

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ETİL PİRÜVATIN NONİNVAZİV ARD BACAĞ İSKEMİ-
REPERFÜZYONUNA BAĞLI İSKELET KASI VE UZAK ORGAN
HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

GONCA KAMACI ÖZOCAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Recai TUNCA

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF 16013 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Dr. Gonca KAMACI ÖZOCAK tarafından hazırlanan “Etil Pirüvatın Noninvaziv Ard Bacak İskemi-Reperfüzyonuna Bağlı İskelet Kası ve Uzak Organ Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/10/2019

Üye (T.D.)	: Prof. Dr.Recai TUNCA *(Ünvanı, Adı Soyadı)	Adnan Menderes Üniversitesi (Üniversite)	(İmza)
Üye	: Prof. Dr. Nihat TOPLU *(Ünvanı, Adı Soyadı)	Adnan Menderes Üniversitesi (Üniversite)	(İmza)
Üye	: Prof. Dr. Mehmet Ensari GÜNELİ *(Ünvanı, Adı Soyadı)	Dokuz Eylül Üniversitesi (Üniversite)	(İmza)

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(Ünvanı, Adı Soyadı)
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda anlayıő ve özverisini esirgemeyen danıőmanım Prof. Dr. Recai TUNCA'ya, araştırma laboratuvarlarında uzun uęraőlarla destek olan Araş. Gör. Dr. Emrah İPEK'e ve tüm Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim elemanlarına, tezimin yürütölmesi için gerekli mali desteği sağlayan aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na; her koőulda desteklerini esirgemeyen sevgili eőim ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	1
TEŞEKKÜR	2
ŞEKİLLER DİZİNİ	6
RESİMLER DİZİNİ	7
TABLolar DİZİNİ.....	8
ÖZET	9
ABSTRACT	11
1. GİRİŞ.....	13
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2.1. Fare Arka Bacak Anatomisi	
2.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarı	
2.3. İskelet Kasında İskemi-Reperfüzyon Hasarı	
3. GEREÇ ve YÖNTEM	17
3.1. Gereç.....	17
3.1.1. Çalışma Materyali.....	17
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	17
3.1.3. Hayvan Materyali	17
3.1.4. Çalışma Grupları.....	18
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Araştırmanın Değişkenleri.....	19
3.2.2. Noninvaziv Bilateral Ard Bacak İ-R Modeli.....	19
3.2.3. Doku Örneği Alma	19
3.2.3.1. Sakrifikasyon	19
3.2.3.2. Böbrek	20
3.2.3.3. Akciğer	20
3.2.3.4. Gastrokinemius kası	20
3.2.4. İstatistiksel Analiz Yöntemleri	10
4. BULGULAR	22
4.1. Histopatolojik Bulgular	
4.1.1. Gastrokinemius Kası Dokusu	22
4.1.2. Akciğer Dokusu	25

4.1.3. Böbrek Dokusu	27
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	
4.2.1. Gastrokinemius Kası Dokusu	
4.2.2. Akciğer Dokusu	
4.2.3. Böbrek Dokusu	
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	42
EKLER	46
Ek 1. Dokuz Eylül Üniversitesi HADYEK	46
ÖZGEÇMİŞ	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DAB	: Diaminobenzidine
EP	: Etil Pirüvat
HE	: Hematoksilen-Eozin
IL-1β	: İnterlökin 1-beta
IL-6	: İnterlökin 6
IL-10	: İnterlökin 10
İ-R	: İskemi-Reperfüzyon
SF	: Serum Fizyolojik
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-alfa
TUNEL	: Transferaz aracılı dUTP nick end-labeling

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İskemiye bağlı iskelet kasında gelişen hasarlanma mekanizması	16
Şekil 2. Kas dokuda görülen TUNEL-pozitif hücre dağılımı	32
Şekil 3. Akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücre dağılımı	35
Şekil 4. Böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücre dağılımı	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Gastrokinemius kasının longitudinal kesiti.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Resim 2. Sham grubu (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusu	23
Resim 3. Pozitif kontrol grubu (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusu	23
Resim 4. Grup-3 (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusu	24
Resim 5. Grup-4 (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusu	24
Resim 6. Sham grubu; akciğer dokusu.....	25
Resim 7. Pozitif kontrol grubu; akciğer dokusu.....	26
Resim 8. Grup-3; akciğer dokusu.....	26
Resim 9. Grup-4; akciğer dokusu.....	27
Resim 10. Sham böbrek dokusu.....	28
Resim 11. Pozitif kontrol grubu; böbrek dokusu	28
Resim 12. Grup-3; böbrek dokusu	29
Resim 13. Grup-4; böbrek dokusu	29
Resim 14. Sham grubu; kas dokusunda görülen TUNEL-negatiflik	30
Resim 15. Pozitif kontrol grubu; kas dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler	30
Resim 16. Grup-3; kas dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler	31
Resim 17. Grup-4; kas dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler	31
Resim 18. Sham grubu; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler.....	33
Resim 19. Pozitif kontrol grubu; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler.....	33
Resim 20. Grup-3; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler.....	34
Resim 21. Grup-4; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler.....	34
Resim 22. Sham grubu; böbrek dokusunda görülen TUNEL-negatiflik.....	36
Resim 23. Pozitif kontrol grup; böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler	36
Resim 24. Grup-3; böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler	37
Resim 25. Grup-4; böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler	37

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışma grupları ve grupların tanımı.....	18
Tablo 2. Kas dokusunun TUNEL immünohistokimyasal skorlaması.	32
Tablo 3. Akciğer dokusunun TUNEL immünohistokimyasal skorlaması.....	35
Tablo 4. Böbrek dokusunun TUNEL immünohistokimyasal skorlaması.....	38

ÖZET

ETİL PİRÜVATIN NONİNVAZİV ARD BACAK İSKEMİ-REPERFÜZYONUNA BAĞLI İSKELET KASI VE UZAK ORGAN HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Kamacı Özocak G. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Alt-ekstremitede görülen iskemi-reperfüzyon (İ-R)'a bağlı rabdomiyoliz bazı cerrahi vakalarda gelişebilen patolojik bir durumdur. Etil pirüvatın (EP), İ-R hasarına karşı koruyucu ve tedavi edici etkisi yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Çalışmamızın amacı; EP'nin alt-ekstremitede İ-R ile oluşan lokal ve uzak organ hasarı üzerine etkinliğini farelerin alt bacağına İ-R modeliyle gastroknemius kasında, uzak organ olarak akciğer ve böbrekte histopatolojik olarak incelemektir.

Çalışmada, 28 (4 grup; n=7) adet C57BL/6 erkek fare kullanıldı. İ-R modeli (3 saat iskemi-3 saat reperfüzyon) bilateral turnikenin farelerin kalça eklemi üzerine yerleştirilmesiyle oluşturuldu. Deney gruplarından birine iskemiden 15 dakika önce (Grup-3) diğerine ise reperfüzyon başlangıcında (Grup-4) 150 mg/kg EP intraperitoneal yolla uygulandı. Akciğer, böbrek ve gastroknemius kası dokuları histopatolojik açıdan incelendi.

Kas: H-E; Grup-3 dokuları incelendiğinde, Grup-2'ye kıyasla az miktarda miyofibriler disorganizasyon ve dejenerasyon gözlenirken, Grup-4 dokularında Grup-3'e nazaran miyofibriler disorganizasyon ve dejenerasyonun daha az olduğu saptandı. TUNEL; Grup-4 dokularında Grup-3 dokularına kıyasla daha az TUNEL-pozitif hücre sayıldı.

Akciğer: H-E; Grup-3 dokularında hafif düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu, Grup-4'e ait akciğer dokularında ise bronşiyoler submukozada seyrek olarak mononükleer hücreler görülmekte olup Grup-1'e benzerlik gösterdiği tespit edildi. TUNEL; Grup-4 dokularında Grup-3 dokularına kıyasla daha az TUNEL-pozitif hücre sayıldı.

Böbrek: Grup-3 dokularında eritrosit ekstrevasyonu ve tübüler dilatasyon olduğu, Grup-4 dokularında ise tübüler dilatasyon ile eritrosit ekstrevasyonu görülmekle birlikte, EP'nin koruyucu etkisinin reperfüzyon başlangıcında verilmesinin daha etkili olduğu saptandı. TUNEL; Grup-4 dokularında Grup-3 dokularına kıyasla daha az TUNEL-pozitif hücre sayıldı.

Bu çalışma sonucunda; İ-R hasarına karşı, EP'nin veriliş zamanına bağlı olarak değişen koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Hücre ölümü, iskelet kası, rabdomiyoliz, reperfüzyon hasarı.

ABSTRACT

EXAMINATION OF THE EFFECTS OF ETHYL PYRUVATE ON SKELATAL MUSCLE AND REMOTE ORGANS INJURY DUE TO THE NONINVASIVE HINDLIMB ISCHEMIA-REPERFUSION

Kamaci Ozocak G. Aydin Adnan Menderes University Health Sciences Institute of Pathology (Veterinary) Program, Master's Thesis, Aydin, 2019.

Rhabdomyolysis due to ischemia-reperfusion(I-R) in the lower extremity is a pathological condition that can develop in some surgical cases. Ethyl pyruvate(EP) has been shown to have a protective and therapeutic effect against I-R injury by studies. The objective of our study was to evaluate histologically the effect of EP on local and remote organ injury resulting from the I-R in the lower extremity.

In this study, 28(4 group; n=7) C57BL/6 male mice were used. The I-R model [ischemia(3h)-reperfusion(3h)] was performed by placing the bilateral tourniquet on the hip-joint of the mice. One of the experimental groups was administered 150 mg/kg EP intraperitoneally 15 minutes before ischemia(Grup-3) and the other at the onset of reperfusion(Grup-4). Lung, kidney and gastrocnemius muscle tissues were examined histopathologically.

Muscle: H-E;when Group-3 tissues were examined, a small amount of myofibrillary disorganization and degeneration was observed compared to Group-2, while Group-4 tissues showed less myofibrillary disorganization and degeneration than Group-3. TUNNEL;less TUNEL-positive cells were counted in Group-4 tissues compared to Group-3 tissues.

Lung: H-E;mild mononuclear cell infiltration was seen in Group-3 tissues. Mononuclear cells in the bronchiolar submucosa were less seen in the lung tissues of Group-4, and it was found to be similar to Group-1. TUNEL;less TUNEL-positive cells were counted in Group-4 tissues compared to Group-3 tissues.

Kidney: H-E;Erythrocyte extravasation and tubular dilatation in the tissues of the Grup-3, tubular dilatation and erythrocyte extravasation were observed in some places in the tissues of the Grup-4. But when compared, it was found that the protective effect of EP was more effective at the beginning of reperfusion. TUNEL;less TUNEL-positive cells were counted in Group-4 tissues compared to Group-3 tissues.

As a result of this study;EP has a protective effect on I-R injury that varies depending on the time of administration.

Keywords: Cell death, reperfusion injury, rhabdomyolysis, skeletal muscle.

1. GİRİŞ

İskemi-Reperfüzyon (İ-R) hasarı; replantasyon, kalp krizi, felç, kompartman sendromu, kompozit doku allotransplantasyonu, turnike uygulaması, serbest flep ve tıkaçıcı periferik arter hastalığı durumlarında önemli bir klinik sorundur ve özellikle vasküler cerrahlar, yüksek morbidite ve mortalite görülen bu sorunla karşılaşır (Wang ve ark, 2011; Sabido ve ark, 1994; Grace, 1994; Dillon ve ark, 2006; Wakai ve ark 2001b). İskemi süresince meydana gelen doku hasarı esasında; bu süreç boyunca dokudaki oksijen ve enerji substratlarının tükenmesinden köken alır (Sabido ve ark, 1994). Hücre hasarı, iskemiden yalnızca 30 dakika sonra meydana gelir ve İ-R hasarı sonucu oluşan akut inflamasyon yanıt; adezyon molekülleri, reaktif oksijen metabolitleri ve pro-inflamatuvar sitokinler gibi mediatörleri içerir (Sabido ve ark, 1994; Huda ve ark, 2004; Gute ve ark, 1998).

İskelet kasında, İ-R hasarı arteriyel rekonstrüktif cerrahi sırasında kullanılan arteriyel klemp ve ekstremitte prosedürleri ve operasyonları sırasında kullanılan turnike uygulaması sonucu oluşabilmektedir (Barry ve ark, 1997). Alt ekstremitede oluşan İ-R hasarı; birçok inflamatuvar yanıt ögesi (Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α), İnterlökin 1-beta (IL-1 β), İnterlökin 6 (IL-6), İnterlökin 10 (IL-10)) ve hücre koruyucu bileşiğin transkripsiyonel aktivitesinde hücresel düzeyde değişiklikler meydana gelmesi sonucu oluşur. Bu değişiklikler NF-kappa-B olarak bilinen transkripsiyonel faktörler ailesi tarafından kontrol edilir ve doku hasarında önemli rol oynar (Latanich CA, Toledo-Pereyra, 2009; Wakai ve ark, 2001a). İskelet kasında meydana gelen İ-R sonucu oluşan akut inflamatuvar yanıt, sadece ilgili kası değil uzak organları da etkiler (Wakai ve ark 2001b). Klinik açıdan ele aldığımızda ise; İ-R dokuda lokal hasara neden olmasının yanı sıra, hastada sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna neden olduğundan uzak organları da etkileyerek çoklu organ yetmezliğine bağlı ağır seyreden ölümcül sonuçlar doğurabilmektedir.

EP; endojen bir metabolit olan pirüvik asitten türeyen basit alifatik bir ester olup, reaktif oksijen türevlerini tutucu özelliği ile etkili bir anti-inflamatuvar ajandır (Fink, 2007; Fink, 2008; Yang ve ark, 2004; Kao ve Fink, 2010). Söz konusu esterinin anti-inflamatuvar olma özelliği, pro-inflamatuvar sitokinler ve NF-kappaB üzerine baskılayıcı etkisinden ileri gelir (Fink, 2008). Etil pirüvatın, İ-R hasarı üzerine koruyucu ve tedavi edici etkisinin varlığı ovaryum (Caglayan ve ark, 2014), barsak (Gures ve ark, 2014), kalp (Hu ve ark, 2012), akciğer (Pulathan ve ark, 2014) ve böbrek (Chung ve ark, 2008) üzerine yapılan bilimsel

alışmalar sonucu deneysel olarak kanıtlanmıştır. Yapılan alışmalar etil pürivatın klinik olarak kullanıma uygun olduğunu göstermiştir (Fink, 2010).

Hipotezimiz; etil pürivat, arka ekstremitelere meydana gelen İ-R hasarı sonucu oluşan lokal doku ve uzak organ hasarlanmasını inflamatuvar yanıtları azaltarak iyileştirir.

Amacımız; etil pürivatın alt ekstremitelerde meydana gelen İ-R süreci sonunda oluşturduğu lokal ve uzak organ hasarı üzerine etkinliğini deneysel olarak farelerin alt bacağında bilateral turnike İ-R modeliyle gastroknemius kasında ve uzak organ olarak akciğer ve böbrekte histopatolojik olarak incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fare Arka Bacak Anatomisi

Fare uzuvları ile insan uzuvları arasındaki morfolojik benzerlik, bacak hasar modellerinin oluşturulması ve bacak gelişimi araştırmalarında fare kullanımının başlıca nedenidir, ayrıca birçok nöromusküler hastalığın histopatolojik açıdan ortaya konması ve tedavisinin bu açıdan incelenmesine olanak sağlar (April DeLaurier ve ark, 2008; Charles JP ve ark, 2016). Diğer türlerde olduğu gibi farelerin de arka bacakları istemli kasılan bir grup iskelet kasından oluşur. Çizgili kaslardan oluşan iskelet kasları ekstra- ve intrafüzal kas lifleri, kan damarları, bağ doku, , sinir lifleri, duyu ve motor sinir uçlarını içerir (Krinke, 2004). Arka bacak kaslarından biri olan gastrokinemius kası predominant glikolitikdir, soleus kası ise predominant oksidatifdir. Sahip oldukları bu özellikler nedeniyle gastrokinemius kası soleus kasına kıyasla iskemiye daha duyarlıdır (Paradis ve ark, 2016).

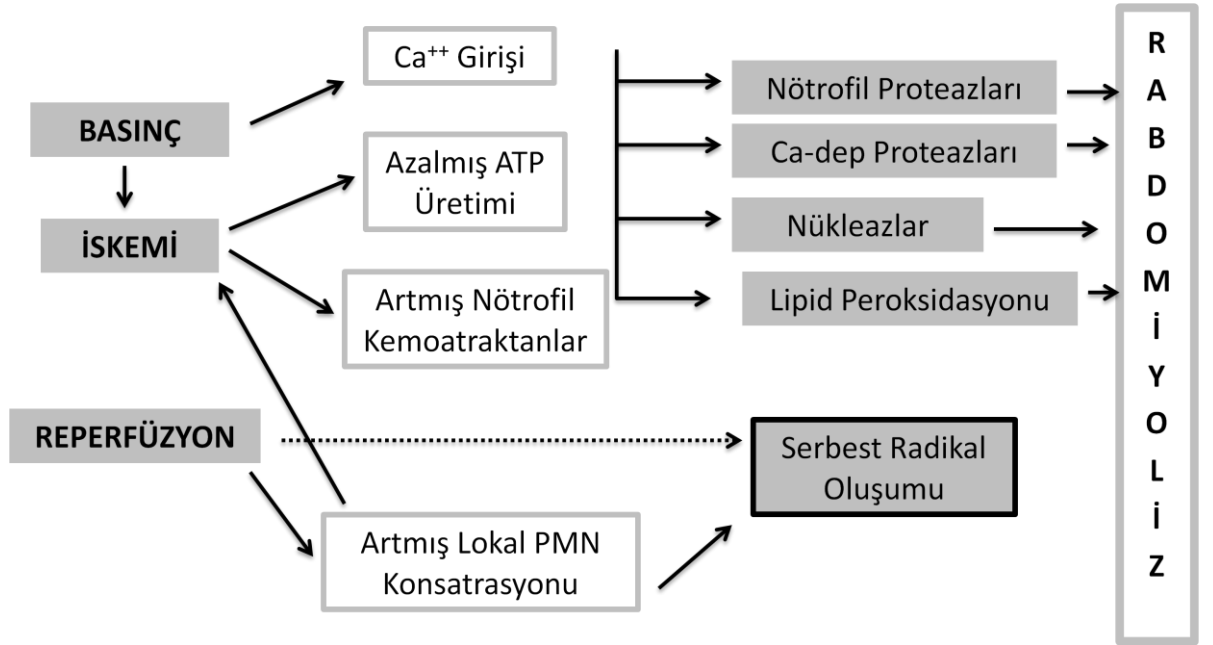
2.2. İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Dokuda kanlanmanın azalması veya tamamen durmasıyla birlikte, iskemi süresince hipoksiye maruz kalan dokuda toksik madde birikimi ve hücresel enerji yoksunluğu nedeniyle ölüm meydana gelir. Meydana gelen hücre ölümünü engellemek için yapılması gereken; oluşan bu kansızlaşmanın vakit kaybetmeden ortadan kaldırılması ve kan akımının yeniden başlatılmasıdır. Kan akımı çeşitli sebeplerle kesilen dokunun reperfüzyonu, iskemiye neden olan etkenin çeşitli mekanizma veya etmenlerle ortadan kalkmasıyla birlikte, dokunun oksijenlenmiş kan akımı ile yeniden kanlanmasıdır (Blaisdell, 2002).

İskemi sürecinin ardından dokuda reperfüzyon süreci başladığında; dokunun iskemiye maruz kalma sürecine ve tipine göre, iskemi sürecinde meydana gelenden daha şiddetli bir hasarlanma meydana gelir. Kas doku 4 saat, sinir doku 8 saat, yağ doku 13 saat, deri 24 saat ve kemik doku ise 4 günlük süre sonunda kritik iskemi sürecine girer (Blaisdell, 2002). Meydana gelen bu hasarlanmaya 'İ-R hasarı' denir (Siemionow ve Arslan, 2004).

2.3. İskelet Kasında İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Çizgili kaslardan olan iskelet kası; sahip olduğu aktif metabolizma nedeniyle diğer dokulara kıyasla iskemi hasarlanmasına karşı daha duyarlıdır ve ayrıca İ-R hasarına en duyarlı dokulardandır (Siemionow ve Arslan, 2004). Ard bacak İ-R sürecinde artmış SOR üretimi, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamasyon gözlenir. İnflamasyon yanıt sonucu; lokal olarak ilgili kas ve çevresindeki endotelial hücreler, damarlar, kas hücreleri ve sinirler hasara uğrar. Mikrovasküler alterasyon gözlenir. Yanıt sonucu meydana gelen bu hasarlanmalar; birincil olarak kas fonksiyon kaybı ve ikincil olarak uzak organ yetmezliğine neden olur. Ancak, hasarlanmanın şiddeti ve maruz kalınan iskemi süresi daha önce de belirtildiği gibi, meydana gelen İ-R hasarının derecesini doğrudan etkilemektedir (Paradis ve ark, 2016). Ekstremitelerde iskemi sonucu meydana gelen hasarlanma mekanizması ve sonuçları Şekil 1'deki gibidir.



Şekil 1. İskemiye bağlı iskelet kasında gelişen hasarlanma mekanizması (Malinoski ve ark, 2004).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Materyali

Çalışmamızda buzdolabı/derin dondurucu (Ariston), ışık mikroskobu (Olympus BX51), su banyosu (Nüve Nb20), etüv (Nüve EN400), distile su cihazı (Nüve ND12), doku takip cihazı (Leica 1020), mikrotom (Leica RM2135), doku bloklama cihazı (Hestion TEC2800), su banyosu (markasız), mikrodalga fırın (Vestel md23) ve terazi (Mettler PM300) kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etil pirüvat (Sigma-Aldrich W245712-100G-K), eozin (Merk 109844,1), Mayer's hematoksilen (Merk 109249), entellan (Merk 107961), formaldehit (Sigma 15512).

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışma, deneysel nitelikte bir *in vivo* araştırmadır. Dokuz Eylül Üniversitesi (DEÜ) Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Birimi ve Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarları'nda Eylül-Aralık 2017 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

Bu araştırmada iki kontrol ve iki İ-R+EP modelinin yapıldığı dört gruptan oluşan, toplam 28 adet yetişkin C57BL/6 erkek fare (10-12 haftalık, 25-30 g) kullanıldı. Tüm hayvanlar DEÜ Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Birimi'ndeki optimal koşullarda (12 saat gündüz/ 12 saat gece periyodu, 20-24°C çevre sıcaklığı, %50-60 rölatif nem oranı) barındırıldı ve kemirgenlere özgü standart yem-su ile ad libitum yemleme sistemi ile beslendi. Deneyi planlarken ve uygularken William Russell ve Rex Burch'ın dünyaca kabul görmüş 3R (Replacement: Laboratuvar hayvanı kullanımı yerine alternatif materyal kullanma. Reduction: Laboratuvar hayvanı kullanımının azaltılması. Refinement: Deneysel süreci ve sonunda

laboratuvar hayvanlarının refahının gözetilmesi.) kuralı prensip alındı. Deneysel araştırmaya başlamadan önce DEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (Protokol No: 47/2015).

Çalışma materyali olarak; deneklerden toplanan böbrek, akciğer, gastrokinemius kası doku örnekleri ADÜ Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarları'na içinde %10'luk formaldehit solüsyonu bulunan doku kaplarında ulaştırıldı.

3.1.4. Çalışma Grupları

Çalışma, deney hayvanlarından fare üzerinde gerçekleştirilmiş olup deney prosedüründe kullanılacak C57BL/6 suşu erkek fareler, canlı ağırlıklarının 25-30 g aralığında olması gözetilerek üretim kafeslerinden rastgele seçildi ve barındırma kafeslerine aktarıldı. Denek seçimi esnasında yan tutmanın önüne geçebilmek için, deneklerin yedişerli gruplar halinde bulunduğu kullanım kafesleri numaralandırılarak etiketlendi. Fareler, kafes etiket numaralarının bulunduğu bir torbadan kura çekilerek, başka bir işaretleme olmaksızın seçildi.

Seçilen 28 fare dört gruba ayrıldı. Grup adlandırması ve gruplara göre yapılan işlemler Tablo 1'deki gibidir;

Tablo 1. Çalışma grupları ve grupların tanımı.

Grup-1 (Sham kontrol) (Anestezi+SF)	Bu gruptaki deneklere herhangi bir işlem yapılmadı, sadece İ-R süresince anestezi altında bekletildi ve süreç sonunda yaşamları sonlandırılıp dokuları toplandı (n=7).
Grup-2 (Pozitif kontrol) (Anestezi+İR+SF)	Bu gruptaki deneklerin alt ekstremitesinde bilateral İ-R oluşturuldu ve reperfüzyon süreci sonunda yaşamları sonlandırılıp dokuları toplandı (n=7).
Grup-3 (Deney grubu) (EP+Anestezi+İR+SF)	Bu gruptaki deneklere 150 mg/kg EP iskemiden 15 dk önce ip yolla enjekte edildi ve EP enjeksiyonundan 15 dakika sonra alt ekstremitelerinde bilateral İ-R oluşturuldu (n=7). Reperfüzyon süreci sonunda yaşamları sonlandırılıp dokuları toplandı.
Grup-4 (Deney grubu) (Anestezi+İR+SF+EP)	Bu gruptaki deneklerin alt ekstremitelerinde bilateral İ-R oluşturuldu ve 150 mg/kg EP reperfüzyon başlangıcında ip yolla enjekte edildi (n=7). Reperfüzyon süreci sonunda yaşamları sonlandırılıp dokuları toplandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırmanın Değişkenleri

Bağımlı değişken: Gastroknemius kası, böbrek ve akciğer dokularından elde edilen veriler.

Bağımsız değişken: Etil Pirüvat

3.2.2. Noninvaziv Bilateral Ard Bacak İ-R Modeli

Deneklerin anestezisi, 100 mg/kg ketamin ve 8 mg/kg ksilazin kombinasyonunun (her iki anestezi madde de salin ile seyreltilip %10'luk anestezi solüsyon haline getirildi) 26 G insülin enjektörü ile ip. olarak uygulanması ile sağlandı.

Anestezi altındaki deneklerin ard bacakları kalça eklemine kadar tıraş edildi ve hipoterminin önüne geçmek için sarı lambalar kullanıldı.

Bilateral ard bacak iskemisi için kalça eklemi hizasında, her iki bacağı McGivney hemoroidal ligatür aplikatörü kullanılarak, 3,22 mm çapındaki ve 4,5 ons basınçlı ortodontik lastik bantlar yerleştirildi ve böylelikle iskemi süreci başlatıldı.

İskemi oluşturulmak istenen bölgedeki kan akımı, turnike uygulaması öncesinde lazer akımölçer cihazı ile kontrol edilip, aynı bölge turnike uygulaması sonrası lazer akımölçer cihazıyla tekrar kontrol edilerek iskemi oluşturulduğu doğrulandı. 3 saat süren iskemi süreci sonunda turnike açıldı ve 3 saat süren reperfüzyon süreci başlatıldı. Tüm bu işlemler süresince deneklere iki saatte bir 0,2 ml salin s.c. yolla enjekte edildi (Ball ve ark, 2013).

3.2.3. Doku Örneği Alma

3.2.3.1. Sakrifikasyon

Altı saat süren İ-R süreci sonlandığında; anestezi altındaki deneklerden intrakardiyak yolla yüksek miktarda kan almak suretiyle, denekler kansızlaştırılarak (eksanguinasyon yöntemi) sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrası deneklerden sırasıyla böbrek, akciğer dokularından ve son olarak da gastrokinemius kası dokusundan örnek alındı.

3.2.3.2. Böbrek

Sakrifikasyon sonrasında denek, cerrahi operasyon tablasına supin pozisyonda sabitlendi. Batın bölgesi, linea alba hizasında yaklaşık 2,5 cm uzunluğunda atılan kesi yardımıyla açıldı. Karın boşluğuna ulaşılan deneğin bağırsakları sağına ve karın boşluğunun dışına alınmak suretiyle sol böbrek açığa çıkartıldı.

Anatomik olarak karın boşluğunda ve sırt bölgesinde yer alan sol böbrek, diğer dokulardan ayrıldıktan sonra, 3. ve 4. bel omurları seviyesinde yer alan ve *aorta abdominalis*'in lateral yüzünden orijin alan *a. renalis sinistra*'nın böbreğe girdiği *hilus renalis* sınır kabul edilerek cerrahi makas yardımı ile ayrılıp (Şekil 33), içinde SF bulunan petri kabına alınarak üzerinde bulunan kandan arındırıldı. Dış yüzeyi kandan arındırılan böbrek bütün halde yine hilus renalis bölgesinden tutularak dışsız penset yardımı ile kuru petri kabı içine alındı ve yine aynı penset yardımı ile dokuya zarar vermeden sabitlenip, 22 numara bistüri ucu ile medialinden longitudinal olarak iki parçaya ayrıldı. Her iki yarım da histopatolojik bakı için uygun kap ve solüsyona aktarıldı.

3.2.3.3. Akciğer

Batını açılıp böbrek örneği alındıktan sonra diyafram kası bağlantılı olduğu dokulardan ayrıldı. Kaburga keski ile longitudinal olarak göğüs kemiği kesildi ve kaburgalar her iki yana ayrılarak göğüs boşluğuna ulaşıldı. Burada yer alan tek loblu olan sol akciğer, hilusundan iki ucu küt cerrahi makas yardımı ile kesilip, kesildiği yerden dışsız penset yardımıyla tutularak içinde SF bulunan petri kabına aktarıldı. Doku üzerindeki kan, SF yardımı ile arındırıldıktan sonra akciğer dokusu yine hilus kısmından aynı penset yardımı ile tutularak histopatolojik bakı için uygun kap ve solüsyona aktarıldı.

3.2.3.4. Gastrokinemius kası

Alınan örnekler %10'luk formaldehit içeren doku kaplarına alındı ve patoloji laboratuvarına uygun koşullar altında transfer edildi. Üç gün bekletilen dokular otomatik doku takip sisteminden geçirildi ve ardından metal bloklar içine uygun yön ve konumda yerleştirilip parafin içine gömüldü. Gömülen dokular oda sıcaklığında parafin bloklar içinde donduktan sonra buzdolabında soğutuldu. Soğutma işlemi tamamlandıktan sonra, bu bloklardan mikrotom yardımı ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve deparafinize edildi.

Bu işlemden sonra deparafinize preparatlar Hematoksilen-Eozin (HE) boyama ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskopisi ile incelendi ve skorlandı. TUNEL reaksiyonu değerlendirmesi; apoptoza giden hücre çekirdeklerinde DNA fragmantasyonu hesaplanması terminaldeoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP nick end-labeling (TUNEL) reaksiyonuyla parafin kesitlerde TUNEL kiti kullanılarak yapıldı. Deparafinizasyon sonrası kesitler önce 37°C de 10 dk. Proteinaz K ile daha sonra 37°C 60 dk. TdT de 60 dakika bekletildi. Converter POD uygulandıktan sonra kesitler DAB (diaminobenzidine) ile boyandı, Mayer hematoksilen ile ardalın boyaması yapıldı ve preparatlar entellan ile kapatıldı.

3.2.4. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Elde edilen numerik veriler; bilgisayar ortamında, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı non-parametrik bir analiz yöntemi olan olan Kruskal Wallis Testi ile ve ayrıca hangi gruplar arasında anlamlı fark olduğu Student T Testi ile değerlendirildi. Değerler aritmetik ortalama \pm standart ortalama hata ($\bar{x} \pm s.e.m$) olarak ifade edildi, istatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

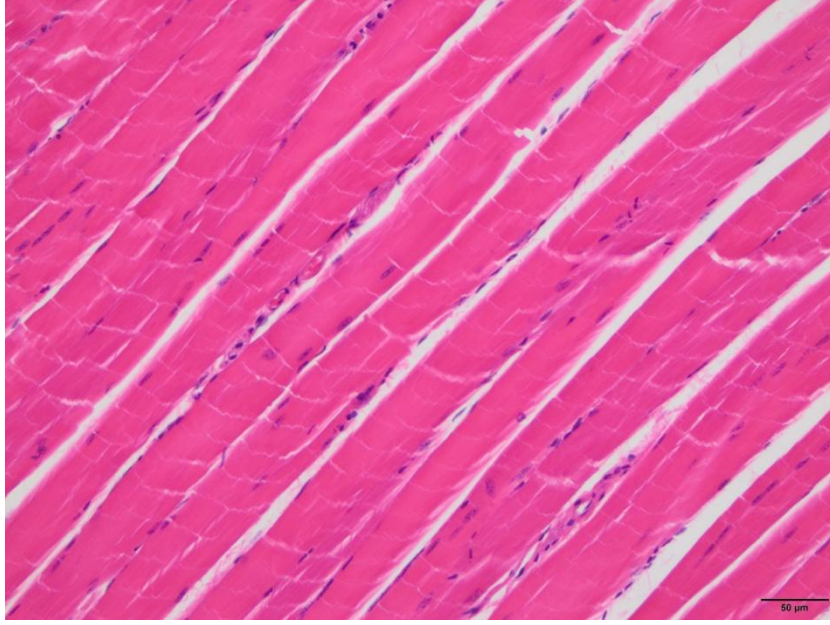
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

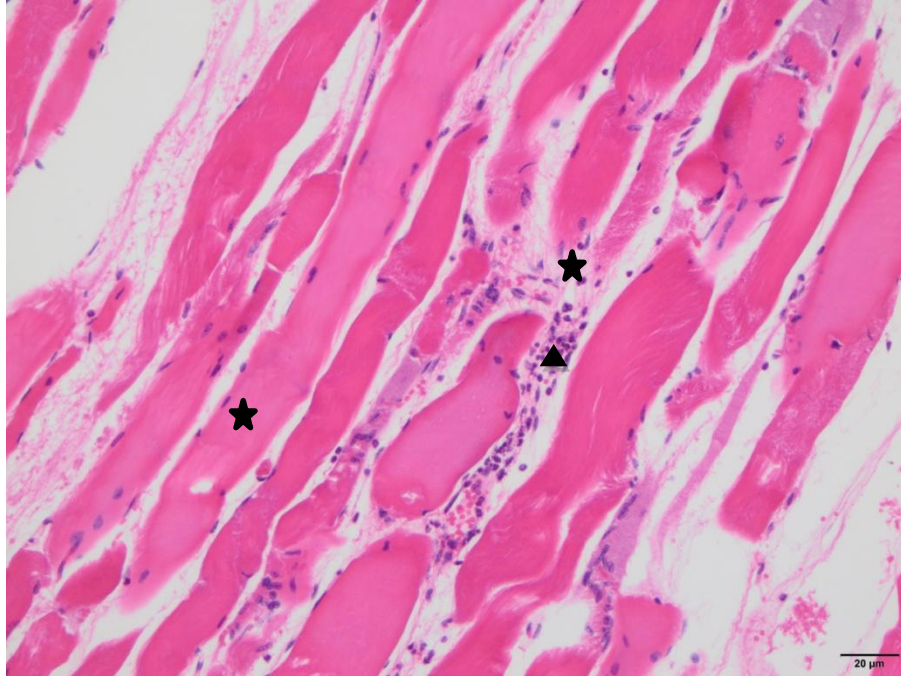
4.1.1. Gastrokinemius Kası Dokusu

C57BL/6 ırkı erkek farelerin ard bacağında oluşturulan non-invaziv iskemi-reperfüzyon hasarı modeli sonrasında ışık mikroskopik inceleme yapıldı. Yapılan incelemede m. gastrokinemius dokusu kesitlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, miyofibrillerde dejenerasyon ve vasküler konjesyon açısından değerlendirildi.

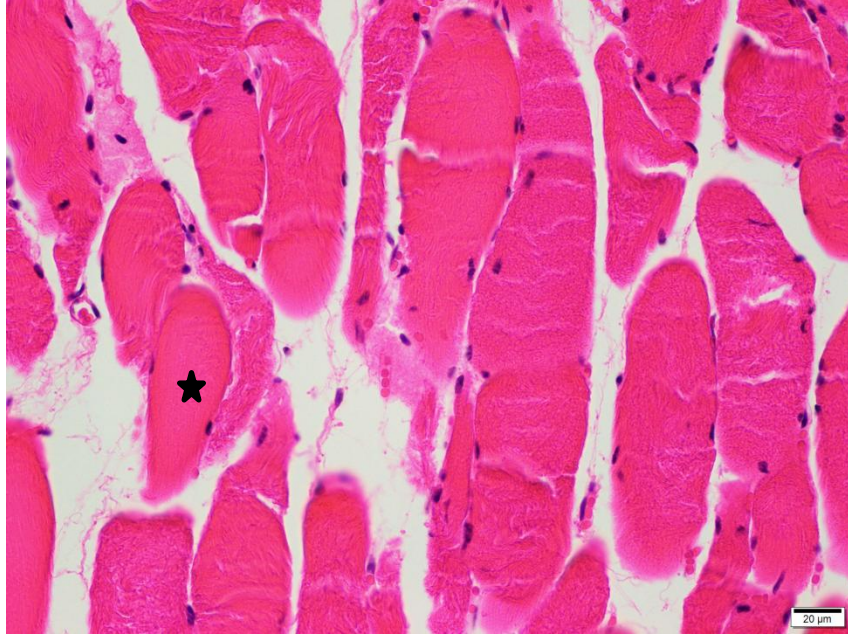
Gastrokinemius kası kesitlerinin H-E incelemesi sonucu; Sham grubunun normal yapıda olduğu, mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, miyofibrillerde dejenerasyon ve vasküler konjesyon bulgusu gözlenmedi (Resim 2). Pozitif kontrol grubuna ait kas dokularında mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, miyofibrillerde dejenerasyon ve vasküler konjesyon olduğu gözlemlendi. İskemi öncesi EP verilen gruba ait kas örnekleri incelendiğinde, Pozitif kontrol grubuna kıyasla az miktarda miyofibriler disorganizasyon ve dejenerasyon gözlenirken, reperfüzyon başlangıcında EP verilen gruba ait kas örneklerinde iskemi öncesi gruba nazaran miyofibriler disorganizasyon ve dejenerasyonun daha az olduğu saptandı.



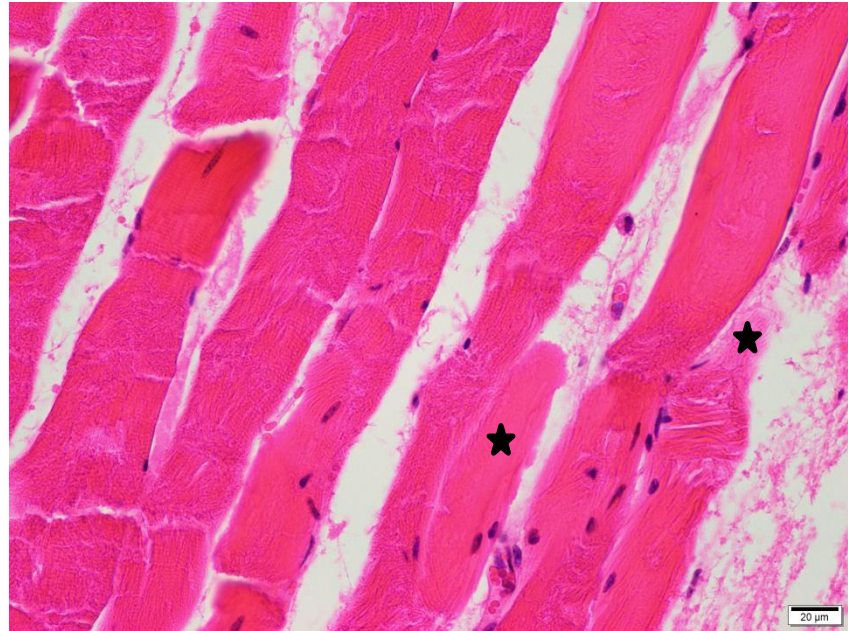
Resim 1. Sham grubu (longitudinal kesit); normal yapıdaki gastrokinemius kas dokusu, H-Ex40.



Resim 2. Pozitif kontrol grubu (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusunda görülen mononükleer hücre infiltrasyonu (▲), miyofibrillerde dejenerasyon ve disorganizasyon (★), H-Ex40.



Resim 3. Grup-3 (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusunda görülen miyofibrillerde dejenerasyon (★), H-Ex40.

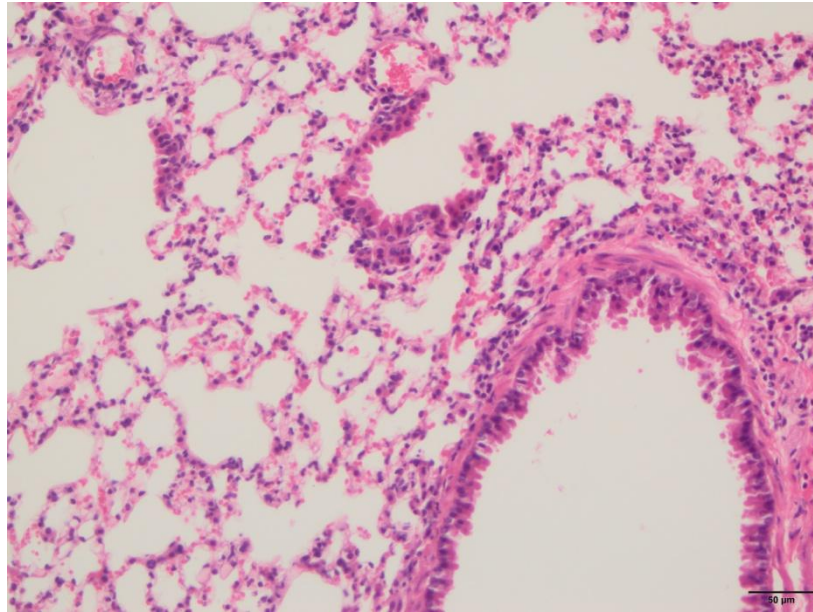


Resim 4. Grup-4 (longitudinal kesit); gastrokinemius kas dokusunda görülen miyofibrillerde disorganizasyon (★), H-Ex40.

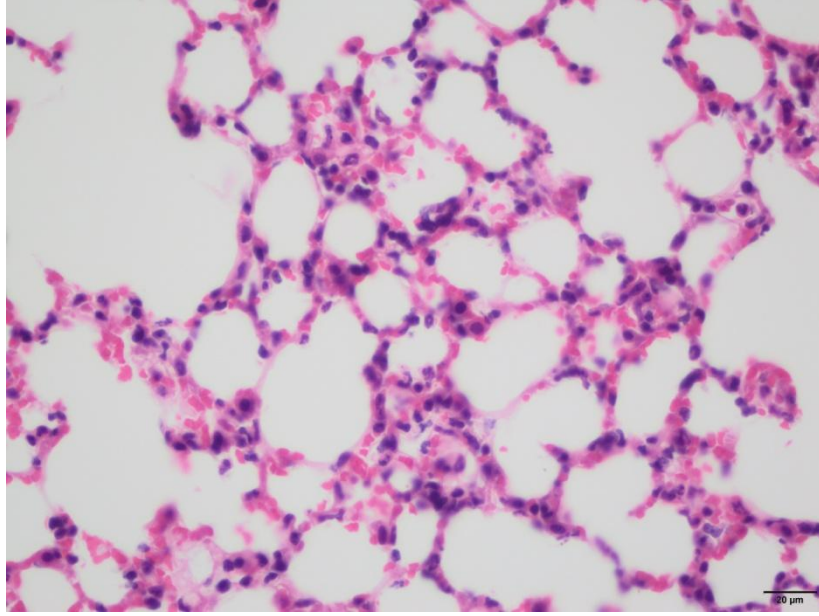
4.1.2. Akciğer Dokusu

Primer olarak Gastrokinemius kasının deneysel iskemi-reperfüzyonu sonucu, uzak organ hasarı açısından değerlendirilen akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde; kesitlerde ışık mikroskobisi yönünden alveol yapıları, parankimada hemoraji, alveolar septumlarda kalınlaşma, ödem ve konjesyon yönünden değerlendirildi.

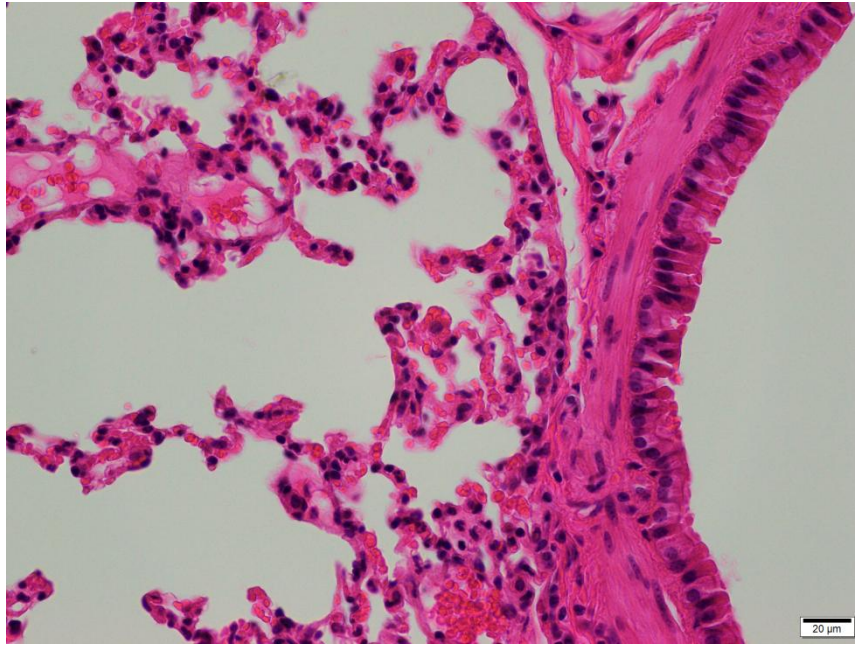
Doku kesitlerinin H-E ile incelenmesinde Sham grubuna ait dokularda alveolar yapının normal olduğu, alveolar septumlarda kalınlaşma ve inflamasyon olmadığı, parankimada ödem, hemoraji ve konjesyona ait bulgulara rastlanmadığı gözlemlendi. Pozitif kontrol grubunda parankimada mononükleer hücre infiltrasyonu, septumda kalınlaşma gözlemlendi. İskemi öncesi EP verilen gruba ait akciğer dokularının mikroskobik bakışında hafif düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu, reperfüzyon öncesi EP verilen gruba ait akciğer örneklerinde ise bronşiyoler submukozada seyrek olarak mononükleer hücreler görülmekte olup Sham grubuna benzerlik gösterdiği tespit edildi.



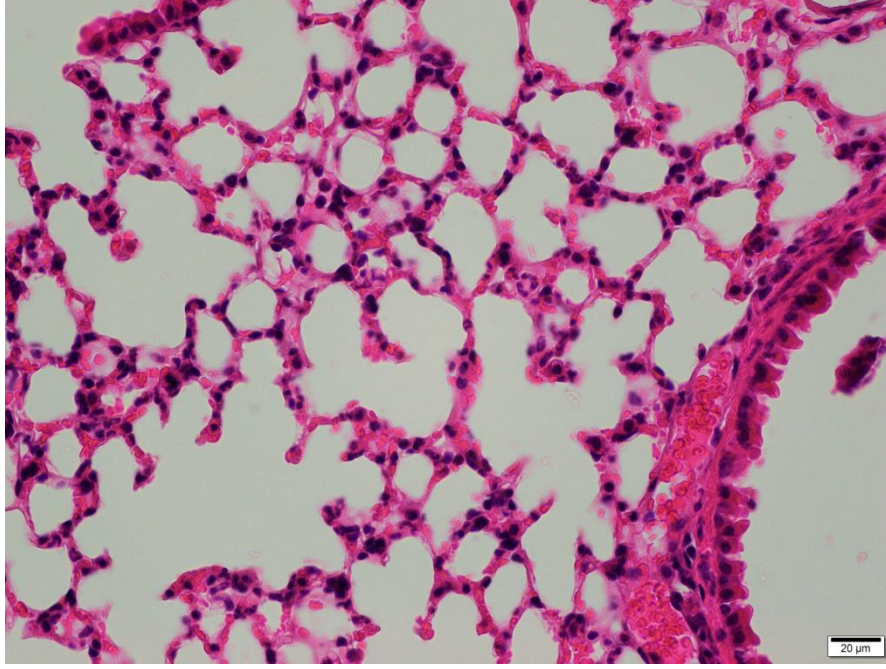
Resim 5. Sham grubu; normal yapıda görülen akciğer dokusu ve hafif düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu, H-Ex40.



Resim 6. Pozitif kontrol grubu; akciğer dokusunda görülen mononükleer hücre infiltrasyonu, H-Ex40.



Resim 7. Grup-3; bronşiyolleri normal yapıda görülen, hafif düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu görülen akciğer dokusu, H-Ex40.



Resim 8. Grup-4; bronşiyoler submukozada seyrek olarak mononükleer hücreler görülen akciğer dokusu, H-Ex40.

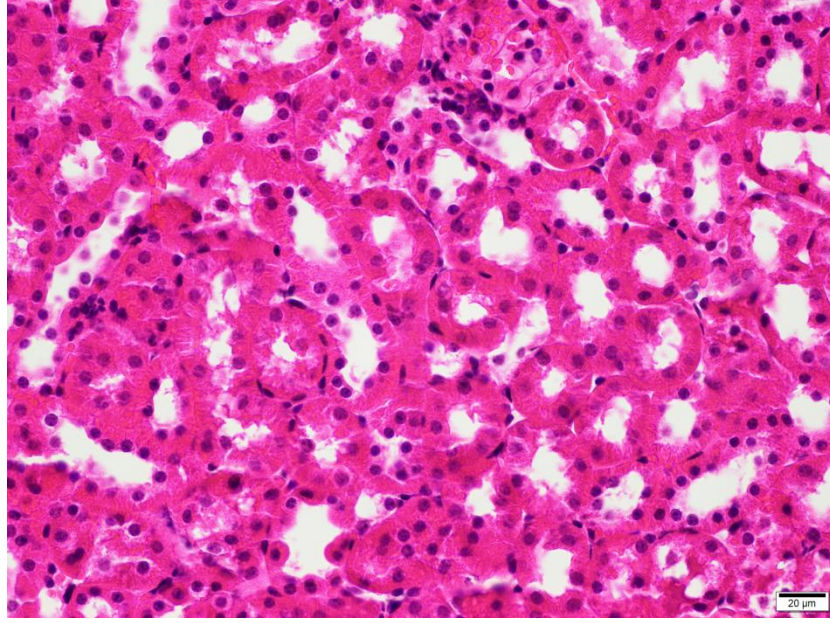
4.1.3. Böbrek Dokusu

Deneysel iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan farelerin uzak organ olarak böbrek dokularının ışık mikroskopik olarak histopatolojik yönden incelenmesinde; eritrosit ekstravazasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu, kast formasyonu, renal korpüskül morfolojisi, fırçamsı kenar kaybı, proksimal tübüslarda vakuolizasyon ve tübüler dilatasyondeğerlendirildi. Kesitlerden elde edilen görüntüler değerlendirilirken semikantitatif olarak tübülointertisyel hasar için bu bulgular açısından skorlama yapıldı.

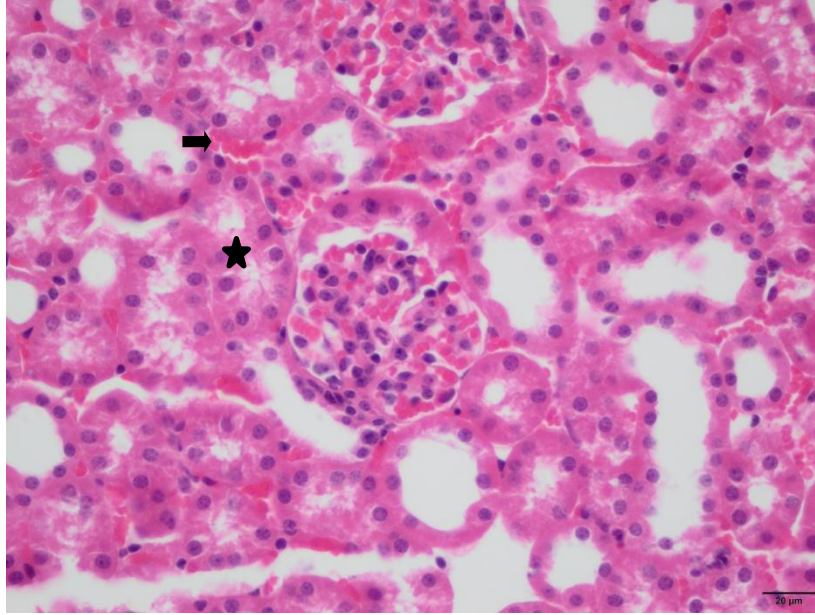
H-E ile incelenen böbrek dokusu kesitleri; Sham grubunda morfolojik açıdan normal yapıda gözlemlendi. Distal ve proksimal tübül, henle kulbu, kollektör tübüllerde yapıların normal olduğu gözlemlendi. Korteksteki renal korpüsküllerin, bowman kapsülünün pariyetal ve visseral yaprağının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi. Epitel hücreleri karakteristik yapı ve özelliklerini korumaktaydı. Pozitif kontrol grubunda peritübüler alanda yer yer mononükleer hücre infiltrasyonu, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon, kısmen tübüler atrofi gözlemlendi.

İskemi öncesi EP verilen gruba ait böbrek dokularında yer yer eritrosit ekstravazasyonu ve tübüler dilatasyon olduğu, reperfüzyon başlangıcında EP verilen gruba ait böbrek dokularında ise tübüler dilatasyon ile yer yer eritrosit ekstravazasyonu görülmekle birlikte

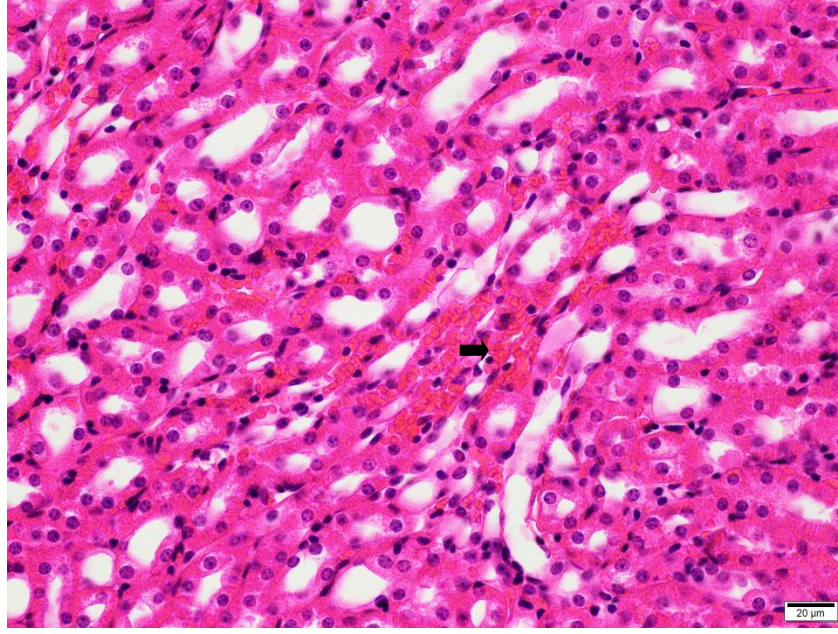
kıyaslama yapıldığında, EP'nin koruyucu etkisinin reperfüzyon başlangıcında verilmesinin daha etkiliği olduğu saptandı.



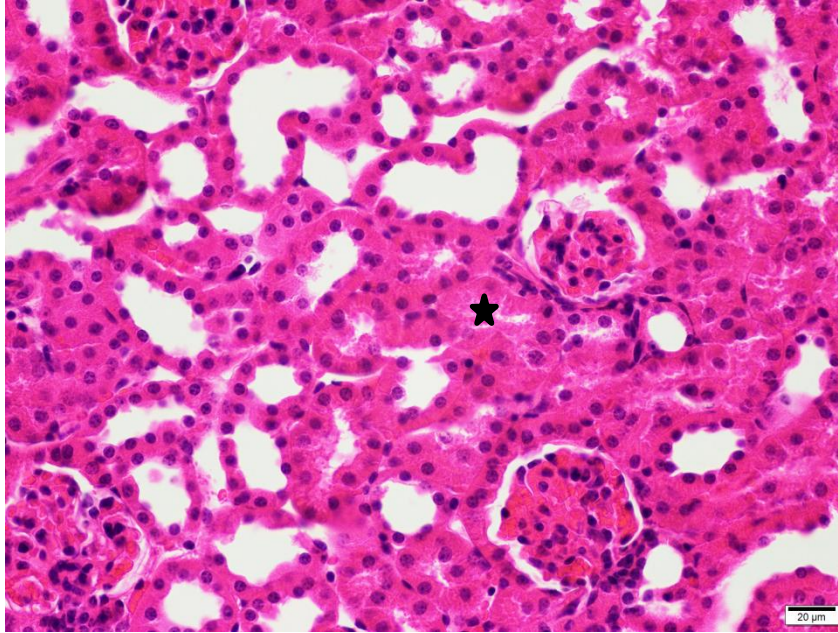
Resim 9. Sham normal yapıdaki böbrek dokusu, H-Ex40.



Resim 10. Pozitif kontrol grubu; böbrek dokusunda görülen tübüler dilatasyon (★) ve eritrosit ekstravazasyonu (➡), H-Ex40.



Resim 11. Grup-3; böbrek dokusunda görülen eritrosit ekstravazasyonu (➡), H-Ex40.



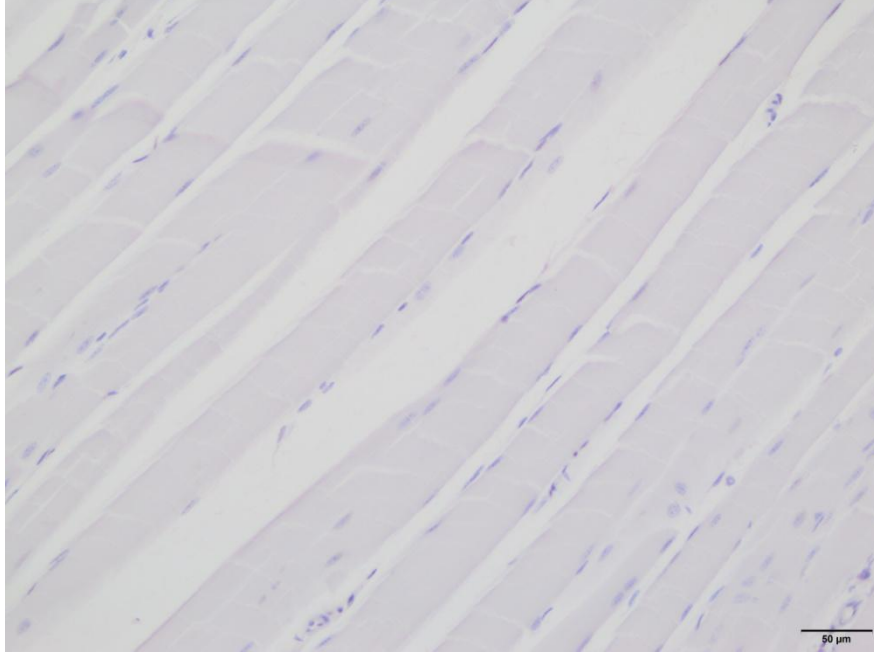
Resim 12. Grup-4; böbrek dokusunda görülen tübüler dilatasyon (★), H-Ex40.

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

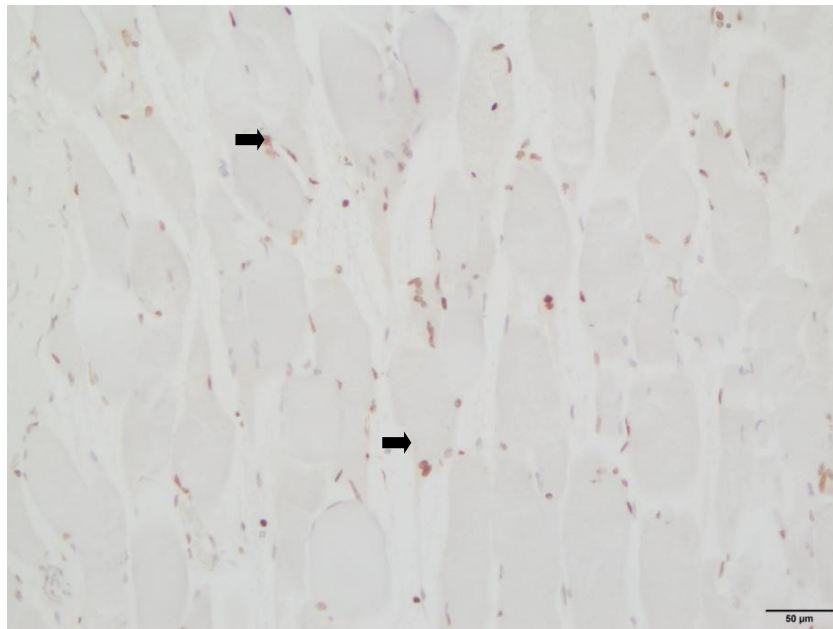
DeneySEL İskemi-reperfüzyon hasarına bağlı, birincil hedef olarak kas ve uzak organ olarak ise akciğer ve böbrek dokularında meydana gelen apoptozisi ortaya koymak amacıyla TUNEL boyama yapıldı. Meydana gelen apoptozisin şiddetini belirlemek için ise gruplar

arasındaki fark her bir doku örneğinde seçilen beş farklı alanda TUNEL-pozitif hücre sayımı ile semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Skorlama; sayılan farklı doku alanlarında görülen normal hücreler ile TUNEL-pozitif hücrelerin yüzdesi hesaplanarak değerlendirildi.

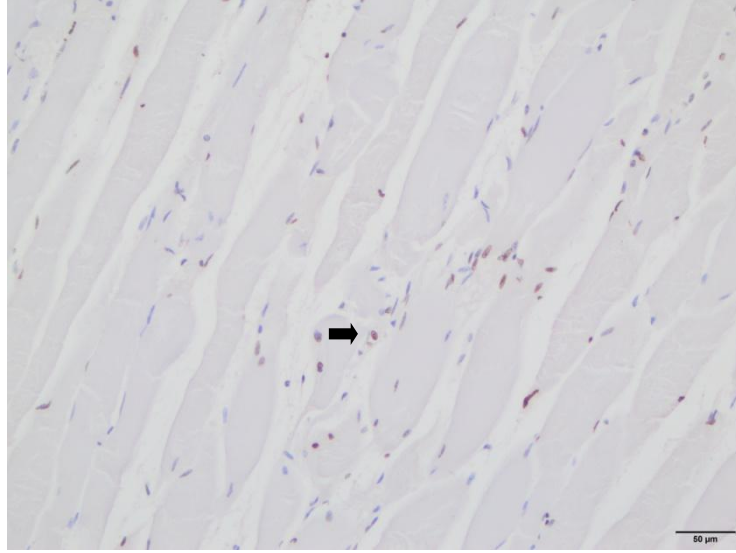
4.2.1. Gastrokinemius Kası Dokusu



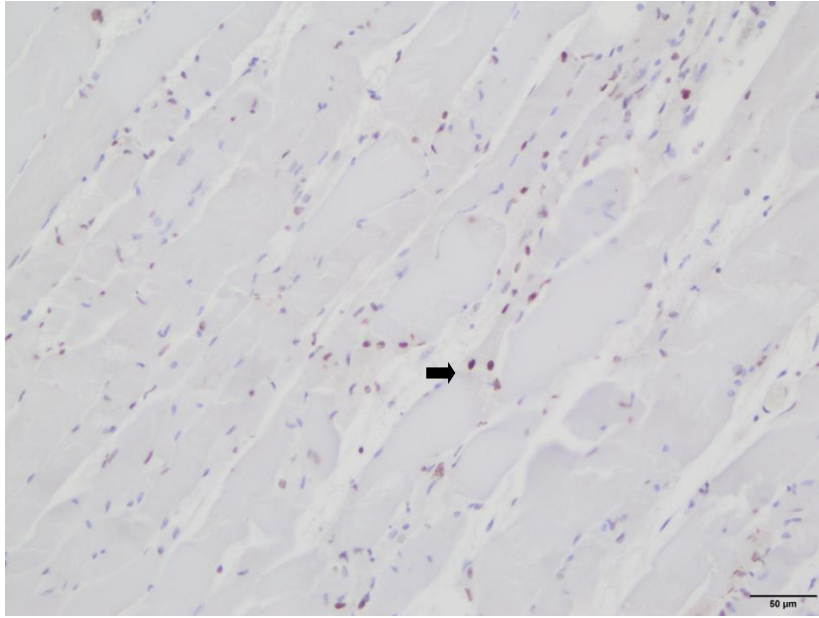
Resim 13. Sham grubu; normal yapıda görülen kas dokusunda TUNEL-negatiflik, x40.



Resim 14. Pozitif kontrol grubu; kas dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.



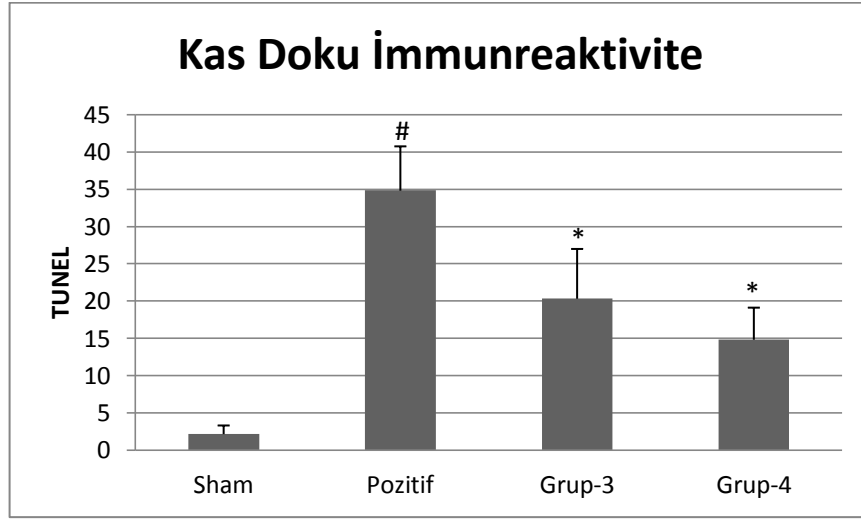
Resim 15. Grup-3; kas dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (→), x40.



Resim 16. Grup-4; kas dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (→), x40.

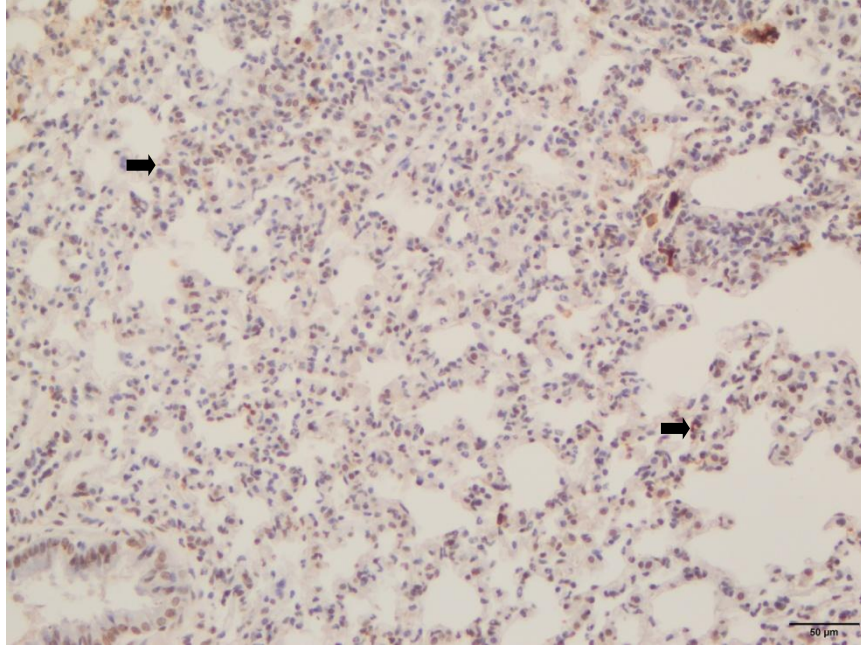
Tablo 2. Kas dokusunun TUNEL immünohistokimyasal skorlaması.

Gruplar	n	Skor (Ortalama±sh)
Sham	6	2,16±1,16
Pozitif Kontrol	6	34,83±5,94
Grup-3	6	20,33±6,68
Grup-4	6	14,83±4,3

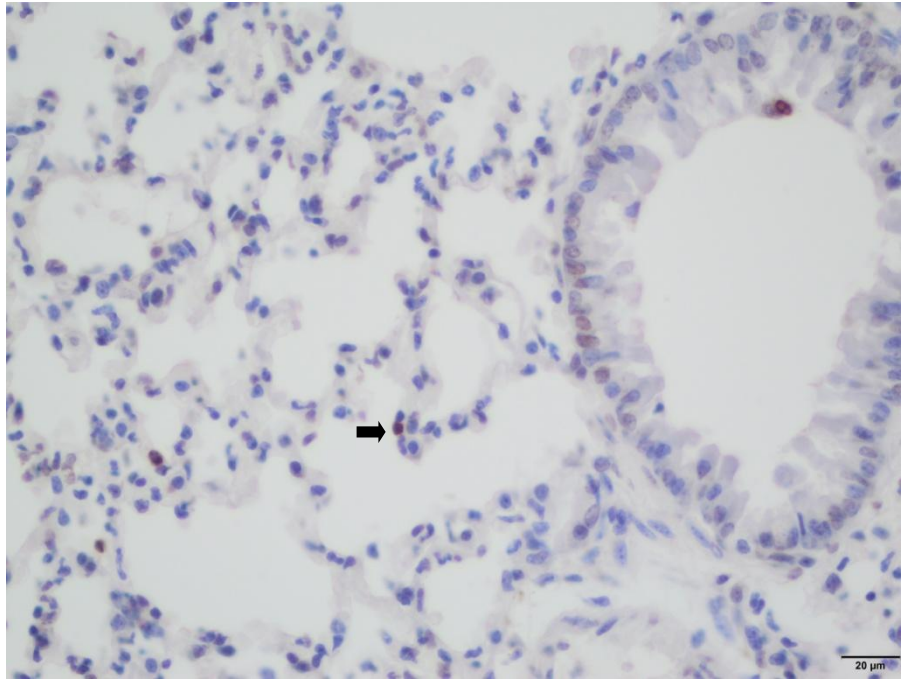


Şekil 2. Kas dokuda görülen TUNEL-pozitif hücre dağılımı. Veriler, grup ortalama±standart hata değerini ifade etmektedir (Gruplar n=6). # $p<0,05$ Sham grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark var, * $p<0,05$ Pozitif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark var (Student T Testi).

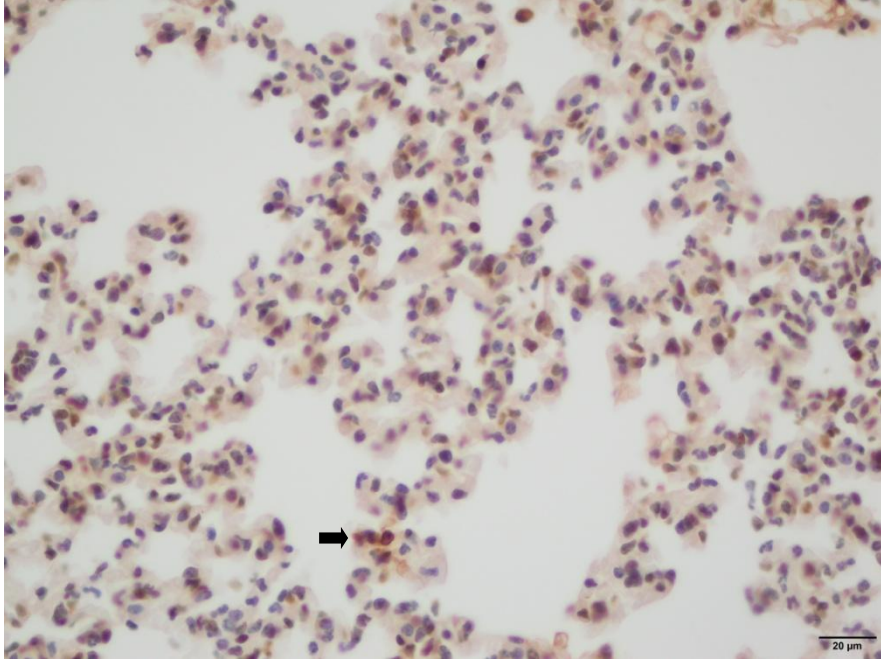
4.2.2. Akciğer Dokusu



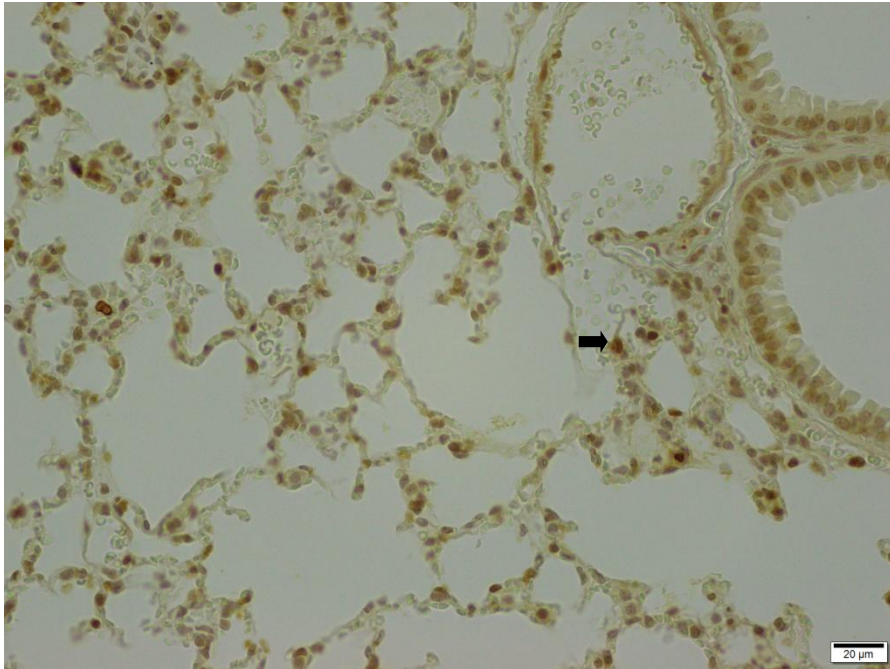
Resim 17. Sham grubu; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.



Resim 18. Pozitif kontrol grubu; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.



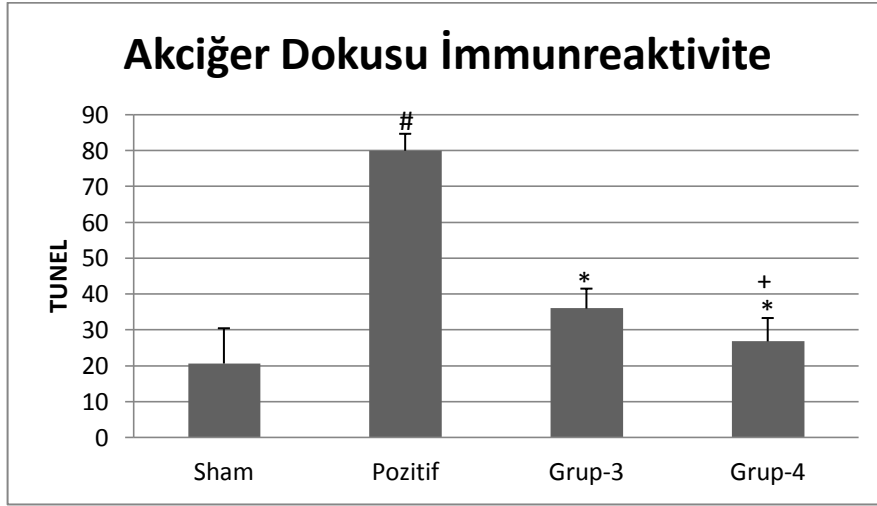
Resim 19. Grup-3; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.



Resim 20. Grup-4; akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.

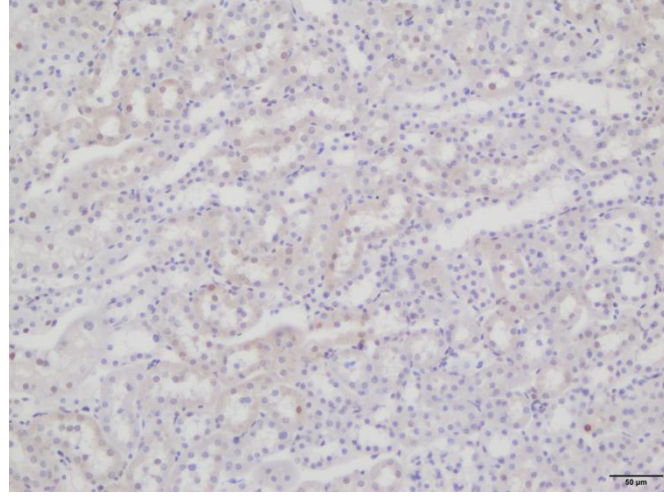
Tablo 3. Akciğer dokusunun TUNEL immünohistokimyasal skorlaması.

Gruplar	n	Skor (Ortalama±sh)
Sham	6	20,66±9,83
Pozitif Kontrol	6	80±4,73
Grup-3	6	36±5,54
Grup-4	6	26,83±6,52

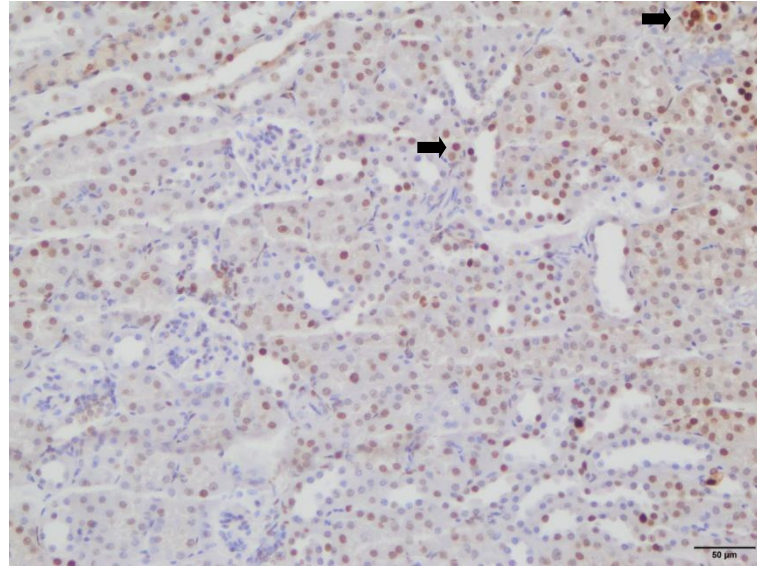


Şekil 3. Akciğer dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücre dağılımı. Veriler, grup ortalama±standart hata değerini ifade etmektedir (Gruplar n=6). # p<0,05 Sham grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark var, *p<0,05 Pozitif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark var, + p<0,05 Grup-3 ile kıyaslandığında anlamlı fark var, (Student T Testi).

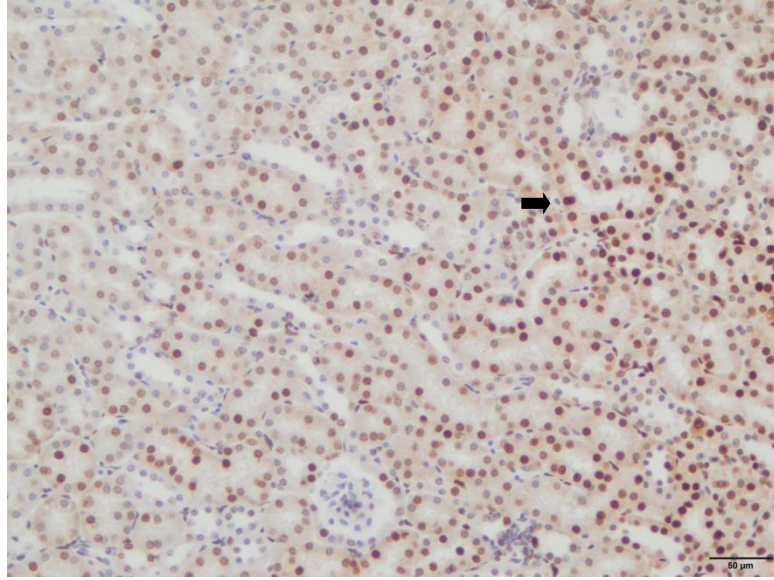
4.2.3. Böbrek Dokusu



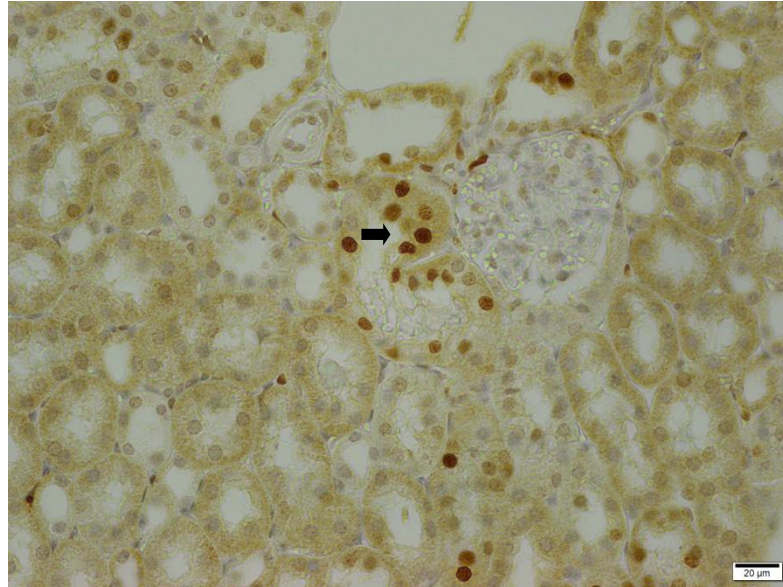
Resim 21. Sham grubu; böbrek dokusunda görülen TUNEL-negatiflik, x40.



Resim 22. Pozitif kontrol grup; böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.



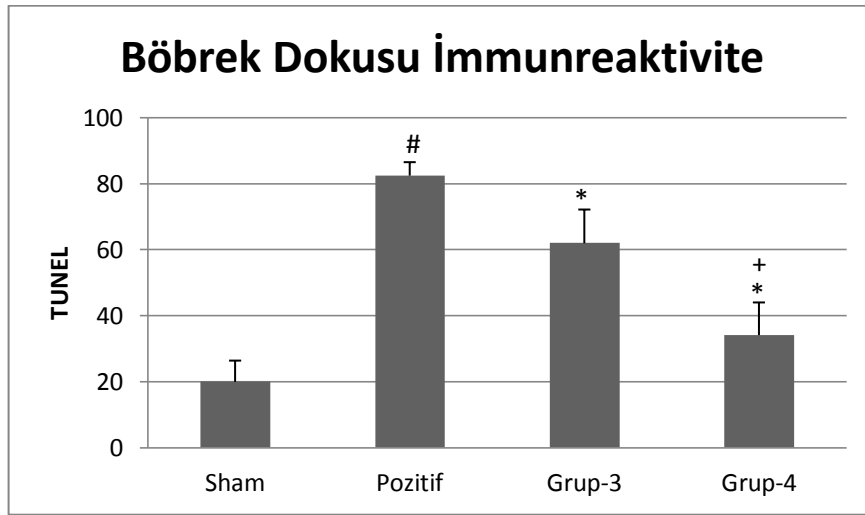
Resim 23. Grup-3; böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.



Resim 24. Grup-4; böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücreler (➡), x40.

Tablo 4. Böbrek dokusunun TUNEL immünohistokimyasal skorlaması.

Gruplar	n	Skor (Ortalama±sh)
Sham	6	20±6,44
Pozitif Kontrol	6	82,5±4,08
Grup-3	6	62±10,23
Grup-4	6	34,16±9,9



Şekil 4. Böbrek dokusunda görülen TUNEL-pozitif hücre dağılımı. Veriler, grup ortalama±standart hata değerini ifade etmektedir (Gruplar n=6). # $p<0,05$ Sham grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark var, * $p<0,05$ Pozitif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark var, + $p<0,05$ Grup-3 ile kıyaslandığında anlamlı fark var, (Student T Testi).

5. TARTIŞMA

Yaptığımız in-vivo çalışma sonucu elde ettiğimiz veriler; fareler üzerinde yapılan deneysel ard bacak İ-R hasarlanması ile birincil hedef olarak iskelet kası, ikincil olarak uzak organlardan böbrek ve akciğerde oluşan hasarlanma üzerine aynı dozda verilen EP'nin verilmiş zamanına bağlı olarak anlamlı ve değişen derecelerde koruyucu etkisi olduğu gözlemlendi.

Günümüzde modern tıbbi bilgilerin gelişen teknoloji ile birlikte ilerlemesi vasküler hastalıkların tedavisinde daha etkili hale gelmiştir bununla birlikte transplantasyon cerrahisi ve organ nakli neredeyse rutin cerrahi işlemler haline gelmiştir. Ancak kaçınılmaz durumlarda yapılan cerrahi tedaviler sonrası İ-R hasarı oluşumunun hala önüne geçilememiştir ve bu bakımdan İ-R hasarına yönelik etkili koruyucuların araştırılması önemli bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır (Rui ve Gen, 2018). Yapılan cerrahi girişimlerde önlem olarak, turnike uygulamalarının kas doku için kritik olan dört saati aşmadan yapılmasına özen gösterilmektedir, biz de çalışmamızda yer verdiğimiz turnike uygulamamızı üç saat ile sınırlandırarak geri dönüşümsüz iskemiden kaçındık. Böylelikle çalışmamız geri dönüşümsüz hasara sebep olmayıp, subletal hipoksik hücre hasarı ile sınırlandırılmıştır (Ostman ve ark, 2004). Veriliş zamanına bağlı etkilerini incelediğimiz EP ise, endojen bir metabolit olan pirüvik asitten türeyen basit alifatik bir ester olup, reaktif oksijen türevlerini tutucu özelliği ile etkili bir anti-inflamatuvar ajandır (Fink, 2007; Fink, 2008; Yang ve ark, 2004; Kao ve Fink, 2010). Yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen verilere göre, söz konusu esterinin pro-inflamatuvar sitokinler ve NF-kappaB salınımını baskılayarak anti-inflamatuvar etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Caglayan ve ark 2014; Chung ve ark 2008; Fink, 2008; Gures ve ark 2014; Hu ve ark 2012; Pulathan ve ark 2014).

Çalışmamızda histopatolojik açıdan; birincil olarak iskelet kasında ve uzak organ olarak ise akciğer ve böbrek dokularında meydana getirdiğimiz İ-R hasarının düzeyini ve koruyucu olarak verdiğimiz EP'nin etkilerini inceledik. Doku düzeyinde meydana gelen dejeneratif değişiklikler ve mononükleer hücre infiltrasyonunu gözlemleyebilmek için H-E boyama yönteminden yararlandık. Oluşan apoptoz ve düzeyini belirlemek için ise TUNEL immunreaktivitesinin gözlemi ve skorlanması yoluna gittik.

H-E boyama yöntemi uygulanarak histopatolojik yönden değerlendirilen, İ-R hasarı modeli oluşturulan çalışmalarda kas, akciğer ve böbrek dokularında hasarlanma meydana geldiği gözlemlenmiştir. Farelerin kalça eklemine bilateral turnike ile oluşturulan üç saat iskemi

modeli uygulanarak gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen örneklerin H-E ile histopatolojik olarak incelenmesi sonucu iskelet kası dokusunda; miyofibrillerde disorganizasyon ve dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu (Corrick ve ark, 2018), akciğer dokusunda; parankimada mononükleer hücre infiltrasyonu, septumda kalınlaşma (Ye ve ark, 2018), böbrek dokusunda ise; mononükleer hücre infiltrasyonu, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon, tübüler atrofi (Yang ve ark, 2018) gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara paralel sonuçlar, Pozitif kontrol grubu dokularında H-E boyama sonrası histopatolojik olarak gözlemlendi. Bunun yanı sıra reperfüzyon öncesi EP verilen grup dokularında iskemi öncesi EP verilen grup dokularına kıyasla daha az hasarlanma bulgularına rastlandığı saptandı.

TUNEL immunreaktivitesi açısından değerlendirilen, İ-R hasarı modeli oluşturulan çalışmalarda kas, akciğer ve böbrek dokuları TUNEL-pozitif hücreler yönünden incelenmiştir. Farelerin kalça eklemine bilateral turnike ile oluşturulan üç saat iskemi modeli uygulanarak veya arteriyel ligasyon gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen örneklerin TUNEL immunreaktivitesi yönünden yapılan incelemeleri sonucu iskelet kası dokusunda (Fan ve ark, 2017), akciğer dokusunda (Ye ve ark, 2018), böbrek dokusunda (Kao ve ark, 2015) TUNEL-pozitif hücreler gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara paralel sonuçlar elde edildi. Bununla birlikte reperfüzyon öncesi EP verilen grup dokularında iskemi öncesi EP verilen grup dokularına kıyasla daha az TUNEL-pozitif hücre sayıldı ve istatistiksel anlamlılıkla desteklendi.

Yaptığımız deneysel araştırma çalışması sonucu ortaya çıkan bulgular istatistiksel veriler de göz önünde bulundurulduğunda, EP'nin verilmiş zamanına bağlı olarak değişen ve istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etkisi olduğunu ve gözlemlenen etkinin EP'nin anti-inflamatuar etkisinden ileri geldiğini düşünebiliriz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamız dahilinde birincil olarak oluşturulan ard bacak İ-R modeli ve ikincil olarak oluşturulan uzak organ (böbrek ve akciğer) hasarı üzerine dozdan bağımsız verilmiş zamanına bağlı EP'nin koruyucu etkisi olduğu histopatolojik olarak ortaya konmuştur. İskelet kasında ve uzak organlarda İ-R'ye bağlı hasarlanma oksidatif stres kaynaklı olup, EP'nin koruyucu etkisinin anti-inflamatuar özelliğinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Projemizde yer alan deneysel İ-R hasarı modeli tasarımı gereği gerçekleştirilen üç saat iskemi üç saat reperfüzyon protokolü, iskelet kası için geri dönüşü olmayan bir hasarlanmaya neden olmamaktadır. Günümüzde çeşitli sebeplerden kaynaklı insanların tedavisi için cerrahi girişimler gerçekleştirilmektedir, bu girişimler esnasında bazen bacağın turnikeye alınması söz konusudur. Operasyonlar esnasında iskemi süresinin dört saati aşmamasına olabildiğince özen gösterilmektedir, ancak gösterilen özene rağmen birincil organ ya da ikincil olarak uzak organlarda hastanın fizyolojik durumuna da bağlı gelişen değişen derecelerde hasarlanma meydana gelebilmektedir.

Çalışmamızdan elde edilen veriler ışığında, EP'nin antioksidan özelliğinden faydalanılarak yapılan cerrahi girişimlerde koruyucu madde olarak kullanılabilirliğinin daha detaylı araştırılmasının faydalı olabileceği kanaatindeyiz. Bunun için ileri laboratuvar tekniklerinden yararlanılarak EP'nin insan sağlığı üzerindeki etkileri araştırılarak klinik açıdan etkileri değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

Ball CJ, Reiffel AJ, Chintalapani S, Kim M. Spector JA, King MR. Hydrogen sulfide reduces neutrophil recruitment in hind-limb ischemia-reperfusion injury in an L-selectin and ADAM-17-dependent manner. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2013, 131, 487-497.

Barry MC, Kelly C, Burke P, Sheehan S, Redmond HP, BouchierHayes D. Immunological and physiological responses to aortic surgery: Effect of reperfusion on neutrophil and monocyte activation and pulmonary function. *British Journal of Surgery* 1997, 84, 513-519.

Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovascular Surgery* 2002, 10(6), 620-30.

Caglayan EK, Caglayan K, Gocmen AY, Cinar H, Seckin L, Seckin S, Gungor B. Protective effect of ethyl pyruvate on ischemia-reperfusion injury in rat ovary: biochemical and histopathological evaluation. *European Journal of Obstetrics&Gynecology and Reproductive Biology* 2014, 182, 154-159.

Charles JP, Cappellari O, Spence AJ, Hutchinson JR, Wells DJ. Musculoskeletal geometry, muscle architecture and functional specialisations of the mouse hindlimb. *Plos One* 2016, 11(4), e0147669.

Chung KY, Park JJ, Kim YS. The role of high-mobility group box-1 in renal ischemia and reperfusion injury and the effect of ethyl pyruvate. *Transplantation Proceedings* 2008, 40, 2136-2138.

Corrick RM, Tu HY, Zhang DZ, Barksdale AN, Muelleman RL, Wadman MC, Li YL. Dexamethasone Protects Against Tourniquet-Induced Acute Ischemia-Reperfusion Injury in Mouse Hindlimb. *Frontiers in Physiology* 2018, 9, 244.

DeLaurier A, Burton N, Bennett M, Baldock R, Davidson D, Mohun TJ, Logan MPO. The Mouse Limb Anatomy Atlas: An interactive 3D tool for studying embryonic limb patterning. *BMC Developmental Biology* 2008, 8, 83.

Dillon JP, Laing AJ, Chandler JR, Wang JH, McGuinness A, Redmond HP. Pravastatin attenuates tourniquet-induced skeletal muscle ischemia reperfusion injury. *Acta Orthopaedica* 2006, 77, 27-32.

Fan WS, Han D, Sun ZC, Ma S, Gao L, Chen JW, Li X, Li XJ, Fan MM, Li CY, Hu DH, Wang YB, Cao F. Endothelial deletion of mTORC1 protects against hindlimb ischemia in diabetic mice via activation of autophagy, attenuation of oxidative stress and alleviation of inflammation. *Free Radical Biology and Medicine* 2017, 108, 725–740.

Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel anti-inflammatory agent. *Journal of Internal Medicine* 2007, 261, 349-362.

Fink MP. Ethyl pyruvate. *Current Opinion in Anaesthesiology* 2008, 21, 160-167.

Fink MP. The therapeutic potential of pyruvate. *Journal of Surgical Research* 2010, 164, 218-220.

Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery* 1994, 81, 637-647.

Gures N, Karaman M, Tavusbay C, Kolatan E, Celik A, Pekcetin C, Cavdar Z, Kume T, Guneli E, Yilmaz O. Anti-inflammatory and antioxidant effects of ethyl pyruvate on colitis: In a rat model. *Biomedical Research-India* 2014, 25, 203-207.

Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthuis RJ. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998, 179, 169-187.

Hu X, Cui B, Zhou X, Xu C, Lu Z, Jiang H. Ethyl pyruvate reduces myocardial ischemia and reperfusion injury by inhibiting high mobility group box 1 protein in rats. *Molecular Biology Reports* 2012, 39, 227-231.

Huda R, Solanki DR, Mathru M. Inflammatory and redox responses to ischaemia/reperfusion in human skeletal muscle. *Clinical Science (London, England: 1979)* 2004, 107, 497-503.

Kao KK, Fink MP. The biochemical basis for the anti-inflammatory and cytoprotective actions of ethyl pyruvate and related compounds. *Biochemical Pharmacology* 2010, 80, 151-159.

- Kao MC, Chung CY, Chang YY, Lin CK, Sheu JR, Huang CJ.** Salutary Effects of Cepharanthine against Skeletal Muscle and Kidney Injuries following Limb Ischemia/Reperfusion. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2015, 2015, 1-11.
- Kochi T, Imai Y, Takeda A, Watanabe Y, Mori S, Tachi M, Kodama T.** Characterization of the Arterial Anatomy of the Murine Hindlimb: Functional Role in the Design and Understanding of Ischemia Models. *Plos One* 2013, 8(12), e84047.
- Krinke GJ.** Normative Histology of Organs. In: Hedrich HJ, Bullock G (eds), *The Laboratory Mouse*. USA, Elsevier Academic Press, 2004, s133-166.
- Latanich CA, Toledo-Pereyra LH.** Searching for NF-kappaB-based treatments of ischemia reperfusion injury. *Journal of Investigative Surgery* 2009, 22, 301-315.
- Malinoski DJ, Slater MS, Mullins RJ.** Crush injury and rhabdomyolysis. *Critical Care Clinics* 2004, 20, 171-192.
- Ostman B, Michaelsson K, Rahme H, Hillered L.** Tourniquet-induced ischemia and reperfusion in human skeletal muscle. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2004, 418, 260-265.
- Paradis S, Charles AL, Meyer A, Lejay A, Scholey JW, Chakfe N, et al.** Chronology of mitochondrial and cellular events during skeletal muscle ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2016, 310(11), C968-82.
- Pulathan Z, Altun G, Hemsinli D, Mentese A, Yulug E, Civelek A.** Role of ethyl pyruvate in systemic inflammatory response and lung injury in an experimental model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *Biomed Research International* 2014, 2014, 857109.
- Rui G, Gen L.** Tanshinone modulates the expression of Bcl-2 and Bax in cardiomyocytes and has a protective effect in a rat model of myocardial ischemia-reperfusion. *Hellenic Journal of Cardiology* 2018, 59, 323-328.
- Sabido F, Milazzo VJ, Hobson RW, 2nd, Duran WN.** Skeletal muscle ischemia-reperfusion injury: a review of endothelial cell-leukocyte interactions. *Journal of Investigative Surgery* 1994, 7, 39-47.

Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004, 24(6), 468-75.

Wakai A, Wang JH, Winter DC, Street JT, O'Sullivan RG, Redmond HP. Tourniquet-induced systemic inflammatory response in extremity surgery. *Journal of Trauma-Injury Infection and Critical Care* 2001, 51(5), 922-926.

Wakai A, Winter DC, Street JT, Redmond PH. Pneumatic tourniquets in extremity surgery. *Journal of the American Academy of Orthopaedics Surgeons* 2001, 9(5), 345-351.

Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Therapeutic interventions against reperfusion injury in skeletal muscle. *Journal of Surgical Research* 2011, 171, 175-182.

Yang R, Uchiyama T, Alber SM, Han X, Watkins SK, Delude RL, Fink MP. Ethyl pyruvate ameliorates distant organ injury in a murine model of acute necrotizing pancreatitis. *Critical Care Medicine* 2004, 32, 1453-1459.

Yang XH, Wang YH, Wang JJ, Liu YC, Deng W, Qin C, Gao JL, Zhang LY. Role of angiotensin-converting enzyme (ACE and ACE2) imbalance on tourniquet-induced remote kidney injury in a mouse hindlimb ischemia-reperfusion model. *Peptides* 2018, 1, 60-70.

Ye YZ, Shan Y, Bao C, Hu Y, Wang L. Ginsenoside Rg1 protects against hind-limb ischemia reperfusion induced lung injury via NF-kappa B/COX-2 signaling pathway. *International Immunopharmacology* 2018, 60, 96-103.

EKLER

Ek 1. Dokuz Eylül Üniversitesi HADYEK



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

35340. İnciraltı, İzmir-232 4122234

Gündem No/Toplantı No/Yıl : 05/20/2015
Toplantı Tarihi : 06 Ekim 2015

Sayın, Prof. Dr. Recai TUNCA

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Patoloji Anabilim Dalı

47/2015 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz "Etik Prüvatin Noninvaziv Ard Bacak İskemi-Reperfüzyonuna Bağlı İskelet Kası ve Uzak Organ Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof. Dr. Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı

Prof. Dr. Safiye AKTAŞ
Üye

Prof. Dr. Gülgün OKTAY
Üye

Prof. Dr. Mehmet Ensari GÜNELİ
Üye (Topl. Katılmadı)

Doç. Dr. Meral KARAMAN
Üye (Topl. Katılmadı)

Doç. Dr. Türkan ERTAY
Üye

Doç. Dr. Zekiye Sultan ALTUN
Üye

Zehra KINAM
Üye

Prof. Dr. Ali Necati SÖKMEN
Başkan Vekili

Prof. Dr. Hüsnü Alper BAĞRIYANIK
Üye

Prof. Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye

Prof. Dr. Günay KIRKÇI
Üye

Doç. Dr. Pembe UYGUN KESKİNOĞLU
Üye

Doç. Dr. Nermin Nüket GÖÇMEN MAS
Üye (Topl. Katılmadı)

Yard. Doç. Dr. Orhan KALEMÇİ
Üye (Topl. katılmadı)

Vet. Hekim Adnan SERPEN
Üye

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde bold karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : KAMACI ÖZOCAK, GONCA
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Demirci/MANİSA-05.12.1985
Telefon : 0532 740 7313
E-mail : goncakamaci@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü	21.10.2016
Y. Lisans	Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi	08.07.2010

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2011-2012	Erciyes Üniversitesi	Araş. Gör.
2012-2016	Dokuz Eylül Üniversitesi	Araş. Gör.
2016-2017	Erciyes Üniversitesi	Dr. Araş. Gör.
2017-Halen	Erciyes Üniversitesi	Dr. Öğr. Üyesi

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Asuman Feda Bayrak, Yuksel Olgun, Ayla Ozbakan, Safiye Aktas, Can Ahmet Kulan, Gonca Kamaci, Emine Demir, Osman Yilmaz, Levent Olgun (2017). The Effect of Insulin Like Growth Factor-1 on Recovery of Facial Nerve Crush Injury. *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*, 10(4): 296-302.

Sayin, O; Micili, SC; Goker, A; Kamaci, G; Ergur, BU; Yilmaz, O; Akdogan, GG (2017). The Role of Resveratrol on Full - Thickness Uterine Wound Healing in Rats. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 56(5): 657-663.

Taylan, E ; Doyuran, K; Micili, SC; Kamaci, G; Guneli, E; Resmi, H (2017). Development of a treatment based on proteasomal inhibition and antioxidant usage in protein wasting observed in diabetes. *FEBS Journal*, 284 (1): 298-299.

Hancı Volkan, Özbilgin Şule, Özbal Seda, Kamacı Gonca, Hasan Ateş, Boztaş Nilay, Ergür Bekir Uğur, Arıkanoglu Ahmet, Yılmaz Osman, Yurtlu Bülent Serhan (2016). Evaluation of The Effects of Intra-Arterial Sugammadex and Dexmedetomidine: an Experimental Study. Brazilian Journal of Anesthesiology, 66(5):456-464.

Yurtlu Bülent Serhan, Özbilgin Şule, Yurtlu Arslan Derya, Boztaş Nilay, Kamacı Gonca, Akaltun Mahmut, Hancı Volkan, Yılmaz Osman (2016). Intravenous Lipid Emulsion Prolongs Survival in Rats Intoxicated With Digoxin. The American Journal of Emergency Medicine, 34(6):1112–1116.

Hancı Volkan, Özbilgin Şule, Boztaş Nilay, Yurtlu Arslan Derya, Onat Levent, **Kamacı Gonca**, Yurtlu Bülent Serhan, Güneli Mehmet Ensari, Şişman Ali Rıza, Arıkanoglu Ahmet (2014). Evaluation of the Effectiveness of Sugammadex for Teophylline/Aminophylline Intoxication: an Experimental Study. Latin American Journal of Pharmacy, 33(8):1290-1296.

Özbilgin Şule, Özbilgin Mucahit, Küçüköztaş Beyza , **Kamacı Gonca** , Ünek Tarkan , Yurtlu Bülent Serhan, Güneli Mehmet Ensari, Hancı Volkan, Günerli Ali (2013). Evaluation of the Effectiveness of Sugammadex for Verapamil Intoxication. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 113:280–285.

Kalemci Serdar, Cilaker Mıçılı Serap, Acar Tolgahan, Şenol Tuncay, Dirican Nigar, Ömeroğlu Gökçen, Bağrıyanık Alper, **Kamacı Gonca**, Yılmaz Osman (2013). Effectiveness of Thymoquinone In The Treatment of Experimental Asthma. Clinica Terapeutica, 164(3):E155-E158.

Mıçılı Cilaker Serap, Kalemci Serdar, Acar Tolgahan, Bağrıyanık Hüsnu Alper, **Kamacı Gonca**, Şimşek Ömeroğlu Gökçen, Şenol Tuncay, Yılmaz Osman (2013). Deneysel Astım Modelinde Çörek Otu'nun Etkinliği ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünün Rolü. Smyrna Tıp Dergisi, 2:34-39.

2. PROJELER

Alt Yapı Projesi
“Büyük Deney Hayvanları Araştırma Alt Yapı Projesi”, DPT Destekli, 2016K121170, Araştırmacı, 2016-Devam Ediyor.
Üniversite Dışı Destekli Projeler
“Diyabette Gözlenen Kas Kaybında Kalpain Enzimlerinin Rolünün Araştırılması”, TÜBİTAK Destekli, 114S200, Araştırmacı, 2014-2015.
“Sıçanlarda Uterus Hasar Modelinde Resveratrolün Etkisinin Değerlendirilmesi”, TÜBİTAK Destekli, 113S829, Yardımcı Personel, 2014-2015.
Üniversite Destekli Projeler
“Diyabetik Sıçanlarda Curcumin'in Flep Sağkalımına Etkilerinin İncelenmesi” BAP, TCD-2019-8344, Yürütücü, 2019-Devam Ediyor.
“Pankreas ve İskelet Kas Dokusunda Vasküler Endotelial Büyüme Faktör ile Nitrik Oksit Sistemi Üyelerinin Ekspresyonu; L-Argininin Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlardaki Etkileri” BAP, TOA-2017-7167, Araştırmacı, 2017- Devam Ediyor.
“Etil Pirüvatın Noninvaziv Ard Bacak İskemi-Reperfüzyonuna Bağlı İskelet Kası ve Uzak Organ Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi”, BAP Y. Lisans, VTF-16013, Yardımcı Yürütücü, 2016-Devam Ediyor.

“Ghrelinin İskemi-Reperfüzyona Bağlı İskelet Kası ve Uzak Organ Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi”, BAP Doktora, 2012.KB.SAG.038, Araştırmacı, 2012-2014.

“Sprague-Dawley Standart Sıçan Kolonisinin Oluşturulması ve Bilimsel Araştırmalarda Kullanılması”, BAP Destekli, 2014.KB.SAG.040, Araştırmacı, 2014-2015.

“DEÜ Deney Hayvanları Laboratuvarı’nda Konvensiyonel Olarak Yetiştirilen Sıçanlarda Sütanne Kullanımının Mikrobiyolojik İzlem Üzerine Etkileri”, BAP Y. Lisans, 2012.KB.SAG.101. 2012-2014.

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Kamaci G., "Experimental Exercise Protocols in Alzheimer's Disease Investigations", 6. International Conference on Science Culture and Sport, Lviv, UKRAYNA, 25-27 Nisan 2018, pp.135-135

Taylan E., Doyuran K., Cilaker Mıcılı S., **Kamaci G.**, Güneli M.E., Resmi H., "Development of a treatment based on proteasomal inhibition and antioxidant usage in protein wasting observed in diabetes", 42nd Congress of the Federation-of-European-Biochemical-Societies (FEBS) on From Molecules to Cells and Back, Jerusalem, İSRAİL, 10-14 Eylül 2017, pp.298-299

Sayın O., Cilaker Mıcılı S., Goker A., **Kamaci G.**, Ergür B., Yılmaz O., Akdoğan G., "The Role Of Resveratrol On Full -Thickness Uterine Wound Healing In Rats", Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Aydın, TÜRKİYE, 29 Haziran - 1 Temmuz 2017, pp.706-706.

Kamaci Gonca, Çelik Aslı,Özbal Seda, Taylan Ebru, Resmi Halil, Ergür Bekir Uğur, Karaman Meral, Yılmaz Osman, Güneli Mehmet Ensari (2016). Investigation of Effects of Ghrelin on Skeletal Muscle and Remote Organ Injury Induced by Hindlimb Ischemia Reperfusion. FELASA Congress, Brüksel, BELÇİKA, Haziran 2016, p. 106.

Uluslararası Katılımlı Bildiriler

Kamaci Gonca, Çelik Aslı,Özbal Seda, Taylan Ebru, Resmi Halil, Ergür Bekir Uğur, Karaman Meral, Yılmaz Osman, Güneli Mehmet Ensari (2015). Ghrelinin İskemi Reperfüzyona Bağlı İskelet Kası ve Uzak Organ Hasarı Üzerine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. 4. Laboratuvar Hayvanları Bilimi Ulusal Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 56-57.

Kamaci Gonca, Kolatan Hatice Efsun, Yılmaz Osman, Güneli Mehmet Ensari (2013). Dokuz Eylül Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Biriminde Konvensiyonel Olarak Yetiştirilen Wistar Albino Sıçanların Zamana Bağlı Ağırlık Değişimlerinin İncelenmesi. 3. Laboratuvar Hayvanları Bilimi Ulusal Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 114-115.

Çelik Aslı, Kolatan Hatice Efsun, Baltacıoğlu Gökmen, **Kamaci Gonca**, Güneli Mehmet Ensari, Yılmaz Osman, Karaman Meral (2013). DEÜTF Deney Hayvanları Laboratuvarında Konvensiyonel Olarak Yetiştirilen Balb/C Farelerde Mikrobiyolojik İzlem. 3. Laboratuvar Hayvanları Bilimi Ulusal Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 104-105.

Çelik Aslı, Uygul Engin, Aysal Gülser, Emrah Atay, Elif Sazak, Doğan Muhammet, Çınar Ali, Ergür

Bekir Uğur, Akokay Pınar, Taş Ayşegül, Kıvrakdal Burcu, **Kamacı Gonca**, Güneli Mehmet Ensari (2013). Streptozotosinle Oluşturulan Diyabet Modelinde Gelişen Kognitif Bozukluklarda Etil Pirüvat Etkisinin Araştırılması. 3. Laboratuvar Hayvanları Bilimi Ulusal Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 116-117.

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Özbilgin Şule, Yurtlu Arslan Derya, Küçüköztaş Beyza, **Kamacı Gonca**, S. Korkut, Yurtlu Bülent Serhan, Güneli Mehmet Ensari, Hancı Volkan, Günerli Ali (2013). Digoksin İntoksikasyonunda Sugammadeks Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 47. Ulusal Kongresi. (Yarışma Sunusu)