



Araştırma Makalesi / Research Article

Journal of Medical Topics&Updates (Journal of MTU)

Doi: 10.5281/zenodo.7476178

Over iskemi reperfüzyon hasarına karşı verilen iloprost infüzyonunun göz üzerine etkileri: ratlarda deneysel çalışma

Effects of iloprost infusion on the eyes due to ovarian ischemia reperfusion injury: an experimental study in rats

Fadime TOSUN¹ Ebru ANNAÇ² Mevlüt DOĞUKAN¹ Mehmet DURAN¹ Öznur ULUDAĞ¹

¹ Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye.

² Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji, Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, ratlara ovarial iskemi reperfüzyon (İ/R) modeli sonrası verilen prostoglandin analogu olan iloprost tedavisinin uzak organ olarak göz üzerine etkilerini araştırmak ve literatüre katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Deney için toplam 32 dişi Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar, her birinde sekiz adet olacak şekilde dört gruba ayrıldı; kontrol (K), iskemi (İ), iskemi-reperfüzyon (İ-R) ve iskemi-reperfüzyon/iloprost (İ-R/İ). Kontrol grubu hariç diğer ratlara torsiyon işlemi yapıldı. İskemi grubunda 3 saatlik torsiyon, İ-R grubuna 3 saat torsiyon ve 3 saat detorsiyon, İ-R/İ grubuna 3 saat torsiyon, 3 saat detorsiyon ve 60 dk intravenöz iloprost infüzyonu yapıldı. Her grupta işlemlerden sonra göz dokuları histopatolojik olarak incelenmek üzere alındı.

Bulgular: Kornea tabakasına ait histopatolojik incelemede Grup İ, İ-R ve İ-R/İ' te kontrol grubundan farklı olarak stromal kollajen lif demetleri arasında çok sayıda geniş boşluklara sebep olan çapraz bağlantılarda azalma tespit edildi. Retina tabakasına ait histopatolojik incelemede tüm gruplarda yapılan incelemeler sonucunda herhangi bir hemorajik alan ve enflamasyon bulgusu gözlenmezken kontrol grubuna kıyaslandığında Grup İ, İ-R ve İ-R/İ' te iris stromasında vasküler dilatasyon bulgusuna rastlandı. Grup İ-R/İ' te vasküler dilatasyon etkisinde diğer gruplara göre biraz daha artış tespit edildi.

Sonuç: İ/R sonrasında göz dokusunda kornea tabakasına ait stromal kollajen lif demetlerinde çapraz bağlantıda bozukluklar ve iris stroma dokusundaki vasküler dilatasyon gibi histopatolojik değişikliklerin gözlenmesi literatürle desteklenir nitelikte olmakla birlikte iloprostun doku hasarı üzerindeki koruyucu etkisi tam anlamıyla tespit edilemedi.

Anahtar Kelimeler: Rat, İloprost, İskemi/Reperfüzyon Modeli, Uzak Organ Hasarı, Göz

ABSTRACT

Background: In this study, it is aimed to investigate the effect of iloprost treatment on the eye, which is a prostaglandin analogue, given to rats after the ovarian ischemia-reperfusion model and to contribute to the literature.

Materials and Methods: A total of 32 female Sprague Dawley rats were used for the experiment. Rats were divided into four groups of eight rat search: control group, ischemia group (I), ischemia-reperfusion (I-R) group, I-R/I. Except for the control group, torsion procedure was performed on all rats. 3-hour torsion in the ischemia group, 3-hour torsion and 3-hour detorsion in the I-R group, 3 hour torsion, 3 hour detorsion and 60 mn intravenous iloprost infusion in the I-R/I. After the procedures in each group, the eye tissues were taken for histopathological examination.

Results: In the histopathological examination of the corneal layer, many large gaps and (decreased collagen cross-linking) were detected between the stromal collagen fiber bundles in group I, I-R and I-R/I unlike the control group. In the histopathological examination of the retinal layer and stroma of the iris, nohemorrhagic area and inflammation findings were observed in the examinations performed in all groups, but vascular dilatation was found in groups I, I-R and I-R/I when compared to the control group. A higher increase in vascular dilatation was detected in group I-R/I compared to the other groups.

Conclusions: After I/R, although histopathological changes in the eye tissue such as morphological disorders in the stromal collagen fiber bundles of the corneal layer and vascular dilatation in the stroma of iris are supported by the literature, the protective effect of iloprost on tissue damage has not been fully determined.

Keywords: Rat, Iloprost, Ischemia/Reperfusion Model, Distant Organ Damage, Eye

Geliş Tarihi / Received: 20.09.2022, Kabul Tarihi / Accepted: 01.12.2022

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Fadime TOSUN, Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye. e-mail: fadimetosun@gmail.com

GİRİŞ

İskemi; bir organa veya dokuya kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu dokunun ihtiyacı olan oksijen ve diğer metabolitlerin sağlanmadığı durumdur. Belirli bir süre iskemiye uğrayan dokunun oksijenden yoksun kalması, doku hasarı veya nekrozuna neden olan toksik serbest oksijen radikalleri (SOR) üretimi ile sonuçlanır (Holger et al., 2011; Yellon et al., 2007). Reperfüzyon ise iskemi sonrası kan akımının yeniden sağlanması olup iskeminin neden olduğu hasarın genişlemesine yol açar. Genel olarak doku hasarını başlatan bu durum iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı olarak adlandırılır. İ/R hasarının lokal etkileri, ilgili organda gözlenirken, sistemik etkileri birçok organda gözlenebilir. Reperfüzyon ile salınan inflamatuvar mediatörler, iskemik hasara maruz kalmayan uzak organlardaki endotel hücrelerini de aktive ettiği görülür. İ/R hasarına bu uzak yanıt, lökosit bağımlı mikrovasküler hasarla multi organ yetmezliği sendromunun (MODS) gelişmesine sebep olabilir (Carden&Granger, 2000).

Over torsiyonu; reproduktif çağıdaki kadınlarda daha sık görülmekle birlikte her yaşta kadını etkileyen ve iskemik değişikliklerle sonuçlanan adneksiyal destekleyici organın tam veya kısmi rotasyonunu ifade eden acil bir durumdur. Over torsiyonunu doğrulamak ve tedavi etmek için altın standart anestezi altında cerrahi detorsiyondur (Huang et al., 2017). Detorsiyon ile iskemik bölgeye kan akışının tekrar başlaması sonrası oluşan doku hasarından; serbest oksijen radikalleri, inflamatuvar sitokin salınımı, makrofaj, nötrofil gibi inflamatuvar hücre göçü rol oynar. Bu da aşırı doku bozulmasına neden olabilir ve yıkıcı inflamatuvar yanıtları başlatabilir (Holger et al., 2011; Yellon et al., 2007). Gelişmiş bir damar sistemine sahip olan koryo-retinal kompleks (koroid ve retina), uzak organ hasarı için iyi bir hedef olmakla birlikte İ/R hasarını önleyici yaklaşımlar faydalı olabilir (Özdemir&İnanç, 2005). İnsanlarda ve hayvanlarda İ/R hasarını önlemek için kullanılan enzimler ve ilaçlar mikro dolaşım düzeyinde kan akışını ve oksijen iletimini etkilemektedir (McNamara et al., 1998). Yapılan çalışmalarda prostaglandinlerin İ/R hasarında kan akışını iyileştirmede potansiyel olarak faydalı bir rol oynadığını gösterilmiştir (Rowlands et al., 1999). İloprost, prostaglandin I₂ (PGI₂)'in uzun etkili stabil analogu olup PGI₂, hücre membran lipitlerinin siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimi tarafından yıkımı ile oluşur. Trombosit agregasyonunu, lökosit aktivasyonunu, kemotaksiyi ve süperoksit anyon üretimini engelleyen güçlü bir vazodilatördür (Thomson et al., 1996; McNamara et al., 1998).

Bu çalışmada, deneysel model olarak overian iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda, iloprostun

uzak organ olan göz dokusu üzerindeki etkilerini değerlendirmek amaçlandı.

MATERYALVE METOT

Çalışmada 8-10 aylık, 280-300 g ağırlığında toplam 32 adet dişi Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Tüm hayvanlar, ortam sıcaklığı 22 ± 2 °C' de tutularak 12' şer saatlik aydınlık/karanlık döngüsüne sahip odalarda yem ve su, add-libitum olacak şekilde barındırıldı. Kurumsal etik kurul onayı alındı. Hayvanların kullanımı ve bakımı için geçerli tüm kurumsal, ulusal ve uluslararası kılavuzlar takip edildi (Uludağ, 2019). 32 rat rastgele olarak her birinde sekiz rat bulunan 4 gruba ayrıldı. Gruplar;

Kontrol Grubu (K): Alt karın bölgesine yaklaşık 2 cm insizyon yapıldı, over tuba uterina 1 dakika boyunca gözlemlendi ve sonra karın duvarı sütürlü kapatıldı. 3 saat sonra histopatolojik inceleme için göz dokusu örnekleri toplandı.

İskemi Grubu (İ): Alt karın bölgesinde 2 cm'lik orta hat kesi yapıldı. Tuba uterina ve over dokularını içeren adneks, kan akışını kesmek için 360 derece saat yönünde (torsiyon) döndürüldü ve sonrasında karın duvarına sabitlendi. Üç saatlik iskeminin ardından göz cerrahi olarak çıkarıldı (Huang et al., 2017).

İskemi-Reperfüzyon Grubu (İ-R): Alt karın bölgesinde 2 cm'lik orta hat kesi yapıldı. Tuba uterina ve over dokularını içeren adneks, kan akışını kesmek için 360 derece saat yönünde (torsiyon) döndürüldü ve sonrasında karın duvarına sabitlendi. 3 saatlik bir iskemi sonrasında tekrar relaparotomi yapıldı ve bilateral adneksal yapılar detorsiyon edildi. 3 saat reperfüzyon sonrası toplam 6 saat sonunda sonra göz cerrahi olarak çıkarıldı. (Huang et al., 2017).

İskemi-Reperfüzyon/İloprost İnfüzyon Grubu (İ-R/İ): Alt karın bölgesinde 2 cm'lik orta hat kesi yapıldı. Tuba uterina ve over dokularını içeren adneks, kan akışını kesmek için 360 derece saat yönünde (torsiyon) döndürüldü ve ardından karın duvarına sabitlendi. 3 saatlik bir iskemi sonrasında tekrar relaparotomi yapıldı ve reperfüzyon işleminden 10 dk önce Juguler vene takılan kataterden (IV Cannula 24 gr (Yellow) 19 mm x 50 BraunVasofix) iloprost (10 µg/kg, iv; Ilomedin ®Schering, Berlin, Germany) infüzyonuna başlandı. İloprost infüzyonu reperfüzyonun ilk 60 dakikası boyunca devam ettirildi, ardından iki saat daha reperfüzyon süresi beklendi. Toplam altı saat sonra, göz cerrahi olarak çıkarıldı (Huang et al., 2017).

Anestezi için ratlara ketamin hidroklorür (50 mg / kg Ketalar; Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve ksilazin hidroklorür (10 mg /kg Rompun; Bayer Türk İlaç

Ltd. Şti.), veteriner hekim gözetiminde intramusküler olarak uygulandı.

Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yapıldı. Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan göz doku örnekleri %10'luk formol çözeltisinin içerisinde 1 hafta süre ile fikse edildi. Otomatik doku takip cihazı (Leica TP1020, Nussloch, Germany) ile rutin histolojik takibi (alkol, ksilen ve parafin serilerinden oluşan) yapılarak hazırlanan parafin bloklardan Thermo Shandon Finesse ME mikrotom cihazı (Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) kullanılarak elde edilen 7 mikrometre kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle boyanıp ışık mikroskopunda incelendi. Dokuya ait tabakaların incelenmesinde Carl Zeiss AxioCam marka ERc5 model (Carl Zeiss Microscopy GmbH 07745 Jena, Almanya) dijital kamera ataçmanlı mikroskop cihazı kullanıldı.

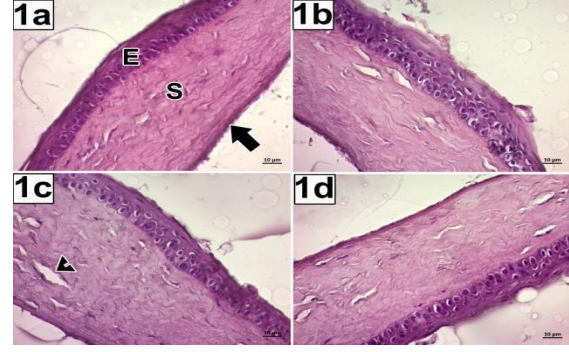
İstatistiksel Analiz

Çalışmada yer alan değişkenler; tanımlayıcı istatistiklerden medyan ve çeyrek ayrılış değerleri (IQR), ortalama ve standart sapma (Std sapma) ile belirlendi. Nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis analizi yapıldı ve gruplar arasındaki karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile gerçekleştirildi. Anlamlılık düzeyi üst sınırı $p=0.05$ olarak alındı. Elde edilen veriler SPSS 21.0 for Windows paket programı ile analiz edildi.

BULGULAR

Kornea

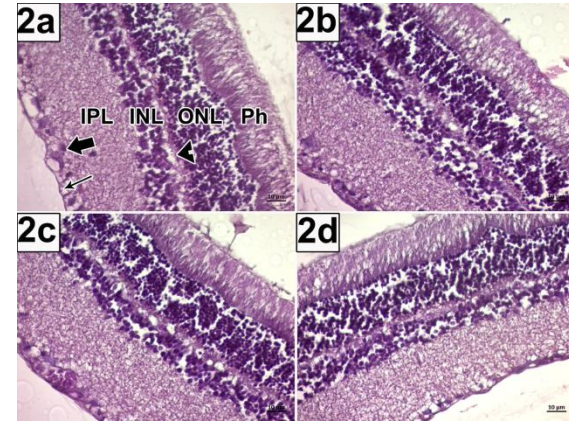
Kornea bölgesinin incelenmesinde kontrol grubunda normal histolojik yapılanma gözlemlendi. Dıştaki çok katlı yassı non keratinize epitel birkaç hücre katmanından meydana gelmişti. Epitelin altındaki stroma tabakasında paralel düzenlenmiş kollajen lif demetleri mevcuttu. Herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 1.1a). Grup İ, İ-R ve İ-R/İ' te kontrol grubuna benzer görüntü hâkimdi. Kontrol grubundan farklı olarak bu gruplarda stromal kollajen lif demetleri arasında çok sayıda geniş boşluklara sebep olan çapraz bağlantılarda azalma olduğu tespit edildi (Şekil 1. 1b, 1c ve 1d). Tüm gruplarda herhangi bir enflamasyon ve hemarajik bulgusu gözlenmedi.



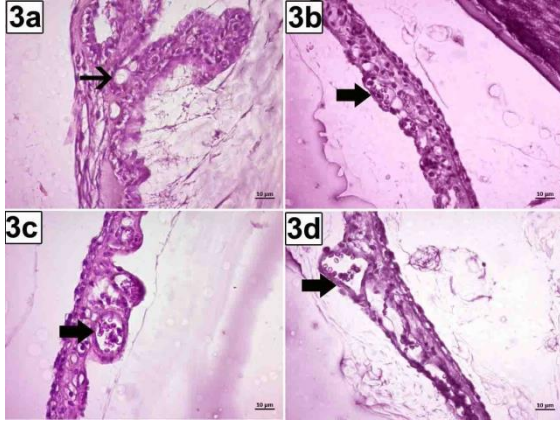
Şekil 1- 1a, 1b, 1c ve 1d. Sırasıyla kontrol, grup İ, grup İ-R ve grup İ-R/İ' ta ait kornea bölgesinin histolojik görüntüleri. E, çok katlı yassı nonkeratinize epitel; S, stroma tabakası; Siyah ok, Descemet's membran; Ok başı, kollajen lif arasındaki boşluklar. (Hematoksilen-Eozin boyama, x40'lık objektif büyütmesi).

Retina

Retina bölgesinin incelenmesinde kontrol grubuna ait fotoreseptör tabakası, dış nüklear tabaka, dış pleksiform tabaka, iç nüklear tabaka, iç pleksiform tabaka, gangliyon hücre tabakası ve optik sinir tabakalarında normal histolojik yapılanma gözlemlendi (Şekil 2.2a). Diğer gruplarda da kontrol grubuna benzer bir yapılanma tespit edildi (Şekil 2. 2b, 2c ve 2d). Tüm gruplarda yapılan genel patolojik incelemeler sonucunda herhangi bir hemarajik alan ve enflamasyon bulgusu gözlenmedi. Retinanın devamlılığı olan bir bölüm olan iris stromasında Kontrol grubuna kıyaslandığında grup İ, grup İ-R ve grup İ-R/İ' ta vasküler dilatasyon bulgusuna rastlandı. Grup İ-R/İ' ta vasküler dilatasyon etkisinde diğer gruplara göre biraz daha artış tespit edildi (Şekil 3. 3a, 3b, 3c ve 3d).



Şekil 2-2a, 2b, 2c ve 2d. Sırasıyla kontrol, grup İ, grup İ-R ve grup İ-R/İ' ta ait retina bölgesinin histolojik görüntüleri. Ph, Fotoreseptör tabakası; ONL, Dış nüklear tabaka; INL, İç nüklear tabaka; IPL, İç pleksiform tabaka; ok başı, Dış pleksiform tabaka; Kalın ok, gangliyon hücre tabakası; İnce ok, optik sinir tabakası. (Hematoksilen-Eozin boyama, x40'lık objektif büyütmesi).



Şekil 3- 3a, 3b, 3c ve 3d. Sırasıyla kontrol, grup İ, grup İ-R ve grup İ-R/İ' ta iris stromasına ait histolojik görüntüler. **İnce ok**, normal damar yapısı; **Kalın ok**, dilate olmuş damar. (Hematoksilen-Eozin boyama, x40'lık objektif büyütmesi).

Histopatolojik Skorumla

Bu çalışmada Nahar ve ark. larının histolojik skorlama sistemi kullanılarak yarı kantitatif olarak değerlendirildi (Nahar et al., 2021). Değerlendirmede 0 (normal), 1 (az), 2 (orta) ve 3 (ciddi) şeklinde derecelendirilme yapıldı. Epitelyal hasar, enflamasyon, hemaraji, kollajen lifler arasındaki çapraz bağlantılar ve vasküler yapılanma gibi bulgular incelendi. Her parametre bağımsız kör bir şekilde alanında uzman histolog tarafından değerlendirildi. Çalışmada kontrol grubunda normal bir doku yapılanmasının hâkim olduğu için herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Gruplar arasında hemaraji, enflamasyon, epitelyal hasar yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Kontrol grubuyla İ-R ve İ-R/İ grupları kıyaslandığında vasküler dilatasyonda artış yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,008$). Ayrıca kontrol grubuyla kıyaslandığında diğer üç grupta kollajen lifler arasındaki çapraz bağlantıların azaldığı ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,008$). Değerlendirme sonucu elde edilen skorlamaya ait veriler Tablo 1 ve 2 de gösterildi.

Gruplar (Kornea)	Grup K		Grup İ		Grup İ-R		Grup İ-R/İ		X ²	p
	Medyan	IQR	Medyan	IQR	Medyan	IQR	Medyan	IQR		
Epitelyal hasar	0	0	0,50	1	0	1	0,50	1	3,100	0,376
Enflamasyon ve hemaraji	0	1	0	1	0	1	1	2	3,021	0,388
Kollajen lifler arası çapraz bağlantıda azalma	0*	0	1*	0	1*	1	1*	1	11,566	<0,001

* $p<0,008$; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkı ifade etmektedir.

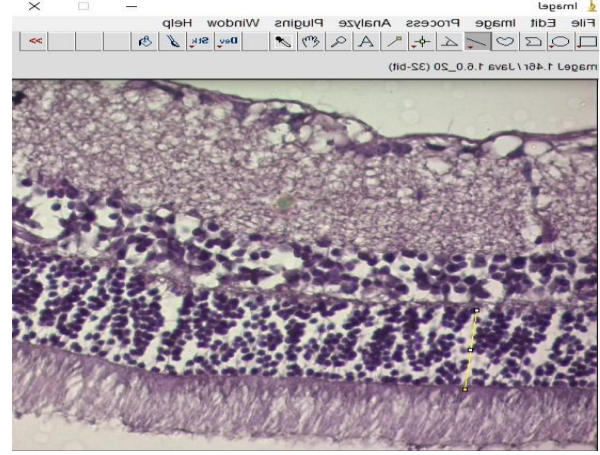
Tablo 2. Retina bölgesine ait histopatolojik skorlama

Gruplar (Retina)	Grup K		Grup İ		Grup İ-R		Grup İ-R/İ		X ²	p
	Medyan	IQR	Medyan	IQR	Medyan	IQR	Medyan	IQR		
Enflamasyon	0	1	0	1	1	1	0,50	1	3,045	0,385
Hemoraji	0	1	0	1	1	1	1	1	3,668	0,300
İris stroma vasküler dilatasyon	0*	1	0	1	1,50*	2	2*	2	13,829	0,003

* $p<0,008$; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkı ifade etmektedir.

Histomorfometrik Analizler

Retina ve kornea duvarına ait tabaka kalınlıklarının analizleri için her bir doku örneğinden 1/15 örnekleme ile 7µm kalınlıkta 20 adet seri kesit alındı (Fileta et al., 2008). Analiz için image j software programı kullanıldı (Şekil 4). Kornea bölgesinde epitel ve stroma tabakası kalınlığı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Retina bölgesinin incelenmesinde fotoreseptör tabakası, dış nüklear tabaka, dış pleksiform tabaka, iç nüklear tabaka ve iç pleksiform tabaka kalınlığı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Histomorfometrik analiz sonuçları Tablo 3 de gösterildi.



Şekil 4. Morfometrik analiz yapılan İmage J programı

Tablo 3. Gruplara ait doku örneklerinde tabaka kalınlıklarına ait histomorfometrik değerlendirme sonuçları.										
Gruplar	Grup K		Grup İ		Grup İ-R		Grup İ-R/İ		X ²	p
	Medyan	IQR	Medyan	IQR	Medyan	IQR	Medyan	IQR		
Kornea										
Epitel kalınlığı (µm)	15665,50	8725	17418,50	1919	17162,00	3465	19191,00	3197	1,474	0,688
Stroma tabakası kalınlığı (µm)	37016,00	5338	34404,50	11336	37041,50	9505	39046,50	16010	0,139	0,987
Retina										
Fotoreseptör tabaka kalınlığı (µm)	25595,00	1163	23750,00	6381	24371,50	2457	22051,50	1181	13,381	0,104
Dış pleksiform tabaka kalınlığı (µm)	4611,50	511	4726,00	409	4803,50	605	4744,00	383	1,188	0,756
İç nüklear tabaka kalınlığı (µm)	11004,50	4300	11460,00	2549	11689,50	2119	12056,00	2594	0,815	0,846
İç pleksiform tabaka kalınlığı (µm)	31875,00	5346	30250,50	5290	31119,50	6708	31220,50	8805	0,344	0,952
Retina dış nüklear tabaka kalınlığı (µm)	22.567	7296	24.687,50	1615	24.189,50	2074	23.336	8323	3,216	0,360
p>0,05; Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.										

TARTIŞMA

İskemi ile dokuya kan akışının azalması, hipoksiye neden olur ve mitokondride elektron taşıma zincirinin işlev bozukluğuna yol açar. Mitokondride ATP üretiminin azalması, anaerobik metabolizmayı, sodyum-potasyum pompalarının işlev bozukluğunu ve ribozomların ayrılmasını indükler (Wu et al., 2018). Mitokondriyal disfonksiyon ve ortaya çıkan oksidatif stres, doku hasarının patofizyolojik sürecinde çok önemli bir rol oynayan İ/R hasarının patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Zhou et al., 2021).

İ/R hasarı, trombolitik tedavi, koroner anjiyoplasti, organ transplantasyonu, aortik kros klemeleme veya kardiyopulmoner baypas sonrası reperfüzyon dâhil olmak üzere çeşitli klinik ortamlarda ortaya çıkabilir (Eltzschig&Collard, 2004). İskemik doku hasarı, dokuya giden kan akımının azalması ve oksijen yetersizliği ile başlar, hasarlanmış dokunun yeniden oksijenasyonu ile (reperfüzyon sağlandığında) artarak devam eder. İskemi sonrası dokudaki bu inflamatuvar reaksiyonun yoğunluğu o kadar büyük

olabilir ki, verilen hasar yanıtı reperfüzyon ile iskemik olmayan uzak organlarda da kendini gösterir (Carden & Granger, 2000). İ/R hasarı şiddetliyse, oluşan inflamatuvar yanıt, yoğun bakım ünitesi mortalitesinin %30-40'ını oluşturan sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) veya multi organ yetmezliği sendromu (MODS) ile sonuçlanabilir (Eltzschig & Collard, 2004). İskemi-reperfüzyon hasarının uzak organlarda etkisi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Carden & Granger, 2000; Özdemir & İnanç, 2005; Azarkish et al., 2021; Ekim ve ark., 2005). Çalışmamızda göze ait retina ve kornea bölümlerindeki histopatolojik değişikliklerin Hematoksilen – Eozin ile boyanmış görüntüler üzerinde tespit edilmesi amaçlandı. İskemi-reperfüzyon hasarına yanıt olarak ortaya çıkan karakteristik endotelial değişiklikler, prostasiklin, nitrik oksit (NO) gibi biyoaktif ajanların üretimini azalmasını ve endotelin, Ang II, tromboksan A2, kemotaktik medyatör oluşumunun artması ile bozulmuş hücre iskeleti yapısı ve şişmeyi içerir (Yu et al., 2019). Reperfüzyon sırasında SOR ve endotelial hasar, mikrovasküler permeabilite artışı ve doku ödeme neden olmaktadır (Huang et al., 2006). İ/R ile indüklenen reaktif ürünler, arteriolar vazomotor tepkiyi bozar (Yu et al., 2019; Banda et al., 1997). Çalışmamızda kullanılan iloprost, trombosit antiagregasyonu, vazodilatasyon ve antioksidatif etkileri olan PGI₂'nin sentetik bir analogu olan maddedir (Erre & Passiu, 2009); ayrıca, iloprost patolojik durumlarda ve iskemik hasarlarda yararlı bir etkiye sahiptir (Birukova et al., 2013). Çalışmamızda kontrol grubu hariç diğer gruplarda vasküler dilatasyonun olduğu tespit edilmiş ve bu etkinin iskemiye sekonder olduğu düşünülmüştür. İloprost grubunda diğer gruplara kıyasla biraz daha vasküler dilatasyonun artması arteriyel vazodilatasyon etkisinin olması olarak değerlendirilmiştir.

İ/R ile ilgili yapılan araştırmalarda detorsiyon grubundaki dokularda oluşan hasarın, torsiyon grubundaki dokulara göre daha ciddi olduğunu belirtmiştir (Kart et al., 2011; Özat ve ark, 2009). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda İ/R hasarı oluşturulan gruplarda kornea tabakasına ait stromal kollajen lif demetlerinde kollajen lifler arasında çapraz bağlantıda azalma sonucu ortaya çıkan geniş boşlukların tespit edilmesi literatürlerle uyumlu bir veridir. Fakat iloprost grubunda da bu lif yapısındaki değişikliklerin görülmesi göz gibi uzak organda çok fazla doku hasarını koruyucu etkisinin olmadığı kanısını oluşturmuştur.

Hiperbarik oksijen (HBO) ve iloprostun intestinal iskemik-reperfüzyona bağlı akut akciğer hasarı üzerine etkilerinin incelendiği deneysel bir çalışmada hem HBO hem de iloprost'un İ/R sonrası akciğer hasarını azalttığı gösterilmiştir (Yılmaz&Tumkaya, 2019). Başka bir çalışmada da ratlarda ekstremite iskemik-reperfüzyon

yaralanmasını takiben Alprostadil'in akciğer (Polimorfonükleer lökosit (PML) infiltrasyonu, pulmoner kısmi yıkım, konsolidasyon, alveolar ödem ve kanama anlamı olarak daha düşük) ve böbrek (renal medüller tıkanıklık, sitoplazmik şişme ve ortalama tübül dilatasyon daha düşük) dokusunda, iloprost ise akciğer (PML infiltrasyonu, pulmoner kısmi yıkım, konsolidasyon, alveolar ödem ve kanama anlamı olarak daha düşük) ve iskelet kası (İskelet kası dokusundaki PML infiltrasyon skorları daha düşük) dokusunda koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Erer ve ark, 2016). Canacankatan ve ark. (2012) yaptığı çalışmada İ/R hasarında İloprost'un uzak organ olan böbrekte hem reseptör kaynaklı hem de mitokondriye bağımlı yollarda apoptozu önlediğini ve apoptoz için sitoprotektif bir ajan olarak düşünülebileceği sonucuna varıldı (Canacankatan ve ark, 2012). Iriz ve ark. (2015) yaptığı çalışmada, abdominal aort İ/R'u sonrası miyokard hasarı ve ödem olduğu ve iloprost ve iloprost+C vitamini verilen gruplarda oksidatif stres belirteçlerin, miyokardiyal dokudaki miyofibril hasarı ve mitokondriyal morfoloji değişikliklerin ayrıca miyokardiyal ödemi önemli ölçüde azalttığı ve buna bağlı olarak uzak organlarda İ/R hasarında azalma olduğunu açıkça göstermiştir (Iriz ve ark, 2015). Karaman ve arkadaşlarının yaptığı deneysel bir çalışmada, santral retinal arter oklüzyonu yapılarak 10 gün boyunca hiperbarik oksijen (HBO) ve iloprost tedavisi verilerek retina kalınlıklarına bakılmış. İloprost tedavisinin, iskemi sonrası dönemde meydana gelen doku ödemi önlemede belirgin bir anti-ödem aktivitesi gösterdiği ve HBO tedavisinden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Karaman ve ark, 2016). Çalışmamızda retinaya ait fotoreseptör tabakası, dış nükleer tabaka, dış pleksiform tabaka, iç nükleer tabaka ve iç pleksiform tabaka kalınlığı ölçümleri sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Araştırılan bu literatür bilgileri dikkate alındığında hayvan çalışmalarında İ/R hasarı sonrasında tedavi amaçlı kullanılan iloprostun birçok uzak organ dokusu üzerine koruyucu etkisinin olduğu tespit edilmiş olsa da sunulan çalışmada göz üzerinde koruyucu etkisinin olmaması belki uygulanan doz, uygulama süresi ve organın damar desteği ile alakalı bir durum olabileceği fikrini uyandırmıştır. Ayrıca tüm gruplarda yapılan genel patolojik incelemeler sonucunda herhangi bir hemarajik alan ve enflamasyon bulgusu gözlenmemiştir.

Yapılan literatür taramaları sonucunda geniş çaplı damarlarla kanlanan organlarda İ/R hasarı sonrasında tedavi amaçlı kullanılan iloprostun doku hasarı üzerinde koruyucu etkisinin daha belirgin olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda ovarian İ/R sonrasında uzak organ olarak göz dokusunda kornea tabakasına ait stromal kollajen lif demetlerinde morfolojik bozukluklar ve retina dokusundaki

vasküler dilatasyon gibi histopatolojik değişikliklerin gözlenmesi literatürle desteklenir niteliktedir. Fakat doku hasarı üzerindeki koruyucu etkisi tam anlamıyla tespit edilememiştir.

SINIRLAMALAR

Çalışmada herhangi bir biyokimyasal ve/veya immünohistokimyasal değerlendirme yapmadan sadece histolojik/patolojik yaralanma bulgularını değerlendirilmesi, çalışma sonuçlarının etkinliğini sınırlayabilir.

Etik Kurul Onayı: Adıyaman Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulunda alınmıştır (Onay No: 31.01.2019/2018-026).

Finansal Kaynak: Çalışmaya finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çalışma kapsamında herhangi bir kişisel ve finansal çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazar Katkıları:

Fikir/Kavram: Fadime TOSUN, Ebru ANNAÇ, Mevlüt DOĞUKAN, Mehmet DURAN, Öznur ULUDAĞ; **Tasarım:** Fadime TOSUN, Ebru ANNAÇ, Mevlüt DOĞUKAN, Mehmet DURAN, Öznur ULUDAĞ;; **Denetleme/Danışmanlık:** Fadime TOSUN, Ebru ANNAÇ, Mevlüt DOĞUKAN, Mehmet DURAN, Öznur ULUDAĞ; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Fadime TOSUN, Ebru ANNAÇ, Mevlüt DOĞUKAN, Mehmet DURAN, Öznur ULUDAĞ; **Analiz ve/veya Yorum:** Fadime TOSUN, Ebru ANNAÇ; **Kaynak Taraması:** Fadime TOSUN, Mehmet DURAN, Öznur ULUDAĞ; **Makalenin Yazımı:** Fadime TOSUN, Mehmet DURAN, Öznur ULUDAĞ; **Eleştirel İnceleme:** Fadime TOSUN, Ebru ANNAÇ, Mevlüt DOĞUKAN, Öznur ULUDAĞ; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Fadime TOSUN, Mevlüt DOĞUKAN, Mehmet DURAN

KAYNAKLAR

Azarkish F., Armin F., Parvar A.A.A. & Dehghani A. (2021). The influence of renal ischemia-reperfusion injury on remote organs: The histological brain changes in male and female rats. *Brain Circ*, 7(3), 194-200. doi: 10.4103/bc.bc3_21.

Banda M.A., Lefer D.J. & Granger D.N. (1997). Post ischemic endothelium-dependent vascular reactivity is preserved in adhesion molecule deficient mice. *Am J Physiol*, 273:2721-5. doi: 10.1152/ajpheart.1997.273.6.H2721

Birukova A.A., Wu T., Tian Y., Meliton A., Sarich N., Tian X., Leff A. & Birukov K.G. (2013). Iloprost improves endothelial barrier function in lipopolysaccharide-induced lung injury. *Eur Respir J*, 41(1), 165-176. doi: 10.1183/09031936.00148311.

Canacankatan N., Sucu N., Aytacoglu B., Gul O.E., Gorur A., Korkmaz B., Sahan-Firat S., Antmen E.S., Tamer L., Ayaz L., Vezir O., Kanik A. & Tunçtan B. (2012). Affirmative effects of iloprost on apoptosis during ischemia-reperfusion injury in kidney as a distant organ. *Ren Fail*, 34(1), 111-118. doi: 10.3109/0886022X.2011.633446.

Carden D.L. & Granger D.N. (2000). Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 190(3), 255-66. doi: 10.1002/(SICI)10969896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6.

Ekim H., Erdoğan H.B., Kutay V., Başel H., Özen S., Hazar A., Akbayrak H. & Özbek H. (2005). Effect of ischemia/reperfusion injury to the lungs caused by cross clamping of the abdominal aorta. *Van Tıp Dergisi*, 12 (3),175-178.

Eltzschig H.K. & Collard C.D. (2004). Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull*, 70, 71-86. doi: 10.1093/bmb/ldh025

Erer D., Özer A., Demirtaş H., Gönül İ., Kara H., Arpacı H., Comu F.M., Oktar G.L., Arslan M. & Küçük A. (2016). Effects of alprostadil and iloprost on renal, lung, and skeletal muscle injury following hindlimb ischemia-reperfusion injury in rats. *Drug Des Devel Ther*, 19(10), 2651-2658. doi: 10.2147/DDDT.S110529.

Erre G.L. & Passiu G. (2009). Antioxidant effect of Iloprost: current knowledge and therapeutic implications for systemic sclerosis. *Reumatismo*, 61(2), 90-97. doi: 10.4081/reumatismo.2009.90.

Fileta J.B., Huang W., Kwon G.P., Filippopoulos T., Ben Y., Dobberfuhr A. & Grosskreutz C.L. (2008). Efficient estimation of retinal ganglion cell number: a stereological approach. *Journal of neuroscience methods*, 170(1), 1-8.

Holger K., Eltzschig H.K. & Eckle T. (2011). Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *NatMed*, 17(11), 1391-1401. doi: 10.1038/nm.2507.

Huang C., Hong M.K. & Ding D.C. (2017). A review of ovary torsion. *CiJiYiXueZaZhi*, 29(3), 143-147. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_55_17

Huang S.S., Wei F.C. & Hung L.M. (2006). Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte – endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J*, 70:1070-1075.

Iriz E., Iriz A., Take G., Ozgul H., Oktar L., Demirtas H., Helvacioğlu F. & Arslan M. (2015). Iloprost and vitamin C attenuates acute myocardial injury induced by suprarenal aortic ischemia-reperfusion in rabbits. *Bratisl Lek Listy*, 116(10), 627-631. doi: 10.4149/bll_2015_121.

Karaman S., Ozkan B., Yazir Y., Yardimoglu M., Gok M., Kara O., Vural C., Rençber S., Salih K. & Emek S.K. (2016). Comparison of hyperbaric oxygen versus iloprost treatment in an experimental rat central retinal artery occlusion model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 54(11), 2209-2215. doi: 10.1007/s00417-016-3444-5.

Kart C., Aran T., Guven S., Karahan S.C. & Yulug E. (2011). Acute increase in plasma D-dimer level in ovarian torsion: an experimental study. *Hum Reprod*, 26(3), 564-568. doi: 10.1093/humrep/deq378.

McNamara D.B., Champion H.C. & Kadowitz PJ, (1998). Nonoperative management of lower extremity arterial disease. Part I. Pharmacologic management of peripheral vascular disease. *Surg Clin North Am*, 78, 447-456.

Nahar, N., Mohamed, S., Mustapha, N.M., Lau, S., Ishak, N.I.M. & Umran, N.S. (2021). Metformin attenuated histopathological ocular deteriorations in a streptozotocin-induced hyperglycemic rat model. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 394(3), 457-467.

Özat M., Gungor T., Barun S., Demirogullari B., Sokmensuer L.K., Gulbahar O., GURSOY D & MUFTUOĞLU S. (2009). The effects of iloprost, a prostacyclin analogue, in experimental ischaemia/ reperfusion injury in rat ovaries. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(5), 519-527. doi: 10.1016/j.etp.2009.06.007.

Özdemir G. & İnanc F. (2005). Zinc may protect remote ocular injury caused by intestinal ischemia reperfusion in rats. *Tohoku J Exp Med*, 206(3), 247-251. doi: 10.1620/tjem.206.247

Rowlands T.E., Gough M.J. & Homer-Vanniasinkam S. (1999). Do prostaglandins have a salutary role in skeletal muscle ischaemia-reperfusion injury? *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 18(5), 439-444. doi: 10.1053/ejvs.1999.0929.

Uludağ Ö. (2019). History and Importance of Ethical Rules in Animal Experiment Studies. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Derg.* 5(1), 1401–1413.

Thomson I.A., Egginton S., Slimms M.H. & Hudlicka O. (1996). Effect of muscle ischemia and iloprost during femoro distal reconstruction on capillary endothelial swelling. *Int J Microcirc Clin Exp*, 16, 284-290.

Wu M.Y., Yiang G.T., Liao W.T., Tsai A.P., Cheng Y.L., Cheng P.W., Li C.Y. & Li C.J. (2018). Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury. *Cell Physiol Biochem*, 46, 1650–1667. doi: 10.1159/000489241.

Yellon D.M. & Hausenloy D.J. (2007). Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med*, 357(11), 1121-1135. doi: 10.1056/NEJMra071667

Yılmaz Y. & Tümkaya L. (2019). Effects of hyperbaric oxygen and iloprost on intestinal ischemia-reperfusion induced acute lung injury. *Ann Surg Treat Res*, 96(1), 34-40. doi: 10.4174/ast.2019.96.1.34.

Yu H., Kalogeris T. & Korthuis R. (2019). Reactive species-induced microvascular dysfunction in ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med*, 135, 182-197. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.02.031.

Zhou M., Yu Y., Luo X., Wang J., Lan X., Liu P., Feng Y. & Jian W. (2021). Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury: Therapeutics from a Mitochondria-Centric Perspective. *Cardiology*, 146(6), 781-792. doi: 10.1159/000518879.