliğine ve enflamasyonu oluşturmaya görevli sitokinlerin salınımına neden olmaktadır. Tüm bu ani değişimler oksidatif strese neden olmakta, protein ve DNA yapısını bozmakta ve membran lipidlerine zarar vermektedir (Kuroda ve ark., 2020). Biz de yapmış olduğumuz bu çalışma ile sıçanlarda iskelem reperfüzyon hasarının iskelet kası üzerinde meydana getireceği olası histopatolojik hasarlar üzerine, safranin bir karotenoidi olan krosinin iyileştirici etkilerini belirlemeyi hedefledik.

Geçmişte yapılan çalışmalar göz önüne alındığında iskelem reperfüzyon hasarının çok yönlü bir patofizyolojiye sahip olduğu bilinmektedir. Histopatolojik incelemeler sonucunda iskelem reperfüzyon hasarının, çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu, serbest radikal üretimi ve bazı toksik metabolitlerin ortaya çıkmasını tetiklemek suretiyle hücresel düzeyde hasarın meydana gelmesine neden olduğu belirlenmiştir. İskemi reperfüzyon hasarını inceleyen çoğu çalışmada, krosinin tedavi edici etkisinin merkezi sinir sistemi ve kalp üzerindeki etkilerine dikkat çekilmiş diğer organlarda krosinin koruyucu ve tedavi edici etkisi daha arka planda bırakılmıştır (Akbari ve ark., 2018). Sıçan iskemik inme modeli uygulanan bir çalışmada, krosinin farklı dozlarının beyin hasarına olan etkileri incelenmiş ve krosinin en etkili dozunun 60 mg/kg olduğu yüksek dozlarının ise daha koruyucu bir etki göstermediği belirlenmiştir. Enteresan bir biçimde 60 mg/kg krosin dozunun 120 mg/kg krosin dozu ile aynı etkiyi yaptığı da tespit edilmiştir. Ayrıca krosinin kan beyin bariyeri üzerine de koruyucu etkilerinin olabileceği belirtilmiştir. Belirli bir dozun yukarısında krosinin nörolojik olarak önemli ölçüde iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir (Vakili ve ark., 2014).

Krosinin karaciğer üzerine koruyucu etkilerini inceleyen bir çalışmada, histopatolojik bulgulara ve kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) sonuçlarına dayanılarak krosin ile ön tedavi yapılan sıçanlarda iskelem reperfüzyon hasarının zararlı etkilerinin tamamen olmasa da önemli ölçüde önlenildiği gösterilmiş, buna ek olarak krosin+iskelem reperfüzyon kombine grubunun qRT-PCR sonuçlarında MicroRNAs-122'nin serum seviyesinin ciddi düzeyde azaldığı fakat bu serum seviyesinin kontrol grubundan yine de daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir (Akbari ve ark., 2017). İskemi reperfüzyon hasarının tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interselüler adhezyon molekül-1 (ICAM-1) mRNA ekspresyonunu ve lenfosit infiltrasyonunu önemli düzeyde artırdığı bilinmektedir. Böbrekler üzerine krosinin etkileri incelendiğinde, krosinin antioksidan ve koruyucu etkilerinin yanı sıra lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisinin de olduğu gösterilmiştir (Yarjani ve ark., 2017). Ayrıca tek doz uygulanan krosinin sıçan mide mukozasında iskelem reperfüzyon hasarı sonrasında meydana gelen hasarlar üzerine koruyucu etkisinin olduğu, gastrik mukozal lezyonların krosin gruplarında doza bağımlı olarak önemli ölçüde azaldığı



Şekil 1. Kontrol (A), İskemi-Reperfüzyon (B), Krosin (C) ve Krosin+İskemi-Reperfüzyon (D) Gruplarına Ait İskelet Kası Dokularının Işık Mikroskopik Görüntüsü. İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait İskelet Kası Kesitlerinde Kas Liflerinde Yoğun Bir Dejenerasyon ve Ödem Görülmektedir (B). Boya: Crossman'ın Üçlü Boyaması. X200.

Tablo 1.

Gruplar Arasındaki Histopatolojik Skorlama Sonuçları.

Gruplar	Kas Dejenerasyonu (X ± SE)	İnflamatuar Hücre (X ± SE)	Vasküler Konjesyon (X ± SE)	Ödem (X ± SE)
Kontrol	0,20 ± 1,33 ^a	0,40 ± 0,16 ^a	0,50 ± 0,17 ^a	0,60 ± 0,16 ^a
İskemi-reperfüzyon	2,70 ± 0,15 ^b	2,00 ± 0,15 ^b	2,10 ± 0,23 ^b	2,30 ± 0,21 ^b
Krosin	0,40 ± 0,16 ^a	0,50 ± 0,17 ^a	0,60 ± 0,16 ^a	0,70 ± 0,15 ^a
Krosin+İskemi-reperfüzyon	1,30 ± 0,15 ^c	1,60 ± 0,16 ^b	1,40 ± 0,16 ^c	1,70 ± 0,15 ^c

Aynı sütunda farklı harflendirilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p < ,05$).

gösterilmiştir. Krosin ile yapılan ön tedavide superoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazın mRNA ekspresyonlarını yukarı yönde düzenlediği gösterilmiş ve krosinin bahsedilen tüm bu etkilerine gastroprotektif etkisi de eklenmiştir (Mard ve ark., 2016).

İskemi reperfüzyon hasarının ovaryumlar üzerinde ödem, kanama, damar tıkanıklığı ve foliküler dejenerasyon etkilerinin olduğu bilinmektedir. İskemi reperfüzyon hasarından 72 saat sonra bile uygulanan krosinin bu dejenerasyonları önemli düzeyde azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca histopatolojik bulgular ile de krosinin ovaryum üzerinde var olan koruyucu etkisi desteklenmiştir (Mohammadpour & Farjah, 2020).

Yaptığımız çalışmaya ait iskelet kası kesitlerinin histopatolojik incelemesinde iskelem reperfüzyon uygulanan grupta kas liflerinin yapısında disorganizasyon, dejenerasyon, inflammatuar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve yoğun bir ödem durumu olduğunu gözlemledik. Krosin+İskemi-reperfüzyon grubuna ait kesitlerde ise kas dokusundaki dejenerasyon, inflammatuar hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyonda belirgin bir azalmanın olduğunu tespit ettik. Bilgiç ve ark. yapmış oldukları çalışmada iskelem reperfüzyon uygulaması sonucunda kas lifleri arasında bağ dokusu hücresi ve nötrofil sayısında artış olduğunu, kas genişliği boyunca belirgin bir ödemin ve eritrosit ekstravazasyonunun geliştiğini belirlemişlerdir (Bilgiç ve ark., 2018). Ayrıca iskelem reperfüzyon hasarı sonrasında kaslarda bulunan sinirlerin iletkenliğinin azaldığı fakat krosin gruplarında bu iletkenliğin korunduğu da gösterilmiştir (Hosseinzadeh ve ark., 2009).

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak yukarıda iskelem reperfüzyon hasarı üzerinde etkilerinin yalnızca küçük bir kısmına değindiğimiz krosinin çeşitli organ ve dokular üzerindeki etkileri vurgulanmaya çalışılmıştır. Tüm bu çalışmalar ışığında krosinin koruyucu ve tedavi edici özelliği kanıtlanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada iskelem reperfüzyon hasarı, sıçanlarda alt ekstremitede oluşturulmuş ve krosinin kanıtlanan bu koruyucu ve tedavi edici özelliğinin kaslar üzerine olan etkileri histopatolojik olarak incelenmiştir. Yapılan çeşitli literatür araştırmalarına paralel olarak bu çalışmada krosinin, iskelem reperfüzyon hasarı sonrası meydana gelen kas liflerindeki enflamasyonu ve dejenerasyonu azalttığı, ayrıca ödemli alanları tamamen olmasa da önemli ölçüde iyileştirdiği tespit edilmiştir. Konu ile ilgili yapılacak ileri düzey çalışmalar ile iskelem reperfüzyon kaynaklı iskelet kası hasarını azaltmada ya da engellemede krosinin alternatif bir tedavi yöntemi olarak yerini alabileceği ve konuyla ilgili farklı çalışmalara katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Atatürk Üniversitesi'nden (Tarih: 29 Temmuz 2022, Sayı: 153) alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir – S.G.; Tasarım – S.G., A.C.Ö.; Denetleme – S.G.; Kaynaklar – S.G.; Malzemeler – S.G., A.C.Ö.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi – S.G., A.C.Ö.; Analiz ve/veya Yorum – S.G.; Literatür Taraması – S.G., A.C.Ö.; Yazıyı Yazan – S.G., A.C.Ö.; Eleştirel İnceleme – S.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Atatürk University (Date: July 29, 2022, Number: 153).

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept – S.G.; Design – S.G., A.C.Ö.; Supervision – S.G.; Resources – S.G.; Materials – S.G., A.C.Ö.; Data Collection and/or Processing – S.G., A.C.Ö.; Analysis and/or Interpretation – S.G.; Literature Search – S.G., A.C.Ö.; Writing Manuscript – S.G., A.C.Ö.; Critical Review – S.G.

Declaration of Interests: The authors declare that they have no competing interest.

Funding: The authors declared that this study has received no financial support.

Kaynaklar

- Akbari, G., Ali Mard, S., & Veisi, A. (2018). A comprehensive review on regulatory effects of crocin on ischemia/reperfusion injury in multiple organs. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 99, 664–670. [CrossRef]
- Akbari, G., Mard, S. A., Dianat, M., & Mansouri, E. (2017). The hepatoprotective and microRNAs downregulatory effects of crocin following hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1702967. [CrossRef]
- Akkoç, H. (2008). Miyokardiyal iskelem reperfüzyon hasarı. *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 35(3), 211–215.
- Apaydin, Y. B., & Batil, A. A. (2019). The investigation of the preventive effects of coenzyme Q10 and berberine for tourniquet induced ischemia-reperfusion injury on skeletal muscle in rat hindlimb. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 9(3), 127–133. [CrossRef]
- Barnig, C., Lutzweiler, G., Giannini, M., Lejay, A., Charles, A. L., Meyer, A., & Geny, B. (2022). Resolution of inflammation after skeletal muscle ischemia-reperfusion injury: A focus on the lipid mediators lipoxins, resolvins, Protectins and maresins. *Antioxidants*, 11(6), 1213. [CrossRef]
- Bilgiç, M. İ., Altun, G., Çakıcı, H., Gideroğlu, K., & Saka, G. (2018). The protective effect of montelukast against skeletal muscle ischemia reperfusion injury: An experimental rat model. *Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi*, 24(3), 185–190. [CrossRef]
- Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N., & Candido, V. (2020). Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Scientia Horticulturae*, 272, 109560. [CrossRef]
- Collard, C. D., & Gelman, S. (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*, 94(6), 1133–1138. [CrossRef]

- Erkanlı, K., Kayalar, N., Erkanlı, G., Ercan, F., Sener, G., & Kirali, K. (2005). Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Journal of Pineal Research*, 39(3), 238–242. [\[CrossRef\]](#)
- Hosseinzadeh, H., Abootorabi, A., & Sadeghnia, H. R. (2008). Protective effect of *Crocus sativus* stigma extract and crocin (trans-crocin 4) on methyl methanesulfonate-induced DNA damage in mice organs. *DNA and Cell Biology*, 27(12), 657–664. [\[CrossRef\]](#)
- Hosseinzadeh, H., Modaghegh, M. H., & Saffari, Z. (2009). *Crocus sativus* L. (Saffron) extract and its active constituents (crocin and safranal) on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6, 146701.
- Kalogeris, T., Baines, C. P., Krenz, M., & Korthuis, R. J. (2012). Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 298, 229–317. [\[CrossRef\]](#)
- Karami, M., Bathaie, S. Z., Tiraihi, T., Habibi-Rezaei, M., Arabkheradmand, J., & Faghihzadeh, S. (2013). Crocin improved locomotor function and mechanical behavior in the rat model of contused spinal cord injury through decreasing calcitonin gene related peptide (CGRP). *Phytomedicine*, 21(1), 62–67. [\[CrossRef\]](#)
- Khorasani, M. K., Ahangarpour, A., & Khorsandi, L. (2021). Effects of crocin and metformin on methylglyoxal-induced reproductive system dysfunction in diabetic male mice. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 48(3), 221–228. [\[CrossRef\]](#)
- Kuroda, Y., Togashi, H., Uchida, T., Haga, K., Yamashita, A., & Sadahiro, M. (2020). Oxidative stress evaluation of skeletal muscle in ischemia-reperfusion injury using enhanced magnetic resonance imaging. *Scientific Reports*, 10(1), 10863. [\[CrossRef\]](#)
- Lambrianidou, A., Koutsougianni, F., Papapostolou, I., & Dimas, K. (2020). Recent advances on the anticancer properties of saffron (*Crocus sativus* L.) and its major constituents. *Molecules*, 26(1), 86. [\[CrossRef\]](#)
- Lari, P., Abnous, K., Imenshahidi, M., Rashedinia, M., Razavi, M., & Hosseinzadeh, H. (2015). Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin. *Toxicology and Industrial Health*, 31(4), 367–376. [\[CrossRef\]](#)
- Mard, S. A., Azad, S. M., & Ahangarpour, A. (2016). Protective effect of crocin on gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion injury in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(Suppl), 93–99.
- Mohammadpour, M., & Farjah, G. H. (2020). Protective effect of crocin on ovarian ischemia-reperfusion injury in rats. *RABMS*, 6(4), 199–206.
- Nassar, R., Eid, S., Chahine, R., Chabi, B., Bonnieu, A., Sabban, M. E., Najjar, F., & Hamade, A. (2020). Antioxidant effects of Lebanese *Crocus sativus* L. and its main components, crocin and safranal, on human skeletal muscle cells. *European Journal of Integrative Medicine*, 40, 101250. [\[CrossRef\]](#)
- Özkan, E., Yardimci, S., Dulundu, E., Topaloğlu, U., Şehirli, O., Ercan, F., Velioglu-Oğünç, A., & Sener, G. (2010). Protective potential of mon-telukast against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of Surgical Research*, 159(1), 588–594. [\[CrossRef\]](#)
- Soares, R. O. S., Losada, D. M., Jordani, M. C., Évora, P., & Castro-e-Silva, O. (2019). Ischemia/reperfusion injury revisited: An overview of the latest pharmacological strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5034. [\[CrossRef\]](#)
- Vakili, A., Einali, M. R., & Bandegi, A. R. (2014). Protective effect of crocin against cerebral ischemia in a dose-dependent manner in a rat model of ischemic stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 23(1), 106–113. [\[CrossRef\]](#)
- Xing, B., Li, S., Yang, J., Lin, D., Feng, Y., Lu, J., & Shao, Q. (2021). Phyto-chemistry, pharmacology, and potential clinical applications of saffron: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 281, 114555. [\[CrossRef\]](#)
- Yarjani, Z. M., Pourmotabbed, A., Pourmotabbed, T., & Najafi, H. (2017). Crocin has anti-inflammatory and protective effects in ischemia-reperfusion induced renal injuries. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(7), 753–759. [\[CrossRef\]](#)