

**T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**KÖPEKLERDE OVARYOHİSTEREKTOMİ  
OPERASYONUNDA LİDOKAİN VE MELOKSİKAM  
UYGULAMALARININ POSTOPERATİF GLUTATYON  
PEROKSİDAZ, KATALAZ VE MALONDİALDEHİT  
KONSANTRASYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**ABDULLAH GÜNDÜZ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-20012 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2021**

## KABUL VE ONAY SAYFASI



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi, kültür birikimi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bu süreçte her zaman özveri ile yol gösteren, bu tezin hazırlanmasında büyük emeği olan tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Bayazıt MUSAL, Prof. Dr. Güneş ERDOĞAN, Prof. Dr. Hakkı Bülent BECERİKLİSOY ve Dr. Öğretim Üyesi Bilginer TUNA'ya,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca çeşitli konularda bilgi birikimini benimle paylaşan, yüksek lisans eğitimime yaptığı katkı ve verdiği emek için değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA'ya,

Öğrencileri olmaktan ve aynı mesaiyi paylaşmaktan her daim onur duyduğum, mesleğim ve hayatımın her kademesinde varlıkları ile gururlandığım, tez çalışmamda büyük katkıları olan değerli meslek büyüklerim sayın Arş. Gör. Dr. Eyüp Hakan UÇAR, Araş. Gör. Dr. Cevdet PEKER ve Arş. Gör. Dr. Yasin PARTALIR ve Arş. Gör. Dr. Ceren DİNLER AY'a,

Her daim desteğini benden esirgemeyen, değerli meslektaşım, sayın ağabeyim ve kıymetli dostum sayın Uzm. Veteriner Hekim Erhan AY'a,

Veteriner Hekimlik mesleğine birlikte ilk adımı attığım, yüksek lisans sürecine beraber başladığımız, aynı mesleği ve arkadaşlığını paylaşmaktan her daim onur ve gurur duyduğum, her kademe yardımlarını benden esirgemeyen değerli meslektaşım sayın Öğretim Gör. Uzm. Veteriner Hekim Eser ÇAKMAKÇI'ya,

Laboratuvarlarını bize açarak serum biyokimyasal analizlerin her aşamasında emeği geçen Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK'e ve yardımlarından dolayı Veteriner Hekim Bilgehan AKAR ve Arş. Gör. Gamze Servi EKREN'e,

Yüksek lisans ve tez aşamam boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi, değerli arkadaşım Veteriner Hekim Oğuz VAROĞLU'na,

Bugüne kadar ne zaman yorulsam, zorlansam, desteğini her zaman yanımda hissettiğim Veteriner Hekim Rabia KAYA'ya

Tez çalışmamdaki desteklerinden dolayı BAP koordinatörlüğüne,

Hayatım boyunca sevgisini ve desteğini her an hissettiğim, her zaman yanımda olan bu günlere gelmemin mimarı olan en büyük teŖekkürü hak eden aileme sonsuz teŖekkürlerimi sunarım.



# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
RESİMLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Ovaryohistektomi .....	2
2.2. Oksidatif Stres .....	3
2.3. Ovaryohistektomi ve Oksidatif Stres .....	5
2.4. Oksidatif Stresin Ölçülmesi.....	6
2.5. Serbest Radikaller.....	7
2.6. Serbest Radikallerin Oluşumu ve Biyolojik Etkileri .....	9
2.6.1. Lipitlere Etkileri .....	11
2.6.1.1. Malondialdehit.....	12
2.6.2. Proteinlere Etkileri.....	12
2.6.3. DNA Üzerine Etkileri.....	13
2.7. Antioksidan Savunma Sistemi.....	14
2.7.1. Enzimatik olmayan Antioksidanlar .....	14
2.7.2. Enzimatik Antioksidanlar .....	14
2.7.2.1. Süperoksit dismutaz.....	15
2.7.2.2. Glutasyon peroksidaz.....	15
2.7.2.3. Katalaz.....	16
2.8. Postoperatif Oksidatif Stresin Önlenmesi.....	17
2.8.1. Köpeklerde Lokal Anestezikler .....	17
2.8.2. Köpeklerde Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar .....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Gereç.....	21
3.1.1. Hayvan Materyali ve Grupların Oluşturulması .....	21
3.1.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	23

3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması .....	24
3.2.3. Malondialdehit, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz Ölçümü .....	25
3.2.4. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	26
4. BULGULAR .....	27
4.1. Klinik Bulgular .....	27
4.2. Laboratuar Bulguları .....	27
4.2.1. Serum MDA .....	27
4.2.2. Serum CAT.....	28
4.2.3. Serum GSH-Px .....	30
5.TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	36
KAYNAKLAR.....	37
EKLER .....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	55

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ASS</b>	: Antioksidan savunma sistemi
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>COX</b>	: Siklooksinejaz
<b>COX 1</b>	: Siklooksijenaz-1
<b>COX2</b>	: Siklooksijenaz-2
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>ELISA</b>	: Enzim Bağlantılı İmmünosorbent
<b>Fe</b>	: Demir
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>L</b>	: Lidokain Grubu
<b>LM</b>	: Lidokain+ Meloksikam Grubu
<b>M</b>	: Meloksikam Grubu
<b>K</b>	: Kontrol Grubu
<b>MDA</b>	: Melonadialdehit
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mmol</b>	: Milimol
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>nmol</b>	: Nanomol
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NSAİİ</b>	: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
<b>Mn</b>	: Manganez
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b>O<sub>3</sub></b>	: Ozon
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil radikal
<b>OHE</b>	: Ovaryohistektomi
<b>ONOO</b>	: Peroksinitrit
<b>PUFA</b>	: Çoklu doymuş yağ asidi

**ROS** : Reaktif nitrojen türleri  
**RNS** : Reaktif oksijen türleri  
**SC** : Deri altı  
**SOD** : Süperoksit dismutaz  
**Zn** : Çinko



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hasta değerlendirme formu.....	22
Şekil 2. Çalışma grupları.....	23
Şekil 3. Serum MDA konsantrasyonlarındaki değişimler.....	28
Şekil 4. Serum CAT konsantrasyonlarındaki değişimler.....	29
Şekil 5. Serum GSH-Px konsantrasyonlarındaki değişimler.....	30



## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Oksidatif denge .....	4
<b>Resim 2.</b> Serbest radikallerin kaynakları ve etkileri .....	11
<b>Resim 3.</b> Serbest radikallerin lipit, protein ve DNA üzerine etkileri ve sonuçları.....	13



## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> ROS serbest radikalleri.....	10
<b>Tablo 2.</b> Köpeklerin tanımlayıcı özellikleri.....	21



## ÖZET

### KÖPEKLERDE OVARYOHİSTEREKTOMİ OPERASYONUNDA LİDOKAİN VE MELOKSİKAM UYGULAMALARININ POSTOPERATİF GLUTATYON PEROKSİDAZ, KATALAZ VE MALONDİALDEHİT KONSANTRASYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

**Gündüz A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.**

Bu tezin amacı, rutin ovaryohisterektomi (OHE) geçiren sağlıklı köpeklerde lidokain ve meloksikam uygulamalarının postoperatif oksidatif stres belirteçleri üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne OHE talebiyle getirilen 28 adet dişi köpek kullanıldı. Köpekler rastgele 4 eşit gruba [Grup Kontrol (n=7), Grup Lidokain (n=7), Grup Meloksikam (n=7) ve Grup Lidokain-Meloksikam (n=7)] ayrıldı. Grup Lidokain'e OHE operasyonunu takiben 1 mg/kg dozda Lidokain intraperitoneal olarak karın boşluğunun kraniyal ve kaudal kısımlarına püskürtüldü ve ensizyon bölgesi kapatıldı. Grup Meloksikam'a OHE operasyonunu takiben 0,2 mg/kg dozda Meloksikam deri altı (SC) tek doz uygulandı. Grup Lidokain-Meloksikam'a OHE operasyonunu takiben 1 mg/kg dozda Lidokain intraperitoneal olarak karın boşluğunun kraniyal ve kaudal kısımlarına püskürtüldü ve SC tek doz Meloksikam 0,2 mg/kg dozda uygulanarak ensizyon bölgesi kapatıldı. Grup Kontrol'de ise operasyon takiben lidokain veya meloksikam uygulanmadan rutin ovaryohisterektomi gerçekleştirildi. Oksidatif stres değerlerini belirlemek amacıyla; preoperatif dönemde, postoperatif 2., 12. ve 24. saatlerde kan örnekleri alınarak serumları çıkarıldı. Bu örneklerden serum malondialdehit (MDA), serum glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve serum katalaz (CAT) değerleri ölçüldü. Çalışmada lidokain-meloksikam grubunda MDA, GSH-Px ve CAT konsantrasyonları zamanla azalmakla birlikte lidokain grubunda sadece CAT konsantrasyonunun zamanla azaldığı görülmektedir. Sonuç olarak lidokain ve meloksikamın kombine olarak uygulanması oksidatif stresin azaltılmasında yararlı bir ilaç kombinasyonu olabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Glutatyon peroksidaz, katalaz, köpek, malondialdehit, ovaryohisterektomi

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF LIDOCAINE AND MELOXICAM ADMINISTRATIONS IN OVARIOHYSTERECTOMY ON POSTOPERATIVE GLUTATHIONE PEROXIDASE, CATALASE AND MALONDIALDEHYDE LEVELS IN DOGS

**Gündüz A. Aydın Adnan Menderes University Institute of the health science, Obstetrics and Gynecology Program (Veterinary), Master Thesis, Aydın, 2021**

The aim of this thesis is lidocaine and meloxicam administrations effects on postoperative oxidative stress signs in healthy dogs performed ovariohysterectomy in routine. In this study, 28 bitches which were brought into Aydın Adnan Menderes University Veterinary Faculty Hospital for applying ovariohysterectomy were used. Dogs were divided into equal 4 groups [Control (K) group (n=7), Lidocaine (L) group (n=7), Meloxicam (M) group (n=7) and Lidocaine-meloxicam (LM) group (n=7)] randomly. Lidocaine group; Following the application of ovariohysterectomy, Lidocaine 1 mg/kg was sprayed into the cranial and caudal parts of the abdominal cavity and the incision region was closed. Meloxicam Group: Following the application of ovariohysterectomy, a single dose of 0,2 mg/kg meloxicam was administered subcutaneously. Lidocaine-meloxicam Group: Following the application of ovariohysterectomy, lidocaine 1 mg/kg was sprayed into the cranial and caudal parts of the abdominal cavity intraperitoneally and a single dose of meloxicam 0,2 mg/kg was administered subcutaneously and the incision region was closed. Control Group: Ovariohysterectomy operation was done in routine without applying lidocaine or meloxicam after an operation in the control group. Blood samples were taken in preoperative and 2<sup>nd</sup>, 12<sup>th</sup>, 24<sup>th</sup> hours in postoperative periods in order to obtain oxidative stress levels. malondialdehyde serum (MDA), glutathione peroxidase serum (GSH-Px) and catalase serum (CAT) were measured from those samples. Not only the levels of MDA, GSH-Px and CAT in lidocaine-meloxicam group but also the level of CAT in lidocaine group decreased. As a result, it was concluded that lidocaine with meloxicam concentration could be a useful drug to reduce oxidative stress.

**Keywords:** Catalase, dog, glutathione peroxidase, malondialdehyde, ovariohystectomy

# 1. GİRİŞ

Köpeklerde aramızdaki fiziksel ve duygusal bağ evcilleştirilmelerinden itibaren daha da gelişerek ailenin bir ferdi olmaları yönünde ilerlemiştir. Hayvan sahipleri, köpeklerinin sağlığı ve refahı için her geçen gün daha duyarlı hale gelmişlerdir. Veteriner hekimler de hasta sahipleri ile ortak kaygılar taşımaktadır. Hayvanların refahı için operatif müdahaleler sonrası ağrı ve stresin azaltılması konusunda her zaman yeni arayışlar içerisinde olmuşlardır.

Dişi köpeklerde üremenin denetlenmesi amacıyla başvurulan yöntemlerden biri de ovaryohistektomi (OHE)'dir. Operasyona bağlı doku hasarı, cerrahi stres yanıt ve postoperatif ağrıya neden olur. Ancak OHE operasyonuna bağlı ağrı ve oksidatif stres gibi faktörler ile ilgili detaylı bir çalışma bulunmamaktadır.

Postoperatif oksidatif strese neden olan ana faktörlerden biri ağrıdır. Bu sebeple yeterli preoperatif ağrı kontrolü, hayvan refahı için esastır ve operasyon sonrası komplikasyonları azaltmada, iyileşme kalitesini artırmada ve oksidatif hasarın azaltılması için çok önemlidir. Postoperatif ağrı ve oksidatif stresi kontrolünde kullanılan başlıca kimyasallar, lokal anestezikler, non-steroid antienflamatuvar ilaçlar (NSAIİ) ve narkotik analjeziklerdir.

Günümüzde kolaylıkla ulaşılabilen bu ilaçlardan uygun analjezik ajanlar kullanılarak ağrı ortadan kaldırılarak postoperatif dönemin rahat geçmesi sağlanmaktadır.

Sunulan tez çalışmasında, köpeklerde OHE operasyonlarında postoperatif ağrı ve oksidatif stres yönetiminde lokal anestezi ve NSAIİ kullanımının önemi ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla OHE operasyonu geçiren dişi köpeklere operasyon öncesi ve sırasında lokal anestezi grubunda bulunan lidokain ve NSAIİ grubunda bulunan meloksikam uygulanmıştır. Uygulanan bu analjeziklerin postoperatif süreçte oksidatif stres üzerine etkilerinin değerlendirilebilmesi amacıyla malondialdehit (MDA), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri belirlenmiş ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu şekilde, veteriner hekimliğinde NSAIİ ya da lokal anestezi grubundan analjezik maddelerin OHE operasyonlarında kullanımları konusunda veteriner hekimlere yeni bilgiler verilmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ovaryohisterektomi

Ovaryohisterektomi (OHE), genel anestezi altındaki dişi kedi ve köpeklerde karın boşluğu açılarak, genital organlarından uterus ve ovaryumların tamamıyla uzaklaştırılması olarak tanımlanmaktadır (Stone ve ark, 1993; Kırşan ve Güvenç, 2003) ve dişi kedi ve köpeklerin kısırlaştırılması için tercih edilen bir yöntemdir (Bencharif ve ark, 2010). Dişi köpeklerde; sahiplerinin proöstrüs kanamasının evde oluşturduğu kirli görüntüden rahatsızlık duymaları, östrustaki dişi köpeğin evden uzaklaşma veya bölgeye erkek köpek çekmesi gibi davranışsal bozuklukları, istenmeyen çiftleşmelerin önüne geçmek, meme tümörleri, prolapsus vajina ve uteri olguları, yalancı gebelikler, pyometra ve metritis olguları, sahipsiz sokak hayvanlarında; zoonoz hastalıklardan korunma ve mücadelede oluşan ekonomik kayıpların giderilmesi, nüfusun kontrol altında tutulması ve fazla nüfusun getireceği ek ekonomik yükün azaltılması gibi sebeplerden dolayı yapılan kısırlaştırmalar OHE'nin nedenleri arasında sayılabilmektedir (Aslan ve Güngör, 2013).

Geleneksel orta hat (median/para median) OHE, ovaryumların ve uterusun cerrahi olarak çıkarılmasını içerir (Fingland, 1998). Genel olarak genç, sağlıklı köpekte OHE, güvenli ve etkili bir yöntem olarak kabul edilmesine rağmen, komplikasyonlar oluşabilir. Erken dönem komplikasyonlar arasında anestezi kaynaklı problemler ve çeşitli hemorajiler sayılabılır. Postoperatif dönem komplikasyonları arasında; drenaj yollarının veya granülomların oluşumuna yol açabilen doku reaksiyonu, yara enfeksiyonu, yara bölgesinin açılması veya iyileşmenin gecikmesi, trakeobronşit, öksürük, tekrarlayan östrus, stump pyometra, gecikmiş kanama, kilo alımı, idrar kaçırma, davranış değişikliği ve fistül kanalları veya stump granülom oluşumu yer alır (Davidson ve ark, 2004).

Geleneksel OHE müdahalesi, organ manipülasyonu ve doku travması; ağrıya ve operasyon sonrası oksidatif strese neden olmaktadır (Firth ve Haldane, 1999). Bu nedenle, preoperatif ağrı yönetimi, komplikasyonları azaltmak ve iyileşme kalitesini artırmak için tavsiye edilir (Lascelles ve ark, 1994). Ucuz, kolay temin edilen ve uygulanan lokal anestezikler, ağrıyı önlemek veya hafifletmek için veteriner ve beşeri hekimlikte epidural, intraartiküler, perinöral veya intraperitoneal olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Paddlefort, 1999).

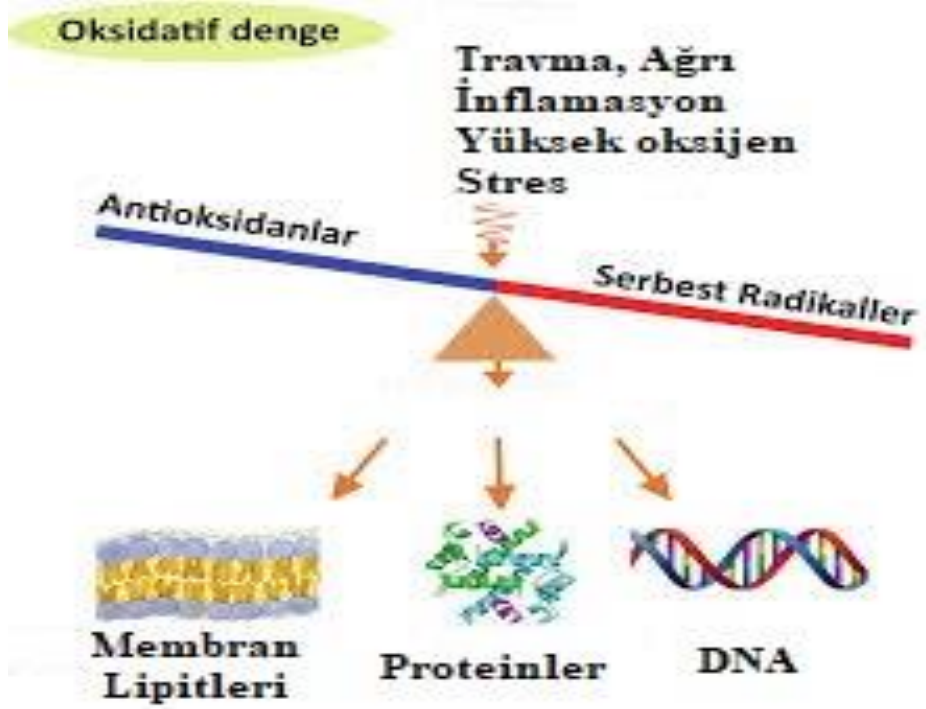
Postoperatif ağrı kontrolü köpeklerde genellikle opioid ilaçlar, NSAİİ, lokal anestezipler veya bu ürünlerin kombinasyonu ile sağlanır (Mathews 2002, Leece ve ark 2005). Ayrıca  $\alpha$ -2 adrenerjik agonistleri (Xylazine, Medetomidine ve Clonidine) ve N-Metil-D-Aspartat reseptör antagonistleri (Ketamine, Dextromethorpan ve Magnezyum) analjezik olarak tercih edilebilmektedir (Buvanendran ve Kroin 2007).

## 2.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen (ROS) veya nitrojen türlerinin (RNS) oluşumu ile organizmanın antioksidatif savunma sistemleri tarafından ROS/RNS eylemlerine karşı koyma kapasitesi arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanır (Persson ve ark, 2014). Oksidatif stres ilk olarak Sies (1991) tarafından “oksidan türler lehine prooksidandan antioksidan dengesine bozulma ve potansiyel hasara yol açan bir rahatsızlık” olarak tanımlanmıştır. Oksidatif stres, ROS oluşumu ve tükenmesi arasındaki dengesizliğin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bundan dolayı, oksidatif stres, artmış serbest radikal oluşumunun yanı sıra antioksidan savunma sistemindeki azalan aktivitenin yansımasıdır (Poljsak ve ark, 2013).

Oksidatif stres temel olarak birkaç nedenle oluşur;

1. ROS üretimi ile birlikte otoksidasyona giren artan düzeyde endojen ve eksojen bileşikler, düşük moleküler kütleli antioksidan rezervlerinin tükenmesi,
2. Antioksidan enzimlerin inaktive edilmesi,
3. Antioksidan enzimlerin ve düşük moleküler kütleli antioksidanların üretiminde azalma,
4. Belirtilen bu faktörlerden iki veya daha fazlasının belirli kombinasyonları (Sies, 1991).



**Resim 1.** Oksidatif denge (Özcan ve ark, 2015).

Reaktif oksijen türlerinin seviyesindeki artış, çoğu canlı süreçleri etkileyebilmektedir. Bu artış, ROS üretiminin seviyesine ve yerine, antioksidan sistemlerin verimliliğine ve etkileşimde buldukları hücresel hedeflere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Sies, 1997).

Normal koşullarda, ROS seviyesi, oluşturuldukları ve ortadan kaldırıldıkları sistemlerin uyumlu çalışmasıyla tanımlanan belirli aralıkta dalgalanır. Bazı oksidanların eklenmesiyle, ROS seviyesi keskin bir şekilde artabilir. Antioksidan sistemler, geliştirilmiş ROS miktarlarıyla yeterince başa çıkabiliyorsa, bu seviye başlangıca geri dönecektir. Bu olaylar "akut oksidatif stres" olarak adlandırılabilir. Oksidatif stresin gelişmesi için belirli bir süre ROS düzeyinin yükselmesinin yeterli olmadığı fizyolojik sonuçlara sahip olması gerektiği bilinmektedir. Fizyolojik sonuçlar için incelenen en iyi örnek, antioksidan ve Süperoksid dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) gibi ilgili enzimlerin aktiviteleridir (Demple, 1991; Hermes-Lima, 2004; Lushchak, 2011a). Bazı durumlarda, hücre gelişmiş ROS miktarlarını nötralize edemez ve ROS seviyesini başlangıca döndüremez. Antioksidanlar ve ilgili enzimler bunu sağlayamaz. Bu nedenle, ROS seviyesi biraz artabilir veya başlangıç koridoru uzayabilir. Bu artış nedeniyle ROS seviyesi stabilize edilebilir ve farklı hücresel bileşenlerin modifikasyonunu geliştirebilir, bu da dengeyi büyük ölçüde bozar. Bu durum "kronik oksidatif stres" olarak adlandırılabilir. Kanser, diabetes

mellitus, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli patolojiler, kronik oksidatif strese birer örnektir. (Lushchak, 2011b)

Oksidatif stres altında üretilen ROS/RNS, tüm hücrel biyomoleküllere (lipitler, karbonhidratlar, proteinler ve polinükleotidler) zarar verdiği bilinmektedir (Negre Salvayre ve ark, 2010; Musatov ve Robinson, 2012). Oksidatif stres belirli bir seviyeye kadar tolere edilebilmektedir. Tolerans sınırı aşıldığı durumda deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarı ve lipit peroksidasyonunu kapsayan hücrel metabolizma bozuklukları gelişebilmektedir. Bu bozukluklar, apoptoz nedeniyle doku hasarından hücre ölümüne dönüşebilmektedir (Berlett ve Stadman, 1997; Durackova 2010).

Oksidatif stres ve hasarın insan hekimliğinde kanser, kardiyovasüler hastalıklar, nörolojik hastalıklar, diabet, yangısal hastalıklar, ürolojik hastalıklar, yaşlanma, mutagenез ve karaciğer hastalıklarının patogeneğinde rolü olduğu ortaya konulmuştur ve pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Pisoschi ve Pop, 2015).

Veteriner hekimlikte; köpeklerde morbidite ve mortalitesi en yüksek olan parvovirus enfeksiyonu, gastroenteritisin viral nedenleri, piyoderma ve gençlik hastalığı (Panda ve ark, 2009; Karadeniz ve ark, 2013; Ercan ve Fidancı, 2012). Çiftlik hayvanlarında ise; taşıma işlemi, verim kayıplarına yol açması ve hayvan refahını olumsuz etkilenmesi ve şap hastalığının patogeneğinde oksidatif stresin rolünün olduğu bilinmektedir (Freeman ve Crapo, 1982; Mousa ve Galal, 2013).

### **2.3. Ovaryohisterektomi ve Oksidatif Stres**

Ovaryohisterektomi dişi kedi ve köpeklerin kısırlaştırılması için tercih edilen bir yöntemdir (Bencharif ve ark, 2010). Stres, travma veya cerrahi müdahaleye verilen fizyolojik bir yanıtıdır ve genellikle cerrahi travmanın derecesi ile orantılı olduğu kabul edilir (Höglund ve ark, 2016). Cerrahi stres operasyon öncesi, sırası ve sonrasında ortaya çıkar. Psikolojik stres, doku hasarı ve dolaşımdaki değişiklikler, anestezi maddeler ve sepsis dahil operasyon sonrası komplikasyonlardan kaynaklanır. Cerrahi stres yanıtı, sempoadrenal, medüller ve hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenin uyarılmasını içerir. Aktivasyonları, travma sonrası endokrin ve immünomodülatör değişikliklere neden olur. Fizyolojik yanıtın derecesi, organ fonksiyonuna yönelik artan taleplerle birlikte yaralanmanın büyüklüğü ile orantılıdır. Cerrahi strese yanıt, ikincil hasarı önleyen ve temel organların ve iyileştirici dokuların ihtiyaç

duyduğu substratların kullanılabilirliğini artıran telafi edici bir mekanizmadır. Bununla birlikte, stres tepkisi uzarsa, daha uzun hastanede kalmaya neden olur.

Hücre sel solunum sırasında, organik bileşiklerin hücre sel metabolizması ve oksidasyonu için gerekli anahtar element olan oksijen kullanılarak azaltılır. Reaktif oksijen türleri olarak da bilinen serbest radikaller; bir dizi yüksek derecede reaktif kimyasal madde üretir (Russo ve Bracarense, 2016). Oksidatif stres, ROS üretimi ve birikimi arasındaki dengesizliğin neden olduğu bir olgudur (Pizzino ve ark, 2017). Genel olarak, cerrahi prosedürün travması oksidatif strese sebep olabilir. Reaktif oksijen türlerinin biyomoleküllerle reaksiyonunun sonucu, oksidatif hasarın belirteçleri olarak kullanılabilen MDA gibi maddelerin oluşmasıdır (Serin ve ark, 2008). Oksidatif hasarın önlenmesi ya da hafifletilmesi amacıyla organizma tarafından geliştirilmiş mekanizmalar bulunmaktadır ve en önemlisi antioksidan savunma mekanizmalarıdır (Rahal ve ark, 2014). Oksidatif stresle ilgili serbest radikal teorisine dayanarak, antioksidanlar stresi belirlemek için ilk tercihtir. Katalaz, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) detoksifikasyonunu katalize eden önemli bir endojen antioksidan enzimdir (Mehaney ve ark, 2014). Normal koşullarda, oksidatif stres varlığında oksidatif hasara karşı hücre savunmasında önemli rol oynayan en adaptif antioksidan enzimdir (Gogoi ve ark, 2018). Toplam antioksidan kapasite, kanda ve vücut sıvılarında bulunan tüm antioksidanların etkisini dikkate alır. Reaktif oksijen türlerine bağlı oksidatif hasara karşı koymak için vücudun antioksidan durumunun yararlı bir göstergesi olarak kabul edilir (Suresh ve ark, 2009). Yapılan çalışmalar, OHE'nin ağrı stresine (Srithunyarat ve ark, 2016) ve oksidatif strese (Serin ve ark, 2008) neden olduğunu göstermiştir.

#### **2.4. Oksidatif Stresin Ölçülmesi**

Oksidatif stres altında üretilen ROS/RNS tüm hücre sel biyomoleküllere zarar verdiği bilinmektedir (Negre Salvayre ve ark, 2010; Musatov ve Robinson, 2012). Böylelikle, kontrolsüz ROS artışını önlemek için hücrelerde çeşitli savunma sistemleri gelişmiştir. Bu sistemler, enzimatik olmayan molekülleri (Glutasyon, A, C ve E vitaminleri ve gıdalarda bulunan çeşitli antioksidanlar) ve enzimatik (SOD, CAT ve GSH-Px) biyobelirteçleri içerir (Valko ve ark 2007). Oksidatif stres, bu oksidatif biyobelirteçlerin veya serbest radikallerin ölçümü ile belirlenebilmektedir (Dotan ve ark, 2004).

Ayrıca oksidatif stres, serbest radikaller tarafından okside edilen lipit, protein, karbonhidrat ve DNA ürünlerinin ve bazı özel enzimlerin ölçümüyle de belirlenebilmektedir (Dotan ve ark 2004, Lykkesfeldt ve Svendsen 2007).

Antioksidanların ölçümleri genel antioksidan kapasitesinin ya da tek tek antioksidanların kapasitelerinin belirlenmesi ile yapılır. Toplam antioksidan durum, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite, toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre ve ferrik indirgeyici-antioksidan kapasite kolorimetrik analizler ve ayrıca siklik voltametri içeren analizlerle değerlendirilebilir. Yaygın bir özellik, bu testlerin tüm antioksidanların aktivitesini tek bir değerde özetlemeye çalışmasıdır. Çoğu ticari kit olarak temin edilebilir (Lykkesfeldt, 2002).

## 2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen, genel anlamda serbest radikal, moleküler veya atomik yörüngede eşleşmemiş elektronlar içeren ve yüksek reaktiviteye sahip kimyasal bir üründür. Biyolojik sistemlerde vücut dokularındaki ana serbest radikaller; süperoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $OH^\cdot$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), tekli oksijen ve nitrik oksittir ( $NO$ ) (Gutteridge, 1995). Serbest radikaller, normal hücre metabolizmasında, oksijeni içeren biyokimyasal reaksiyonlarda, fagositoz yoluyla hücre içerisine alınan bakteri ve diğer canlı organizmaları yok etmek amacıyla üretilirler. Bununla birlikte, radyasyon, travma, yüksek oksijen, yoğun egzersiz ve iskemi ile aşırı derecede üretilirler. Hücre ortamında yüksek serbest radikal konsantrasyonu hücre hasarına ve ölüme neden olabilir. Bu hasar, antioksidan moleküllerin varlığı ile önlenir veya azaltılabilir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Reaktif oksijen türleri, oksijen ( $O_2$ ) tüketiminin önemli süreçleri sırasında üretilir (Fujii ve ark,2005). Bu reaktivite, atomun dış kabuğundaki bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrondan kaynaklanır. Biyolojik sistemler bol miktarda  $O_2$  içerir. Diradikal olarak  $O_2$ , diğer radikallerle hızla reaksiyona girer. Serbest radikaller genellikle  $O_2$ 'nin kendisinden üretilir ve kısmen azaltılmış türler vücuttaki normal metabolik süreçlerden kaynaklanır. Reaktif oksijen türleri, oksidatif strese yaygın olarak yer alan belirgin ve potansiyel olarak toksik ara maddelerdir (Kehler, 2000). Ek olarak,  $O_2$  ve nitrojene bağlı biyolojik süreçler daha büyük önem kazanmaktadır, çünkü bunların son ürünleri genellikle patolojik süreçler veya dış çevresel etkileşimler gibi yüksek metabolik gereksinimlerin olduğu durumlarda bulunur (Burton ve Jauniaux, 2010).

Oksijenaz reaksiyonları ve elektron transfer reaksiyonları gibi bir substrat olarak O<sub>2</sub> kullanan fizyolojik süreçler, süperoksit anyonunun en yaygın olduğu büyük miktarlarda ROS oluşturur (Chandra ve ark, 2009). Çoğu ROS, mitokondriyal solunum zincirinden elektronların ayrışmasıyla üretilir, bu aynı zamanda elektron taşıma zinciri olarak da adlandırılır (Fujii ve ark,2005). Süperoksit radikalinin diğer kaynakları arasında endoplazmik retikulumdaki kısa elektron zinciri, sitokrom P450 ve önemli miktarlarda diğer oksidoredüktazlar üreten nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzimi (özellikle erken gebelikte) bulunur. (Kehler, 2000; Fujii ve ark,2005).

Mitokondri, hücrelerdeki metabolik aktivitelerin merkezinde yer alır, bu nedenle işlevlerindeki herhangi bir bozukluk, büyük ölçüde değişmiş adenin trifosfat (ATP) oluşumuna yol açabilir. Mitokondri, ROS üretiminin ana bölgeleri olmasına rağmen, ROS seviyelerinde orta derecede bir artış, hücre büyümesini ve çoğalmasını uyarabilir ve normal fizyolojik fonksiyonlara izin verir. Fakat, aşırı ROS, hücre hasara (örneğin, DNA, lipid membranlar ve proteinlerde hasar) neden olacaktır (Liu ve Keefe, 2000; Liu ve ark, 2000).

Organizma, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için vücuda ait antioksidatif maddelerden oluşan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir (Percival 1998). İki tür antioksidan, yani enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederler. Vücut, enzimatik antioksidan mekanizmalar kullanarak kendisini ROS'tan korur. Antioksidan enzimler, lipid hidroperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerini düşürerek, lipid peroksidasyonunun önlenmesinde ve hücre zarlarının yapısının ve işlevinin sürdürülmesinde önemlidir (Koruk ve ark, 2004). Enzimatik antioksidanlar CAT, GSH-Px ve SOD'dan oluşan antioksidatif savunma mekanizmasıdır. Sitozol ve mitokondride bulunan SOD'lar, bakır (Cu), çinko (Zn) veya manganez (Mn) gibi metal iyon kofaktörlerinin varlığında katalitik olarak süperoksit'i oksijene ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüştürür (Gough ve Cotter, 2011). Peroksizomda bulunan CAT enzimi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi su ve oksijene dönüştürür (Stone ve Yang, 2006). CAT ayrıca peroksizomlarda meydana gelen peroksitlerin nötralizasyonunda rol oynar. GSH-Px, hemen hemen her dokuda hem sitoplazmada hem de hücre dışı olarak bulunur. GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya dönüştürür. GSH-Px enzimi hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hem de yağ asidi hidroperoksitlerine karşı güçlü aktiviteye sahiptir (Cabiscol ve ark, 2000; Arthur, 2001). Enzim peroksiroksin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, organik hidroperoksitler ve peroksinitritin indirgenmesini katalize eder. Antioksidan enzimlerin farklı ekspresyon profilleri, hücre altı konumları ve substratları, ROS biyolojisinin karmaşık yapısını ortaya koymaktadır. Açıktır ki, antioksidan enzimler, oksidatif hasarın önlenmesinde önemli bir rol oynar. CAT, GSH-Px ve SOD, O<sub>2</sub>'nin atılmasında sinerjistik etki gösterir.

Fizyolojik şartlarda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi denge içerisinde bulunur ve bu durum oksidatif denge olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif denge korunduğu sürece, organizma serbest radikallerden olumsuz etkilenmemektedir (Adly 2010).

## 2.6. Serbest Radikallerin Oluşumu ve Biyolojik Etkileri

Serbest radikaller, ROS ve RNS olarak sınıflandırılır (Gutteridge, 1995). Reaktif oksijen türleri, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikallerini belirtmektedir fakat tekli oksijen ve hipoklorik asit gibi radikal olmayan oksijen türlerini belirtmek için de kullanılmaktadır (Peet, 2012). Reaktif nitrojen türleri ise; NO ve peroksinitriti (ONOO) belirtmek için kullanılmakta olup, vücudun fizyolojik reaksiyonları (metabolik reaksiyon) sırasında az miktarda üretilmektedirler. ROS ve RNS yaşam için gereklidir ancak yüksek konsantrasyonları vücut için toksiktir (Halliwell 2011). Serbest radikal üretim miktarı birçok faktörün dengesi ile belirlenir ve serbest radikaller endojen ve eksojen olarak üretilir. ROS'un endojen kaynakları, mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksidazlar ve inflamatuvar hücre aktivasyonunu içerir (Inoue ve ark, 2003). Ek olarak endojen hücre ROS kaynakları nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlardır (Conner ve Grisham, 1996). Hücrelerde serbest radikal oluşumu, kendi içinde büyük ölçüde demir (kısmen bakıra) redoks çiftine bağlı olan ve fizyolojik sınırlar içerisinde tutulan redoks-aktif metallerin katılımıyla yakından bağlantılıdır (Shi ve ark, 2004). Demir, belirli koşullar altında Fenton reaksiyonuna katılarak, in vivo üretilirse, oluşum bölgesine yakın reaksiyona girerek lokalize hasara neden olan oldukça reaktif hidroksil radikalini oluşturabilir (Leonard ve ark, 2004). Oksijenden türetilen ek radikaller, yüksek enerjili türler olan peroksi radikalleridir ve etkilerinde biyolojik çeşitlilik gösterirler. Bu radikaller beşeri hekimlikte ve toksikolojide peroksil radikalinin rolüne kanıt olan lipid peroksidasyonunu indükler (Gutteridge, 1995; Cadenas ve Sies 1998). Oksidatif stres oluşumunda önemli rolü bulunan ROS serbest radikalleri Tablo 1'de belirtilmiştir.

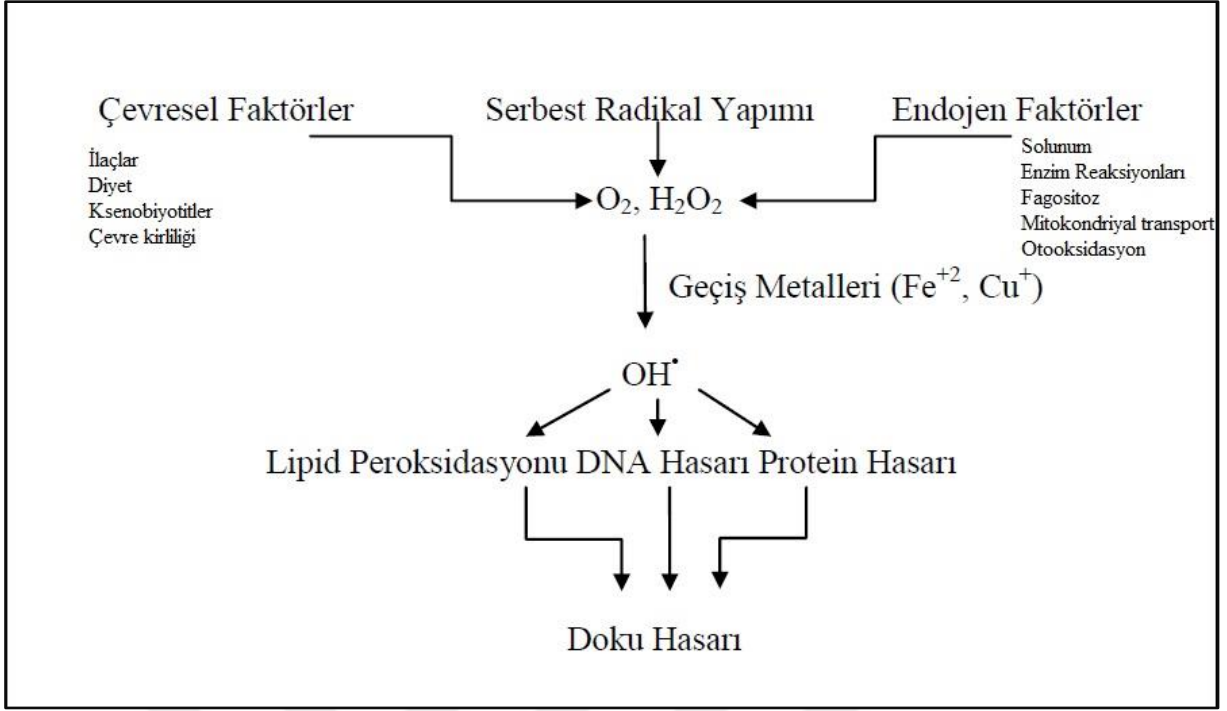
**Tablo 1.** ROS Serbest Radikalleri (Stahl ve Sies, 1997).

<b>Reaktif Oksijen Türleri (ROS)</b>	
<b>Radikal</b>	<b>Radikal olmayan</b>
Süperoksit ( $O_2^-$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil ( $OH^\cdot$ )	Hipoklorik asit ( $HOCl$ )
Peroksil ( $LO_2$ )	Ozon ( $O_3$ )
Alkoksil ( $LO$ )	Singlet oksijen
Lipit hidroperoksit ( $LOOH$ )	Peroksinitrit ( $ONOO$ )

Reaktif oksijen türleri, bulunduğu hücrenin ortamına bağlı olarak biyolojik sistemlerde yıkımlayıcı özelliklerinin yanı sıra pozitif etkiye de sahiptirler (Lopaczynski ve Zeisel, 2001). ROS'un yararlı etkileri, örneğin fagositoz sırasında immun sistemi patojenlere karşı savunmada hücreyel uyarım sisteminin işlevindeki fizyolojik rolleri içerir (Poli ve ark, 2004; Valko ve ark 2007).

ROS'un zararlı etkileri, bazıları vücutta bulunan enzimler olan antioksidanların etkisiyle dengelenir (Halliwell, 1996). Hücrenin ROS kaynaklı oksidatif hasara karşı koymak için antioksidan savunma sisteminin (ASS) varlığına rağmen, oksidatif hasar yaşam döngüsü boyunca birikir ve yaşlanmaya ve kardiyovasküler hastalık, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve diğer kronik durumlar gibi yaşa bağlı hastalıklarda rol oynar (Rahman, 2003).

Serbest radikaller; biyolojik moleküllerde yüksek konsantrasyonlara ulaştıkça ve ASS tarafından yeterince nötralize edilemediğinde, lipitler ve zarlar, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere hücre yapılarında verilen birçok hasara aracılık ederler (Lee ve ark, 2012; Poli ve ark, 2004; Durackova, 2010). Serbest radikallerin kaynakları ve aracılık ettikleri hasar çeşidi Resim 2'de gösterilmiştir.



**Resim 2.** Serbest Radikallerin kaynakları ve etkileri (Antmen, 2005).

### 2.6.1. Lipitlere Etkileri

Tüm hücre zarları, yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içermelerinden dolayı lipit peroksidasyonuna duyarlıdır (Dumaswala ve ark 1999). Lipit peroksidasyonu üç ana adımdan oluşur; başlatma, yayılma ve sonlandırma (Yin ve ark, 2011). Başlatma aşaması, ROS tarafından lipit radikalleri üretme işlemidir. Yayılma aşamasında, başlatma aşamasından gelen lipit radikali, hücre zarı üzerindeki diğer doymamış yağ asidi moleküllerine saldırır veya lipit peroksil radikali oluşturmak için elektronu  $O_2$ 'den çalar. Lipit peroksil radikali, hidrojen atomunu diğer lipit moleküllerinden ayırarak, bir geçiş metali tarafından saldırıya uğrayana kadar stabil olan lipit hidroperoksitler ile sonuçlanır, hücre zarındaki diğer PUFA'lara saldırmaya devam edebilen alkoksil ve lipit peroksil radikali oluşturur. Bu adım kendi kendini sürdürür, bu nedenle lipit peroksidasyon reaksiyonu aynı zamanda bir zincir reaksiyonu olarak da bilinir (Agarwal ve ark, 2003). Lipit peroksidasyon reaksiyonunun son aşaması olan sonlandırma adımında, serbest radikaller bir araya gelerek çiftlenmiş kararlı elektronlar oluşturur. Bu adım, serbest radikalleri yakalayabilen antioksidanlar tarafından daha erken durdurulabilir (Silva, 2006). Eğer bu reaksiyon engellenmezse hücre zarının yapısını bozarak lizozom enzimlerinin salınmasına neden olur ve

sonucunda otoliz gelişir (Akkuş, 1995). Bu zincirleme reaksiyon sırasında oluşan lipit hidroperoksitleri kararsız yapıdadır ve parçalanmaları sonucunda MDA açığa çıkar (Grotto ve ark 2009). Lipit peroksiller toksik etkilerini iki genel mekanizma yoluyla gösterirler. Lipitler, hücre zarlarının bütünlüğünün korunmasından sorumlu olduklarından, yoğun peroksidasyonları, lipit zarlarının bileşimini, yapısını ve dinamiklerini değiştirir. Oldukça reaktif bileşikler olarak, lipit peroksiller ayrıca daha fazla ROS oluşumunu arttırabilir veya DNA ve proteinleri çapraz bağlayabilen reaktif bileşiklere indirgeyebilir (Pisoschi ve Pop, 2015).

### **2.6.1.1. Malondialdehit**

Serbest formda veya çeşitli doku bileşenleri ile bir kompleks halinde bulunabilen MDA, bazı makromoleküllerin oksidatif bozunması sırasında, *in vivo* iyonize radyasyonla serbest radikal oluşumunun bir ürünü veya prostaglandin biyosentezinin bir yan ürünü olarak oluşur. Bununla birlikte, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun ana kaynağıdır. MDA, PUFA'ların yapısındaki molekül içi yeniden düzenlemeler sırasında oluşan endoperoksitlerin parçalanmasının son aşamalarında oluşur. Bu yeniden düzenlemeler, serbest radikalleri stabilize etmek için gereklidir.

Lipit peroksidasyon ürünlerinin arasında en aktif olanı MDA'dır. Malondialdehit hücrede en çok bulunan aldehittir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Malondialdehit, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur (Yılmaz ve ark, 2011). Malondialdehit bu özelliği sayesinde DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilmektedir. Bundan dolayı MDA hücreler için genotoksik ve karsinogeniktir (Grotto ve ark 2009).

Malondialdehit önemli lipit peroksidasyon göstergesi olarak kabul edilmektedir (Grotto ve ark, 2009). Malondialdehit konsantrasyonunun yükselmesi lipit peroksidasyonundaki artışın bir kanıtıdır (De Zwart ve ark, 1999; Mc Cord, 2000).

### **2.6.2. Proteinlere Etkileri**

Proteinler, aktif oksijen türlerinin, Fe ve Cu gibi eser metal iyonlarının birleşik etkisiyle oksidatif olarak zarar görür ve yapılarındaki lizin, prolin, histidin ve arginin gibi

amino asitlerin oksidatif hasara duyarlı olduğu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar, peroksitler, (Simpson ve ark, 1992; Giese ve ark, 2000) ve karbonillerin oluşunu dahil olmak üzere çok çeşitli kalıntı modifikasyonlarının meydana gelebileceğini göstermektedir (Stadtman, 1990). Oksidatif hasar sonucu karbonil kalıntısının oluşması, proteinlerdeki oksidatif hasarın bir göstergesidir. Bu nedenle, dokudaki oksidatif hasar, oksitlenmiş protein miktarının artmasıyla sonuçlanır (Cooke ve ark, 2003). Oksidatif hasara uğrayan membran proteinleri parçalara ayrılır veya kalıntıları diğer kalıntılar ile çapraz reaksiyonlara girebilir. Bunun sonucu olarak hücresel fonksiyonlarını kaybederler (Kohen ve Nyska 2002, Peet 2012).

### 2.6.3. DNA Üzerine Etkileri

Hidroksil radikal DNA'nın baz çiftleri ile reaksiyona girerek, çeşitli mekanizmalarla oligonükleotidlerdeki heterosiklik kısım ve karbonhidrat kısmının oksidatif hasarına neden olur. DNA'ya verilen bu tür oksidatif hasar, mutagenез, karsinogenез ve yaşlanma gibi fizyolojik koşullarla oldukça ilişkilidir (Breen ve Murphy, 1995). Ekleme reaksiyonları, DNA bazlarının hidroksil radikallerini verirken, timin alil radikali ve karbon merkezli karbonhidrat radikalleri, soyutlama reaksiyonlarından oluşur. Radikaller aracılığıyla guanin hidroksilasyonu neticesinde DNA'nın yapısı bozulmaktadır (Valko ve ark 2007, Peet 2012 nimse). Guanin hidroksilasyonunun son ürünlerinden olan 8-hidroksideoksiguanozin, oksidatif stres belirteci olarak kullanılabilir (Kohen ve Nyska 2002).

Serbest radikallerin lipit, protein ve DNA üzerine etkileri, açığa çıkan ürünler ve sonuçları Resim 3'de özetlenmiştir.



**Resim 3.** Serbest radikallerin lipid, protein ve DNA üzerine etkileri ve sonuçları (Acharya ve Ghaskadbi, 2010).

## **2.7. Antioksidan Savunma Sistemi**

### **2.7.1. Enzimatik olmayan Antioksidanlar**

Enzimatik olmayan antioksidanlar; vitamin A, C ve E, GSH, Zn, selenyum (Se), beta-karoten, karoten, lokal anestetikler ve NSAİİ'lerden oluşur (Aslan ve Dündar, 1999; Young ve Woodside 2001, Sorg 2004).

E vitaminin en aktif formu  $\alpha$ -tokoferoldur. Hücre tarafından kullanılan membrana bağlı en güçlü antioksidandır (Hensley ve ark, 2004). E vitamininin ana işlevi, lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır (Pryor, 2000). Lipitte çözünür antioksidan olan tokoferoller, ROS ve lipid radikallerinin potansiyel temizleyicileri olarak kabul edilir (Hollander-Czytko ve ark, 2005).

C vitamini (askorbik asit), ROS'u azaltabilen güçlü bir antioksidandır. C vitamini, zarlarda ve lipoproteinlerde E vitamini radikallerinden  $\alpha$ -tokoferolu tekrardan oluşturabilmek için E vitamini ile işbirliği yapar (Carr ve Frei, 1999; Kojo, 2004) ve ayrıca hücre içi glutatyon seviyelerini yükselterek protein tiol grubunun oksidasyona karşı korunmasında önemli rol oynar (Nazirolu ve Butterworth, 2005).

Glutatyon; sistein, glutamat ve glisinden sitozolde yapıldığı için aerobik yaşam sürecinin çoğunda bulunan peptid yapılı (Behrman ve ark, 2001); oositlerde ve embriyolarda bulunan başlıca enzimatik olmayan antioksidandır.

Selenyum, selenosisteinlerinden oluşturulur. GSH-Px, tiyoredoksin redüktaz gibi enzimlerin yapısında bulunmaktadır (Sorg 2004). Vitamin E ve selenyum, yapı olarak birbirinden farklı antioksidanlar olup, sinerjik etki göstermektedirler.

Lokal anestetikler ve NSAİİ; NADPH oksidaz inhibitörü olarak etkilerini gösterirler (Aslan ve Dündar, 1999).

### **2.7.2. Enzimatik Antioksidanlar**

Enzimatik antioksidanlar metalik bir merkeze sahiptir ve bu onlara detoksifikasyon işlemi için molekülleri dengelemek ve elektronları transfer ederken farklı değerler alma yeteneği kazandırır. Fazla ROS'u nötralize ederler ve hücre yapılarının zarar görmesini

önlerler. Endojen antioksidan enzimler arasında SOD, CAT, GSH-Px ve glutatyon oksidaz bulunur (Agarwal ve ark, 2012).

### **2.7.2.1. Süperoksit Dismutaz**

Süperoksit dismutaz, endojen olarak üretilir ve hücreler için esansiyel bir enzimdir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Süperoksit dismutaz,  $O_2^-$ 'nin  $H_2O_2$ 'ye dönüşmesini katalize eder ve organizmayı oksidatif hasara karşı korumaya çalışır (Fujii ve ark,2005). Süperoksit dismutaz, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Süperoksit dismutaz enziminin, üç izoenzim formu vardır. SOD 1, metal kofaktörleri olarak Cu ve Zn içerir ve sitozolde bulunur. SOD 2, Mn içeren izoformudur ve mitokondriyal matrikste bulunur. SOD 3, hücre dışı formu kodlar. Kofaktör olarak Cu ve Zn içerdiğinden, SOD 3 yapısal olarak SOD 1'e benzer (Landis ve Tower, 2005) ve heparin bağlayıcı bir proteindir (Kanta, 2011). Süperoksit üretiminin arttığı reaksiyonlar sonucunda SOD 3 aktivitesi de artmaktadır (Young ve Woollside 2001).

Bu enzim, RNS'lerden biri olan ONOO'nun oluşumunu,  $O_2^-$ 'nin ortamdaki yoğunluğunu azaltarak engeller (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

### **2.7.2.2. Glutatyon Peroksidaz**

Glutatyon peroksidaz, her alt birimi sistein ile bağlı bir selenyum atomu içeren bir tetramerdir (Nordberg ve Arner, 2001). Glutatyon Peroksidaz, hidrojen peroksitleri suya, lipid peroksitlerini ise toksik olmayan alkollere parçalayan önemli bir hücre içi enzimdir (Hermes-Lima 2004; Goth ve ark, 2004). Hidrojen peroksit veya lipid peroksitlerle reaksiyona girerek indirgenmiş glutatyon (GSH) formunun katalize ettiği reaksiyonla; katalize edilen glutatyon peroksidaz, başka bir glutatyon molekülü (GSSG) formu ile bir glutatyon köprüsü oluşturarak bu moleküllerin detoksifikasyonunda rol oynar (Aktaş ve ark, 2005).  $H_2O_2$ , katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından detoksifiye edilir (Mates ve Jimenez, 1999).

Glutatyon peroksidaz selenosistein bileşiği sınıfına aittir çünkü dört selenyum atomunu bağlar ve glutatyon peroksidazın katalitik aktivitesini sağlar. Yardımcı substrat olarak glutatyonu ihtiyaç duyar (Çaylak, 2011). Kofaktör olarak selenyumunu kullanır ve etkinliği buradan gelmektedir. Enzim, lipid peroksidasyon sürecini engellemede önemli rol oynar ve hücreleri oksidatif strese korur (Gill ve Tuteja, 2010). Glutatyon peroksidaz

aktivitesindeki azalma, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (Halliwell ve Gutteridge 1989).

Glutasyon peroksidaz, indirgenmiş glutasyon ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipit peroksitlerin detoksifikasyonunu katalize eder. Böylece membran lipitlerini ve hemoglobini peroksitlerin oksidasyonundan korur. GSH-Px ayrıca ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynar. Memeli hücrelerinde biyolojik membranların peroksidatif hasarına karşı en hayati savunmayı sağlayan antioksidan enzim sistemidir. Bu enzimlerden glutasyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz birlikte hücreyi peroksidan moleküllerden korumayı amaçlayan ortak bir sistem oluşturur (Öncü ve ark, 2002).

### **2.7.2.3. Katalaz**

Katalaz en önemli antioksidan enzimlerden biridir. Hemen hemen tüm aerobik organizmalarda bulunur. Katalaz, iki hidrojen peroksit molekülünü iki aşamalı bir reaksiyonda bir oksijen molekülüne ve iki su molekülüne ayırır (Deisseroth ve Dounce, 1970; Ossowski ve ark, 1993). Reaksiyon mekanizmasının ilk adımı, hidrojen peroksit molekülünün indirgenmesi yoluyla bir porfirin katyon radikaline yükseltgenir (Ivancich ve ark, 1997). İkinci basamak reaksiyonda, oksijen ve su üretmek için bir elektron donöründen (hidrojen peroksitin ikinci molekülü) iki elektron transferiyle redoks reaksiyonları yoluyla indirgenir (Deisseroth ve Dounce, 1970). Hidrojen peroksidi su ve oksijen gibi zararsız ürünlere ayırdığından, katalaz, oksidatif stresle ilgili çok sayıda hastalığa karşı terapötik bir ajan olarak kullanılır.

Katalaz enzimi, hem (demir) grubu içeren proteindir (Akkuş, 1995). Katalaz, temel olarak peroksizomlarda ve daha az miktarda sitozol ve hücrenin mikrozomal fraksiyonlarında bulunur (Young ve Woollside 2001). Hücrede peroksizomlarda bulunan CAT, hidrojen peroksitin nötralizasyonundan sorumludur. Bu nedenle, en yüksek aktivite peroksizomların yoğun olduğu kan, kemik iliği, müköz membranlar, böbrek ve karaciğer gibi organlarda görülmektedir (Onat ve ark, 2006; Colleen ve ark, 2007).

Katalaz hücrelerin oksidatif hasara karşı tolerans kazanmasında önemli bir rol üstlenir (Matés ve Jimenez, 1999; Rojkind ve Domínguez- Rosales, 2002). Aynı zamanda CAT immun sistem hücrelerinin kendi ürettikleri serbest radikallere karşı koruma görevinde de önemli rol oynar (Peet 2012).

## 2.8. Postoperatif Oksidatif Stresin Önlenmesi

Ovariohisterektomi sırasında oluşan doku hasarı, cerrahi stres tepkisine ve operasyon sonrası ağrıya neden olur (Firth ve Haldane, 1999). Postoperatif süreçte ağrı kontrolü, etik açıdan çok önemlidir ve iştahsızlık, kendi kendine zarar verme, davranış değişiklikleri gibi olumsuz etkileri azaltmaya ve hastanın daha kısa sürede iyileşmesine yardımcı olur (Wagner ve ark, 2008). Postoperatif süreçte sıklıkla ortaya çıkan ağrı, postoperatif strese neden olan ana faktörlerden biridir (Yılmaz ve ark, 2014). OHE'nin neden olduğu travma, dokulardan serbest demir ve bakır salgılayarak ve inflamatuvar yanıtın aktivasyonu ile artan oksidasyon ve lipid peroksidasyonuna bağlı oksidatif strese katkıda bulunmaktadır (Baines ve Shenkin, 2002). Yeterli preoperatif ağrı kontrolü, komplikasyonları azaltmada ve iyileşme kalitesini artırmada çok önemlidir (Lascelles ve ark, 1994).

Preoperatif analjezi, postoperatif ağrıyı azaltmanın en etkili yöntemi olarak kabul edilmektedir (Katz ve ark. 2011). Operasyonun aşamaları boyunca analjezi içerir ve merkezi ağrı yollarının oluşmasını önlemeyi amaçlar (Dahl ve Kehlet, 2011).

Köpeklerde operasyon sonrası ağrı kontrolü genellikle opioid ilaçlar, NSAİİ'ler, lokal anestezipler veya bu ürünlerin bir kombinasyonu ile sağlanır (Mathews, 2002).

### 2.8.1. Köpeklerde Lokal Anestezipler

Lokal anestezipler, belli konsantrasyonlarda uygulandıkları bölgedeki sensorik sinir impulslarının iletimini geçici olarak bloke ederek, ağrının giderilmesini sağlarlar. Bunu da sinir liflerinin uyarılabilirliklerini azaltıp ağrı eşliğini yükselterek ya da uyarım ileti hızını yavaşlatarak veya tümüyle bloke ederek yaparlar. Bu ilaçlar membran stabilizatörü etkileriyle sinir liflerinin depolarize olmasına engel olurlar. Böylece ağrılı uyarıların sinir yollarında taşınmasını geri dönüşümlü olarak bloke ederler. Uygulandıkların bölgelerin sinir lif veya uçlarında geri dönüşümlü paralizasyon sebep olurlar (Smith ve ark, 2002). Lokal anestezi ilaçlar, nosiseptif iletimini önler, bu nedenle merkezi hassaslaşmayı en aza indirerek, postoperatif sistemik analjeziğe olan ihtiyacı azaltır (Gurney, 2012).

Lokal anesteziğin etki mekanizması tam olarak keşfedilmemiştir. Bu maddeler yağda çok çözünür ve dokular tarafından hızla emilir. Bu özellik, periferik sinirlerdeki sodyum kanallarına hızlı bir şekilde bağlanmaya ve geçişlerini engellemeye yol açar. Bu, iyonize ve iyonize olmayan moleküller tarafından yapılır. İyonize moleküller, sodyum kanallarını liflerin dışından bloke ederken, iyonize olmayan moleküller liflere emilir ve bloğu içeriden gerçekleştirir. İltihaplı bir dokuyu anestezi altına almak için lokal anesteziğin kullanımında, etkinin geç ortaya çıkacağını bilmek önemlidir, çünkü bu durumda lokal pH değişmiştir (Dugdale, 2011).

Lokal anesteziğin, postoperatif ağrının kontrol altına alınabilmesi için yüzeysel (topikal), lokal infiltrasyon, doğrudan sinir blokajı, intraartiküler, epidural, intrapleural ve intraperitoneal yollarla uygulanabilir (Paddelfort, 1999).

Veteriner hekimliğinde kullanılabilen birçok lokal anesteziğin (Kokain, Prokain, Lidokain, Tutokain, Stovain, Bupivakain, Ravokain, Mepivakain) olmasına rağmen en çok tercih edilenler lidokain ve bupivakaindir (Paddelfort 1999; Almedia ve ark 2007).

İnsanlarda ve küçük hayvanlarda lidokain genellikle lokal anesteziğin veya antiaritmik ajan olarak kullanılır. Lidokain, birçok yoldan uygulandığında analjezik aktiviteye sahiptir.

İnsan hekimliğinde sistematik olarak uygulanan lidokainin, akut ve operasyon sonrası ağrının tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır (Cassuto ve ark, 1985). İnsan hekimliğinde batın cerrahisini takiben analjezi sağlamak için intraperitoneal (ip) lidokain kullanılmaktadır (Elhakim ve ark, 2000). Yang ve arkadaşlarının (2014) yapmış olduğu çalışmada intraperitoneal lidokain uygulamasının, kontrol infüzyonlarına kıyasla insanlarda postoperatif ağrıyı önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. İntraperitoneal uygulama, sistemik analjeziklerle yönetilmesi çok zor olan pankreatit gibi hastalıklarda analjezik etki için veteriner hekimliğinde kullanıldığı da bildirilmiştir (Lemke ve Dawson, 2000).

Lidokainin, veteriner hekimlikte çeşitli klinik durumlarda faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Ortega ve Cruz, 2011). Smith ve ark (2004) yapmış oldukları çalışmada sistemik intraperitoneal lidokain infüzyonu ile morfine eşdeğerde analjezi sağlamışlardır. Köpeklerde yapılan bir çalışmada (Lamont ve ark. 2000), ventriküler aritmileri tedavi eden intravenöz lidokain tedavisinin, analjeziyi sürdürmek için gereken opioid dozunu da azalttığı gösterilmiştir.

Lidokain, sodyum kanallarındaki geçişi engelleyen, yaygın olarak kullanılan amid tipi bir lokal anesteziğin ajan olup antioksidan özellikler gösterebilir (Kang ve ark, 1998; Eskitascioglu ve ark, 2011). Süperoksit oluşumunu ve lökosit metabolik aktivitesini engelleme kabiliyeti nedeniyle antiinflamatuvar etkileri temsil eder. Aynı zamanda trombosit

agregasyonunu, histamin salınımını azaltır ve vasküler geçirgenliği korur (Eskitascioglu ve ark, 2011). Ayrıca lidokain, hidroksil ve oksijen radikalleri için; serbest radikal temizleyici olarak hareket edebilir (Lenfant ve ark, 2000).

### **2.8.2. Köpeklerde Non-Steroid Antiinflatuar İlaçlar**

Doku yaranmasını içeren tüm cerrahi prosedürler bir miktar ağrıya neden olur. Yeterli preoperatif ağrı kontrolü, komplikasyonları azaltmada ve iyileşme kalitesini arttırmada çok önemlidir (Lascelles et al 1994).

NSAI ilaçların, köpeklerde operasyon sonrası ağrının kontrolünde etkili olduğu gösterilmiştir (Shih ve ark. 2008). Bu grup ilaçlar, ağrı kesici, ateş düşürücü ve yangı önleyici etkinliğe sahiptirler. Analjezik etkileri narkotik analjeziklerden daha düşüktür. Ancak ilaç bağımlılığı yapmadığından ve uygulandıklarında anestezi etki sağlamadıklarından dolayı daha çok tercih edilirler (Kaya ve ark, 2006). Bu ilaçların analjezik etkileri doku hasarının olduğu alandaki antiinflatuar etkilerinden ileri gelmektedir (Alkan 1995). Analjezik etkileri araziidonik asitten prostaglandinlerin ve diğere bazı prostanoidlerin (tromboksan, prostasiklin, prostaglandin) şekillenmesini katalize eden siklooksijenaz enzimini inhibe etmelerine bağlanmaktadır.

Prostaglandin, membran fosfolipitlerine bitişik durumda olan araziidonik asitin serbestlenmesinden sonra, siklooksijenaz (COX) enzimleriyle sentezlenmektedir. Hasarlı doku ile bağlantılı olarak Prostaglandin E2 ve Prostaglandin I2 sentezlenmektedir. Bu maddelerin sentezlenmesi ağrının başlamasına ve inflamasyonun oluşmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla hasarlı dokudaki bu maddelerin azaltılmasıyla analjezik ve antiinflatuar etki görülmektedir (Tekel, 2007). Kısaca NSAI'lerin analjezik etkileri prostaglandin sentezini inhibe etme yeteneklerinden ileri gelmektedir (Jones ve Budsberg, 2000).

Siklooksijenaz enziminin Siklooksijenaz-1 (COX-1) ve Siklooksijenaz-2 (COX-2) adında 2 tane isoformu bulunmaktadır. Siklooksijenaz-1 renal kan akımının düzenlenmesi ve gastrik mukus üretiminin düzenlenmesi gibi fizyolojik görevleri vardır (Dzikiti ve ark, 2006).

COX-1, dokuların çoğunda bulunur. Fizyolojik hücre haberleşmesinde rol alır. NSAI istenmeyen etkisi bu izoformun inhibe edilmesine bağlıdır. COX-2 ise hasarlı veya yangılı dokulardaki prostaglandinlerin, prostanoidlerin ve sitokinlerin oluşmasını sağlar. NSAI ağrı kesici ve yangı önleyici etkileri COX-2 inhibisyonuna bağlıdır (Taylor ve Reide ,2001).

Non steroid antiinflatuar ilaçların büyük çoğunluğu, COX-1 ve COX-2 enzimlerinin ikisini de inhibe edebilmektedirler. Seçici olmayan siklooksijenaz enzim

inhibitörü ilaçlar, ağrı ve yangılı durumlardakine benzer şekilde prostaglandin sentezini baskırlar. Seçici COX-2 enzim inhibitörü NSAIİ'lerin ağrı kesici ve yangı giderici etkileri COX-1 tarafından düzenlenen fizyolojik fonksiyonları en az düzeyde etkilediği bildirilmiştir. Genel olarak COX-2 enziminin inhibisyonu ne kadar fazla, COX-1 inhibisyonu ne kadar az ise NSAIİ'lerin toksik etkisi de o oranda azdır (Lascelles ve Mcfarland, 2005; Monteiro-Steagall ve ark. 2013).

NSAIİ süresi (12-24 saat) ve etkinliği, bu ilaçları köpeklerde postoperatif ağrı ve inflamasyonun klinik yönetimi için ideal hale getirir. Bununla birlikte, yan etki potansiyeli (örn. mide ülseri, böbrek hasarı, yara iyileşmesinde azalma ve trombosit disfonksiyonuna bağlı kanamada artış) nedeniyle NSAIİ kullanımından önce hastalar ve NSAIİ seçimi düşünölmelidir (Lascelles ve ark, 1998). Analjezik etkilerle ilgili olarak hem karprofen hem de meloksikam, köpeklerde OHE'den 72 saat sonra tatmin edici analjezi sağlar (Leece ve ark, 2005).

Veteriner etiketli NSAIİ geliştirilmesi, daha yüksek tolerans ve daha az yan etki ile preoperatif dönemde kullanımlarının artmasını sağlamıştır (Mathews ve ark, 2001).

Meloksikam yangısal yanıtta ortaya çıkan uyarıcı COX-2'ye karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğu bilinen NSAI ilaçtır (Vane ve Botting, 1995). Meloksikam, seçici COX-2 inhibisyonu yapmasına rağmen COX-2 spesifik değildir. Meloksikamın terapötik dozlarda seçici olarak COX-2 enzimini inhibe ettiği fakat yüksek dozlarda bu spesifikitenin azaldığı görölmüştür. Meloksikamın parantral formölyasyonları ve oral süspansiyonları da bulunmaktadır (Curry ve ark, 2005). Ek olarak, meloksikam; antiartritlik, analjezik ve antipiretik aktiviteye sahiptir ve kıkırdak koruyucu olduğuna inanılmaktadır (Rainsford ve ark, 1999). Meloksikam, postoperatif ağrıda ve kronik ortopedik bozukluklardan kaynaklanan ağrının tedavisinde başarı ile kullanılır. Köpeklerde 0,2 mg/kg dozunda IV veya SC olarak verilir. Devam eden uygulamalar 0,1 mg/kg dozunda IV, SC veya oral yoldan günde bir defa uygulanır. (Leece ve ark 2005). Genel anestezi ile birleştirildiğinde OHE uygulanan köpeklerde preoperatif meloksikam uygulamasının güvenli olduğu bildirilmiştir (Schmidt, 1999).

Sunulan bu bilgiler ışığında bu çalışmada köpeklerde OHE öncesi ve sırasında uygulanan lidokain ve meloksikamın postoperatif süreçte ortaya çıkan oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilen MDA, CAT ve GSH-Px üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulunun 30/10/2019 tarih ve (64583101/2019/108) sayılı kararı ve çalışma hakkında bilgilendirilen hayvan sahiplerinin izni alınarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1.1. Hayvan Materyali ve Grupların Oluşturulması

Çalışmanın hayvan materyalini; Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne OHE isteği ile getirilen, İzmir ve Aydın il ve ilçelerindeki farklı ırk ve yaşlarda (>12 ay), herhangi bir sağlık problemi olmayan erişkin ve sahipli dışı köpekler oluşturdu. Getirilen hayvanların öncelikli olarak anamnez bilgisi alındı. Klinik muayene sonucunda sağlıklı görülen, reproduktif USG neticesinde gebeliği bulunmayan ve sitolojik muayene sonucunda anöstrusta olduğu tespit edilen hayvanlar çalışmaya dahil edildi.

**Tablo 2.** Köpeklerin tanımlayıcı özellikleri.

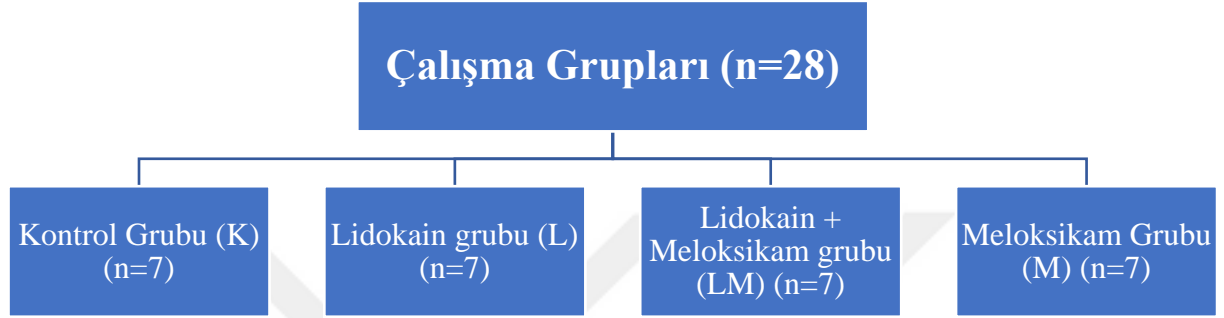
Köpek no	İrk	Yaş (yıl)	Köpek no	İrk	Yaş (yıl)
1	Melez	2	15	Melez	2
2	Golden Retriever	2	16	Melez	2
3	Melez	1	17	Kangal	3
4	Terrier	2,5	18	Melez	1,5
5	Golden Retriever	2	19	Terrier	2
6	Melez	2	20	Terrier	3
7	Melez	2	21	Terrier	2,5
8	Fino	2	22	Terrier	1,5
9	Golden Retriever	1,5	23	Kangal	1,5
10	Fino	3	24	Kangal	2
11	Labrador Retriever	2	25	Kangal	3
12	Labrador Retriever	2	26	Melez	2
13	Melez	3	27	Beagle	1,5
14	Fino	3	28	Melez	1,5

<b>Hasta Adı Protokol No:</b>	PN.....		
<b>Hasta Sahibi Adı Soyadı:</b>			
<b>Tanımlayıcı Veriler</b>			
<b>İrk</b>	..... Melez <input type="checkbox"/> Safkan <input type="checkbox"/>		
<b>Yaş</b>	.....Yıl / .....Ay		
<b>Cinsiyet</b>	Dişi <input type="checkbox"/> / Erkek <input type="checkbox"/>		
<b>Barınma Şekli</b>	Ev <input type="checkbox"/> Bahçe <input type="checkbox"/> Çiftlik <input type="checkbox"/> Barınak <input type="checkbox"/> Sanayi <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>		
<b>Kullanım Amacı</b>	Hobi <input type="checkbox"/> Av <input type="checkbox"/> Koruma <input type="checkbox"/> Bekçi <input type="checkbox"/> Gösteri <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>		
<b>Gebelik Durumu</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/> Şüpheli <input type="checkbox"/>		
<b>Daha önceki gebelik durumu</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/> Var ise; Yavru sayısı:      Abort durumu:		
<b>Siklik aktivitesi</b>	Düzenli <input type="checkbox"/> Düzensiz <input type="checkbox"/>		
<b>Kızgınlık geçirdiği tarih</b>			
<b>Klinik Değerlendirme</b>			
<b>Vücut Sıcaklığı</b>	..... (°C)	<b>Solunum Frekansı</b>	..... (sayı/dk)
<b>Kalp Frekansı</b>	.....(vurum/dk)	<b>Dehidrasyon</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>
<b>Memelerde patolojik lezyon</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>	<b>Meme bezlerinde anormal akıntı</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>
<b>Vajinal akıntı</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>	<b>Lenfadenopati</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>
<b>Vulvada patolojik lezyon</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>	<b>Vulvada Ödem</b>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>

### Şekil 1. Hasta değerlendirme formu.

#### 3.1.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada kullanılan hayvanlar; Grup kontrol (K; n=7), Grup lidokain+meloksikam (LM; n=7), Grup lidokain (L; n=7) ve Grup meloksikam (M; n=7) olmak üzere 4 grup ve 28 dişi köpek ile çalışma gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2. Çalışma grupları.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Anestezi, Operasyon ve Çalışma Protokolü

Ovaryohistektomiden 8 saat önce gıda ve sıvı alımına izin verilmedi. Vücut ağırlıkları belirlenen köpeklere damar içi %0,9 izotonik NaCl solüsyonu uygulamasını takiben 0,045 mg/kg dozda, SC atropin (Atropin, Vetaş), premedikasyon için 2 mg/kg ksilazin HCL (Alfazyne %2 – Ege Vet®) kas içi uygulandı. On dakika sonrasında induksiyonu sağlamak için 10 mg/kg ketamin HCL (Alfamine %10 – Ege Vet®) kas içi (IM) enjekte edildi. Operasyon masasına alınan köpeklerin operasyon bölgesindeki kıllar tıraşlandı, antiseptik solüsyonlar ile bölgenin asepsisi sağlandı. Sonra steril serviyetler ile operasyon bölgesi sınırlandırılarak köpekler operasyona hazır hale getirildi.

Tüm OHE operasyonları median hattın gerçekleştirildi. Göbek deliğinin 1 cm kadar aşağısından başlayarak linea alba takip ederek 3-4 cm uzunlukta ensize edildi. Deri altı yağ dokusu, bağ dokusu, linea alba, periton diseke edildikten sonra sırasıyla sol ve sağ ovaryum, ligamentum latum uteri ve serviksın ligasyonu ile uzaklaştırılmasını içeren rutin protokol

uygulandı (Root Kustritz, 2012). Periovaryan asıcı bağları, ligamentum lata uteri ve serviksin ligasyonu için 0 numara emilebilen ipler kullanıldı. Uterus ve ovaryum uzaklaştırıldıktan sonra periton ve kaslar yine 0 numara emilebilir iplikler kullanılarak sürekli basit kilitli dikiş yöntemi ile kapatıldı. Deri altı ve deri dikişlerinde 2/0 emilebilir ipler ile sırasıyla basit sürekli ve horizontal matress dikişi uygulandı. Tüm köpeklere postoperatif 5 gün süreyle 5 mg/kg dozunda SC Enrofloksasin (Baytil-K %5-Bayer® 1 ml'de 50 mg etken maddede) uygulandı.

Tez çalışmasında 4 gruba ayrılan hayvanlardan kontrol grubundaki köpeklere yukarıda belirtilen OHE prosedürü uygulanmıştır. Bu uygulamalara ek olarak diğer gruptaki köpeklere aşağıdaki işlemler uygulanmıştır.

Grup Kontrol: OHE operasyonunu takiben lidokain veya meloksikam uygulanılmadan rutin ovaryohisterektomi gerçekleştirildi.

Grup Lidokain: OHE operasyonunu takiben sırasıyla sol ve sağ ovaryan pediküller, ligamentum latum uteri ve serviks uzaklaştırıldıktan sonra 1 mg/kg dozda Lidokain (Adokain®; Sanovel, Türkiye) 20 gauge IV katater kullanılarak karın boşluğunun kraniyal ve kaudal kısımlarına püskürtüldü ve ensizyon bölgesi kapatıldı.

Grup Meloksikam: OHE operasyonunu takiben operasyon sırasında sol ve sağ ovaryan pediküller, ligamentum latum uteri ve serviks uzaklaştırıldıktan sonra 0,2 mg/kg dozda Meloksikam (Maxicam®; Sanovel, Türkiye) SC tek doz uygulanmıştır.

Grup Lidokain-Meloksikam: OHE operasyonunu takiben sırasıyla sol ve sağ ovaryan pediküller, ligamentum latum uteri ve serviks uzaklaştırıldıktan sonra 1 mg/kg dozda Lidokain (Adokain®; Sanovel, Türkiye) 20 gauge IV katater kullanılarak karın boşluğunun kraniyal ve kaudal kısımlarına püskürtüldü ve SC tek doz Meloksikam (Maxicam®; Sanovel, Türkiye) 0,2 mg/kg dozda uygulanarak ensizyon bölgesi kapatıldı.

### **3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması**

Kan örnekleri operasyon saatlerini takiben preoperatif dönemde bir kez, postoperatif dönemde 2, 12 ve 24. Saatlerde vena saphalica antebrachi'den tek kullanımlık kanüller yardımıyla jelli serum tüplerine alındı. Kan numuneleri pıhtı oluşumu için +4°C' de ortalama 30 dk bekletildikten sonra 3000 devir/dk 10 dk boyunca santrifüj edildi. Çıkarılan serum

örnekleri ependorf tüplerine aktarıldı. Elde edilen serumlar GSH-Px, CAT ve MDA ölçümü yapılana kadar -20°C’de dondurularak saklandı.

### 3.2.3. Malondialdehit, Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz Ölçümü

Serum MDA, CAT ve GSH-Px konsantrasyonları Bioassay Technology Laboratory (E0144Ca, E0031Ca, E0439Ca, Shanghai-China) marka ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi.

Bu kitler bir Enzim Bağlantılı İmmüno sorbent (ELISA) test kitleridir. Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve örnekleri talimatlara uygun şekilde hazırlanarak tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi ve testler, oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Test prosedürüne uygun şekilde standart solüsyonları hazırlandı. Prosedürde belirtildiği gibi Standart solüsyon hazırlamak için kullanılan Standart seyreltici sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev görmektedir.

Serum MDA için; 20 nmol/ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (40 nmol/ml) 120µl standart seyreltici ile sulandırılarak 10 nmol/ml, 5 nmol/ml, 2.5 nmol/ml ve 1.25 nmol/ml solüsyonlar üretildi.

Serum CAT için; 160 ng/ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (320 ng/ml) 120µl standart seyreltici ile sulandırılarak 80ng / ml, 40ng / ml, 20ng / ml ve 10ng / ml solüsyonlar üretildi.

Serum GSH-Px için; 64 ng/ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (128 ng/ml) 120µl standart seyreltici ile sulandırıldı ve 32 ng/ml, 16 ng/ml, 8 ng/ml ve 4 ng/ml solüsyonlar elde edildi. Standart seyrelticiler test içerisinde sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev görmektedir.

Her analiz için Canine MDA, Canine CAT ve Canine GSH-Px antikorları ile önceden kaplanmış kit plakalarına serum örnekleri eklendi. Her serum örneği için ayrı ayrı test kitinin içerisinde bulunan biyotinlenmiş Canine MDA Antikoru, Canine CAT Antikoru ve Canine GSH-Px Antikoru eklendi. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenerek 37°C’de 60 dakika inkü edildi. İnkübasyon süresi sona erdikten sonra test plaka kuyucuları yıkama solüsyonuyla her yıkama için 1 dakika olacak şekilde 5 kez yıkandı. Yıkama işleminin ardından Substrat solüsyonları eklenerek 37°C’de 10 dakika daha inkübe edildi ve serum örneklerinin konsantrasyonlarıyla orantılı olarak renk değişimleri gözlemlendi. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılarak, dalga boyu 450 nm ayarlanmış mikroparka okuyucu (Optic İvymen System 2100-C) ile absorbans değerleri belirlendi.

Çizgisi regresyon analizi ile her testin standart bir eğrisi oluşturularak testlerin formülasyonu belirlendi.

$$\text{Serum MDA: } y=0,1462x-0,2056 \text{ R}^2 = 0,991$$

$$\text{Serum CAT: } y=0,0171x-0,1306 \text{ R}^2 = 0,9928$$

$$\text{Serum GSH-Px: } y = 0,045x-0,1678 \text{ R}^2 = 0,9941$$

Ölçülen absorbans değerleri formülasyonda yerine koyularak her örneğin MDA, CAT ve GSH-Px konsantrasyonları belirlenmiştir.

### 3.2.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

Sayısal verilerin dağılımı Kolmogorov–Smirnov testi kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirilen tüm parametrelerin (MDA, CAT, GSH-Px) transformasyona rağmen normal dağılım göstermediği belirlendi. Bakılan parametrelerin aritmetik ortalama, standart hata, medyan, range, minimum ve maksimum değerleri tanımlayıcı istatistikler kapsamında hesaplandı. Normal dağılım göstermeyenler parametreler için non-parametrik testler kullanıldı.

İlk olarak, Kruskal-Wallis H testi post-hoc karşılaştırmada Tukey testi kullanılarak, her örnek alım zamanında ölçülen parametreler yönünden gruplar-arası (K, L, M ve LM) farklar ve belirlenen farkın hangi grup veya gruplardan kaynaklandığı test edildi. Ayrıca her grup için serum MDA, CAT ve GSH-Px konsantrasyonlarının zamanla gösterdikleri değişimler ve farklılıkların hangi örnekleme zamanları arasında olduğu Friedman testi ve post-hoc karşılaştırmada Benferroni testi ile değerlendirildi.

Tüm analizlerde olasılık  $P < 0,05$  anlamlı kabul edildi. İstatistiksel değerlendirmelerde, Statistical Package for the Social Sciences 22.0 (SPSS, IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, ABD) paket programı kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Bulgular

Alınan anamnez ve yapılan klinik muayeneler doğrultusunda çalışmaya dahil edilen farklı ırklardaki 28 adet köpeğin yaş ortalaması  $2,1\pm 0,56$  yaş, vücut ağırlıkları ortalaması  $18,8\pm 4,5$  kg olarak belirlendi. Yapılan vaginal sitolojik inceleme sonuçlarına göre 28 köpeğin tamamı anöstrus döneminde olduğu ve yapılan USG incelemesinde köpeklerin gebe olmadığı tespit edildi.

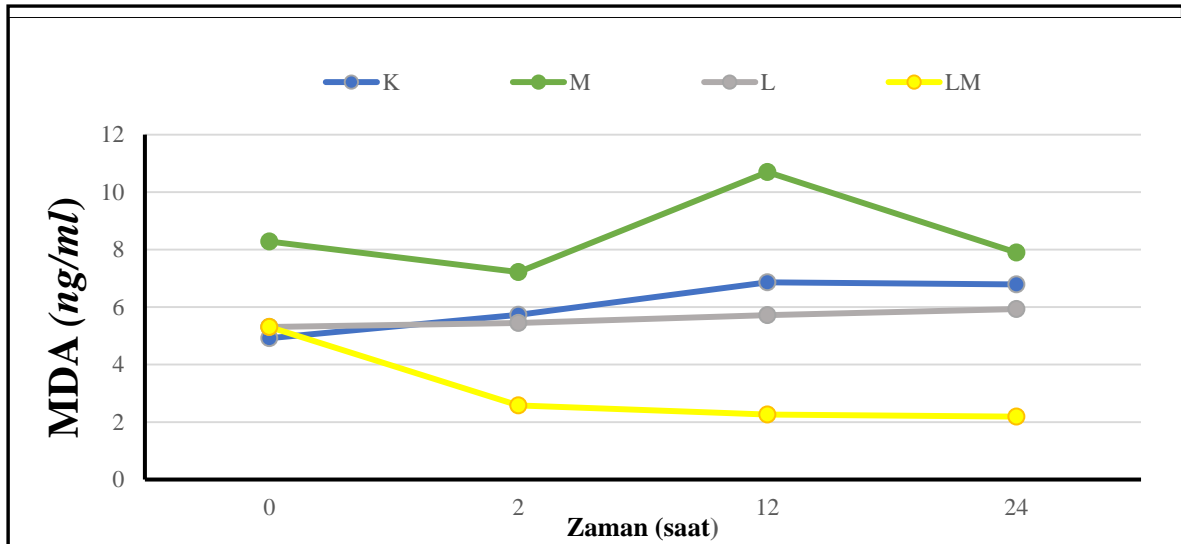
### 4.2. Laboratuvar Bulguları

Araştırmanın laboratuvar bulguları Şekil 3,4 ve 5’de, özetlendi. Şekillerde MDA, CAT ve GSH-Px konsantrasyonları medyan ve range olarak sunuldu.

#### 4.2.1. Serum MDA

Serum MDA konsantrasyonu açısından, K, M ve L gruplarının zamanla gösterdikleri değişim anlamlı bulunmazken, LM grubunda serum MDA konsantrasyonunun zamanla anlamlı düzeyde ( $P<0,01$ ) azaldığı belirlendi. Bu kapsamda; LM grubunda Maxicam ve Lidokain uygulamalarını takip eden 2., 12. ve 24. saatlerde serum MDA konsantrasyonu 0. saate göre anlamlı düzeyde düşüş gösterdiği ve 24. saatte minimum ( $2,19 \text{ ng/ml}$ ) konsantrasyona ulaştığı belirlendi (Şekil 3).

Çalışmanın 2., 12. ve 24. Saatlerinde, serum MDA konsantrasyonu açısından, gruplar arası farklılıklar anlamlı bulundu. Bu kapsamda sözü geçen zamanlarda LM grubunun serum MDA konsantrasyonlarının diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük olduğu saptandı (Şekil 3).



	0	2	12	24	Önemlilik1
<b>K</b>	4,92 (13,55)	5,73 (10,70) <sup>a</sup>	6,86 (13,53) <sup>a</sup>	6,79 (11,81) <sup>a</sup>	<b>Ö.D.</b>
<b>M</b>	8,28 (10,75)	7,22 (18,97) <sup>a</sup>	10,70 (13,26) <sup>a</sup>	7,90 (12,02) <sup>a</sup>	<b>Ö.D.</b>
<b>L</b>	5,31 (15,81)	5,45 (13,22) <sup>a</sup>	5,72 (10,76) <sup>a</sup>	5,93 (11,08) <sup>a</sup>	<b>Ö.D</b>
<b>LM</b>	5,31 (2,24) <sup>A</sup>	2,58 (0,68) <sup>bAB</sup>	2,26 (0,90) <sup>bB</sup>	2,19 (0,95) <sup>bB</sup>	<b>**</b>
<b>Önemlilik2</b>	<b>Ö.D.</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	

Ö.D. Önemli Değil;

\*: P<0,05;

\*\* : P<0,01

a, b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (P<0,05)

A, B: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (P<0,05)

Önemlilik 1: Her grupta zamana bağlı değişim, Önemlilik 2: Her ölçüm zamanında gruplar-arası farklılık

K: Grup kontrol

M: Grup meloksikam

L: Grup lidokain

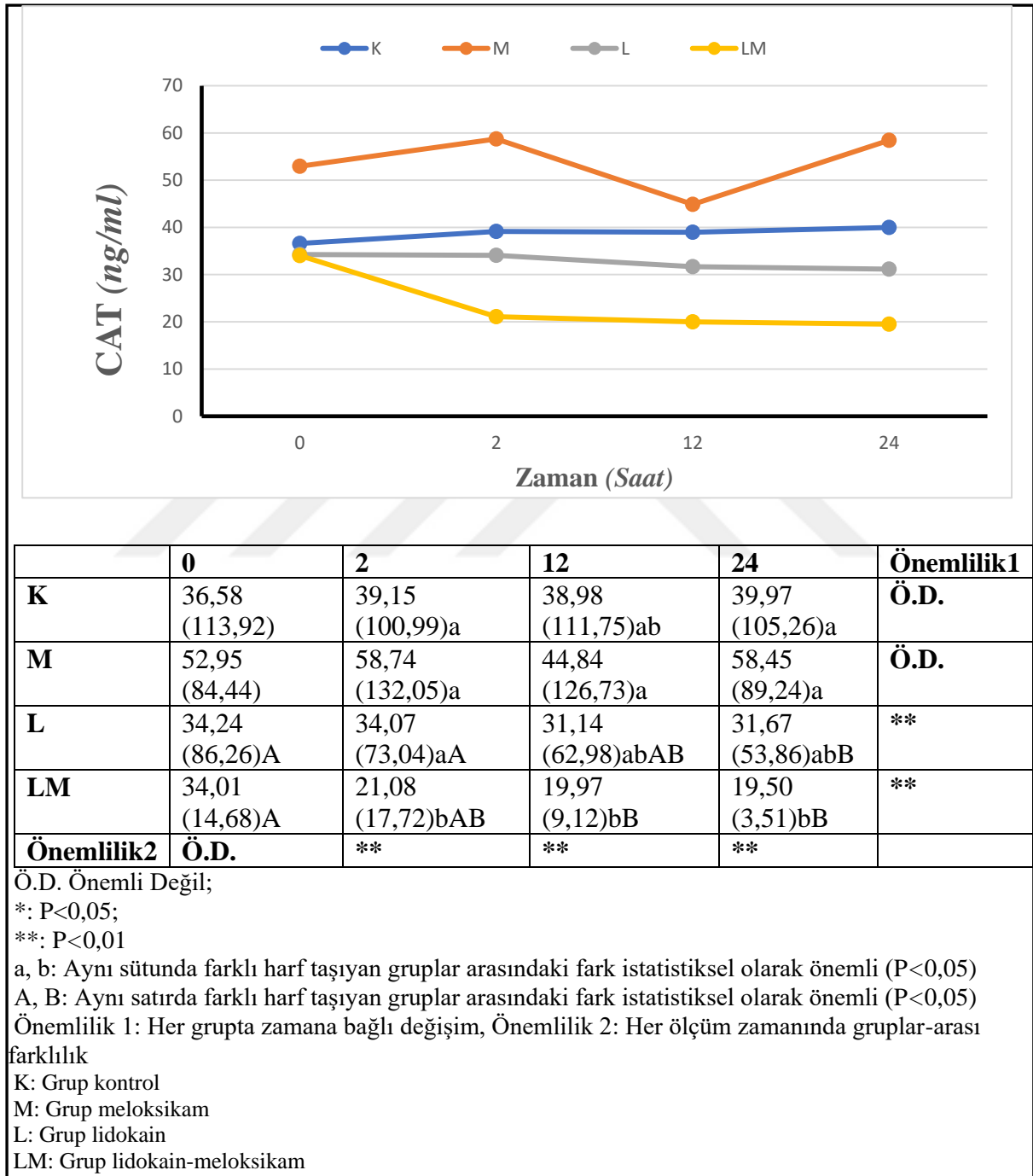
LM: Grup lidokain-meloksikam

**Şekil 3.** Serum MDA konsantrasyonlarındaki değişimler.

#### 4.2.2. Serum CAT

Serum CAT konsantrasyonu açısından, K ve M gruplarında zamanla ilişkili değişimlerin önemli olmadığı, L ve LM gruplarında ise serum CAT konsantrasyonlarının zamanla anlamlı düzeyde azalma gösterdiği saptandı Hem L hem de LM grubunda operasyondan sonraki 24 saat içinde serum CAT konsantrasyonlarının kademeli bir azalma gösterdiği ve her iki grupta da 24. saat serum CAT değerlerinin 0. saate kıyasla istatistiksel olarak düşük olduğu görüldü (Şekil 4).

Çalışma gruplarının operasyon sırasındaki (0. saat) serum CAT konsantrasyonları istatistiksel olarak farklılık göstermezken, 2., 12. ve 24. saatlerde gruplar-arası farklar anlamlı bulundu. Özellikle hem lidakoin hem de maxicam uygulanan LM grubunda, çalışmanın 2., 12. ve 24. saatlerinde serum CAT konsantrasyonları, K ve M gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük bulundu (Şekil 4).

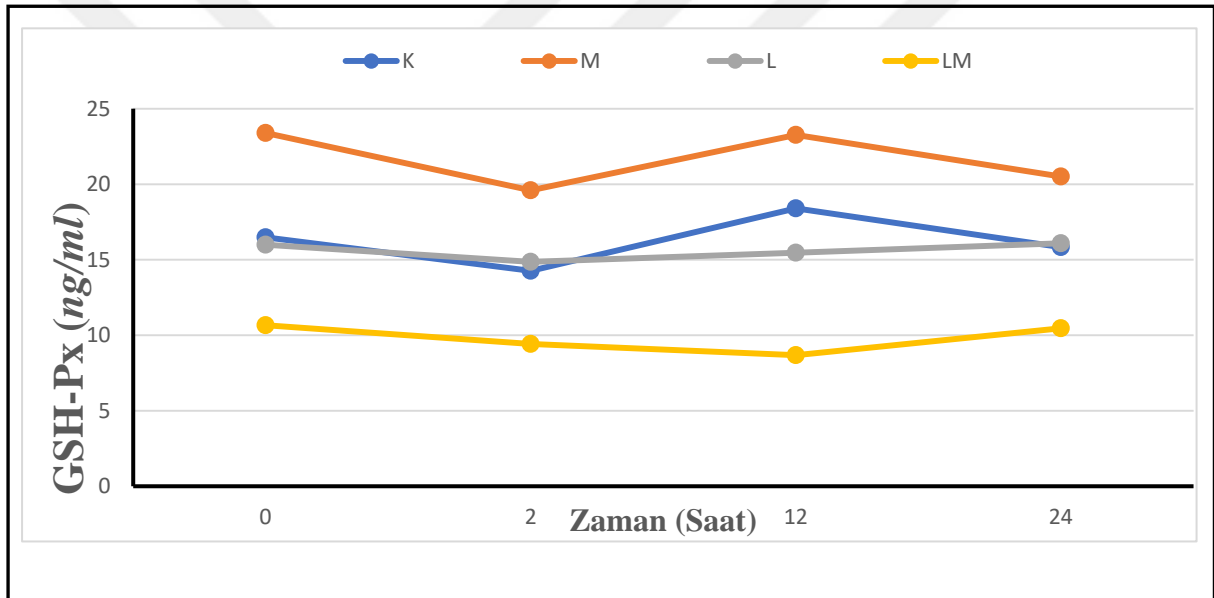


Şekil 4. Serum CAT konsantrasyonlarındaki değişimler.

#### 4.2.3. Serum GSH-Px

Serum GSH-Px konsantrasyonu açısından K, M ve L gruplarının zamanla ilişkili değişimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, LM grubunda ise serum GSH-Px konsantrasyonunun zamanla anlamlı düzeyde ( $P<0,05$ ) değişim gösterdiği belirlendi. Bu kapsamda; LM grubunun minimum konsantrasyona ( $8,68 \text{ ng/ml}$ ) 12. Saatte ulaştığı ve bu konsantrasyonunun 0. Saate göre anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlendi. Buna ek olarak aynı grubunun serum GSH-Px konsantrasyonunun 24. Saatte hafif artış eğiliminde olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ( $P>0,05$ ) ortaya kondu.

Çalışmanın tüm örneklem saatlerinde, serum GSH-Px konsantrasyonunun gruplar-arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 5).



	0	2	12	24	Önemlilik1
<b>K</b>	16,48 (30,42)ab	14,26 (32,07)ab	18,39 (32,96)ab	15,84 (40,71)ab	<b>Ö.D.</b>
<b>M</b>	23,39 (48,27)a	19,59 (49,27)a	23,26 (47,02)a	20,50 (44,18)a	<b>Ö.D.</b>
<b>L</b>	15,99 (20,71)ab	14,86 (27,20)a	15,46 (30,91)ab	16,08 (34,56)ab	<b>Ö.D.</b>
<b>LM</b>	10,66 (3,36)bA	9,41 (3,44)bAB	8,68 (3,89)bB	10,46 (2,38)bAB	<b>**</b>
<b>Önemlilik2</b>	*	**	**	**	

Ö.D. Önemli Değil; \*:  $P<0,05$ ; \*\*:  $P<0,01$

a, b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ )

A, B: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ )

Önemlilik 1: Her grupta zamana bağlı değişim, Önemlilik 2: Her ölçüm zamanında gruplar-arası farklılık

K: Grup kontrol M: Grup meloksikam L: Grup lidokain LM: Grup lidokain-meloksikam

**Şekil 5:** Serum GSH-Px konsantrasyonlarındaki değişimler.



## 5.TARTIŞMA

Ovaryohistektomi köpeklerde yaygın olarak gerçekleştirilen efektif bir cerrahi girişimdir. Ovaryohistektomi sırasında oluşan doku travması ve organ manipülasyonları; ağrıya ve operasyon sonrası oksidatif strese neden olan ana faktörlerdendir (Firth ve Haldane, 1999; Lemke ve ark. 2002). Operasyon sonrasında, operasyon stresi sebebiyle bir dizi metabolik değişiklik meydana gelir. Anestezi, hipotermi, seröz inflamasyon, doku iskemisi ve postoperatif ağrının oksidasyon ve lipit peroksidasyona neden olduğu bilinmektedir (Naziroğlu ve Günay, 1999; Baines ve Shenkin, 2002). Reaktif oksijen türlerinin üretimi ve nötralizasyonu arasındaki dengenin bozulması, enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemlerinin aktive olmasına yol açar. Antioksidatif/oksidatif dengede herhangi bir bozulma, peroksidatif ürünlerin belirlenmesi ile tespit edilebilir (Sies, 1993). MDA'nın serum/plasma düzeyi lipit peroksidasyonunu ve serbest radikallerin hücre zararını anlamada en önemli belirteçtir. Organizmadaki lipit peroksidasyon düzeyini belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır ve en sık kullanılan yöntem MDA düzeylerinin belirlenmesidir (Halliwell ve Chirico, 1993).

Dişi köpeklerde yapılan önceki çalışmalar, ksilazin-ketamin anestezisi altında OHE' den 24 saat sonra lipit peroksidasyon yoğunluğunda bir artış (plazma MDA) konsantrasyonuna dayalı olarak olduğunu göstermiştir (Serin ve diğerleri 2008; Gunay ve ark, 2011; Kankonkar ve ark, 2013). Ayrıca laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, lipit peroksidasyon (MDA) düzeylerinin plazma ve doku (beyin, karaciğer) belirteçlerinin ovaryumları alınmış hayvanlarda kontrol gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu göstermiştir (Muthusami ve ark, 2005; Kankofer ve ark, 2007; Topcuoğlu ve ark, 2009). Sunulan çalışmada MDA konsantrasyonu, K ve L grubunda OHE'den sonra istatistiki olarak anlamlı bulunmasa da zamanla artış gösterdiği tespit edildi. Maxicam grubunda OHE' den 24 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma görülmüştür. Lidokain ve meloksikamın birlikte uygulandığı LM grubunda ise OHE'den sonra istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3). Nazifi ve ark, (2019) sağlıklı köpeklerde tramadol ve meloksikamın oksidatif stres üzerine etkisi hakkında yapmış oldukları çalışmada meloksikam grubunun, kontrol grubuna göre plazma MDA açısından anlamlı bir fark olmadığını ayrıca kombinasyon grubunda (Meloksikam ve tramadol), tramadol grubuna göre daha düşük MDA konsantrasyonuna sahip olduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar meloksikamın antioksidan etkisini desteklemektedir ve meloksikamın

antioksidan özelliğini bildiren önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur (Burak Çimen ve ark, 2003). Nikvsarkar ve ark, (2006), meloksikamın beyindeki MDA düzeyini azaltabildiğini ve önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Goverdhan ve ark. (2012), meloksikamın, beyindeki lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve endojen antioksidan enzimleri artırarak farelerde anti-amnezik aktiviteyi iyileştirmede potansiyel terapötik etkileri olduğunu göstermektedir. Villegas ve ark, (2000) ayrıca meloksikamın sıçan mide mukozasında oksijen radikali oluşumunu azaltabildiğini bildirmişlerdir.

Meloksikamın antioksidan aktivitesinin prostanooid ve serbest radikal sentezini azaltma kabiliyetinden kaynaklandığı ve bu nedenle meloksikamın diğer NSAİ'lere göre daha az yan etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür (Khan ve Rampal 2014). Bu teoriyi desteklemek için Craven ve ark. (2007), meloksikam ile tedavi edilen yetişkin köpeklerin herhangi bir mide, ince bağırsak veya kolon mukozası hasarı göstermediğini bildirmişlerdir. Genel olarak oksidatif stres klinik olarak doğrudan tespit edilemediğinden tedavi sürecini engelleyebilir. Bu çalışmanın sonuçları, OHE uygulanan köpeklere lidokain ve meloksikam kombinasyonunun ağrıyı kontrol etmek ve ROS üretimi ve oksidatif stres gelişimini azaltmak için uygun bir strateji olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, klinisyenlere lidokain ve meloksikam kombinasyonunu reçete ederken daha büyük bir güven duygusu sağlayacağı düşünüldü.

Malondialdehit (MDA), hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerini içeren serbest radikaldir ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak değerlendirilir (Dikmen ve ark, 2007). Kırmızı kan hücreleri, kontrol edilemeyen seviyelerde süperoksit radikal anyonlarının ( $O_2^-$ ) veya hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) neden olabileceği toksik etkileri azaltmak için üç ana temizleyici enzim taşır. Bunlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazdır (GSH-Px) (Van Rossen ve ark, 2000). Hücre ve doku seviyelerinde aşırı serbest radikal oluşumu ve buna eşlik eden hasar, sinerji içinde hareket eden (Gutteridge ve Halliwell, 1990) antioksidan savunma sistemleri (Halliwell, 1990; Kale ve ark, 1999) tarafından kontrol edilir. Glutatyon peroksidaz, CAT ve indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi bazı antioksidan enzimlerin ROS'un toksik etkilerini hafifletmede önemli işlevleri olabilir (Moore ve Roberts, 1998; Osada ve ark, 2002). Bu enzim aktivitelerinin yükselmesi, antioksidan savunmayı zayıflatan oksidatif strese de katkıda bulunur (Dikmen ve ark, 2007).

Glutatyon peroksidaz hidrojen peroksiti indirgelediği gibi lipid peroksitlerini de indirgeyebildiği için biyolojik membranların yapısının ve fonksiyonunun korunmasında, lipid peroksidasyonunu engellemede son derece önemli bir enzim olarak görev alır (Mc Cord, 2000).

Yapılan çalışmalarda, ksilazin-ketamin anestezisi altında OHE'den 24 saat sonra glutasyon peroksidaz konsantrasyonunun azaldığı bildirilmiştir (Serin ve ark, 2008; Gunay ve ark, 2011). Buna karşın Szczubial ve ark. (2015) dişi köpeklerde ksilazin-ketamin anestezisi altında OHE'den sonraki 14. ve 30. günlerde GSH-Px konsantrasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Gogoi ve ark, (2018) pyometralı köpeklerde OHE sonrası deney gruplarında GSH-Px konsantrasyonunun, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık göstermediğini saptamışlardır. Muthusami ve ark, (2005) erişkin dişi ratlar üzerinde yapmış oldukları OHE çalışması sonucunda glutasyon peroksidaz düzeylerinin anlamlı düzeyde azalmış olduğunu göstermiştir. Anadol ve ark, (2016) dişi ratlar üzerinde ksilazin-ketamin anestezisi ile yapmış oldukları OHE çalışması sonucunda glutasyon peroksidaz düzeylerinin anlamlı düzeyde azalmış olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, Kankofer ve ark. (2007), ovariektomi sonrası 8. haftada sıçan karaciğer homojenatlarında GSH-Px aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını göstermiştir. Nazifi ve ark, (2019) yapmış oldukları çalışmada oral meloksikam uygulamasının GSH-Px konsantrasyonunun değiştirmedini saptamışlardır. Sunulan çalışmada GSH-Px konsantrasyonu K ve L grubunda OHE'den 24 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış saptandı. Maxicam grubunda OHE' den 24 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma görüldü. Lidokain ve meloksikamin birlikte uygulandığı LM grubunda ise OHE'den sonra istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. LM grubunda diğer gruplara kıyasla zamanla değişimlerine bakıldığında GSH-Px konsantrasyonunun postoperatif 12. saate kadar azaldığı 24. saatteki örneklem zamanında istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış tespit edildi (Şekil 5). Bu grupta OHE'den 12. saate kadar gözlemlenen GSH-Px aktivitesinde azalış, lipit peroksidasyon ürünlerinin nötralize edilmesi amacıyla bu antioksidanın kullanılmasına bağlı olabileceği kanaatine varıldı. Buna karşılık, OHE'den 24 saat sonra gözlemlenen artış, operasyon sonrası geç dönemde üretilen aşırı miktarda ROS'un nötrleştirilmesinden kaynaklanan antioksidan savunma mekanizmalarının azalmasına bağlanabilir.

Yukarıda bahsedilen lipit peroksidasyonuna karşı enzimatik antioksidan savunma sistemlerinden bir diğeri de katalazdır. Hücrede peroksizomlarda bulunan CAT, hidrojen peroksitin dismutasyonundan sorumludur. Bu nedenle, en yüksek aktivite peroksizomların yoğun olduğu kan, kemik iliği, mukoz membranlar, böbrek ve karaciğer gibi organlarda görülmektedir (Onat ve ark, 2006; Colleen ve ark, 2007). CAT enzim aktivitesi ayrıca kırmızı kan hücrelerinin oksidatif ortamı içinde hemoglobinin fonksiyonel ve yapısal bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur (D'Agnillo ve Chang, 1998). Hemoglobin, ROS'u kolayca oluşturabilir veya bunlarla etkileşime girebilir. Hemoglobin, temel oksijen taşıyıcısı

olmasına rağmen, nitrik oksit radikalini de temizleyebilir (Van, 1982). Gogoi ve ark, (2018) yapmış oldukları çalışmada pyometralı köpeklerde OHE sonrası kontrol, ameliyat öncesi, ameliyat günü, ameliyat sonrası 7 ve 14. gün katalaz (ng/ml) konsantrasyonundaki artışın, kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel düzeyde anlamlı olduğunu saptamışlardır. Sakundeck ve ark, (2020) OHE ameliyatı öncesinde, sırasında ve sonrasında sürenin ağrı stresi, oksidatif stres ve TAC üzerindeki etkisi üzerine yapmış oldukları çalışmada, çalışma dönemleri boyunca CAT konsantrasyonunun istatistiksel olarak değişmediğini saptamışlardır. Nazifi ve ark, (2019) sağlıklı köpeklerde tramadol ve meloksikamın oksidatif stres üzerine etkisi hakkında yapmış oldukları çalışmada meloksikam (oral meloksikam uygulanan) grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CAT düzeyinde anlamlı bir farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. Ancak çalışmadaki diğer gruplar olan tramadol ve kombine (tramadol+meloksikam) gruplarında CAT konsantrasyonunun kontrol grubuna göre azaldığını saptamışlardır. Kibar ve ark, (2019) yapmış oldukları çalışmada, köpeklerde OHE sırasında lidokain ve prokainin, intraperitoneal olarak uygulandığında güvenilir ve iyi tolere edilen analjezikler olarak kabul edilmesi gerektiğini söylemişlerdir. Bu çalışmada CAT konsantrasyonu K ve M grubunda OHE'den 24 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış saptandı. Lidokain ve LM gruplarının zamanla değişimlerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ( $p<0,05$ ). Lidokain ve LM gruplarındaki zamanla azalan CAT konsantrasyonu, lidokain ve meloksikamın postoperatif ağrı, stres ve serbest radikalleri azaltma yeteneklerinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde bu çalışmada LM grubunda MDA, GSH-Px ve CAT konsantrasyonları zamanla azalmakla birlikte Lidokain grubunda sadece CAT konsantrasyonunun zamanla azaldığı görülmektedir. Bu bulgular, LM grubunun oksidatif stresi azaltmada olumlu etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, OHE sonrası 24 saat boyunca karşılaşılan ve oksidatif stres altında, vücutlarını serbest radikallerden korumak için antioksidanlara olan ihtiyaçlarının azaldığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar lidokainin ve meloksikamın analjezik etkilerini desteklemektedir ve meloksikamın antioksidan özelliğini bildiren önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur. Kibar ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada, köpeklerde OHE sırasında lidokain ve prokainin, intraperitoneal olarak uygulandığında güvenilir ve iyi tolere edilen analjezikler olarak kabul edilmesi gerektiğini söylemişlerdir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ovaryohisterektomi operasyonuna bağlı gelişen ağrı ve oksidatif streste, lokal anestezi ve non-steroid antiinflamatuar ilaçların rolünü detaylandırmak, operasyon sonrası süreçte ortaya çıkan oksidatif stres belirteçlerinin konsantrasyonlarını ortaya koymak ve uygulanan ilaçların oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırılmasına katkı sağlaması düşünülen bu tez çalışmasında;

1. Lidokain uygulamasının MDA ve GSH-Px konsantrasyonlarının zamanla değişimleri üzerine istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan artışlar yaptığı ve CAT konsantrasyonunun zamanla değişiminde istatistiksel olarak anlamlı azalışa sebep olduğu,
2. Meloksikam uygulamalarının MDA, GSH-Px ve CAT konsantrasyonlarının zamanla değişiminde istatistiksel olarak anlamlı görülmeyen azalmalar oluşturduğu,
3. Lidokain ve meloksikamın kombine olarak uygulanmasının MDA, GSH-Px ve CAT konsantrasyonlarının zamanla istatistiksel olarak azalttığı görülmüştür.

Bu çalışmada kullanılan oksidatif stres belirteçlerinin genel olarak vücuttaki oksidan/antioksidan durumun değerlendirilmesinde kullanılan özel belirteçler olmasına rağmen bazı antioksidanlar arasında sinerji nedeniyle yalnızca birinin değerlendirilmesi, antioksidanların etkinliklerinin tam olarak yansıtmayabileceği düşünüldü.

Özellikle lidokain ve meloksikamın kombine uygulanması MDA, GSH-PX ve CAT konsantrasyonlarına bakıldığı zaman her iki ajanının tek olarak uygulanmasına göre oksidatif stresi azalttığı, kombine uygulamanın oksidatif stresin azaltılmasında yararlı bir ilaç kombinasyonu olabileceği ve gelecekte yapılacak olan çalışmalarda referans olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Acharya JD, Ghaskadbi SS.** Islets and their antioxidant defense. *Islets* 2010, 2(4), 225-235.
- Adly AM.** Oxidative stress and disease: an updated review. *Research Journal of Immunology* 2010, 3 (2), 129-145.
- Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S.** The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2012 10(1), 1-31.
- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA.** Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*, 2003, 79(4), 829-843.
- Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya, 1995.
- Aktaş M, Değirmenci U, Ercan SK, Tamer L, Atik U.** Redükte glutasyon ölçümünde HPLC ve spektrofotometrik yöntemlerin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2005, 3(3), 95-99.
- Alkan F.** *Non-steroid anti-enflamatuar ilaçlar*. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1995, Doktora Semineri.
- Almeida TF, Fantoni DT, Mastrocinque S, Tatarunas AC, Imagawa VH.** Epidural anesthesia with bupivacaine, bupivacaine and fentanyl, or bupivacaine and sufentanil during intravenous administration of propofol for ovariohysterectomy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2007 230(1), 45-51.
- Anadol E, Yarım GF, Gültiken, N, Kazak F.** Effect of Ovariohysterectomy on Some Oxidative Stress Markers in the Rat, *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 5(2), 124-128.
- Antmen ŞE.** Beta talasemide oksidatif stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 2005, Yüksek lisans tezi.
- Arthur JR.** The glutathione peroxidases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2001, 57(13-14), 1825-1835.

- Aslan R, Dünder Y.** Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi* 1999, 2(2), 134-42.
- Aslan S, Güngör Ö.** Üremenin denetlenmesi. Köpek ve Kedilerde Doğum Ve Jinekoloji. Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. (Edt), Medipres Maatbacılık, 2013, P:81-107.
- Baines M, Shenkin A.** Lack of effectiveness of short-term intravenous micronutrient nutrition in restoring plasma antioxidant status after surgery. *Clinical Nutrition* 2002, 21(2), 145-150.
- Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S.** Oxidative stress and the ovary. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 2001, 8, S40-S42.
- Bencharif D, Amirat L, Garand A, Tainturier D.** Ovariohysterectomy in the bitch. *Obstetrics and Gynecology International* 2010, 1-7.
- Berlett BS, Stadtman ER.** Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 1997, 272(33), 20313-20316.
- Breen AP, Murphy JA.** Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology and Medicine* 1995, 18(6), 1033-1077.
- Burak Cimen MY, Bölgen Cimen Ö, Eskandari G, Sahin G, Erdoğan C, Atik U.** In vivo effects of meloxicam, celecoxib, and ibuprofen on free radical metabolism in human erythrocytes. *Drug and Chemical Toxicology* 2003, 26(3), 169-176.
- Burton GJ, Jauniaux E.** Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2011, 25(3), 287-299.
- Buvanendran A, Kroin JS.** Useful adjuvants for postoperative pain management. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* 2007, 21(1), 31-49.
- Cabiscol C.E, Tamarit S.J, Ros Salvador J.** Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. *International Microbiology* 2000, 3(1), 3-8.
- Cadenas E, Sies H.** The lag phase. *Free Radical Research* 1998, 28(6), 601-609.

**Carr AC, Frei B.** Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1999, 69(6), 1086-1107.

**Cassuto J, Wallin G, Högström S, Faxen A, Rimbäck G.** Inhibition of postoperative pain by continuous low-dose intravenous infusion of lidocaine. *Anesthesia and Analgesia*, 1985, 64(10), 971-974.

**Chandra A, Surti N, Kesavan S, Agarwal A.** Significance of oxidative stress in human reproduction. *Archive of Medical Science* 2009, 5(1A), 28-42.

**Cheeseman KH, Slater TF.** An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993, 49(3), 481-493.

**Colleen S, Marks AD, Lieberman M.** Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası "Klinik Yaklaşım". 2. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Yayınları, 2007.

**Conner EM, Grisham MB.** Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996, 12(4), 274-277.

**Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J.** Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal* 2003, 17(10), 1195-1214.

**Craven M, Chandler ML, Steiner JM, Farhadi A, Welsh E, Pratschke K, Williams DA.** Acute effects of carprofen and meloxicam on canine gastrointestinal permeability and mucosal absorptive capacity. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007, 21(5), 917-923.

**Curry SL, Cogar SM, Cook JL.** Nonsteroidal antiinflammatory drugs: A review. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2005; 41(5), 298-309.

**Çaylak E.** Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2011, 9 (1), 73-83.

**D'Agnillo F, Chang TM.** Absence of Hemoprotein-Associated Free Radical Events Following Oxidant Challenge of Crosslinked Hemoglobin–Superoxide Dismutase Catalase. *Free Radical Biology and Medicine* 1998, 24(6), 906-912.

**Dahl JB, Kehlet H.** Preventive analgesia. *Current Opinion in Anesthesiology* 2011, 24(3), 331-338.

**Davidson EB, David MH, Payton ME.** Comparison of laparoscopic ovariohysterectomy and ovariohysterectomy in dogs. *Veterinary Surgery* 2004, 33(1), 62-69.

**De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, et al.** Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine* 1999, 27, 202-226.

**Deisseroth, A, Dounce AL.** Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiological Reviews* 1970, 50(3), 319-375.

**Demple B.** Regulation of bacterial oxidative stress genes. *Annual Review of Genetics* 1991, 25(1), 315-337.

**Dikmen B, Unal Y, Pampal HK, Nurlu N, Kurtipek O, Canbolat O, Ozoğul C, Kavutcu M.** Effects of repeated desflurane and sevoflurane anesthesia on enzymatic free radical scavenger system. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2007, 294, 31–36.

**Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I.** Lipid peroxidation can not be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research* 2004; 41: 200–227.

**Dugdale A.** *Veterinary anaesthesia: principles to practice*, John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, PO19 8SQ, United Kingdom, 2011

**Dumaswala UJ, Zhuo L, Jacobsen DW, Jain SK, Sukalski KA.** Protein and lipid oxidation of banked human erythrocytes: Role of glutathione. *Free Radical Biology and Medicine* 1999, 27 (9-10), 1041-1049.

**Durackova Z.** Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research* 2010, 59, 459-469.

**Dzikiti TB, Joubert KE, Venter LJ, Dizkiti LN.** Comparison of morphine and carprofen administered alone or in combination for analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Journal of the South African Veterinary Association* 2006, 77(3), 120-126.

- Elhakim M, Elkott M, Ali NM, Tahoun HM.** Intraperitoneal lidocaine for postoperative pain after laparoscopy. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2000, 44(3), 280-284.
- Ercan N, Fidancı UR.** Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8 OHdG) düzeyleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 59, 163-168.
- Eskitascioglu T, Karaci S, Canoz O, Kılıç E, Gunay GK.** The impact of lidocaine on flap survival following reperfusion injury. *Journal of Surgical Research* 2011, 167(2), 323-328.
- Fingland RB.** Ovariohysterectomy, In: Bojrab MJ (edt), *Current Techniques in Small Animal Surgery* (ed 4). William and Wilkins, Philadelphia 1998, p. 489–493.
- Firth AM, Haldane SL.** Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1999, 214(5), 651-659.
- Freeman BA, Crapo JD.** Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation* 1982, 47: 412-426
- Fujii J, Iuchi Y, Okada F.** Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2005, 3(1), 1-10.
- Giese S, Duggan S, Gebicki JM.** Peroxidation of proteins before lipids in U937 cells exposed to peroxy radicals. *Biochemical Journal* 2000, 350(1), 215-218.
- Gill SS, Tuteja N.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 2010, 48(12), 909-930.
- Gogoi J, Leela V, Suganya G, Shafiuzama M, Vairamuthu S, Rajamanickam K, Pandiyan ASS.** Effect of ovariohysterectomy on oxidative stress markers in pyometra affected bitches. *International Journal of Chemical Studies* 2018, 6(4), 994-998.
- Góth L, Rass P, Páy A.** Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnosis* 2004, 8(3), 141-149.
- Gough DR, Cotter TG.** Hydrogen peroxide: a Jekyll and Hyde signalling molecule. *Cell Death & Disease* 2011, 2(10), 213-213.

**Goverdhan P, Sravanthi A, Mamatha T.** Neuroprotective effects of meloxicam and selegiline in scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress. *International Journal of Alzheimer's Disease* 2012.

**Grotto D, Santa Maria L, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC.** Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Qimica Nova* 2009; 32: 169–174.

**Gunay A, Gunes N, Gunay U.** Effect of ovariectomy on lipid peroxidation and levels of some antioxidants and biochemical parameters in bitches. *The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2011, 55, 695-698.

**Gurney MA.** Pharmacological options for intra-operative and early postoperative analgesia: an update. *Journal of Small Animal Practice* 2012, 53(7), 377-386.

**Gutteridge JM, Halliwell B.** The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences* 1990, 15(4), 129-135.

**Gutteridge JMC.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995; 41: 1819-1828

**Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford University Press, Newyork 1999, 246-351.

**Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free radicals inbiology and medicine. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press 1989, 188-196.

**Halliwell B.** Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* 1996, 16(1), 33-50.

**Halliwell B, Chirico S.** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1993, 57(5), 715S-725S.

**Halliwell B.** Free radicals and antioxidants – quo vadis?. *Trends in Pharmacological Sciences* 2011, 32(3), 125-130.

**Halliwell B.** How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications* 1990, 9(1), 1-32.

**Hensley K, Benaksas EJ, Bolli R, Comp P, Grammas P, Hamdheydari L, Williamson KS.** New perspectives on vitamin E:  $\gamma$ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine* 2004, 36(1), 1-15.

**Hermes-Lima M.** Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Storey KB. (Edt), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*, John Wiley & Sons; 2004. p. 319-368.

**Holländer-Czytko H, Grabowski, Sandorf I, Weckermann K, Weiler EW.** Tocopherol content and activities of tyrosine aminotransferase and cystine lyase in *Arabidopsis* under stress conditions. *Journal of Plant Physiology* 2005, 162(7), 767-770.

**Höglund OV, Lövebrant J, Olsson U, Höglund K.** Blood pressure and heart rate during ovariectomy in pyometra and control dogs: a preliminary investigation. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2016, 58(1), 1-7.

**Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Kira Y, Imada I, Utsumi K.** Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current medicinal chemistry* 2003, 10(23), 2495-2505.

**Ivancich A, Jouve HM, Sartor B, Gaillard J.** EPR investigation of compound I in *Proteus mirabilis* and bovine liver catalases: formation of porphyrin and tyrosyl radical intermediates. *Biochemistry* 1997, 36(31), 9356-9364.

**Jones CJ, Budsberg SC.** Physiologic characteristics and clinical importance of the cyclooxygenase isoforms in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2000, 217(5), 721-729.

**Kale M, Rathore N, John S, Bhatnagar D.** Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicology Letters* 1999, 105(3), 197-205.

**Kang MY, Tsuchiya M, Packer L, Manabe M.** In vitro study on antioxidant potential of various drugs used in the perioperative period. *Acta anaesthesiologica scandinavica* 1998, 42(1), 4-12.

**Kankofer M, Radzki RP, Bieńko M, Albera E.** Anti-oxidative/oxidative status of rat liver after ovariectomy. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 2007, 54(5), 225-229.

**Kankonkar P, Mistry J, Chaudhary SS.** Oxidative stress due to ovariohysterectomy in bitches. *Indian Journal of Veterinary Surgery* 2013, 34(1), 59-60.

**Kanta J.** The role of hydrogen peroxide and other reactive oxygen species in wound healing. *Acta Medica* 2011, 54 (3), 97-101, 5.

**Karadeniz A, Hanedan B, Cemek M, Brk MK.** Köpeklerde gençlik hastalığı ve oksidatif stres arasındaki ilişki. 10. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 27-30 Haziran, Kapadokya – Nevşehir 2013; 71.

**Katz J, Clarke H, Seltzer ZE.** Preventive analgesia: quo vadimus? *Anesthesia & Analgesia* 2011, 113(5), 1242-1253.

**Kaya S, Pirini İ, nsal A, Karaer Z, Traş B, Bilgili A, Akar F.** Veteriner Farmakoloji, 4, 2, Kaya S.(edt), Medisan Yayınevi, Ankara, 2006.

**Kehrer JP.** The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000, 149(1), 43-50.

**Khan AM, Rampal S.** Effects of repeated oral administration of pazufloxacin mesylate and meloxicam on the antioxidant status in rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 2014, 53(4), 399-403.

**Kırşan İ, Gven K.** Dişı Köpeklerin Kısırlaştırılması: Dişı Kpekler Kısırlaştırılmalı mı? *İstanbul Veteriner Hekimler Odası Dergisi* 2003, 1, 46-47.

**Kibar ME, Tuna B, Kısadere İ, Gzelbekteş H.** Comparison of instilled lidocaine and procaine effects on pain relief in dogs undergoing elective ovariohysterectomy, *Israel Journal of Veterinary Medicine* 2019,74(3),148-154.

**Kohen R, Nyska A.** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology* 2002, 30(6), 620-650.

**Kojo S.** The various roles of enzymatic antioxidants (Superoxide dismutase, Catalase and glutathione peroxide) and non-enzymatic antioxidants (Vitamin C, Vitamin B and Carotenoids). *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2004, 39(1), 44-84.

**Koruk M, Taysi S, Savas MC, Yilmaz O, Akcay F, Karakok M.** Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2004, 34(1), 57-62.

**Lamont LA, Tranquilli WJ, Mathews KA.** Adjunctive analgesic therapy. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2000, 30(4), 805-813.

**Landis GN, Tower J.** Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development* 2005, 126(3), 365-379.

**Lascelles BD, Butterworth SJ, Waterman AE.** Postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and pethidine in dogs. *The Veterinary Record* 1994, 134(8), 187.

**Lascelles BDX, Cripps PJ, Jones A, Waterman-Pearson AE.** Efficacy and kinetics of carprofen, administered preoperatively or postoperatively, for the prevention of pain in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary Surgery* 1998,27(6), 568-582.

**Lascelles BDX, Mcfarland MJ.** Guidelines for safe and effective use of NSAIDs in dogs, *Veterinary Therapeutics* 2005, 6(3), 1-15.

**Lee BJ, Lin YC, Huang YC, Ko YW, Hsia S, Lin PT.** The relationship between coenzyme Q10, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery disease. *Scientific World Journal* 2012, 1-8.

**Leece EA, Brearley JC, Harding EF.** Comparison of carprofen and meloxicam for 72 hours following ovariohysterectomy in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 2005, 32(4), 184-192.

**Lemke KA, Dawson SD.** Local and regional anesthesia. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2000, 30(4), 839-857.

**Lemke KA, Runyon CL, Horney BS.** Effects of preoperative administration of ketoprofen on anesthetic requirements and signs of postoperative pain in dogs undergoing elective

ovariohysterectomy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2002, 221(9): 1268-1275.

**Lenfant F, Lahet JJ, Vergely C, Volot F, Freysz M, Rochette L.** Lidocaine inhibits potassium efflux and hemolysis in erythrocytes during oxidative stress in vitro. *General Pharmacology: The Vascular System* 2000, 34(3), 193-199.

**Leonard SS, Harris GK, Shi X.** Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine* 2004, 37(12), 1921-1942.

**Liu L, Keefe DL.** Cytoplasm mediates both development and oxidation-induced apoptotic cell death in mouse zygotes. *Biology of Reproduction* 2000, 62(6), 1828-1834.

**Liu L, Trimarchi JR, Keefe DL.** Involvement of mitochondria in oxidative stress-induced cell death in mouse zygotes. *Biology of Reproduction* 2000, 62(6), 1745-1753.

**Lopaczynski W, Zeisel SH.** Antioxidants, programmed cell death, and cancer. *Nutrition Research* 2001, 21(1-2), 295-307.

**Lushchak VI.** Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 2011, 153(2), 175-190.

**Lushchak VI.** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology* 2011, 101(1), 13-30.

**Lykkesfeldt J, Svendsen O.** Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Veterinary Journal* 2007, 173, 502-511.

**Lykkesfeldt J.** Measurement of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in biological samples. In: Maines M, Costa LG, Hodson E, Reed DJ, Sipes IG. (Eds.), *Current Protocols in Toxicology*. John Wiley and Sons, New York, 2002; pp. 7.6.1–7.6.15.

**Matés JM, Jiménez FS.** Antioxidant Enzymes and their Implications in Pathophysiologic Processes. *Frontiers in Bioscience* 1999, 4, 339-345.

**Mathews KA, Pettifer G, Foster R, McDonell W.** Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanol in dogs

undergoing abdominal surgery. *American Journal of Veterinary Research* 2001, 62(6), 882-888.

**Mathews KA.** Non-steroidal anti-inflammatory analgesics: a review of current practice. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2002; 12(2), 89-97.

**Mc Cord JM.** The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine* 2000, 108, 652-659.

**Mehaney DA, Darwish HA, Hegazy RA, Nooh MM, Tawdy AM, Gawdat HI, El-Sawalhi MM.** Analysis of oxidative stress status, catalase and catechol-O-methyltransferase polymorphisms in Egyptian vitiligo patients. *PLoS One* 2014, 9(6), e99286.

**Monteiro-Stegall BP, Stegall PV, Lascelles BD.** Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs, *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2013, 27(5), 1011-9.

**Moore K, Roberts LJ.** Measurement of lipid peroxidation. *Free Radical Research* 1998, 28(6), 659-671.

**Mousa SA, Galal MKH.** Alteration in clinical, hemobiochemical and oxidative stress parameters in Egyptian cattle infected with foot and mouth disease (FMD). *Journal of Animal Science Advances* 2013, 3, 485-491.

**Musatov A, Robinson NC.** Susceptibility of mitochondrial electron-transport complexes to oxidative damage. Focus on cytochrome c oxidase. *Free Radical Research* 2012, 46(11), 1313-1326.

**Muthusami S, Ramachandran I, Muthusamy B, Vasudevan G, Prabhu V, Subramaniam V, Narasimhan S.** Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats. *Clinica Chimica Acta* 2005, 360(1-2), 81-86.

**Nazifi S, Tabrizi AS, Mohammadi S, Erjaee H, Mirzaie A.** The effect of tramadol and meloxicam, alone and in combination on oxidative stress status in dogs. *Comparative Clinical Pathology* 2019, 28(4), 1055-1060.

**Naziroğlu M, Günay C.** The levels of some antioxidant vitamins, glutathione peroxidase and lipoperoxidase during the anaesthesia of dogs. *Cell Biochemistry and Function: Cellular Biochemistry and Its Modulation by Active Agents or Disease* 1999, 17(3), 207-212.

**Naziroğlu M, Butterworth PJ.** Protective effects of moderate exercise with dietary vitamin C and E on blood antioxidative defense mechanism in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Canadian Journal of Applied Physiology* 2005, 30(2), 172-185.

**Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, Lengyel G.** Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radical Research* 2010, 44(10), 1125-1171.

**Nikvsarkar M, Banerjee A, Shah D, Trivedi J, Patel M, Cherian B, Padh H.** Reduction in aluminum induced oxidative stress by meloxicam in rat brain. *Iranian Biomedical Journal* 2006, 10(3), 151-155.

**Nordberg J, Arnér ES.** (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine* 31(11), 1287-1312.

**Onat T, Emerk K, Sözmen EY.** İnsan biyokimyası II. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2006.

**Ortega M, Cruz I.** Evaluation of a constant rate infusion of lidocaine for balanced anesthesia in dogs undergoing surgery. *The Canadian Veterinary Journal* 2011, 52(8), 856.

**Osada H, Watanabe Y, Nishimura Y, Yukawa M, Seki K, Sekiya S.** Profile of trace element concentrations in the fetoplacental unit in relation to fetal growth. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2002, 81(10), 931-937.

**Ossowski I, Hausner G, Loewen PC.** Molecular evolutionary analysis based on the amino acid sequence of catalase. *Journal of Molecular Evolution* 1993, 37(1), 71-76.

**Öncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş İ, Delibaş N.** Klorprifos-Etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sıçan karaciğerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 2002, 22(1), 50-55.

**Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z.** Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *J Clin Exp Invest* 2015, 6(3), 331-336.

**Paddlefort RR.** Manual of Small Animal Anesthesia. 2nd edition, WB. Saunders Company, 1999.

**Panda D, Patra RC, Nandi S, Swarup D.** Oxidative stress indices in gastroenteritis in dogs with canine parvoviral infection. *Research in Veterinary Science* 2009, 86, 36-42.

**Peet A.** Oxygen toxicity and free radical injury. In: Lieberman MA, Marks A. (Eds). Marks' Basic Medical Biochemistry. California; Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 437-456.

**Percival M.** Antioxidants. *Clinical Nutrition Insight* 1998; 10: 1-4.

**Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A.** Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014.

**Pisoschi AM, Pop A.** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2015, 97, 55-74.

**Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A.** Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017.

**Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E.** Oxidative stress and cell signalling. *Current Medicinal Chemistry* 2004, 11(9), 1163-1182.

**Poljsak B, Šuput D, Milisav I.** Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013,1-11.

**Pryor WA.** Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology and Medicine* 2000, 28(1), 141-164.

**Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K.** Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International* 2014.

**Rahman I.** Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 2003, 36(1), 95-109.

**Rainsford KD, Skerry TM, Chindemi P, Delaney K.** Effects of the NSAIDs meloxicam and indomethacin on cartilage proteoglycan synthesis and joint responses to calcium pyrophosphate crystals in dogs. *Veterinary Research Communications* 1999, 23(2), 101-113.

**Rojkind M, Domínguez-Rosales JA.** Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *CMLS, Cellular and Molecular Life Sciences* 2002, 59, 1872-1891.

**Root Kustritz MV.** Effects of surgical sterilization on canine and feline health and on society. *Reproduction in domestic animals* 2012, 47, 214-222.

**Russo C, Bracarense A.** Oxidative stress in dogs. *Semina: Ciências Agrárias* 2016, 37(3), 1431-1440.

**Sakundech K, Chompoosan C, Tuchpramuk P, Boonsorn T, Aengwanich W.** The influence of duration on pain stress, oxidative stress, and total antioxidant power status in female dogs undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary World* 2020, 13(1), 160.

**Schmidt H.** Efficacy and safety of meloxicam in the control of peri-operative pain in the dog. In Proceedings of the Recent Advances in Non-Steroidal Anti-Inflammatory Therapy in Small Animals Symposium, Paris, France 1999, 71-74.

**Serin G, Kiral F, Serin I.** Acute effect of ovariohysterectomy on lipid peroxidation and some antioxidant levels in dogs. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2008, 52, 251-253.

**Shih AC, Robertson S, Isaza N, Pablo L, Davies W.** Comparison between analgesic effects of buprenorphine, carprofen, and buprenorphine with carprofen for canine ovariohysterectomy. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 2008, 35(1), 69-79.

**Sies H.** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine* 1991, 91(3), S31-S38.

**Sies H.** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration* 1997, 82(2), 291-295.

**Sies H.** Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry* 1993, 215(2), 213-219.

**Silva JP, Areias FM, Proença FM, Coutinho OP.** Oxidative stress protection by newly synthesized nitrogen compounds with pharmacological potential. *Life sciences* 2006, 78(11), 1256-1267.

**Simpson JA, Narita S, Giese S, Gebicki S, Gebicki JM, Dean RT.** Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochemical Journal* 1992, 282(3), 621-624.

**Smith LJ, Bentley E, Shih A, Miller PE.** Systemic lidocaine infusion as an analgesic for intraocular surgery in dogs: a pilot study. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 2004, 31(1), 53-63.

**Smith LJ, Shih A, Miletic G, Miletic V.** Continual systemic infusion of lidocaine provides analgesia in an animal model of neuropathic pain. *Pain* 2002, 97(3), 267-273.

**Sorg O.** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus Biologies* 2004, 327, 649-662.

**Srithunyarat T, Höglund OV, Hagman R, Olsson U, Stridsberg M, Lagerstedt AS, Pettersson A.** Catestatin, vasostatin, cortisol, temperature, heart rate, respiratory rate, scores of the short form of the Glasgow composite measure pain scale and visual analog scale for stress and pain behavior in dogs before and after ovariohysterectomy. *BMC Research Notes* 2016, 9(1), 1-9.

**Stadtman ER.** Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biology and Medicine* 1990, 9(4), 315-325.

**Stahl W, Sies H.** Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes* 1997, 46(2), 14-18.

**Stone EA, Cantrell CG, Sharp NJ.** Ovary and Uterus, in Slatter D (edt): *Textbook of Small Animal Surgery* (ed 2). Philadelphia, W.B. Saunders, 1993, pp 1293–1308

**Stone JR, Yang S.** Hydrogen peroxide: a signaling messenger. *Antioxidants & Redox Signaling* 2006, 8(3-4), 243-270.

**Suresh DR, Annam V, Pratibha K, Prasad BM.** Total antioxidant capacity—a novel early bio-chemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *Journal of Biomedical Science* 2009, 16(1), 61.

**Szczubial M, Kankofer M, Bochniarz M, Dąbrowski R.** Effects of ovariectomy on oxidative stress markers in female dogs. *Reproduction in Domestic Animals* 2015, 50(3), 393-399.

**Taylor M, Reide P.** Mosby's Crach Course Farmakoloji, H.S. Örer (çev.), Ankara: Güneş Kitabevi, 2001; p. 166.

**Tekel N.** Postoperatif ağrının kontrolünde analjeziklerin rolü. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2007, 17(1), 39-45

**Topçuoğlu A, Uzun H, Balci H, Karakus M, Coban I, Altug T, Çakatay U.** Effects of estrogens on oxidative protein damage in plasma and tissues in ovariectomised rats. *Clinical and Investigative Medicine* 2009, 133-E143.

**Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2007, 39, 44-84.

**Van RD.** Hepatic centrilobular necrosis in rats after exposure to halothane, enflurane, or isoflurane. *Anesthesia and Analgesia* 1982, 61(10), 812-819.

**Van Rossen MEE, Sluiter W, Bonthuis F, Jeekel H, Marquet RL, Van Eijck CHJ.** Scavenging of Reactive Oxygen Species Leads to Diminished Peritoneal Tumor Recurrence. *Cancer Research* 2000, 60, 5625–5629.

**Vane JR, Botting RM.** New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflammation Research* 1995, 44(1), 1-10.

**Villegas I, Martin MJ, La Casa C, Motilva V, Lastra CA.** Effects of meloxicam on oxygen radical generation in rat gastric mucosa. *Inflammation Research* 2000, 49(7), 361-366.

**Wagner AE, Worland GA, Glawe JC, Hellyer PW.** Multicenter, randomized controlled trial of pain-related behaviors following routine neutering in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2008, 233(1), 109-115.

**Yang SY, Kang H, Choi GJ, Shin HY, Baek CW, Jung YH, Choi YS.** Efficacy of intraperitoneal and intravenous lidocaine on pain relief after laparoscopic cholecystectomy. *Journal of International Medical Research* 2014, 42(2), 307-319.

**Yılmaz Z, Şenoğlu M, Kurutaş E-B, Çıralık H, Özbağ D.** Neuroprotective effects of mannitol and vitamin C on crush injury of sciatic nerve; an experimental rat study. *Journal of Neurological Sciences* 2011, 28(4), 538-551,13.

**Yılmaz O, Korkmaz M, Jaroszewski JJ, Yazici E, Ulutas E, Saritas ZK.** Comparison of flunixin meglumine and meloxicam influence on postoperative and oxidative stress in ovariectomized bitches. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2014, 17(3), 493-499.

**Yin H, Xu L, Porter NA.** Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews* 2011, 111(10), 5944-5972.

**Young IS, Woodside JV.** Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 2001, 54, 176-186.